

**Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie  
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Direktor: Herr Prof. Dr. med. H.- J. Möller

**Der Einfluss genetischer Variationen in NRG1, G72,  
DAO und PPP3CC auf Schizophrenie**

Eine Replikations- und Endophänotypenstudie

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Humanbiologie  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Katrin Thierfelder

aus  
Schönebeck/Elbe

2011

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dan Rujescu-Balcu

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Manfred Fichter

Prof. Dr. rer. nat. Harald Steiner

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser,  
FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 07.06.2011

*meinen Eltern gewidmet*

## Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Hans-Jörg Möller danke ich, dass ich diese Arbeit in der von ihm geleiteten Psychiatrischen Universitätsklinik absolvieren durfte.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Dan Rujescu für die Möglichkeit zur Durchführung der vorliegenden Arbeit in seiner Forschungsgruppe und die kompetente Betreuung.

Weiterhin möchte ich mich bei Frau Dr. rer. humbiol. Ina Giegling bedanken, deren Vorschläge und Hilfsbereitschaft bei fachlichen Fragen und der Diskussion des Studiendesings sehr hilfreich waren.

Sehr hilfreiche Anregungen zu labortechnischen Fragen und im Rahmen der Korrektur verdanke ich zudem Frau Dr. rer. humbiol. Annette Hartmann.

Verpflichtet fühle ich mich auch den übrigen Teamkollegen in der Arbeitsgemeinschaft molekulare und klinische Neurobiologie, die gemeinsam mit mir an diesem Projekt zusammen gearbeitet haben.

Schließlich danke ich Frau Prof. Dr. Anne-Laure Boulesteix, welche mich zu statistischen Fragestellungen sehr kompetent beraten hatte.

Der herzlichste Dank gilt meinen Eltern und meinen Freunden, die mich stets darin bestärkt und unterstützt haben, diese Arbeit fertig zu stellen.

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Schizophrenie</b>	<b>9</b>
1.1	Epidemiologie	9
1.2	Symptomatik	9
1.3	Erkrankungsbeginn und Verlauf	11
1.4	Diagnostische Kriterien und Klassifikation	11
1.5	Kognitive Beeinträchtigungen bei Schizophrenie	12
1.6	Störungen des Gedächtnisses bei schizophrenen Erkrankten	13
1.6.1	Das Arbeitsgedächtnis und seine Komponenten	14
1.6.2	Diagnostik des Arbeitsgedächtnisses	15
1.6.3	Das n-back Paradigma	16
1.6.4	Studienergebnisse zum Arbeitsgedächtnis bei schizophrenen Patienten	17
<b>2</b>	<b>Genetik der Schizophrenie</b>	<b>19</b>
2.1	Risikofaktoren der Schizophrenie	19
2.2	Familien-, Adoptions- und Zwillingsstudien	20
2.3	Die Schizophrenie als komplexe genetische Erkrankung	22
2.4	Intermediäre Phänotypen	23
2.4.1	Klinische Charakteristika als Endophänotypen der Schizophrenie	24
2.4.2	Das Arbeitsgedächtnis als Endophänotyp der Schizophrenie	25
2.5	Identifizierung von Kandidatengen und -regionen	26
2.5.1	Polymorphismen	26
2.5.2	Die Haplotyp-Blockstruktur	28
2.5.3	Kopplungsuntersuchungen	29
2.5.4	Assoziationsstudien	31
<b>3</b>	<b>Glutamat und Schizophrenie</b>	<b>36</b>
3.1	Das glutamaterge System	36
3.1.1	Der NMDA-Rezeptor	36
3.1.2	Die Glutamathypothese der Schizophrenie	37
3.1.3	Die Rolle des glutamatergen Systems beim Arbeitsgedächtnis	37
3.1.4	Die Glutamathypothese unter dem Blickwinkel genetischer Befunde	38
3.2	Neuregulin 1	41
3.2.1	Assoziationsstudien zum NRG1-Gen	42
3.2.2	Genexpressions- und funktionelle Studien zu NRG1	51
3.3	G72 und D-Aminosäureoxidase	53
3.3.1	Assoziationsstudien zum G72-Gen	53
3.3.2	Assoziationsstudien zum DAO-Gen	58
3.3.3	Genexpressions- und funktionelle Untersuchungen zu G72 und DAO	62
3.4	Proteinphosphatase 3, katalytische Untereinheit, Gamma-Isoform	63
3.4.1	Assoziationsstudien zum PPP3CC-Gen	63
3.4.2	Genexpressions- und funktionelle Untersuchungen zum PPP3CC-Gen	65

<b>4</b>	<b>Fragestellung</b>	<b>67</b>
<b>5</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>69</b>
5.1	Stichprobe	69
5.1.1	Fall- und Kontrollgruppe	69
5.1.2	N-Back Stichprobe	70
5.2	Messinstrumente	71
5.2.1	Klinisches Interview	71
5.2.2	N-back Aufgaben	72
5.3	Genetische Marker	74
5.3.1	NRG1	74
5.3.2	G72 und DAO	74
5.3.3	PPP3CC	75
5.4	DNA-Extraktion	75
5.5	Bestimmung der DNA-Konzentration	76
5.6	Genotypisierung	77
5.7	Untersuchungsdesign und statistische Auswertung	78
5.7.1	Replikationsstudie	78
5.7.2	Genetische Assoziation mit den klinischen Charakteristika	80
5.7.3	Genetische Assoziation mit den Leistungen in den n-back Aufgaben	80
5.7.4	Gen-Gen-Interaktion bei Schizophrenie	81
<b>6</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>83</b>
6.1	NRG1-Gen: Replikation	83
6.2	NRG1-Gen: klinische Charakteristika	84
6.3	NRG1-Gen: n-back Aufgaben	85
6.3.1	Marker N_1	85
6.3.2	Marker N_2	87
6.4	G72-Gen: Replikation	88
6.5	G72-Gen: klinische Charakteristika	89
6.6	G72-Gen: n-back Aufgaben	90
6.7	DAO-Gen: Replikation	91
6.8	DAO-Gen: klinische Charakteristika	92
6.9	DAO-Gen: n-back Aufgaben	93
6.9.1	Marker D_1	93
6.9.2	Marker D_2	94
6.10	PPP3CC-Gen: Replikation	95
6.11	PPP3CC Gen: klinische Charakteristika	96
6.12	PPP3CC-Gen: n-back Aufgaben	97
6.12.1	Marker P_1	97
6.12.2	Marker P_2	99
6.12.3	Marker P_3	100
6.13	Ergebnisse der Gen-Gen-Interaktion	101

<b>7</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>104</b>
7.1	NRG 1 im Vergleich zu vorangegangenen Studien.....	104
7.2	G72 und DAO im Vergleich zu vorangegangenen Studien .....	109
7.3	PPP3CC im Vergleich zu vorangegangenen Studien.....	115
7.4	Diskussion der unterschiedlichen Ergebnisse .....	117
	7.4.1 Stichprobe und Design .....	117
	7.4.2 Die Wahl der genetischen Marker.....	119
7.5	Gen-Gen-Interaktion .....	120
7.6	Gen-Umwelt-Interaktion .....	121
<b>8</b>	<b>Ausblick</b> .....	<b>124</b>
<b>9</b>	<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>126</b>
	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	<b>128</b>
	<b>Anhang</b> .....	<b>142</b>

## Abkürzungen und Fachbegriffe

Abkürzung	Erklärung
A	Adenin/Adenosin
AAO	Age at onset
ABC	AgeBeginningCourse
ACC	Anteriorer Cingulärer Kortex
AF	Affektverflachung
AH	Antriebshemmung
AKT1	V-akt Murine Thymoma Viral Oncogene Homolog 1
ANCOVA	Analysis of Covariance
APA/USA	American Psychiatric Association/USA
Arg	Arginin
AS	Aminosäure
BDNF	Brain Derived Neurotrophic Factor
bp	Basenpaare
C	Cytosin
Ca <sup>2+</sup>	Kalzium
CaN	Calcineurin
CC	Case/Control
CDRT	Continuous Delayed Response Task
CHRNA7	$\alpha$ 7-Nikotin-Rezeptor
CMT	Continuous Matching Task
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
CPT	Continuous Performance Test
CRD	Cysteine Rich Domain des NRG1-Proteins
cM	Centimorgan
C-Terminus	Carboxy-Ende
CVC	Kreuzvalidierungs-Konsistenz
Cys	Cystein
D'	Maß für das Disequilibrium (Kopplungsungleichgewicht)
DAO (DAAO)	D-Aminosäureoxidase
dbSNP	Single Nucleotide Polymorphism Database
DISC	Disrupted In Schizophrenia
DLPFC	Dorsolateraler präfrontaler Kortex
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphat
DRD2	Dopamin 2-Rezeptor
DRD3	Dopamin 3-Rezeptor
dsDNA	Doppelstrang-DNA
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders

	(Fourth Edition) der American Psychiatric Association
DTNBP1	Dysbindin
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EGF	Epidermal Growth Factor
EM	Expectation Maximization
ErbB	Virales Onkogen Homolog (v-Erb-B) als Form eines im Vogel (avian) Erythroblastose Virus gefundenen Gens
EST	Expressed Sequence Tag
eta <sup>2</sup>	Effektstärke
FG	Fallgruppe
FKBP5	FK506 verbindliches Protein 5
fMRT	Funktionelle Magnetresonanztomografie
G	Guanin/Guanosin
G72 (DAOA)	D-Aminosäure-Oxidase-Aktivator
GABA	Gamma Aminobuttersäure
gap	Genetic Analysis Package
GGF	Glial Growth Factor
Gln	Glutamin
GRIA4	$\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA)-Receptor subunit GluR4
GRM3	Metabotroper Glutamatrezeptor 3
HAP	Haplotyp
HCl	Salzsäure
HLA	Humane Leukozytenantigen-System
hLOD	Heterogener logarithmischer Odds Ratio
HPA-Achse	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse
3-HPA	3-Hydroxypicolinsäure
HRG	Heregulin
5-HT	5-Hydroxy-Tryptamin (Serotonin)
HTR4	Human Serotonin 4 Receptor
HWG	Hardy-Weinberg-Gleichgewicht
ICD-10	International Classification of Diseases, Klassifikationssystem für Krankheiten der Weltgesundheitsorganisation
ID	Identifikation (Name bei Single Nukleotid Polymorphismen)
Ig like	Immunglobulin ähnlich
kb	Kilobasenpaare
kD	Kilo-Dalton, Maß für Molekulargewicht
KG	Kontrollgruppe
KI	Konfidenzintervall
KO-Mäuse	Knock Out Mäuse mit gezielten Mutationen bzgl. bestimmter Gen- und Proteinfunktionen
LD	Linkage Disequilibrium, Kopplungsungleichgewicht
Leu	Leukin

LHRH	Luteinizing Hormone-Releasing Hormone
LOD	Logarithmisiertes Odds Ratio
MAF	Minor Allel Frequency
MANOVA	Multivariate Analysis of Variance
MASS ARRAY MAL- DI-TOF System	Mass Array Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time- Of-Flight System
mb	Megabasen
MDR	Multifaktorielle Dimensions-Reduktion
Met	Methionin
MFT	Multifactorial-Treshold-Modell
mGluR2	metabotroper Glutamat-Rezeptor 2
ml	Milliliter
MLS	Maximum LOD score
mmol	Millimol
Mrd.	Milliarden
mRNA	Messenger(Boten-)Ribonukleinsäure
MW	Mittelwert
n	Probandenzahl
NCBI	National Center for Biotechnology Information
ng	Nanogramm
nl	Nanoliter
ns	Nanosekunde, Nicht Signifikant
NDF	Neu Differentiation Factor
nm	Nanometer
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
nmol	Nanomol
NPL	Nonparametric Linkage Score
NRG	Neuregulin
N-Terminus	Amino-Ende
OR	Odds Ratio
p	Signifikanz, p-Wert, probability
p <sub>bonf</sub>	Prüfgröße Bonferroni-korrigiert
p(Chromosom)	Petit, kurzer Arm eines Chromosoms
PANSS	Positiv- und Negativ-Syndrom Skala
PCP	Phencyclidin
PCR	Polymerasekettenreaktion
PET	Positronen-Emissions-Tomografie
pH	Wasserstoff-Ionenkonzentration
PPI	Prepulse Inhibition
PPP3CA	Protein Phosphatase 3, welches die Calcineurin $\alpha$ katalytische Un- tereinheit kodiert
PPP3CC	Protein Phosphatase 3-Gen, welches die Calcineurin $\gamma$ katalyti- sche Untereinheit kodiert

PPP3R1	Protein Phosphatase 3 Regulatory Subunit B Alpha Isoform 1
Primer	DNA-Oligonukleotid
PRODH	Prolin Dehydrogenase
PSD	Postsynaptische Dichte
PSE	The Measurement and Classification of Psychiatric Illness
q (Chromosom)	Queue, langer Arm eines Chromosoms
r	Korrelationskoeffizient
RDC	Resarch Diagnostic Criteria
RGS4	Regulator of Guanin-Nukleotid Bindungsprotein (G-Protein)-Signaling-4
RNA	Ribonukleinsäure
rpm	Rounds per minute, Umdrehungen pro Minute
RR	Relatives Risiko
RT-PCR	Realttime PCR
s	Sekunde
SADS-L	Lifetime version of Schizophrenia and Affective Disorders Schedule
SAP	Shrimp Alkaline Phosphatase
SAPS/SANS	Scale for the Assessment of Positive/Negative Symptoms
SCAN	Schedules for the clinical Assessment in Neuropsychiatry
SD	Standardabweichung
Ser	Serin
SKID I	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV Achse I
SKID II	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV Achse II
SMDF	Sensory and Motor Neuron Derived Factor
SML	Single-Major-Locus-Modell
SNP	Einzel (Single) Nukleotid-Polymorphismus
SNP_ID	SNP Identifikation
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
T	Thymidin
Tab.	Tabelle
Taq	Thermus aquaticus, Bakterium, aus dem die Isolation der Taq-Polymerase für das PCR-Verfahren erfolgt
TDT	Transmission Disequilibrium Test
TM	Transmembran
TRAR4	Trace Amine Receptor 4
TE	Tris-Ethylendiamintetraacetat Puffer
Val	Valin
WCST	Wisconsin Card Sorting Test
WHO	World Health Organization
z.B.	Zum Beispiel
ZDHHC8	Zinc finger, DHHC domain containing 8
ZNS	Zentrales Nervensystem

$\alpha$	Irrtumswahrscheinlichkeit
$^{\circ}\text{C}$	Grad Celcius
$\mu\text{l}$	Mikroliter
$\mu\text{s}$	Mikrosekunde

# 1 Schizophrenie

Die Schizophrenie gehört als psychische Erkrankung zu der Gruppe der endogenen Psychosen. Sie wird durch ein charakteristisches Störungsmuster von Wahrnehmung, Denken, Ich-Funktionen, Affektivität und Antrieb beschrieben (Möller et al., 2009). Die Erkrankung verläuft oft rezidivierend oder chronisch. Die krankheitsbedingten Belastungen, die eingeschränkte Lebensqualität der Kranken und ihrer Umwelt und die sozialen Folgen stellen eine große Herausforderung für optimale präventive und Interventionsmaßnahmen dar. Daneben rücken gesundheitsökonomische Aspekte, wie die hohen Behandlungskosten von 2,8 Mrd. Euro jährlich (Statistisches Bundesamt, 2004), in den Vordergrund. Um eine optimale Behandlung anbieten zu können, sind Erkenntnisse aus der Grundlagen- bzw. Ursachenforschung äußerst entscheidend.

Die vorliegende Arbeit dient dem Zweck, aus der Literatur bekannte Kandidatengene der Schizophrenie, die im Zusammenhang zum glutamatergen System stehen, mit dem etablierten Konzept einer Replikationsstudie, als auch mit moderneren Ansätzen, den der Endophänotypen und Gen-Gen-Interaktionen, hinsichtlich ihrer Beteiligung an der Pathogenese der Schizophrenie zu untersuchen.

## 1.1 Epidemiologie

Das Lebenszeitrisiko einer Person (die Wahrscheinlichkeit, mindestens einmal bis zu einem Lebensalter von 60 Jahren an Schizophrenie zu erkranken) liegt nahe einem Prozent. Die *Inzidenz* (Anzahl der Neuerkrankungen innerhalb eines Jahres) erreicht einen Wert zwischen 0.17-0.54/1.000 Einwohner. Die *Prävalenz* (Produkt von Neuerkrankungen und Krankheitsdauer) wird auf 1.4-4.6/1.000 Einwohner geschätzt (Jablensky, 2003). Diese hohe Prävalenzrate erklärt sich aus dem häufig chronischen Verlauf der Erkrankung. WHO-Studien belegen, dass das schizophrene Syndrom in allen Kulturen und geographischen Lagen mit ähnlichen Inzidenzraten auftritt (Jablensky et al., 1992). Daher scheint das klinische Syndrom der Schizophrenie ein, unabhängig von kulturellen Wertorientierungen und Verhaltensmustern, robustes Phänomen zu sein und impliziert eine Orientierung in Richtung biologischer Ursachenfaktoren.

## 1.2 Symptomatik

Einzelne psychotische Symptome finden sich bereits in der Literatur des antiken Griechenlands und des Römischen Reiches (Evans et al., 2003). Als eigenständiges Krankheitsbild wurde sie von Emil Kraepelin (1896) unter den Namen „*Dementia Praecox*“ zusammengefasst. Damit beschrieb er ein Syndrom, zusammengesetzt aus Halluzinationen, Wahn, inadäquaten emotionalen Reaktionen, stereotypischen mo-

torischen Verhalten und gestörter Aufmerksamkeit. Der Begriff „Schizophrenie“ (im Sinne einer Geistesspaltung) wurde 1908 von Egon Bleuler formuliert (Bleuler und Jung, 1908). Er ging von einer Krankheit des Gehirns aus, bestehend aus den Grundsymptomen, wie formale Denkstörungen, Störungen der Affektivität und des Ich-Erlebens, sowie den akzessorischen Symptomen mit Wahn, Halluzinationen und katatonen Symptomen. Kurt Schneider (1938) unterschied zwischen Symptomen ersten Ranges (bestimmte akustische und leibliche Halluzinationen, Störungen des Ich-Erlebens, Wahnwahrnehmung) und Symptomen zweiten Ranges (sonstige akustische Halluzinationen, Coenästhesien i.e.S., optische, olfaktorische und gustatorische Halluzinationen, Wahneinfall).

In der heutigen Praxis wird das Konzept der *Positiv-* und *Negativsymptomatik* verwendet (Möller et al., 2009). Die positiven Symptome sind bei Gesunden nicht vorhanden und der Psyche „aufgelagert“. Die negativen Symptome bezeichnen Eigenschaften, die im Vergleich zu Gesunden, nicht oder in geminderter Form vorkommen. Negativsymptome können primär vorhanden sein, wie Anhedonie und Affektverflachung oder sekundär, wenn sie durch die (vor allem medikamentösen) Behandlungen herbeigeführt werden (Carpenter, Jr. und Kirkpatrick, 1988). Daneben existieren weitere Symptomgruppen, unter anderem die *kognitiven* und *affektiven Symptome* (Bell et al., 1994; Kay und Sevy, 1990; Lancon et al., 2000; Lindenmayer et al., 1995). Die affektiven Symptome lassen sich in die Gruppe der feindseligen Erregung/Agitiertheit und die der depressiven Symptome unterteilen. Folgende fünf Symptomgruppen können spezifiziert werden:

#### **Positivsymptomatik**

Wahn, ungewöhnliche Gedankeninhalte, Größenwahn, Misstrauen und Verfolgungsideen, Halluzinationen, Ich-Störungen

#### **Negativsymptomatik**

Emotionaler Rückzug, Passivität und Apathie, fehlende Spontaneität, mangelnde Beziehungsfähigkeit, Affektverflachung, aktive Vermeidung sozialer Kontakte

#### **Kognitive Defizite**

Formale Denkstörung, Desorientierung, Schwierigkeiten beim abstrakten Denken, Manieriertheit und abnorme Bewegungen, Konzentrationsstörungen

#### **Feindselige Erregung/Agitiertheit**

Erregung, geringe Impulskontrolle, Feindseligkeit, Anspannung

#### **Depressive Symptome**

Ängstlichkeit, Schuldgefühle, Depressivität, Sorge um körperliche Integrität

Diese Symptome können mit variablem Schweregrad zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Erkrankung auftreten.

### 1.3 Erkrankungsbeginn und Verlauf

Ähnlich der Symptomatik besteht kein einheitliches Bild im Verlauf der Erkrankung. Die AgeBeginningCourse (ABC)-Studie, durchgeführt von der Forschergruppe um Professor Heinz Häfner, untersuchte Probanden über einen Zeitraum von bis zu 14 Jahren in mehreren Follow-ups (An der Heiden und Häfner, 2000; Häfner und An der Heiden, 2003). Für diese Studie wurde ein Instrument zur reliablen Erfassung des zeitlichen Ablaufs von Beginn und Frühverlauf der Erkrankung, das Interview für die retrospektive Erfassung des Krankheitsbeginns und -verlaufs bei Schizophrenie, entwickelt. An einer Stichprobe von 232 Probanden, die eine erste schizophrene Episode erlebt hatten, trat die Erkrankung in 77% der Fälle vor dem 30. Lebensjahr auf. Das Hauptrisiko bestand zwischen dem 15. und 35. Lebensjahr. Der Beginn konnte sehr akut erfolgen (18% der Erkrankten), in dem die psychotische Symptomatik voll zum Ausbruch kam oder schleichend im Sinne eines Prodromalstadiums mit leichten psychischen Veränderungen, Nachlassen der Leistungsfähigkeit, Kontaktstörungen, depressiven Verstimmungen und allmählichem Interessesverlust. Dies betraf die Mehrheit der schizophrenen Erkrankten. Mehr als 70% begannen mit negativen oder unspezifischen Symptomen. Nur 7% der Erkrankten zeigten zu Beginn positive Symptome. Die akuten Manifestationen dauerten Wochen bis Monate. In der akuten Psychose traten häufig die Kernsymptome, wie z.B. Wahn und Halluzinationen, auf.

Aus der ABC-Studie ließen sich folgende Erkenntnisse zum Verlauf der Erkrankung ableiten: Dieser ist im Allgemeinen eher ungünstig. In der Regel treten mehrwöchige oder mehrmonatige Schübe auf. Nach einem Schub kann völlige Beschwerdefreiheit auftreten. Daneben existieren kontinuierliche Störungsverläufe. In der oben beschriebenen Longitudinalstudie zeigten 14 Jahre nach der Erstuntersuchung 60% der Patienten einen chronischen Verlauf, 15% zeigten zum Zeitpunkt der Untersuchung keine Symptome, mussten aber mit Neuroleptika behandelt werden und 25% zeigten weder Symptome noch wurden sie mit Medikamenten behandelt. Der Residualzustand ist von einer deutlichen Negativsymptomatik mit produktiver Restsymptomatik geprägt. Daneben können nach Abklingen einer akuten Manifestation postremissive Zustände wie die postpsychotische Depression auftreten.

### 1.4 Diagnostische Kriterien und Klassifikation

Die Diagnose „Schizophrenie“ wird anhand der Symptome mit einem psychiatrischen Interview erfasst. Labordiagnostische Parameter existieren bisher nicht. Um eine gewisse Objektivität zu gewährleisten, wurden teil- bzw. vollstrukturierte Interviews entwickelt, die sich an den gängigen internationalen Klassifikationssystemen, dem „Internationale Klassifikation der Krankheiten (ICD-10)“ der WHO oder dem DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual der APA/USA) orientieren (APA - American Psychiatric Association, 1994; WHO, 1993). Das DSM-IV stellt da-

bei eine Synthese aus Kraepelins Verlauf, Schneiders typischen Wahn- und Halluzinationssymptomen und Bleulers Fundamentalsymptomen, jetzt als Negativsymptome bezeichnet, dar. Die Diagnostik nach ICD-10 bezieht sich im Wesentlichen auf Kurt Schneider (1946).

Tabelle 1.4.1 Diagnostik der Schizophrenie nach ICD-10 und DSM-IV-TR (nach Möller, Laux und Deister, 2009)

ICD-10	DSM-IV-TR
Kontrollwahn, Beeinflussungswahn, Wahnwahrnehmung	Wahn, besonders bizarrer Wahn
Halluzinationen, besonders kommentierende oder dialogisierende Stimmen	stimmungsinkongruente Halluzinationen, besonders kommentierende oder dialogisierende Stimmen
Gedanken-Laut-Werden, Gedankeneingebung, Gedankenentzug, Beeinflussungserlebnisse, Zerfahrenheit, Gedankenabreissen u.a.	Zerfahrenheit
katatone Symptome	katatone Symptome
negative Symptome, wie Apathie, Sprachverarmung, verflachter Affekt	Affektarmut, Antriebsmangel, sozialer Rückzug
	Verschlechterung der sozialen Adaption
charakteristische Symptomatik mindestens 1 Monat	kontinuierliche Anzeichen der Erkrankung mindestens 6 Monate
keine nachweisbare organische Ursache	keine nachweisbare organische Ursache

Die Mischung aus positiven und negativen Symptomen ist Hauptmerkmal der Schizophrenie. Nach DSM-IV-TR-Kriterien dauert das Störungsbild mindestens sechs Monate mit mindestens einmonatig andauernder Symptome einer floriden Phase, verbunden mit deutlichen sozialen oder beruflichen Dysfunktionen. Keine direkte körperlich wirkende Substanz und kein medizinischer Krankheitsfaktor sind für die Erkrankung verantwortlich (Tabelle 1.4.1).

Je nach vorherrschender Symptomatik lässt sich die Schizophrenie in klinische Typen einteilen, wobei die Übergänge zwischen den verschiedenen Untergruppen und Symptombereichen fließend sein können. Dabei werden die paranoid-halluzinatorische, die hebephrene (desorganisierte) und die katatone Form unterschieden. Die wenig charakteristische Symptomatik der Schizophrenia simplex aus dem ICD-10 wird sehr selten diagnostiziert. Der Typus kann sich im Laufe der Erkrankung ändern. Die DSM-IV-Klassifikation unterscheidet neun Verlaufstypen, ausgehend von einer einzelnen Episode mit Vollremission bis hin zu einem kontinuierlichen Verlauf mit und ohne Negativsymptomatik.

## 1.5 Kognitive Beeinträchtigungen bei Schizophrenie

Kognitive Funktionen umfassen verschiedene Hirnleistungen. Sie betreffen basale Domänen wie Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit und Wahrnehmungsleis-

tung sowie die höheren Funktionen Aufmerksamkeit, Gedächtnis und exekutive Funktionen.

Die Bedeutung kognitiver Einbußen bei der Schizophrenie wird bereits an Bleulers formulierten Begriff der „Dementia Praecox“, im Sinne eines demenziellen Prozesses, deutlich. Im ICD-10 wird diese Dysfunktion kurz umrissen: *„Die Störung beeinträchtigt die Grundfunktionen, die dem normalen Menschen ein Gefühl von Individualität, Einzigartigkeit und Entscheidungsfreiheit geben.“* Das DSM-IV bietet auf die Schizophrenie bezogen eine engere Definition und bezeichnet *„die Unfähigkeit, zielgerichtete Handlungen zu beginnen und durchzuführen. Wenn die Willensschwäche schwer genug ist, um als pathologische zu gelten, ist sie tiefgreifend und hält die Person von vielen unterschiedlichen Arten von Handlungen ab, z.B. Arbeit, intellektuelle Herausforderung oder Selbstversorgung.“* Gravierend sind die damit verbundenen Einschränkungen der Betroffenen im Alltag, die neben beruflichen Schwierigkeiten eine selbständige Lebensführung erschweren.

Bei schizophrenen Patienten sind insbesondere die Aufmerksamkeit, wie die selektive und die Daueraufmerksamkeit (Chen und Faraone, 2000; Heinrichs und Zakzanis, 1998), das Gedächtnis (Aleman et al., 1999; Heinrichs und Zakzanis, 1998) und exekutive Funktionen betroffen (Kurtz et al., 2004; Rossi et al., 2002; Stratta et al., 2004). Diese Dysfunktionen sind bereits im Kindesalter sowie in der Adoleszenz anzutreffen, unabhängig von positiven oder negativen Symptomen und implizieren eine prämorbid Eigenschaft vor Ausbruch der Erkrankung (Asarnow et al., 1994; Goldberg et al., 1988). Zusätzlich liefern Longitudinalstudien Hinweise auf überdauernde, neuropsychologische Veränderungen im Sinne einer stabilen Eigenschaft. Erstmanifestierte zeigten nach einem 5-Jahres-Follow-up keine Verschlechterungen des kognitiven Funktionsniveaus (Gold et al., 1999). Rund (1998) wertete 15 Langzeitstudien, welche die Patienten zum Zeitpunkt der Ersterkrankung über einen Mindestzeitraum von einem Jahr untersuchten, aus. Bei den schizophren Erkrankten zeigten sich nur geringe Veränderungen und keine wesentlichen Verschlechterungen in den neuropsychologischen Messungen. Lewis (2004) empfiehlt aufgrund der Schwere und der Stabilität der kognitiven Defizite, Funktionen der Aufmerksamkeit, Gedächtnis und der Exekutive als diagnostisches Kriterium der Schizophrenie zu den Klassifikationssystemen hinzuzufügen.

## 1.6 Störungen des Gedächtnisses bei schizophren Erkrankten

Das Gedächtnis selbst ist ein mehrdimensionales Konstrukt, unterteilt hinsichtlich

- Zeit (Ultrakurzzeitgedächtnis, Kurzzeitgedächtnis, Arbeitsgedächtnis, Langzeitgedächtnis),
- Inhalt (z.B. prozedurales, semantisches, perzeptuelles, episodisches Gedächtnis und Primingsystem) und

- Prozess (Einspeicherung, Konsolidierung und Ablagerung, sowie Abruf von Gedächtnisinhalten).

Basierend auf diesen drei Ebenen wurden psychometrische Verfahren entwickelt, welche einzelne Teilbereiche des Gedächtnisses messen (siehe auch 1.6.2). Die Metaanalyse von (Aleman et al., 1999) bestätigt verminderte Leistungen bei schizophren Erkrankten sowohl bei kurzzeit- als auch in langzeitbezogenen Gedächtnisaufgaben. Auf inhaltlicher Ebene wurden beim Langzeitgedächtnis Beeinträchtigungen im episodischen und semantischen Gedächtnis gezeigt (Aleman et al., 1999; Rossell und David, 2006). Ein Beispiel für eine Untersuchung auf Prozessebene stellt eine Studie über den Einfluss semantischer Enkodierungsstrategien auf den Lernerfolg von Schizophrenen und Gesunden beim Erlernen von unterschiedlich stark semantisch organisierten Wortlisten dar. Schizophren Erkrankte reproduzierten deutlich weniger Worte aus allen Wortlisten als Gesunde (Brébion et al., 2004).

### 1.6.1 Das Arbeitsgedächtnis und seine Komponenten

Eine bedeutende Rolle besitzt das Arbeitsgedächtnis bei der schizophrenen Erkrankung, welche im Folgenden beschrieben wird. Das Arbeitsgedächtnis als ein Konstrukt wurde erstmals von Baddeley und Hitch (1974) vorgestellt. Positioniert zwischen dem Kurzzeit- und Langzeitgedächtnis dient es der Bearbeitung und Vorbereitung der langfristigen Speicherung eingegangener Operationen und Informationen. Dies wird mit dem Bilden (active processing) und Halten (rehearsal) von Informationen und der Veränderung und Manipulation dieser erreicht. Das Arbeitsgedächtnis ist nicht nur ein Speicher, sondern bietet Raum für Prozesse, wie Entscheidungen und Problemlösen. Im ursprünglichen Modell wurden drei Subsysteme angenommen; eine vierte Komponente wurde später hinzugefügt:

- die artikulatorisch-phonologische Schleife: Sie dient der Aufrechterhaltung der gesprochenen und auditorischen Information. Bestehend aus zwei Komponenten hält der phonologische Speicher akustische Informationen für ein bis zwei Sekunden und der artikulatorische Kontrollprozess formt akustische Bilder, unabhängig von der Artikulation analog einer inneren Rede (Baddeley, 1992).
- der visuell-räumliche Notizblock: Er ist ein temporärer Speicher für die Generierung und Manipulation visuell-räumlicher Bilder (Baddeley, 1992).
- die zentrale Exekutive, auch unter dem Namen „supervisory attentional system“ bekannt: Sie kontrolliert die Prozesse der Selektion und Aufrechterhaltung der Information der anderen Subsysteme und ermöglicht einem Individuum, planerisch und zielorientiert und dabei flexibel und effizient zu arbeiten. Zu den Teilfunktionen gehören das Richten von Aufmerksamkeit und Unterdrücken irrelevanter Informationen, die zielgerichtete Planung, die entsprechende Organisation der Reihenfolge der abzuarbeitenden Teilschritte einer Arbeitsgedächtnisaufgabe, das ständige Vergleichen des Ist-Zustandes mit dem vordefinierten Ziel und das Kodieren der zeitlichen Abfolge der einzelnen Informationseinheiten (Smith und Jonides, 1999).
- der episodischen Buffer: Dieser wurde erst später von Baddeley (2000) ergänzt und bildet das Interface zwischen der Subsysteme des Arbeitsgedächtnis und dem Langzeitgedächtnis und dient als Speicher der zentralen Exekutive.

Neben der strukturellen bzw. domänenspezifischen Betrachtung des Arbeitsgedächtnisses entstanden in jüngerer Zeit prozessorientierte Ansätze (Cowan, 1995). Heute werden die Subsysteme auch in das verbale Arbeitsgedächtnis, das räumliche Arbeitsgedächtnis, das visuelle Form- bzw. Objekt-Arbeitsgedächtnis und das episodische Arbeitsgedächtnis unterteilt. Interessant sind die Befunde zu hirneigenen Veränderungen. Neurofunktionelle Studien mit Positronen-Emissions-Tomografie (PET) und funktioneller Magnetresonanztomografie (fMRT), die Arbeitsgedächtnisprozesse untersuchten, zeigten ein bihemisphärisches fronto-parietales Netzwerk unter Einbeziehung des anterioren cingulären Kortex (ACC), (Collette und Van der Linden, 2002; Smith und Jonides, 1999). Links parietale Aktivierungen wurden bei Untersuchungen der phonologischen Schleife beobachtet (Paulesu et al., 1993; Salmon et al., 1996). Studien zum visuell-räumlichen Notizblock konnten eine überwiegend rechtshemisphärische Aktivität nachweisen (Jonides et al., 1993; Smith et al., 1996).

### 1.6.2 Diagnostik des Arbeitsgedächtnisses

Das Arbeitsgedächtnis ist mit seinen einzelnen Hirnleistungen als globales Phänomen schwer zu untersuchen. Eine Vielzahl von Messinstrumenten wird eingesetzt, um die Leistungen der entsprechenden Komponenten zu testen. Mehrheitlich werden neben den reinen Arbeitsgedächtnisfunktionen (das „online“ halten einer Information über eine bestimmte Zeit) auch andere kognitive Aktivitäten untersucht. Dies betrifft insbesondere die exekutiven Funktionen, die stark mit dem Arbeitsgedächtnis assoziiert sind und die eine Manipulation der Informationen einschließen. Perry und Mitarbeiter (2001) empfehlen daher eine Unterscheidung in zwei Komponenten, die der transienten Informationsspeicherung („transient online storage“) und die der exekutiven Funktionen. Zum ersten Bereich zählen z.B. Gedächtnisleistungen der phonologischen Schleife. Diese können beispielsweise mit dem Buchstaben-Zahlen-Test (Gold et al., 1997) erfasst werden, der später in die bekannten Wechslerskalen integriert wurde. Der visuell-räumliche Notizblock wird häufig in Form verzögerter Antwortaufgaben untersucht. Ein Beispiel dafür ist der okulomotorische Test (Park und Holzman, 1992). Die zweite Komponente der exekutiven Funktionen kann mittels des Wisconsin Card Sorting Tests (WCST), ein computerbasiertes Verfahren, in dem 128 Karten in einer bestimmten Zeit gezeigt werden und diese nach verschiedenen Regeln zugeordnet werden müssen, erfasst werden (Heaton et al., 1993). Weitere diagnostische Instrumente der zentralen Exekutive sind die Tower-Tests (z.B. Turm von Hanoi), in denen Gegenstände wie Bälle oder Scheiben in einzelnen Zügen sortiert werden müssen (Müller, 2008), der Trail Making Test (Reitan, 1958) und Dual-Task-Aufgaben, bei denen zwei unterschiedliche Aufgaben simultan verarbeitet werden müssen (Della Sala et al., 1995). Die dichotome Einteilung durch Perry und Mitarbeiter wurde bisher empirisch nicht belegt,

aber aktuelle Daten unterstützen diese Konzepte und können bei der Entscheidung, welche Gedächtnisprozesse untersucht werden sollen, unterstützend sein (Pukrop et al., 2003).

### 1.6.3 Das n-back Paradigma

N-back Aufgaben werden zur Untersuchung der Arbeitsgedächtnisfunktionen eingesetzt. Zahlen, Buchstaben, oder andere Reize werden sequentiell dargeboten. Der Proband hat die Aufgabe zu entscheiden, ob ein gerade gezeigter Reiz schon vorher dargeboten wurde. N indiziert dabei die Position des zuvor dargebotenen Reizes in der Sequenz. Meistens wird der Versuchsreihe eine Kontrollaufgabe als 0-back Aufgabe vorangestellt, die einer Wahlreaktionsaufgabe entspricht. In der 1-back Bedingung soll der Proband auf einen Stimulus reagieren, der zuvor präsentiert wurde, in 2-back auf den Stimulus, der zwei Reize zuvor und in der 3-back Kondition entsprechend drei Reize vor dem aktuellen Reiz präsentiert wurde.

Durch die kontinuierliche Reizdarbietung und die gleichzeitig geforderte Reaktion auf n zuvor präsentierte Stimuli wird neben dem Aufrechterhalten der aktuellen Information auch die kontinuierliche Aktualisierung der Inhalte im Arbeitsgedächtnis erforderlich. Die Aufgaben beanspruchen demnach auch die Prozesse der Manipulation (Manoach, 2003). Obwohl die n-back Aufgaben neben Prozessen des Arbeitsgedächtnisses zahlreiche andere kognitive Funktionen, wie z.B. die Encodierung der Reize oder die Vorbereitung und Exekution von motorischen Reaktionen erfordern, erscheinen sie im Vergleich zu den anderen dargestellten Gruppen von Arbeitsgedächtnis-Aufgaben weniger komplex bezüglich der zusätzlich zum Arbeitsgedächtnis eingesetzten kognitiven Funktionen. Die Möglichkeit einer parametrischen Variation der Beanspruchung des Arbeitsgedächtnisses unter Konstanthaltung anderer Charakteristika der Aufgabe erlaubt die Analyse von Funktionen zwischen der Beanspruchung des Arbeitsgedächtnisses und den gemessenen abhängigen Variablen, wie Reaktionszeiten oder Messungen der Hirnaktivität. In der Literatur finden sich zwei unterschiedliche Versionen von n-back Aufgaben. Entsprechend den geforderten Operationen lassen sich die beiden Anwendungen abgrenzen.

Die „*Continuous Matching Task*“ (CMT, kontinuierliche Vergleichsaufgabe) wurde von Gevins und Mitarbeitern (1990) eingeführt. Sie basiert auf der sequentiellen Darbietung von Reizen, die sich in den verschiedenen Studien je nach Fragestellung unterscheiden. In der n-back Bedingung sollen die Probanden den aktuell präsentierten Stimulus mit dem n-Stimuli zuvor präsentierten vergleichen. Dadurch wird ein kontinuierlicher Vergleich der Stimuli verlangt. Meist wird der eigentlichen n-back Aufgabe eine Kontrollaufgabe vorangestellt. In den Kontrollaufgaben, die als Wahlreaktionsaufgaben konzipiert sind, soll im CMT entweder der erste Stimulus als Vergleichsstandard gemerkt werden oder es wird alternativ ein Stimulus-Typ als Vergleichsstandard vorgegeben. Das Ergebnis dieses Vergleichsprozesses (Über-

einstimmung/fehlende Übereinstimmung) bzw. die Entscheidung soll durch einen Tastendruck signalisiert werden.

Die Forschergruppe um Weinberger (Callicott et al., 1999) modifizierten die n-back Aufgaben zu einem Aufgabentyp, bezeichnet als „*Continuous Delayed Response Task*“ (CDRT, kontinuierliche verzögerte Antwortaufgaben). In der CDRT erscheinen die Reize (Zahlen von 1-4) sequenziell auf einem rautenförmigen Feld in einem jeweils für eine bestimmte Zahl prädefinierten Kreis in einer Ecke der Raute. Entsprechend wird die Antwortbox mit vier Knöpfen gestaltet, so dass die präsentierten Zahlen in der gleichen Konfiguration auf der Antwortbox wie auf dem Display wiedergegeben sind. Die Antwort erfolgt in der CDRT nicht wie in der CMT basierend auf der Entscheidung, ob eine Übereinstimmung bzw. keine Übereinstimmung des aktuellen Stimulus mit einem n-back präsentierten Reiz vorliegt, sondern als direkte Antwort, welche Zahl n Stimuli zuvor auf dem Display zu sehen war. Der Präsentation der n-back Kondition kann eine Kontrollaufgabe vorangestellt werden. Die Probanden erhalten dabei die Anweisung, die aktuell auf dem Display sichtbare Zahl (eine der Zahlen von 1-4) per Knopfdruck wiederzugeben.

#### **1.6.4 Studienergebnisse zum Arbeitsgedächtnis bei schizophrenen Patienten**

Die Neurowissenschaftlerin Goldman-Rakic (1994) vermutete aufgrund ihrer Untersuchungen an Makakenaffen eine grundlegende Störung des Arbeitsgedächtnisses bei schizophrenen Erkrankten. Diese führt zu desorganisiertem Verhalten und zu Positiv- und Negativsymptomen. Der präfrontale Kortex ist dabei in der Organisation und den Prozessen des Arbeitsgedächtnisses involviert.

Unabhängig von antipsychotischen Medikamenten bzw. von einer anticholinergen Behandlung treten Beeinträchtigungen sowohl der phonologischen Schleife, dem visuell-räumlichen Notizblock als auch der zentralen Exekutive auf (siehe Überblicksartikel von Keefe (2000)). Pukrop und Mitarbeiter (2003) verglichen die Leistungen von 66 schizophrene Patienten und 45 gesunden Kontrollprobanden mit einer Testbatterie, bestehend aus acht Aufgaben, die das kurzzeitige Halten der Information und die exekutiven Funktionen des Arbeitsgedächtnisses untersuchten. Die Beeinträchtigungen in den Leistungen zeigten sich in allen Aufgaben, mehrheitlich auch nach Kontrolle des verbalen Intelligenzquotienten. Krieger und Mitarbeiter (2005) untersuchten zwölf erkrankte, unbehandelte Patienten und gematchte Kontrollprobanden. Die CDRT-Methode wurde angewandt, um zwei n-back Aufgaben zu vergleichen und so einzelne kognitive Subprozesse zu spezifizieren. Fünf Aufgaben mit steigender Komplexität wurden dargeboten. Die Patienten zeigten schlechtere Leistungen in der Antwortgenauigkeit und längere Reaktionszeiten. Eine spätere Arbeit bestätigen diese exekutiven Dysfunktionen (Oram et al., 2005).

Die Ergebnisse der bildgebenden Verfahren untermauern die Befunde der klassischen psychometrischen Verfahren. Die schlechteren Leistungen in den Tests zur Untersuchung des Arbeitsgedächtnisses spiegeln sich in der veränderten Hirnaktivität, speziell beim dorsolateralen präfrontalen Kortex (DLPFC) wider.

In einer PET- Studie wurden acht Patienten und eine gematchte Kontrollgruppe mit n-back Aufgaben untersucht. In der 0-back Situation zeigten beide Gruppen gleiche Leistungen mit geringer Aktivierung des DLPFC bei den Patienten. In der 2-back Situation waren die Leistungen der Patienten schlechter und die anwachsende Aktivität des DLPFC und des ACC bei den Patienten geringer als in der gesunden Gruppe (Carter et al., 1998).

Die Arbeitsgruppe um Weinberger (Callicott et al., 1999; Callicott et al., 2003b) erforschten mit Hilfe des n-back Paradigmas funktionelle Hirnveränderungen. In ihren Studien konnten sie wiederholt in fMRT-Untersuchungen eine geringere Aktivität des DLPFC bei schizophrenen Patienten belegen. Die Unterschiede der Arbeitsgedächtnis-Leistungen präsentierten sich nicht in der direkten Lösung der Aufgaben, aber sie waren bei den gesunden Geschwistern der schizophren Erkrankten anhand physiologischer Abweichungen im DLPFC erkennbar (Callicott et al., 2003a).

## 2 Genetik der Schizophrenie

### 2.1 Risikofaktoren der Schizophrenie

Die vermutete Anzahl von Risikofaktoren, die eine schizophrene Erkrankung auslösen können, ist vielfältig. Unklar bleibt bisher, wie stark die verschiedenen Ursachenfaktoren wirken und wie hoch das Erkrankungsrisiko ist. Ein Risikofaktor wird dabei als ein Ereignis beschrieben, welches das Auftreten eines später einsetzenden Ereignisses erhöht. Er kann ein Ereignis direkt verursachen bzw. innerhalb einer Kausalitätskette operieren. Risikofaktoren können stabil und damit nicht veränderbar (z.B. Geschlecht) oder variabel bzw. veränderbar (beeinflussbar: z.B. Alkoholkonsum, sich selbst verändernd: Alter), endogen (genetisch) oder exogen (z.B. Gift) sein. Die Stärke des Zusammenhangs wird mit Hilfe von statistischen Maßen, wie z.B. dem Relativen Risiko (RR) oder der Odds Ratio (OR), berechnet.

Für die Schizophrenie sind folgende potenzielle Risikofaktoren untersucht worden (Tabelle 2.1.1): Die *familiäre Belastung* nimmt einen bedeutsamen Anteil ein. Bei einem betroffenen Erstgradangehörigen steigt das RR auf 8-10, selbst zu erkranken (Merikangas und Risch, 2003). Die Rolle des *Geschlechts* wurde vielfach untersucht. McGrath und Mitarbeiter (2004) berechneten in ihrer Metaanalyse ein Risikoverhältnis von Männern zu Frauen von 1,4 (Median). Häfner (2003) stellte allerdings fest, dass das Lebenszeitrisko im frühen Lebensalter für Männer zwar erhöht ist, diese sich im weiteren Verlauf ausgleichen, so dass Frauen und Männer gleich häufig betroffen sind. Die Unterschiede bestehen folglich im Krankheitsverlauf. *Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen* sind Ursachenfaktoren vieler Erkrankungen mit Verhaltensauffälligkeiten. Bei den pränatalen Risikofaktoren stehen pränataler Stress, intrauterinäre Infektionen während der Schwangerschaft (Influenza), defizitäre Ernährung, Präeklampsie und fetale Hypoxie im Vordergrund. Zu den Komplikationen während der Geburt zählen Frühgeburten und perinataler Sauerstoffmangel, der in einer Hypoxie enden kann (McGrath und Murray, 2003). In ihrer Metaanalyse bestehend aus 16 Fall-/Kontroll-Studien errechneten Geddes und Lawrie (1995) einen OR um 2.0 .

Ein erhöhtes Risiko (RR von 2.4) für die Entwicklung einer Schizophrenie scheint außerdem mit dem *Aufwachsen in Großstädten* verbunden zu sein (Mortensen et al., 1999). Erhöhte Inzidenzraten zeigen auch *Migranten*. Die Metaanalyse von McGrath und Murray (2003) zeigt ein Risikoverhältnis von 4,6 (Median). Das RR für die *Geburt im späten Winter/Frühling* auf der Nordhalbkugel ist allerdings eher gering. Mortensen und Mitarbeiter (1999) ermittelten Risiken von ca. 1.1, nahe dem Unabhängigkeitswert. Drogenkonsum bzw. Substanzmissbrauch spielt im Sinne einer hohen Komorbiditätsrate und der Vermutung einer gemeinsamen genetischen Grundlage eine wichtige Rolle bei der Schizophrenie (Kendler, 1985). In diesem Zu-

sammenhang wird der *adoleszente Cannabiskonsum* als Risikofaktor für Schizophrenie betrachtet (Zammit et al., 2002).

Tabelle 2.1.1 Risikofaktoren der Schizophrenie

Risikofaktoren	Risikoverhältnis
Erkrankter Erstgradangehöriger	8-10
Geschlecht	1.4
Geburtskomplikationen	2-4
Aufgewachsen in Großstädten	1.5-2.4
Drogenkonsum, (v.a. Cannabis)	1.5
Niedriger Intelligenzquotient (aber normgerecht)	1.5
Infektionen des Gehirns in der Kindheit	1.5
Geburt im Winter/Frühling	1.4
Infektionen, Unterernährung der Mutter während der Schwangerschaft	1.2-2.0
Migration (einschl. Elterngeneration)	4.6

Die Interpretation dieser Befunde lässt viel Spielraum. So wurde z.B. die Geburt im späten Winter von McGrath und Murray als Effekt perinataler viraler Belastungen oder verschiedener Ernährungsdefizite während dieser Jahreszeit interpretiert. Geburtskomplikationen können zu zerebralen Schäden führen und die Entwicklung des Gehirns beeinträchtigen. Der Vergleich der einzelnen Risikofaktoren zeigt allerdings, dass die Heretabilität als einzelner Faktor die vermutlich größte Gewichtung hat und wesentlich an der Pathogenese der Schizophrenie beteiligt ist.

## 2.2 Familien-, Adoptions- und Zwillingsstudien

*Familienstudien* dienen der Abschätzung von Wiederholungsrisiken und der Relevanz familiärer im Vergleich mit nichtfamiliären Ursachenfaktoren. Eine familiäre Häufung zeigt sich in den erhöhten Prävalenzraten der Familienmitglieder im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung. Seit der einheitlichen Nutzung der DSM-III-Kriterien für die Diagnose der Schizophrenie sind die Prävalenzzahlen ähnlich (Kendler et al., 1985). Mit dem näheren Verwandtschaftsgrad zu einem schizophren Betroffenen steigt das Lebenszeitrisiko, selbst zu erkranken (Tabelle 2.2.1).

Weitere Belege für ein genetisches Risiko liefern *Zwillingsstudien*. Sie basieren auf dem Vergleich monozygoter mit dizygoten Zwillingen. Unter der Annahme der geteilten Umwelt soll die unterschiedliche Übereinstimmung der genetischen Information eine Auskunft über das Ausmaß der genetisch determinierten Varianz geben. Der Grad der Übereinstimmung wird mit Konkordanzraten geschätzt. Cardno und Gottesmann (2000) fassen die neueren Untersuchungen, bei denen operationalisierte Diagnosen nach DSM-III-R-Kriterien angewandt wurden, zusammen. Die Schätzungen der Konkordanzraten ergeben bei monozygoten Zwillingen zwischen 41% und 65%, bei dizygoten Zwillingen zwischen 0% und 28%.

Anhand von Zwillingsstudien werden Heritabilitätsmaße (=Erblichkeit, der Anteil der phänotypischen Varianz, der auf die genotypische Varianz zurückzuführen ist) berechnet. Zwillingsstudien, die mit operationalisierten Diagnoseinstrumenten wie dem DSM-III-R arbeiteten, berechneten Heritabilitäten zwischen 82% und 85% (Cardno et al., 1999). In einer Metaanalyse von Zwillingsstudien wurde eine Heritabilität von 81% bei einem Konfidenzintervall (KI) von 73% bis 90% bei Schizophrenie geschätzt. Der Varianzanteil der Umwelt bewegt sich bei 11% mit einem KI von 3% bis 19% (Sullivan et al., 2003).

Tabelle 2.2.1 Erkrankungsrisiko für Schizophrenie bei Verwandten von Schizophrenen (nach Riley, Asherson und McGuffin, 2003)

Verwandtschaftsgrad	Erkrankungsrisiko (%)
Normalbevölkerung	1
<i>Erstgradangehörige</i>	
Eltern	5.6
Geschwister	10.1
Geschwister und ein schizophrene Elternteil	16.7
Kind	12.9
Kind mit zwei erkrankten Eltern	46.3
<i>Zweitgradangehörige</i>	
Halbgeschwister	4.2
Onkel/Tanten	2.4
Neffen/Nichten	3.0
Enkelkinder	3.7
<i>Drittgradangehörige</i>	
Cousin/Cousine	2.4

Die Annahme der geteilten Umwelt bei monozygoten und dizygoten Zwillingen ist in Kritik geraten, weil eineiige Zwillinge aufgrund vieler gemeinsamer Interessen oft ähnlicher behandelt werden als zweieiige. Ebenso kann die prä- und perinatale Entwicklung bei den Zwillingen verschieden sein. Einflüsse auf die Zygote, intrauterinäre Infektionen und Geburtskomplikationen können unterschiedlich auf die Hirnentwicklung der Zwillinge wirken und die angenommene gemeinsam geteilte Umwelt zum Artefakt werden (Riley et al., 2003).

Alternativ bieten sich *Adoptionsstudien* an. Sie liegen der Idee zugrunde, genetische von Umweltanteilen zu trennen. Die erste Adoptionsstudie führte Heston (1966) durch. Er fand eine 11%ige Prävalenzrate bei biologischen Erstgradverwandten, unabhängig ob sie innerhalb der biologischen Familie oder nicht mit den biologischen Verwandten aufwuchsen. Dies sprach für einen eher geringen Umwelteinfluss. Weitere Adoptionsstudien bekräftigen den Einfluss genetischer Ursachen auf Schizophrenie (Rosenthal et al., 1971; Tienari, 1991).

Schließlich tritt eine gehäufte Form von schizophrenieähnlichen Befunden bei biologisch Angehörigen schizophrene Erkrankter auf (Kendler et al., 1993; Maier et al.,

1994). Zu diesen sogenannten *Spektrumserkrankungen* gehören neben der Schizophrenie schizoaffektive Störungen, schizotype Persönlichkeitsstörungen und andere Psychosen.

### 2.3 Die Schizophrenie als komplexe genetische Erkrankung

Die biometrische Analyse von Familienstambäumen bzw. Segregationsanalysen zeigen keine monogenetischen Vererbungsregeln. Ein genetischer Einfluss besteht, ohne jedoch den Mendelschen Gesetzen zu folgen. Die Schizophrenie zählt, basierend auf den Erkenntnissen aus Kapitel 2.2, zu den genetisch komplexen Erkrankungen. Allgemeine Kennzeichen dieser wurden von Bailer und Mitarbeitern (2002) formuliert:

- das relativ häufige Auftreten der Erkrankung in der Allgemeinbevölkerung ( $\geq 1\%$ ),
- quantitative Unterschiede (Schweregrad von leicht bis schwer),
- schwer kranke Patienten mit mehr betroffenen Verwandten als leichter erkrankten,
- steiler Abfall des Erkrankungsrisikos in Abhängigkeit des Verwandtschaftsgrades.

Wenn auch keine eindeutigen Aussagen zum Übertragungsmechanismus getroffen werden können, existieren verschiedene genetische Modelle, diesen zu erklären. Anfangs bestand die Annahme eines **Single-Major-Locus-Modells (SML)**. Ein Gen ist für die Entstehung der Krankheit verantwortlich. Die Erklärung für die unterschiedliche Übertragung bestand in der Überlegung einer variablen Expressivität und/oder einer reduzierten Penetranz (der Grad, mit dem der Phänotyp durch den Genotyp determiniert wird). Diskutiert wurde auch die Möglichkeit, dass unterschiedliche einzelne Gene die Schizophrenie verursachen können. Im Sinne der genetischen Heterogenität führen unterschiedliche Allele oder Allelkombinationen unabhängig voneinander zu einem identisch klinischen Krankheitsbild (Holzman et al., 1988). Die Idee der reduzierten Penetranz konnte aufgrund der hohen Konkordanzraten bei Zwillingen nicht aufrechterhalten werden (Freedman et al., 2001; McGue und Gottesman, 1989a; McGue und Gottesman, 1989b).

Im **Multifactorial-Threshold-Model (MFT, Schwellenmodell)** tragen viele Gene zur Erkrankung bei. Es existiert ein normalverteiltes genetisches Risiko zu erkranken. Die Krankheit bricht jedoch erst aus, wenn ein bestimmter Schwellenwert überschritten wird. Die Kritik an dem Modell besteht in der dichotomen Einteilung der Störung (gesund-krank). Krankheiten sind in Wirklichkeit Dimensionen mit einem bestehenden Kontinuum zwischen normal bis krank. Freedman und Mitarbeiter (2001) verglichen das SML-Modell mit einem polygenen Modell und stellten fest, dass die beobachteten Daten den erwarteten im mindestens Zwei-Gen-Modell eher entsprachen als in einem Single-Gen-Modell, wobei auch hier epistatische Effekte unberücksichtigt blieben.

Die Idee der **Mixed Models** versuchte eine Synthese zwischen SML und MFT. Die Expression von einem einzelnen Hauptgen wird modifiziert durch die Interaktion bzw. Koaktion vieler anderer Gene, die nur geringe Effekte besitzen (McGue und

Gottesman, 1989b). Der Versuch diese beiden Modelle zu kombinieren, scheiterte laut McGue und Gottesmann daran, dass die Testpower zu schwach ist, um zwischen SML und MFT zu unterscheiden.

In dem bisherigen klassischen multifaktoriellen Modell wurden die Effekte addiert. Genetische Effekte scheinen aber nicht ausschließlich additiv zu sein. Dafür sprechen zwei Arten von Wechselwirkungen. Beim ersten handelt es sich um Allel-Allel-Interaktionen innerhalb eines einzelnen Gens (Dominanz), oder ein Allel besitzt einen höheren Effekt auf den Phänotyp als alle anderen Allele. Der zweite Typ beschreibt epistatische Effekte, also eine multiplikative Wirkung, die besagt, dass die totale Verantwortlichkeit von  $n$  Genen größer als die Summe von  $n$  Genen ist. Die Definition der *Epistase* ist dabei nicht eindeutig. Dieser Begriff wurde von William Bateson (1909) eingeführt und entsprach damals einer klassisch-genetischen Definition (dominante oder rezessive Epistase). Heute ist er eine allgemeine Bezeichnung für Gen-Gen-Interaktionen. Diese Phänomene werden in Modellen mit Interaktionseffekten zwischen Genen und Allelen beschrieben.

Das formalgenetische Modell der Schizophrenie ist nach heutiger Ansicht die multifaktoriell-polygene Übertragung. Genetische Varianten an verschiedenen Genorten tragen mit geringen bis mäßigen Effekten in Kombination mit Umweltfaktoren zur Ausprägung des Phänotyps bei. Die Beteiligung mehrerer Gene an verschiedenen Genorten erklärt auch die variable phänotypische Ausprägung der Erkrankung (Expressivität) im Sinne der klinischen Heterogenität.

## 2.4 Intermediäre Phänotypen

Die in nachfolgenden Abschnitten 2.5.3 und 2.5.4 beschriebene widersprüchliche genetische Befundlage und die Komplexität der Schizophrenie führten zu der Erkenntnis, dass klinische Diagnosen und Klassifikationssysteme, welche heterogene Störungsbilder gut beschreiben, weniger für genetische Studien geeignet sind (Andreasen, 2000; Andreasen et al., 1999; Chakravarti und Little, 2003; Lewis, 2002). Phänotypen mussten identifiziert werden, welche die Entdeckung von Krankheitsgenen vereinfachen. Darunter fällt die Annahme, dass die Gene diese Merkmale eher modifizieren als die Krankheit als vollständige Entität (Abbildung 2.4.1). Psychische Erkrankungen sind vielmehr das Endprodukt von zahlreichen interagierenden, pathophysiologischen Prozessen, die genetisch beeinflusst werden. Enger definierte neurobiologische Untersuchungsmethoden sollten daher den Ausgangspunkt für Phänotyp-Genotyp-Interaktionen bilden.

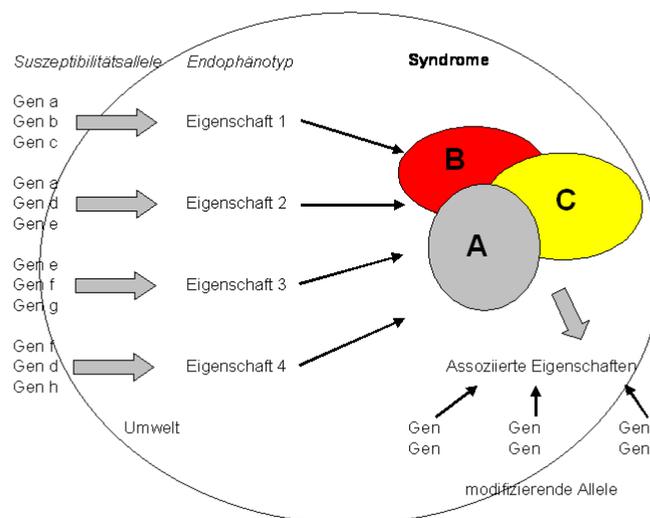


Abbildung 2.4.1 Gen-Endophänotyp-Beziehung, nach (Egan et al., 2003)

Biochemische, endokrinologische, neurophysiologische, neuroanatomische und neuropsychologische Untersuchungsmethoden werden als Endophänotypen bzw. intermediäre Phänotypen bezeichnet. Sie sind stark assoziiert mit der Erkrankung und sollen eine Brücke zwischen Genen und klinischer Diagnose bilden. Folgende Kriterien müssen dabei erfüllt sein:

- Der Endophänotyp muss mit der Krankheit innerhalb einer Population assoziiert sein.
- Er muss vererbbar sein.
- Er ist manifest, besteht also unabhängig davon, ob die Krankheit aktiv ist oder nicht.
- Innerhalb von Familien ko-segregiert er.
- Er kommt bei nicht betroffenen Familienmitgliedern eher als in der Allgemeinbevölkerung vor (Gottesman und Gould, 2003).

#### 2.4.1 Klinische Charakteristika als Endophänotypen der Schizophrenie

Bei der schizophrenen Erkrankung wird, wie bereits erwähnt, zwischen positiver und negativer Symptomatik unterschieden. Um ein eindrückliches Bild von der Erkrankung zu erhalten, werden neben den klassischen diagnostischen Manualen (ICD-10 bzw. DSM-IV) Skalen eingesetzt, wie die von Kay und Mitarbeitern (1986) entwickelte Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS), oder die Scale for the Assessment of Positive/Negative Symptoms (SAPS/SANS), (Andreasen, 1982), welche auch bei folgenden Untersuchungen als diagnostische Instrumentarien genutzt wurden, um die Vererbung klinischer Merkmale zu untersuchen.

Erstgradangehörige von Patienten mit starker Negativsymptomatik zeigen ein höheres Morbiditätsrisiko als Angehörige mit positiven Symptomen (Kay et al., 1986;

van Os et al., 1997). Wickham und Mitarbeiter (2001) stellten einen familiären Einfluss bei den Symptomen psychomotorischer Verarmung (entspricht der Negativsymptomatik) fest. Zwillingsstudien weisen höhere Konkordanzraten bei monozygoten als dizygoten auf (Cardno und Gottesman, 2000; Dworkin und Lenzenweger, 1984). Eine familiäre Aggregation konnte auch bei desorganisierten und manischen Symptomen ermittelt werden (Cardno und Gottesman, 2000; Wickham et al., 2001), während positive Symptome weniger genetischen Einflüssen unterliegen (Cardno und Gottesman, 2000; Kay et al., 1986; van Os et al., 1997; Wickham et al., 2001).

Einige Studien deuten auf einen Zusammenhang zwischen frühem Ersterkrankungsalter bei erhöhtem familiären Risiko hin (Gottesman und Shields, 1976; Kendler und MacLean, 1990; Kendler et al., 1987; Pulver und Liang, 1991; Sham et al., 1994; Suvisaari et al., 1998; Wickham et al., 2002). Daneben bestehen negative Befunde (Cannon et al., 1998; Cardno et al., 1999; Kendler et al., 1997). Insgesamt bleiben die signifikanten Befunde eher moderat. So erreichten Wickham und Mitarbeiter (2002) eine Intraclass Korrelation von 0.24 beim Ersterkrankungsalter innerhalb von 63 Familien. Vermutet wird, dass der genetische Einfluss begrenzt ist, welches Replikationen erschwert und ein früh beginnender Krankheitsausbruch eher schwerer verläuft und ein höheres Maß an Familiarität als eine spät beginnende Schizophrenie zeigt.

Insgesamt kann festgehalten werden, dass genetische Faktoren bei der Negativsymptomatik eine größere Bedeutung zu haben scheinen als bei der Positivsymptomatik. Daher wurde für die Arbeit entschieden, das Konzept der klinischen Subphänotypen aufzugreifen und dieses in das Untersuchungsdesign zu integrieren.

#### **2.4.2 Das Arbeitsgedächtnis als Endophänotyp der Schizophrenie**

Die in Abschnitt 1.6.4 beschriebenen Studien weisen bei schizophren Erkrankten auf eine deutlich höhere Fehlerrate und längere Reaktionszeiten in verschiedenen neuropsychologischen Verfahren hin. Zusätzlich konnten Abweichungen in der Aktivität von Hirnregionen bei schizophrenen Patienten gefunden werden, bei denen das Arbeitsgedächtnis lokalisiert ist. Diese Hinweise implizieren Beeinträchtigungen in den Leistungen des Arbeitsgedächtnisses. Eine Assoziation mit Schizophrenie ist damit bestätigt. Zusätzlich erfüllen die Beeinträchtigungen im Arbeitsgedächtnis das Kriterium einer stabilen Eigenschaft, welches in den vorher dargestellten Langzeitstudien nachgewiesen werden konnte.

Ähnlich den Familienstudien zur Schizophrenie im Allgemeinen, finden sich Belege, dass verminderte Leistungen im Arbeitsgedächtnis ein vererbbarer Phänotyp innerhalb von Familien sind. Bereits ‚At-risk‘- Kinder schizophrener Mütter zeigten Varianten von Verhaltensabweichungen und eine verminderte Aufmerksamkeit (Fish, 1977; Parnas et al., 1982). Wenn auch in milderer Form und im Bereich des Normalen, zeigen nicht psychotische Angehörige von schizophren Erkrankten Dysfunktio-

nen im Arbeitsgedächtnis. Beeinträchtigungen bei Angehörigen fanden sich beispielsweise im visuell-räumlichen Arbeitsgedächtnis (Park et al., 1995).

Goldberg und Mitarbeiter (1988) untersuchten das Arbeitsgedächtnis an monozygoten Zwillingen, diskordant für Schizophrenie, denen gesunde Zwillingspärchen gegenübergestellt wurden. Defizite in der Performanz wurden bereits bei den gesunden Zwillingen der erkrankten Geschwister gefunden. Cannon und Mitarbeiter (2000) verglichen 18 monozygote und 30 dizygote Zwillinge, diskordant für die Schizophrenie mit 110 gesunden Zwillingspaaren. Die Probanden wurden einer neuropsychologischen Testbatterie unterzogen, inklusive zwei Tests zum verbalen und räumlichen Arbeitsgedächtnis. Die kanonische Diskriminanzanalyse zeigte eine genetische Bedeutsamkeit beim räumlichen Arbeitsgedächtnis (partielles  $R^2=0.08$ ,  $p=.030$ ). Die Intraclass Korrelation war beim räumlichen Arbeitsgedächtnis höher bei monozygoten ( $r=.42$ ) als bei dizygoten Zwillingen ( $r=.16$ ,  $p<.010$ ). Auch Egan und Mitarbeiter (2001a) liefern Belege kognitiver Defizite im Arbeitsgedächtnis bei einer höheren Fallzahl schizophrener Patienten ( $n=147$ ) und deren Geschwister ( $n=139$ ) im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe ( $n=47$ ).

Schlussfolgernd kann festgehalten werden, dass das Arbeitsgedächtnis einen soliden Endophänotyp darstellt und sehr hilfreich zur Erforschung der Kandidatengene der Schizophrenie sein kann. Daher wurde das Arbeitsgedächtnis als wichtiger Baustein im Untersuchungsdesign dieser Arbeit integriert.

## **2.5 Identifizierung von Kandidatengen und -regionen**

Nach Abschluss der vollständigen Gensequenzierung des Menschen liegt der Fokus der Genomforschung in der interindividuellen Variabilität des menschlichen Genoms. Wie hoch ist die Variation? Die zugrunde liegende Überlegung besagt, dass bestimmte identifizierte Sequenzunterschiede (DNA-Varianten) neben anderen Funktionen auch für individuelle Krankheitsdispositionen verantwortlich sind. Diese Sequenzunterschiede treten als Polymorphismen auf.

### **2.5.1 Polymorphismen**

Polymorphismen sind chromosomal bekannte Positionen in der DNA-Sequenz, von denen zwei oder mehrere Allele, unabhängig von Allelfrequenz und phänotypischer Ausprägung, existieren und deren unterschiedliche Allele relativ häufig in der Population vorkommen. Diese Polymorphismen dienen als genetische Marker für die Ermittlung der verantwortlichen Gene einer Krankheit. Diese Marker sollen möglichst folgende zwei Eigenschaften besitzen: die gleichmäßige Verteilung über das Genom, um Aussagen über den genetischen Einfluss aller chromosomalen Bereiche zu treffen und hohe Heterozygotieraten für die genetische Aussagekraft bzw. Informativität (Cichon, 2002).

Tabelle 2.5.1 SNPs in den unterschiedlichen Regionen und ihre Funktion, übersetzt nach Tabor und Mitarbeiter (2002)

Variante	Region	Funktion	Häufigkeit im Genom	angenommenes RR auf den Phänotyp
Nonsense	kodierend	vorzeitige Termination einer Aminosäure (AS)-Sequenz	sehr gering	sehr hoch
Missense/Non-synonymous (Non-conservative)	kodierend	verändert AS in Protein mit verschiedenen Eigenschaften	gering	moderat bis sehr hoch, abhängig vom Locus
Missense/Non-synonymous (Conservative)	kodierend	verändert AS in Protein mit verschiedenen Eigenschaften	gering	niedrig bis sehr hoch, abhängig vom Locus
Insertion/Deletion (Frameshift)	kodierend	verändert Leserahmen der Protein kodierenden Region, gewöhnlich mit sehr negativen Konsequenzen für das Protein	gering	sehr hoch, abhängig vom Locus
Insertion/Deletion (im Frame)	kodierend/ nicht kodierend	verändert AS-Sequenz	gering	sehr hoch, abhängig vom Locus
Sense/Synonymous	kodierend	keine Veränderung der AS im Protein – kann Spleißen verändern	mittel	niedrig bis hoch
Promoter/regulatorische Region	Promoter, 5' UTR, 3' UTR	keine Veränderung der AS, kann aber das Niveau, den Ort oder die Zeit der Genexpression beeinflussen	gering bis mittel	niedrig bis hoch
Spleiß-Ort/Intron-Exon Grenzen	innerhalb von 10 bp des Exons	kann Spleiß-Muster verändern oder die Effizienz der Introns	gering	gering bis hoch
Intronisch	Intron	unbekannte, kann Expression der mRNA Stabilität beeinflussen	mittel	sehr gering
Intergenic	nicht kodierender Bereich zwischen den Genen	unbekannt, kann Expression durch DNA-Sequenz, die das Ablesen eines Gens verstärkt, oder andere Mechanismen beeinflussen	hoch	sehr gering

Bis Mitte der 70er Jahre existierten nur eine sehr beschränkte Zahl von Markern, wie Blutgruppensysteme, HLA-Typen und wenige elektrophoretisch nachweisbare Proteinpolymorphismen. Aktuell werden vier Typen genetischer Marker genutzt (Cichon, 2002). Dazu gehören die

- Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismen,
- Minisatelliten,
- Mikrosatelliten und die
- Single Nucleotid Polymorphismen (SNP), bei denen eine einzelne Base mit einer Auftretenshäufigkeit von mindestens einem Prozent innerhalb einer Bevölkerung ausgetauscht ist.

In der Weltbevölkerung existieren etwa zehn Millionen SNPs. Im Durchschnitt ist jede 300ste Base so ein Polymorphismus. Die große Anzahl der interindividuellen Variabilität erschwert die Identifizierung derjenigen, die an der Ätiologie von Krankheiten beteiligt sind. Die Bedeutung der SNPs in den unterschiedlichen Regionen ist nur zum Teil geklärt. Während ein Polymorphismus in der Exon-Region einen Aminosäure-Tausch zur Folge haben und sich direkt auf die Translation des

Proteins auswirken kann, ist das Wissen über die Auswirkung eines SNPs in Introns oder Promotorregionen gering.

Promotorvarianten können die Aktivität des Gens auf Transkriptionsebene beeinflussen. SNPs in der Intron Region können ebenfalls auf die Transkription, das alternative Spleißen oder die mRNA-Stabilität wirken (Tabelle 2.5.1).

### 2.5.2 Die Haplotyp-Blockstruktur

Mit der Entdeckung der Haplotyp-Blockstruktur des menschlichen Genoms ergaben sich neue Überlegungen. In räumlicher Nähe gelegene SNPs werden während der Meiose nicht getrennt voneinander und gemeinsam weitervererbt. Sie befinden sich im Kopplungsungleichgewicht (LD=Linkage Disequilibrium), ein Synonym für allelische Assoziation, welches das überzufällig häufig gemeinsame Auftreten von Allelen an einem genetischen Marker und einem Krankheitsgenort (Chromosom) beschreibt. Diese formieren sich zu Haplotypen. Kopplungsungleichgewichte findet man auch über große Distanzen (50 bis 100 Kilobasenpaare (kb)), welche zur Annahme der Blockstruktur des menschlichen Genoms und zu dem Begriff Haplotyp-Blockstruktur führten. Neben ausgedehnten Blöcken liegen kürzere Regionen, auch Hot Spots genannt, mit sehr häufigen Rekombinationsereignissen (Abbildung 2.5.1). Die Haplotyp-Blockstruktur ist ein Ergebnis der Evolution. Deswegen zeigt sie in verschiedenen Populationen andere Muster (Daly et al., 2001).

Innerhalb eines Haplotyp-Blocks kann die Variabilität von 70 bis 90% einer Population in der Regel durch zwei bis drei häufige Haplotypen beschrieben werden. Weil diese häufigen Haplotypen meistens durch eine kleine Zahl von Varianten sicher unterschieden werden können, wird die Anzahl von Polymorphismen, welche einen Haplotyp-Block charakterisieren, erheblich vermindert (Freudenberg et al., 2002).

Der Vorteil in der Blockstruktur liegt damit in einer Vereinfachung der Suche und damit verbundenen Kostenersparnis, da die Blockstruktur erlauben würde, nur wenige der gekoppelten Varianten zu bestimmen. Schließlich kann man mit der Existenz einer Variante auf die zweite Variante schließen. Sogenannte tagging SNPs können ausgewählt werden und damit die Identifikation der krankheitsverursachenden Gene vereinfachen (Johnson et al., 2001). Der Nachteil in der Blockstruktur liegt am Informationsverlust, wenn einzelne verantwortliche SNPs detektiert werden sollen. Allerdings liefern die üblichen Genotypisierungsverfahren keine Phaseninformation. Erst bei drei Generationen ist es möglich, die Haplotypen zu zählen. Stochastische Verfahren, wie der Expectation-Maximization-Algorithmus (Excoffier und Slatkin, 1995), berechnen die Wahrscheinlichkeit der Verteilung von Haplotypen.

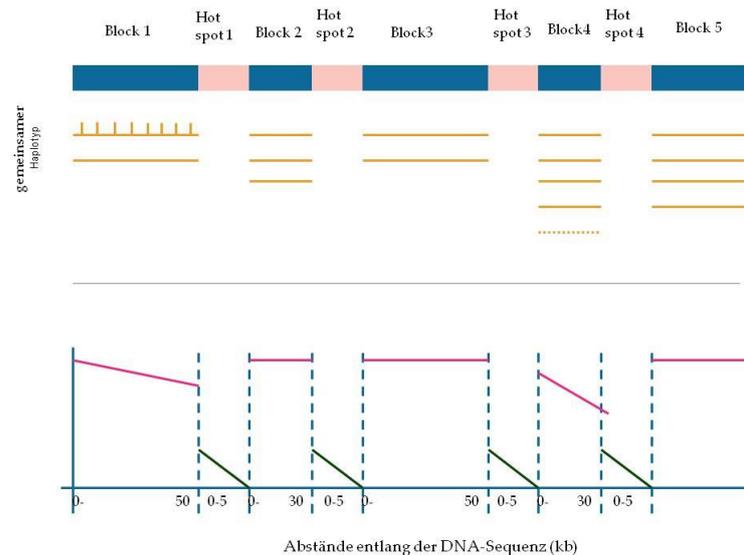


Abbildung 2.5.1 Die Haplotyp-Blockstruktur nach Goldstein (2001)

Für die Identifikation des Krankheitsgens bestehen zwei Strategien, Kopplungs- und Assoziationsstudien. Die beiden Begriffe Kopplung und Assoziation unterscheiden sich darin, wie die Abweichung von dem dritten Mendelschen Gesetz gemessen wird.

### 2.5.3 Kopplungsuntersuchungen

*Kopplung* bedeutet, dass ein Phänotyp (Krankheit) und ein genetischer Marker überzufällig häufig ko-segregieren, also gemeinsam vererbt werden. Die DNA-Sequenz und ein genetischer Marker werden während der gametischen Zellteilung mit immer geringerer Wahrscheinlichkeit voneinander getrennt, je näher sie auf einem Chromosom liegen. Kopplungsuntersuchungen versuchen, durch genomweite Scans die Ko-segregation eines polymorphen Markers innerhalb von Familien nachzuweisen.

Beim Genomscan werden Marker, wie Mikrosatelliten oder SNPs verwendet, die im Abstand von mindestens 5-20cM über das Genom hinweg verteilt sind. Zur Berechnung wendet man parametrische Verfahren, wie die Lod-Score-Methode an. Da Parameter bei genetisch komplexen Erkrankungen nur geschätzt werden können, werden zusätzlich parameterfreie Methoden verwendet (z.B. Identical By Descent-Methode, ausgedrückt im Non-Parametric Linkage (NPL)-Wert). Gemessen mit logarithmisierten Odds Ratios (LOD), nimmt man bei klassischen Mendelschen Erbgängen ab einem Wert von 3 (Wahrscheinlichkeit der Nichtkopplung zu Kopplung ist 1:1.000) eine Kopplung an. Dieser Wert ist bei genetisch komplexen Erkrankungen oft schwer zu erreichen. Lander und Kruglyak (1995) geben Leitlinien für die Interpretation von Kopplungsbefunden. Ab einem LOD Wert von 1.9 (2.2 bei Sibpair-Methode) kann von einer vermuteten Kopplung gesprochen werden. Eine signifikante Kopplung wird ab einem LOD-Wert von 3.3, (3.6 bei Sibpair-Methode) angenommen.

Tabelle 2.5.2 wichtigste Kopplungsbefunde zur Schizophrenie und deren Erstautoren

Chromosom	Population	Genetisches Modell	Ergebnis	Erstautoren (Jahr)
1q21-22	Kanada	dominant, rezessiv	hLOD=5.8	Brzustowicz et al. (2000)
1q42	Großbritannien	Dominant	LOD=3.6	Blackwood et al. (2001)
2q	Finnland	dominant, rezessiv	$Z_{(\max)}=4.4$	Paunio et al. (2001)
5q21-33	Island/England	Dominant	LOD=6.5	Sherrington et al. (1988)
6p22-24	Irland	unbekannt	hLOD=3.5	Straub et al. (1995)
6q13-26	USA	parameterfrei	MLS=3.1	Cao et al. (1997)
8p22-21	USA	dominant, rezessiv, parameterfrei	LOD=3.0	Pulver et al. (1995)
10p15-11	USA	parameterfrei	NPL=3.4	Faraone et al. (1998)
	Irland	rezessiv	hLOD=2.0	Straub et al. (1998)
13q32-34	Großbritannien /Japan	dominant	LOD=1.6	Lin et al. (1995)
15q13-14	USA	dominant	P50 Welle LOD=5.30	Freedman et al. (1997)
18p	Deutschland / Israel	dominant	LOD=3.1	Schwab et al. (1998)
22q11-13	USA	rezessiv	LOD=2.1	Coon et al. (1994)
	USA	dominant	MLS=1.54	Pulver et al. (1994a)

hLOD = heterogener logarithmisiertes Odds Ratio,  $Z_{(\max)}$  = LOD-Wert, MLS = Maximum LOD score, NPL = Nonparametrisches Linkage Score

Kopplungsuntersuchungen erlebten in den 90ern aufgrund des technischen Fortschrittes einen großen Aufschwung. Die ersten Untersuchungen wurden nur an sehr kleinen und heterogenen Stichproben vorgenommen. Nicht selten trat der Fall auf, dass ein positiver Befund eine Anzahl negativer Replikationen nach sich zog. Um diesen Effekt zu vermeiden wurden sorgfältigere Methoden und Strategien definiert. Zum einen betraf dies die Erhöhung der Stichprobengröße, die Untersuchung nur einer ethnischen Gruppe und die diagnostischen Kriterien, verbunden mit dem Einschluss eines kleineren Spektrums psychotischer Störungen. Dies gilt für Kopplungsstudien ebenso wie für die in Kapitel 2.5.4 beschriebenen Assoziationsstudien. Der unbekannte Vererbungsmodus erschwert die Interpretation der Befunde. Abhängig von der Auswahl des zugrunde liegenden genetischen Modelles unterscheiden sich die Ergebnisse. Fanden zunächst zur Berechnung der Parameter die klassischen Modelle der Vererbung Anwendung, wurden später vermehrt parameterfreie Methoden hinzugezogen.

Tabelle 2.5.2 zeigt die signifikantesten Kopplungsbefunde und die zugrunde liegenden genetischen Modelle der Erstautoren. Es werden ausschließlich die Regionen angegeben, die bereits mehrfach in anderen Populationen repliziert wurden. Nicht selten kamen verschiedene Forschergruppen unabhängig voneinander zu ähnlichen Befunden, wie bei Chromosom 10 oder 22. Einen ausführlichen Überblick zu positiven und negativen Befunden, auch anderer chromosomaler Regionen, geben Riley und Mitarbeiter (Riley et al., 2003).

Auf der Symptomebene decken sich die Befunde aus Kopplungsuntersuchungen zum Teil mit denen der Schizophrenie. Wilcox und Mitarbeiter (2002) untersuchten 78 Geschwisterpaare und erreichten LOD-Werte über 3,0 auf den Chromosomen 6p, 6q, 9pter und 20q bei den desorganisierten und LOD-Werte über 2,0 auf Chromosom 12q bei den negativen Symptomen. Einschränkend für diese Untersuchung ist die Qualität der Stichprobe, die aus europäischen und afrikanischen Amerikanern besteht. Kendler und Mitarbeiter (1996) entdeckten signifikante Befunde auf Chromosom 8 für die klinischen Merkmale inhaltliche (positive) Denkstörungen, Affektverflachung, Depression, schlechtes Anpassungsniveau.

Eine molekulargenetische Untersuchung zum Ersterkrankungsalter ergab einen LOD-Wert von 2.54 auf Chromosom 17q und erhöhte Werte (zwischen 1.50 und 1.71) auf den Chromosomen 2, 3, 13 und 2 (Cardno et al., 2001). In einer Kopplungsuntersuchung zum Arbeitsgedächtnis identifizierten Gasperoni und Mitarbeiter (2003) Chromosom 1q41 als Suszeptibilitätsregion.

Zwei Metaanalysen versuchten mehr Klarheit in die inkonsistenten Befunde zu bringen (Badner und Gershon, 2002; Lewis et al., 2003). Badner und Gershon identifizierten die stärksten Kopplungen auf Chromosom 8p, 13q und 22q. Der Chromosomenabschnitt 22q ist mehrfach repliziert worden (Gill et al., 1996; Schwab et al., 1995; Wildenauer et al., 1996). In der Metaanalyse von Lewis und Mitarbeiter zeigte das Chromosom 2 eine signifikante Kopplung. Offen bleibt, inwieweit größere Stichproben in Metaanalysen zu Lasten der Stichprobenhomogenität gehen.

Ein Problem der Kopplungsanalyse liegt in der Annahme eines Haupteffektes des Gens. Das entspricht nicht dem Modell der polygenen Vererbung. Penetranzwerte und die Häufigkeit des krankheitsverursachenden Gens müssen geschätzt werden. Fehler in der Bestimmung dieser Werte führen zum Verlust der Teststärke und somit zu falsch negativen Ergebnissen (Clerget-Darpoux et al., 1986). Es ist möglich, dass keine Studie die ausreichende statistische Power besitzt. Bei einer sehr konservativen Betrachtung einer Testpower von 80% und einer Irrtumswahrscheinlichkeit von einem Prozent wären jedoch 4.900 Verwandte nötig (Sullivan, 2005). Aber auch Analysen mit einer großen Anzahl von Familien zeigen Variationen in den Schätzwerten, welches die Interpretation der Studien erschwert (Roberts et al., 1999). Umgekehrt können unter den Umständen der ätiologischen Heterogenität falsch positive Befunde entstehen.

#### 2.5.4 Assoziationsstudien

Für die Identifizierung geringer bis moderater Effekte potenzieller Risikogene bieten sich Assoziationsuntersuchungen an. Eine *Assoziation* liegt vor, wenn ein spezifisches Allel eines genetischen Markers in der Population häufiger bei erkrankten als bei gesunden Probanden vorkommt. Es wird nach Unterschieden in den Allelfrequenzen von bekannten Varianten in der DNA-Sequenz gesucht.

Die Assoziationsstudie vergleicht eine Patienten- mit einer Kontrollstichprobe hinsichtlich eines mit der Erkrankung assoziierten genetischen Merkmals. Assoziationsstudien untersuchen bei genetisch komplexen Erkrankungen *funktionelle* und *positionelle Kandidatengene*. Erstere sollen eine Rolle in der Pathophysiologie der Erkrankung spielen. Die Entdeckung solcher kann auch über Chromosomenanomalien erfolgen. Zweitere befinden sich in chromosomalen Regionen, bei denen eine Kopplung nachgewiesen wurde. Es ist möglich, dass die Polymorphismen in den Kandidatengen selbst die Expression eines Gens oder das Protein verändern oder sich das Gen im Kopplungsungleichgewicht mit dem eigentlichen funktionellen Gen befindet. Statistisch wird der Zusammenhang in Odds Ratios ausgedrückt. Der *Kandidatengenansatz* musste sich der Kritik unterziehen, dass die Assoziationsbefunde oft nicht replizierbar waren und die biologische Plausibilität fehle, funktionelle Kandidatengene vorherzusagen (Tabor et al., 2002). Um falsch positive Befunde zu vermeiden, müssen die Stichproben aus der gleichen Bevölkerungsgruppe stammen. Eine andere effiziente Methode sind familienbasierte Verfahren, wie die Trios, die Patienten und ihre gesunden Geschwister oder Eltern untersuchen (Spielman et al., 1993). Bei diesem Design interessiert die beobachtete Übertragungshäufigkeit der Allele der heterozygoten Eltern auf die erkrankten Kinder. Der Erkrankungsstatus der Eltern ist unerheblich. Auch bei diesem Verfahren wird kein bestimmtes Vererbungsmodell vorausgesetzt. Familienbasierte Untersuchungen bieten den Vorteil, dass falsch positive Assoziationen aufgrund von Populationsstratifikation vermieden werden. Andererseits können für die Phaseninformation nur Eltern mit heterozygotem Genotyp beim Trio-Design herangezogen werden. Das bedeutet einen Verlust der statistischen Power, die bei einem Fall-/Kontrolldesign stärker gegeben ist.

#### *Funktionelle Kandidatengene*

Ausgehend von der Theorie der biochemischen Imbalancen der Neurotransmitter interessierten vor allem funktionelle SNPs (in Exonregionen mit Aminosäureaustausch) innerhalb von Rezeptorgenen. Exemplarisch sollen hier einige Gene vorgestellt werden, die insbesondere in den 90er Jahren großes Interesse hervorriefen (Tabelle 2.5.3).

Tabelle 2.5.3: Übersicht funktioneller Kandidatengene der Schizophrenie

Gen	Lokus	SNP	Funktion	Erstautoren (Jahr)
DRD2	11q22-23	Cys311Ser	Missense Mutation von C zu G führt zu einer Substitution von Serin zu Cystein auf Codon 311	Arinami et al. (1994)
DRD3	3q13.3	Ball	Serin zu Glycin, Restriktionsort für Ball-Enzym	Crocq et al. (1992)
5-HT <sub>2A</sub>	13q14	T102C	Synonymous, kodiert Serin in Promoterregion	Williams et al. (1996)
GRM3	7q21-22	+1131C/T	unbekannt	Marti et al. (2002)

Der DRD2-Rezeptor gilt als Hauptwirkungsort klassischer Neuroleptika und gehört zum *dopaminergen* System. Ursprünglich wurde bei der *Dopaminhypothese* von einer allgemeinen Überfunktion dopaminerger Strukturen ausgegangen (Carlsson und Lindquist, 1963a). Heute besteht die Vorstellung eines mesolimbisch-mesokortikalen Ungleichgewichts, mit frontaler dopaminerger Hypoaktivität und einer daraus folgenden mesolimbischen dopaminergen Hyperaktivität (Davis et al., 1991). Zum *dopaminergen System* gehören die Rezeptoren der D1 Familie (DRD1, DRD5) und die der D2 Familie (DRD2, DRD3, DRD4, ). Im Zentrum der Aufmerksamkeit stand der funktionelle **Cys311Ser**-SNP im **DRD2**-Gen; Cystein kommt häufiger bei schizophrenen Patienten vor (Itokawa et al., 1993). Es besitzt die Hälfte der Rezeptoraffinität für Dopamin als der Wildtyp Serin und die Signaltransduktion ist bis zu 44% in Zellen, die diese Variante exprimieren, reduziert (Cravchik et al., 1996). Der **Ball** (oder S9G)-Polymorphismus im Exon 1 des **DRD3**-Gens ersetzt Serin durch Glycin, welches zu einem Restriktionsort für das Ball-Enzym führt (Lannfelt et al., 1992). Die Affinität für Dopamin ist bei Glyzin höher als bei Serin. Patienten zeigten häufiger eine homozygote Genotypverteilung als gesunde Kontrollen. Eine Metaanalyse über 30 Fall-/Kontrollstudien bestätigte diese Verteilung mit einer Odds Ratio von 1.2. In dem familienbasierten Design wurde besonders häufig der Ser-Ser Genotyp innerhalb der Familien weiter vererbt (Williams et al., 1998).

Weiterhin wurden *serotonerge Systeme* untersucht, da Lysergsäurediethylamin, welches schizophrenieähnliche Symptome erzeugt, an den Serotonin (5-HT)-2A-Rezeptor bindet. Zusätzlich haben atypische Neuroleptika neben einem Dopamin-D2- vor allem einen 5-HT-2A-antagonistischen Effekt. Innerhalb des **5-HT<sub>2A</sub>** Gens wurde eine Assoziation mit dem **T102C** Polymorphismus und Schizophrenie entdeckt (Williams et al. 1996). Dieser SNP befindet sich in der Promoterregion des Exon 1 Abschnittes. Beide Allele kodieren Serin auf Codon 34. Ein Aminosäureaustausch findet nicht statt (Warren et al. 1993). Vermutlich beeinflusst er die Genregulation.

**GRM3**, welches den metabotropen Glutamatrezeptor Typ 3 codiert und als Vertreter der Glutathypothese (Abschnitt 3.1.2) steht, zeigte ein signifikant häufigeres Auftreten des T-Allels in einem SNP(+1131C/T) in Exon 3 in der Gruppe der erkrankten Probanden. Allerdings konnte dieses Ergebnis an einer größeren Population nicht repliziert werden (Marti et al., 2002).

#### *Chromosomenaberrationen*

Chromosomenanomalien wurden beschrieben auf Chromosom 22q11, im Zusammenhang mit dem Velokardialen Fazialen Syndrom (Scambler et al., 1992). Dieses Syndrom geht mit Psychoseerkrankungen einher (Pulver et al., 1994b). Auf diesem Chromosomenabschnitt befinden sich die Gene Catechol-O-Methyltransferase (**COMT**), Proline Dehydrogenase (**PRODH**) und Zinc Finger- und DHHC Domain-Containing Protein 8 (**ZDHHC8**, Tabelle 2.5.4). Diese Region zeigte ebenso hohe Kopplungsbefunde bei Schizophrenie (siehe Kapitel 2.5.3).

Besonderes Interesse galt dem Val158/108Met-Polymorphismus im **COMT** (Catechol-O-Methyltransferase) Gen, welcher zu einem Aminosäureaustausch von Valin zu Methionin führt. COMT methyliert eine Vielzahl von Catecholsubstraten, wie die Catecholamine und Catecholestrogene. Da es Dopamin abbaut, ist es ein attraktives Kandidatengen zur Untermauerung der Dopaminhypothese. Das Met-Allel zeigt dabei eine geringere Enzymaktivität (Lachman et al., 1996). Das bisher am besten untersuchte Gen in Bezug auf das Arbeitsgedächtnis ist COMT. Egan und Mitarbeiter (2001b) bringen das COMT-Gen (Val/Met-Polymorphismus) in Zusammenhang mit verminderter Arbeitsgedächtnisleistung. Goldberg und Mitarbeiter (2003) zeigten eine höhere Leistung bei 1-back und 2-back Leistungen bei Individuen mit dem Genotyp Met/Met, währenddessen der Genotyp Val/Val die schlechtesten Leistungen aufwies. Dem widersprechen die Befunde von Ho und Mitarbeitern (2005), welche an 159 Schizophrenen und 84 Patienten keine Assoziation zwischen dem Val158Met-Polymorphismus und Arbeitsgedächtnis-Leistungen entdecken konnten.

Tabelle 2.5.4 Übersicht der Kandidatengene aufgrund von Chromosomenaberrationen

Lokus	Gen	Erstautoren (Jahr)
22q11	COMT	Li et al. (1996)
	PRODH	Jacquet et al. (2002)
	ZDHHC8	Mukai et al. (2004)
1q42	DISC1	Devon et al. (2001)
	DISC2	Devon et al. (2001)

Eine balancierte chromosomale Translokation auf Chromosom 1q42 zeigte hohe Kopplungswerte bei der Schizophrenie. Diese Translokation wurde auch bei Personen mit psychischen Erkrankungen entdeckt (St Clair et al. 1990) und unterbricht zwei Gene, Disrupted In Schizophrenia 1 und 2 (**DISC1**, **DISC2**, (Millar et al., 2000).

#### *Positionelle Kandidatengene*

Regionen mit hohen Kopplungsbefunden wurden nach Genen und deren Polymorphismen untersucht. Die Gene, die hier vorgestellt werden, befinden sich auf solchen für die Schizophrenie interessanten chromosomalen Regionen (Tabelle 2.5.5). Signifikante Befunde positioneller Kandidatengene werden häufig in dem Sinne interpretiert, mit der wahren krankheitsverursachenden Variante im Kopplungsgleichgewicht zu stehen. Wurden die Gene zunächst anhand hoher Kopplungsbefunde identifiziert, so existieren inzwischen bei der Mehrheit dieser Gene funktionelle Studien, die weitere Belege einer Beteiligung der Gene zur Entwicklung einer Schizophrenie liefern.

**Dysbindin (DTNBP1)** z.B., welches das Dystrobrevin bindende Protein 1 kodiert, ist ein typisches positionelles Kandidatengen. Straub und Mitarbeiter (2002a) entdeckten signifikante Assoziationen genetischer Marker in der oftmals replizierten Region in Chromosom 6 und Schizophrenie in einer irischen Stichprobe. Diese Mar-

ker befanden sich auf dem Gen Dysbindin. Dysbindin gilt heute als eines der bedeutsamsten Gene für die Pathologie der Schizophrenie.

**RGS4** (Regulator of G-Protein Signalling 4) wurde zunächst durch eine Genexpressionsanalyse entdeckt und befindet sich ebenfalls auf einer interessanten chromosomalen Region. Sie zeigte eine verminderte Anzahl Protein kodierender Transkripte bei RGS4 im präfrontalen Cortex schizophrener Patienten, die präsynaptische Funktionen regulieren (Mirnics et al., 2001). Duan und Mitarbeiter (2004) identifizierten einen signifikanten Polymorphismus im **TRAR4** (Trace Amine Rezeptor 4)-Gen auf der chromosomalen Suszeptibilitätsregion 6q.

*Tabelle 2.5.5 Übersicht positioneller Kandidatengene*

<b>Gen</b>	<b>Lokus</b>	<b>Erstautoren (Jahr)</b>
Dysbindin	6p22.3	Straub et al. (2002a)
Neuregulin 1	8p12-21	Stefansson et al. (2002)
G72 (DAOA)	13q22-34	Chumakov et al. (2002)
RGS4	1q21-22	Chowdari et al. (2002)
PPP3CC	8p21	Gerber et al. (2003)
TRAR4	6q23.2	Duan et al. (2004)

**NRG1** (Neuregulin1), **G72** bzw. **DAOA** (Aminosäureoxidase-Aktivator) und **PPP3CC** sind ebenfalls positionelle Kandidatengene, welche in den nächsten Kapiteln ausführlich beschrieben werden.

### 3 Glutamat und Schizophrenie

Äthiopathogenetische Modelle beschreiben genetische als auch exogene Risikofaktoren (Abschnitt 2), welche zu einer Prädisposition mit hirnstrukturellen und biochemischen Veränderungen und schließlich zur schizophrenen Erkrankung führen können. Diese biochemischen Imbalancen finden ihren Ausdruck in verschiedenen Hypothesen. Die derzeit wichtigsten sind die Dopamin- und die Glutamathypothese (Carlsson und Lindquist, 1963; Kim et al., 1980), wobei auch Theorien anderer Neurotransmittersysteme, wie z.B. des serotonergen und GABAergen Systems intensiv erforscht werden (Guidotti et al., 2005; Huttunen, 1995). Der Fokus in dieser Untersuchung lag dabei auf der Beteiligung von Suszeptibilitätsgenen, die im Zusammenhang mit dem glutamatergen System beschrieben wurden.

#### 3.1 Das glutamaterge System

Glutamat ist neben Glyzin und Gamma-Aminobuttersäure (GABA) ein Aminosäuretransmitter, gebildet aus der Aminosäure Glutamin oder aus alpha-Ketoglutarat, einem Produkt des Zitronensäurezyklus. Diese drei Botenstoffe kommen bei 75-90% aller Neurone des Gehirns und Rückenmarks vor (Thome und Riederer, 2005). Typische glutamaterge Neurone sind die Pyramidenzellen des Hippokampus, kortikale Motoneurone und Neurone, die in die Basalganglien projizieren. Glutamat ist der am häufigsten vorkommende kortikale Neurotransmitter und gilt als der am stärksten erregend wirkende (Cotman et al., 1987). Die Besetzung seiner Rezeptoren führt zur Depolarisation. Vom Glutamatrezeptor existieren mehrere Unterformen, teils G-Protein gekoppelt (metabotrope Glutamatrezeptoren), teils Ionenkanalgekoppelte Rezeptoren (Kim et al., 1998). Gemeint sind Ionenkanäle in der Zellmembran, die durch die Bindung ihres Liganden Glutamat aktiviert werden. Der NMDA-Rezeptor ist bisher am intensivsten untersucht.

##### 3.1.1 Der NMDA-Rezeptor

Der N-Methyl-D-Aspartat-(NMDA-)Rezeptor ist einer von drei ionotropen Glutamat-Rezeptoren (Kim et al., 1998), neben dem AMPA- und dem Kainat-Rezeptor, und befindet sich an der Postsynapse. Seine Funktion ist die Steuerung GABAerger Neurone, um die tonische Hemmung beizubehalten (Farber et al., 1995). An diesem Rezeptor bindet NMDA, ein Analog von Glutamat (Brewer und Cotman, 1989). Dieser ist mit einem Ionenkanal verbunden, der Natrium- und Calcium-Ionen den Eintritt in die Zelle erlaubt und zudem leitfähig für Kalium-Ionen ist (Espinoza und Parer, 1991). Der Rezeptor-Ionenkanal-Komplex spielt eine kritische Rolle in der neuronalen Entwicklung des Menschen, beim Lernen, Erinnern und der synaptischen Plastizität (Fritz et al., 1999). Innerhalb des Ionenkanals befindet sich die PCP-Bindungsstelle (Phenylciclidin), an die nichtkompetitive Glutamatantagonisten bin-

den (z.B. PCP, Ketamin, MK801=Dizocilpin). Glyzin als Co-Agonist ist für die Aktivierung des Rezeptors notwendig (Cotman et al., 1987). Die Rezeptoren sind im gesamten Gehirn verteilt, vor allem aber im Telencephalon, der CA1-Region des Hippokampus (Cotman et al., 1987).

### 3.1.2 Die Glutamathypothese der Schizophrenie

Die ursprüngliche Glutamathypothese der schizophrenen Psychosen geht von einer Unterfunktion des glutamatergen Systems aus. Sie wurde von Kim und Mitarbeitern (1980) begründet. Die Forschergruppe fand einen verminderten Glutamatspiegel im Liquor cerebrospinalis bei Schizophrenie-Patienten. Die Auslösung postoperativer Halluzinationen und Psychosen durch das seit den 50er Jahren eingesetzte Anästhetikum PCP, ein nichtkompetitiver Antagonist des NMDA-Rezeptors, der den Ionenkanal direkt blockiert, galt als weiterer Hinweis. PCP löst schizophrenie-ähnliche positive als auch negative Symptome aus (Javitt und Zukin, 1991). Die Hypothese entwickelte sich weiter, aufbauend auf den Befunden in post mortem Gehirnen von Schizophrenen, in denen eine veränderte Expression von Glutamatrezeptoren beobachtet wurde (Konradi und Heckers, 2003). Die weitreichenden Befunde lassen eine starke Beteiligung des NMDA-Rezeptors an der Schizophrenie vermuten. Moderne in-vivo-Messungen von Glutamat, die mithilfe der Protonen-Magnetresonanzspektroskopie möglich sind, zeigen neben verminderter Konzentrationen von Glutamat z.B. im anterioren Zingulum (Gallinat und Gudlowski, 2008) auch erhöhte Konzentrationen im Hippokampus und rechten präfrontalen Kortex (Olbrich et al., 2008; Theberge et al., 2002; Van Elst et al., 2005). Unterschiedliche Glutamatkonzentrationen scheinen somit Auswirkungen auf verschiedene Symptome der Schizophrenie zu haben.

### 3.1.3 Die Rolle des glutamatergen Systems beim Arbeitsgedächtnis

Da der Neurotransmitter Glutamat entscheidend am Vorgang der „Long Term Potentiation“ beteiligt ist, ein Modell für Lernen und Gedächtnis, trägt das glutamaterge System wesentlich zur Plastizität und Kognition des menschlichen Gehirns bei. Tiermodelle belegen diese Aussage. Ein durch Ketamin beeinträchtigtes Arbeitsgedächtnis war mit einer erhöhten Freigabe von Glutamat und Dopamin in Nagetieren verbunden (Verma und Moghaddam, 1996). Haloperidol (ein Dopamin-2-Rezeptorantagonist) und ein mGluR2-Agonist wiederum reduzierten die kortikale Freigabe von Glutamat und die Beeinträchtigungen im Arbeitsgedächtnis verringerten sich (Moghaddam und Adams, 1998; Verma und Moghaddam, 1996). Mit MK801 injizierte Rattenjunge zeigten eine verminderte kognitive Flexibilität und Dysfunktionen im Arbeitsgedächtnis (Stefani und Moghaddam, 2005). Unter kontinuierlicher Verabreichung von MK801 wiesen Affen, die bei Bewusstsein waren, eine geringere Anzahl von Glutamat im präfrontalen Cortex auf, gemessen mit einem PET-Scan (Tsukada et al., 2005).

Einige Experimente wurden mit Ketaminen an gesunden Probanden durchgeführt. Durch die Gabe dieses NMDA-Antagonisten wurden die Leistungen in der verbalen Flüssigkeit reduziert (Ghoneim et al., 1985; Krystal et al., 1994). Krystal und Mitarbeiter (2000) untersuchten in zwei Studien den Beitrag des NMDA-Rezeptors auf die exekutiven Funktionen. Mit 15 gesunden Probanden wurde in der ersten Studie der WCST an zwei Testtagen mit einer Woche Unterbrechung durchgeführt. In der zweiten Studie wurden an 22 gesunden Probanden ebenfalls kognitive Tests wie der WCST an zwei Testtagen mit einer einwöchigen Unterbrechung durchgeführt. Dabei wurde vorher einer Gruppe Ketamin verabreicht und der anderen Placebo. In der ersten Studie konnten die Probanden beim zweiten Durchgang ihre Ergebnisse im WCST verbessern. In der zweiten Gruppe zeigten die Probanden am ersten Tag schlechtere Leistungen als die Kontrollgruppe, die Placebo erhalten hatte. Dieses Ergebnis zeigte sich allerdings nicht am zweiten Testtag. Für Krystal und Mitarbeiter war dies ein weiterer Beleg einer Assoziation des NMDA-Rezeptors mit exekutiven Funktionen. Schließlich wurden bei der Gabe von Ketamin bei zehn gesunden Probanden Defizite im Arbeitsgedächtnis auf verhaltens- und elektrophysiologischer Ebene, gemessen mit ereigniskorrelierten Potenzialen, identifiziert (Ahn et al., 2003).

#### **3.1.4 Die Glutamathypothese unter dem Blickwinkel genetischer Befunde**

Unter der Annahme der Schizophrenie als eine Störung der Hirnentwicklung, entwickelten Harrison und Owen (2003) das Modell der gestörten synaptischen Plastizität. Die Diskussion um die Schizophrenie als eine Erkrankung der Synapsen wurde auf den Hintergrund makroskopischer, histologischer und biochemischer Befunde gefestigt. Anomalien wurden im Hippokampus (Heckers, 2001; Nelson et al., 1998), im Assoziationskortex (präfrontal und superior temporal), (Davidson und Heinrichs, 2003) und im Thalamus (Konick und Friedman, 2001) auf makroskopischer Ebene entdeckt. Veränderungen an den Axonen und Dendriten sowie des synaptischen Endkolbens beschrieben die „synaptische Pathologie“ (Harrison, 1999) im histologischen Bereich. Morphologische Veränderungen an den Synapsen traten allerdings nur bedingt auf. Nicht sichtbare Veränderungen wurden daher vermutet, „molekulare“ Ursachen, welche die Komposition, Aktivität und Plastizität der Synapsen beeinflussen.

Polymorphismen, die für Transmitter- und Rezeptorstrukturen kodieren, tragen zu einer Dysfunktion der glutamatergen Transmission und der zellulären Konnektivität bei. Dies führt zu einer abnormalen synaptischen Verbindung. Die glutamaterge zentralnervöse Übertragung via NMDA-Rezeptoren spielt bei der Entstehung und dem Erhalt synaptischer Plastizität eine zentrale Rolle. Eine Vielzahl weiterer Reviews versuchte die bisherigen genetischen Befunde zusammenfassend in ein Gesamtkonzept zu integrieren, wobei die Grundannahme der abnormen Veränderung der synaptischen Plastizität und der Neurotransmission und deren Funktionen er-

halten blieb (Collier und Li, 2003; Harrison und Weinberger, 2005; Owen et al., 2004).

Harrison und Weinberger bezeichnen die Schizophrenie als eine komplexe genetische Erkrankung „kortikaler Mikroschaltkreise“ (engl. cortical microcircuits). Identifizierte Suszeptibilitätsgene beeinflussen auf molekularbiologischer Ebene die Synapsen (Abbildung 3.1.1). *G72* dient als Aktivator von *D-Aminosäure-Oxidase* (*DAO* oder *DAAO*), (Chumakov et al., 2002). Dieses Enzym oxidiert D-Serin, einen potentiellen Aktivator des NMDA-Rezeptors (Mothet et al., 2000). Eine fehlerhafte Signaltransduktion von D-Serin könnte zur Hypofunktion des NMDA-Rezeptors beitragen (Abschnitt 3.3). Das Gen *Neuregulin 1* (*NRG1*) reguliert die Expression der Untereinheiten der Glutamatrezeptoren und aktiviert direkt den ErbB4-Rezeptor. ErbB4 gehört zu der Familie der ErbB-Tyrosin-Kinasen. Er ist kolokalisiert mit dem NMDA-Rezeptor (siehe Kapitel 3.2) und reguliert dessen kinetische Eigenschaften durch Phosphorylierung der NR2-Untereinheiten des Rezeptors (Carpenter, 2003). *RGS4* ist ein negativer Regulator von G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (Chowdari et al., 2002). *RGS4* wird durch dopaminerge Aktivität reguliert und regelt selbst wiederum die Aktivität von serotoninerger und glutamerger Neuronen. Es interagiert mit ErbB3, einem Rezeptor von *NRG1* (Thaminy et al., 2003). Seine Funktion dient vermutlich der Hirnentwicklung. *Dysbindin* ist durch den „dystrophin associated protein complex“ an den präsynaptischen Terminals lokalisiert und an der Bildung und Erhaltung der Synapsen und bei der Signaltransduktion beteiligt. Es ändert möglicherweise die präsynaptische Funktion von Glutamat (Benson et al., 2001; Straub et al., 2002a). Die Expression von *Dysbindin* war bei schizophrenen Patienten vermindert (Weickert et al., 2004). *PRODH* beeinflusst die glutamatergen Synapsen über verschiedene Mechanismen (Liu et al., 2002). *COMT* agiert direkt an der monoaminergen Neurotransmission und beeinflusst dadurch die Synapsen anderer Neurotransmittersysteme (Gogos et al., 1998). Das mGlu3-Rezeptorgen *GRM3* beeinflusst die Menge des Botenstoffs Glutamat im synaptischen Spalt, die Zahl der Glutamat-Transporte auf den Gliazellen und Leistungen in der Aufmerksamkeit und im Kurzzeitgedächtnis (Egan et al., 2004). Callicott und Mitarbeiter (2005) vermuten beim *DISC1*-Gen einen Einfluss auf hippokampale Strukturen und Funktionen. Calcineurin, dessen Gamma-Untereinheit vom Gen Proteinphosphatase 3, katalytische Untereinheit, Gamma-Isoform (*PPP3CC*) kodiert wird, ist dem dopaminergen Signalweg nachgeschaltet (Adlersberg et al., 2004; Takeuchi und Fukunaga, 2004) und in der vom NMDA-Rezeptor beeinflussten synaptischen Plastizität (Lieberman und Mody, 1994; Tong et al., 1995) involviert. Daraus wird eine wichtige Verbindung zwischen beiden Neurotransmittersystemen abgeleitet.

Das Protein *AKT1* ist eine Serine-/Threonine-Kinase (Ikeda et al., 2004). Emamian und Mitarbeiter (2004) entdeckten eine verminderte Anzahl vom *AKT1* Protein in peripheren Lymphozyten und post mortem Gewebe des frontalen Cortex bei schizophrenen Erkrankten. Zusätzlich zeigten *AKT1*-Knockout-Mäuse „Gating“-Defizite

des Startle-Reflexes unter der Behandlung mit Amphetaminen. Der Startle-Reflex, gemessen mit Präpulsesinhibitions-Aufgaben, zeigt sich verzögert bei schizophrenen Patienten.

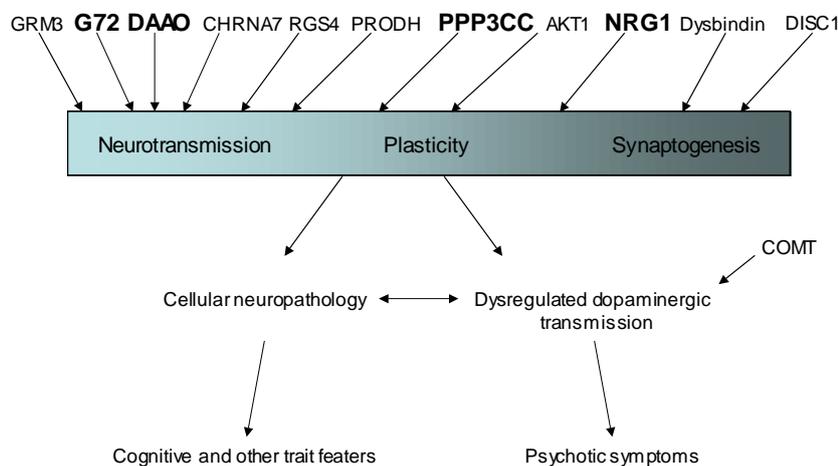


Abbildung 3.1.1 Schizophrenie als eine genetische Erkrankung der Synapsen (modifiziert nach Harrison und Weinberger, 2005)

Der  $\alpha 7$ -Nikotin-Rezeptor *CHRNA7* ist prä- und postsynaptisch an der Modulation des dopaminergen und glutamatergen Signalwegs beteiligt (Freedman et al., 2000). Einen direkten Effekt auf den Rezeptor zeigen nach diesem Modell die Gene *GRM3*, *CHRNA7*, *G72*. Die Signaltransduktion wird durch *RGS4* beeinflusst, während bei der Regulation der Neuroplastizität sowie Synaptogenese die Gene *NRG1*, *Dysbindin* und *PPP3CC* mitwirken. Diese synaptischen Veränderungen tragen auf der einen Seite zu einer abnormen zellulären Neuropathologie bei, welche sich in kognitiven und anderen Merkmalen niederschlägt, auf der anderen Seite wirken diese Veränderungen mit Einfluss des *COMT*-Gens auf die dopaminerge Transmission, die zu psychotischen Symptomen führt.

Die genetischen Varianten können auf zwei verschiedenen Ebenen wirken. Entweder wird die Struktur des zu kodierenden Proteins verändert oder es verändert die Expression eines Gens. Mit Ausnahme des Val158Met Polymorphismus des *COMT*-Gens fällt die Mehrheit der Polymorphismen der anderen Gene in die zweite Kategorie. Beide Prozesse führen zu einer Beeinflussung der Proteinfunktion. Die Gemeinsamkeit besteht darin, dass die genetischen Varianten die Funktionen im Gehirn direkt beeinflussen. Ein pathophysiologischer Prozess wird vermutet, an dem diese Gene gemeinsam wirken.

Das Modell von Harrison und Weinberger geht von der Annahme der polygenen Vererbung und somit wirkender epistatischer Effekte aus. Ein Gen trägt nur mit einem mäßigen bis moderaten Effekt bei. Viele Gene verstärken den Effekt. Die An-

nahme dieser Arbeit beruht darauf, dass sich bei der Untersuchung von Gen-Gen-Interaktionen die Stärke einer Assoziation in höheren Effektmaßen abbilden müsste. Für die vorliegende Untersuchung wurden die vier Gene NRG1, G72, DAO und PPP3CC ausgewählt, da diese direkt oder indirekt am NMDA-Rezeptor wirken.

### 3.2 Neuregulin 1

Die ersten Neuregulin-Proteine wurden zwischen 1992 und 1993 von mehreren Forschergruppen entdeckt (Falls et al., 1993; Goodearl et al., 1993; Holmes et al., 1992; Marchionni et al., 1993; Peles et al., 1992; Wen et al., 1992). Sie sind Signalproteine, die Zell-Zell-Interaktionen im Nervensystem, Herzen, pulmonalem und anderen Organsystemen vermitteln. Sie werden von mehreren Genen codiert, von denen vier (Neuregulin 1-4) bekannt sind, die ausführlich im Reviews von Falls (2003) beschrieben sind.

NRG1, das bekannteste der vier Gene, ist ca. 1.4 Megabasenpaare (mb) lang (ca. 1/2000 des Genoms) und besitzt mehr als 20 Exons. Weniger als 0.3% dieser Spanne kodieren das Protein Neuregulin, davon werden mindestens 15 vermutete Isoformen aufgrund alternativen Spleißens produziert (Chang et al., 1997; Marchionni et al., 1993; Wen et al., 1992). Bekannt sind bisher die Isoformen I bis III (Meyer et al., 1997) und die später entdeckten Isoformen IV und V (Steinthorsdottir et al., 2004). Die Produkte unterscheiden sich in verschiedenen Domänen, im N-Terminus, einer Glykosylierungsdomäne, der EGF-ähnlichen Domäne (EGF = epidermal growth factor) und der sich anschließenden Juxtamembrandomäne sowie in der cytoplasmatischen Domäne. Die Typen I, II, IV und V enthalten als N-Terminus eine Immunglobulin-Domäne. Die Neureguline des Typ III haben eine cysteinreiche Sequenz. Die EGF-ähnliche Domäne unterscheidet zwei Gruppen, die EGF $\alpha$  und  $\beta$ , die alternativen Spleißvarianten dieser Domäne. Die Isoformen werden als transmembrane oder nonmembrane Proteine synthetisiert.

Die Transkriptionsprodukte von NRG1 und das Protein selbst sind in vielen Regionen des bereits entwickelten sowie im sich entwickelnden Gehirns verstreut; eingeschlossen sind der Frontalkortex, Hippokampus, Mittelhirn und das Cerebellum (Law et al., 2004). NRG1 kommt in einer Vielzahl von Hirnzellen, wie den pyramidalen und nichtpyramidalen Neuronen sowie, in einem geringeren Ausmaß, auch in Glia vor. Das Protein ist häufig an den Synapsen lokalisiert. Da es gleichzeitig in verschiedenen Zusammenhängen und Spezies gefunden wurde, existieren viele Namen für ein einziges Gen und seine Produkte, z.B. ARIA (acetylcholin receptor inducing activity), (Falls et al., 1993), Heregulin (Holmes et al., 1992), NDF (neu differentiation factor), (Ho et al., 1995). Später wurden sie zu den Neuregulinen zusammengefasst.

NRG1 bindet direkt an die Rezeptor-Tyrosinkinase ErbB3 und ErbB4 und indirekt an den Ko-Rezeptor erbB2. Einen Überblick bieten z.B. Carpenter (2003) und Citri

und Mitarbeiter (2003). Sie bilden damit ein Signaltransduktionsnetzwerk während der prä- und postnatalen Entwicklung bei Wirbeltieren. Wie eingangs beschrieben, wird den NRG1-Proteinen eine Vielzahl von Funktionen zugeschrieben. Neben Aufgaben im zentralen und peripheren Nervensystem, agieren sie auch im pulmonalen und kardialen System (Falls, 2003). NRG1 ist mitverantwortlich für die Regulation der Überlebensfähigkeit der Zellen, für die Proliferation, Migration, Differenzierung und Reifung von Astrozyten und Oligodendrozyten bzw. deren Vorläuferzellen im sich entwickelnden Zentralnervensystem; außerdem von Neuronen und Gliazellen im sich entwickelnden Hirn (Canoll et al., 1996; Pinkas-Kramarski et al., 1994; Rio et al., 1997; Vartanian et al., 1999). Eine Beteiligung einiger NRG1-Proteine an der synaptischen Übertragung und an der Synapsenstabilisierung wird angenommen (Pinkas-Kramarski et al., 1994).

### 3.2.1 Assoziationsstudien zum NRG1-Gen

Stefansson und Mitarbeiter (2002) identifizierten als erste Forschergruppe NRG1 als Kandidatengen der Schizophrenie. Mit Hilfe eines genomweiten Scans an 33 isländischen Familien mit 110 Patienten wurde der höchste LOD-Score von 3.06 an Chromosom 8p beim Marker D8S532 ermittelt. Die Region um 8p wurde bereits mehrfach in anderen Stichproben repliziert (Tabelle 3.2.1 ).

Tabelle 3.2.1 Kopplungsbefunde für Region 8p

Autor	Region	Familien	signifikanteste Ergebnisse
Pulver et al. (1995)	8p22-p21	57	LOD = 3.00 (2.35)
Kendler et al.(1996)	8p22-p21	265	LOD = 2.52 (3.16), 2.34
Schizophrenia Linkage Collaborative Group (1996)	8p21	463	hLOD=2.22
Blouin et al. (1998)	8p21	54	NPL = 3.64 (hLOD=4.54)
Shaw et al. (1998)	8p	70	LOD = 1.99
Kaufmann et al. (1998)	8pter-q12	42	
Brzustowicz et al. (1999)	8p21	21	LOD = 3.49
Gurling et al. (2001)	8p22.1-22	13	LOD = 3.60
Straub et al. (2002b)	8p22-p21	90	LOD = 1.57, NPL = 2.56

Die Feinkartierung mit einer „Bacterial Artificial Chromosome“-Bibliothek an der interessierenden Region 8p11-p21 und die Kopplungsanalysen innerhalb der Region des Markers D8S278 grenzten den Lokus auf die 5' Exon-Region von NRG1 und dem EST-Cluster mit unbekannter Funktion ein. Mehr als 1.200 SNPs konnten beim Screening von NRG1 entdeckt werden. Alle kodierenden und die sich in der Promotor-Region befindenden SNPs wurden bei 478 Patienten und 394 gesunden Probanden genotypisiert und die Assoziation mit Schizophrenie untersucht. Mit Ausnahme des Markers SNP8NRG221533 (RR=1.4) zeigte kein SNP oder Mikrosatellit für sich allein besondere signifikante Ergebnisse. Drei Haplotypen (HAP-A, -B, -C), beste-

hend aus zwölf SNPs und vier Mikrosatelliten waren mit Schizophrenie assoziiert. Davon zeigten fünf SNPs und zwei Mikrosatelliten in allen drei Haplotypen die gleiche Kombination und ein häufigeres Vorkommen in der Gruppe der schizophren Erkrankten. Diese Kombination aus fünf SNPs und zwei Mikrosatelliten (290 kb) bildet den Kern-Risiko-Haplotyp („core haplotype“, Abbildung 3.2.1) in der 5'-Region.

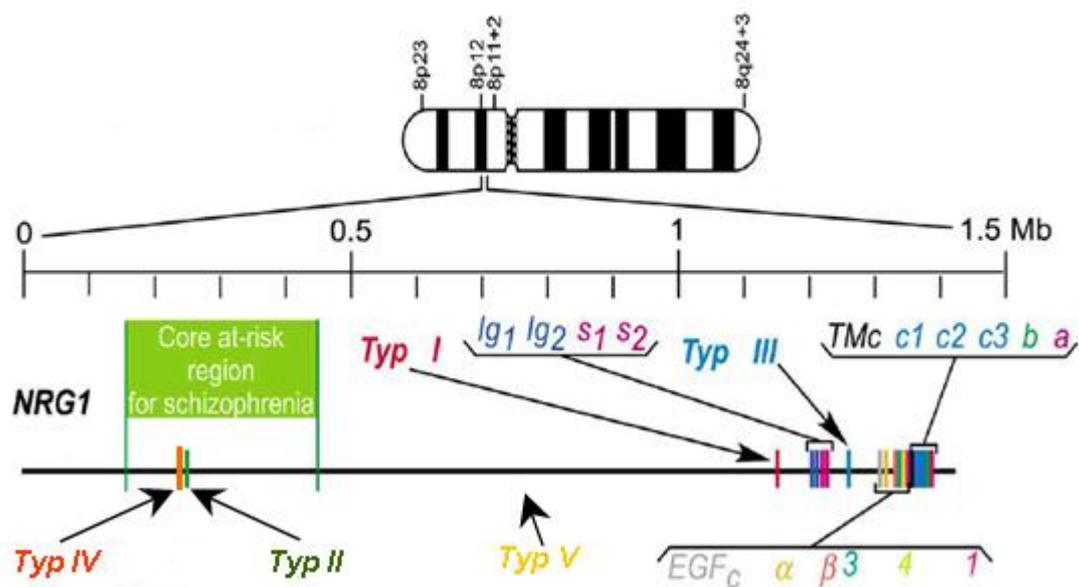


Abbildung 3.2.1 Illustration der NRG1-Gen-Struktur (modifiziert nach Falls 2003 und Stefansson et al. 2004)

Das NRG1-Gen befindet sich auf dem kurzen Arm von Chromosom 8. Auf der detaillierten Illustration dieser Region ist die Position jedes Exons mit Bezug zu NRG1-Isoformen durch vertikale Linien angezeigt. Die absteigenden Linien entlang der grünen Box geben die Grenzen des Kerns des Risiko-Haplotypen für die Schizophrenie an. Exons sind benannt nach der strukturellen Region des von ihnen kodierten NRG1-Proteins. EGF = Epidermaler Wachstumsfaktor-ähnliche Domäne; Ig = Immunglobulin-ähnliche Domäne; TMc = C-terminaler Abschnitt der Transmembranen Domäne der EGF-ähnlichen Domäne. EGF<sub>c</sub> bezieht sich auf das Exon, welches den Teil der Sequenz der EGF-ähnlichen Domäne kodiert, den auch NRGs mit einer  $\alpha$ -Typ bzw.  $\beta$ -Typ ähnlichen Domäne aufweisen. Das Exon mit der Bezeichnung TMc beinhaltet auch benachbarte extrazelluläre Sequenzen des membrangebundenen Anteils sowie des zytoplasmatischen Endes. Das Exon mit der Zuweisung s kodiert das Zwischenstück.

Vier dieser SNPs befinden sich in der Promotorregion von NRG1. Der fünfte SNP (SNP8NRG433E1006) dagegen führt zu einem Aminosäureaustausch von Arginin zu Glyzin in der 5' Exon (glialer Wachstumsfaktor 2, einer der Spleißvarianten von NRG1). Dieser Kern-Haplotyp trat in 7,5% in der Kontroll- und in 14,4% der Patientenstichprobe auf (RR=2.1,  $p < .001$ , Tabelle 3.2.2). Die Entdeckung des Kern-Haplotypen bildete den Ausgang für eine Reihe weiterer Untersuchungen zum NRG1-Gen. Die wichtigsten Ergebnisse sollen an dieser Stelle vorgestellt werden.

*Europäische, amerikanische, australische und südafrikanische Studien (Tabelle 3.2.2)*

Stefansson und Mitarbeiter (2003) konnten die gefundenen Assoziationen und den Risikohaplotypen größtenteils in einer schottischen Stichprobe bestätigen (10,2% in der Fallgruppe (FG), 5,9% in der Kontrollgruppe (KG), RR=1.8). In einer englisch/irischen Stichprobe wurde ein mit Schizophrenie assoziierter 3-Marker-Haplo-

typ innerhalb des Kern-Haplotypen identifiziert (Williams et al., 2003). Dieser trat zu 9,5% bei den schizophren Erkrankten im Gegensatz zu 7,5% bei den gesunden Probanden (OR=1.25) auf. Eine Subgruppenanalyse, bei der 141 Patienten aus familiär belasteten Familien mit der Kontrollgruppe verglichen wurden, verstärkte den Zusammenhang (FG 11,6%, OR=1.63). Ingason und Mitarbeiter (2006) konnten in einer dänischen Fall-/Kontrollgruppe bei einem 5-Marker-Haplotypen innerhalb des Kern-Haplotypen ein OR nahe 1.4 (FG 12% vs. KG 9,2%) ermitteln. Dieser Wert erreichte aber keine Signifikanz ( $p=.120$ ), obwohl damit ein größerer Zusammenhang beschrieben wird als beim 3-Marker-Haplotypen von Williams und Mitarbeitern. Eine weitere irische Forschergruppe genotypisierte 17 Mikrosatelliten und drei SNPs, die eine Region über 911 kb umspannt (Corvin et al., 2004). Sie fanden einen den Kern-Haplotypen überlappenden 2-Marker-Haplotypen (Hap<sub>B<sub>ire</sub></sub>, FG 19,4% und KG 12,3%), welcher sich in der Intron-1-Region befindet. Der Kern-Haplotyp selbst wurde nicht untersucht, da die irische Stichprobe eine andere Kopplungsstruktur aufwies und sich die Marker nicht vollständig im Kopplungsungleichgewicht befanden. Eine aktuelle Studie in einer schwedischen Gruppe identifizierte fünf Polymorphismen in der Intron-2-Region und weitere Haplotypen in der Hap<sub>Ice</sub>-Region, welche mit Schizophrenie assoziiert, dennoch nicht identisch mit dem ursprünglichen Haplotypen waren (Alaerts et al., 2009).

In der Studie von Bakker und Mitarbeiter (2004) trat in einer kleineren niederländischen Stichprobe (208 Patienten/179 Kontrollprobanden) das T-Allel bei SNP8NRG221533 häufiger in der Kontrollgruppe auf. Dieser Marker wurde mit zwei weiteren Mikrosatelliten an einer größeren Gruppe, bestehend aus 260 Patienten und 585 Kontrollprobanden, weiter untersucht. Dabei wurde die Patientengruppe aufgeteilt in 130 Patienten mit und 130 Patienten ohne Defizitsyndrom, erhoben mit dem Schedule for the Deficit Syndrome (Kirkpatrick et al., 1989), basierend auf der Annahme, dass aufgrund der Heterogenität der Erkrankung verschiedene Subtypen anderen genetischen Faktoren zugrunde liegen. Signifikante Ergebnisse erzielte ausschließlich die Gruppe ohne Defizitsyndrom. Kampman und Mitarbeiter (2004) untersuchten den Polymorphismus SNP8NRG221533 in einer finnischen Fall-/Kontrollgruppe. Neben Schizophrenie diente das Ansprechen auf konventionelle antipsychotische Medikation und das Ersterkrankungsalter als Phänotyp. Die Allelverteilung unterschied sich bei keinem der Phänotypen. Beim Vergleich von den Respondern (43) vs. Non-Respondern (51) zeigte sich ein häufigeres Vorkommen des TT-Genotypen (23,3% vs. 49,0%,  $p=.013$ ). Hall und Mitarbeiter (2004) fanden keine Assoziationen in fünf genotypisierten Markern des Kern-Haplotypen in ihren beiden Stichproben bestehend aus US-Amerikanern und Südafrikanern europäischer Abstammung. Ein 4-Marker-Haplotyp war in der südafrikanischen Stichprobe mit Schizophrenie assoziiert.

3.2.2 europäische und gemischt stämmige Assoziationsstudien zum NRG1-Gen

<b>Autor (Jahr)</b>	<b>Stichprobe</b>	<b>Population</b>	<b>Marker</b>	<b>5'</b>	<b>3'</b>	<b>Assoziierte Marker (OR*, p-Wert)</b>
<b>Fall/Kontroll</b>						
Stefansson et al. (2002)	478/394	Isländer	7	SNP8NRG8550DEL25	420M9-1395	SNP8NRG221533 (.003), Hap <sub>CE5</sub> <sup>a</sup> (1.4, <.001), Hap <sub>CE7a</sub> <sup>a</sup> (2.1, .002)
Stefansson et al. (2003)	609/618	Schotten	7	SNP8NRG221132	420M9-1395	SNP8NRG221533 (1.4, <.001), SNP8NRG241930 (1.3, .002), nrg243177 (1.3, .001), Hap <sub>CE5a</sub> (1.8, <.001), Hap <sub>CE7a</sub> (1.5, <.001)
Williams et al. (2003)	573/618	Briten/Iren	3	SNP8NRG221133	420M9-1395	Hap3: SNP8NRG221533, 478B14-848, 420M9-1395 (.040)
	141/618	Briten/Iren	3	SNP8NRG221133	420M9-1395	Hap3: SNP8SNP8NRG221533, 478B14-848, 420M9-1395 (.019)
Corvin et al. (2004)	243/222	Iren	20	D8S1770	72H22-1	478K14-72458 (.039), 473C15-533 (.036), Hap <sub>IRE</sub> : 420M9-1395, D8S1810 (.013)
Kampman et al. (2004)	94/395	Finnländer	1	SNP8NRG221133		SNP8NRG221533 TT-Genotyp häufiger bei Non-Responder (.013)
Bakker et al. (2004)	260/585	Niederländer	3	SNP8NRG221133	4788B14-848	Patienten ohne Defizit-Syndrom SNP8SNP8NRG221533 (.004), 478B14-848 (.050), Hap2: SNP8SNP8NRG221533-478B14-848 (<.001)
Petryshen et al. (2005)	321/242 +111 Trios	Portugiesen	45	SNP8NRG103492	rs4352805	nrg221132 (Z=-2.18, .015), SNP8NRG241930 (.053), 478B14-848 (Z=-2.15, .032), 420M9-1395 (Z=-2.32, .020) rs2439272 (G) (Z=2.30, .022), rs2466058 (T) (Z=-2.05, .040), rs6988339 (A) (Z=2.17, .030) rs4262285 (T) (Z=-2.14, .033) Hap2: nrg221132-SNP8NRG221533 (.050) Hap3: rs2439272-rs2466058-rs2466049 (.044), Hap4: rs6988339-rs2975498-rs2919382-rs2976525 (.031).
Lachmann et al. (2006)	141/142	Afrikanische Amerikaner	4	SNP8NRG221133	rs10691392	SNP8SNP8NRG221533 (.020), rs5890668 (.030), rs6150532 (.020), rs10691392 (.010), Hap3: rs5890668-rs6150532-rs10691392 (.010)
	177/164	Europäisch-stämmige Amerikaner	4	SNP8NRG221133	rs10691392	ns
Ingason et al. (2006)	325/353	Dänen	5	SNP8NRG221133	420M9-1395	Hap5 : SNP8SNP8NRG221533, nrg23241930, nrg243177, 478B14-848, 420M9-1395 (1.4, ns)
Thomson et al. (2007)	386/455	Schotten	38	rs4513929	rs10503932	rs553950 (.029), Hap3: rs1503491-rs553950-rs327329 (<.001)
Vilella et al. (2008)	589/615	Spanier	18	SNP8NRG221133	rs764059	ns
Sanders et al. (2008)	1870/2002	US Amerikaner/Australier	5	rs3802158	rs7825588	ns

<b>Autor (Jahr)</b>	<b>Stichprobe</b>	<b>Population</b>	<b>Marker</b>	<b>5'</b>	<b>3'</b>	<b>Assoziierte Marker (OR*, p-Wert)</b>
Jönsson et al. (2009)	837/1475	Skandinavien	12	SNP8NRG221133	rs10503929	ns
Alaerts et al. (2009)	486/514	Schweden	37	-	-	HapICE7, HapICE2, 5SNPs in Intron 2
<b>Trios</b>						
Thiselton et al. (2004)	270	Iren	7	SNP8NRG221133	420M9-1161112	ns
Hall et al. (2004)	210	Nordamerikaner	5	SNP8NRG221133	420M9-1395	ns
Duan et al. (2005)	136	Afrikaner (Südafrika)	5	SNP8NRG221133	420M9-1395	Hap4: nrg241930, nrg243177, 478B14-848, 420M9-1395 (.028)
Walss-Bass et al. (2006a)	142	US-Amerikaner	14	SNP8NRG221132	rs3735781	ns
Walss-Bass et al. (2006b)	134	Spanier	6	SNP8NRG221132	420M9-1395	Val/Leu Mutation in Exon 11 (p=.019)
Rosa et al. (2007)	3.2.2 151	Spanier	3.2.3 8	rs763553	rs10503929	ns

<sup>a</sup>HapICE5: nrg221132, SNP8NRG221533, nrg241930, nrg243177, 433E1006, HapICE7: HapICE5 + 478B14-848, 420M9-1395

\* OR, wenn verfügbar

Thiselton und Mitarbeiter (2004) konnten weder eine Assoziation der fünf SNPs des Kern-Haplotypen, noch der zwei Mikrosatelliten in der Intron-1-Region in ihrer familienbasierten irischen Studie bestätigen. Zusätzlich zeigte sich eine andere Blockstruktur in ihrer Stichprobe als in der von Stefansson und Mitarbeitern (2002). Zwei Blöcke wurden identifiziert, die ebenso wenig eine Assoziation mit Schizophrenie aufwiesen.

Konzentrierten sich anfangs viele Forschergruppen auf Replikationen des Kern-Haplotypen, so weitete sich in den darauffolgenden Jahren die Untersuchung weiterer SNPs, welche das Gen vollständiger abbilden, aus. Duan und Mitarbeiter (2005) untersuchten 14 SNPs, welche das Gen *NRG1* von der Promotor- bis zum Ende der Exon-5-Region, inklusive den Kern-Haplotypen, abdeckten. In der familienbasierten US-Stichprobe, welche Probanden europäischer Herkunft einschloss, konnte keine Assoziation auf Einzelmarker- und Haplotypenebene ermittelt werden. Petryshen und Mitarbeiter (2005) prüften 45 SNPs und zwei Mikrosatelliten in und um *NRG1*. Den Kern-Haplotypen der isländischen Bevölkerung konnten sie in ihrer portugiesischen Population nicht bestätigen. Allerdings entdeckten sie einen 2-Marker-Haplotypen (A-T), der den Risikohaplotypen überlappt und zwei weitere Haplotypen in der 3'-Region des Gens, welche in der Patientengruppe unterrepräsentiert waren. Lachmann und Mitarbeiter (2006) untersuchten den SNP von Stefansson und Mitarbeitern nahe der Exon-1-Region und drei weitere polymorphe Varianten in AT-reichen Domänen von *NRG1*, die mehrere Nukleotide umfassen und zu eine Insertion oder Deletion führen, basierend auf der Annahme, dass AT-bindende Proteine eine Rolle in der Pathogenese der Schizophrenie spielen. In der US-Stichprobe europäischer Herkunft gab es keine signifikanten Ergebnisse auf Einzelmarker-Ebene. Dagegen zeigte die US-Gruppe afrikanischer Abstammung bei allen Markern eine Assoziation.

Ein neuer funktioneller Polymorphismus (missense mutation, G/T) wurde von Walss-Bass und Mitarbeiter (2006a) in der Exon-11-Region entdeckt. Dieser führt zu einer Änderung der Aminosäure von Valin zu Leukin, welches für die transmembrane Region des *NRG1*-Proteins kodiert. Eine weitere, von derselben Arbeitsgruppe durchgeführte Replikationsstudie konnte bei 134 spanischen Familien keine Assoziation mit Schizophrenie und dem Kern-Haplotypen entdecken (Walss-Bass et al., 2006b). Dafür trat ein anderer Haplotyp, bestehend aus zwei SNPs und zwei Mikrosatelliten, häufiger bei Patienten (ca. 17%) mit psychotischem Krankheitsverlauf auf. Das T-Allel bei NP8NRG221533 ist bei der erkrankten Gruppe beim 4-Marker-Haplotypen häufiger vertreten, im Gegensatz zur Studie von Stefansson und Mitarbeitern, bei der das C-Allel häufiger in der erkrankten Gruppe auftrat.

Eine familienbasierte Studie an spanischen Familien konnte keinen Hinweis für den Zusammenhang der untersuchten SNPs und der Schizophrenie erbringen (Rosa et al., 2007). Vilella und Mitarbeiter (2008) untersuchten in einer spanischen Fall-/Kon-

trollstichprobe 18 bekannte als auch neue SNPs und fanden keine Bestätigung einer Assoziation mit Schizophrenie.

38 Marker des NRG1-Gens wurden von Thomson und Mitarbeitern (2007) an einer zweiten schottischen Stichprobe untersucht. Die Blockstruktur bildete zwei Hauptcluster, bezeichnet als Region-A und Region-B. Ein T-T-T-Haplotyp aus der Region-A war mit Schizophrenie assoziiert. Das Ergebnis war nach Bonferroni-Korrektur allerdings nicht mehr signifikant. In der zweiten Region-B wurde ebenfalls ein signifikanter Haplotyp identifiziert, welcher sich am Ende der 3'-Region von NRG1 befindet. Die vier untersuchten SNPs des Kern-Haplotypen zeigten keinen Unterschied in der Fall- und Kontrollgruppe.

Die beiden mit den größten Stichprobengrößen publizierten Fall-/Kontrollstudien in der europäischen Bevölkerung erbrachten keinen Hinweis einer Assoziation mit den untersuchten SNPs im NRG1-Gen (Jönsson et al., 2009; Sanders et al., 2008).

#### *Asiatische Studien (Tabelle 3.2.3)*

Die Replikation des Kern-Haplotypen Hap<sub>ICE</sub> an einer japanischen Stichprobe zeigte keinen signifikanten Zusammenhang zur Schizophrenie (FG 4,5% vs. 4,3% KG, OR=1,13), (Iwata et al., 2004). Ebenso wenig konnte ein 3-Marker „at risk“-Haplotyp, der in einer Subgruppenanalyse bei 69 Patienten mit familiärer Belastung untersucht wurde, bestätigt werden. Erwähnenswert ist, dass SNP<sub>8nrg221132</sub> in der Stichprobe nicht polymorph war und nur das G-Allel vorkam. Eine weitere japanische Forschergruppe versuchte in einer kleineren Stichprobe drei SNPs von Stefansson et al. (2002) vor dem NRG1-Gen zu replizieren und einen weiteren SNP in der Intron-1-Region, welcher sich näher an der Exon-1-Region befindet als die zwei Mikrosatelliten des HAP<sub>ICE</sub>-Markers, zu untersuchen (Fukui et al., 2006). Die drei SNPs des HAP<sub>ICE</sub>-Markers waren nicht mit Schizophrenie assoziiert. Dafür identifizierten sie einen 4-Marker-Haplotypen, bestehend aus den häufiger vorkommenden Allelen, der zahlreicher in der Kontrollgruppe auftrat. Drei SNPs zeigten eine Assoziation bei einem homozygoten Genotypen des geringer vorkommenden Allels mit Schizophrenie.

Tang und Mitarbeiter (2004) untersuchten rund um und innerhalb der 5'-Region vom NRG1-Gen 13 Mikrosatelliten über eine Länge von 800kb, welche sie in vier Regionen einteilten. Keiner der Marker deckt sich mit dem HAP<sub>ICE</sub>-Haplotypen. Sie fanden bei einzelnen Mikrosatelliten und Haplotypen Assoziationen in der zweiten Region (vor dem Gen) und in der dritten Region (Intron 1), welche mit der Region von HAP<sub>ICE</sub> überlappen. Zhao und Mitarbeiter (2004) zeigten in einem Fall-/Kontroll- als auch in einem familienbasierten Design Assoziationen in einem 5-Marker-Haplotypen (C-G-T/4/-2) und einem 2-Marker-Haplotypen (4/-2) der 5'-Region. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit dem identifizierten Haplotypen, bestehend aus fünf Mikrosatelliten, von Tang und Mitarbeitern (2004). Li und Mitarbeiter (2004) untersuchten bei einer Spanne von 1,1 mb 25 Mikrosatelliten innerhalb

des NRG1-Gens. Sie identifizierten in ihrer Fall-/Kontrollgruppe zwei neue Haplotypen, HAP<sub>China1</sub>, der sich vor HAP<sub>ICE</sub> befindet (11,9% FG und 4,2% KG) und HAP<sub>China2</sub>, welcher HAP<sub>ICE</sub> überlappt (8,5% FG, 4,0% KG). Der zweite Haplotyp zeigte ebenfalls ein signifikantes Ergebnis bei parenteraler Kontrolle. Ein dritter 4-Marker-Haplotyp HAP<sub>China3</sub> war im familienbasierten Design mit Schizophrenie assoziiert (23,8% FG, 13,7% parenterale KG). Kim und Mitarbeiter (2006) zeigten eine Assoziation eines SNPs innerhalb des Kern-Haplotypen in einer koreanischen Fall-/Kontrollgruppe. Das G-Allel bei SNP8NRG241930 trat häufiger bei Patienten mit akustischen Halluzinationen auf. Der Kernhaplotyp selbst konnte nicht repliziert werden.

Yang und Mitarbeiter (2003) genotypisierten drei Marker, u.a. den Marker SNP8NRG221533, der in der isländischen Population von Stefansson et al. (2002) mit Schizophrenie assoziiert war, einen funktionellen Polymorphismus in der Exon-2-Region, rs3924999 (Gln 38 Arg, G→A Basenaustausch), welcher die Aminosäure Arginin in Glutamin ändert, und ein sich in Intron-Region befindender SNP rs2954041. Alle Marker befanden sich im Kopplungsungleichgewicht mit der Erkrankung. Der T-A-G-Haplotyp wurde häufiger von den Eltern auf die betroffenen Kinder übertragen. Hong und Mitarbeiter (2004) untersuchten den von der Arbeitsgruppe um Yang identifizierten Arg38Gln-Polymorphismus in einer taiwanesischen Stichprobe. Im Vergleich der Patienten mit einer gesunden Kontrollgruppe konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Im familienbasierten Design wurde eine häufigere Übertragung des G-Allels an die schizophren erkrankten Kinder ermittelt. Dieses Ergebnis deckt sich auf Einzelmarker-Ebene mit dem Ergebnis von Yang et al. (2003), steht aber im Kontrast zum identifizierten Haplotypen, bei welchem das A-Allel häufiger in der Patientengruppe auftrat.

Tabelle 3.2.3 asiatische Assoziationsstudien zum NRG1-Gen

<b>Autor (Jahr)</b>	<b>Stichprobe</b>	<b>Population</b>	<b>Marker</b>	<b>5'</b>	<b>3'</b>	<b>Assoziierte Marker (OR*, p-Wert)</b>
<b>Fall/Kontroll</b>						
Tang et al. (2004)	540/279	Chinesen	9	D8S1770	72H22-1	487-2 (.020), 478B14-848 (.001), D8S1810 (.010), 420M9-3663 (.010), Hap4: 29H12-7320-D8S1711-29H12-121L21-487B14-642 (0.31, <.001), Hap5: 784-2-478B14-848-420M9-1395-D8S1810-420M9-3663 (1.49, <.001)
Li et al. (2004)	298/334	Chinesen	25	D8S1770	S8S1765	29H12-1 (<.001), 478B14-642 (.001), 317J8-4858 (.030), Hap <sup>China1</sup> : 29H12-1- D8S1711 (3.1, <.001), Hap <sup>China2</sup> : 478B14-642-487-2-420M9-1395-D8S1810 (2.2, .003)
Zhao et al. (2004)	369/299	Chinesen	5	SNP8NRG22113 2	420M9-3663	Hap5: SNP8NRG22113, nrg241930, nrg243177, 478B14-848, 420M9-1395 (1.56, .006), Hap2: 478B14-848-420M9-1395 (.004)
Iwata et al. (2004)	607/515	Japaner	7	SNP8NRG22113 2	420M9-1395	ns
Hong et al. (2004)	228/269	Taiwanesen	1	rs3924999	ns	ns
Kim et al. (2006)	242/242	Koreaner	7	SNP8NRG22113 2	420M9-1395	SNP8NRG241930 G-Allel häufiger bei Patienten mit akustischen Halluzinationen (1.76, .030)
Fukui et al. (2006)	349/424	Japaner	4	SNP8NRG22113 3	rs1081062	Homozygote: NRG241930 (4.1, .025), SNP8NRG243177 (1.43, .041), rs1081062 (3.06, .002), Hap4: SNP8NP8NRG221533- nrg241930-nrg243177, rs1081062 (3.06, .002,)
<b>Trios</b>						
Yang et al. (2003)	246	Chinesen	3	SNP8NRG22113 3	rs2954041	rs3924999 (.003), rs2954041 (<.001), SNP8NRG221533 (.004), Hap3: SNP8NRG221533-rs3924999-rs2954041, (<.001)
Li et al. (2004)	184	Chinesen	25	D8S1770	S8S1765	478B14-642 (.025), 487-2 (.020), 420M9-1395 (.020), D8S1810 (.037), 317J8-2123 (.025), 317J8-4858 (.001), Hap <sup>China2</sup> : 478B14-642-487-2-420M9-1395-D8S1810 (2.1, .005), Hap <sup>China3</sup> : 317J8-2123-317J8-2- 317J8-4858 (2.0, <.001)
Zhao et al. (2004)	351		5	SNP8NRG22113 2	420M9-3663	Hap5: SNP8NP8NRG221533, nrg241930, nrg243177, 478B14-848, 420M9-1395 (.005), Hap2: 478B14-848-420M9-1395 (.018)
Hong et al. (2004)	221+15 Bios	Taiwanesen	1	rs3924999	rs3924999 (.052)	

\*OR, wenn publiziert

*Metaanalysen (Tabelle 3.2.4)*

Die Metaanalyse von Li und Mitarbeitern (2006) integrierte 13 bis November 2005 publizierte Fall-/Kontroll- und familienbasierten Studien. Alle vier untersuchten SNPs und zwei Mikrosatelliten des Kern-Haplotypen Hap<sub>Ice</sub> wiesen schwache, aber signifikante Ergebnisse auf. Ebenso zeigten die Haplotypenanalysen einen geringen Zusammenhang (OR=1.22, p<.001). Die getrennte Analyse von asiatischer und europäischer Gruppe ergab zwei verschiedene Risikohaplotypen.

Tabelle 3.2.4 Metaanalysen zum NRG1-Gen

Autor (Jahr)	Stichproben	Popula-tion	Mar-ker	5'	3'	Assoziierte Marker (OR*, p-Wert)
Li et al. (2006)	Fall/Kontroll 4341/4381	gemischt	6	SNP8NRG 241930	420M9 -1395	SNP8NRG221132 (1.27,<.001), SNP8NRG221533 (1.09,.007), SNP8NRG241930 (1.18,<.001), SNP8NRG243177 (1.1,.014), 478B14-848 (1.15, <.001), 420M9-1395 (1.12,<.001), Hap <sub>gesamt</sub> (1.22,<.001)
	Trios 598					
Munafò et al. (2006)	19	gemischt	1	SNP8NRG 221533	-	ns
Munafò (2008)	24	gemischt	1	SNP8NRG 221533	-	ns
Gong et al. (2009)	Fall/Kontroll 8049/8869	gemischt	8	SNP8NRG 103492	420M9 -1395	SNP8NRG221532 (1.23,.040), 478B14-848 (1.14,.023), 420M9-1395 (1.18,.017)
	Trios 1515					

OR\*, wenn publiziert

In der asiatischen Bevölkerung beschränkte sich der Haplotyp auf die beiden Mikrosatelliten, während in der europäischen Gruppe die vier SNPs eine Blockstruktur bildeten und mit Schizophrenie assoziiert waren. Eine weitere Metaanalyse von Munafò und Mitarbeitern (2006), welche 19 Stichproben einbezog, konnte keine Assoziation mit dem bisher meistuntersuchten Polymorphismus SNP8NRG221533 und Schizophrenie bestätigen. Eine Ergänzung der Analyse mit acht weiteren Stichproben (fünf Fall-/Kontroll- und drei familienbasierte Designs) bestätigten den vorangegangenen negativen Befund. Eine mit 26 bis zum Jahr 2008 eingeschlossenen Studien durchgeführte Metaanalyse entdeckte Assoziationen bei drei Markern des NRG1-Gens mit der schizophrenen Erkrankung (Gong et al., 2009).

**3.2.4 Genexpressions- und funktionelle Studien zu NRG1**

Funktionelle Untersuchungen sollen Aufklärung über den Pathomechanismus einer Erkrankung geben. Dazu dienen Genexpressionsstudien und tierexperimentelle Designs als Vorstufe. Bei den Genexpressionsanalysen wird häufig die mRNA-Konzentration in verschiedenen Geweben untersucht. Studien an post mortem Gewebe

zeigen unterschiedliche Vorkommen der mRNA bei gesunden und erkrankten menschlichen Gehirnen.

Zusätzlich zur eingangs beschriebenen Assoziationsstudie führte die Forschergruppe um Stefansson (2002) Untersuchungen am Tiermodell durch. Mutantenmäuse, heterozygot für NRG1, zeigten in einer neuen Umgebung hyperaktives Verhalten sowie eine beeinträchtigte Präpuls-Inhibition, Phänotypen der Schizophrenie. Positive Befunde in Tiermodellen untermauern den Einfluss von NRG1 auf Schizophrenie (Karl et al., 2007; O'Tuathaigh et al., 2007).

Hashimoto und Mitarbeiter (2004) untersuchten an post mortem Gewebe von 19 Patienten und einer gematchten Kontrollgruppe die Genexpression der Isoformen von Neuregulin, Typ I bis III im DLPFC. Wurden alle Isoformen zugleich betrachtet, bestanden keine bedeutsamen Unterschiede zwischen Schizophrenen und Kontrollen. Das Expressionsniveau war bei Typ I signifikant bis zu 23% in der Patientengruppe gesteigert.

Petryshen et al. (2005) stellten bei erkrankten Probanden, im Vergleich zu ihren nicht betroffenen Geschwistern, ein 3,8fach erhöhtes Niveau von SMDF-Varianten (Sensory and Motor Neuron-Derived Factor = Neuregulin1) in peripheren Leukozyten fest. Law und Mitarbeiter (2006) untersuchten die Hirne von 44 schizophren Erkrankten und 84 gesunden Kontrollen. Die hippokampale mRNA von NRG1 war in der erkrankten Gruppe häufiger exprimiert (34%) als in der gesunden Gruppe. Neben der Diagnose hatte auch der Genotyp des Markers SNP8NRG221132 Einfluss auf die Transkriptionsprodukte. Bertram und Mitarbeiter (2007) untersuchten das unterschiedliche Vorkommen der Transkriptionsprodukte des NRG1-Gens im menschlichen Hirn bei je 22 ehemals gesunden und erkrankten Probanden. Die mRNA der NRG1 $\alpha$ -Isoform war sowohl in der weißen als auch in der grauen Substanz des präfrontalen Cortexes in der schizophren erkrankten Gruppe reduziert. Die vorliegenden Daten implizieren, dass Variationen von Genexpressionen einen molekularen Mechanismus für die genetische Assoziation von NRG1 und Schizophrenie darstellen.

Hahn und Mitarbeiter (2006) betonen vor allem die Beziehungen zum ErbB4-Rezeptor und die Bedeutung der Signaltransduktion bei der Schizophrenie. Sie vermuten das Vorliegen eines Ungleichgewichts der neuronalen Rezeptoraktivitäten bei der Erkrankung. Sie fanden sowohl eine ErbB4-Rezeptorüberaktivität als auch eine verringerte NMDA-Aktivität im präfrontalem Cortex von post mortem Gewebe schizophrener Patienten. Die veränderten NRG1-ErbB4 Signale könnten zu der NMDA-Hypofunktion beitragen.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass sich die Mehrheit der Untersuchungen auf den von Stefansson et al. identifizierten Kernhaplotypen HAP<sub>ICE</sub> konzentrierten. Trotz vieler positiver Replikationen bleibt aufgrund ebenso vieler negativer bzw. konträrer Befunde offen, wie stark und welche Polymorphismen von

NRG1 in den Pathomechanismus der Schizophrenie involviert sind. Des Weiteren wurden zwei funktionelle SNPs in der Exon 2 und Exon 11-Region entdeckt, welche mit der Schizophrenie auf Einzelmarkerebene assoziiert waren, wohingegen der funktionelle Marker SNP8NRG433E1006 im ersten Exon nur in Verbindung mit dem Kernhaplotypen Assoziationen zeigte. Auch die genannten Metaanalysen und funktionellen Untersuchungen können keine endgültige Klarheit zur Beteiligung des NRG1-Gens an der schizophrenen Erkrankung geben. Eine Replikation an einer deutschen Stichprobe war bisher im Rahmen einer Dissertation von Zipp (2005) erfolgt. Als Referenz wurden die Marker von der Forschergruppe um Yang (2003) herangezogen. Diese Daten werden für die vorliegende Arbeit zur weiteren Analyse verwendet.

### 3.3 G72 und D-Aminosäureoxidase

Das Gen G72 wurde von Chumakov und Mitarbeitern (2002) mit Hilfe der Konstruktion einer Karte von Kopplungsungleichgewichten auf Chromosom 13q34 innerhalb einer 5 mb großen „Genwüste“ lokalisiert. Diese Region zeigte in mehreren Kopplungsstudien signifikante Zusammenhänge mit Schizophrenie (Tabelle 3.3.1). Mit einer Spanne von 29 Kilobasenpaaren (kb) ist G72 von dem größeren Gen G30 umschlossen. In ihrer Untersuchung stellten Chumakov und Mitarbeiter fest, dass G72 primatenspezifisch im Caudatus exprimiert, in der Amygdala und in ER/Golgi-transfizierten Zellen vorhanden ist. G72 generiert mehrere Spleißvarianten. Das LG72 Protein z.B. besteht aus 153 Aminosäuren. Dessen Funktion ist bisher unbekannt. Bei seiner Entdeckung wurde gleichzeitig DAO (D-Aminosäure-oxidase), ehemals auch als DAAO bezeichnet, als neues Kandidatengen identifiziert.

Tabelle 3.3.1 Kopplungsbefunde für Region 13q

Autoren	Region	Anzahl Familien	signifikanteste Ergebnisse
Pulver et al. (1996).	13q	54	hLOD=3.24
Lin et al. (1997)	13q	21	hLOD=1.54
Blouin et al. (1998)	13q32	54	NPL=4.18 (hLOD=3.19)
Shaw et al. (1998)	13q	70	hLOD=1.25
Brzustowicz et al. (1999)	13q32	21	hLOD=4.42
Mulle et al. (2005b).	13q32	159	NPL=2.95

#### 3.3.1 Assoziationsstudien zum G72-Gen

*Europäische, europäisch stämmige und gemischte Studien (Tabelle 3.3.2)*

Chumakov und Mitarbeiter entdeckten in einer Population von 454 französischen Kanadiern in sechs von 19 untersuchten SNPs (M6 bis M25) über eine Spanne von 265.7 kb, die z.T. in Abbildung 3.3.1 zu sehen sind, eine allelische Assoziation mit Schizophrenie. Die Befunde konnten für den Marker M23 (T-Allel: FG 57% und KG

49%, OR=1.37), in einer kleineren russischen Stichprobe (FG 60% und KG 51%, OR=1,42) repliziert werden.

Schumacher und Mitarbeiter (2004) bestätigten z.T. die Befunde der Erstpublikation in einer deutschen Stichprobe. Korostishevsky und Mitarbeiter (2004) wiesen in einer kleinen jüdischen Stichprobe ebenfalls positive Befunde nach. Eine Studie bei palästinensischen Familien konnten die ursprünglich assoziierten SNPs nicht replizieren; dafür wurde ein weiterer Marker (M20) identifiziert (Korostishevsky et al., 2006). Addington und Mitarbeiter (2004) untersuchten Kinder und Jugendliche mit einer Psychoseerkrankung. Die zwei signifikanten SNPs M14 und M15 konnten sie neben dem Trio-Design mit klinischen Subphänotypen, wie dem Ersterkrankungsalter und einem prämorbidem Phänotypen, gemessen mit dem „Autism Screening Questionnaire“, einem 40-Item umfassenden Fragebogen über das Verhalten und die soziale Kommunikation, bestätigen. Eine familienbasierte Stichprobe, welche ein breites Spektrum an psychotischen Erkrankungen einschloss, zeigte keinen Zusammenhang mit den von Chumakov publizierten SNPs und der Erkrankung (Goldberg et al., 2006). Allerdings wurden Assoziationen der Marker M24 mit kognitiven Variablen (Continuous Performance Test=CPT, 1-back, verbaler Paar-Assoziationstest) sowie M23 (1-back Aufgabe) identifiziert. Bei beiden Markern erzielten die TT-Genotyp-Träger schlechtere Leistungen als die AA-Genotypträger. Ma und Mitarbeiter (2006) versuchten sechs SNPs in einer schottischen Population zu replizieren. Einzelne SNPs und Haplotypen waren ebenfalls bei Corvin und Mitarbeiter (2007) in ihrer irischen Stichprobe, die allerdings aus schizophrenen und schizoauffektiven Patienten bestand, sowie bei Bass und Mitarbeiter (2009) in einer britisch/irischen Gruppe assoziiert.

Shinkai und Mitarbeiter (2007) ermittelten, abhängig vom Design, unterschiedliche Ergebnisse in einer kanadischen Fall-/Kontroll- und familienbasierten Stichprobe (Tabelle 3.3.2). Zusätzlich sind sie konträr zu den Ergebnissen der Erstpublikation. M-18 befand sich nicht im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWG), so dass das Ergebnis vorsichtig zu interpretieren ist.

Hall und Mitarbeiter (2004) untersuchten sieben SNPs in einer nordamerikanischen und einer südafrikanischen Stichprobe. Positive Assoziationen fanden sich nur in der südafrikanischen Gruppe. Die entdeckten häufigeren Übertragungen der Allele und Haplotypen auf die erkrankten Kinder in beiden Bevölkerungsgruppen entsprechen der Referenzstudie von Chumakov und Mitarbeitern, mit Ausnahme von M7 und M23.

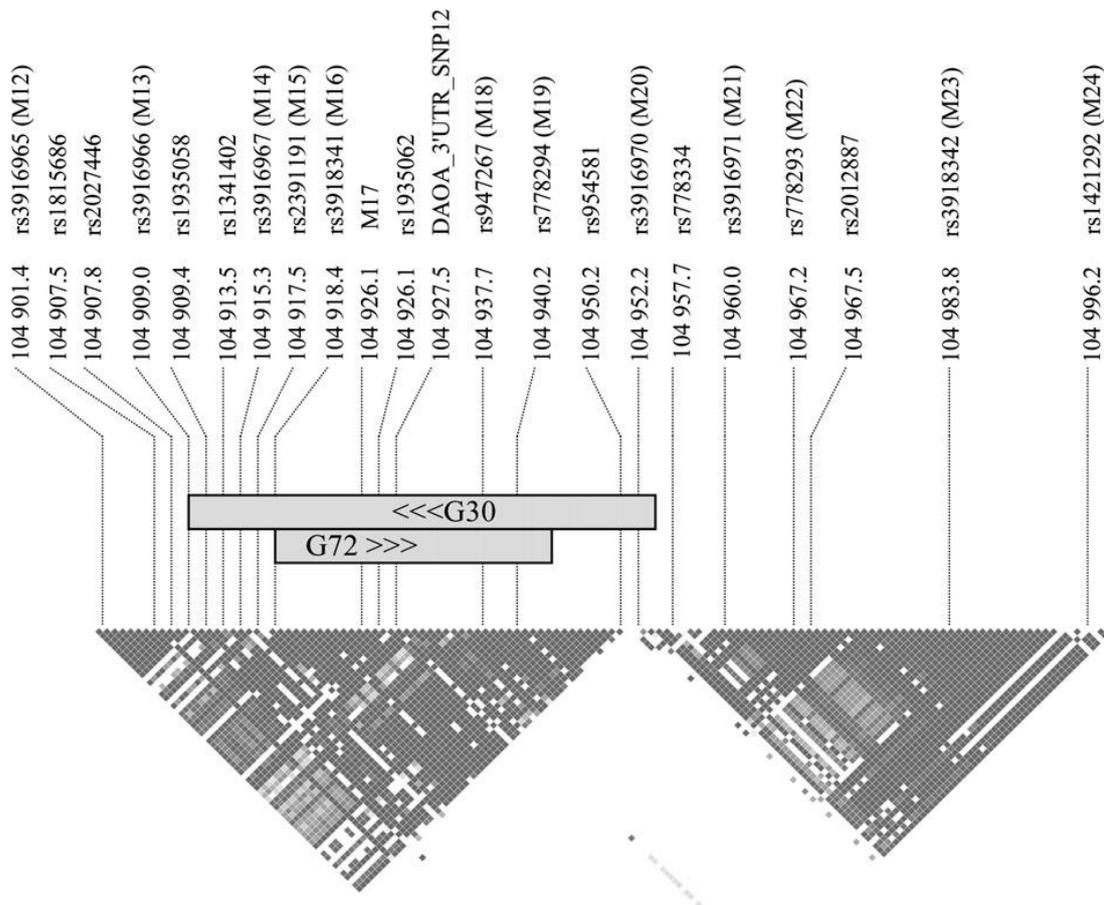


Abbildung 3.3.1 Der G72/G30-Lokus: genotypisierte SNPs und deren Haplotyp-Blockstruktur (nach Jamra et al., 2006)

Die eigenen positive Kopplungsbefunde am Chromosom 13q32 ermutigte die Arbeitsgruppe um Mulle (2005a) zu einer Assoziationsstudie, in der die Befunde von Chumakov und Mitarbeitern innerhalb von G72/G30 repliziert werden sollten. Alle 13 SNPs und deren Haplotypen zeigten keine Assoziation bei den untersuchten nordamerikanischen Familien (84% europäischer und 9% afrikanischer Herkunft). Die negativen Befunde werden durch weitere Fall-Kontrollstudien bestätigt (Bakker et al., 2007; Jönsson et al., 2009; Vilella et al., 2008; Williams et al., 2006; Wood et al., 2007). Die Ergebnisse in einer europäisch stämmigen groß angelegten Stichprobe, welche schizophren erkrankte und schizoaffektive Patienten mit einer gesunden Kontrollgruppe verglich, zeigte keine Assoziation (Sanders et al., 2008).

Tabelle 3.3.2: Zusammenstellung von Assoziationsstudien zu G72 und G30.

Autor (Jahr)	Fall/Kontroll	Population	Marker	5'	3'	Assoziierte Marker (OR*, p-Wert)
Chumakov et al. (2002)	213/241	Franzosen Kanadier	19	M6	M24	M12 (1.46,.007), M14 (1.33,.038), M15 (1.34,.032), M22 (1.51,.003), M23 (1.37,.019), M24 (0.19)
	183/183	Russen	13	M9	M24	M23 (1.42, <.001)
Schumacher et al. (2004)	299/300	Deutsche	7	M12	M24	M12 (1.25,.048), M15 (1.28,.037), M23 (1.28,.033), M24 (1.27,.036), Hap4: M12-M15-M23-M24 (0.57, <.001)
Korostishevsky et al. (2004)	60/130	Ashkenazy Juden	11	M12	M23	M23 (.001), Hap3: M20-M22-M23 (.006±.003)
Bakker et al. (2007)	308/580	Niederländer	4	M14	M24	ns
Ma et al. (2006)	183/182	Schotten	6	M12	M23	M19 (0.69,.025), M22 (0.71,.022), M23 (0.60,.001), Hap2: M22-M23 (1.58,.021), Hap2: M19-M22 (1.63,.003)
Corvin et al. (2007)	373/812	Irren	5	M12	M24	M12 (1.34,.005), M15 (1.31,.010)
Shinkai et al. (2007)	168/168	Kanadier	9	M7	M25	M7 (0.67,.013), M18 (1.37,.043)
Williams et al. (2006)	709/141	Irren und UK	9	M12	M24	ns
Wood et al. (2007)	311/291	US Amerikaner	19	-	-	ns
Vilella et al. (2008)	589/615	Spanier	7	M7	M24	ns
Sanders et al. (2008)	1870/2002	US Amerikaner/Australier	29	-	-	ns
Bass et al. (2009)	431/442	UK	10	M12	M24	M23 (0.16), Hap3: M22-M23-M24 (0.15)
Jönsson et al. (2009)	837/1475	Skandinavier	4	M15	M24	ns
<b>Trios</b>						
Addington et al. (2004)	98	gemischt	8	M7	M22	M14 (1.95,.015), M15 (1.80,.031), Hap2: rs1935058- M14 (2.55,.015), Hap2: M14-M15 (2.55,.013)
Hall et al. (2004)	210	US Amerikaner	7	M7	M15	ns
	233	Afrikaner (Südafrika)	7			M15 (0.45), Hap3: M13-M14-M15 (0.022), Hap4: M12-M13-M14-M15 (0.43)
Mulle et al. (2005b)	159	US Amerikaner	13	M2	M24	ns
Fallin et al. (2005)	274	Ashkenazy Juden	14	G72_G30 _3utr174 6	M20	M18 (0.12), rs701567 (0.15)
Korostishevsky et al. (2006)	223	Palästinenser	11	M12	M23	M20 (0.14)
Goldberg et al. (2006)	217	US Amerikaner	11	M7	M25	kognitive Variablen: M23 (0.07), M24 (<.050)
Shinkai et al. (2007)	113	Kanadier	9	M7	M25	M23 (0.29), Hap4: M7-M12-M22-M25 (0.18-0.26,.019 (.049))

\* OR, wenn publiziert

M2 : unbekannt, M6 : unbekannt, M7 : rs746187, M9 : unbekannt, M11: rs3916964, M12: rs3916965, M13: rs3916966 , M14: rs3916967, M15: rs2391191, M16: rs3918341, M18: rs947267, M19: rs778294, M20: rs3916970, M21: rs3916971, M22: rs778293, M23: rs3918342, M24: rs1421292

*Asiatische Studien (Tabelle 3.3.3)*

Replikationsstudien fanden im asiatischen Raum überwiegend in der chinesischen Bevölkerung statt (Tabelle 3.3.3). Wang und Mitarbeiter (2004) zeigten in zwei von sechs untersuchten SNPs positive Assoziationen.

Tabelle 3.3.3 asiatische Assoziationsstudien zum G72-Gen

Autor (Jahr)	Fall/Kontroll	Population	Marker	5'	3'	Assoziierte Marker (OR*, p-Wert)
Wang et al. (2004)	537/538	Chinesen	6	M12	M23	M12 (.019), M15 (.001), Hap4: M12-M14-M15-rs1935062 (<.001), Hap3: M12-M14-M15 (.019)
Ma et al. (2006)	588/588	Chinesen	6	M12	M23	M22 (0.76,.0013), Hap2: M22-M23 (1.30,.035), Hap2: M19-M22 (1.24,.013)
Yue et al. (2006)	216/321	Chinesen	3	M15	M19	M18 (.012), Hap3: M15-M18-M19 (.008)
Yue et al. (2007)	359/359	Chinesen	4	M15	M23	M18 (.004)
Shin et al. (2007)	388/367	Koreaner	9	M12	M21	M18 (.030), M19 (.040)
Ohi et al. (2009)	1774/2092	Japaner	8	M12	M24	M22 (1,13,.019), M23 (1,11,.030), M24 (1,10,.037)
<b>Trios</b>						
Zou et al. (2005)	233	Chinesen	3	M12	M15	M12 (.002), M15 (.011), Hap3: M12-M14-M15 (<.001)
Hong et al. (2006)	216	Chinesen	1	M18		M18 (0.72,.016)
Liu et al. (2006)	218	Taiwanesen	11	M12	M23	ns
Yue et al. (2007)	237	Chinesen	4	M15	M23	M18 (0.69,.019)
Shi et al. (2009)	561	Chinesen	2	M18	M22	M18-M22 (.049)

\* OR, wenn publiziert

Die beiden Marker M12 und M15 konnten in einer weiteren chinesischen Stichprobe repliziert werden (Zou et al., 2005). Das A-Allel kam bei beiden Polymorphismen häufiger in der erkrankten Gruppe vor. Verschiedene Haplotypen waren zusätzlich mit der schizophrenen Erkrankung assoziiert. Drei Untersuchungen wiesen eine positive Assoziation des A-Allels im SNP M18 nach (Hong et al., 2006; Yue et al., 2007; Yue et al., 2006). Yue und Mitarbeiter (2006) identifizierten zusätzlich eine positive Assoziation mit dem A-A-G-Haplotypen (M15-M18-M19) bei Patienten mit einem frühen Erkrankungsbeginn. Weitere positive Ergebnisse erzielten Ma und Mitarbeiter (2006) beim Marker M22. Shi und Mitarbeiter (2009) untersuchten zwei SNPs an 561 Han-chinesischen Familien mit insgesamt 2277 eingeschlossenen Probanden. Sie identifizierten den A-G-Haplotypen (M18-M22), welcher mit der Erkrankung assoziiert scheint.

In einer koreanischen Stichprobe wurde eine Signifikanz bei M18 und M19 festgestellt, wobei bei M18 das C-Allel mit Schizophrenie assoziiert war, konträr zu den Ergebnissen der chinesischen Arbeitsgruppen (Shin et al., 2007). Ohi und Mitarbeiter (2009) zeigten in einer japanischen Fall-/Kontrollgruppe positive Assoziationen in drei Markern und mehreren Haplotypen, die aber nach Bonferroni-Korrektur

nicht beibehalten wurden. Ohne positiven Befund blieb auch eine Untersuchung an einer taiwanesischen Stichprobe (Liu et al., 2006).

*Metaanalysen (Tabelle 3.3.4)*

Ma und Mitarbeiter (2006) führten die erste Metaanalyse durch. Bei den Fall-/Kontrollstudien wurden die Daten von sieben unabhängigen Stichproben (Chumakov et al., 2002; Korostishevsky et al., 2006; Schumacher et al., 2004; Wang et al., 2004), inklusive der eigenen beiden Stichproben und beim familienbasierten Design die Daten von drei Stichproben (Addington et al., 2004; Mülle et al., 2005a; Zou et al., 2005) berücksichtigt. Aufgrund der ethnischen Heterogenität wurde die europäische von der asiatischen Population getrennt berechnet. Drei Marker wurden untersucht. Eine signifikante Assoziation zeigte sich bei M22 im Fall-/Kontrolldesign in der asiatischen Bevölkerung (zwei Stichproben). Der Marker wurde in zwei weiteren Metaanalysen bestätigt (Shi et al., 2009; Shi et al., 2008a). Li und He (2007) identifizierten vier von 13 Polymorphismen als mit Schizophrenie assoziiert. Die Metaanalyse von Shi und Mitarbeitern (2009) über mehrere chinesische Stichproben bestätigte eine Assoziation des Markers M18 und Schizophrenie. Mit Hinzunahme einer koreanischen Stichprobe war der Zusammenhang nicht mehr signifikant.

*Tabelle 3.3.4 Metaanalysen zum G72-Gen*

<b>Autor (Jahr)</b>	<b>Stichprobe</b>	<b>Population</b>	<b>Marker</b>	<b>5'</b>	<b>3'</b>	<b>Assoziierte Marker (OR, p-Wert)</b>
Ma et al. (2006)	938/1126	Europäer	3	M12	M23	ns
	1125/1126	Asiaten	3	M12	M23	M22 (0.81,.001)
	480	Gemischt	2	M14	M15	ns
Li und He (2007)	Fall/Kontroll 2138/2228 Trios 463	Gemischt	13	M12	M24	M12 (1.12,.0223), M15 (1.15,.009), M23 (0.88,.014), M24 (0.91,.001)
Shi et al. (2008a)	Fall/Kontroll 4304/5423 Trios 1384	Asiaten	15	M12	M24	M18 (0.71, <.001) M22 (0.81, <.001)
		Europäer	15	M12	M24	M24 (1.12,.031)
Shi et al. (2009)	1780	Asiaten	2	M18	M22	M22 (Z=3.23,.001)
	1108	Chinesen	2	M18	M22	M18 (Z=0.79, <.001)

**3.3.2 Assoziationsstudien zum DAO-Gen**

Die Arbeitsgruppe von Chumakov untersuchte den Einfluss des Proteins pLG72 auf den Mechanismus der Schizophrenie-Entstehung. Mit der Hefe-2-Hybrid-Methode wurde ein Klon des DAO-Proteins identifiziert. DAO kommt im menschlichen Gehirn mit einer Länge von 347 Aminosäuren sowie einem Molekulargewicht von ca. 39 Kilodalton vor (siehe Überblicksartikel von Verall und Mitarbeitern (2009)). Die-

ses Enzym oxidiert D-Serin, eine D-Aminosäure, welche durch Racemisierung aus den L-Aminosäure-Formen entsteht. D-Serin fungiert als essentieller Regulator an Synapsen, die für die Impulsübertragung Glutamat als erregenden Transmitter nutzen. Er wird im Gegensatz zu den üblichen Botenstoffen nicht von den Nervenzellen, sondern von den Astrozyten (Gliazellen) ausgeschüttet. D-Serin könnte als endogener Ligand neben Glyzin als Coaktivator für den NMDA-Rezeptor bedeutsam sein (Mothet et al., 2000). Durch eine fehlerhafte Signaltransduktion von D-Serin wird eine Hypofunktion des NMDA-Rezeptors vermutet. Diese Annahme wird durch die folgenden Untersuchungsbefunde bestärkt: verminderte D-Serin-Mengen wurden im Serum (Hashimoto et al., 2003; Yamada et al., 2005) und im Liquor von schizo-phrenen Patienten (Bendikov et al., 2007; Hashimoto et al., 2005; Hashimoto et al., 2003) beobachtet. Klinische Studien erzielten durch Hinzugabe von D-Serin zu Antipsychotika therapeutische Effekte (Coyle et al., 2002; Tsai et al., 1998). Eine Metaanalyse, welche bis zu 18 pharmakologische Kurzzeit-Studien einschloss, zeigte an 132 randomisierten Patienten eine Reduktion negativer Symptome (Tuominen et al., 2005). In Tiermodellen produziert D-Serin Verhaltensauffälligkeiten und neurochemische Veränderungen, die konsistent mit klinischen Effekten der Schizophrenie sind (Karasawa et al., 2008; Nilsson et al., 1997; Tanii et al., 1994).

Das Gen DAO, welches sich auf Chromosom 12q24 befindet, umfasst 20 kb mit elf Exons (Fukui und Miyake, 1992). Die Co-Inkubation bestätigte eine physikalische Interaktion; pLG72 dient als Aktivator für DAO, weswegen G72 heute auch als DAOA (D-Aminosäureoxidase-Aktivator) bezeichnet wird. Einen weiteren Beleg lieferte die statistische Interaktion zwischen Polymorphismen beider Gene. Acht SNPs, die das Gen DAO abdecken, wurden in einer Assoziationsstudie untersucht (Abbildung 3.3.2). Vier Marker in Intronregionen wurden in der kanadischen Stichprobe gefunden, die mit Schizophrenie assoziiert sind (Tabelle 3.3.5).

Schumacher und Mitarbeiter (2004) bestätigten in einer deutschen Stichprobe positive Assoziationen in drei SNPs im DAO-Gen. Allerdings zeigten diese im Gegensatz zur initialen Studie konträre Risikoallele. Die Effekte waren schwach ausgeprägt. Drei Replikationsstudien fanden ebenfalls positive Assoziationen mit Schizophrenie (Corvin et al., 2007; Liu et al., 2004; Wood et al., 2007).

Der Versuch, Marker im DAO-Gen im familienbasierten Design zu replizieren, schlug fehl. Vier Studien mit verschiedenen ethnischen Populationen konnten den Nachweis krankheitsverursachender Marker im DAO-Gen nicht erbringen (Tabelle 3.3.5). Die Untersuchung in einer großen skandinavischen Fall-/Kontrollstichprobe spricht ebenfalls gegen eine Beteiligung der von Chumakov und Mitarbeitern identifizierten Marker (Jönsson et al., 2009). Zwei Metaanalysen, welche Daten bis zum Jahr 2007 einschlossen, lieferten den Nachweis für einen geringen bzw. moderaten Effekt in SNP rs4623951. Während Allen und Mitarbeiter (2008) das T-Allel als protektiven Marker identifizieren, war es das C-Allel bei Shi und Mitarbeiter (2008b).

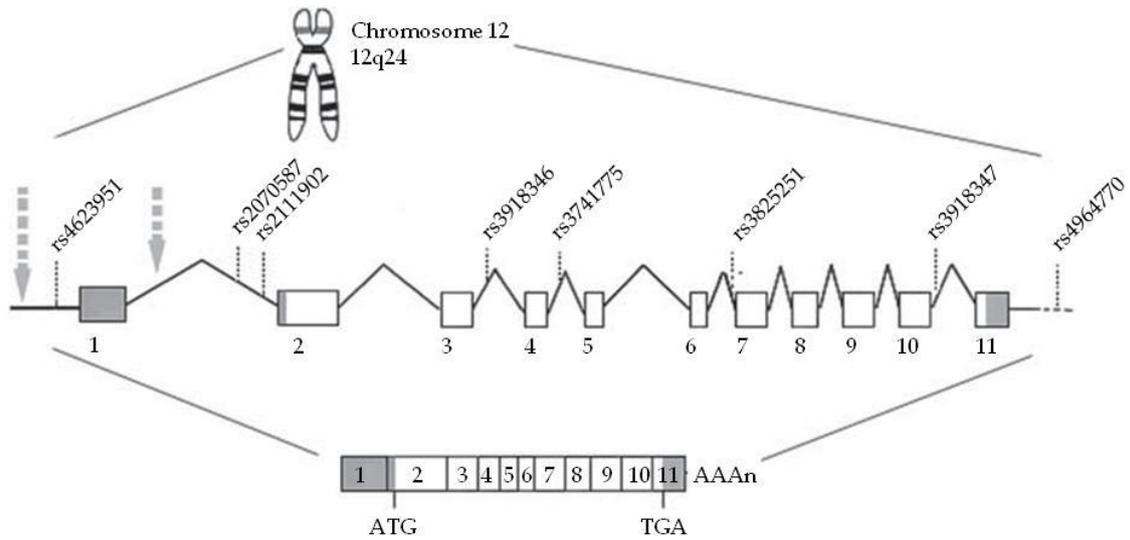


Abbildung 3.3.2 DAO-Gen und Transkripte und mit der Schizophrenie assoziierte SNPs (nach Verell et al.,2009)

Die berechnete Gen-Gen-Interaktion zwischen den beiden SNPs M22 von G72 und MDAAO6 des DAAO-Gens (OR=5.02,  $p=0.040$ ) ließ epistatische Effekte vermuten. Dieser Effekt konnte bisher nicht repliziert werden (Corvin et al., 2007; Schumacher et al., 2004). Allerdings identifizierten Corvin und Mitarbeiter epistatische Effekte zwischen zwei anderen Markern, M12 und MDAAO5 (OR=9.3,  $p=0.008$ ).

Tabelle 3.3.5 Zusammenstellung der Assoziationsstudien von DAO

<b>Autor (Jahr)</b>	<b>Stichprobe</b>	<b>Population</b>	<b>Marker</b>	<b>5'</b>	<b>3'</b>	<b>Assoziierte Marker (OR, p-Werte)</b>
<b>Fall/Kontroll</b>						
Chumakov et al. (2002)	213/241	Kanadier	8	MDAAO8	MDAAO7	MDAAO4 (1.41,.017), MDAAO5 (1.51,.007), MDAAO6 (1.53,.001), MDAAO7 (1.45,.010)
Schumacher et al. (2004)	299/300	Deutsche	3	MDAAO4	MDAAO6	MDAAO4 (1.33,.026), MDAAO5 (1.37,.019), MDAAO6 (1.31,.021), Hap3: MDAAO4+5-6 (1.29,.045)
Liu et al. (2004)	547/536	Chinesen	6	rs2070587	rs3825251	MDAAO6 (1.59, <.001)
Yamada et al. (2005)	570/570	Japaner	6			ns
Wood et al. (2007)	311/291	US Amerikaner	7	rs4623951	rs3825251	MDAAO5 (1.71, <.001)
Corvin et al. (2007)	373/812	Iren	4	MDAAO4	MDAAO7	MDAAO4 (1.29,.018), MDAAO5 (1.43,.003)
Shinkai et al. (2007)	168/168	Kanadier	4	MDAAO4	MDAAO7	ns
Vieilla et al. (2008)	589/615	Spanier	5	rs4623951	rs4964281	ns
Bass et al. (2009)	431/442	UK	3	MDAAO4	MDAAO6	ns
Jönsson et al. (2009)	837/1475	Skandinavier	4	rs2070587	rs3825251	ns
Ohnuma et al. (2009)	340/340	Japaner	11	rs4964762	rs4964770	10-Marker Haplotyp
Ohnuma et al. (2010)	1656/1842	Japaner	3	rs3825251	rs4964770	ns
<b>Trios</b>						
Fallin et al. (2005)	263	US Amerikaner	5	rs2070587	rs3825251	ns
Shinkai et al. (2007)	113	Kanadier	4	MDAAO4	MDAAO7	ns
Yamada et al. (2005)	124	Japaner	6	MDAAO11	rs3918305	ns
Liu et al. (2006)	218	Chinesen	3	MDAAO4	MDAAO6	ns
<b>Meta</b>						
Allen et al. (2008)	-	-	-	rs4623951		rs4623951 (0.88,.026)
Shi et al. (2008b)	1509/1461+124 (Trios)	Gesamt	4	rs4623951	MDAAO6	rs4623951 (0.84,.002)

MDAAO1: unbekannt, MDAAO2: unbekannt, MDAAO3: unbekannt, MDAAO4: rs2111902, MDAAO5: rs3918346, MDAAO6: rs3741775, MDAAO7: rs3918347, MDAAO8: rs888531

### 3.3.3 Genexpressions- und funktionelle Untersuchungen zu G72 und DAO

Der funktionelle Mechanismus von G72 ist bis heute ungeklärt. Die Forschergruppe um Korostishevsky (2004) entdeckte in ihrer Genexpressionsanalyse an post mortem Gehirnen von 44 schizophran Erkrankten und 44 Kontrollen eine Überexpression von mRNA bei G72 im DLPFC der schizophran Erkrankten. Benzel und Mitarbeiter (2008) fanden keine Unterschiede in der Konzentration von mRNA in verschiedenen Regionen der post mortem Gehirne schizophrener Patienten und gesunder Kontrollen. Im Tiermodell wiederum zeigten G72Tg-transgene Mäuse Defizite im „sensorimotor gating“, einem Phänotyp der Schizophrenie (Otte et al., 2009). Die Beeinträchtigungen konnten nach Gabe von Haloperidol behoben werden.

Die Annahme, dass pLG72 ein Aktivator für DAO ist (Chumakov et al., 2002), konnte bisher nicht bestätigt werden (Kvajo et al., 2008). Alternativ wurde von Kvajo und Mitarbeitern eine neue Funktion von G72 entdeckt. Eine Spleißvariante, die Isoform LG72, kodiert für ein mitochondriales Protein. Die Überexpression von G72 führte zu einer mitochondrialen Fragmentierung in Neuronen von Säugetieren. Eine mitochondriale Dysfunktion könnte mitverantwortlich für den Ausbruch einer schizophrenen Erkrankung sein. Kapoor und Mitarbeiter (2006) berichten von einer erhöhten mRNA- und Enzymaktivität von DAO im Cerebellum im post mortem Gewebe vier schizophran Erkrankter im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe. Gleichzeitig blieb die mRNA im zerebralen Cortex unverändert. Diese Befunde wurden in einer größeren Stichprobe (post mortem Gewebe von 16 Patienten und 13 gesunden Kontrollen) repliziert (Verrall et al., 2007). Die DAO-Immunreaktivität zeigte einen leichten Anstieg im Cerebellum, jedoch nicht im präfrontalen Cortex. Eine weitere Fall-/Kontrollstudie mit je 35 Gehirnproben pro Gruppe bestätigte einen Anstieg der mRNA von DAO in der schizophrenen Gruppe (Burnet et al., 2008). Eine erhöhte DAO-Aktivität wurde außerdem im parietalen Cortex gefunden (Madeira et al., 2008), während Bendikov und Mitarbeiter (2007) keine veränderten Proteinmengen im präfrontalen Cortex und Hippokampus fanden. Diese Daten liefern einen Hinweis erhöhter DAO mRNA-Mengen im Cerebellum während die Befundlage in anderen Hirnregionen noch unklar bleibt.

Die aktuelle Datenlage kann bisher keinen eindeutigen Nachweis einer Beteiligung der beiden Gene G72 und DAO am Pathomechanismus der Schizophrenie liefern. Dafür sind sehr viele unterschiedliche Varianten von Polymorphismen mit der schizophrenen Erkrankung assoziiert oder die Befunde negativ. Marker beider Gene werden für die eigene Untersuchung verwendet, um mehr Klarheit über die Involviertheit von G72 und DAO an dieser psychischen Erkrankung zu erhalten.

### 3.4 Proteinphosphatase 3, katalytische Untereinheit, Gamma-Isoform

Calcineurin ist eine  $\text{Ca}^{2+}$ /Calmodulin-regulierte Proteinphosphatase. Sie besteht beim Menschen aus der katalytischen Untereinheit A mit drei Isoformen ( $\alpha, \beta, \gamma$ ) und der regulatorischen Untereinheit B mit einer bekannten Isoform. Durch Dephosphorylierung zellspezifischer Zielproteine ist Calcineurin an der Regulation wichtiger neuronaler Zellfunktionen beteiligt, wie der Modulation synaptischer Rezeptoren (NMDA, GABA),  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzungskanälen des Endoplasmatischen Retikulums, Zytoskelettproteinen und Transkriptionsfaktoren. Calcineurin reguliert die dopaminerge und NMDA-Rezeptor gesteuerte glutamaterge Signaltransduktion. Calcineurin wurde insbesondere in der Hirnregion und anderen neuronalen Geweben nachgewiesen (Jiang et al., 1997). Außerdem befindet es sich im Herz (Strack et al., 1996), Leber (Hanley et al., 1987), Niere (Buttini et al., 1995), Skelettmuskel (Manalan et al., 1984) und den T- und B- Lymphozyten (Kincaid et al., 1987).

Das Gen PPP3CC verschlüsselt die  $\gamma$ -Isoform der katalytischen Untereinheit von Calcineurin (Gerber et al., 2003). PPP3CC befindet sich auf Chromosom 8p, einer signifikanten Kopplungsregion der Schizophrenie, unweit von NRG1 (Tabelle 3.2.1).

#### 3.4.1 Assoziationsstudien zum PPP3CC-Gen

Die Forschergruppe um Gerber (2003) interessierte sich für Gene der Calcineurin-Untereinheiten, calcineurinbindende Gene bzw. Gene, die in Interaktion mit Calcineurin stehen. Sechzehn dieser Gene befanden sich auf chromosomalen Regionen, welche vermutlich Suszeptibilitätsloci der Schizophrenie präsentieren. Drei der Gene codieren für die Calcineurin Untereinheiten (PPP3R1, PPP3CA, PPP3CC) und eines für ein Calcineurin bindendes Protein (FKBP5). An zwölf schizophrene Erkrankten wurden verschiedene Polymorphismen identifiziert. Für die Assoziationsuntersuchungen an zwei familienbasierten Stichproben von 210 US-Amerikanern und 200 Südafrikanern wurden SNPs gewählt, die durch direktes Sequenzieren oder aus Gendatenbanken identifiziert wurden. Signifikante Befunde ergaben sich bei zwei von fünf untersuchten SNPs (CC21, CCS3) im PPP3CC-Gen und bei zwei 2-SNP-Haplotypen in der US-amerikanischen Stichprobe.

Der in der Stichprobenpopulation am häufigsten vorkommende Haplotyp C-T-G-C-A (OR=1,23) über die fünf untersuchten Marker wurde zusätzlich als Risikohaplotyp der Schizophrenie identifiziert. Dieser Effekt verstärkte sich, als die südafrikanische Stichprobe in die Analyse einbezogen wurde (Tabelle 3.4.1). Der Vorteil, die Stichproben zusammen zu analysieren, liegt in der Vergrößerung der Stichprobe und damit der statistischen Power. Diese geht aber zu Lasten der Stichprobenhomogenität.

Replikationsstudien fanden mehrheitlich in der asiatischen Bevölkerung statt. Davon berichten vier Publikation von einer positiven Replikation (Tabelle 3.4.1). Ya-

mada und Mitarbeiter (2007) untersuchten 14 Gene in einer japanischen Stichprobe, die in Beziehung zu Calcineurin stehen.

Tabelle 3.4.1 Assoziationsstudien zum PPP3CC-Gen

Autor (Jahr)	Fall/Kontroll	Population	Marker	5'	3'	Assoziierte Marker (OR*, p-Wert)
Kinoshita et al. (2005b)	457/429	Japaner	6	rs1049437	rs7430	ns
Xi et al. (2007)	1399/1255	Chinesen	9	rs7827093	rs1116085	ns
	619/601	Chinesen	1	-	rs2461491	ns
Yamada et al. (2007)	570/570	Japaner	10	rs10108011	rs2469747	ns
Horiuchi et al. (2007)	1645/1673	Japaner	5	rs10108011	rs1116085	CC21(1.15,.012), rs2461490 (.005) rs2449340 (.013), Hap2 CC21-CCS3 (.036), 5Hap (1.12,.034)
Sanders et al. (2008)	1870/2002	US Amerikaner / Australier	21	rs10108011	rs12544288	ns
Betcheva et al. (2009)	185/184	Bulgaren	1	rs2272080		ns
<b>Trios</b>						
Gerber et al. (2003)	410	US Amerikaner / Südafrikaner	5	rs1049437	rs2461491	US-Stichprobe CC21 (.038), US-Stichprobe CCS3 (.041), Hap2 CC21-CC33(.013), CC33-CCS3 (.003), Hap5 gesamte Stichprobe (.001)
Fallin et al. (2005)	263	Ashkenazy Juden	9	rs2272080	rs7430	ns
Xi et al. (2007)	352	Chinesen	1	-	rs2461491	ns
Yamada et al. (2007)	124	Japaner	10	rs10108011	rs2469747	rs1049437 (.002), rs2449348 (.035) CCS3 (.020)
Liu et al. (2007)	218	Taiwanesen	10	rs7833266	rs2252471	rs2272080 (.024) 2Hap (CPT, WCST) (.027,.008) 7Hap (.029)

\* OR, wenn publiziert

CC21: rs10108011, CC33: rs24493848, CCS3: rs2461491

5Hap: CC21-CCS3-rs2461490-rs2449340-rs1116085, 2Hap: rs7833266-rs227280

7Hap: rs2461491-rs2469758-rs2461489-rs2449340-rs1482337-rs2252471

Unter anderem konnten sie in ihrer familienbasierten Stichprobe eine Assoziation zwischen drei SNPs in Intronregionen des PPP3CC-Gens und der Schizophrenie entdecken. Liu und Mitarbeiter (2007) zeigten eine positive Assoziation mit einem SNP in der Exon 1-Region und mit zwei weiteren Markern und dem Arbeitsgedächtnis und exekutiven Funktionen, gemessen mit dem CPT und dem WCST. Hervorzuheben sei die Untersuchung von Horiuchi und Mitarbeitern (2007), welche mit einer Populationsgröße über 3.318 Probanden eine statistische Power über 0.98 erreichen. Der SNP CC21 und zwei weitere bisher nicht untersuchte Marker zeigten eine allelische Assoziation. Zusätzlich identifizierten sie einen 5-SNP-Haplotypen

A-G-C-G-G, welcher häufiger in der gesunden Gruppe auftrat. Acht weitere publizierte Studien führten zu negativen Befunden. Trotz hoher Fallzahlen in einer chinesischen bzw. amerikanisch/australischen Stichprobe wurden keine Assoziation in neun bzw. 21 SNPs mit der schizophrenen Erkrankung erreicht (Sanders et al., 2008; Xi et al., 2007). Eine Metaanalyse identifizierte einen schwachen, aber signifikanten Zusammenhang des Markers rs2461491 (OR=1.1, p=.005) mit Schizophrenie (Shi et al., 2008b).

### 3.4.2 Genexpressions- und funktionelle Untersuchungen zum PPP3CC-Gen

PPP3CC ist kein typisches positionelles Kandidatengen, da eine Reihe vorangegangener funktioneller Befunde zu der Annahme führten, dass Calcineurin an der Pathogenese der Schizophrenie beteiligt ist. Frontalhirnspezifische Knockout-Mäuse mit ausgeschaltetem PPP3R1-Gen, welches für die Untereinheit B von Calcineurin (CaN B) kodiert, zeigten beeinträchtigte Arbeitsgedächtnisfunktionen (Zeng et al., 2001). Miyakawa und Mitarbeiter (2003) fanden bei den Knockout-Mäusen Verhaltensweisen, ähnlich denen schizophrener Symptome. An den Mäusen ließen sich zunehmende lokomotorische Aktivität, verminderte soziale Interaktion und eine Beeinträchtigung in der Präpuls-Inhibition beobachten. Das in der Studie ausgeknockte PPP3R1-Gen war in der an Menschen durchgeführten Studie von Gerber und Mitarbeitern (2003) nicht mit Schizophrenie assoziiert.

Eastwood und Mitarbeiter (2005) untersuchten bei 13 schizophrenen Patienten und 12 Kontrollpersonen die Verteilung der Genexpression der drei Isoformen von Calcineurin A (CaN A) in der hippocampalen Formation von post mortem Gehirnen. CaN A wurde überwiegend in den exzitatorischen Neuronen des Hippokampus entdeckt. Die beiden Isoformen  $\alpha$  und  $\beta$  waren in allen untersuchten Gebieten der hippocampalen Formation exprimiert. Die  $\gamma$ -Isoform wurde nicht zuverlässig in der CA1-Region des Hippokampus nachgewiesen. Die Expression der mRNA waren bei allen Isoformen bei den schizophrenen Patienten geringer. Die mRNA von der  $\gamma$ -Isoform erreichte signifikante Unterschiede im Gyrus dentatus und in den pyramidalen Zellen der CA3-Region. Zusätzlich zur Kontrolle medikamentöser Effekte wurde die mRNA von CaN A in Ratten gemessen, die mit Haloperidol oder Chlorpromazin behandelt wurden. Die Expression aller Isoformen im Hippokampus der Ratten blieb nach Gabe der Medikamente unverändert, so dass ein Einfluss von Medikamenten auf die Genexpression ausgeschlossen werden konnte. Aus den Befunden schließen die Autoren, dass die verminderte CaN-Expression bei der Schizophrenie zu einer abnormen hippocampalen synaptischen Plastizität führt und damit die glutamaterge Transmission beeinflusst.

Murata und Mitarbeiter (2008) entdeckten in Blutproben von 16 Patienten Unterschiede in der Expression von CaN A innerhalb der psychopathologischen Ausprägung (gemessen mit der Brief Psychiatric Rating Scale) und in Abhängigkeit der neuroleptischen Medikamentendosis. Der Vergleich mit einer Kontrollgruppe zeigte

keine signifikanten Unterschiede in der Expression von CaN A und CaN B. Kozlovsky und Mitarbeiter (2006) verglichen post mortem die Proteinmengen von Calcineurin im Gehirn, speziell im DLPFC und Hippokampus bei 15 schizophren Erkrankten und 15 gematchten Kontrollprobanden und entdeckten keine Mengenunterschiede zwischen beiden Gruppen. Yamada und Mitarbeiter (2007), welche in ihrer beschriebenen Assoziationsstudie signifikante Ergebnisse zeigten, untersuchten im post mortem Gewebe früherer schizophrener (n=35), bipolarer (n=35) und gesunder Probanden (n=35) mit RT-PCR Assays die mRNA-Expression der PPP3CC-Gene, im DLPFC. Die mRNA-Menge unterschied sich in keiner der drei Gruppen.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass das PPP3CC-Gen die bisher am wenigsten positiven Replikationsstudien aufweist und daher fraglich ist, wie stark der Einfluss dieses Gens bei der Entwicklung einer schizophrenen Erkrankung ist.

## 4 Fragestellung

Die Evidenz einer Assoziation mit der Erkrankung Schizophrenie variiert sehr stark bei den vier vorgestellten Genen. Für jedes Gen gilt, dass mehr als ein SNP eine Assoziation mit Schizophrenie zeigt, aber nur wenige davon hochsignifikant. In manchen Fällen besteht die Assoziation nicht mit den gleichen Allelen oder Haplotypen, was die Interpretation erschwert. Keine Assoziation besitzt die hinreichende Größe, um die Kopplung vollständig aufzuklären. Limitierende Faktoren, wie inkonsistente Befunde, schwache statistische Power, Stichprobenheterogenität und „publication bias“ (negative Befunde werden weniger publiziert) erschweren eine endgültige Aussage. Die Relevanz und Bedeutsamkeit dieser Befunde kann nur in qualitativ hochwertigen Replikationen und in funktionellen Untersuchungen beschrieben werden.

Das Ziel dieser Untersuchung besteht darin, positive Assoziationen bekannter Polymorphismen der Gene NRG1, G72, DAO und PPP3CC in einer deutschen Fall-/Kontrollgruppe zu replizieren (Abbildung 3.4.1). Aufgrund der Verantwortung gegenüber Leben und Ressourcen bilden Replikationsstudien einen wichtigen Bestandteil in der epidemiologischen Forschung. Assoziationen mit den jeweiligen SNPs bzw. Genen ziehen weitere, aufwendigere tier- respektive humanexperimentelle Untersuchungen nach sich.

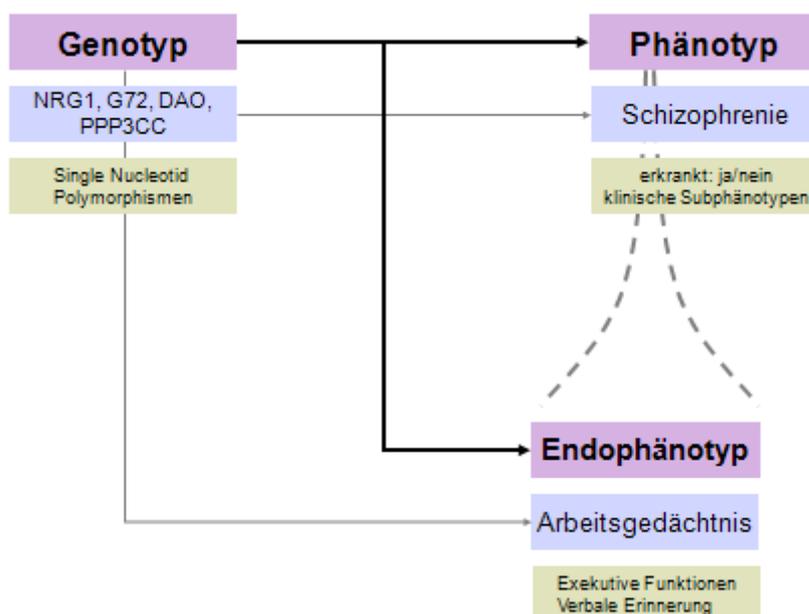


Abbildung 3.4.1 Konzeption der eigenen Assoziationsstudie

Mit Hilfe ausgewählter klinischer Subphänotypen, welche stärkeren genetischen Mechanismen zugrunde liegen, sollen die Ergebnisse der Replikation innerhalb der Patientengruppe verifiziert werden.

Die alleinige Replikation bleibt allerdings unzureichend für die Erforschung der genetischen Ursachen einer Erkrankung. Ein Ausweg scheint der vorgestellte Endophänotypenansatz. Eingeschränkte Funktionen des Arbeitsgedächtnisses sind bezeichnende Merkmale der Schizophrenie und gelten als markante Endophänotypen der Erkrankung. Die Assoziation der vier Gene mit intermediären Phänotypen wird speziell anhand verschiedener Leistungen im Arbeitsgedächtnis innerhalb der Fall-/Kontrollgruppe untersucht.

Unter der Annahme eines polygenen Vererbungsmodells mit epistatischen Effekten besteht ein weiteres Ziel der Arbeit in der Identifikation von Gen-Gen-Interaktionen. Alle vier Gene werden, basierend auf der Glutamathypothese der Schizophrenie, im Zusammenhang mit dem NMDA-Rezeptor diskutiert. Die Annahme, dass mehrere genetische Marker die Erkrankung Schizophrenie besser erklären, soll mit den hier untersuchten Markern geprüft werden.

## 5 Material und Methoden

### 5.1 Stichprobe

Die Studie wurde mit Zustimmung der lokalen Ethikkommission durchgeführt. Die Studienteilnehmer wurden über die Zielsetzung der Studie, Risiken sowie die anonymisierte Verwendung von erhobenen Daten und gewonnenen Blutproben durch qualifiziertes Fachpersonal aufgeklärt. Die Studienteilnahme erfolgte auf freiwilliger Basis nach Einholung unterschriebener Einverständniserklärungen. Die Rekrutierung der beiden Gruppen fand in den Jahren 2003 und 2004 statt.

#### 5.1.1 Fall- und Kontrollgruppe

Die Patienten wurden aus den psychiatrischen Kliniken innerhalb des Landkreises München rekrutiert. Zum Teil waren es ehemalige Patienten, die telefonisch kontaktiert wurden. Eine weitere Anzahl an Patienten befand sich aufgrund akuter Beschwerden gerade in der Klinik oder in ambulanter Behandlung. Für alle Teilnehmer galten folgende *Einschlusskriterien*:

- Mindestalter von 18 Jahren,
- deutsche Herkunft,
- freiwillige Teilnahme und unterschriebene Einverständniserklärung,
- Diagnosekriterien für die Schizophrenie nach dem DSM-IV Klassifikationssystem (295.xx) erfüllen.

Außerdem galten folgende *Ausschlusskriterien* für die klinische Gruppe:

- Diagnose einer schizoaffektiven Störung oder affektiven Störung ohne Bezug zur Schizophrenie,
- ein monozygoter Zwilling und
- intravenöser Drogenmissbrauch

Die Kontrollgruppe wurde zufällig über das Einwohnermeldeamt rekrutiert. Die Probanden erhielten ein Anschreiben mit einer Einladung für die Teilnahme. Bei Bereitschaft wurden sie nach einem positiven Telefonscreening, welches psychiatrische und hirnorganische Vorerkrankungen bei den Teilnehmern und ihren Verwandten ersten Grades ausschloss und bei Unauffälligkeiten nach einer schriftlichen Befragung zu psychiatrischen Vorerkrankungen, Suizidversuchen, Interventionen von Psychiatern und Neurologen bei ihnen und ihren Verwandten ersten Grades zur Untersuchung in die Klinik bestellt.

Insgesamt wurden 365 Fall- und 368 Kontrollprobanden für die statistische Auswertung eingeschlossen. Während das Geschlechterverhältnis in der Kontrollgruppe ähnlich verteilt ist, überwiegen in der Patientengruppe die männlichen Probanden. Die Kontrollgruppe hat im Mittel ein höheres Alter. Damit wird die Wahrscheinlichkeit der Entwicklung psychischer Krankheiten im späteren Lebensalter stärker umgangen (Tabelle 5.1.1).

Tabelle 5.1.1 Stichprobenkennwerte der Fallgruppe und Kontrollgruppe (N=733)

	Fallgruppe	Kontrollgruppe
<b>Geschlecht (männlich/weiblich)</b>	235/130	164/204
<b>in %</b>	64,2/35,8	44,6/55,4
<b>Alter MW (SD)</b>	38,5 (11,3)	47,3 (14,4)

### 5.1.2 N-Back Stichprobe

Aus dem Pool der untersuchten Stichprobe wurden freiwillige Probanden für die weiterführenden kognitiven Untersuchungen rekrutiert. Zusätzlich zu den genannten Selektionskriterien der Fall-/Kontrollgruppe sollten die Probanden beider Gruppen nicht älter als 65 Jahre alt sein, einen Intelligenzquotienten von mindestens 75 aufweisen, eine ausreichende Seh- und Hörfähigkeit besitzen sowie Arme und Finger entsprechend bewegen können, um in der Lage zu sein, die Tests durchführen zu können. Neurologische Erkrankungen waren ausgeschlossen. Die n-back Untersuchungen fanden im Rahmen einer zweiten Untersuchung statt, in der auch andere kognitive Tests durchgeführt wurden. Zum Auswertungszeitpunkt konnten 36 Kontrollprobanden und 67 schizophren Erkrankte für eine Teilnahme gewonnen werden, für die bereits Genotypisierungsdaten vorlagen. Patienten und gesunde Probanden unterschieden sich weder im Geschlecht ( $\chi^2=1.2$ ,  $p=.273$ ), im Alter ( $T=1.3$ ,  $p=.207$ ) noch im Ausbildungsniveau ( $\chi^2=3.7$ ,  $p=.160$ ).

Tabelle 5.1.2 Stichprobe für die n-back Untersuchung

	Fallgruppe (n=67)	Kontrollgruppe (n=36)
<b>Geschlecht (männlich/weiblich)</b>	41/26	18/18
<b>in %</b>	61.2/38.8	50.0/50.0
<b>Alter (MW/SD)</b>	38.5 (10.3)	41.3 (11.0)
<b>Ausbildung</b>		
niedrig	21	7
mittel	23	9
hoch	22	18

## 5.2 Messinstrumente

### 5.2.1 Klinisches Interview

Zur Validierung der Diagnose der Schizophrenie wurden anamnestische Daten erhoben sowie das Strukturierte Klinische Interview nach den DSM-IV-Kriterien (SKID) durchgeführt. Das SKID ist ein semistrukturiertes Interview und dient der Auswahl einer Patientenpopulation zu Studienzwecken. Das Interview basiert auf den Kriterien des Klassifikationssystems DSM-IV (Saß et al., 1996). Die Durchführung dieses Interviews erlaubt es, Symptome, Syndrome und Diagnosen entsprechend der expliziten diagnostischen Kriterien des DSM-IV abzuleiten. Der Schweregrad, der Verlauf und spezifische Auffälligkeiten vergangener Episoden psychischer Störungen können ebenfalls mit dem SKID diagnostiziert werden. In diesem Interview wurden zur Erfassung der Einschluss- und Ausschlusskriterien bei den Patienten das Heft 1 (zur Erfassung der Achse I Störungen, Psychopathologie) und bei der gesunden Vergleichsgruppe zusätzlich Heft 2 (Persönlichkeitsstörungen) angewandt. Als weitere Quelle dienten sämtliche zur Verfügung stehende Arztbriefe, die in die diagnostische Bewertung einfließen.

Tabelle 5.2.1 Stichprobenkennwerte der Patientengruppe (N=365)

Charakteristika	Kennwerte
<i>Typen</i>	
Paranoid	77,6% (284)
Desorganisiert	15,0% (55)
Kataton	2,7% (10)
Undifferenziert	1,6% (6)
Residuale	3,0% (11)
<i>Ersterkrankungsalter</i>	MW=25.1 (SD=7.9)
Männlich	MW=23.7 (SD=6.4)
Weiblich	MW=27.8 (SD=9.4)
<i>Negative Symptome</i>	ja/nein (inkl. möglich)
Affektverflachung	218/147
Antriebshemmung	257/108
<i>Verlauf</i>	
Einzelepisode	7,5% (27)
Schübe	61,3% (222)
Chronisch	31,2% (113)

Aus dem SKID wurden Informationen zum Alter der Erstmanifestation, definiert als Zeitpunkt des ersten Auftretens psychotischer Symptome (Item C44), zur Negativsymptomatik und zum Krankheitsverlauf entnommen. Bei den negativen Sympto-

men Antriebshemmung (Item B20) und Affektverflachung (Item B22) sieht der SKID die drei Antwortalternativen „nein“, „möglich“ und „ja“ vor. Die beiden Antwortmöglichkeiten „möglich“ und „nein“ wurden zu einer Kategorie zusammengefasst, um die Ausgewogenheit der Gruppen zu erhöhen.

Die Patientengruppe bestand aus 365 Probanden mit der Diagnose Schizophrenie. Die Mehrheit der Patienten zeigt die paranoide Form der Schizophrenie (Tabelle 5.2.1). Die katatone Unterform ist kaum vertreten. Dies deckt sich mit der Beobachtung, dass dieser Typus in industrialisierten Ländern immer weniger vorkommt (Höffler und Bräunig, 1995). Das durchschnittliche Ersterkrankungsalter beträgt in etwa 25 Jahre. Die Mehrheit der Patienten erkrankte zwischen dem 16. und 32. Lebensjahr. Davor und danach waren die Anzahl der Erkrankungen wesentlich geringer. Wie erwartet ist das Erkrankungsalter bei den männlichen Probanden ca. 4 Jahre früher als bei den weiblichen Probanden ( $T=-4.4, p<.000$ ). Dies entspricht den bekannten epidemiologischen Daten (z.B. Hambrecht et al. 1992). Die Daten zur Antriebshemmung und Affektverflachung zeigen ein mehrheitliches Vorhandensein negativer Symptome; der schubförmige Verlauf trat am häufigsten auf.

### 5.2.2 N-back Aufgaben

Die Leistungen des Arbeitsgedächtnisses wurden mit dem n-back Paradigma erfasst. Im Speziellen waren es die CDRT-Aufgaben, modifiziert nach der Versuchsanordnung von Weinberger und Calicott (Calicott et al. 1999).

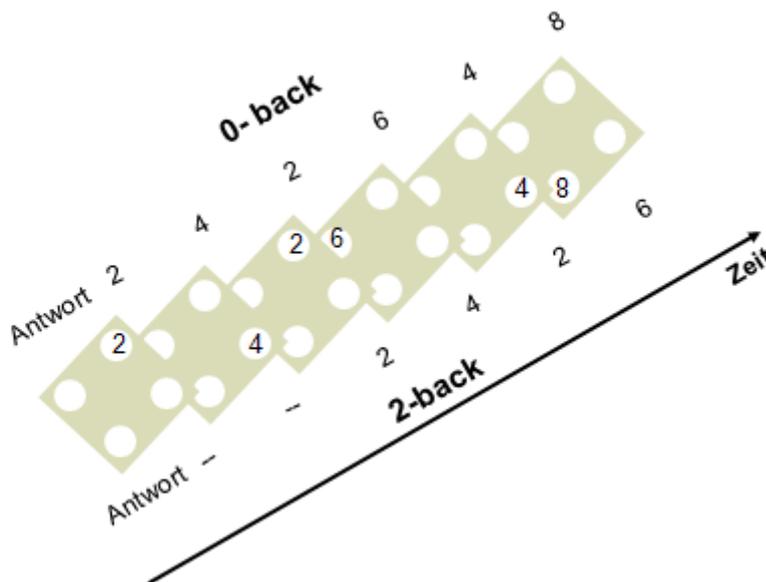


Abbildung 5.2.1 Beispiel für eine n-back Aufgabe

Dem Probanden wurden als Stimuli die Zahlen 2, 4, 6, 8 visuell auf einem rautenförmigen Feld mit einer Zahl in jeweils einer Ecke der Raute alle 1,8 sec für 500 msec

auf einem Bildschirm dargeboten. Zur Präsentation wurde ein 17“ Laptop verwendet. Daneben befand sich eine Tastatur mit vier Tasten, welche die Zahlen in der gleichen Anordnung abbildeten. In der Referenzsituation (0-back) sollte der Proband direkt nach Zeigen des Stimulus auf das jeweilige Tastaturfeld drücken, z.B. drückte er sofort die 4, nachdem die Zahl 4 auf dem Bildschirm präsentiert wurde. Je nach Instruktion (1-,2- oder 3-back) sollte der vorletzte, der vorvor- oder der vorvorvorletzte gezeigte Stimulus auf der Tastatur gedrückt werden (Abbildung 5.2.1). Bei der 1-back Situation würde das bedeuten, das nach Zeigen der Zahlen 2-4, die 2 gedrückt werden muss, nach dem die 4 präsentiert wurde.

19 Durchgänge mit je 14 Zahlen wurden durchlaufen. Mit Ausnahme der 3-back Situation durchliefen die 0 bis 2-back Versionen je sechs Durchgänge (Tabelle 5.2.2).

Tabelle 5.2.2. Versuchsanordnung der n-back Aufgaben

Sektion	n-back
1	0-back
2	1-back
3	2-back
4	0-back
5	1-back
6	2-back
7	1-back
8	1-back
9	0-back
10	2-back
11	0-back
12	2-back
13	1-back
14	2-back
15	0-back
16	0-back
17	3-back
18	2-back
19	1-back

#### a) Quantität der Aufgaben

Als Maß für die Quantität wurde die Reaktionszeit gemessen. Die Reaktionszeit war definiert als die Zeit zwischen dem Erscheinen des Stimulus und dem Drücken auf die Tastatur. Für die 0- bis 2-back Situationen wurde der Mittelwert der Reaktionszeit über die sechs Durchgänge gebildet; für die 3-back Situation der Mittelwert über einen Durchgang.

### b) Qualität der Aufgaben

Die Qualität wurde durch die Anzahl der korrekten Antworten ausgedrückt. Bei 14 Zahlen je Durchgang konnten bei je sechs Durchläufen in den 0- bis 2-back Situationen maximal 84 richtige Antworten gegeben werden.

## 5.3 Genetische Marker

Als genetische Marker wurden biallelische SNPs gewählt, die zum größten Teil in vorangegangenen Publikationen signifikante Ergebnisse zeigten. Neben der SNP\_ID wurde ein SNP-Name frei gewählt, um eine bessere Übersicht zu gewährleisten. Daneben sind die Chromosomenposition und deren Relation im/zum Gen, die kodierenden Allele und deren Funktion, soweit bekannt, aufgelistet.

### 5.3.1 NRG1

Für NRG1 diente die Studie von Yang und Mitarbeitern (2003) als Vorlage. Der Polymorphismus SNP8NRG221533 (N\_1) am 5' Ende zeigte in der Studie von Stefansson und Mitarbeitern (2002) die stärkste Assoziation. Der zweite assoziierte SNP rs3924999 (N\_2) befindet sich im Exon 2, ist funktionell und führt zu einem Aminosäureaustausch von Arginin (Arg) zu Glutamin (Gln). Der dritte positive Befund, SNP rs2954041 (N\_3) ist im fünften Intron lokalisiert (Tabelle 5.3.1).

Tabelle 5.3.1 untersuchte Polymorphismen im NRG1-Gen

SNP-Name	SNP_ID	Chromosomenposition	Allel	Position im/zum Gen	Funktion
N_1	SNP8NRG221533	31330341	C/T	5'Region nahe Promotor	unbekannt
N_2	rs3924999	32309558	C/T	Exon 2	Arg38Gln Basenaustausch
N_3	rs2954041	32378826	G/T	Intron 5	unbekannt

### 5.3.2 G72 und DAO

Für G72 und DAO war die erste Veröffentlichung der Forschergruppe um Chumakov (2002) Vorlage für die Auswahl der SNPs. In deren Studie sind im G72-Gen zwei SNPs signifikant assoziiert, rs778293 (M22) und rs3918342 (M23). Rs778293 (in dieser Untersuchung als G\_1 bezeichnet) ist 25,8 kb hinter dem letzten G72-Exon und 11,1 kb vor dem ersten G30-Exon lokalisiert, mit unbekannter Funktion. Die Marker M22 und M23 befanden sich in der Studie von Korostishevsky und Mitarbeitern (2004) im hohen Kopplungsungleichgewicht. Daher kann M22 bzw. G\_1 als tagSNP betrachtet werden, der den Marker M23 mit abdeckt.

Vier SNPs im DAO-Gen, rs2111902 (MDAAO4), rs3918346 (MDAAO5), rs3741775 (MDAAO6) und MDAAO7 der Referenzstudie waren ebenfalls mit Schizophrenie assoziierte SNPs (Chumakov et al., 2002). In dieser Studie wurden die beiden Marker rs2111902 (bezeichnet als D\_1) und rs3741775 (bezeichnet als D\_2) untersucht.

Beide Polymorphismen befinden sich in der Intron-Region mit unbekannter Funktion (Tabelle 5.3.2).

Tabelle 5.3.2 untersuchte Polymorphismen im G72- und DAO-Gen

SNP-Name	SNP_ID	Chromosomenposition	Allel	Position im/zum Gen	Funktion
G_1	rs778293	105005837	A/G	Nähe zum G72 Gen	unbekannt
D_1	rs2111902	109211693	T/G	Intron 1	unbekannt
D_2	rs3741775	109216549	G/T	Intron 4	unbekannt

### 5.3.3 PPP3CC

Von den fünf assoziierten SNPs im PPP3CC-Gen in der Studie von Gerber und Mitarbeitern (2003) wurden die drei Marker rs10108011 (P\_1), rs2449348 (P\_2) und rs2461491 (P\_3) untersucht (Tabelle 5.3.3). Alle drei SNPs befinden sich in Intron-Regionen mit unbekannter Funktion.

Tabelle 5.3.3 untersuchte Polymorphismen im PPP3CC-Gen

SN- Name	SNP_ID	Chromosomenposition	Allel	Position im/zum Gen	Funktion
P_1	rs10108011	22342744	G/A	Intron 1	unbekannt
P_2	rs2449348	22381510	G/A	Intron 4	unbekannt
P_3	rs2461491	22383190	T/C	Intron 4	unbekannt

## 5.4 DNA-Extraktion

Von allen Studienteilnehmern wurde Blut venös abgenommen. Die Proben wurden kodiert, um Anonymität zu gewährleisten und bei  $-80^{\circ}$  C konserviert. Zur Extraktion der genomischen DNA wurde ein Kit der Firma Qiagen gemäß der gegebenen Anleitung verwendet (Quiagen 2001).

Nach Auftauen des tiefgefrorenen EDTA-Blutes bei Raumtemperatur wurden jeweils 10 ml Blut zur Lyse der Leukozyten und Freisetzung der Nukleinsäuren mit 500  $\mu$ l Proteinase K versetzt, um durch Verdauung und Degradierung der denaturierten Proteine zu kleineren Fragmenten eine leichtere Trennung von der DNA zu erreichen. Der anschließend zugegebene Guanidin-HCL-haltige Puffer führt zum Entzug der Hydrathülle der DNA, damit sie sich später an die Silikagel-Säule zu binden vermag. Die Lösung wurde für zwei Minuten auf dem Vortexer zur Vervollständigung der Zellyse durchmischt und unter gleichzeitigem Schütteln im Wasserbad bei  $70^{\circ}$  C für mindestens 30 Minuten inkubiert, um einen maximalen DNA-Ertrag zu erhalten.

Um die DNA auf das Säulenmaterial zu fällen, wurde die Probe mit 10 ml Ethanol (100F%) versehen und für zwei Minuten auf dem Vortexer vermischt, auf die Silikamembran gegeben und sukzessive für drei Minuten bei 3000 rpm zentrifugiert. Hierbei sorgen Salz- und pH-Bedingungen dafür, dass RNA und Nukleinsäurebindende Proteine ungebunden bleiben. Zur Entfernung von RNA- und Protein-

Verunreinigungen wurde die Säule erst mit Guanidin-HCL-haltigem Puffer und zur Entfernung der Guanidiniumsalze mit ethanolhaltigem Waschpuffer gewaschen.

Die Elution von der Silikamembran erfolgte unter Zugabe von einem ml eines Tris-haltigen Puffers (pH > 9,0). Die DNA-haltige Membran wurde dazu für fünf Minuten bei Raumtemperatur inkubiert und für weitere fünf Minuten bei 5000 rpm zentrifugiert. Die unter saurem Milieu zuvor an die Silikamembran gebundene DNA ließ sich so mittels des basischen Tris-Puffers eluieren.

## 5.5 Bestimmung der DNA-Konzentration

Die DNA-Konzentration jeder einzelnen Probe wurde mittels dsDNA-spezifischem SYBR Green I Fluoreszenzfarbstoff (Molecular Probes, Eugene, Oregon) in einem Genios Mikrotiterplatten-Fluoreszenz-Leser (Firma Tecan) bestimmt. Dabei wurde für die qualitativen SNP-Typisierungen eine Genauigkeit der DNA-Konzentration von ca. +/-10% als hinreichend angesehen.

Die Konzentrationsbestimmung wurde in schwarzen 96 well Platten mit flachem Boden (Firma Greiner) durchgeführt. Auf jeder zu messenden Platte wurde eine Standardkurve mitgemessen.

Die Standardkurve aus Lamda-Kontroll-DNA (100 µg/ml) wurde aus acht Punktmessungen (0/0.001/0.01/0.1/ 0.125/0.25/0.5/1 ng/µl) erstellt. Zur weiteren Vorbereitung der Messplatte wurden 99 µl 0.2 x Tris-EDTA-Puffer (TE) vorgelegt und je 1 µl DNA zupipettiert. Je zwei wells pro Platte enthielten Kontroll-DNA definierter Konzentration (50 ng/µl) sowie den Leerwert (100µl 0.2 x TE). Das lichtempfindliche SYBR Green I wurde unmittelbar vor der Messung mit 0.2xTE verdünnt (3.52 µl SYBR Green I Stammlösung mit 11 ml 0.2 x TE pro Platte). Zu jeder Probe inklusive der Lamda-Standard-DNA wurden jeweils 100 µl SYBR Green-I-Arbeitslösung zupipettiert, gut gemischt und zentrifugiert.

Nach einer Reaktionszeit von fünf bis zehn Minuten wurde die Fluoreszenz sofort mittels Photometer gemessen, da es bereits nach etwa 15 Minuten zu einem deutlichen Abfall der Fluoreszenz kommt. Zur Bestimmung der Fluoreszenz wurde eine Anregungswellenlänge von 485 nm verwendet und die Emission bei 535 nm gemessen. Weitere Einstellungen des verwendeten Tecan-Genios-Gerätes waren die Messung von zehn Lichtblitzen bei einer optimalen Steigerung und ohne Verzögerung mit einer Integrationszeit von 40 µs.

Die ermittelten Werte wurden bezüglich der Standardkurve kalibriert (8-Punkt-Kalibrierung). Eine Überprüfung der Qualität der Standardkurve sollte mindestens einen Pearsonschen Korrelationskoeffizienten von 0.98 ergeben. Der optimale Messbereich dieser Methode liegt bei Konzentrationen zwischen 20 und 200 ng/µl. Bei Über- oder Unterschreiten dieses Bereiches wird eine neue Messung in anderer Verdünnung verlangt. Alle Proben wurden sorgfältig auf dieselbe Konzentration von

50 ng/ $\mu$ l eingestellt, anschließend erneut vermessen und mit 0.1xTE auf 1 ng/ $\mu$ l verdünnt.

## 5.6 Genotypisierung

Die Assays für alle SNPs (Tabellen 5.3.1 bis 5.3.3) wurden mit Hilfe der Spectro Designer Software (Firma Sequenom, San Diego, CA) designed. Informationen zu den Sequenzen sind unter der NCBI dbSNP Datenbank ([www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/)) erhältlich. Die Details zu den PCR und Extension Primern sind in Tabelle 5.6.1 aufgelistet.

Tabelle 5.6.1 Primer der untersuchten Marker

SNP_ID	2nd-PCR Primer	1st-PCR Primer	Extension Primer 1
N_1	ACGTTGGATGTTGCCTGGT GATCAGAGTTG	ACGTTGGATGCCGATTCCCT GGCTTTTCATC	TTTAGCCTTGCCTCCCC
N_2	ACGTTGGATGGGGAACACA CACTCGAAAAG	ACGTTGGATGGTTCTTCCC CTGATGTTATAC	GAACACACACTCGAAA AGAGGTTT
N_3	ACGTTGGATGATGTCTCAA GAGACTGGAAG	ACGTTGGATGAGGCATCAG TTTCAATAGC	GAAGCCATGTATCTTTA TTTT
G_1	ACGTTGGATGCTAGTTGCC CCCCAAAATTG	ACGTTGGATGCCCTGACAG CTGACAATAAC	TTGCCCCCAAATTGT ATTCTACA
D_1	ACGTTGGATGAATGGCGCT AAGGATGATGG	ACGTTGGATGAATCACCAC CACGCATTG	TGGAGATGATGGTGATG ATGT
D_2	ACGTTGGATGGGTGAGGAG AAGACCAGAGA	ACGTTGGATGCCCAGAAGC TCCATATCACC	CTGTGTGACCTTAGGAA GT
P_1	ACGTTGGATGTGATGCATA CTGCCGACATC	ACGTTGGATGTGCTTCTG GACCATAACAG	GGACAAACAGTGGGTG- AGC
P_2	ACGTTGGATGAAGATTATC TTGGGAGGGCC	ACGTTGGATGAGTGAGACC CTGTCCCTAAA	TGGGAGGGCCTGATCTA- ATCAGA
P_3	ACGTTGGATGCTCCTTTTG CCCAGAATTTC	ACGTTGGATGGCCATCAGG TTAACTACAG	AGGTTTTTATTGCTTT TCAC

Die Genotypisierung der DNA-Proben erfolgte im Genom-Analyse-Zentrum der Gesellschaft für Strahlenforschung in München. Die Analysen wurden mittels des *Mass array* matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight *Systems* (*Mass Array* MALDI-TOF System) durchgeführt. Die MALDI-TOF Massenspektrometrie ist eine Technik, bei der kleine DNA Moleküle anhand differierender Massen unterschieden werden können. Aufgrund der ungleichen molekularen Massen einzelner Nukleotide werden die unterschiedlichen Primer Extension Produkte mit dieser Technik massenspektrometrisch ohne eine Markierung mit Fluoreszenzfarbstoffen detektiert. Mit der MALDI-TOF Technologie ist eine SNP Detektion von Primer Extension Produkten im Hochdurchsatzverfahren gut möglich (ROSS et al.1998; PARIS et al. 2002). Die Prozentzahl aller genotypisierten Fälle lag bei den einzelnen SNPs zwischen 0.96 und 0.99.

Zunächst wurden jeweils Proben à fünf ng genomischer DNA durch die Polymerasekettenreaktion (PCR) amplifiziert. Hierzu wurde Hot Star Taq DNA-Polymerase (Firma Qiagen) mit den PCR-Primern in einer finalen Konzentration von 167 nmol

in einem Volumen von 6  $\mu$ l zusammengeführt. Die PCR-Primer wurden um zehn Basen verlängert, um ihre Masse zu erhöhen, bis sie außerhalb des Messfensters lag. PCR-Bedingungen waren 95° C für 15 Minuten, Denaturierung bei 95° C für 30 Sekunden, Annealing bei 56° C für 30 s, Extension bei 72° C für eine Minuten für 44 Zyklen und eine abschließende Extension bei 72° C für zehn Minuten Die PCR-Produkte wurden mit Shrimp Alkaline Phosphatase ((SAP); Amersham) bei 37° C für 20 Minuten behandelt, um überschüssige dNTPs zu entfernen. Danach wurde die SAP durch Inkubation bei 85° C über zehn Minuten inaktiviert. Thermo sequenase (Amersham) wurde für die basalen Extensionsreaktionen verwendet. Extensionsprimer wurden bis zur endgültigen Konzentration von 0.54 millimol in zehn  $\mu$ l Reaktionsvolumen zugesetzt. Die Konditionen für die grundlegenden Extensionsreaktionen waren 94° C für zwei Minuten, gefolgt von 94° C für fünf Sekunden, 52° C für fünf Sekunden und 72° C für fünf Sekunden bei 40 Zyklen. Sämtliche Reaktionen, wie Reverse Transkription, PCR-Amplifikation und basale Extension, wurden in einem Tetrad PCR Cycler (M.J. Research) durchgeführt. Die Produkte der basalen Extension wurden mit SpectroCLEAN Granulat (Firma Sequenom) behandelt, um die Salze im Reaktionspuffer zu entfernen.

Alle Pipettierschritte wurden mit einer Multimek-96-Kanal-Autopipette (Firma Beckman Coulter) ausgeführt und 16  $\mu$ l der Granulat-Wasser-Suspension in jedes well zugegeben, woraus sich ein Gesamtvolumen von 26  $\mu$ l ergab. Nach Zentrifugation bei 2000 rpm für drei Minuten in einer Eppendorf Zentrifuge 5810 wurden 10 nl der Reaktionslösung mit einem ROBO Design Pintool Nanodispenser (Firma Sequenom) auf einem 384-Format SpectroCHIP (Firma Sequenom, [www.methexis-genomics.com/0206malditof.html](http://www.methexis-genomics.com/0206malditof.html)) verteilt. Dieser CHIP war bereits mit einer Matrix von 3-Hydroxypicolinsäure (3-HPA) beschichtet. Ein modifiziertes Bruker Biflex oder Autoflex MALDI-TOF SpectroCHIP-Massenspektrometer (Firma Sequenom) wurde für die Datenaquisition von dem SpectroCHIP herangezogen.

Die Genotypen wurden mit der MASS ARRAY RT Software (Firma Sequenom) bestimmt und manuell mit der Software SpectroTYPER RT 2.0 (Firma Sequenom) überprüft. Massenspektren von konservativen Genotypen wurden auf Konsistenz kontrolliert, Massenspektren aller nicht eindeutigen Genotypen individuell geprüft und mehrdeutige Genotypen verworfen.

## 5.7 Untersuchungsdesign und statistische Auswertung

### 5.7.1 Replikationsstudie

Der erste Teil der Untersuchung, die Replikationsstudie, befasst sich mit dem Zusammenhang zwischen dem Genotyp bekannter genetischen Marker von NRG1, G72, DAO, PPP3CC (Abschnitt 5.3) und dem Phänotyp Schizophrenie. Zur Identifizierung einer Assoziation wurde ein Fall-/Kontrollgruppendesign gewählt. Um möglichst aussagekräftige Ergebnisse zu erzielen, sind eine homogene und große

Stichprobe erforderlich. Insbesondere bei Replikationsstudien ist die Quantität und Qualität der Stichprobe ein entscheidendes Kriterium, um vorangegangene Ergebnisse verifizieren zu können. Die optimale Stichprobengröße kann mittels einer Poweranalyse identifiziert werden. Die erforderlichen Parameter, wie die Häufigkeit eines Risikoallels, das Relative Risiko der Genotypen sind allerdings nur geschätzte Werte, die von Stichprobe zu Stichprobe stark variieren, so dass auf eine Powerkalkulation verzichtet und Wert auf eine qualitativ „hochwertige“ Stichprobe gelegt wurde, indem ausschließlich deutsche Probanden untersucht wurden und in der Kontrollgruppe keine psychiatrischen und neurologischen Vorerkrankungen bei den Probanden und den Erstgradangehörigen aufgetreten waren.

Der Genotyp bildete die unabhängige Variable. Untersucht wurde die Allelverteilung (zweifach gestuft), die Genotypverteilung (dreifach gestuft) und die Verteilung der Haplotypen ( $2^n$ ;  $n$ = Anzahl der SNPs). Der Phänotyp und somit abhängige Variable, die Diagnose Schizophrenie, wurde dabei als diskrete Variable (erkrankt vs. nicht erkrankt) betrachtet.

Die verwendeten statistischen Verfahren setzten voraus, dass sich die Marker im HWG befinden. Dieses wurde anhand des Chi<sup>2</sup>-Tests nach Pearson berechnet. Bei Zelhäufigkeiten von  $<5$  wurde Fishers exakter Test angewandt. Der Grad der Assoziation wurde mit dem Odds Ratio (Kreuzprodukt) ermittelt, wobei das Risikoallel das häufiger vorkommende in der Fallgruppe war. Der Wert 1 bedeutet die statistische Unabhängigkeit zweier oder mehrerer Variablen. Für die Überprüfung der Signifikanz der Unterschiede in den Allel- und Genotypverteilungen wurden die üblichen Chi<sup>2</sup>-Verfahren eingesetzt, die Irrtumswahrscheinlichkeit auf dem 5%-Niveau festgelegt. Die Berechnungen erfolgten mit dem Statistikprogramm SPSS 12.0.

Das Kopplungsungleichgewicht zwischen zwei Markern wurde mit Lewontins  $D'$  berechnet, welches als stabiles Maß und unabhängig von den Allelfrequenzen gilt. Es dient dazu, eine Schätzung darüber abzugeben, inwieweit die Marker als Haplotypen weitervererbt wurden. Die Werte wurden mit dem Programm „LD“ aus dem „genetics“ package des Statistikprogramms R bzw. mit dem Programm HAPLOVIEW berechnet.

Die Häufigkeiten der ermittelten Haplotypen in der Population wurden mit dem Expectation-Maximization-Algorithmus geschätzt (Excoffier und Slatkin, 1995). Für die weitere Analyse der Haplotypen wurden nur diejenigen mit einer geschätzten Auftretenshäufigkeit ab 5% zugunsten der Informativität berücksichtigt. Für die Schätzung der Haplotyp-Blockstruktur wurde das 95%-Konfidenzintervall von Gabriel et al. (2002) herangezogen. Zur Überprüfung signifikanter Unterschiede zwischen Fall- und Kontrollgruppe wurde eine logistische Regression, der Score-Test von Schaid und Mitarbeitern (2002), berechnet. Die Haplotypenanalyse und der Score-Test wurden mit dem Programm „hap.score“ aus dem Paket „gap“ mit dem Statistikprogramm R durchgeführt. Berechnet wurden die globale Prüfgröße der

Haplotypenanalyse (Signifikanz über alle Haplotypen) und die haplotypspezifischen Prüfgrößen (prüft, ob ein spezieller Haplotyp häufiger in einer bestimmten Gruppe, z.B. bei Patienten oder gesunden Probanden, auftritt).

### 5.7.2 Genetische Assoziation mit den klinischen Charakteristika

Innerhalb der Patientengruppe wurde die Assoziation der Genotypen und der vier Kandidatengene (unabhängigen Variablen) mit den klinischen Subphänotypen Ersterkrankungsalter und den negativen Symptomen (abhängige Variablen) untersucht (Abschnitt 5.2.1). Das Ersterkrankungsalter wurde als quantitatives intervallskaliertes Merkmal betrachtet. Zusätzlich wurde als Kovariable das Geschlecht hinzugezogen, da Männer i.d.R. früher erkranken als Frauen. Die negativen Symptome wurden als diskrete Merkmale durch die Affektverflachung (vorhanden/nicht vorhanden) und die Antriebshemmung (vorhanden/nicht vorhanden) abgebildet.

Zur Überprüfung signifikanter Unterschiede in den verschiedenen genotypischen Verteilungen beim *Ersterkrankungsalter* wurde eine Kovarianzanalyse (ANCOVA) mit dem Geschlecht als Kovariable gerechnet. Zusätzlich wurde der Homogenitätstest von Levené durchgeführt, um die Gleichheit der Fehlervarianzen zu überprüfen, welche die Voraussetzung für die Durchführung einer Varianzanalyse sind. Diese sind im Anhang 1 zu finden. Der Zusammenhang zwischen Genotypverteilung und den *negativen Symptomen* Affektverflachung und Antriebshemmung wurde mit dem Chi<sup>2</sup>-Test nach Pearson ermittelt. Alle Berechnungen wurden in SPSS 12.0 durchgeführt, wie auch die nachfolgenden kognitiven Messungen.

Multiples Testen setzt meist die Notwendigkeit einer Korrektur voraus. Daher wurde die Bonferroni-Korrektur eingesetzt, auch wenn das Verfahren sehr konservativ ist und die Möglichkeit einer Überkorrektur besteht. 63 Hypothesen wurden berechnet.

### 5.7.3 Genetische Assoziation mit den Leistungen in den n-back Aufgaben

Für jeden einzelnen Polymorphismus wurde die zweifaktorielle, multivariate Varianzanalyse (2x4 MANOVA) mit den beiden Faktoren Genotypverteilung und Gruppenzugehörigkeit (erkrankt vs. nicht erkrankt) angewandt. Die Qualität und Quantität als die abhängigen Variablen wurden mit je vier Variablen (0-, 1-, 2- und 3-back Durchläufe) getrennt berechnet (Tabelle 5.7.1). Die statistische Signifikanz wurde mit dem Pillai-Spur-Test ermittelt, die erklärte Varianz über das Wirkungsausmaß  $\eta^2$ . Da in dieser Stichprobe die demografischen Variablen Geschlecht, Alter und Bildungsgrad keinen signifikanten Einfluss zeigten, fanden diese für die weitere Berechnung keine Berücksichtigung.

Die Annahme der multivariate Normalverteilung wurde indirekt über die univariate Normalverteilung mit dem Shapiro-Wilk-Test ermittelt. Die Ergebnisse zeigen, dass alle abhängigen Variablen in der Qualität und die 0-back Situation die Voraus-

setzung der Normalverteilung nicht erfüllen. Trotz Verletzung der Annahme verhält sich hierbei der alpha-Fehler sehr robust. Die Homogenität der Varianz-Kovarianz-Matrizen, berechnet mit dem Box-M-Test zeigt ebenfalls in allen Markern signifikante Unterschiede in den Kovarianzmatrizen bei der Qualität der n-back Aufgaben und bei Marker D\_2 bei der Quantität der gelösten Aufgaben. Allerdings ist dieser Test sehr sensitiv, insbesondere dann, wenn keine multivariate Normalverteilung gegeben ist, wie es bei den vorliegenden Daten der Fall ist. Daher ist das Ergebnis nicht sehr aussagekräftig. Dennoch wurde zusätzlich der Kruskal und Wallis-Test bei allen Variablen berechnet. Im Ergebnisteil wird darauf nur bei Abweichungen im Ergebnis, die im Gegensatz zur MANOVA stehen, eingegangen. Die Ergebnisse zu den beschriebenen Analysen sind Anhang 2 und 3 zu entnehmen.

Tabelle 5.7.1 3x4 faktorieller Versuchsplan für Genotypen getrennt für Qualität und Quantität in den n-back Leistungen

		Patientengruppe			Kontrollgruppe		
		Genotyp 1	Genotyp 2	Genotyp 3	Genotyp 1	Genotyp 2	Genotyp 3
Summe der korrekten Antworten	0-back						
	1-back						
	2-back						
	3-back						
Mittelwerte der benötigten Reaktionszeit	0-back						
	1-back						
	2-back						
	3-back						

Die Analyse der Rohdaten lässt erkennen, dass einzelne Probanden die Aufgaben nicht zu Ende gelöst oder zwischenzeitlich die Tasten nicht gedrückt hatten. Da die dahinter stehende Motivation nicht klar ersichtlich wurde, wurden die Daten nach möglichen Ausreißern überprüft. In dieser Stichprobe wurden ausschließlich nach Ausreißern gesucht, die unterhalb von drei Standardabweichungen vom Mittelwert lagen. Diese könnten ein Indikator für ein Abbrechen einer Versuchsreihe sein. Eine obere Grenze konnte nicht überschritten werden. Die Überprüfung der Reaktionszeiten der verschiedenen n-back Aufgaben ergab, dass kein Fall bei der Auswertung ausgeschlossen werden musste. Da jede n-back Situation (Ausnahme war die 3-back Situation) sechsmal durchgeführt wurde, kann von reliablen Werten ausgegangen werden.

#### 5.7.4 Gen-Gen-Interaktion bei Schizophrenie

Die Genotypen aller vier Kandidatengene bilden die unabhängige Variable, die auf die abhängige Variable, dem Phänotyp Schizophrenie (erkrankt vs. nicht erkrankt) Einfluss nehmen. Da der zugrunde liegende Vererbungsmodus unbekannt ist, wurde die Interaktion parameterfrei in einem Fall-/Kontrolldesign untersucht.

In dieser Arbeit wurde die Methode der Multifaktoriellen Dimensions-Reduktion (MDR) angewandt, welche von der Arbeitsgruppe um Jason Moore implementiert wurde (Hahn et al., 2003; Ritchie et al., 2003). Der Vorteil gegenüber anderen Modellen, wie z.B. der logistischen Regression, ist der parameterfreie Ansatz. Kein Parameter muss geschätzt werden, und es wird auf die Annahme eines zugrunde liegenden genetischen Modells verzichtet. Die Methode wurde außerdem entwickelt, um die Power zu erhöhen.

Die Methode des MDR besteht aus sechs Schritten. Im ersten Schritt wird eine Kreuzvalidierung (engl. cross validation) durchgeführt. Sie ist ein Testverfahren zur Messung der Güte von Algorithmen und Methoden aus dem Data Mining („Datenschürfen“). Dabei werden die Daten in dieser Untersuchung in zehn Datensätze unterteilt, neun der Teilmengen bilden die Trainingsdaten, der übrige Datensatz die unabhängigen Testdaten. Im zweiten Schritt werden  $n$  genetische Faktoren aus dem Pool aller genetischer Faktoren ausgewählt. Der dritte Schritt präsentiert die  $n$  Faktoren und ihre multifaktoriellen Zellen in einem  $n$ -dimensionalen Raum. Bei den neun untersuchten Markern bestehen  $9 \times 3$  (27) Genotypen mit  $3^9$  (19.683) verschiedenen Kombinationsmöglichkeiten. Die vieldimensionalen genetischen Daten werden im vierten Schritt auf eine Dimension mit zwei Kategorien mit den zwei Ausprägungen „hohe Risikogruppe“ und „niedrige Risikogruppe“ reduziert. Die Grenze bildet dabei der Schwellenwert (threshold ratio), welcher durch das Verhältnis von gesunden und erkrankten Probanden bestimmt ist. In dieser balancierten Stichprobe ist es der Wert 1 ( $<1$  ist ein niedriges Risiko). Im fünften Schritt werden alle möglichen Kombinationen der  $n$  Faktoren hinsichtlich der Fähigkeit der Klassifikation in „erkrankt“ vs. „nicht erkrankt“ überprüft. Im letzten Schritt wird mit den Testdaten der Vorhersagefehler des „besten“ Modells aus Schritt fünf geschätzt. Schritt eins bis sechs wird zehnmal wiederholt, wobei die Daten in zehn verschiedene Trainings- und Testdaten unterteilt werden. Die Anzahl der Übereinstimmungen eines Datensatzes aus den Faktoren ist die Kreuzvalidierungs-Konsistenz (CVC).

## 6 Ergebnisse

### 6.1 NRG1-Gen: Replikation

Die Ergebnisse zu NRG1 sind für das Fall-/Kontroll-Design bereits in der Arbeit von Zipp (2005) veröffentlicht. Sie sollen an dieser Stelle kurz zusammengefasst werden (Tabelle 6.1.1). Die drei Marker des NRG1-Gens befinden sich in der untersuchten Gesamtpopulation im HWG (N\_1  $p=1.000$ , N\_2  $p=.952$ , N\_3  $p=.911$ ).

Tabelle 6.1.1 Allelverteilung der drei Marker im NRG-Gen in der Patienten- und Kontrollgruppe

SNP Name	SNP	Allelverteilung		MAF	Hauptallel	OR (95% KI)	Chi <sup>2</sup>	p
		Patienten	Kontrollen					
N_1	C/T	465 T : 257 C	458 T : 258 C	0.36	T	0.99 (0.92,1.07)	0.03	.863
N_2	C/T	464 C : 266 T	466 C : 268 T	0.37	C	1.00 (0.92,1.08)	0	.975
N_3	G/T	702 G : 8 T	713 G : 7 T	0.01	G	1.00 (0.99,1.01)	0.08	.775

Die Minor Allele Frequency (MAF) gibt den Anteil des geringer vorkommenden Allels an. Bei N\_1 und N\_2 steht es etwa im Verhältnis 1:3 mit dem häufiger vorkommenden Allel. Damit ist eine hohe Informativität gegeben. Das T-Allel beim dritten Marker N\_3 kommt dagegen nur zu 1% in der Stichprobe vor und schränkt die Aussagekraft ein.

Für die Berechnung der Odds Ratios wurde dasjenige Allel als Risikoallel bestimmt, welches häufiger in der Fallgruppe vorkam. Wie aus der Tabelle zu entnehmen ist, befinden sich alle Werte nahe dem Unabhängigkeitswert von 1. Die Allelverteilung zeigt anhand der Signifikanzwerte keine Assoziation mit der Erkrankung.

Tabelle 6.1.2 Genotypverteilung der drei Marker im NRG1-Gen in der Patienten- und Kontrollgruppe

SNP-Name	Genotypverteilung		Chi <sup>2</sup>	p
	Patienten	Kontrollen		
N_1	150 TT : 165 TC : 46 CC	146 TT : 166 TC : 46 CC	0.3	.986
N_2	62 TT : 142 TC : 161 CC	47 TT : 175 TC : 146 CC	6.2	<b>.045</b>
N_3	347 GG : 8 GT	354 GG : 7 GT	0.1	.769

Die Genotypverteilung ist bei N\_1 ähnlich in Fall- und Kontrollgruppe (Tabelle 6.1.2). Beim Marker N\_2 sind die homozygoten Genotypen T/T und C/C signifikant häufiger in der Fallgruppe, während der heterozygote Genotyp T/C deutlich vermehrt in der Kontrollgruppe auftritt, wobei der Wert nach Bonferroni-Korrektur keine Signifikanz mehr zeigt ( $p_{\text{bonf}}=1.000$ ). In dieser Stichprobe war der Genotyp T/T im SNP N\_3 nicht vorhanden und G/T deutlich unterrepräsentiert. Hier zeigte sich kein Unterschied in beiden Gruppen.

N\_1 befindet sich mit keinem anderem der SNPs im Kopplungsungleichgewicht (LD, Tabelle 6.1.3). Vermutlich ist der physikalische Abstand zu ihnen zu groß, um

eine Blockstruktur zu bilden. Zwischen N\_2 und N\_3 besteht nach Lewontins  $D'$  ein mäßig starkes LD. Der Korrelationskoeffizient  $r$  gibt keinen Zusammenhang an.

Tabelle 6.1.3 Intermarker-Kopplungsungleichgewicht beim NRG1-Gen

Marker 1 - Marker 2	$D'$ (95% KI)	$r^2$	p
N_1 - N_2	0	0	.784
N_1 - N_3	0.28	0	.145
N_2 - N_3	0.87 (0.49,0.97)	0.01	<.001

Nach den Kriterien des 95% KI von Gabriel (2002) bildet N\_2-N\_3 keine Blockstruktur. Die allelische Assoziation ist nur mäßig und auch wenn im Folgenden eine Haplotypenanalyse berechnet wurde, kann dies nach Gabriel eine Überschätzung der Blockstruktur bedeuten.

Tabelle 6.1.4 Haplotypenanalyse im NRG1-Gen

Haplotyp	Häufigkeiten	Patienten	Kontrollen	Score	p
N2_N3					
C-G	0.64	0.64	0.63	0.2	.849
T-G	0.35	0.35	0.36	-0.3	.797
				global:	.926

Der Haplotyp C-G tritt bei ca. 2/3 der Stichprobe auf und ist der am häufigsten vorkommende Haplotyp. Da nur acht Probanden das T-Allel bei N\_3 tragen, existieren nur zwei Haplotypen, die bei mehr als 5% der Stichprobe auftreten. Die geschätzten Häufigkeiten in der Patienten- und der Kontrollgruppe sind fast identisch und zeigen keine genetische Assoziation mit der Schizophrenie (Tabelle 6.1.4).

## 6.2 NRG1-Gen: klinische Charakteristika

Zunächst wurde die Genotypverteilung beim Ersterkrankungsalter betrachtet. Beim SNP N\_1 ist die heterozygote Gruppe etwa ein Jahr früher erkrankt; beim Marker N\_2 sind es die homozygoten Träger, ohne Signifikanz zu erreichen (Tabelle 6.2.1).

Tabelle 6.2.1 Genotypverteilung der drei Marker in NRG1-Gen beim Ersterkrankungsalter

SNP	Genotypen	MW(SD)	F	p
N_1	TT=150	25.6 (8.2)	0.75	.475
	TC=165	24.6 (7.5)		
	CC=46	25.7 (8.3)		
N_2	TT=62	24.6 (8.0)	1.93	.147
	TC=142	25.9 (8.6)		
	CC=161	24.7 (7.1)		
N_3	GG=347	25.2 (8.0)	0.08	.782
	GT=8	24.0 (5.2)		

Die Untersuchungen zur Negativsymptomatik zeigen beim SNP N\_1 eine stärkere Assoziation der TC- und TT-Genotypen bei bestehender Antriebshemmung (Tabelle 6.2.2). Nach Bonferroni-Korrektur ( $p_{\text{bonf}}=.189$ ) konnte das ursprünglich signifikante Ergebnis nicht aufrecht erhalten werden.

Tabelle 6.2.2 Genotypverteilung der drei Marker im NRG1-Gen bei der Antriebshemmung und Affektverflachung

SNP	Genotypen		Chi <sup>2</sup>	p	Genotypen		Chi <sup>2</sup>	p	Genotypen
	Antriebshemmung				Affektverflachung				
	Ja	Nein			Ja	Nein			
N_1	TT=109	TT=41	11.41	.003**	TT=90	TT=60	1.40	.498	
	TC=124	TC=41			TC=102	TC=63			
	CC=23	CC=23			CC=24	CC=22			
N_2	TT=48	TT=14	2.00	.368	TT=40	TT=22	1.87	.393	
	TC=96	TC=46			TC=88	TC=54			
	CC=113	CC=48			CC=90	CC=71			
N_3	GG=245	GG=102	--	.446	GG=208	GG=139	--	.154	
	GT=7	GT=1			GT=7	GT=1			

Auch in der Affektverflachung bestehen keine Unterschiede zwischen den Genotypenträgern. Die Ergebnisse zu den drei Polymorphismen sind nicht signifikant.

### 6.3 NRG1-Gen: n-back Aufgaben

Da der Marker N\_3 in der Gruppe nicht polymorph war, wurde dieser für die weitere Analyse ausgeschlossen. Es kann vorweggenommen werden, dass in jeder einzelnen Auswertung die Gruppenzugehörigkeit den größten Einfluss auf die Leistungen hatte. Da dies ein bekanntes Phänomen ist, wird sich im Ergebnisteil vorrangig auf den möglichen Einfluss der genetischen Marker auf die Gedächtnisleistungen konzentriert, auch wenn die Ergebnisse zum Fall-/Kontrollvergleich mit aufgeführt sind.

#### 6.3.1 Marker N\_1

Je anspruchsvoller die Bedingungen in der n-back Aufgabe sind, umso weniger richtige Antworten werden getippt. Die besten Leistungen wurden, wie erwartet, von allen Probanden in der 0-back Aufgabe erzielt, gefolgt von der 1-back und 2-back Situation. Die Verschlechterung zwischen den einzelnen Aufgabentypen beträgt in der gesunden Gruppe in etwa 10 Punktwerte, in der schizophren erkrankten Gruppe sogar 15 bis 20 Punkte. Da die 3-back Situation nur einmal durchlaufen wurde, sind die Werte mit den anderen n-back Aufgaben nicht vergleichbar. Auch in dieser Situation zeigte die Kontrollgruppe bessere Leistungen. Die Leistungen zwischen den drei verschiedenen Genotyp-Trägern unterscheiden sich dabei kaum (Tabelle 6.3.1).

Tabelle 6.3.1 Summe der korrekten Antworten und Standardabweichungen in Patienten- und Kontrollgruppe getrennt für die Genotypen des N\_1 Markers im NRG-Gen

N_1	Kontrollgruppe			Patientengruppe			Gesamt		
	TT	TC	CC	TT	TC	CC	TT	TC	CC
0-back	82,8 (1,6)	83,2 (1,5)	82,4 (2,7)	75,8 (13,9)	78,2 (7,7)	76,1 (14,1)	77,5 (12,5)	80,1 (6,6)	79,5 (10,1)
1-back	74,2 (6,0)	74,1 (8,5)	73,0 (13,0)	54,9 (20,3)	55,0 (17,0)	59,3 (10,7)	59,6 (19,7)	62,0 (17,1)	66,5 (13,6)
2-back	64,2 (11,2)	58,5 (14,7)	63,3 (16,0)	38,9 (17,6)	37,3 (12,6)	46,8 (14,1)	45,1 (19,5)	45,2 (16,8)	55,5 (17,0)
3-back	9,6 (2,8)	8,4 (3,1)	8,2 (3,5)	6,3 (3,0)	5,5 (2,3)	6,8 (3,2)	7,1 (3,2)	6,6 (2,9)	7,5 (3,3)
N	9	17	9	28	29	8	37	46	17

Die statistischen Untersuchungen zu den Genotypen TT, TC und CC zeigen keinen Effekt des Polymorphismus auf die Qualität der n-back Leistungen (Tabelle 6.3.2).

Tabelle 6.3.2 Haupt- und Interaktionseffekte in der Fall-/Kontrollgruppe und der Genotypen des Markers N\_1 bei der Qualität der n-back

	F	df1	df2	p
Gruppe	9,3	4	91	<.001
N_1 Genotyp	1,0	8	184	.451
Gruppe * N_1 Genotyp	0,3	8	184	.979

Wie erwartet, benötigen die gesunden Probanden weniger Zeit zur Lösung der Aufgaben als die Patientengruppe. Die Reaktionszeiten zwischen den einzelnen Genotypen innerhalb der gesamten Stichprobe lassen keine Tendenz erkennen (Tabelle 6.3.3).

Tabelle 6.3.3 Mittelwert und Standardabweichungen der Reaktionszeit in Patienten- und Kontrollgruppe getrennt für die Genotypen des N\_1 Markers im NRG1-Gen

N_1	Kontrollgruppe			Patientengruppe			Gesamt		
	TT	TC	CC	TT	TC	CC	TT	TC	CC
0-back	559,5 (113,1)	612,4 (102,7)	664,3 (111,5)	753,3 (157,6)	741,5 (159,8)	692,8 (122,9)	706,2 (169,1)	692,7 (153,4)	677,7 (114,2)
1-back	478,0 (191,6)	576,5 (176,6)	761,3 (196,8)	786,2 (184,3)	816,6 (194,8)	724,9 (259,5)	711,2 (227,2)	725,9 (220,2)	744,2 (221,8)
2-back	572,5 (214,5)	612,9 (173,4)	690,1 (136,4)	821,7 (246,2)	812,4 (165,9)	763,9 (144,1)	761,1 (259,7)	737,0 (193,3)	724,8 (140,8)
3-back	565,7 (331,7)	624,8 (284,0)	683,1 (196,9)	725,4 (382,4)	715,0 (319,2)	819,5 (387,8)	686,5 (372,7)	680,9 (306,3)	747,3 (300,2)
N	9	17	9	28	28	8	37	45	17

Die multivariate Statistik zeigt keinen Haupteffekt des Genotypen auf die Reaktionszeit an. Ebenso wenig besteht ein Interaktionseffekt (Tabelle 6.3.4).

Tabelle 6.3.4 Haupt- und Interaktionseffekte in der Fall-/Kontrollgruppe und der Genotypen des Markers N\_1 bei der Quantität der n-back Aufgaben

	F	df1	df2	p
Gruppe	5,6	4	90	<.001
N_1 Genotyp	0,6	8	182	.790
Gruppe * N_1 Genotyp	1,4	8	182	.206

Dennoch verdeutlicht die Einzelanalyse, dass die TT-Träger unter der 1-back Bedingung die schnellste Reaktionszeit in der gesunden Gruppe aufwiesen, während bei den schizophren Erkrankten die CC-Träger am schnellsten reagierten (F=4.4, p=.015, eta²=0,09,

$p_{\text{bonf}}=.945$ ). In der 3-back Aufgabe wird dieser Trend wieder aufgehoben (Abbildung 6.3.1). Die Ergebnisse zu den univariaten Varianzanalysen sind im Anhang 3 zu finden.

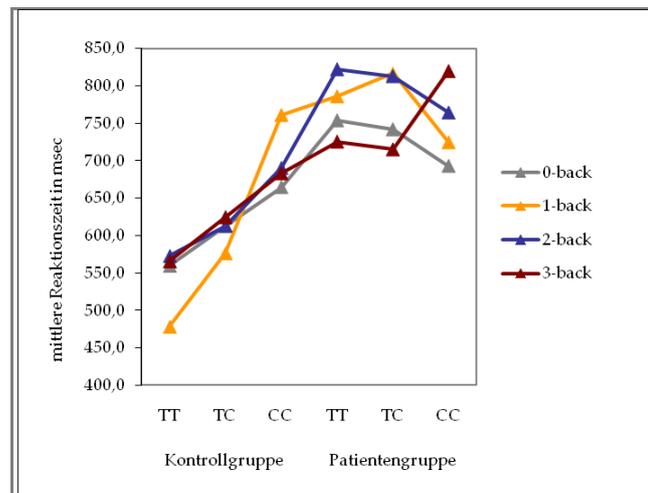


Abbildung 6.3.1 Mittlere Reaktionszeiten beim N\_1 Marker in Kontroll- und Patientengruppe getrennt für die TT-, TC und CC-Genotypen

### 6.3.2 Marker N\_2

Die Genotypverteilung zeigt wieder ähnliche Leistungen zwischen den einzelnen Gruppen (Tabelle 6.3.5).

Tabelle 6.3.5 Summe der korrekten Antworten und Standardabweichungen in Patienten- und Kontrollgruppe getrennt für die Genotypen des N\_2 Markers im NRG1-Gen

N_2	Kontrollgruppe			Patientengruppe			Gesamt		
	TT	TC	CC	TT	TC	CC	TT	TC	CC
0-back	84,0 (0,0)	83,3 (1,4)	82,4 (2,2)	73,9 (12,9)	76,0 (13,3)	79,3 (7,4)	76,4 (11,9)	78,3 (11,4)	80,6 (6,0)
1-back	77,5 (3,7)	75,7 (5,4)	71,5 (11,4)	57,8 (18,0)	52,5 (16,2)	55,8 (20,3)	62,8 (17,8)	59,9 (17,5)	62,4 (18,6)
2-back	66,3 (8,1)	63,7 (13,3)	57,4 (15,3)	40,2 (14,8)	35,6 (14,1)	41,7 (16,6)	46,7 (17,6)	44,5 (19,1)	48,3 (17,7)
3-back	10,8 (3,3)	9,6 (2,4)	7,6 (3,1)	5,3 (1,7)	5,5 (2,5)	6,8 (3,2)	6,7 (3,2)	6,8 (3,1)	7,2 (3,1)
N	4	14	18	12	30	25	16	44	43

Der multivariate Test ist ausschließlich für den Haupteffekt der Gruppenzugehörigkeit signifikant. Es besteht kein Einfluss des Genotyps auf die Güte der n-back Leistung (Tabelle 6.3.6).

Tabelle 6.3.6 Haupt- und Interaktionseffekte in der Fall-/Kontrollgruppe und der Genotypen des Markers N\_2 bei der Qualität der n-back Aufgaben

	F	df1	df2	p
Gruppe	10,7	4	94	<.001
N_2 Genotyp	0,3	8	190	.953
Gruppe * N_2 Genotyp	1,6	8	190	.138

Die grafische Darstellung verdeutlicht (Abbildung 6.3.2), dass ähnlich der Allelverteilung die TT-Genotypen-Träger der Kontrollgruppe die besten Leistungen erzielten, während die CC-Träger der Fallgruppe die besseren Resultate zeigten. Die

heterozygote Gruppe lag jeweils im Mittelfeld. Der Interaktionseffekt ist nur in der 3-back Situation signifikant ( $F=5.2, p=.007, \eta^2= 0,097$ ).

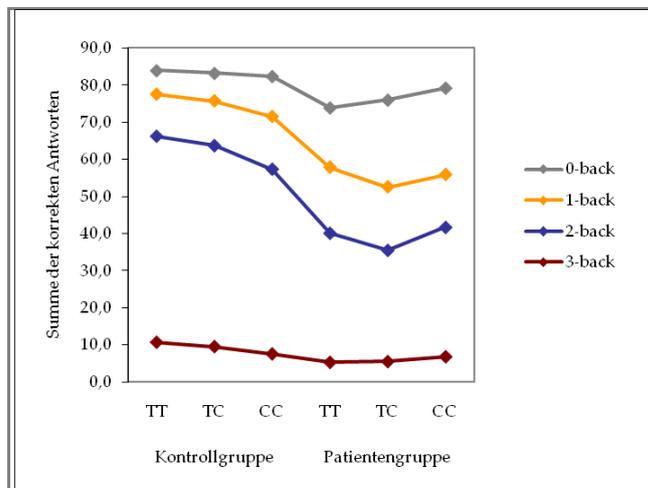


Abbildung 6.3.2 Summe der korrekten Antworten beim N\_2 Marker in Kontroll- und Patientengruppe getrennt für die TT-, TC und CC-Genotypen

Eindeutig sind auch die Resultate bei den Leistungen in der Reaktionszeit (Tabelle 6.3.7). Die Mittelwerte innerhalb der Genotypen weichen in Patienten-, Kontroll- und Gesamtgruppe wenig voneinander ab. Es zeigen sich ausschließlich Unterschiede zwischen der Patienten- und Kontrollgruppe.

Tabelle 6.3.7 Mittelwert und Standardabweichungen der Reaktionszeit in Patienten- und Kontrollgruppe getrennt für die Genotypen des N\_2 Markers im NRG1-Gen

N_2	Kontrollgruppe			Patientengruppe			Gesamt		
	TT	TC	CC	TT	TC	CC	TT	TC	CC
0-back	584,2 (73,1)	580,3 (92,5)	640,8 (124,3)	730,8 (155,3)	766,7 (166,1)	714,9 (140,2)	694,2 (151,8)	706,0 (169,9)	683,9 (137,3)
1-back	512,6 (99,1)	552,2 (181,7)	660,6 (231,0)	720,9 (137,5)	854,9 (207,4)	764,1 (197,0)	668,8 (156,6)	756,3 (243,9)	720,8 (215,5)
2-back	590,8 (49,0)	592,5 (216,7)	649,1 (157,2)	798,9 (179,9)	842,9 (181,7)	782,7 (225,6)	746,8 (181,3)	761,4 (225,0)	726,8 (208,7)
3-back	470,0 (152,6)	648,6 (286,8)	649,9 (278,6)	618,0 (315,7)	823,9 (346,4)	717,0 (375,4)	581,0 (286,5)	766,9 (335,2)	689,0 (336,3)
N	4	14	18	12	29	25	16	43	43

Die Signifikanzprüfung bestätigt die Unabhängigkeit zwischen dem Genotypen und der Reaktionszeit innerhalb der n-back Aufgaben (Tabelle 6.3.8).

Tabelle 6.3.8 Haupt- und Interaktionseffekte in der Fall-/Kontrollgruppe und der Genotypen des Markers N\_2 bei der Quantität der n-back Aufgaben

	F	df1	df2	p
Gruppe	6,9	4	93	<.001
N_2 Genotyp	0,6	8	188	.752
Gruppe * N_2 Genotyp	0,7	8	188	.650

### 6.4 G72-Gen: Replikation

Die Genotypen des Markers G\_1 befinden sich im HWG (gesamt  $p=.901$ ). Am häufigsten tritt das A-Allel in der untersuchten Population auf. Mit einer MAF von 0,41

ist das G-Allel ebenfalls stark aufgetreten. Die Allelverteilungen in Patienten- und Kontrollgruppe unterscheiden sich nicht signifikant voneinander (Tabelle 6.4.1).

Tabelle 6.4.1 Allelverteilung des Markers im G72-Gen in der Patienten- und Kontrollgruppe

SNP Name	SNP	Allelverteilung		MAF	Hauptallel	OR (95% KI)	Chi <sup>2</sup>	p
		Patienten	Kontrollen					
G_1	A/G	435 A : 289 G	428 A : 298 G	0.41	A	0.98 (0.90-1.07)	0.2	.661

Auch die Verteilungen in den Genotypen sind in der Gruppe der schizophren Erkrankten und der gesunden Probanden sehr ähnlich und zeigen keine bedeutsamen Unterschiede (Tabelle 6.4.2).

Tabelle 6.4.2 Genotypverteilung des Markers im G72-Gen in der Patienten- und Kontrollgruppe

SNP-Name	Genotypverteilung		Chi <sup>2</sup>	p
	Patienten	Kontrollen		
G_1	130 AA : 175 AG : 57 GG	129 AA : 172 AG : 63 GG	0.3	.850

## 6.5 G72-Gen: klinische Charakteristika

Die Mittelwerte des Ersterkrankungsalters liegen bei ca. 25 Jahren für die einzelnen Genotypen. Die Signifikanzprüfung ergibt, dass keine bedeutsamen Unterschiede im Ersterkrankungsalter zwischen den drei Genotypen (Tabelle 6.5.1) bestehen.

Tabelle 6.5.1 Allel- und Genotypverteilung des Markers im G72-Gen beim Ersterkrankungsalter

SNP	Genotypen	MW (SD)	F-Wert	p
G_1	AA=130	24.9 (7.5)	0.27	.761
	AG=175	25.4 (7.8)		
	GG=57	24.5 (9.0)		

Ebenso lassen sich keine Effekte in der Negativsymptomatik erkennen. Die Befunde zur Antriebshemmung lassen keine Assoziation mit dem Polymorphismus G\_1 bei Allel- und Genotypenverteilung vermuten (Tabelle 6.5.2). Die Ergebnisse zur Affektverflachung bestätigen die vorherigen Befunde. Die drei Genotypen AA, AG und GG treten in der Gruppe mit Affektverflachung ähnlich häufig auf, wie in der Gruppe ohne Negativsymptomatik.

Tabelle 6.5.2 Genotypverteilung des Markers im G72-Gen bei der Antriebshemmung und Affektverflachung

SNP	Genotypen		Chi <sup>2</sup>	p	SNP	Genotypen		Chi <sup>2</sup>	p
	Antriebshemmung					Affektverflachung			
	Ja	Nein				Ja	Nein		
G_1	AA=96	AA=34	0.97	.616	G_1	AA=80	AA=50	0.49	.784
	AG=121	AG=54				AG=104	AG=71		
	GG=39	GG=18				GG=32	GG=25		

## 6.6 G72-Gen: n-back Aufgaben

Ein Interaktionseffekt ist in der 1-back Aufgabe erkennbar, wenn auch nur als Trend ( $F=2,8$ ,  $p=.063$ ,  $\eta^2=0,057$ ). Die besten Ergebnisse erreichten die AA-Genotypen-Träger in der Fallgruppe. Die Heterozygoten zeigten in beiden Gruppen mittlere Leistungen (Tabelle 6.6.1).

Tabelle 6.6.1 Summe der korrekten Antworten und Standardabweichungen in Patienten und Kontrollgruppe getrennt für die Genotypen des G\_1 Markers im G72-Gen

G_1	Kontrollgruppe			Patientengruppe			Gesamt		
	AA	AG	GG	AA	AG	GG	AA	AG	GG
0-back	82,4 (2,6)	83,3 (1,3)	82,6 (2,2)	78,0 (7,9)	77,8 (7,8)	72,3 (20,5)	79,3 (7,0)	80,0 (6,6)	75,2 (17,9)
1-back	69,8 (14,3)	74,6 (5,5)	78,4 (5,0)	61,4 (15,9)	51,4 (17,3)	49,7 (21,0)	64,0 (15,7)	60,7 (17,9)	57,7 (22,2)
2-back	57,3 (18,6)	64,3 (10,9)	59,2 (11,3)	42,1 (15,3)	37,1 (15,4)	34,8 (14,2)	46,7 (17,6)	48,0 (19,2)	41,6 (17,3)
3-back	7,9 (4,1)	9,0 (2,6)	9,4 (2,9)	6,3 (2,5)	5,6 (2,6)	5,7 (2,7)	6,8 (3,1)	7,0 (3,1)	6,7 (3,2)
N	10	20	5	23	30	13	33	50	18

Die multivariate Statistik kann diesen Trend allerdings nicht bestätigen, so dass und es muss von einer Unabhängigkeit des Markers mit der qualitativen Leistung ausgegangen werden muss (Tabelle 6.6.2).

Tabelle 6.6.2 Haupt- und Interaktionseffekte in der Fall-/Kontrollgruppe und der Genotypen des Markers G\_1 bei der Qualität der n-back Aufgaben

	F	df1	df2	p
Gruppe	10,5	4	92	<.001
G_1 Genotyp	0,7	8	186	.664
Gruppe * G_1 Genotyp	1,0	8	186	.438

Diese Befunde werden durch die Betrachtung der Mittelwerte in den Reaktionszeiten zwischen den drei Genotyp-Trägern AA, AG und GG bestätigt (Tabelle 6.6.3). Allerdings ist die Anzahl der gesunden Probanden, die Träger des Genotypen GG sind, mit fünf Personen sehr gering.

Tabelle 6.6.3 Mittelwert und Standardabweichungen der Reaktionszeit in Patienten und Kontrollgruppe getrennt für die Genotypen des G\_1 Markers im G72-Gen

G_1	Kontrollgruppe			Patientengruppe			Gesamt		
	AA	AG	GG	AA	AG	GG	AA	AG	GG
0-back	673,9 (110,0)	590,2 (109,2)	581,3 (85,6)	738,9 (139,1)	736,6 (175,5)	753,6 (146,2)	719,2 (132,7)	676,8 (167,2)	705,7 (152,1)
1-back	689,9 (244,2)	571,0 (200,0)	552,9 (148,6)	792,8 (222,7)	793,4 (154,4)	830,8 (237,5)	761,6 (230,6)	702,6 (204,8)	753,6 (247,8)
2-back	608,7 (188,7)	597,7 (166,3)	700,1 (190,8)	775,7 (227,0)	847,3 (169,5)	807,7 (210,5)	725,1 (227,0)	745,4 (207,5)	777,8 (205,7)
3-back	670,3 (331,9)	641,3 (265,5)	536,4 (192,0)	741,5 (308,6)	712,2 (363,4)	845,5 (431,4)	719,9 (312,3)	683,3 (325,8)	759,6 (400,4)
N	10	20	5	23	29	13	33	49	18

Die multivariaten Tests zeigen wieder nur einen Gruppeneffekt. Eine Assoziation des Genotypen mit der Schizophrenie kann mit dem vorliegenden Resultat nicht begründet werden (Tabelle 6.6.4).

Tabelle 6.6.4 Haupt- und Interaktionseffekte in der Fall-/Kontrollgruppe und der Genotypen des Markers G\_1 bei der Quantität der n-back Aufgaben

	F	df1	df2	p
<b>Gruppe</b>	6,0	4	91	<.001
<b>G_1 Genotyp</b>	1,0	8	184	.455
<b>Gruppe * G_1 Genotyp</b>	1,3	8	184	.260

## 6.7 DAO-Gen: Replikation

Die Genotypen der zwei Marker D\_1 ( $p=.609$ ) und D\_2 ( $p=.901$ ) befinden sich im HWG. Die MAFs der beiden Marker zeigen eine hohe Informativität. Bei beiden Polymorphismen ist das T-Allel das häufiger auftretende. Der Vergleich der Allelverteilungen T und G in Fall- und Kontrollgruppe zeigt ein klares Bild der Unabhängigkeit von den untersuchten genetischen Markern und Schizophrenie. Dies bekräftigen auch die OR-Werte in Tabelle 6.7.1, welche sich nahe dem Unabhängigkeitswert 1 befinden.

Tabelle 6.7.1 Allelverteilung der zwei Marker im DAO-Gen in der Patienten- und Kontrollgruppe

SNP Name	SNP	Allelverteilung		MAF	Hauptallel	OR (95% KI)	Chi <sup>2</sup>	p
		Patienten	Kontrollen					
D_1	T/G	504 T :222 G	531 T : 205 G	0.29	T	1.14 (0.91-1.42)	1.3	.252
D_2	G/T	428 T :300 G	421 T : 307 G	0.42	T	0.98 (0.90-1.07)	0.1	.710

Zwischen den drei Genotyp-Trägern TT, TG, GG und dem Phänotyp Schizophrenie besteht ebenfalls keine Assoziation (Tabelle 6.7.2). Die Verteilung der Genotypen von D\_1 und D\_2 ist in beiden Gruppen ähnlich.

Tabelle 6.7.2 Genotypverteilung der zwei Marker im DAO-Gen in der Patienten- und Kontrollgruppe

SNP-Name	Genotypverteilung		Chi <sup>2</sup>	p
	Patientengruppe	Kontrollgruppe		
D_1	179 TT : 148 TG : 37 GG	192 TT :147 TG : 29 GG	1.4	.495
D_2	126 TT :176 GT : 62 GG	128 TT :165 GT : 71 GG	0.9	.633

Beide Marker befinden sich im mäßigen Kopplungsungleichgewicht (Tabelle 6.7.3). Dies bedeutet, dass eine Überschätzung der Haplotyp-Blockstruktur bestehen kann. Eine Haplotypenanalyse wurde dennoch aufgrund der Signifikanz des Ergebnisses durchgeführt.

Tabelle 6.7.3 Intermarker-Kopplungsungleichgewicht im DAO-Gen

Marker 1 - Marker 2	D' (95% KI)	r <sup>2</sup>	p
D_1 - D_2	0.56 (0.46-0.65)	0.09	<.001

Die Ergebnisse der Haplotypenanalyse in Tabelle 6.7.4 zeigen keine bedeutsamen Unterschiede zwischen den gesunden Probanden und der Gruppe der schizophren Erkrankten.

Tabelle 6.7.4 Haplotypenanalyse im DAO-Gen

Haplotyp	geschätzte Häufigkeiten	Patienten	Kontrollen	Score	p
<b>D1_D2</b>					
T-G	0.36	0.35	0.37	-0.7	.478
T-T	0.35	0.34	0.35	-0.4	.680
G-T	0.24	0.25	0.23	0.9	.388
G-G	0.05	0.06	0.05	0.8	.405
				global:	1.6 .808

## 6.8 DAO-Gen: klinische Charakteristika

Beide Polymorphismen zeigen zwischen den Genotypen keine bedeutsamen Unterschiede in den Mittelwerten des Ersterkrankungsalters (Tabelle 6.8.1).

Tabelle 6.8.1 Genotypverteilung der zwei Marker im DAO-Gen beim Ersterkrankungsalter

SNP	Genotypen	MW (SD)	F	p
<b>D_1</b>	TT=179	25.1 (7.1)	0.02	.978
	TG=148	25.0 (8.6)		
	GG=37	25.4 (8.5)		
<b>D_2</b>	TT=126	25.3 (7.9)	0.08	.922
	TG=176	25.1 (7.5)		
	GG=62	25.1 (8.7)		

Die Verteilung der Genotypen unterscheidet sich in der Antriebshemmung bei beiden Markern D\_1 und D\_2 nicht signifikant voneinander (Tabelle 6.8.2). Dagegen ist beim Marker D\_2 der Anteil der heterozygoten Genotyp-Träger höher in der Gruppe mit auftretender Affektverflachung, während in der Gruppe ohne Affektverflachung die Gruppe der TT-Träger überwiegen (Tabelle 6.8.2). Nach Bonferroni-Korrektur konnte kein bedeutsamer Zusammenhang identifiziert werden ( $p_{\text{bonf}}=1.000$ ).

Tabelle 6.8.2 Genotypverteilung der zwei Marker im DAO-Gen bei der Antriebshemmung

SNP	Genotypen		Chi <sup>2</sup>	p	Genotypen		Chi <sup>2</sup>	p
	Antriebshemmung				Affektverflachung			
	Ja	Nein			Ja	Nein		
<b>D1</b>	TT=120	TT=59	4.00	.133	TT=107	TT=72	0.09	.955
	TG=113	TG=35			TG=88	TG=60		
	GG=24	GG=13			GG=23	GG=14		
<b>D2</b>	TT=86	TT=40	0.57	.752	TT=64	TT=62	6.97	<b>.031*</b>
	TG=127	TG=49			TG=116	TG=60		
	GG=43	GG=19			GG=37	GG=25		

## 6.9 DAO-Gen: n-back Aufgaben

### 6.9.1 Marker D\_1

Die GG-Träger zeigen in der erkrankten Gruppe insgesamt eher schlechtere Leistungen (Tabelle 6.9.1), dieser Effekt ist jedoch nicht signifikant (Tabelle 6.9.2).

Tabelle 6.9.1 Summe der korrekten Antworten und Standardabweichungen in Patienten und Kontrollgruppe getrennt für die Genotypen des D\_1 Markers im DAO-Gen

D_1	Kontrollgruppe						Patientengruppe						Gesamt					
	TT		TG		GG		TT		TG		GG		TT		TG		GG	
0-back	82,6	(2,0)	83,3	(1,6)	84,0	(0,0)	78,1	(7,6)	76,0	(14,8)	69,3	(12,9)	79,8	(6,5)	78,2	(12,8)	75,2	(12,2)
1-back	73,2	(9,2)	75,6	(9,3)	69,5	(3,5)	55,7	(16,5)	54,6	(19,4)	44,0	(25,0)	62,3	(16,5)	60,9	(19,5)	54,2	(22,6)
2-back	59,5	(14,0)	63,2	(14,1)	62,0	(22,6)	38,9	(14,9)	39,4	(16,1)	29,3	(11,6)	46,7	(17,6)	46,5	(18,9)	42,4	(22,7)
3-back	8,7	(3,1)	8,6	(3,2)	10,0	(2,8)	5,9	(2,6)	5,9	(2,7)	7,7	(3,2)	7,0	(3,1)	6,7	(3,1)	8,6	(3,0)
N	22		12		2		36		28		3		58		40		5	

Hinzu kommt, dass sich in der Patientengruppe nur drei GG-Träger befinden und damit die Aussagekraft sehr gering ist.

Tabelle 6.9.2 Haupt- und Interaktionseffekte in der Fall-/Kontrollgruppe und der Genotypen des Markers D\_1 bei der Qualität der n-back Aufgaben

	F	df1	df2	p
Gruppe	6,6	4	94	<.001
D_1 Genotyp	0,9	8	190	.516
Gruppe * D_1 Genotyp	0,4	8	190	.940

Die GG-Genotyp-Träger haben tendenziell längere Reaktionszeiten (Tabelle 6.9.3) als die Gruppen der beiden anderen Genotyp-Träger.

Tabelle 6.9.3 Mittelwert und Standardabweichungen der Reaktionszeit in Patienten und Kontrollgruppe getrennt für die Genotypen des D\_1 Markers im DAO-Gen

D_1	Kontrollgruppe						Patientengruppe						Gesamt					
	TT		TG		GG		TT		TG		GG		TT		TG		GG	
0-back	605,3	(98,2)	611,0	(118,0)	673,8	(239,2)	742,2	(147,6)	732,8	(159,8)	794,3	(230,1)	689,3	(146,2)	696,3	(157,5)	746,1	(212,5)
1-back	593,4	(221,5)	607,5	(180,1)	663,5	(312,1)	778,3	(168,8)	795,7	(223,2)	1008,3	(197,6)	706,9	(209,6)	739,2	(226,4)	870,4	(282,0)
2-back	622,8	(188,6)	616,4	(159,8)	622,2	(196,6)	784,9	(188,7)	831,9	(214,9)	945,1	(47,8)	722,3	(203,2)	767,2	(221,8)	815,9	(205,1)
3-back	616,0	(297,6)	669,3	(236,5)	538,5	(242,5)	729,6	(368,5)	773,5	(362,6)	680,7	(107,3)	685,7	(344,6)	742,3	(330,4)	623,8	(162,9)
N	22		12		2		35		28		3		57		40		5	

Auch in diesem Fall ist der Effekt in keiner der n-back Bedingungen signifikant (Tabelle 6.9.4) und die Fallzahl zu gering, um reliable Aussagen treffen zu können.

Tabelle 6.9.4 Haupt- und Interaktionseffekte in der Fall-/Kontrollgruppe und der Genotypen des Markers D\_1 bei der Quantität der n-back Aufgaben

	F	df1	df2	p
Gruppe	4,4	4	93	.003
D_1 Genotyp	0,6	8	188	.795
Gruppe * D_1 Genotyp	0,3	8	188	.980

## 6.9.2 Marker D\_2

Die Gruppe der gesunden Probanden erreichen in allen n-back Aufgaben bessere Leistungen als die erkrankte Gruppe. In den drei Genotypengruppen besteht kein Unterschied in der qualitativen Leistung (Tabelle 6.9.5).

Tabelle 6.9.5 Summe der korrekten Antworten und Standardabweichungen in Patienten und Kontrollgruppe getrennt für die Genotypen des D\_2 Markers im DAO-Gen

D_2	Kontrollgruppe			Patientengruppe			Gesamt		
	TT	TG	GG	TT	TG	GG	TT	TG	GG
0-back	83,0 (1,4)	82,7 (2,3)	83,5 (0,8)	75,5 (12,2)	76,7 (12,9)	78,7 (6,3)	78,6 (10,0)	78,8 (10,8)	80,0 (5,8)
1-back	73,2 (5,0)	72,5 (11,5)	79,0 (4,3)	55,5 (18,5)	53,3 (19,0)	56,8 (16,0)	62,8 (16,8)	60,0 (19,0)	62,9 (17,0)
2-back	59,3 (14,2)	60,8 (15,3)	64,2 (11,4)	42,3 (15,2)	36,9 (15,2)	38,6 (15,7)	49,3 (16,8)	45,2 (18,9)	45,6 (18,5)
3-back	9,3 (2,2)	8,5 (3,7)	8,3 (2,6)	6,1 (3,1)	5,8 (2,6)	6,4 (2,5)	7,4 (3,1)	6,7 (3,3)	6,9 (2,6)
N	12	18	6	17	34	16	29	52	22

Die Summenwerte der drei verschiedenen Genotyp-Träger TT, TG und GG unterscheiden sich nicht signifikant voneinander (Tabelle 6.9.6).

Tabelle 6.9.6 Haupt- und Interaktionseffekte in der Fall-/Kontrollgruppe und der Genotypen des Markers D\_2 bei der Qualität der n-back Aufgaben

	F	df1	df2	p
Gruppe	10,8	4	94	<.001
D_2 Genotyp	0,3	8	190	.969
Gruppe * D_2 Genotyp	0,7	8	190	.716

Zwischen den einzelnen Genotypen zeigen sich keine gravierenden Unterschiede in der Reaktionszeit, weder in der Fall- noch in der Kontrollgruppe (Tabelle 6.9.7).

Tabelle 6.9.7 Mittelwert und Standardabweichungen der Reaktionszeit in Patienten und Kontrollgruppe getrennt für die Genotypen des D\_2 Markers im DAO-Gen

D_2	Kontrollgruppe			Patientengruppe			Gesamt		
	TT	TG	GG	TT	TG	GG	TT	TG	GG
0-back	635,4 (131,6)	586,9 (107,3)	634,4 (54,1)	735,0 (189,7)	755,7 (142,8)	712,5 (140,9)	693,8 (172,8)	697,3 (153,7)	690,2 (126,3)
1-back	606,8 (232,8)	573,3 (216,5)	678,6 (100,9)	776,6 (211,4)	809,5 (174,0)	788,0 (240,7)	706,3 (232,5)	727,7 (219,3)	756,7 (213,7)
2-back	625,3 (163,1)	570,8 (165,0)	760,7 (172,6)	787,8 (168,5)	831,0 (195,8)	796,7 (240,1)	720,6 (182,5)	740,9 (222,5)	786,4 (219,3)
3-back	497,0 (254,0)	657,6 (240,1)	810,0 (304,5)	700,4 (361,1)	769,5 (362,5)	744,3 (354,1)	616,2 (332,0)	730,8 (327,3)	763,1 (334,5)
N	12	18	6	17	34	15	29	52	21

Ein Effekt der Genotypen auf die Reaktionszeit kann beim Marker D\_2 nicht in dieser Stichprobe festgestellt werden (Tabelle 6.9.8).

Tabelle 6.9.8 Haupt- und Interaktionseffekte in der Fall-/Kontrollgruppe und der Genotypen des Markers D\_2 bei der Quantität der n-back Aufgaben

	F	df1	df2	p
Gruppe	5,4	4	93	<.001
D_2 Genotyp	0,7	8	188	.660
Gruppe * D_2 Genotyp	0,8	8	188	.564

## 6.10 PPP3CC-Gen: Replikation

Die drei untersuchten Marker befinden sich im HWG ( $P_1=.949$ ,  $P_2=.631$ ,  $P_3=.469$ ). Die Allele kommen bei allen drei Polymorphismen in etwa gleichen Anteilen in der gesunden und erkrankten Gruppe vor (Tabelle 6.10.1), welches sich in den ORs nahe dem Unabhängigkeitswert 1 widerspiegelt.

Tabelle 6.10.1 Allelverteilung der drei Marker im PPP3CC-Gen in der Patienten- und Kontrollstichprobe

SNP Name	SNP	Allelverteilung		MAF	Hauptallel	OR (95% KI)	Chi <sup>2</sup>	p
		Patienten	Kontrollen					
P_1	G/A	417 A : 311 G	417 A : 317 G	0.43	A	0.99 (0.91,1.08)	0.03	.856
P_2	G/A	373 G : 355 A	372 G : 354 A	0.49	G	1 (0.91,1.11)	0	1
P_3	T/C	341 T : 357 C	342 T : 370 C	0.49	X	1.04 (0.84,1.28)	0.1	.758

Die Unabhängigkeit von genetischen Markern und der Erkrankung gilt ebenso für die Genotypverteilung (Tabelle 6.10.2). Alle drei Polymorphismen des PPP3CC-Gens zeigen keine bedeutsamen Unterschiede in der Verteilung zwischen Kontroll- und Patientengruppe.

Tabelle 6.10.2 Genotypverteilung der drei Marker im PPP3CC-Gen in der Patienten- und Kontrollstichprobe

SNP-Name	Genotypverteilung		Chi <sup>2</sup>	p
	Patienten	Kontrollen		
P_1	118 AA : 181 AG : 65 GG	121 AA : 175 AG : 70 GG	0.4	.822
P_2	92 GG : 189 GA : 83 AA	96 GG : 182 GA : 86 AA	0.3	.874
P_3	87 TT : 183 TC : 79 CC	96 TT : 180 TC : 81 CC	0.4	.818

Bei der Prüfung der Haplotyp-Blockstruktur konnte festgestellt werden, dass nur der 2 Marker Haplotyp P\_2–P\_3 die strengen Kriterien nach dem KI von Gabriel erfüllt. Dennoch, die drei Marker im PPP3CC-Gen befinden sich mit signifikantem Ergebnis im mäßigen bis starken Kopplungsungleichgewicht (Tabelle 6.10.3). Daher wurden für alle Zwei-Marker- und Drei-Marker-Haplotypen Berechnungen durchgeführt.

Tabelle 6.10.3 Intermarker-Kopplungsungleichgewicht im PPP3CC-Gen

Marker 1 - Marker 2	D' (95% KI)	r <sup>2</sup>	p
P_1 - P_2	0.92 (0.88-0.95)	0.61	<.001
P_1 - P_3	0.95 (0.91-0.98)	0.63	<.001
P_2 - P_3	0.99 (0.97-1)	0.95	<.001

Alle identifizierten Haplotypen, die zu mindestens 5% in der Stichprobe vorkommen, sind in der gesunden und erkrankten Gruppe gleich häufig aufgetreten. Signifikante Unterschiede ließen sich nicht feststellen (Tabelle 6.10.4). Die Befunde der Replikationsstudie zu den Allelen, Genotypen und Haplotypen zeigen keine Beteiligung der untersuchten Polymorphismen im PPP3CC-Gen an der Pathogenese der Schizophrenie.

Tabelle 6.10.4 Haplotypenanalyse im PPP3C-Gen in der Patienten- und Kontrollgruppe

Haplotyp	geschätzte Häufigkeiten	Patienten	Kontrollen	Score	p
<b>P_1 - P_2</b>					
A-T	0.47	0.47	0.47	-0.1	.914
G-C	0.41	0.41	0.41	-0.3	.788
A-C	0.10	0.10	0.10	0.4	.713
			global:	0.7	.880
<b>P_2 - P_3</b>					
C-T	0.51	0.51	0.51	-0.3	.790
T-C	0.48	0.48	0.48	0.3	.794
			global:	0.1	.965
<b>P_1- P_2 - P_3</b>					
A-T-C	0.47	0.47	0.47	0.1	.882
G-C-T	0.41	0.41	0.42	-0.5	.590
A-C-T	0.10	0.10	0.10	0.4	.682
			global:	0.6	.893

## 6.11 PPP3CC Gen: klinische Charakteristika

Das Ersterkrankungsalter beginnt bei den verschiedenen Genotyp-Trägern zu einem ähnlichen Zeitpunkt (Tabelle 6.11.1).

6.11.1 Tabelle Genotypverteilung der drei Marker im PPP3CC-Gen beim Ersterkrankungsalter

SNP	Genotypen	MW (SD)	F-Wert	p
P_1	AA=118	25.1 (8.2)	0.24	.787
	AG=181	25.4 (7.7)		
	GG=65	24.6 (7.9)		
P_2	TT=83	25.9 (9.1)	0.70	.496
	CT=189	24.6 (7.1)		
	CC=92	25.5 (8.2)		
P_3	TT=87	25.1 (7.4)	0.34	.712
	CT=183	24.7 (7.3)		
	CC=79	25.0 (9.1)		

Keine Unterschiede lassen sich zwischen den Genotypen in der Verteilung der Antriebshemmung erkennen (Tabelle 6.11.2).

Tabelle 6.11.2 Genotypverteilung der drei Marker im PPP3CC-Gen bei der Antriebshemmung und Affektverflachung

SNP	Genotypen		Chi <sup>2</sup>	p	Genotypen		Chi <sup>2</sup>	p
	Antriebshemmung				Affektverflachung			
	Ja	Nein			Ja	Nein		
P_1	AA=88	AA=30	1.77	.413	AA=73	AA=45	0.53	.767
	AG=122	AG=59			AG=105	AG=76		
	GG=46	GG=19			GG=40	GG=25		
P_2	TT=61	TT=22	0.78	.677	TT=48	TT=35	0.22	.896
	TC=133	TC=56			TC=115	TC=74		
	CC=62	CC=30			CC=55	CC=37		
P_3	TT=61	TT=26	0.60	.970	TT=54	TT=33	0.26	.880
	TC=127	TC=56			TC=110	TC=73		
	CC=56	CC=23			CC=46	CC=33		

Im Einklang dazu steht das Ergebnis zur Affektverflachung. Die verschiedenen Genotyp-Träger unterscheiden sich in diesem klinischen Symptom nicht (Tabelle 6.12.2). Insgesamt bestätigen die Ergebnisse zu den klinischen Charakteristika die Befunde der Replikationsstudie und lassen keinen Zusammenhang zwischen den Markern des PPP3CC-Gens und der Schizophrenie erkennen.

## 6.12 PPP3CC-Gen: n-back Aufgaben

### 6.12.1 Marker P\_1

Die AA-Genotyp-Träger erreichten die besten Leistungen, gefolgt von den heterozygoten und dann den GG-Trägern (Tabelle 6.12.1). Dieser Effekt wird durch einen Interaktionseffekt verstärkt (Abbildung 6.12.1). Die Leistungen in der Kontrollgruppe sind unabhängig vom Genotypen, während in der Patientengruppe die AA-Genotyp-Träger die höchsten Punktwerte erreichten, gefolgt von den heterozygoten Trägern.

Tabelle 6.12.1 Summe der korrekten Antworten und Standardabweichungen in Patienten- und Kontrollgruppe getrennt für die Genotypen des P\_1 Markers im PPP3CC-Gen

P_1	Kontrollgruppe			Patientengruppe			Gesamt		
	AA	AG	GG	AA	AG	GG	AA	AG	GG
0-back	82,5 (2,5)	83,3 (1,4)	83,0 (1,5)	80,9 (4,1)	75,6 (10,6)	73,7 (16,9)	81,5 (3,6)	78,4 (9,2)	76,4 (14,7)
1-back	73,5 (10,7)	74,3 (9,1)	73,4 (5,8)	65,0 (12,1)	51,9 (18,5)	46,1 (18,1)	68,1 (12,2)	60,0 (19,0)	54,1 (19,9)
2-back	58,9 (14,9)	62,3 (14,2)	61,1 (14,0)	43,5 (14,8)	36,6 (14,6)	35,9 (16,2)	49,2 (16,5)	45,9 (19,0)	43,3 (19,3)
3-back	8,9 (2,9)	8,8 (3,2)	8,1 (3,3)	6,7 (2,3)	5,5 (2,8)	5,8 (3,0)	7,5 (2,7)	6,7 (3,3)	6,5 (3,2)
N	13	16	7	22	28	17	35	44	24

Die multivariaten Tests ermitteln allerdings keine signifikante Assoziation des genetischen Markers mit Schizophrenie (Tabelle 6.12.2), so dass die Einzelanalysen nicht eindeutig zu interpretieren sind. Der Kruskal-Wallis-Test zeigt ein signifikantes Ergebnis in der 1-back Bedingung (Chi<sup>2</sup>=7,91, p=.019, p<sub>bonf</sub>=1.000), welches nach Bonferroni-Korrektur nicht mehr besteht.

Tabelle 6.12.2 Haupt- und Interaktionseffekte in der Fall-/Kontrollgruppe und der Genotypen des Markers P\_1 bei der Qualität der n-back Aufgaben

	F	df1	df2	p
<b>Gruppe</b>	12,3	4	94	<.001
<b>P_1 Genotyp</b>	1,1	8	190	.390
<b>Gruppe * P_1 Genotyp</b>	1,1	8	190	.398

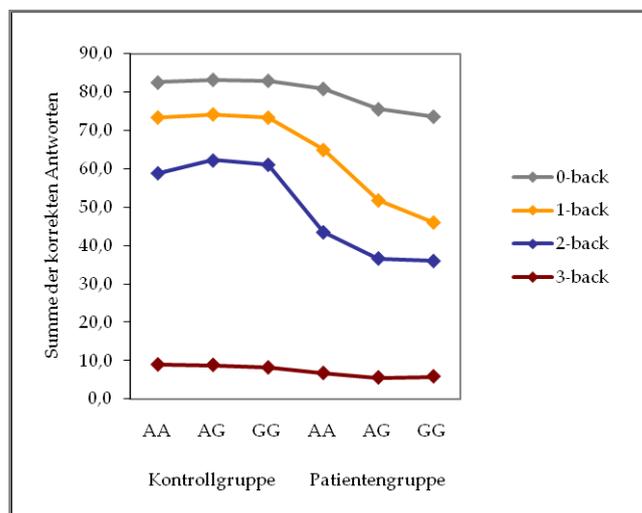


Abbildung 6.12.1 Anzahl der korrekten Antworten im P\_1 SNP

Werden die gesamten Genotypen in Tabelle 6.12.3 miteinander verglichen, so benötigen die AA-Genotyp-Träger die geringste Zeit zur Lösung der Aufgaben. Dieser Unterschied ist wieder nur in der Patientengruppe anzutreffen. In der Kontrollgruppe ähneln sich die Reaktionszeiten zwischen den drei Genotyp-Trägern.

Tabelle 6.12.3 Mittelwert und Standardabweichungen der Reaktionszeit in Patient- und Kontrollgruppe getrennt für die Genotypen des P\_1 Markers im PPP3CC-Gen

P_1	Kontrollgruppe			Patientengruppe			Gesamt		
	AA	AG	GG	AA	AG	GG	AA	AG	GG
<b>0-back</b>	597,5 (116,0)	594,4 (107,9)	673,9 (92,3)	699,9 (147,4)	764,1 (157,8)	755,9 (155,8)	661,9 (143,8)	700,9 (162,6)	732,0 (143,4)
<b>1-back</b>	625,7 (199,0)	612,4 (211,7)	534,0 (225,5)	710,3 (161,1)	835,7 (193,9)	844,4 (219,7)	678,9 (178,1)	752,6 (226,3)	753,8 (260,0)
<b>2-back</b>	625,3 (198,7)	610,5 (164,6)	635,0 (174,9)	756,8 (212,7)	819,8 (162,0)	871,4 (222,4)	707,9 (214,5)	741,9 (190,8)	802,5 (233,3)
<b>3-back</b>	674,7 (203,3)	701,1 (306,3)	381,7 (148,4)	655,0 (330,7)	802,9 (350,0)	773,5 (392,8)	662,3 (286,7)	765,0 (334,4)	659,2 (382,3)
<b>N</b>	13	16	7	22	27	17	35	43	24

Die Signifikanzprüfung ergab, dass der Genotyp des Markers P\_1 keinen genetischen Einfluss auf die Reaktionszeit hat. Ebenso wenig besteht ein Interaktionseffekt (Tabelle 6.12.4).

Tabelle 6.12.4 Haupt- und Interaktionseffekte in der Fall-/Kontrollgruppe und der Genotypen des Markers P\_1 bei der Quantität der n-back Aufgaben

	F	df1	df2	p
<b>Gruppe</b>	7,8	4	93	<.001
<b>P_1 Genotyp</b>	1,3	8	188	.249
<b>Gruppe * P_1 Genotyp</b>	1,2	8	188	.307

### 6.12.2 Marker P\_2

Die Leistungen bleiben in der Kontrollgruppe relativ unbeeinflusst vom Genotypen, während die CC-Träger in der erkrankten Gruppe die geringste Anzahl an richtigen Lösungen aufweist. Dieser Effekt ist allerdings ausschließlich in der 1-back Situation erkennbar (Tabelle 6.12.5), allerdings nach dem Kruskal-Wallis-Test nicht signifikant ( $\chi^2=3,42$ ,  $p=.181$ ).

Tabelle 6.12.5 Summe der korrekten Antworten und Standardabweichungen in Patienten- und Kontrollgruppe getrennt für die Genotypen des P\_2 Markers im PPP3CC-Gen

P_2	Kontrollgruppe			Patientengruppe			Gesamt		
	TT	TC	CC	TT	TC	CC	TT	TC	CC
0-back	82,4 (2,7)	83,1 (1,5)	83,2 (1,3)	80,1 (4,3)	77,8 (9,5)	73,3 (15,7)	81,0 (3,9)	79,7 (8,1)	76,4 (13,8)
1-back	72,0 (11,8)	73,7 (8,7)	75,8 (6,4)	62,9 (11,2)	56,9 (17,8)	46,2 (19,1)	66,5 (12,1)	62,7 (17,2)	55,5 (21,3)
2-back	57,7 (17,0)	60,9 (13,5)	63,9 (12,6)	40,7 (13,5)	39,8 (15,2)	35,9 (16,6)	47,5 (16,9)	47,1 (17,7)	44,6 (20,2)
3-back	8,6 (3,1)	8,8 (2,8)	8,8 (3,6)	6,1 (1,6)	5,7 (2,7)	6,3 (3,3)	7,1 (2,6)	6,7 (3,1)	7,1 (3,5)
N	10	16	10	15	30	22	25	46	32

Ein Haupt- oder Interaktionseffekt konnte anhand der multivariaten Analyse nicht bestätigt werden (Tabelle 6.12.6).

Tabelle 6.12.6 Haupt- und Interaktionseffekte in der Fall-/Kontrollgruppe und der Genotypen des Markers P\_2 bei der Qualität der n-back Aufgaben

	F	df1	df2	p
Gruppe	12,0	4	94	<.001
P_2 Genotyp	0,9	8	190	.490
Gruppe * P_2 Genotyp	1,2	8	190	.288

CC-Genotyp-Träger benötigen in der gesunden Gruppe in der 1-back Situation die geringste Reaktionszeit (Tabelle 6.12.7). Dagegen weist die erkrankte Gruppe die längste Reaktionszeit auf ( $F=3.6$ ,  $p=.032$ ,  $p_{\text{bonf}}=1.000$ ,  $\eta^2=0,07$ ).

Tabelle 6.12.7 Mittelwert und Standardabweichungen der Reaktionszeit in Patienten- und Kontrollgruppe getrennt für die Genotypen des P\_2 Markers im PPP3CC-Gen

P_2	Kontrollgruppe			Patientengruppe			Gesamt		
	TT	TC	CC	TT	TC	CC	TT	TC	CC
0-back	587,7 (121,8)	612,3 (102,2)	632,2 (116,2)	704,6 (158,5)	743,6 (149,7)	761,1 (160,3)	657,8 (153,7)	696,9 (153,7)	720,8 (158,1)
1-back	618,9 (215,3)	643,1 (200,1)	519,4 (204,9)	744,1 (181,9)	760,6 (170,5)	878,5 (222,0)	694,1 (201,5)	718,8 (188,1)	766,3 (272,3)
2-back	619,1 (218,5)	641,7 (158,8)	588,5 (163,7)	806,9 (201,1)	774,5 (190,4)	865,2 (203,3)	731,8 (224,3)	727,3 (189,2)	778,7 (229,7)
3-back	708,1 (199,9)	685,1 (245,1)	461,7 (319,7)	697,1 (345,7)	726,9 (345,6)	804,5 (383,8)	701,5 (291,1)	712,0 (311,3)	697,4 (394,3)
N	10	16	10	15	29	22	25	45	32

Da die multivariate Teststatistik kein signifikantes Ergebnis anzeigt (Tabelle 6.12.8), ist die Einzelanalyse nicht interpretierbar.

Tabelle 6.12.8 Haupt- und Interaktionseffekte in der Fall-/Kontrollgruppe und der Genotypen des Markers P\_2 bei der Quantität der n-back Aufgaben

	F	df1	df2	p
<b>Gruppe</b>	8,4	4	93	<.001
<b>P_2 Genotyp</b>	0,4	8	188	.907
<b>Gruppe * P_2 Genotyp</b>	1,2	8	188	.275

### 6.12.3 Marker P\_3

Die Unterschiede der drei Genotypen sind in der gesunden Probandengruppe wieder nur marginal. In der Patientengruppe erzielten in der 0-,1- und 2-back Bedingung die CC-Genotyp-Träger die besten Resultate, gefolgt von den heterozygoten Trägern (Tabelle 6.12.9).

Tabelle 6.12.9 Summe der korrekten Antworten und Standardabweichungen in Patienten- und Kontrollgruppe getrennt für die Genotypen des P\_3 Markers im PPP3CC-Gen

P_3	Kontrollgruppe			Patientengruppe			Gesamt		
	TT	TC	CC	TT	TC	CC	TT	TC	CC
<b>0-back</b>	83,1 (1,4)	83,1 (1,5)	82,4 (2,7)	73,2 (16,3)	78,1 (9,2)	80,1 (4,5)	76,4 (14,2)	79,9 (7,8)	81,1 (3,9)
<b>1-back</b>	75,7 (6,7)	73,7 (8,7)	72,0 (11,8)	46,7 (18,9)	59,4 (16,0)	62,5 (11,5)	56,0 (21,0)	64,5 (15,4)	66,5 (12,4)
<b>2-back</b>	62,3 (12,2)	60,9 (13,5)	57,7 (17,0)	36,0 (17,1)	41,3 (14,4)	40,6 (14,0)	44,5 (19,9)	48,3 (16,8)	47,8 (17,3)
<b>3-back</b>	8,3 (3,5)	8,8 (2,8)	8,6 (3,1)	6,3 (3,6)	6,0 (2,5)	6,2 (1,7)	6,9 (3,7)	7,0 (2,9)	7,2 (2,6)
<b>N</b>	9	16	10	19	29	14	28	45	24

Ein statistisch signifikanter Unterschied lässt sich mit dem Ergebnis der multivariaten Tests nicht belegen (Tabelle 6.12.10). Die Analyse des Genotyps könnte die Vermutung eines Interaktionseffektes dennoch unterstützen. Der CC-Genotyp zeigt in Fallgruppe in der 1-back Aufgabe eine signifikant höhere Anzahl richtiger Lösungen als der homozygote Genotyp TT ( $F=3.2$ ,  $p=.045$ ,  $p_{\text{bonf}}=1.000$ ,  $\eta^2=0,07$ ). Wie auch bei den vorangegangenen Markern bleiben die Leistungen in der Kontrollgruppe unbeeinflusst vom Genotypen. Da der multivariate Test nicht signifikant ist und nach Bonferroni-Korrektur kein statistisch bedeutsamer Unterschied besteht, kann von einer Unabhängigkeit zwischen P\_3 und der Qualität der n-back Leistungen ausgegangen werden.

Tabelle 6.12.10 Haupt- und Interaktionseffekte in der Fall-/Kontrollgruppe und der Genotypen des Markers P\_3 bei der Qualität der n-back Aufgaben

	F	df1	df2	p
<b>Gruppe</b>	10,7	4	88	<.001
<b>P_3 Genotyp</b>	0,7	8	178	.660
<b>Gruppe * P_3 Genotyp</b>	1,3	8	178	.234

Die Genotypen homozygot für T zeigen in den 1-back Aufgaben in der Kontrollgruppe die schnellsten und in der erkrankten Gruppe die langsamsten Reaktionszeiten (Tabelle 6.12.11).

Tabelle 6.12.11 Mittelwert und Standardabweichungen der Reaktionszeit in Patienten- und Kontrollgruppe getrennt für die Genotypen des P\_3 Markers im PPP3CC-Gen

P_3	Kontrollgruppe			Patientengruppe			Gesamt		
	TT	TC	CC	TT	TC	CC	TT	TC	CC
0-back	636,6 (122,4)	612,3 (102,2)	587,7 (121,8)	762,0 (164,8)	729,3 (143,1)	713,8 (160,2)	721,7 (161,5)	686,8 (140,5)	661,3 (156,0)
1-back	530,1 (214,3)	643,1 (200,1)	618,9 (215,3)	862,2 (232,1)	765,0 (180,1)	730,8 (181,0)	755,5 (272,9)	720,7 (194,5)	684,2 (199,6)
2-back	588,5 (173,7)	641,7 (158,8)	619,1 (218,5)	875,0 (215,3)	759,1 (187,3)	809,6 (208,4)	783,0 (241,7)	716,4 (184,6)	730,2 (229,0)
3-back	473,6 (336,8)	685,1 (245,1)	708,1 (199,9)	725,4 (382,5)	732,6 (365,3)	719,6 (347,2)	644,4 (381,4)	715,3 (324,5)	714,8 (189,5)
N	9	16	10	19	28	14	28	44	24

Dieser Effekt ist jedoch nicht signifikant (Tabelle 6.12.12).

Tabelle 6.12.12 Haupt- und Interaktionseffekte in der Fall-/Kontrollgruppe und der Genotypen des Markers P\_3 bei der Quantität der n-back Aufgaben

	F	df1	df2	p
Gruppe	7,4	4	87	<.001
P_3 Genotyp	0,7	8	176	.691
Gruppe * P_3 Genotyp	0,9	8	176	.542

### 6.13 Ergebnisse der Gen-Gen-Interaktion

Die Gen-Gen-Interaktionen wurden an der rekrutierten Fall-/Kontrollstichprobe von 735 Probanden (367 Fälle/368 Kontrollen) berechnet. Alle neun Marker wurden hypothesenfrei im Mehr-Loci-Modell, beschränkt auf vier Dimensionen bzw. Loci, betrachtet (Tabelle 6.13.1).

Tabelle 6.13.1 Ergebnisse des "besten" Modells anhand der Kreuzvalidierung, p-Wert und OR der Genotypen der untersuchten neun Marker

Loki	„bestes“ Modell	Konsistenz der CV	Trainingsgenauigkeit	Testgenauigkeit	OR (95% KI)	p
1	N_2	10/10	0.54	0.54	1.42 (0.56, 3.59)	.457
2	P_3 - N_2	5/10	0.56	0.52	1.26 (0.54, 3.15)	.620
3	P_1 - G_1 - D_2	3/10	0.60	0.44	1.0 (0.40, 2.50)	1.000
4	P_1 - N_1 - G_1 - D_2	5/10	0.66	0.52	1.01 (0.40, 2.52)	.988

Das Ein-Lokus-Modell mit dem funktionellen Polymorphismus N\_2 von NRG1, mit einem OR von 1.4, ist das beste Vorhersagemodell für die Schizophrenie mit einer CV Konsistenz von 10 und einer Testgenauigkeit von 0.54. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Berechnungen der Ein-Marker-Genotypen, wobei das Ergebnis hier nicht signifikant ist.

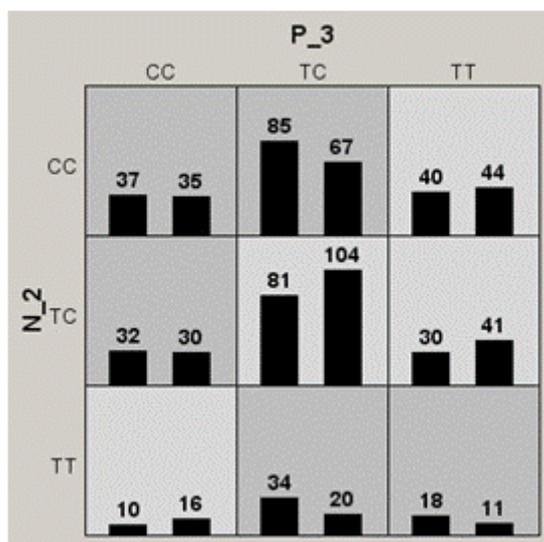


Abbildung 6.13.1 Genotypverteilung im Zwei-Loci-Modell N<sub>2</sub>-P<sub>3</sub>

Im Zwei-Lokus-Modell sind die beiden Marker P<sub>3</sub> und N<sub>2</sub> das beste Modell, um die Erkrankung Schizophrenie vorherzusagen. Es besteht eine Konsistenzwert von 5 (von 10). Tabelle 6.13.2 veranschaulicht die Verteilung in die zwei Gruppen mit „hohem Risiko“ und „niedrigem Risiko“.

Tabelle 6.13.2 Verteilung der Genotypen im Zwei-Loci-Modell

Combination	Class '0'	Class '1'	New Class Level
TC,CC	67	85	High risk
TC,TC	104	81	Low risk
TC,TT	20	34	High risk
CC,CC	35	37	High risk
CC,TC	30	32	High risk
CC,TT	16	10	Low risk
TT,CC	44	40	Low risk
TT,TC	41	30	Low risk
TT,TT	11	18	High risk

Das Drei-Marker-Modell zeigt nur eine CVC von 3, so dass dieses „beste“ geschätzte Modell sehr inkonsistent ist. Insgesamt zeigen die Zwei-, Drei- und Vier-Loci-Modelle eine sehr ähnliche Verteilung der Genotypen zwischen Fall- und Kontrollgruppe (Abbildung 6.13.1 und Abbildung 6.13.2, Anm. d. Verfasserin: das Vier-Loci-Modell wurde nicht abgebildet), so dass von einer Gen-Gen-Interaktion zwischen den untersuchten SNPs abgesehen werden kann.

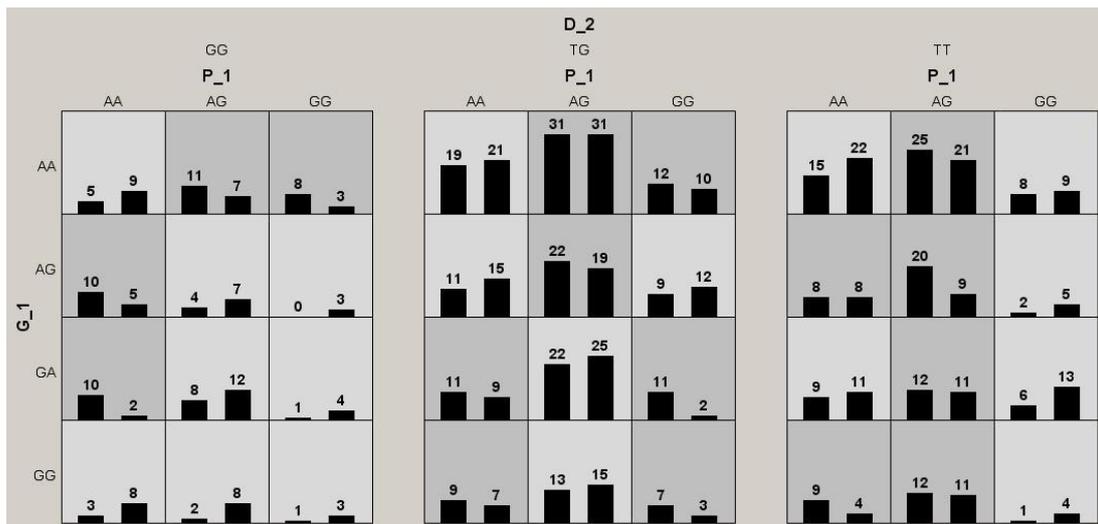


Abbildung 6.13.2 Genotypverteilung im Drei-Loci-Modell P\_1-G\_1-D\_2

## 7 Diskussion

Ziel der Studie war es, die Assoziation bekannter Kandidatengene mit der Schizophrenie an einer deutschen Stichprobe zu replizieren und anhand des Endophänotypenansatzes die Beteiligung der Gene an der Pathogenese zu unterstützen. Darüber hinaus wurden Gen-Gen-Interaktionen innerhalb NMDA- modulierender Gene untersucht, welche hypothesenfrei überprüft wurden. Aus vier bekannten Genen wurden in dieser Studie ausschließlich signifikante SNPs vorangegangener Studien zur Replikation gewählt.

### 7.1 NRG 1 im Vergleich zu vorangegangenen Studien

Stefansson et al. (2003) stellten in ihrer Arbeit als erste eine Verbindung zwischen dem Gen Neuregulin 1 und der Pathophysiologie der Schizophrenie her. Die Referenz der Auswahl dieser untersuchten SNPs war die Untersuchung von Yang et al. (2003), die damit als dritte Forschergruppe einen Einfluss von NRG1 auf Schizophrenie bestätigten. Alle drei untersuchten Marker zeigten eine allelische Assoziation in 246 chinesischen Familien. Die eigene Untersuchung konnte diese Befunde in der deutschen Fall-/Kontrollstichprobe nicht replizieren, wobei es einige Trends zu vermerken gibt (Tabelle 7.1.1).

Tabelle 7.1.1 Gegenüberstellung der Ergebnisse der Marker im NRG1-Gen aus der eigenen Studie, vor Bonferroni-Korrektur

	Fall/Kontroll		Subtypen		Arbeitsgedächtnis	
		AAO	Antrieb	Affekt	Quantität	Qualität
N_1	ns	ns	TT>AH	ns	TT↓FG,CC↓KG	ns
N_2	CC/TT>FG	ns	ns	ns	ns	TT↓FG,CC↓KG
N_3	ns	ns	ns	ns	-	-

AH: Antreibshemmung, AAO: Ersterkrankungsalter (age at onset), >: häufiger, ↓: schlechtere Leistungen

Der erste untersuchte Marker **SNP8NRG221533 C/T (N\_1)** befindet sich in der 5'-Region nahe dem Promotor. Er deckt eines der meist untersuchten Haplotypen ab. Seine Funktion ist unbekannt. Insgesamt existieren allein auf Einzelmarkerebene Belege in vier verschiedenen Populationen, isländisch, schottisch, chinesisch und afrikanisch stämmige Amerikaner, welche das C-Allel als das Risikoallel entdeckt haben (Lachman et al., 2006; Stefansson et al., 2003; Stefansson et al., 2002; Yang et al., 2003). Weitere Studien konnten das C-Allel innerhalb eines Risikohaplotypen bestätigen (Fukui et al., 2006; Stefansson et al., 2003; Stefansson et al., 2002; Williams et al., 2003; Zhao et al., 2004); eine weitere Untersuchung ermittelte das T-Allel als Risikoallel in der niederländischen Bevölkerung (Bakker et al., 2004). Die eigene Studie ermittelte bei TT-Genotyp-Trägern eine höhere Antriebshemmung in der erkrankten Gruppe. Dieses Ergebnis könnte den Befund von Bakker und Mitarbeitern unterstützen. Ergänzend dazu waren die TT-Genotypenträger in der Patienten-

gruppe langsamer in ihren Arbeitsgedächtnisleistungen. Allerdings zeigten beide Ergebnisse nach der Bonferroni-Korrektur keine Signifikanz. Auch wenn dieser Effekt nur schwach ausgeprägt war, könnte diese genetische Variante intermediäre Phänotypen modulieren und in die Pathogenese der Schizophrenie eingreifen.

Ein genetischer Effekt wurde innerhalb der Genotypenverteilung im funktionellen **SNP rs3924999 C/T (N\_2)** entdeckt. Die homozygoten Genotypen beider Allele traten häufiger in der Fallgruppe auf, während in der Kontrollgruppe die heterozygoten Genotypen überwogen (ohne Signifikanz nach Bonferroni-Korrektur). Yang et al. (2003) identifizierten das G-Allel (in dieser Studie synonym mit dem C-Allel) als Risikomarker der Schizophrenie. Eine weitere asiatische Studie kam ebenso zu diesem Ergebnis in ihrer familienbasierten Studie, jedoch nicht in der Fall-Kontrollgruppe (Hong et al., 2004). Drei weitere Untersuchungen fanden keine Assoziation mit dem funktionellen SNP zur Schizophrenie (Duan et al., 2005; Jönsson et al., 2009; Vilella et al., 2008). Hier decken sich die negativen Befunde mit den eigenen. In der Untersuchung der Qualität der Arbeitsgedächtnis-Leistungen erreichten die CC-Genotyp-Träger des SNPs rs3924999 in der erkrankten Gruppe bessere Leistungen unter der 3-back Bedingung; (der Effekt war nach Bonferroni-Korrektur aufgehoben). Da diese Bedingung in diesem Design nur einmal auftrat, kann dieses Ergebnis nur mit Vorsicht interpretiert werden. Es besteht die Möglichkeit, dass das C-Allel in den kognitiven Leistungen protektiv auf schizophrene Erkrankte wirkt und das wäre konträr zur Assoziationsstudie von Yang et al., bei welchem das C- bzw. G-Allel mit dem Risiko an Schizophrenie zu erkranken, verbunden ist.

Rs3924999 wurde ebenfalls im Zusammenhang mit der sensorischen „Filterfunktion“ bei Hong und Mitarbeitern (2008) untersucht. An 113 schizophrenen Erkrankten und 63 Kontrollprobanden wurde die Prä-Puls-Inhibition (PPI) gemessen. Die PPI war in der erkrankten Gruppe reduziert. Die geringsten Werte wurden beim Genotypen AA (minor Allel) ermittelt. Die Werte verbesserten sich bei heterozygoten Trägern (AG) und erzielten die höchsten Werte bei den GG-Trägern. Dies traf sowohl für die Fall- ( $p=.020$ ) als auch Kontrollgruppe ( $p=.020$ ) zu. Auch dieses Ergebnis widerspricht Yang et al. und würde die gemessenen Befunde der eigenen Untersuchung unterstützen.

Eine Assoziation mit der Schizophrenie konnte beim zuletzt untersuchten SNP **rs2954041 G/T (N\_3)** in keiner der durchgeführten Untersuchung bestätigt werden. Dieser Marker zeigte ursprünglich in der Studie von Yang et al. (2003) eine positive Assoziation. Das T-Allel galt dabei als das Risikoallel. Zwei Untersuchungen konnten diesen Befund nicht replizieren (Duan et al., 2005; Jönsson et al., 2009). Wegen der eingeschränkten Informativität, da nur acht Probanden das T-Allel trugen, sind keine sicheren Erkenntnisse abzuleiten. Möglicherweise zeigt dieses Allel in anderen Populationen keine oder nur eine schwach polymorphe Ausprägung.

Insgesamt kann festgehalten werden, dass die Befunde der Replikationsstudie gegen eine starke Beteiligung der untersuchten genetischen Varianten von NRG1 an der Pathogenese der Schizophrenie sprechen. Möglicherweise ist hier mit schwachen bis moderaten Mechanismen zu rechnen.

Tabelle 7.1.2 Poweranalyse für die replizierten Marker im Gen NRG1

Studie	Marker (Risikoallel)	Allelverteilung	Stichprobenumfang pro Gruppe nach Poweranalyse
Yang et al. (2003)	SNP8NRG221533 (C)	FG=0,67	n=1768
		KG=0,63	
	rs3924999 (G)	FG=0,31	n=1398
		KG=0,36	
	rs2954041 (T)	FG=0,47	n=786
		KG=0,40	

Wenn davon ausgegangen werden kann, dass die wahre Verteilung der Allele in der Bevölkerung, die der Referenzstichprobe entspricht, müsste der Stichprobenumfang unter der Annahme einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha=0,05$  und einer Power von 80%, einer Größe zwischen 786 und 1768 Probanden pro Gruppe beim NRG1-Gen entsprechen, um die Nullhypothese abzulehnen (Dupont und Plummer, 1998), berechnet mit dem unkorrigierten Chi<sup>2</sup>-Test, (Tabelle 7.1.2). Diese hohe Fallzahl wurde bisher bei Sanders und Mitarbeitern (2008) und in den Metaanalysen (Gong et al., 2009; Li et al., 2006; Munafò et al., 2006) erreicht. Auch hier waren die Ergebnisse nicht eindeutig und z.T. nicht signifikant.

Tabelle 7.1.3 publizierte Assoziationsbefunde zum NRG1-Gen

Author	SNP	Allele	rs	Position	Study	Association	SNP	Allele	rs	Position	Study	Association	SNP	Allele	rs	Position	Study	Association			
Stefansson et al. (2002)	SNP8NRG221132	C	ns	450K14-72458	Stefansson et al. (2002)	ns	SNP8NRG221132	C	ns	478B14-642	Stefansson et al. (2003)	ns	SNP8NRG241930	G	ns	487-2	Stefansson et al. (2003)	ns	SNP8NRG433E1006	ns	rs1081062
	SNP8NRG243177	G	ns	478B14-848		ns	SNP8NRG243177	G	ns	478B14-848		ns	SNP8NRG243177	T	ns	rs1081062					
	SNP8NRG241930	G	ns	420M9-1395		ns	SNP8NRG241930	G	ns	420M9-1395		ns	SNP8NRG241930	G	ns	rs1081062					
	SNP8NRG221132	G	ns	D8S1810		ns	SNP8NRG221132	G	ns	D8S1810		ns	SNP8NRG221132	G	ns	rs1081062					
Williams et al. (2003)	SNP8NRG221132	C	ns	450K14-72458	Williams et al. (2003)	ns	SNP8NRG221132	C	ns	478B14-642	Williams et al. (2003)	ns	SNP8NRG241930	G	ns	487-2	Williams et al. (2003)	ns	SNP8NRG433E1006	ns	rs1081062
	SNP8NRG243177	G	ns	478B14-848		ns	SNP8NRG243177	G	ns	478B14-848		ns	SNP8NRG243177	T	ns	rs1081062					
	SNP8NRG241930	G	ns	420M9-1395		ns	SNP8NRG241930	G	ns	420M9-1395		ns	SNP8NRG241930	G	ns	rs1081062					
	SNP8NRG221132	G	ns	D8S1810		ns	SNP8NRG221132	G	ns	D8S1810		ns	SNP8NRG221132	G	ns	rs1081062					
Yang et al. (2003)	SNP8NRG221132	C	ns	450K14-72458	Yang et al. (2003)	ns	SNP8NRG221132	C	ns	478B14-642	Yang et al. (2003)	ns	SNP8NRG241930	G	ns	487-2	Yang et al. (2003)	ns	SNP8NRG433E1006	ns	rs1081062
	SNP8NRG243177	G	ns	478B14-848		ns	SNP8NRG243177	G	ns	478B14-848		ns	SNP8NRG243177	T	ns	rs1081062					
	SNP8NRG241930	G	ns	420M9-1395		ns	SNP8NRG241930	G	ns	420M9-1395		ns	SNP8NRG241930	G	ns	rs1081062					
	SNP8NRG221132	G	ns	D8S1810		ns	SNP8NRG221132	G	ns	D8S1810		ns	SNP8NRG221132	G	ns	rs1081062					
Tang et al. (2004)	SNP8NRG221132	C	ns	450K14-72458	Tang et al. (2004)	ns	SNP8NRG221132	C	ns	478B14-642	Tang et al. (2004)	ns	SNP8NRG241930	G	ns	487-2	Tang et al. (2004)	ns	SNP8NRG433E1006	ns	rs1081062
	SNP8NRG243177	G	ns	478B14-848		ns	SNP8NRG243177	G	ns	478B14-848		ns	SNP8NRG243177	T	ns	rs1081062					
	SNP8NRG241930	G	ns	420M9-1395		ns	SNP8NRG241930	G	ns	420M9-1395		ns	SNP8NRG241930	G	ns	rs1081062					
	SNP8NRG221132	G	ns	D8S1810		ns	SNP8NRG221132	G	ns	D8S1810		ns	SNP8NRG221132	G	ns	rs1081062					
Iwata et al. (2004) Zhao et al. (2004) CC	SNP8NRG221132	C	ns	450K14-72458	Iwata et al. (2004) Zhao et al. (2004) CC	ns	SNP8NRG221132	C	ns	478B14-642	Iwata et al. (2004) Zhao et al. (2004) CC	ns	SNP8NRG241930	G	ns	487-2	Iwata et al. (2004) Zhao et al. (2004) CC	ns	SNP8NRG433E1006	ns	rs1081062
	SNP8NRG243177	G	ns	478B14-848		ns	SNP8NRG243177	G	ns	478B14-848		ns	SNP8NRG243177	T	ns	rs1081062					
	SNP8NRG241930	G	ns	420M9-1395		ns	SNP8NRG241930	G	ns	420M9-1395		ns	SNP8NRG241930	G	ns	rs1081062					
	SNP8NRG221132	G	ns	D8S1810		ns	SNP8NRG221132	G	ns	D8S1810		ns	SNP8NRG221132	G	ns	rs1081062					
Zhao et al. (2004) Trio	SNP8NRG221132	C	ns	450K14-72458	Zhao et al. (2004) Trio	ns	SNP8NRG221132	C	ns	478B14-642	Zhao et al. (2004) Trio	ns	SNP8NRG241930	G	ns	487-2	Zhao et al. (2004) Trio	ns	SNP8NRG433E1006	ns	rs1081062
	SNP8NRG243177	G	ns	478B14-848		ns	SNP8NRG243177	G	ns	478B14-848		ns	SNP8NRG243177	T	ns	rs1081062					
	SNP8NRG241930	G	ns	420M9-1395		ns	SNP8NRG241930	G	ns	420M9-1395		ns	SNP8NRG241930	G	ns	rs1081062					
	SNP8NRG221132	G	ns	D8S1810		ns	SNP8NRG221132	G	ns	D8S1810		ns	SNP8NRG221132	G	ns	rs1081062					
Li et al. (2004) CC	SNP8NRG221132	C	ns	450K14-72458	Li et al. (2004) CC	ns	SNP8NRG221132	C	ns	478B14-642	Li et al. (2004) CC	ns	SNP8NRG241930	G	ns	487-2	Li et al. (2004) CC	ns	SNP8NRG433E1006	ns	rs1081062
	SNP8NRG243177	G	ns	478B14-848		ns	SNP8NRG243177	G	ns	478B14-848		ns	SNP8NRG243177	T	ns	rs1081062					
	SNP8NRG241930	G	ns	420M9-1395		ns	SNP8NRG241930	G	ns	420M9-1395		ns	SNP8NRG241930	G	ns	rs1081062					
	SNP8NRG221132	G	ns	D8S1810		ns	SNP8NRG221132	G	ns	D8S1810		ns	SNP8NRG221132	G	ns	rs1081062					
Li et al. (2004) Trio	SNP8NRG221132	C	ns	450K14-72458	Li et al. (2004) Trio	ns	SNP8NRG221132	C	ns	478B14-642	Li et al. (2004) Trio	ns	SNP8NRG241930	G	ns	487-2	Li et al. (2004) Trio	ns	SNP8NRG433E1006	ns	rs1081062
	SNP8NRG243177	G	ns	478B14-848		ns	SNP8NRG243177	G	ns	478B14-848		ns	SNP8NRG243177	T	ns	rs1081062					
	SNP8NRG241930	G	ns	420M9-1395		ns	SNP8NRG241930	G	ns	420M9-1395		ns	SNP8NRG241930	G	ns	rs1081062					
	SNP8NRG221132	G	ns	D8S1810		ns	SNP8NRG221132	G	ns	D8S1810		ns	SNP8NRG221132	G	ns	rs1081062					
Hall et al. (2004) Trio1 Hall et al. (2004) Trio2	SNP8NRG221132	C	ns	450K14-72458	Hall et al. (2004) Trio1 Hall et al. (2004) Trio2	ns	SNP8NRG221132	C	ns	478B14-642	Hall et al. (2004) Trio1 Hall et al. (2004) Trio2	ns	SNP8NRG241930	G	ns	487-2	Hall et al. (2004) Trio1 Hall et al. (2004) Trio2	ns	SNP8NRG433E1006	ns	rs1081062
	SNP8NRG243177	G	ns	478B14-848		ns	SNP8NRG243177	G	ns	478B14-848		ns	SNP8NRG243177	T	ns	rs1081062					
	SNP8NRG241930	G	ns	420M9-1395		ns	SNP8NRG241930	G	ns	420M9-1395		ns	SNP8NRG241930	G	ns	rs1081062					
	SNP8NRG221132	G	ns	D8S1810		ns	SNP8NRG221132	G	ns	D8S1810		ns	SNP8NRG221132	G	ns	rs1081062					



Zum Zeitpunkt der Datenerhebung dieser Studie existierte neben der Erstpublikation der Forschergruppe um Stefanssohn (2002) nur die Folgeuntersuchung derselben Gruppe (2003) und die Referenzstudie von Yang und Mitarbeitern (2003), außerdem drei Studien zur Genexpression (Hashimoto et al., 2004; Petryshen et al., 2005; Stefansson et al., 2002). Inzwischen ist die Datenlage auf ein Vielfaches angestiegen (Abschnitt 3.2.1). Die Anzahl der untersuchten Polymorphismen übersteigt die Zahl 100. Eine 2008 erschienene Studie untersuchte beispielsweise 216 Polymorphismen im NRG1 Gen (Sanders et al.). Damit ist eine komplette Abdeckung des gesamten Gens in naher Zukunft voraussehbar. Die Übersicht in Tabelle 7.1.3 zeigt einen Ausschnitt einiger bisher untersuchten Polymorphismen. Erkennbar ist die Inkonsistenz der Befunde. Mehr als die Hälfte der Publikationen berichten von negativen Befunden; der Zusammenhang der einzelnen Marker mit Schizophrenie ist nur schwach; viele Marker sind nur im Zusammenhang mit Haplotypen assoziiert, die ein geringes Aufkommen in der Population aufweisen; positive Befunde ermitteln jeweils das andere Allel als Risikomarker. Die umrahmten Allel-Abschnitte in der Tabelle zeigen die gefundenen Risikohaplotypen an.

## 7.2 G72 und DAO im Vergleich zu vorangegangenen Studien

Das Gen G72 gehört seit der Entdeckung durch die Erstpublikation von Chumakov und Mitarbeitern (2002) zu den am häufigsten untersuchten Genen der Schizophrenie. Aufgrund zwei assoziierter Marker und der funktionellen Befunde in der Erstpublikation stieg das Aktivator-Gen von DAO zu einem sehr attraktiven Kandidaten auf. Der hier untersuchte SNP **rs778293 A/G (G\_1)**, in der Literatur als M22 bekannt, mit dem identifiziertem A-Risikoallel (0,69 FG und 0,60 KG, OR=1,51, p=.003), befindet sich in 25.8 kb vom letzten G72-Exon nachgelagert und 11.1 kb vor dem Exon 1 des G30-Gens. Seine Funktion ist unbekannt. Bereits in der zweiten russischen Stichprobe derselben Publikation konnte der SNP nicht repliziert werden.

Tabelle 7.2.1 Gegenüberstellung der Ergebnisse der Marker im G72 und DAO-Gen aus der eigenen Studie, vor Bonferroni-Korrektur

	Fall/Kontroll		Subtypen		Arbeitsgedächtnis	
		AAO	Antrieb	Affekt	Quantität	Qualität
G_7	ns	ns	ns	Ns	ns	ns
D_1	ns	ns	ns	Ns	ns	ns
D_2	ns	ns	ns	<b>TG&gt;AF</b>	ns	ns

AF: Affektverflachung

Auch in der eigenen Untersuchung war der untersuchte Marker in G72 nicht mit der Erkrankung assoziiert (Tabelle 7.2.1). Auf Einzelmarkerebene konnten 15 weitere Studien dieses Risikoallel nicht bestätigen (Tabelle 7.2.2). Unterschiede im Genotyp konnten Korostishevsky und Mitarbeiter (2004) ermitteln. Der AA-Genotyp war in der erkrankten Gruppe häufiger präsentiert, wobei die Voraussetzung des HWGs

nicht erfüllt war. Der C-A-T-Haplotyp (M20-M22-M23) scheint den Befund zu untermauern. Konträr dazu trat in den Assoziationsstudien von Ma und Mitarbeitern (2006) das G-Allel sowohl in der chinesischen als auch in der schottischen Stichprobe häufiger in der Fallgruppe als in der gesunden Kontrollgruppe auf. Allerdings war das A-Allel als Haplotyp (M22-M23) in der schottischen Fallgruppe überrepräsentiert. In der chinesischen Stichprobe war jedoch der Haplotyp G-T häufiger bei den Patienten vertreten. Dagegen kam der A-T-Haplotyp in beiden Populationen signifikant häufiger in der Kontrollgruppe vor. Beim M19-M22 Haplotyp zeigte sich ein anderes Bild. Hier war der Haplotyp G-C in beiden Population häufiger in der schizophren erkrankten Gruppe vertreten. In den Metaanalysen ist der Marker M22 vor allem in der asiatischen Bevölkerung mit Schizophrenie assoziiert (Ma et al., 2006; Shi et al., 2009; Shi et al., 2008a).

Der Marker rs778293 (M22) befindet sich in vielen Studien im Kopplungsungleichgewicht mit M23. In fünf Populationen wies M23 Assoziationen auf, jedoch zu unterschiedlichen Anteilen. Das C-Allel war bei Schumacher und Mitarbeitern (2004) mit 53% in der Patientengruppe überrepräsentiert, bei Ma und Mitarbeitern (2006) sogar mit 59% in der schottischen Patientengruppe. Dagegen ermittelten Korostishevsky und Mitarbeiter (2004) ein häufigeres Vorkommen des T-Allels in der Patientengruppe. Mehrheitlich existierten keine Unterschiede in der Allelverteilung zwischen Fall- und Kontrollgruppe. Die Metaanalysen bekräftigten eine Assoziation in der asiatischen Fall/Kontrollgruppe (Tabelle 7.2.2). Ein 4-Marker-Haplotyp (C-G-T-A) wurde identifiziert (Schumacher et al., 2004), der häufiger in der gesunden Kontrollgruppe vorkam und den Marker M22 umspannt. Bildgebende Untersuchungen zeigten während der Bearbeitung verschiedener Gedächtnisaufgaben Unterschiede in der Hirnaktivität im rechten Hippokampus und linken Parahippokampus bei den verschiedenen Genotypenträgern der Marker M23 bzw. M24 (Goldberg et al., 2006; Hall et al., 2008; Jansen et al., 2009a; Krug et al., 2010). Diese Ergebnisse konnten nicht in jeder Untersuchung bestätigt werden (Jansen et al., 2009b).

Neben den Befunden rund um M22 zeigt sich ein Cluster zwischen M12 und M15. Diese Marker konnten in mehreren Stichproben unterschiedlicher Herkunft repliziert werden (Addington et al., 2004; Chumakov et al., 2002; Corvin et al., 2007; Hall et al., 2004; Korostishevsky et al., 2006; Li und He, 2007; Schumacher et al., 2004; Shinkai et al., 2007; Wang et al., 2004; Zou et al., 2005). Daneben ist auch M18 ein mehrfach replizierter Polymorphismus (Addington et al., 2004; Chumakov et al., 2002; Corvin et al., 2007; Hall et al., 2004; Korostishevsky et al., 2004; Schumacher et al., 2004; Shinkai et al., 2007; Wang et al., 2004; Zou et al., 2005).

Tabelle 7.2.2. publizierte Assoziationsbefunde des G72-Gens

	M7	M11	M12	M13	rs1935058	rs1341402	rs1935062	M14	M15	DAOA_3'UTR _SNP1	M16	M18	M19	M20	M21	M22	M23	M24	M25
Chumakov et al. (2002) CC1 Chumakov et al. (2002) CC2 Schumacher et al. (2004)	ns	ns	G	ns				A	G		ns	ns	ns	ns	ns	A	T	T	
	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	T	ns	ns
			A	ns	ns	ns	ns	ns	A	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	C	T	
Korostishevsky et al. (2004) Korostishevsky et al. (2006) Hall et al. (2004) Trio1 Hall et al. (2004) Trio2			C	CC					G		ns	ns	ns	ns	ns		T	A	
			ns	ns				ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	AA	T		
			G	A				A	G		ns	ns	ns	ns	ns	A	T		
Addington et al. (2004)	ns	ns							C		ns	ns	ns	ns	ns	ns			
			G	A				A	T		ns	ns	ns	ns	ns	ns			
								A	C		ns	ns	ns	ns	ns	ns			
Zou et al. (2005)			A					A	G		ns	ns	ns	ns	ns	ns			
								A	A		ns	ns	ns	ns	ns	ns			
			A					A	A		ns	ns	ns	ns	ns	ns			
Fallin et al. (2005) Mulle et al. (2005a)			A					G	A		ns	sig	ns	ns	ns	ns			
								G	A		ns	ns	ns	ns	ns	ns			
								G	A		ns	ns	ns	ns	ns	ns			
Goldberg et al (2005) Ma et al. (2006) CC1 Ma et al. (2006) asia	ns	ns	ns	ns				ns	ns		ns	ns	ns	ns	ns	G	ns	ns	
			ns	ns				ns	ns		ns	ns	ns	ns	ns	G	T		
								ns	ns		ns	ns	ns	ns	ns	C	C		
Ma et al. (2006) CC2 euro Ma et al. (2006) Meta CC euro Ma et al. (2006) Meta CC asia Ma et al. (2006) Meta trio			ns	ns				ns	ns		ns	G	C			G	C		
			ns	ns				ns	ns		ns	G	C			A	C		
			ns	ns				ns	ns		ns	G	C			C	ns	ns	ns

Diskussion

	M7	M11	M12	M13	r51935058	r51341402	r51935062	M14	M15	DAOA_3'UTR_SNP1	M16	M18	M19	M20	M21	M22	M23	M24	M25
Wang et al. (2004)			A		ns	ns	ns	A	A							ns	ns		
			A		C			A											
			A					A											
			A					A											
			C					ns	ns										
								G	ns										
								ns	ns										
								ns	ns										
								ns	ns										
								ns	ns										
Bakker et al. (2006)			ns				ns	ns											
Corvin et al. (2007)			ns				ns	ns											
Shin et al. (2007)			ns				ns	ns											
Shinkai et al. (2007) CC			ns				ns	ns											
Shinkai et al. (2007) Trio			ns				ns	ns											
*mehrere signifikant Haplotypen in diesem Bereich																			
Hong et al. (2006)			ns				ns	ns											
Liu et al. (2006)			ns				ns	ns											
Yue et al. (2006)			ns				ns	ns											
Yue et al. (2007) CC			ns				ns	ns											
Yue et al. (2007) Trio			ns				ns	ns											
Williams et al. (2006)			ns				ns	ns											
Wood et al. (2006)			ns				ns	ns											
Vilella et al. (2007)			ns				ns	ns											
Li et al. (2007) Meta			ns				ns	ns											
Sanders et al. (2008)			ns				ns	ns											
Shi et al. (2008) Meta asia			ns				ns	ns											
Shi et al. (2008) Meta euro			ns				ns	ns											
Bass et al. (2009)			ns				ns	ns											
Ohji et al. (2009)			ns				ns	ns											
Shi et al. (2009) Trio			ns				ns	ns											
Shi et al. (2009) Meta			ns				ns	ns											
Jónsson et al. (2009)			ns				ns	ns											
<b>Eigene Studie</b>																			

CC: Fall-/Kontrolldesign, Trio: Familiendesign, Meta: Metaanalyse, asia: asiatische Stichprobe, euro: europäische Stichprobe

Trotz der hohen Anzahl positiver Assoziationsstudien (Tabelle 7.2.2) und positiver Befunde in den bildgebenden Untersuchungen wurden wenig Genexpressionsstudien publiziert (Abschnitt 3.3.3). Auch die biologische Plausibilität von G72 bei Schizophrenie bleibt bei einer geringen Anzahl von Studien umstritten. Bisher konnte keine Assoziation mit einem funktionellen SNP nachgewiesen werden. Die Attraktivität dieses Gens besteht überwiegend aus der vermuteten Interaktion mit DAO, welches D-Serin oxidiert. Der Versuch einer physikalischen Replikation schlug bisher fehl (Kvajo et al., 2008). Zusätzlich wird eine alternative Funktion, G72 kodiert für ein mitochondriales Protein, diskutiert. Nur zwei statistische Analysen belegen bisher die Hypothese der Interaktion beider Gene (Chumakov et al., 2002; Corvin et al., 2007).

Chumakov und Mitarbeiter (2002) entdeckten DAO mit vier assoziierten SNPs als Kandidatengen der Schizophrenie (Tabelle 7.2.3). Zwei der Marker wurden für die eigene Studie näher untersucht. Dabei galten das C-Allel von **rs2111902 T/G (D\_1**, in der Literatur als MDAAO4 bekannt) und das T-Allel bei **rs3741775 G/T (D\_2**, MDAAO6) als mögliche Risikoallele für Schizophrenie. Bereits Schumacher und Mitarbeiter (2004) versuchten die Befunde in ihrer deutschen Stichprobe zu replizieren, mit konträren Resultaten. Das A-Allel bei D\_1 und das G-Allel bei D\_2 kamen häufiger in der erkrankten Gruppe vor. In dieser Replikationsstudie zeigte der Marker D\_1 keine Assoziation mit Schizophrenie (Tabelle 7.2.1). Dies deckt sich mit den negativen Befunden sieben weiterer Replikationsstudien in verschiedenen Populationen (Liu et al., 2004; Liu et al., 2006; Ohnuma et al., 2009; Shinkai et al., 2007; Wood et al., 2007; Yamada et al., 2005) und einer Metaanalyse (Shi et al., 2008b). Die einzige Ausnahme bleibt die Assoziation auf Genotypenebene beim SNP D\_2 in der Affektverflachung, einem Negativsymptom. Die heterozygoten Träger waren verstärkt in der Gruppe mit Affektverflachung vertreten. TT-Genotyp-Träger waren häufiger in der Gruppe ohne Affektverflachung vertreten. Die Signifikanz des Effekts konnte nach Bonferroni-Korrektur nicht beibehalten werden. Dennoch würde dieses Ergebnis das von Chumakov und Mitarbeitern identifizierte T-Allel als Risikoallel für Schizophrenie unterstützen.

Tabelle 7.2.3 Übersicht über die Ergebnisse der Assoziationsstudien ausgewählter Polymorphismen im DAO-Gen

	rs4964762	MDAAO08/9 (rs888531)	rs11114083 (hCV2880389)	rs4623951	rs17041020	rs2070586	rs2070587	rs2070588	MDAAO4 (rs2111902)	MDAAO5 (rs3918346)	MDAAO6 (rs3741775)	rs11114086	rs11114087	rs3825251	MDAAO7 (rs3918347)	rs4964281	rs3918305	rs4964770	
	Intron 0	Intron 0	Intron 0	Intron 0	Intron 1	Intron 1	Intron 1	Intron 1	Intron 1	Intron 3	Intron 4	Intron 5	Intron 5	Intron 6	Intron 10	Intron 10	-	Ende 3' - Region	
Chumakov et al. (2002)		ns		ns					C	T	T								
Schumacher et al. (2004)									A	C	G								
									A	C	G								
Liu et al. (2004)							ns	ns	ns	ns	G			ns					
Liu et al. (2006)									ns	ns	ns								
Yamada et al. (2005) CC				ns					ns	ns	ns			ns			ns		
Yamada et al. (2005) Trio							ns		ns	ns	ns			ns			ns		
Fallin et al. (2005)							ns	ns		ns	ns			ns					
Vilella et al. (2007)				ns			ns					ns				ns			
Shinkai et al. (2007) CC									ns	ns	ns				ns				
Shinkai et al. (2007) Trio									ns	ns	ns				ns				
Wood et al. (2006)				ns	ns	ns			ns	A	ns			ns					
Corvin et al. (2007)		ns							T	C	ns								
Allen et al. (2008) Meta				T															
Shi et al. (2008) Meta				C					ns	ns	ns								
Jönsson et al. (2009)							ns	ns			ns			ns					
Ohnuna et al. (2009)	ns		ns		ns				ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns			ns
Ohnuna et al. (2010)														ns	ns				ns
eigene Studie									ns		ns								

CC: Fall-/Kontrolldesign, Trio: Familiendesign, Meta: Metaanalyse

Die Poweranalyse zeigt, dass der Stichprobenumfang unter der Annahme einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha=0,05$  und einer Power von 80%, einer Größe von zwischen ca. 400 und 500 Probanden entsprechen müsste, um die Nullhypothese abzulehnen (Tabelle 7.2.4). Die ermittelte Größe liegt etwa 100 Probanden über der eigenen Gruppengröße.

Beide Gene stehen seit ihrer Erstentdeckung im Fokus weiterer Untersuchungen. Auch für die Chromosomen 12 und 13 existieren positive Kopplungsfunde, allerdings ohne vielfache Replikationen (siehe Abschnitt 3.3). Replikationsstudien, als auch Genexpressions- und funktionelle Untersuchungen haben bisher keine eindeu-

tigen Belege für eine Beteiligung der Gene bei der Krankheitsentstehung liefern können.

Tabelle 7.2.4 Poweranalyse für die replizierten Marker der Gene G72, DAO

Studie	Marker (Risikoallel)	Allelverteilung	Stichprobenumfang pro Gruppe nach Poweranalyse
Chumakov et al. (2002)	rs778293 (A)	FG=0,69 KG=0,60	n=443
	rs2111902 (C)	FG=0,36 KG=0,28	n=533
	rs3741775 (T)	FG=0,59 KG=0,49	n=389

### 7.3 PPP3CC im Vergleich zu vorangegangenden Studien

Im Jahr 2003 entdeckten Gerber und Mitarbeiter eine positive Assoziation mit einem 5-Marker-Haplotypen im PPP3CC-Gen und Schizophrenie. Von diesen fünf Markern wurden drei SNPs für die eigene Replikation gewählt. Die Befunde der eigenen Untersuchung lassen bei der Analyse der Assoziationsstudie im Fall-/Kontroll-design und der klinischen Subtypen keinen ursächlichen Zusammenhang der drei untersuchten SNPs im PPP3CC-Gen mit Schizophrenie erkennen (Tabelle 7.3.1).

Tabelle 7.3.1 Gegenüberstellung der Ergebnisse der Marker im PPP3CC-Gen aus der eigenen Studie, vor Bonferroni-Korrektur

	FG/KG	Subtypen			Arbeitsgedächtnis	
		AAO	Antrieb	Affekt	Quantität	Qualität
P_1	ns	ns	ns	ns	ns	<b>GG↓FG</b>
P_2	ns	ns	ns	ns	<b>CC↓FG, TT↓KG</b>	ns
P_3	ns	ns	ns	ns	ns	<b>TT↓FG</b>

Negative Befunde in Fall-/Kontroll- oder familienbasierten Bevölkerungsgruppen unterstützen die Befunde der eigenen Untersuchung (Tabelle 7.3.2). Auffallend ist, dass alle nichtasiatischen Bevölkerungsgruppen mit Ausnahme der Referenzpublikation keine Assoziation mit der Schizophrenie zeigen (Fallin et al. 2005, Sanders et al. 2008, Bechtcheva et al. 2009). Ebenfalls gegen eine Beteiligung der Markers in der Pathophysiologie der Schizophrenie sprechen mehrere Studien aus der asiatischen Bevölkerung in den Fall-/Kontrollgruppen (Kinoshita et al., 2005a; Xi et al., 2007; Yamada et al., 2007). Überraschenderweise sind die Befunde für das Arbeitsgedächtnis nicht so eindeutig. GG-Genotyp-Träger des P\_1 Markers, CC-Genotyp-Träger im Marker P\_2 und TT-Genotyp-Träger im P\_3 SNP zeigten in der erkrankten Gruppe weniger richtige Lösungen und eine verlängerte Reaktionszeit an, während die Leistungen in der gesunden Gruppe unbeeinträchtigt vom genetischen Marker blieben. Diese Befunde erreichten nach Bonferroni-Korrektur kein signifikantes Ergebnis mehr, würden aber Gerbers ursprüngliche Vermutung der erhöhten Vulnerabilität durch das G-Allel in P\_1 bzw. C-Allel und T-Allel (komplementär zu

G und A) der Marker P\_2 und P\_3 bekräftigen. Auch die japanische Fall-/Kontrollgruppe mit über 1.600 Probanden in jeder Gruppe konnte das G-Allel im SNP P\_1 replizieren (Horiuchi et al., 2007). Die familienbasierte Stichprobe von Yamada und Mitarbeitern (2007) unterstützen die Befunde der Referenzpublikation von Gerber und Mitarbeitern (2003) in den Markern P\_2 und P\_3 und Liu und Mitarbeitern (2007) in P\_3.

Tabelle 7.3.2 Übersicht über die Ergebnisse der Assoziationsstudien ausgewählter Polymorphismen im PPP3CC-Gen

Autoren	rs1049437	rs2272080	rs7821470	rs1010801	rs7827093	rs2443502	rs1530874	rs2469747	rs2449348	rs2469757	rs2461491	rs2461490	rs2469758	rs2461489	rs2469770	rs2449340	rs1116085	rs1482337	rs7430	rs2252471	
	Exon 1	Exon 1	Intron 1	Intron 1	Intron 3	Intron 3	Intron 3	Intron 3	Intron 4	Intron 5	Intron 6	Intron 11	Intron 12	Intron 12	3' UTR	SCAM-1	Promoter				
Gerber et al. (2003) US-Gruppe	ns	ns		<b>G</b>					ns		<b>A</b>										
	<b>C</b>	<b>T</b>		<b>G</b>					<b>C</b>		<b>A</b>										
Fallin et al. 2005		ns				ns	ns			ns	ns		ns			ns	ns			ns	
Kinoshita et al. (2006)	ns	ns		ns					ns		ns										ns
Xi et al. (2006) CC1					ns	ns					ns						ns				
Xi et al. (2006) CC2											ns										
Xi et al. (2006) Trio											ns										
Liu et al. (2007)		<b>sig</b>									ns		ns	ns	ns	ns	ns		ns		ns
											<b>A</b>		<b>C</b>	<b>G</b>	<b>G</b>	<b>G</b>			<b>A</b>		<b>C</b>
Horiuchi et al. (2007)				<b>G</b>							ns	<b>G</b>			<b>T</b>		ns				
				<b>A</b>							<b>G</b>	<b>C</b>				<b>G</b>	<b>G</b>				*
Yamada et al. (2007) Trio	<b>C</b>	ns		ns	ns	ns	ns		<b>G</b>		<b>T</b>		ns		ns	ns					ns
Yamada et al. (2007) CC	ns	ns		ns	ns	ns	ns		ns		ns		ns		ns	ns					ns
Sanders et al. (2008)				ns	ns	ns	ns		ns		ns		ns	ns	ns	ns					
Shi et al. (2008) Meta											<b>A</b>										
Betcheva et al. (2009)		ns																			
<b>eigene Studie</b>				<b>ns</b>					<b>ns</b>		<b>ns</b>										

\*Dieser Haplotyp befindet sich häufiger in der Kontrollgruppe

CC: Fall-/Kontrolldesign, Trio: Familiendesign, Meta: Metaanalyse

Somit existieren drei in Fachzeitschriften veröffentlichte Replikationsstudien und eine Metaanalyse von Shi und Mitarbeitern (2008) mit positivem Ergebnis. Diese stammen aus der asiatischen Bevölkerung und können PPP3CC als „Mitspieler“ bei der Entstehung von Schizophrenie nicht ausschließen.

Die Ergebnisse zu PPP3CC sind an dieser Stichprobe nicht so eindeutig, wie die Ergebnisse der Fall-/Kontrollstudie und der klinischen Merkmale zunächst vermuten ließen. Neben den einzelnen genetischen Markern wies auch die Haplotypenanalyse keine positive Assoziation auf. Dagegen bestätigen die Untersuchungen zum Arbeitsgedächtnis eher die eingangs publizierten Ergebnisse von Gerber und Mitarbei-

tern (2003). Alle drei SNPs zeigen einen Interaktionseffekt. Während die Arbeitsgedächtnis-Leistungen bei den gesunden Probanden unberührt von den genetischen Markern blieben, waren die Leistungen bei den ermittelten Risikoallelen in der Gruppe der schizophren Erkrankten in Qualität und Quantität schlechter. Inwiefern die geringe Stichprobengröße zu falsch positiven Ergebnissen führt, bleibt offen. Zu bedenken ist die geringe Effektstärke. Ob diese Ergebnisse auch an einer größeren Stichprobe repliziert werden können, wird sich herausstellen. Ungeklärt bleibt auch die Frage, wieso dieser Effekt ausschließlich in der 1-back Situation erkennbar war, während die Leistungen in der 2- und 3-back Situation wieder ähnlich waren. Wie ist der Interaktionseffekt zu interpretieren? Alternativ konnten von Miyakawa und Mitarbeitern (2003) festgestellt werden, dass KO-Mäuse in den Arbeitsgedächtnisleistungen eingeschränkt waren. Allerdings wurde das PPP3R1-Gen ausgeknockt, welches eine andere Calcineurin-Untereinheit kodiert. Daher bleibt das PPP3CC-Gen umstritten, wenn auch einige Genexpressionsstudien dafür sprechen (Abschnitt 3.4.2). Schließlich besteht die Annahme, dass das PPP3CC-Gen, zumindest im europäischen Raum, kaum bzw. nicht in der Pathogenese der Schizophrenie beteiligt ist.

## 7.4 Diskussion der unterschiedlichen Ergebnisse

### 7.4.1 Stichprobe und Design

Eine sorgfältige diagnostische Beurteilung der Erkrankung, große Stichprobenzahlen und ethnische Homogenität der Stichproben zählen zu den Standards heutiger Untersuchungsdesigns. In dieser Untersuchung wurde der SKID von qualifizierten Mitarbeitern eingesetzt, so dass von einer hohen Güte der Richtigkeit der Diagnose ausgegangen werden kann. Die gewissenhafte Auswahl der Kontrollgruppe, welche psychiatrische Erkrankungen bis in die zweite Elterngeneration ausschloss, versuchte zu vermeiden, dass genetische Ursachen der Grund eines Krankheitsausbruchs im späteren Lebensalter sein könnten. Eine Poweranalyse im Vorfeld erleichtert die Einschätzung der optimalen Stichprobengröße. Hier wurde sie erst im Nachhinein durchgeführt. Die Stichprobengröße befindet sich im Vergleich zu späteren Untersuchungen (vgl. die Abschnitte 3.2.1, 3.3.1, 3.3.2 und 3.4.1) eher im Mittelfeld. Allerdings kann nicht eindeutig festgestellt werden, ob die Referenzstichproben die tatsächlich wahre Verteilung der genetischen Variation in der gesamten Population präsentieren.

Die Untersuchung der klinischen Charakteristika, wie Ersterkrankungsalter und Symptomatik, diente v.a. der Validierung der Befunde der eigenen Replikationsstudie. Die Schwierigkeit bei Untersuchungen zum Ersterkrankungsalter besteht darin, dass es unterschiedlich festgelegt wird. Es kann den ersten psychiatrischen Kontakt, den ersten stationären Aufenthalt oder als dritte Alternative das Auftreten erster Symptome bedeuten. Die DSM-IV Kriterien legen ein Ersterkrankungsalter fest, wenn es die DSM-IV Kriterien erfüllt. Unklar blieb bisher, ob das Ersterkran-

kungsalter einem Kontinuum im Sinne einer Gauss'schen Normalverteilung mit verschiedenen Stufen folgt, wie es in dieser Studie angenommen wurde, oder ob sich verschiedene biologische Subtypen beschreiben mit verschiedenen Verteilungen lassen. Anhand einer Admixture Analyse identifizierten Schürhoff und Mitarbeiter (2004) zwei Gruppen, einem frühen Ersterkrankungsalter mit einem MW von 19.9 Jahren ( $SD=3.5$ ) und einem späteren Ersterkrankungsalter mit einem MW von 33.5 ( $SD=8.2$ ) bei einem Schwellenwert von 28. Die früher erkrankte Gruppe ist eher männlich, eher kein paranoider Typ und besitzt ein erhöhtes familiäres Risiko für Störungen aus dem schizophrenen Formenkreis und für affektive Störungen.

Gerade bei den klinischen Subphänotypen bieten sich eine Auswahl reliabler Instrumente an. Die PANSS wurde ebenfalls erhoben. Nur bildet sie ausschließlich den Zustand zum jeweiligen Messzeitpunkt ab, bietet aber keine Anhaltspunkte verschiedener Symptome in der Vergangenheit. Daher wurde sich für die Items aus dem SKID entschieden, unterstützt durch das Studium der Krankenakten, welche ein besseres Gesamtbild zur Symptomatik und Verlauf der Erkrankung erlaubt. Die größte Einschränkung besteht dabei in der Erhebung retrospektiver Daten. Die prospektive Messung wäre eine validere, wenn auch kosten- und zeitintensive Angelegenheit.

Die Frage, inwiefern homogene Subgruppen einen verbesserten Beitrag zur Aufklärung genetischer Risikofaktoren der Schizophrenie leisten, kann an dieser Stelle nicht genau beantwortet werden. Maier und Mitarbeiter (1999) vermuten, dass dieselben familiär-genetischen Anlagefaktoren alternative Varianten von Phänotypen hervorrufen können. Damit scheint durch die Bildung von Subgruppen kein größerer Beitrag zur Genotyp-Phänotyp-Interaktion gewährleistet zu sein. Die Überschneidungen assoziierter Gene zu anderen psychischen Erkrankungen, insbesondere den bipolaren, aber auch Angsterkrankungen lassen diese Schlüsse zu. Kategoriale Denkmuster könnten zugunsten dimensionaler Konzepte verschwinden und die ätiopathogenetischen Überlegungen aufs Neue reformieren. Besonders interessant sind Überschneidungen bei bipolaren und psychotischen Störungen. Die Tendenz, Kraepelins Dichotomie zugunsten eines Kontinuums bzw. dimensionalen Modells besteht seit längerem und wird durch die genetischen Befunde bekräftigt (Craddock et al., 2006; Craddock und Owen, 2005). So ermittelten mehrere Forschergruppen, dass Polymorphismen von G72 auch mit bipolaren Störungen (Chen et al., 2004; Grigoriu-Serbanescu et al., 2010; Hattori et al., 2003; Prata et al., 2008; Schumacher et al., 2004; Zuliani et al., 2009), Major Depression (Rietschel et al., 2008) und Panikstörung (Schumacher et al., 2004) assoziiert sind.

Für die Untersuchungen am Arbeitsgedächtnis lagen zum Zeitpunkt der Analyse die Daten von 67 erkrankten und 36 gesunden Probanden aus dem Pool der untersuchten Probanden für die Fall-/Kontroll-Studie vor. Inzwischen dürfte sich die Anzahl der Probanden erhöht haben und eine weitere Analyse die statistische Power

erhöhen. Zur Erfassung der Arbeitsgedächtnisleistungen wurde das n-back Paradigma in Anlehnung an Callicott und Mitarbeiter (1999) verwendet. Es ist ein in der Schizo-phrenieforschung etabliertes Verfahren und wurde in Kapitel 1.6.3 ausführlich dargestellt. Dieser Test ist nur ein Verfahren, denen sich die Probanden unterzogen. Während der Datenerhebung durchliefen sie ganze Testbatterien zu Aufmerksamkeit, Arbeitsgedächtnis, verbalem und visuellem Gedächtnis und Aufgaben zum Problemlösen. Es wäre sehr aufschlussreich die Ergebnisse der anderen kognitiven Verfahren mit den eigenen zu vergleichen. Unberücksichtigt blieben in dieser Arbeit die Effekte negativer und positiver Symptome sowie der formalen Denkstörungen auf die Arbeitsgedächtnisleistungen. Einige Studien belegen jedoch, dass die Leistungen des Arbeitsgedächtnisses nicht konstant in Abhängigkeit von Positiv- und Negativsymptomatik oder der generellen Psychopathologie stehen (Morris et al. 1995, Stratta et al. 1997, Perry et al. 2001, Pukrop et al. 2003). Daten zur aktuellen Psychopathologie wurden zum Messzeitpunkt mit der PANSS erhoben, konnten aber zum Zeitpunkt der Fertigstellung der Arbeit nicht berücksichtigt werden. Wenn auch nicht mit testdiagnostischen Ergebnissen zu belegen, war die Mehrheit der Probanden zu diesem Untersuchungszeitpunkt beschwerdearm, wohnte zu Hause und befand sich somit nicht in stationärer Behandlung. Der Einfluss von Medikamenten und die Compliance flossen ebenfalls nicht in die Auswertung mit ein. Meltzer und Sumiyoshi (2008) beispielsweise gehen von einem Benefit durch bestimmte atypische Neuroleptika aus.

#### 7.4.2 Die Wahl der genetischen Marker

Wie aus den Gegenüberstellungen der einzelnen Publikationen zu entnehmen ist, konnte bisher keine der Allel- oder Haplotypvarianten einheitlich repliziert werden. Keine der assoziierten Marker zeigte hochsignifikante Ergebnisse. Es könnte sein, dass sich die assoziierten SNPs der anderen Studien im Kopplungsungleichgewicht mit der „wahren“ genetischen Variante befinden. Schwierig bleibt dabei die Interpretation verschiedener Haplotypen auch innerhalb europäischer Populationen. Während die unterschiedlichen genetischen Varianten in der afrikanischen Bevölkerung aufgrund von hoher genetischer Variabilität erklärt wird, müsste sich die europäische Bevölkerung in ihrer Struktur stark ähneln (Freudenberg et al., 2002). Im Vergleich mit der eigenen Arbeit formieren sich allerdings andere Haplotypen als in den vorher beschriebenen europäischen Untersuchungen. Neben der Variabilität könnte alternativ die LD überschätzt und somit die Haplotypstruktur in den Stichproben überschätzt werden (Gabriel et al., 2002). Die Heterogenität der Erkrankung und der verantwortlichen Gene wird ebenfalls gern als Argument für unterschiedliche Ergebnisse angeführt (Holzman et al., 1988). Diese Annahmen erschweren die Identifikation der „wahren“ Varianten ungemein, wenn davon ausgegangen wird, dass diese „wahre“ Variante nicht existiert.

## 7.5 Gen-Gen-Interaktion

Bei den bisherigen Studien blieb die polygene Vererbung eher unberücksichtigt. Kleine bis moderate Effekte sollten den Nachweis einer „Mitbeteiligung“ an der Pathogenese der Schizophrenie liefern. Die Idee dieser Arbeit bestand darin, aus der Literatur signifikante SNPs auf Einzelmarkerebene unter der Annahme epistatischer Effekte auf Gen-Gen-Interaktion zu untersuchen, um die Annahme der polygenen Vererbung zu bekräftigen. Unter Berücksichtigung der Glutamathypothese, der Bedeutung des NMDA-Rezeptors, und in Anlehnung an dem hypothetischen Modell von Harrison und Owen (2003) wurden die vier Gene *NRG1*, *G72*, *DAO* und *PPP3CC* ausgewählt.

Ein funktioneller Zusammenhang wurde bereits zwischen *G72* und *DAO* entdeckt; *G72* (*DAOA*) dient als Aktivator von *DAO* (Chumakov et al., 2002). Die hier untersuchten SNPs zeigten keine Assoziation mit Schizophrenie. Auch andere Autoren konnten die statistische Interaktion nicht bestätigen (Corvin et al., 2007; Schumacher et al., 2004), wenngleich zum Teil andere SNP-Varianten Interaktionen aufwiesen (Corvin et al., 2007). Möglich, dass andere Varianten an der Pathogenese beteiligt sind. Durch Hinzunahme von *NRG1* und *PPP3CC* wurde eine Erweiterung des Modells versucht, mit der Annahme epistatische Effekte zu identifizieren und die Stärke der Assoziation zu erhöhen. Die negativen Resultate widerlegen die eingangs getroffene Hypothese. Eine Gen-Gen-Interaktion konnte mit den hier untersuchten Polymorphismen nicht entdeckt werden. Ein Ein-Lokus Modell von *NRG1* zeigte das signifikanteste Ergebnis. Möglicherweise würden andere Polymorphismen oder andere Gene, wie z.B. *GRM3*, *DTNBP1*, *RGS4*, die auf den NMDA-Rezeptor wirken bzw. an dessen Aktivität beteiligt sind, im Zusammenspiel mit dem *NRG1*-Gen diese Interaktionen zeigen. Andererseits ist der NMDA-Rezeptor in ein breites Spektrum physiologischer Prozesse von Hirnfunktionen, wie Hirnentwicklung, Plastizität und Exzitotoxizität involviert, so dass die Rolle innerhalb der schizophrenen Erkrankung noch ungeklärt ist (Moghaddam, 2003). Die große Bedeutung des NMDA-Rezeptors bei der neuronalen Entwicklung würde wiederum die Annahme der Schizophrenie als Hirnentwicklungsstörung unterstützen.

Hypothetische Modelle, welche Gen-Gen-Interaktionen berücksichtigen, sind bisher selten. So wurde beispielsweise das *COMT*-Gen im Zusammenhang mit weiteren Genen untersucht (Nicodemus et al., 2007). Unter der Annahme epistatischer Effekte von *COMT* und anderen Kandidatengenen, die vermutlich präfrontale Dysfunktionen modulieren, konnten Interaktionen zwischen Polymorphismen des *COMT*-Gens und der anderen Kandidatengene *RGS4*, *G72*, *GRM3* und *DISC1* festgestellt werden. Sechs Marker von *G72* wurden dafür untersucht. Ein marginaler Effekt konnte bei *COMT* und rs778293 (M22), dem in dieser Arbeit untersuchten Marker festgestellt werden. Der zugrunde liegende pathophysiologische Mechanismus muss mit funktionellen Untersuchungen verifiziert werden.

In dieser Untersuchung wurde ein einfaches nonparametrisches Verfahren angewendet, um mögliche Interaktionen zu identifizieren. Es besteht die Notwendigkeit, statistische Modelle und Studiendesigns zu entwickeln, die mehr diesen Gen-Gen-Interaktionen und Gen-Umwelt-Interaktionen entsprechen. Ansätze sind neben der MDR-Methode, im Cellular Automata Approach oder auch in genetischen Algorithmen zu finden. (Moore und Williams, 2002; Xu et al., 2004). Es bleibt fraglich, ob die mathematischen Modelle das genetische Übertragungsmodell gut abbilden, da der genaue Übertragungsmechanismus weiterhin unbekannt ist. Hinzu kommt, dass nichtgenetische Effekte in der Mehrheit der Arbeiten (die vorliegende eingeschlossen) unberücksichtigt bleiben.

## 7.6 Gen-Umwelt-Interaktion

Die essentielle Rolle der Umwelt und deren Verknüpfung mit genetischen Faktoren für die Ätiologie der Schizophrenie wurde im Einführungsteil kurz umrissen (Abschnitt 2.1). Nichtgenetische Faktoren könnten die Effekte der Gene modifizieren. Die genetische Epidemiologie beschäftigt sich als eigenständiges Forschungsgebiet seit den 80er Jahren mit dem Thema genetischer und nichtgenetischer Risikofaktoren und deren Zusammenwirken bei der Entstehung und dem Verlauf von Erkrankungen (Bickeböller und Fischer, 2007). Der Umgang mit der Vielzahl genetischer Polymorphismen, mehreren Risikofaktoren erfordert eine komplexe statistische Modellierung in interdisziplinären Arbeitsgruppen. Bisher wurden Umwelt und genetische Risikofaktoren häufig getrennt untersucht. Die Integration beider Faktoren in experimentellen Designs sollten für weitere Untersuchungen mehr im Fokus stehen. Groß angelegte epidemiologische Projekte finden sich bereits, wie die „Swiss Etiological Study of Adjustment and Mental Health (SESAM)“, („Schweizer ätiologische Studie zur psychischen Gesundheit“, [www.sesamswiss.ch/index.php](http://www.sesamswiss.ch/index.php)). Sesam ist ein Nationaler Forschungsschwerpunkt (NFS) mit dem Ziel, die komplexen Ursachen aufzudecken, die zu einer gesunden psychischen Entwicklung über die Lebensspanne führen.

Eine der wenigen Studien zu Gen-Umwelt-Interaktionen aus der „klassischen“ epidemiologischen Forschung wurde von Caspi und Mitarbeitern (2005) durchgeführt. Sie untersuchten den Effekt von adoleszenten Cannabiskonsum und dem Val/Met-Polymorphismus in COMT auf Schizophrenie. Adoleszenter Cannabiskonsum wird als Risikofaktor für die Schizophrenie betrachtet (Zammit et al., 2002). Träger des Val-Allels zeigen eher psychotische Symptome und entwickeln eine schizophrenieformige Störung unter Cannabiskonsum als die Träger des Met-Allels. Der Einfluss von Geburtskomplikationen wurde unter dem Hintergrund retrospektiver Erhebungen und falschen Erinnerungen, z.B. vom Hörensagen der Eltern usw. nicht mit berücksichtigt. Auch in dieser Untersuchung wurden Daten zu Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen anamnestisch erhoben, und ähnlich der Begründung von Caspi et al. nicht in der Auswertung mit berücksichtigt. Standardisierte Verfah-

ren und eindeutige Begriffsdefinitionen zur Erfassung von Informationen zu Schwangerschaft und Geburt, gut definierte Stichproben und eine prospektive Datenerhebung sind wichtige methodische Aspekte für valide Daten (Cannon et al., 2002).

Auch das Diathese-Stress-Modell (Zubin und Spring, 1977) kann bei der Identifizierung von Gen-Umwelt-Interaktionen hinzugezogen werden. Gen-Stress-Interaktionen wurden beim COMT-Gen, dem BDNF-Gen (Brain-Derived Neurotrophic Factor) und Genen, die mit der HPA-Achse (Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse) assoziiert sind untersucht, siehe Review von van Winkel und Mitarbeitern (2008).

Die neurobiologische Sichtweise interessiert sich weniger für die klassischen epidemiologischen Umweltfaktoren. Epigenetische Prozesse können zur weiteren Aufklärung beitragen. Die Epigenetik untersucht Unterschiede in der Genexpression, die nicht auf Differenzen in der DNA-Sequenz zurückgehen. In Wechselwirkung mit der Umwelt entstehen veränderte Genexpressionen basierend auf der Modifikation der DNA und des Chromatins, sowie auf posttranskriptionelle Mechanismen. Im Zusammenhang mit der Schizophrenie wird insbesondere die DNA-Methylierung diskutiert. Befunde zu den hier untersuchten Genen wurden bereits im Einführungsteil (Abschnitte 3.2.4, 3.3.3 und 3.4.2) beschrieben.

Bislang weniger untersucht wurden *protektive Faktoren*. Einer wurde im Zusammenhang mit dem unterschiedlichen Erkrankungsalter bei Männern und Frauen diskutiert und scheint auf biologischer Ebene der Neuromodulator Östrogen zu sein, der die Sensitivität der D2-(Dopamin-) Rezeptoren im Gehirn senkt und einen vergleichbaren biochemischen und genomischen Effekt auch auf Serotonin- und Glutamatrezeptoren und -transporter hat (Häfner, 2003). Ein günstiges Familienmilieu kann ebenfalls eine, wenn auch schwache, protektive Wirkung haben (Tienari, 1991).

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass Aussagen zu NRG1, G72, DAO und PPP3CC nach dem bisherigen Forschungsstand bedingt möglich sind (Tabelle 7.6.1). In Anlehnung an den Überblicksartikel von (Harrison und Law, 2006) bestehen gute Gründe, NRG1 als Suszeptibilitäts-gen der Schizophrenie zu betrachten; a) In der Literatur zeigen sich mehrheitlich positive Assoziationen mit der Schizophrenie, b) NRG1 befindet es sich auf dem Locus 8p, c) die bekannten Funktionen in Krankheitsprozessen von NRG1 (Abschnitt 3.2), d) NRG1-Mutantenmäuse zeigen schizophrenieähnliches Verhalten, und e) positive Befunde in Genexpressionsanalysen (Abschnitt 3.2.2). Aufgrund der Genexpressionsdaten und der tierexperimentellen Befunde gilt NRG1 als eines der vielversprechendsten Gene, welches in der Pathophysiologie der Schizophrenie wirken soll. NRG1 bleibt ein bedeutsamer Baustein in der Schizophrenieforschung. Nach den Ergebnissen der eigenen Untersuchung lohnt am ehesten eine Weiteruntersuchung der SNPs N\_1 und N\_2.

Tabelle 7.6.1 Stärke der Beweislage für die Beteiligung der Gene an der Pathogenese der Schizophrenie

Gen	Lokus	Assoziation	Linkage	Expression	Biologische Plausibilität
NRG1	8p12-21	++++/--	++++	+	+++
G72	13q32-34	+++/--	++	+	+
DAO	12q24	++/--	+	+	+++
PPP3CC	8p21	+/--	++++	+	+++

Die Replikationsstudien bei G72 und DAO sind bei weitem nicht konsistent. Auch die biologische Plausibilität ist bei G72 nicht hinreichend geklärt, wie oben beschrieben. Dies scheint bei DAO eher der Fall zu sein, dafür sind die Assoziationsbefunde nicht ausreichend. Noch fraglicher bleibt die Beteiligung von PPP3CC an der Ätiologie der Schizophrenie. Die Marker dieses Gens konnten die Annahme einer Dysfunktion im Calcineurin-Signalweg nicht bestätigen. Möglicherweise spielen andere Isoformen von Calcineurin eine bedeutendere Rolle bei Schizophrenie (Murata et al., 2008). Zukünftig werden Genexpressionsanalysen und funktionelle Studien weiteren Aufschluss geben.

## 8 Ausblick

Die Suche nach Kandidatengenen hat zu Beginn des 21. Jahrhundert den bisherigen Höhepunkt erreicht. Nahezu jede Krankheit mit mutmaßlich komplexen Ursachen ist im Fokus genetischer Untersuchungen. Bei Erkrankungen, die nicht den Mendelschen Gesetzen folgen, bleibt bisher der Durchbruch aus. Auch die vorliegende Arbeit kann die bisherige Inkonsistenz der Befunde nicht beheben. Diese Tatsache führt zu verschiedenen Vermutungen. Entweder wurden die entscheidenden Gene nicht gefunden oder die bisherigen methodischen Ansätze sind nicht geeignet, bzw. sequentielle Unterschiede in der DNA haben keine Auswirkung auf die Krankheitsentstehung. Diese Überlegungen führen zu verschiedenen Konsequenzen:

### *Klärung der Funktion des Gens*

Die Mehrheit der Polymorphismen befindet sich in Intronregionen. Bisher können nur für die funktionellen SNPs, die mit Aminosäureaustausch einhergehen, einige Konsequenzen erkannt werden, aber die Mechanismen der Intronregionen bleiben vage und beziehen sich auf Annahmen regulatoriver Funktionen. Diese müssen besser studiert werden, um die Funktionsweise der DNA-Struktur besser verstehen zu können. Mit Hilfe bekannter Modellpsychosen werden bereits identifizierte Kandidatengene in tierexperimentellen Studien unter dem Aspekt ihrer Funktionalität und biologischen Mechanismen untersucht.

### *Suche nach neuen Kandidatengenen*

Durch Auffinden neuer Suszeptibilitätsloci können neue positionelle Kandidatengene aufgespürt werden. Auf der Ebene der Genotypen ist eine Möglichkeit, die Betrachtung des einzelnen Gens in seiner vollständigen Sequenz und Funktionalität. Mit den heutigen Verfahren sind genomweite Scans schnell und kostengünstig durchzuführen. Regelmäßig wird in der Forschungsliteratur von neu entdeckten Suszeptibilitätsgenen berichtet. Inzwischen sind die Forschergruppen bestrebt, das ganze Gen in vielen verschiedenen Regionen abzudecken. Zum Zeitpunkt der Untersuchung war die Genotypisierung noch ein teures Unterfangen. Die Kosten haben sich auf ein Vielfaches minimiert. Waren tagSNPs eine Überlegung, den Aufwand zu reduzieren, sind Hochleistungsmaschinen heute in der Lage, in kurzer Zeit mit weniger finanziellem Aufwand; Genotypisierungen über das vollständige Genom vorzunehmen.

### *Die Verfeinerung der Phänotypen*

Der Endophänotypenansatz gehört zu den beliebten Konzepten. Bisher wurde sich vor allem auf kognitive und physiologische intermediäre Phänotypen konzentriert. Biologische Marker, wie die dopaminerge Reaktionsfähigkeit oder die Glutamatkonzentration in Bereichen des Hirns werden an Bedeutung gewinnen. Daneben

steigen die bildgebenden Verfahren, meist fMRT-Untersuchungen zur Identifikation von krankheitsverursachenden Genen exponentiell an.

#### *Die zusätzliche Rolle der Umwelt auf die Schizophrenie Erkrankung*

Risikofaktoren der Umwelt gelten als mitverantwortlich für die Entstehung von Schizophrenie. Welche es konkret sind und wie stark ihr Einfluss ist, ist nicht gesichert. Die Interaktion von Gen und Umwelt wird eine zentrale Stellung in der Ursachenforschung der Schizophrenie einnehmen. Außerdem wurden bisher nur wenige feste Variablen bei der Suche krankheitsverursachender Mechanismen untersucht. Die vorliegende Arbeit zeigt aber, dass die Natur der Schizophrenie komplexer ist. Longitudinalstudien können an Bedeutung gewinnen. Die Epigenetik, die über die reine Sequenz eines Gens hinausgeht, ist zusätzlich im Fokus der Ursachenforschung.

#### *Metaanalysen*

Metaanalysen erlauben es, widersprüchliche Ergebnisse einzelner Studien zu vereinen und kleinste Risikoeffekte zu identifizieren. Datenbanken, in dem Forschergruppen ihre Daten zur Verfügung stellen, sind ein wichtiger Schritt (Allen et al., 2008). Hier ist eine weltweite Kooperation zwischen den Forschergruppen notwendig. Die große Anzahl von Publikationen erlauben inzwischen Metaanalysen. Für drei der untersuchten Gene (NRG1, G72 und DAO) existieren bereits einige Metaanalysen (Detera-Wadleigh und McMahon, 2006; Gong et al., 2009; Li et al., 2006; Li und He, 2007; Shi et al., 2008a; Shi et al., 2008b). Aufgrund der publication bias werden überwiegend positive Assoziationen publiziert und eine Vielzahl negativer Befunde bleibt für den Großteil der Öffentlichkeit unbemerkt. Diese sollten in den Datenbanken mit aufgenommen werden.

#### *Pharmakogenetik*

Speziell auf das glutamaterge System bezogen, verfolgen die derzeitigen pharmakologischen Therapieansätze die Verbesserung der Effizienz der glutamatergen Neurotransmission. Ein Ansatz basiert auf der Verabreichung positiver NMDA-Rezeptormodulatoren, vgl. Gründer (2008). Eine weitere Überlegung ist die individualisierte Pharmakotherapie, also die Verabreichung von Medikamenten, welche auf den Patienten zugeschnitten sind. Molekulare Erkrankungsprofile, die aus individuellen Genom-, Proteom- und metabolischen Werten erstellt werden, werden mit dem Phänotyp tausender Patienten korreliert. Schließlich können durch Resequenzierung von Kandidatengenen ermittelte Genotyp-Profile die Grundlage für eine genetische Früherkennung schaffen, Personen mit erhöhter Krankheitsdisposition, rechtzeitig zu behandeln. Eine interessante Aussicht mit ethischen Konsequenzen: So wäre beispielsweise zu überlegen, ob ein bestimmtes Risikoprofil mit präventiven Maßnahmen einhergehen soll.

## 9 Zusammenfassung

Die Schizophrenie ist eine schwere psychische Erkrankung mit unterschiedlicher Symptomatik und einer Lebenszeitprävalenz von etwa einem Prozent. Kognitive Defizite, insbesondere Beeinträchtigungen im Arbeitsgedächtnis, sind Bestandteil der Kernsymptomatik. Eine Vielzahl von Hinweisen, wie pharmakologische Untersuchungen mit NMDA-Rezeptorantagonisten, Tiermodellen, Veränderungen in der Expression von Glutamatrezeptoren in post mortem Gewebe, bilden die Grundlage für die Glutamathypothese der Schizophrenie. Bei einer Heritabilität um die 80% wird eine multifaktoriell-polygene Vererbung vermutet.

NRG1, G72, DAO und PPP3CC sind positionelle Kandidatengene, die direkt oder indirekt am NMDA-Rezeptor wirken und sehr wahrscheinlich in Verbindung zum Glutamatsystem stehen. Mehrere Assoziationsstudien konnten bisher keinen klaren Beleg der wahren Variante im Genom liefern. Ziel dieser Arbeit war, ein tieferes Verständnis der Beteiligung dieser Gene an der Entstehung einer schizophrenen Erkrankung zu gewinnen.

In der vorliegenden Arbeit wurde eine Replikationsstudie zur Untersuchung der Beziehung zwischen neun Markern der vier Gene und Schizophrenie an 365 deutschen schizophrenen Patienten und 368 deutschen gesunden Kontrollprobanden durchgeführt. Aus vorangegangenen Studien wurden die signifikanten Marker rs3924999, rs2954041, SNP8NRG221533 des Gens NRG1, rs778293 von G72, rs2111902 rs3741775 von DAO sowie rs10108011, rs2449348 und rs2461491 von PPP3CC ausgewählt, welche zusätzlich in der Fallgruppe hinsichtlich Unterschiede in klinischen Charakteristika untersucht wurden. Mit dem n-back Paradigma sollten an einer kleineren Stichprobe von 67 schizophrenen Patienten und 36 gesunden Kontrollprobanden mögliche Assoziationen genetischer Varianten mit dem Arbeitsgedächtnis, einem intermediären Phänotypen der Schizophrenie, identifiziert werden. Schließlich wurden die SNPs hinsichtlich Gen-Gen-Interaktionen parameterfrei untersucht.

Weder die Fall-/Kontrollstudie, noch die Untersuchungen in den Subphänotypen sowie im Arbeitsgedächtnis konnten Assoziationen zwischen den neun Markern der vier Gene NRG1, G72, DAO und PPP3CC und Schizophrenie ermitteln. Vorher signifikante Befunde zeigten nach Bonferroni-Korrektur keinen bedeutsamen Zusammenhang an. Die ermittelten Effektstärken deuten auf einen maximal schwachen Einfluss der genetischen Varianten auf die schizophrene Erkrankung. Auch Gen-Gen-Interaktionen konnten nicht identifiziert werden. Das beste Vorhersagemodell lieferte ein einzelner Marker des NRG1-Gens.

Die Ergebnisse dieser Arbeit können einen Beitrag der beschriebenen Marker an der Entstehung einer Schizophrenie nicht bestätigen. Damit decken sich die Befunde mit

einer Vielzahl anderer, auch europäischen Studien bis hin zu Metaanalysen mit sehr großem Stichprobenumfang. Dennoch kann diese Studie eine Beteiligung der vier Gene an der Schizophrenie nicht ausschließen. Insbesondere für NRG1 existieren viele positive Belege. Die klassische Assoziationsstudie wird allerdings an Bedeutung verlieren, da ihre Befunde kaum zu replizieren und schwer zu interpretieren sind. Andererseits bietet sie die Möglichkeit Genvarianten zu entdecken, welche für weitere funktionelle Studien Relevanz haben können. Auch das Endophänotypenkonzept muss sich erst einer genauen Prüfung unterziehen und relevante respektive geeignete Merkmale identifizieren. Zur weiteren Erforschung der Ätiologie sind funktionelle Studien ebenso bedeutsam wie Longitudinalstudien, welche neben genetischen Faktoren die Risikofaktoren während der Lebensspanne untersuchen.

## Literaturverzeichnis

- Addington, A. M. et al., 2004, Polymorphisms in the 13q33.2 gene *G72/G30* are associated with childhood-onset schizophrenia and psychosis not otherwise specified: *Biol.Psychiatry*, v. 55, no. 10, p. 976-980.
- Adlersberg, M., S. C. Hsiung, S. B. Glickstein, K. P. Liu, H. Tamir, und C. Schmauss, 2004, Regulation of dopamine D-receptor activation in vivo by protein phosphatase 2B (calcineurin): *J Neurochem.*, v. 90, no. 4, p. 865-873.
- Ahn, K. H., T. Youn, S. S. Cho, T. H. Ha, K. S. Ha, M. S. Kim, und J. S. Kwon, 2003, N-methyl-D-aspartate receptor in working memory impairments in schizophrenia: event-related potential study of late stage of working memory process: *Prog.Neuropsychopharmacol.Biol.Psychiatry*, v. 27, no. 6, p. 993-999.
- Alaerts, M. et al., 2009, Support for *NRG1* as a susceptibility factor for schizophrenia in a northern Swedish isolated population: *Arch.Gen.Psychiatry*, v. 66, no. 8, p. 828-837.
- Aleman, A., R. Hijman, E. H. de Haan, und R. S. Kahn, 1999, Memory impairment in schizophrenia: a meta-analysis: *Am.J.Psychiatry*, v. 156, no. 9, p. 1358-1366.
- Allen, N. C., S. Bagade, M. B. McQueen, J. P. Ioannidis, F. K. Kavvoura, M. J. Khoury, R. E. Tanzi, und L. Bertram, 2008, Systematic meta-analyses and field synopsis of genetic association studies in schizophrenia: the SzGene database: *Nat.Genet.*, v. 40, no. 7, p. 827-834.
- An der Heiden, W., und H. Häfner, 2000, The epidemiology of onset and course of schizophrenia: *Eur.Arch.Psychiatry Clin.Neurosci.*, v. 250, no. 6, p. 292-303.
- Andreasen, N. C., 1982, Negative symptoms in schizophrenia. Definition and reliability: *Arch.Gen.Psychiatry*, v. 39, no. 7, p. 784-788.
- Andreasen, N. C., 2000, Schizophrenia: the fundamental questions: *Brain Res.Brain Res.Rev.*, v. 31, no. 2-3, p. 106-112.
- Andreasen, N. C., P. Nopoulos, D. S. O'Leary, D. D. Miller, T. Wassink, und M. Flaum, 1999, Defining the phenotype of schizophrenia: cognitive dysmetria and its neural mechanisms: *Biol.Psychiatry*, v. 46, no. 7, p. 908-920.
- APA - American Psychiatric Association, 1994, Diagnostic and statistical manual of mental disorders Washington, DC, American Psychiatric Association.
- Arinami, T., M. Itokawa, H. Enguchi, H. Tagaya, S. Yano, H. Shimizu, H. Hamaguchi, und M. Toru, 1994, Association of dopamine D2 receptor molecular variant with schizophrenia: *Lancet*, v. 343, no. 8899, p. 703-704.
- Asarnow, R. F., J. Asamen, E. Granholm, T. Sherman, J. M. Watkins, und M. E. Williams, 1994, Cognitive/neuropsychological studies of children with a schizophrenic disorder: *Schizophr.Bull.*, v. 20, no. 4, p. 647-669.
- Baddeley, A., 1992, Working memory: *Science*, v. 255, no. 5044, p. 556-559.
- Baddeley, A., 2000, The episodic buffer: a new component of working memory?: *Trends Cogn Sci.*, v. 4, no. 11, p. 417-423.
- Baddeley, A. D., und G. Hitch, 1974, Working memory. New York, Academic Press.
- Badner, J. A., und E. S. Gershon, 2002, Meta-analysis of whole-genome linkage scans of bipolar disorder and schizophrenia: *Mol.Psychiatry*, v. 7, no. 4, p. 405-411.
- Bailer, U., H. Aschauer, und S. Kasper, 2002, Genetik der Schizophrenie: *Jornal für Neurologie, Neurochirurgie und Psychiatrie*, v. 3, no. 3, p. 25-31.
- Bakker, S. C. et al., 2007, The *PIP5K2A* and *RGS4* genes are differentially associated with deficit and non-deficit schizophrenia: *Genes Brain Behav.*, v. 6, no. 2, p. 113-119.
- Bakker, S. C., M. L. Hoogendoorn, J. P. Seltén, W. Verdúijn, P. L. Pearson, R. J. Sinke, und R. S. Kahn, 2004, Neuregulin 1: genetic support for schizophrenia subtypes: *Mol.Psychiatry*, v. 9, no. 12, p. 1061-1063.
- Bass, N. J. et al., 2009, Evidence for the association of the *DAOA (G72)* gene with schizophrenia and bipolar disorder but not for the association of the *DAO* gene with schizophrenia: *Behav.Brain Funct.*, v. 5, p. 28.
- Bateson, W., 1909, Mendel's principles of hereditary. Cambridge, Cambridge University Press.
- Bell, M. D., P. H. Lysaker, R. M. Milstein, und J. L. Beam-Goulet, 1994, Concurrent validity of the cognitive component of schizophrenia: relationship of PANSS scores to neuropsychological assessments: *Psychiatry Res.*, v. 54, no. 1, p. 51-58.
- Bendikov, I., C. Nadri, S. Amar, R. Panizzutti, M. J. De, H. Wolosker, und G. Agam, 2007, A CSF and postmortem brain study of D-serine metabolic parameters in schizophrenia: *Schizophr.Res.*, v. 90, no. 1-3, p. 41-51.
- Benson, M. A., S. E. Newey, E. Martin-Rendon, R. Hawkes, und D. J. Blake, 2001, Dysbindin, a novel coiled-coil-containing protein that interacts with the dystrobrevins in muscle and brain: *J Biol.Chem.*, v. 276, no. 26, p. 24232-24241.
- Benzel, I., J. N. Kew, R. Viknaraaja, F. Kelly, B. J. de, S. Hirsch, T. H. Sanderson, und P. R. Maycox, 2008, Investigation of *G72 (DAOA)* expression in the human brain: *BMC.Psychiatry*, v. 8, p. 94.
- Bertram, I. et al., 2007, Immunohistochemical evidence for impaired neuregulin-1 signaling in the prefrontal cortex in schizophrenia and in unipolar depression: *Ann.N.Y.Acad.Sci.*, v. 1096, p. 147-156.
- Betcheva, E. T. et al., 2009, Case-control association study of 59 candidate genes reveals the *DRD2* SNP rs6277 (C957T) as the only susceptibility factor for schizophrenia in the Bulgarian population: *J Hum.Genet.*, v. 54, no. 2, p. 98-107.
- Bickeböller, H., und C. Fischer, 2007, Einführung in die genetische Epidemiologie Berlin, Springer.

- Blackwood, D. H., A. Fordyce, M. T. Walker, D. M. St Clair, D. J. Porteous, und W. J. Muir, 2001, Schizophrenia and affective disorders—cosegregation with a translocation at chromosome 1q42 that directly disrupts brain-expressed genes: clinical and P300 findings in a family: *Am.J.Hum.Genet.*, v. 69, no. 2, p. 428-433.
- Bleuler, E., und C. G. Jung, 1908, Komplexe und Krankheitsursachen bei Dementia praecox: *Zentralblatt für Nervenheilkunde und Psychiatrie*, v. 31, p. 220-227.
- Blouin, J. L. et al., 1998, Schizophrenia susceptibility loci on chromosomes 13q32 and 8p21: *Nat.Genet.*, v. 20, no. 1, p. 70-73.
- Brébion, G., A. S. David, H. Jones, und L. S. Pilowsky, 2004, Semantic organization and verbal memory efficiency in patients with schizophrenia: *Neuropsychology.*, v. 18, no. 2, p. 378-383.
- Brewer, G. J., und C. W. Cotman, 1989, NMDA receptor regulation of neuronal morphology in cultured hippocampal neurons: *Neurosci.Lett.*, v. 99, no. 3, p. 268-273.
- Brzustowicz, L. M., K. A. Hodgkinson, E. W. Chow, W. G. Honer, und A. S. Bassett, 2000, Location of a major susceptibility locus for familial schizophrenia on chromosome 1q21-q22: *Science*, v. 288, no. 5466, p. 678-682.
- Brzustowicz, L. M., W. G. Honer, E. W. Chow, D. Little, J. Hogan, K. Hodgkinson, und A. S. Bassett, 1999, Linkage of familial schizophrenia to chromosome 13q32: *Am J Hum.Genet.*, v. 65, no. 4, p. 1096-1103.
- Burnet, P. W., S. L. Eastwood, G. C. Bristow, B. R. Godlewska, P. Sikka, M. Walker, und P. J. Harrison, 2008, D-amino acid oxidase activity and expression are increased in schizophrenia: *Mol.Psychiatry*, v. 13, no. 7, p. 658-660.
- Buttini, M., S. Limonta, M. Luyten, und H. Boddeke, 1995, Distribution of calcineurin A isoenzyme mRNAs in rat thymus and kidney: *Histochem.J.*, v. 27, no. 4, p. 291-299.
- Callicott, J. H., M. F. Egan, V. S. Mattay, A. Bertolino, A. D. Bone, B. Verchinski, und D. R. Weinberger, 2003a, Abnormal fMRI response of the dorsolateral prefrontal cortex in cognitively intact siblings of patients with schizophrenia: *American Journal of Psychiatry*, v. 160, no. 4, p. 709-719.
- Callicott, J. H., V. S. Mattay, A. Bertolino, K. Finn, R. Coppola, J. A. Frank, T. E. Goldberg, und D. R. Weinberger, 1999, Physiological characteristics of capacity constraints in working memory as revealed by functional MRI: *Cereb.Cortex*, v. 9, no. 1, p. 20-26.
- Callicott, J. H., V. S. Mattay, B. A. Verchinski, S. Marenco, M. F. Egan, und D. R. Weinberger, 2003b, Complexity of prefrontal cortical dysfunction in schizophrenia: more than up or down: *American Journal of Psychiatry*, v. 160, no. 12, p. 2209-2215.
- Callicott, J. H. et al., 2005, Variation in DISC1 affects hippocampal structure and function and increases risk for schizophrenia: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, v. 102, no. 24, p. 8627-8632.
- Cannon, M., P. B. Jones, und R. M. Murray, 2002, Obstetric complications and schizophrenia: historical and meta-analytic review: *American Journal of Psychiatry*, v. 159, no. 7, p. 1080-1092.
- Cannon, T. D. et al., 2000, The inheritance of neuropsychological dysfunction in twins discordant for schizophrenia: *Am J Hum.Genet.*, v. 67, no. 2, p. 369-382.
- Cannon, T. D., J. Kaprio, J. Lonnqvist, M. Huttunen, und M. Koskenvuo, 1998, The genetic epidemiology of schizophrenia in a Finnish twin cohort. A population-based modeling study: *Arch.Gen.Psychiatry*, v. 55, no. 1, p. 67-74.
- Canoll, P. D., J. M. Musacchio, R. Hardy, R. Reynolds, M. A. Marchionni, und J. L. Salzer, 1996, GGF/neuregulin is a neuronal signal that promotes the proliferation and survival and inhibits the differentiation of oligodendrocyte progenitors: *Neuron*, v. 17, no. 2, p. 229-243.
- Cao, Q. et al., 1997, Suggestive evidence for a schizophrenia susceptibility locus on chromosome 6q and a confirmation in an independent series of pedigrees: *Genomics*, v. 43, no. 1, p. 1-8.
- Cardno, A. G., und I. I. Gottesman, 2000, Twin studies of schizophrenia: from bow-and-arrow concordances to star wars Mx and functional genomics: *Am J Med Genet.*, v. 97, no. 1, p. 12-17.
- Cardno, A. G. et al., 2001, A genomewide linkage study of age at onset in schizophrenia: *Am J Med.Genet.*, v. 105, no. 5, p. 439-445.
- Cardno, A. G. et al., 1999, Heritability estimates for psychotic disorders: the Maudsley twin psychosis series: *Arch.Gen.Psychiatry*, v. 56, no. 2, p. 162-168.
- Carlsson, A., und M. Lindquist, 1963, Effect of chlorpromazine or haloperidol on formation of 3methoxytyramine and normetanephrine in mouse brain: *Acta Pharmacol.Toxicol.(Copenh)*, v. 20, p. 140-144.
- Carpenter, G., 2003, ErbB-4: mechanism of action and biology: *Exp.Cell Res.*, v. 284, no. 1, p. 66-77.
- Carpenter, W. T., Jr., und B. Kirkpatrick, 1988, The heterogeneity of the long-term course of schizophrenia: *Schizophr.Bull.*, v. 14, no. 4, p. 645-652.
- Carter, C. S., W. Perlstein, R. Ganguli, J. Brar, M. Mintun, und J. D. Cohen, 1998, Functional hypofrontality and working memory dysfunction in schizophrenia: *American Journal of Psychiatry*, v. 155, no. 9, p. 1285-1287.
- Caspi, A. et al., 2005, Moderation of the effect of adolescent-onset cannabis use on adult psychosis by a functional polymorphism in the catechol-O-methyltransferase gene: longitudinal evidence of a gene X environment interaction: *Biol.Psychiatry*, v. 57, no. 10, p. 1117-1127.
- Chakravarti, A., und P. Little, 2003, Nature, nurture and human disease: *Nature*, v. 421, no. 6921, p. 412-414.
- Chang, H., D. J. Riese, W. Gilbert, D. F. Stern, und U. J. McMahan, 1997, Ligands for ErbB-family receptors encoded by a neuregulin-like gene: *Nature*, v. 387, no. 6632, p. 509-512.
- Chen, W. J., und S. V. Faraone, 2000, Sustained attention deficits as markers of genetic susceptibility to schizophrenia: *Am.J.Med.Genet.*, v. 97, no. 1, p. 52-57.
- Chen, Y. S. et al., 2004, Findings in an independent sample support an association between bipolar affective disorder and the G72/G30 locus on chromosome 13q33: *Mol.Psychiatry*, v. 9, no. 1, p. 87-92.

- Chowdari, K. V. et al., 2002, Association and linkage analyses of RGS4 polymorphisms in schizophrenia: *Hum.Mol.Genet.*, v. 11, no. 12, p. 1373-1380.
- Chumakov, I. et al., 2002, Genetic and physiological data implicating the new human gene G72 and the gene for D-amino acid oxidase in schizophrenia: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, v. 99, no. 21, p. 13675-13680.
- Cichon, S., 2002, Variabilität im menschlichen Genom: Bedeutung für die Krankheitsforschung: *Dtsch Arztebl.*, v. 99, no. 46, p. A-3091.
- Citri, A., K. B. Skaria, und Y. Yarden, 2003, The deaf and the dumb: the biology of ErbB-2 and ErbB-3: *Exp.Cell Res.*, v. 284, no. 1, p. 54-65.
- Clerget-Darpoux, F., C. Bonaiti-Pellie, und J. Hochez, 1986, Effects of misspecifying genetic parameters in lod score analysis: *Biometrics*, v. 42, no. 2, p. 393-399.
- Collette, F., und M. Van der Linden, 2002, Brain imaging of the central executive component of working memory: *Neurosci.Biobehav.Rev.*, v. 26, no. 2, p. 105-125.
- Collier, D., und T. Li, 2003, The genetics of schizophrenia: glutamate not dopamine?: *European Journal of Pharmacology*, v. 480, no. 1-3, p. 177-184.
- Coon, H., J. Holik, M. Hoff, F. Reimherr, P. Wender, M. Myles-Worsley, M. Waldo, R. Freedman, und W. Byerley, 1994, Analysis of chromosome 22 markers in nine schizophrenia pedigrees: *Am.J.Med.Genet.*, v. 54, no. 1, p. 72-79.
- Corvin, A. et al., 2007, Evidence for association and epistasis at the DAOA/G30 and D-amino acid oxidase loci in an Irish schizophrenia sample: *Am J Med.Genet.B Neuropsychiatr.Genet.*, v. 144B, no. 7, p. 949-953.
- Corvin, A. P. et al., 2004, Confirmation and refinement of an 'at-risk' haplotype for schizophrenia suggests the EST cluster, Hs.97362, as a potential susceptibility gene at the Neuregulin-1 locus: *Mol.Psychiatry*, v. 9, no. 2, p. 208-213.
- Cotman, C. W., D. T. Monaghan, O. P. Ottersen, und J. Storm-Mathisen, 1987, Anatomical organization of excitatory amino acid receptors and their pathways: *Trends in Neurosciences*, v. 10, no. 7, p. 273-280.
- Cowan, N., 1995, *Attention and memory: An integrated framework* New York, Oxford University Press.
- Coyle, J. T., G. Tsai, und D. C. Goff, 2002, Ionotropic glutamate receptors as therapeutic targets in schizophrenia: *Curr.Drug Targets.CNS.Neurol.Disord.*, v. 1, no. 2, p. 183-189.
- Craddock, N., M. C. O'Donovan, und M. J. Owen, 2006, Genes for schizophrenia and bipolar disorder? Implications for psychiatric nosology: *Schizophr.Bull.*, v. 32, no. 1, p. 9-16.
- Craddock, N., und M. J. Owen, 2005, The beginning of the end for the Kraepelinian dichotomy: *Br.J Psychiatry*, v. 186, p. 364-366.
- Cravchik, A., D. R. Sibley, und P. V. Gejman, 1996, Functional analysis of the human D2 dopamine receptor missense variants: *J Biol.Chem.*, v. 271, no. 42, p. 26013-26017.
- Crocq, M. A. et al., 1992, Association between schizophrenia and homozygosity at the dopamine D3 receptor gene: *J Med Genet.*, v. 29, no. 12, p. 858-860.
- Daly, M. J., J. D. Rioux, S. F. Schaffner, T. J. Hudson, und E. S. Lander, 2001, High-resolution haplotype structure in the human genome: *Nat.Genet.*, v. 29, no. 2, p. 229-232.
- Davidson, L. L., und R. W. Heinrichs, 2003, Quantification of frontal and temporal lobe brain-imaging findings in schizophrenia: a meta-analysis: *Psychiatry Res.*, v. 122, no. 2, p. 69-87.
- Davis, K. L., R. S. Kahn, G. Ko, und M. Davidson, 1991, Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization: *American Journal of Psychiatry*, v. 148, no. 11, p. 1474-1486.
- Della Sala, S., A. Baddeley, C. Papagno, und H. Spinnler, 1995, Dual-task paradigm: a means to examine the central executive: *Ann.N.Y.Acad.Sci.*, v. 769, p. 161-171.
- Detera-Wadleigh, S. D., und F. J. McMahon, 2006, G72/G30 in schizophrenia and bipolar disorder: review and meta-analysis: *Biol.Psychiatry*, v. 60, no. 2, p. 106-114.
- Devon, R. S. et al., 2001, Identification of polymorphisms within Disrupted in Schizophrenia 1 and Disrupted in Schizophrenia 2, and an investigation of their association with schizophrenia and bipolar affective disorder: *Psychiatr.Genet.*, v. 11, no. 2, p. 71-78.
- Duan, J., M. Martinez, A. R. Sanders, C. Hou, A. J. Krasner, D. B. Schwartz, und P. V. Gejman, 2005, Neuregulin 1 (NRG1) and schizophrenia: analysis of a US family sample and the evidence in the balance: *Psychol.Med.*, v. 35, no. 11, p. 1599-1610.
- Duan, J. et al., 2004, Polymorphisms in the trace amine receptor 4 (TRAR4) gene on chromosome 6q23.2 are associated with susceptibility to schizophrenia: *Am J Hum.Genet.*, v. 75, no. 4, p. 624-638.
- Dupont, W. D., und W. D. Jr. Plummer, 1998, Power and sample size calculations for studies involving linear regression: *Control Clin.Trials*, v. 19, no. 6, p. 589-601.
- Dworkin, R. H., und M. F. Lenzenweger, 1984, Symptoms and the genetics of schizophrenia: implications for diagnosis: *American Journal of Psychiatry*, v. 141, no. 12, p. 1541-1546.
- Eastwood, S. L., P. W. Burnet, und P. J. Harrison, 2005, Decreased hippocampal expression of the susceptibility gene PPP3CC and other calcineurin subunits in schizophrenia: *Biol.Psychiatry*, v. 57, no. 7, p. 702-710.
- Egan, M. F., T. E. Goldberg, T. Gscheidle, M. Weirich, R. Rawlings, T. M. Hyde, L. Bigelow, und D. R. Weinberger, 2001a, Relative risk for cognitive impairments in siblings of patients with schizophrenia: *Biol.Psychiatry*, v. 50, no. 2, p. 98-107.
- Egan, M. F., T. E. Goldberg, B. S. Kolachana, J. H. Callicott, C. M. Mazzanti, R. E. Straub, D. Goldman, und D. R. Weinberger, 2001b, Effect of COMT Val108/158 Met genotype on frontal lobe function and risk for schizophrenia: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, v. 98, no. 12, p. 6917-6922.

- Egan, M. F., M. Leboyer, und D. R. Weinberger, 2003, Intermediate phenotypes in genetic studies of schizophrenia, in SR Hirsch und DR Weinberger eds., *Schizophrenia*: Oxford, Blackwell Science, p. 277-297.
- Egan, M. F. et al., 2004, Variation in GRM3 affects cognition, prefrontal glutamate, and risk for schizophrenia: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, v. 101, no. 34, p. 12604-12609.
- Emamian, E. S., D. Hall, M. J. Birnbaum, M. Karayiorgou, und J. A. Gogos, 2004, Convergent evidence for impaired AKT1-GSK3beta signaling in schizophrenia: *Nat.Genet.*, v. 36, no. 2, p. 131-137.
- Espinoza, M. I., und J. T. Parer, 1991, Mechanisms of asphyxial brain damage, and possible pharmacologic interventions, in the fetus: *Am J Obstet.Gynecol.*, v. 164, no. 6 Pt 1, p. 1582-1589.
- Evans, K., J. McGrath, und R. Milns, 2003, Searching for schizophrenia in ancient Greek and Roman literature: a systematic review: *Acta Psychiatr.Scand.*, v. 107, no. 5, p. 323-330.
- Excoffier, L., und M. Slatkin, 1995, Maximum-likelihood estimation of molecular haplotype frequencies in a diploid population: *Mol.Biol.Evol.*, v. 12, no. 5, p. 921-927.
- Fallin, M. D. et al., 2005, Bipolar I disorder and schizophrenia: a 440-single-nucleotide polymorphism screen of 64 candidate genes among Ashkenazi Jewish case-parent trios: *Am J Hum.Genet.*, v. 77, no. 6, p. 918-936.
- Falls, D. L., 2003, Neuregulins: functions, forms, and signaling strategies: *Exp.Cell Res.*, v. 284, no. 1, p. 14-30.
- Falls, D. L., K. M. Rosen, G. Corfas, W. S. Lane, und G. D. Fischbach, 1993, ARIA, a protein that stimulates acetylcholine receptor synthesis, is a member of the neu ligand family: *Cell*, v. 72, no. 5, p. 801-815.
- Faraone, S. V. et al., 1998, Genome scan of European-American schizophrenia pedigrees: results of the NIMH Genetics Initiative and Millennium Consortium: *Am.J.Med.Genet.*, v. 81, no. 4, p. 290-295.
- Farber, N. B., D. F. Wozniak, M. T. Price, J. Labruyere, J. Huss, P. H. St, und J. W. Olney, 1995, Age-specific neurotoxicity in the rat associated with NMDA receptor blockade: potential relevance to schizophrenia?: *Biol.Psychiatry*, v. 38, no. 12, p. 788-796.
- Fish, B., 1977, Neurobiologic antecedents of schizophrenia in children. Evidence for an inherited, congenital neurointegrative defect: *Arch.Gen.Psychiatry*, v. 34, no. 11, p. 1297-1313.
- Freedman, R., C. E. Adams, und S. Leonard, 2000, The alpha7-nicotinic acetylcholine receptor and the pathology of hippocampal interneurons in schizophrenia: *J Chem.Neuroanat.*, v. 20, no. 3-4, p. 299-306.
- Freedman, R. et al., 1997, Linkage of a neurophysiological deficit in schizophrenia to a chromosome 15 locus: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, v. 94, no. 2, p. 587-592.
- Freedman, R., S. Leonard, A. Olincy, C. A. Kaufmann, D. Malaspina, C. R. Cloninger, D. Svrakic, S. V. Faraone, und M. T. Tsuang, 2001, Evidence for the multigenic inheritance of schizophrenia: *Am J Med Genet.*, v. 105, no. 8, p. 794-800.
- Freudenberg, J., S. Cichon, M. M. N+then, und P. Propping, 2002, Blockstruktur des menschlichen Genoms: Ein Organisationsprinzip der genetischen Variabilität: *Dtsch Arztebl*, v. 99, no. 47, p. A-3190.
- Fritz, K. I., F. Groenendaal, C. Andersen, S. T. Ohnishi, O. P. Mishra, und M. Delivoria-Papadopoulos, 1999, Deleterious brain cell membrane effects after NMDA receptor antagonist administration to newborn piglets: *Brain Res.*, v. 816, no. 2, p. 438-445.
- Fukui, K., und Y. Miyake, 1992, Molecular cloning and chromosomal localization of a human gene encoding D-amino-acid oxidase: *J Biol.Chem.*, v. 267, no. 26, p. 18631-18638.
- Fukui, N., T. Muratake, N. Kaneko, H. Amagane, und T. Someya, 2006, Supportive evidence for neuregulin 1 as a susceptibility gene for schizophrenia in a Japanese population: *Neurosci Lett.*, v. 396, no. 2, p. 117-120.
- Gabriel, S. B. et al., 2002, The structure of haplotype blocks in the human genome: *Science*, v. 296, no. 5576, p. 2225-2229.
- Gallinat, J., und Y. Gudlowski, 2008, Die Glutamathypothese der Schizophrenie: *Nervenheilkunde*, v. 27, p. 317-325.
- Gasperoni, T. L., J. Ekelund, M. Huttunen, C. G. Palmer, A. Tuulio-Henriksson, J. Lonnqvist, J. Kaprio, L. Peltonen, und T. D. Cannon, 2003, Genetic linkage and association between chromosome 1q and working memory function in schizophrenia: *Am J Med.Genet.B Neuropsychiatr.Genet.*, v. 116B, no. 1, p. 8-16.
- Geddes, J. R., und S. M. Lawrie, 1995, Obstetric complications and schizophrenia: a meta-analysis: *Br.J Psychiatry*, v. 167, no. 6, p. 786-793.
- Gerber, D. J., D. Hall, T. Miyakawa, S. Demars, J. A. Gogos, M. Karayiorgou, und S. Tonegawa, 2003, Evidence for association of schizophrenia with genetic variation in the 8p21.3 gene, PPP3CC, encoding the calcineurin gamma subunit: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, v. 100, no. 15, p. 8993-8998.
- Gevens, A. S., S. L. Bressler, B. A. Cutillo, J. Illes, J. C. Miller, J. Stern, und H. R. Jex, 1990, Effects of prolonged mental work on functional brain topography: *Electroencephalogr.Clin.Neurophysiol.*, v. 76, no. 4, p. 339-350.
- Ghoneim, M. M., J. V. Hinrichs, S. P. Mewaldt, und R. C. Petersen, 1985, Ketamine: behavioral effects of subanesthetic doses: *J Clin.Psychopharmacol.*, v. 5, no. 2, p. 70-77.
- Gill, M. et al., 1996, A combined analysis of D22S278 marker alleles in affected sib-pairs: support for a susceptibility locus for schizophrenia at chromosome 22q12. Schizophrenia Collaborative Linkage Group (Chromosome 22): *Am.J.Med.Genet.*, v. 67, no. 1, p. 40-45.
- Gogos, J. A., M. Morgan, V. Luine, M. Santha, S. Ogawa, D. Pfaff, und M. Karayiorgou, 1998, Catechol-O-methyltransferase-deficient mice exhibit sexually dimorphic changes in catecholamine levels and behavior: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, v. 95, no. 17, p. 9991-9996.
- Gold, J. M., C. Carpenter, C. Randolph, T. E. Goldberg, und D. R. Weinberger, 1997, Auditory working memory and Wisconsin Card Sorting Test performance in schizophrenia: *Arch.Gen.Psychiatry*, v. 54, no. 2, p. 159-165.
- Gold, S., S. Arndt, P. Nopoulos, D. S. O'Leary, und N. C. Andreasen, 1999, Longitudinal study of cognitive function in first-episode and recent-onset schizophrenia: *Am.J.Psychiatry*, v. 156, no. 9, p. 1342-1348.

- Goldberg, T. E., M. F. Egan, T. Gscheidle, R. Coppola, T. Weickert, B. S. Kolachana, D. Goldman, und D. R. Weinberger, 2003, Executive subprocesses in working memory: relationship to catechol-O-methyltransferase Val158Met genotype and schizophrenia: *Arch.Gen.Psychiatry*, v. 60, no. 9, p. 889-896.
- Goldberg, T. E., C. N. Karson, J. P. Leleszi, und D. R. Weinberger, 1988, Intellectual impairment in adolescent psychosis. A controlled psychometric study: *Schizophr.Res.*, v. 1, no. 4, p. 261-266.
- Goldberg, T. E., R. E. Straub, J. H. Callicott, A. Hariri, V. S. Mattay, L. Bigelow, R. Coppola, M. F. Egan, und D. R. Weinberger, 2006, The G72/G30 gene complex and cognitive abnormalities in schizophrenia: *Neuropsychopharmacology*, v. 31, no. 9, p. 2022-2032.
- Goldman-Rakic, P. S., 1994, Working memory dysfunction in schizophrenia: *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, v. 6, no. 4, p. 348-357.
- Goldstein, D. B., 2001, Islands of linkage disequilibrium: *Nat.Genet.*, v. 29, no. 2, p. 109-111.
- Gong, Y. G., C. N. Wu, Q. H. Xing, X. Z. Zhao, J. Zhu, und L. He, 2009, A two-method meta-analysis of Neuregulin 1(NRG1) association and heterogeneity in schizophrenia: *Schizophr.Res.*, v. 111, no. 1-3, p. 109-114.
- Goodearl, A. D., J. B. Davis, K. Mistry, L. Minghetti, M. Otsu, M. D. Waterfield, und P. Stroobant, 1993, Purification of multiple forms of glial growth factor: *J Biol.Chem.*, v. 268, no. 24, p. 18095-18102.
- Gottesman, I. I., und T. D. Gould, 2003, The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions: *Am.J.Psychiatry*, v. 160, no. 4, p. 636-645.
- Gottesman, I. I., und J. Shields, 1976, A critical review of recent adoption, twin, and family studies of schizophrenia: behavioral genetics perspectives: *Schizophr.Bull.*, v. 2, no. 3, p. 360-401.
- Grigoriou-Serbanescu, M. et al., 2010, Possible association of different G72/G30 SNPs with mood episodes and persecutory delusions in bipolar I Romanian patients: *Prog.Neuropsychopharmacol.Biol.Psychiatry*.
- Gründer, G., 2008, Pharmakotherapie kognitiver Störungen, p. 599-612. In: Kircher T, Gauggel S (Hrsg) *Neuropsychologie der Schizophrenien*: Berlin, Springer
- Guidotti, A., J. Auta, J. M. Davis, E. Dong, D. R. Grayson, M. Veldic, X. Zhang, und E. Costa, 2005, GABAergic dysfunction in schizophrenia: new treatment strategies on the horizon: *Psychopharmacology (Berl)*, v. 180, no. 2, p. 191-205.
- Gurling, H. M. et al., 2001, Genomewide genetic linkage analysis confirms the presence of susceptibility loci for schizophrenia, on chromosomes 1q32.2, 5q33.2, and 8p21-22 and provides support for linkage to schizophrenia, on chromosomes 11q23.3-24 and 20q12.1-11.23: *Am J Hum.Genet.*, v. 68, no. 3, p. 661-673.
- Häfner, H., 2003, Gender differences in schizophrenia: *Psychoneuroendocrinology*, v. 28 Suppl 2, p. 17-54.
- Häfner, H., und W. An der Heiden, 2003, Course and outcome of schizophrenia., in SR Hirsch und DR Weinberger eds., *Schizophrenia*: Oxford, Blackwell Publishing, p. 101-141.
- Hahn, C. G. et al., 2006, Altered neuregulin 1-erbB4 signaling contributes to NMDA receptor hypofunction in schizophrenia: *Nat.Med.*, v. 12, no. 7, p. 824-828.
- Hahn, L. W., M. D. Ritchie, und J. H. Moore, 2003, Multifactor dimensionality reduction software for detecting gene-gene and gene-environment interactions: *Bioinformatics.*, v. 19, no. 3, p. 376-382.
- Hall, D., J. A. Gogos, und M. Karayiorgou, 2004, The contribution of three strong candidate schizophrenia susceptibility genes in demographically distinct populations: *Genes Brain Behav.*, v. 3, no. 4, p. 240-248.
- Hall, J., H. C. Whalley, T. W. Moorhead, B. J. Baig, A. M. McIntosh, D. E. Job, D. G. Owens, S. M. Lawrie, und E. C. Johnstone, 2008, Genetic variation in the DAOA (G72) gene modulates hippocampal function in subjects at high risk of schizophrenia: *Biol.Psychiatry*, v. 64, no. 5, p. 428-433.
- Hambrecht, M., K. Maurer, H. Hafner, und N. Sartorius, 1992, Transnational stability of gender differences in schizophrenia? An analysis based on the WHO study on determinants of outcome of severe mental disorders: *Eur.Arch.Psychiatry Clin.Neurosci.*, v. 242, no. 1, p. 6-12.
- Hanley, R. M., J. R. Dedman, und S. Shenolikar, 1987, Identification of high-affinity calmodulin-binding proteins in rat liver: *Am J Physiol*, v. 252, no. 3 Pt 1, p. C277-C284.
- Harrison, P. J., 1999, The neuropathology of schizophrenia. A critical review of the data and their interpretation: *Brain*, v. 122 ( Pt 4), p. 593-624.
- Harrison, P. J., und A. J. Law, 2006, Neuregulin 1 and schizophrenia: genetics, gene expression, and neurobiology: *Biol.Psychiatry*, v. 60, no. 2, p. 132-140.
- Harrison, P. J., und M. J. Owen, 2003, Genes for schizophrenia? Recent findings and their pathophysiological implications: *Lancet*, v. 361, no. 9355, p. 417-419.
- Harrison, P. J., und D. R. Weinberger, 2005, Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence: *Mol.Psychiatry*, v. 10, no. 1, p. 40-68.
- Hashimoto, K., G. Engberg, E. Shimizu, C. Nordin, L. H. Lindstrom, und M. Iyo, 2005, Reduced D-serine to total serine ratio in the cerebrospinal fluid of drug naive schizophrenic patients: *Prog.Neuropsychopharmacol.Biol.Psychiatry*, v. 29, no. 5, p. 767-769.
- Hashimoto, K. et al., 2003, Decreased serum levels of D-serine in patients with schizophrenia: evidence in support of the N-methyl-D-aspartate receptor hypofunction hypothesis of schizophrenia: *Arch.Gen.Psychiatry*, v. 60, no. 6, p. 572-576.
- Hashimoto, R., R. E. Straub, C. S. Weickert, T. M. Hyde, J. E. Kleinman, und D. R. Weinberger, 2004, Expression analysis of neuregulin-1 in the dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia: *Mol.Psychiatry*, v. 9, no. 3, p. 299-307.
- Hattori, E., C. Liu, J. A. Badner, T. I. Bonner, S. L. Christian, M. Maheshwari, S. D. Detera-Wadleigh, R. A. Gibbs, und E. S. Gershon, 2003, Polymorphisms at the G72/G30 gene locus, on 13q33, are associated with bipolar disorder in two independent pedigree series: *Am J Hum.Genet.*, v. 72, no. 5, p. 1131-1140.

- Heaton, R. K., D. A. Grant, und E. A. Berg, 1993, Wisconsin Card Sorting Test manual Odessa, Fla: Psychological Assessment Resources.
- Heckers, S., 2001, Neuroimaging studies of the hippocampus in schizophrenia: *Hippocampus*, v. 11, no. 5, p. 520-528.
- Heinrichs, R. W., und K. K. Zakzanis, 1998, Neurocognitive deficit in schizophrenia: a quantitative review of the evidence: *Neuropsychology*, v. 12, no. 3, p. 426-445.
- Heston, L. L., 1966, Psychiatric disorders in foster home reared children of schizophrenic mothers: *Br.J.Psychiatry*, v. 112, no. 489, p. 819-825.
- Ho, B. C., T. H. Wassink, D. S. O'Leary, V. C. Sheffield, und N. C. Andreasen, 2005, Catechol-O-methyl transferase Val158Met gene polymorphism in schizophrenia: working memory, frontal lobe MRI morphology and frontal cerebral blood flow: *Mol.Psychiatry*, v. 10, no. 3, p. 229, 287-229, 298.
- Ho, W. H., M. P. Armanini, A. Nuijens, H. S. Phillips, und P. L. Osheroff, 1995, Sensory and motor neuron-derived factor. A novel heregulin variant highly expressed in sensory and motor neurons: *J Biol.Chem.*, v. 270, no. 24, p. 14523-14532.
- Höfler, J., und P. Bräunig, 1995, Abnahme der Häufigkeit katatoner Schizophrenien im Epochenvergleich., in P Bräunig ed., *Differenzierung katatoner und neuroleptika-induzierter Bewegungsstörungen*: Stuttgart, Thieme, p. 23-35.
- Holmes, W. E. et al., 1992, Identification of heregulin, a specific activator of p185erbB2: *Science*, v. 256, no. 5060, p. 1205-1210.
- Holzman, P. S., E. Kringlen, S. Matthyse, S. D. Flanagan, R. B. Lipton, G. Cramer, S. Levin, K. Lange, und D. L. Levy, 1988, A single dominant gene can account for eye tracking dysfunctions and schizophrenia in offspring of discordant twins: *Arch.Gen.Psychiatry*, v. 45, no. 7, p. 641-647.
- Hong, C. J., S. J. Hou, F. C. Yen, Y. J. Liou, und S. J. Tsai, 2006, Family-based association study between G72/G30 genetic polymorphism and schizophrenia: *Neuroreport*, v. 17, no. 10, p. 1067-1069.
- Hong, C. J., S. J. Huo, D. L. Liao, K. Lee, J. Y. Wu, und S. J. Tsai, 2004, Case-control and family-based association studies between the neuregulin 1 (Arg38Gln) polymorphism and schizophrenia: *Neurosci Lett.*, v. 366, no. 2, p. 158-161.
- Hong, L. E., I. Wonodi, O. C. Stine, B. D. Mitchell, und G. K. Thaker, 2008, Evidence of missense mutations on the neuregulin 1 gene affecting function of Prä-Puls-Inhibition: *Biol.Psychiatry*, v. 63, no. 1, p. 17-23.
- Horiuchi, Y. et al., 2007, Support for association of the PPP3CC gene with schizophrenia: *Mol.Psychiatry*, v. 12, no. 10, p. 891-893.
- Huttunen, M., 1995, The evolution of the serotonin-dopamine antagonist concept: *J Clin.Psychopharmacol.*, v. 15, no. 1 Suppl 1, p. 4S-10S.
- Ikeda, M., N. Iwata, T. Suzuki, T. Kitajima, Y. Yamanouchi, Y. Kinoshita, T. Inada, und N. Ozaki, 2004, Association of AKT1 with schizophrenia confirmed in a Japanese population: *Biol.Psychiatry*, v. 56, no. 9, p. 698-700.
- Ingason, A., K. Soeby, S. Timm, A. G. Wang, K. D. Jakobsen, A. Fink-Jensen, R. Hemmingsen, R. H. Berg, und T. Werge, 2006, No significant association of the 5' end of neuregulin 1 and schizophrenia in a large Danish sample: *Schizophr.Res.*
- Itokawa, M., T. Arinami, N. Futamura, H. Hamaguchi, und M. Toru, 1993, A structural polymorphism of human dopamine D2 receptor, D2(Ser311->Cys): *Biochem.Biophys.Res.Commun.*, v. 196, no. 3, p. 1369-1375.
- Iwata, N., T. Suzuki, M. Ikeda, T. Kitajima, Y. Yamanouchi, T. Inada, und N. Ozaki, 2004, No association with the neuregulin 1 haplotype to Japanese schizophrenia: *Mol.Psychiatry*, v. 9, no. 2, p. 126-127.
- Jablensky, A., 2003, The epidemiological horizon, in SR Hirsch und DR Weinberger eds., *Schizophrenia*: Berlin, Blackwell Science, p. 203-231.
- Jablensky, A., N. Sartorius, G. Ernberg, M. Anker, A. Korten, J. E. Cooper, R. Day, und A. Bertelsen, 1992, Schizophrenia: manifestations, incidence and course in different cultures. A World Health Organization ten-country study: *Psychol.Med Monogr Suppl*, v. 20, p. 1-97.
- Jacquet, H. et al., 2002, PRODH mutations and hyperprolinemia in a subset of schizophrenic patients: *Hum.Mol.Genet.*, v. 11, no. 19, p. 2243-2249.
- Jansen, A. et al., 2009a, A putative high risk diplotype of the G72 gene is in healthy individuals associated with better performance in working memory functions and altered brain activity in the medial temporal lobe: *Neuroimage*, v. 45, no. 3, p. 1002-1008.
- Jansen, A. et al., 2009b, Effect of the G72 (DAOA) putative risk haplotype on cognitive functions in healthy subjects: *BMC.Psychiatry*, v. 9, p. 60.
- Javitt, D. C., und S. R. Zukin, 1991, Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia: *American Journal of Psychiatry*, v. 148, no. 10, p. 1301-1308.
- Jiang, H., F. Xiong, S. Kong, T. Ogawa, M. Kobayashi, und J. O. Liu, 1997, Distinct tissue and cellular distribution of two major isoforms of calcineurin: *Mol.Immunol.*, v. 34, no. 8-9, p. 663-669.
- Johnson, G. C. et al., 2001, Haplotype tagging for the identification of common disease genes: *Nat.Genet.*, v. 29, no. 2, p. 233-237.
- Jonides, J., E. E. Smith, R. A. Koeppe, E. Awh, S. Minoshima, und M. A. Mintun, 1993, Spatial working memory in humans as revealed by PET: *Nature*, v. 363, no. 6430, p. 623-625.
- Jönsson, E. G. et al., 2009, DTNBP1, NRG1, DAOA, DAO and GRM3 polymorphisms and schizophrenia: an association study: *Neuropsychobiology*, v. 59, no. 3, p. 142-150.

- Kampman, O., S. Anttila, A. Illi, M. Saarela, R. Rontu, K. M. Mattila, E. Leinonen, und T. Lehtimäki, 2004, Neuregulin genotype and medication response in Finnish patients with schizophrenia: *Neuroreport*, v. 15, no. 16, p. 2517-2520.
- Kapoor, R., K. S. Lim, A. Cheng, T. Garrick, und V. Kapoor, 2006, Preliminary evidence for a link between schizophrenia and NMDA-glycine site receptor ligand metabolic enzymes, d-amino acid oxidase (DAAO) and kynurenine aminotransferase-1 (KAT-1): *Brain Res.*, v. 1106, no. 1, p. 205-210.
- Karasawa, J., K. Hashimoto, und S. Chaki, 2008, D-Serine and a glycine transporter inhibitor improve MK-801-induced cognitive deficits in a novel object recognition test in rats: *Behav. Brain Res.*, v. 186, no. 1, p. 78-83.
- Karl, T., L. Duffy, A. Scimone, R. P. Harvey, und P. R. Schofield, 2007, Altered motor activity, exploration and anxiety in heterozygous neuregulin 1 mutant mice: implications for understanding schizophrenia: *Genes Brain Behav.*, v. 6, no. 7, p. 677-687.
- Kaufmann, C. A. et al., 1998, NIMH Genetics Initiative Millennium Schizophrenia Consortium: linkage analysis of African-American pedigrees: *Am J Med. Genet.*, v. 81, no. 4, p. 282-289.
- Kay, S. R., L. A. Opler, und A. Fiszbein, 1986, Significance of positive and negative syndromes in chronic schizophrenia: *Br. J. Psychiatry*, v. 149, p. 439-448.
- Kay, S. R., und S. Sevy, 1990, Pyramidal model of schizophrenia: *Schizophr. Bull.*, v. 16, no. 3, p. 537-545.
- Keefe, R. S., 2000, Working memory dysfunction and its relevance to schizophrenia., in T. Sharma und P. D. Harvey eds., *Cognition in schizophrenia: Impairments, importance, and treatment strategies*: Oxford, England, Oxford University Press, p. 16-50.
- Kendler, K. S., 1985, A twin study of individuals with both schizophrenia and alcoholism: *Br. J. Psychiatry*, v. 147, p. 48-53.
- Kendler, K. S., A. M. Gruenberg, und M. T. Tsuang, 1985, Psychiatric illness in first-degree relatives of schizophrenic and surgical control patients. A family study using DSM-III criteria: *Arch. Gen. Psychiatry*, v. 42, no. 8, p. 770-779.
- Kendler, K. S., L. Karkowski-Shuman, F. A. O'Neill, R. E. Straub, C. J. MacLean, und D. Walsh, 1997, Resemblance of psychotic symptoms and syndromes in affected sibling pairs from the Irish Study of High-Density Schizophrenia Families: evidence for possible etiologic heterogeneity: *American Journal of Psychiatry*, v. 154, no. 2, p. 191-198.
- Kendler, K. S., und C. J. MacLean, 1990, Estimating familial effects on age at onset and liability to schizophrenia. I. Results of a large sample family study: *Genet. Epidemiol.*, v. 7, no. 6, p. 409-417.
- Kendler, K. S. et al., 1996, Evidence for a schizophrenia vulnerability locus on chromosome 8p in the Irish Study of High-Density Schizophrenia Families: *American Journal of Psychiatry*, v. 153, no. 12, p. 1534-1540.
- Kendler, K. S., M. McGuire, A. M. Gruenberg, A. O'Hare, M. Spellman, und D. Walsh, 1993, The Roscommon Family Study. III. Schizophrenia-related personality disorders in relatives: *Arch. Gen. Psychiatry*, v. 50, no. 10, p. 781-788.
- Kendler, K. S., M. T. Tsuang, und P. Hays, 1987, Age at onset in schizophrenia. A familial perspective: *Arch. Gen. Psychiatry*, v. 44, no. 10, p. 881-890.
- Kim, J. S., H. H. Kornhuber, W. Schmid-Burgk, und B. Holzmüller, 1980, Low cerebrospinal fluid glutamate in schizophrenic patients and a new hypothesis on schizophrenia: *Neurosci. Lett.*, v. 20, no. 3, p. 379-382.
- Kim, J. W. et al., 2006, Linkage and association of schizophrenia with genetic variations in the locus of neuregulin 1 in Korean population: *Am J Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.*, v. 141B, no. 3, p. 281-286.
- Kim, W. T., M. F. Kuo, O. P. Mishra, und M. Delivoria-Papadopoulos, 1998, Distribution and expression of the subunits of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors; NR1, NR2A and NR2B in hypoxic newborn piglet brains: *Brain Res.*, v. 799, no. 1, p. 49-54.
- Kincaid, R. L., H. Takayama, M. L. Billingsley, und M. V. Sitkovsky, 1987, Differential expression of calmodulin-binding proteins in B, T lymphocytes and thymocytes: *Nature*, v. 330, no. 6144, p. 176-178.
- Kinoshita, Y., T. Suzuki, M. Ikeda, T. Kitajima, Y. Yamanouchi, T. Inada, H. Yoneda, N. Iwata, und N. Ozaki, 2005a, No association with the calcineurin A gamma subunit gene (PPP3CC) haplotype to Japanese schizophrenia: *J Neural Transm.*, v. 112, no. 9, p. 1255-1262.
- Kinoshita, Y., T. Suzuki, M. Ikeda, T. Kitajima, Y. Yamanouchi, T. Inada, H. Yoneda, N. Iwata, und N. Ozaki, 2005b, No association with the calcineurin A gamma subunit gene (PPP3CC) haplotype to Japanese schizophrenia 1: *J Neural Transm.*, v. 112, no. 9, p. 1255-1262.
- Kirkpatrick, B., R. W. Buchanan, P. D. McKenney, L. D. Alphs, und W. T. Carpenter, Jr., 1989, The Schedule for the Deficit syndrome: an instrument for research in schizophrenia: *Psychiatry Res.*, v. 30, no. 2, p. 119-123.
- Konick, L. C., und L. Friedman, 2001, Meta-analysis of thalamic size in schizophrenia: *Biol. Psychiatry*, v. 49, no. 1, p. 28-38.
- Konradi, C., und S. Heckers, 2003, Molecular aspects of glutamate dysregulation: implications for schizophrenia and its treatment: *Pharmacol. Ther.*, v. 97, no. 2, p. 153-179.
- Korostishevsky, M. et al., 2004, Is the G72/G30 locus associated with schizophrenia? single nucleotide polymorphisms, haplotypes, and gene expression analysis: *Biol. Psychiatry*, v. 56, no. 3, p. 169-176.
- Korostishevsky, M. et al., 2006, Transmission disequilibrium and haplotype analyses of the G72/G30 locus: suggestive linkage to schizophrenia in Palestinian Arabs living in the North of Israel: *Am J Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.*, v. 141B, no. 1, p. 91-95.
- Kozlovsky, N., E. Scarr, B. Dean, und G. Agam, 2006, Postmortem brain calcineurin protein levels in schizophrenia patients are not different from controls: *Schizophr. Res.*, v. 83, no. 2-3, p. 173-177.
- Kraepelin, E., 1896, *Psychiatrie - Ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte*: Leipzig, Barth.

- Krieger, S., S. Lis, H. Janik, T. Cetin, B. Gallhofer, und A. Meyer-Lindenberg, 2005, Executive function and cognitive subprocesses in first-episode, drug-naive schizophrenia: an analysis of N-back performance: *American Journal of Psychiatry*, v. 162, no. 6, p. 1206-1208.
- Krug, A. et al., 2010, Genetic variation in G72 correlates with brain activation in the right middle temporal gyrus in a verbal fluency task in healthy individuals: *Hum.Brain Mapp*.
- Krystal, J. H., A. Bennett, D. Abi-Saab, A. Belger, L. P. Karper, D. C. D'Souza, D. Lipschitz, A. Abi-Dargham, und D. S. Charney, 2000, Dissociation of ketamine effects on rule acquisition and rule implementation: possible relevance to NMDA receptor contributions to executive cognitive functions: *Biol.Psychiatry*, v. 47, no. 2, p. 137-143.
- Krystal, J. H., L. P. Karper, J. P. Seibyl, G. K. Freeman, R. Delaney, J. D. Bremner, G. R. Heninger, M. B. Bowers, Jr., und D. S. Charney, 1994, Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses: *Arch.Gen.Psychiatry*, v. 51, no. 3, p. 199-214.
- Kurtz, M. M., B. E. Wexler, und M. D. Bell, 2004, The Penn Conditional Exclusion Test (PCET): relationship to the Wisconsin Card Sorting Test and work function in patients with schizophrenia: *Schizophr.Res.*, v. 68, no. 1, p. 95-102.
- Kvajo, M., A. Dhillia, D. E. Swor, M. Karayiorgou, und J. A. Gogos, 2008, Evidence implicating the candidate schizophrenia/bipolar disorder susceptibility gene G72 in mitochondrial function: *Mol.Psychiatry*, v. 13, no. 7, p. 685-696.
- Lachman, H. M., B. Morrow, R. Shprintzen, S. Veit, S. S. Parsia, G. Faedda, R. Goldberg, R. Kucherlapati, und D. F. Papolos, 1996, Association of codon 108/158 catechol-O-methyltransferase gene polymorphism with the psychiatric manifestations of velo-cardio-facial syndrome: *Am J Med Genet.*, v. 67, no. 5, p. 468-472.
- Lachman, H. M., E. Pedrosa, K. A. Nolan, M. Glass, K. Ye, und T. Saito, 2006, Analysis of polymorphisms in AT-rich domains of neuregulin 1 gene in schizophrenia: *Am J Med Genet.B Neuropsychiatr.Genet.*, v. 141, no. 1, p. 102-109.
- Lancon, C., P. Auquier, G. Nayt, und G. Reine, 2000, Stability of the five-factor structure of the Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS): *Schizophr.Res.*, v. 42, no. 3, p. 231-239.
- Lander, E., und L. Kruglyak, 1995, Genetic dissection of complex traits: guidelines for interpreting and reporting linkage results: *Nat.Genet.*, v. 11, no. 3, p. 241-247.
- Lannfelt, L., P. Sokoloff, M. P. Martres, C. Pilon, B. Giros, E. J+Ånsson, G. Sedvall, und J. C. Schwartz, 1992, Amino acid substitution in the dopamine D3 receptor as a useful polymorphism for investigating psychiatric disorders: *Psychiatric Genetics*, v. 2, no. 4.
- Law, A. J., B. K. Lipska, C. S. Weickert, T. M. Hyde, R. E. Straub, R. Hashimoto, P. J. Harrison, J. E. Kleinman, und D. R. Weinberger, 2006, Neuregulin 1 transcripts are differentially expressed in schizophrenia and regulated by 5' SNPs associated with the disease: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, v. 103, no. 17, p. 6747-6752.
- Law, A. J., W. C. Shannon, T. M. Hyde, J. E. Kleinman, und P. J. Harrison, 2004, Neuregulin-1 (NRG-1) mRNA and protein in the adult human brain: *Neuroscience*, v. 127, no. 1, p. 125-136.
- Lewis, C. M. et al., 2003, Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia: *Am J Hum.Genet.*, v. 73, no. 1, p. 34-48.
- Lewis, D. A., 2002, In pursuit of the pathogenesis and pathophysiology of schizophrenia: where do we stand?: *Am.J.Psychiatry*, v. 159, no. 9, p. 1467-1469.
- Lewis, R., 2004, Should cognitive deficit be a diagnostic criterion for schizophrenia?: *J.Psychiatry Neurosci.*, v. 29, no. 2, p. 102-113.
- Li, D., D. A. Collier, und L. He, 2006, Meta-analysis shows strong positive association of the neuregulin 1 (NRG1) gene with schizophrenia: *Hum.Mol.Genet.*, v. 15, no. 12, p. 1995-2002.
- Li, D., und L. He, 2007, G72/G30 genes and schizophrenia: a systematic meta-analysis of association studies: *Genetics*, v. 175, no. 2, p. 917-922.
- Li, T., P. C. Sham, H. Vallada, T. Xie, X. Tang, R. M. Murray, X. Liu, und D. A. Collier, 1996, Preferential transmission of the high activity allele of COMT in schizophrenia: *Psychiatr.Genet.*, v. 6, no. 3, p. 131-133.
- Li, T. et al., 2004, Identification of a novel neuregulin 1 at-risk haplotype in Han schizophrenia Chinese patients, but no association with the Icelandic/Scottish risk haplotype: *Mol.Psychiatry*, v. 9, no. 7, p. 698-704.
- Lieberman, D. N., und I. Mody, 1994, Regulation of NMDA channel function by endogenous Ca(2+)-dependent phosphatase: *Nature*, v. 369, no. 6477, p. 235-239.
- Lin, M. W. et al., 1995, Suggestive evidence for linkage of schizophrenia to markers on chromosome 13q14.1-q32: *Psychiatr.Genet.*, v. 5, no. 3, p. 117-126.
- Lin, M. W., P. Sham, H. G. Hwu, D. Collier, R. Murray, und J. F. Powell, 1997, Suggestive evidence for linkage of schizophrenia to markers on chromosome 13 in Caucasian but not Oriental populations: *Hum.Genet.*, v. 99, no. 3, p. 417-420.
- Lindenmayer, J. P., R. Bernstein-Hyman, S. Grochowski, und N. Bark, 1995, Psychopathology of Schizophrenia: initial validation of a 5-factor model: *Psychopathology*, v. 28, no. 1, p. 22-31.
- Liu, H. et al., 2002, Genetic variation at the 22q11 PRODH2/DGCR6 locus presents an unusual pattern and increases susceptibility to schizophrenia: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, v. 99, no. 6, p. 3717-3722.
- Liu, X. et al., 2004, Association of DAAO with schizophrenia in the Chinese population: *Neurosci.Lett.*, v. 369, no. 3, p. 228-233.
- Liu, Y. L. et al., 2006, No association of G72 and D-amino acid oxidase genes with schizophrenia: *Schizophr.Res.*, v. 87, no. 1-3, p. 15-20.

- Liu, Y. L. et al., 2007, More evidence supports the association of PPP3CC with schizophrenia: *Mol.Psychiatry*, v. 12, no. 10, p. 966-974.
- Ma, J. et al., 2006, Further evidence for the association between G72/G30 genes and schizophrenia in two ethnically distinct populations: *Mol.Psychiatry*.
- Madeira, C., M. E. Freitas, C. Vargas-Lopes, H. Wolosker, und R. Panizzutti, 2008, Increased brain D-amino acid oxidase (DAAO) activity in schizophrenia: *Schizophr.Res.*, v. 101, no. 1-3, p. 76-83.
- Maier, W., D. Lichtermann, J. Minges, und R. Heun, 1994, Personality disorders among the relatives of schizophrenia patients: *Schizophr.Bull.*, v. 20, no. 3, p. 481-493.
- Maier, W., D. Lichtermann, M. Rietschel, T. Held, P. Falkai, M. Wagner, und S. Schwab, 1999, Genetics of schizophrenic disorders. New concepts and findings: *Nervenarzt*, v. 70, no. 11, p. 955-969.
- Manalan, A. S., M. H. Krinks, und C. B. Klee, 1984, Calcineurin: a member of a family of calmodulin-stimulated protein phosphatases: *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.*, v. 177, no. 1, p. 12-16.
- Manoach, D. S., 2003, Prefrontal cortex dysfunction during working memory performance in schizophrenia: reconciling discrepant findings: *Schizophr.Res.*, v. 60, no. 2-3, p. 285-298.
- Marchionni, M. A. et al., 1993, Glial growth factors are alternatively spliced erbB2 ligands expressed in the nervous system: *Nature*, v. 362, no. 6418, p. 312-318.
- Marti, S. B., S. Cichon, P. Propping, und M. Nothen, 2002, Metabotropic glutamate receptor 3 (GRM3) gene variation is not associated with schizophrenia or bipolar affective disorder in the German population: *Am J Med Genet.*, v. 114, no. 1, p. 46-50.
- McGrath, J., S. Saha, J. Welham, O. El Saadi, C. MacCauley, und D. Chant, 2004, A systematic review of the incidence of schizophrenia: the distribution of rates and the influence of sex, urbanicity, migrant status and methodology: *BMC.Med.*, v. 2, no. 1, p. 13.
- McGrath, J. J., und R. M. Murray, 2003, Risk factors for schizophrenia: from conception to birth, in SR Hirsch und DR Weinberger eds., *Schizophrenia*: Oxford, Blackwell Science, p. 232-250.
- McGue, M., und I. I. Gottesman, 1989a, A single dominant gene still cannot account for the transmission of schizophrenia: *Arch.Gen.Psychiatry*, v. 46, no. 5, p. 478-480.
- McGue, M., und I. I. Gottesman, 1989b, Genetic linkage in schizophrenia: perspectives from genetic epidemiology: *Schizophr.Bull.*, v. 15, no. 3, p. 453-464.
- Meltzer, H. Y., und T. Sumiyoshi, 2008, Does stimulation of 5-HT(1A) receptors improve cognition in schizophrenia?: *Behav.Brain Res.*, v. 195, no. 1, p. 98-102.
- Merikangas, K. R., und N. Risch, 2003, Will the genomics revolution revolutionize psychiatry?: *American Journal of Psychiatry*, v. 160, no. 4, p. 625-635.
- Meyer, D., T. Yamaai, A. Garratt, E. Riethmacher-Sonnenberg, D. Kane, L. E. Theill, und C. Birchmeier, 1997, Isoform-specific expression and function of neuregulin: *Development*, v. 124, no. 18, p. 3575-3586.
- Millar, J. K. et al., 2000, Disruption of two novel genes by a translocation co-segregating with schizophrenia: *Hum.Mol.Genet.*, v. 9, no. 9, p. 1415-1423.
- Mirnics, K., F. A. Middleton, D. A. Lewis, und P. Levitt, 2001, Analysis of complex brain disorders with gene expression microarrays: schizophrenia as a disease of the synapse: *Trends Neurosci*, v. 24, no. 8, p. 479-486.
- Miyakawa, T., L. M. Leiter, D. J. Gerber, R. R. Gainetdinov, T. D. Sotnikova, H. Zeng, M. G. Caron, und S. Tonegawa, 2003, Conditional calcineurin knockout mice exhibit multiple abnormal behaviors related to schizophrenia: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, v. 100, no. 15, p. 8987-8992.
- Moghaddam, B., 2003, Bringing order to the glutamate chaos in schizophrenia: *Neuron*, v. 40, no. 5, p. 881-884.
- Moghaddam, B., und B. W. Adams, 1998, Reversal of phencyclidine effects by a group II metabotropic glutamate receptor agonist in rats: *Science*, v. 281, no. 5381, p. 1349-1352.
- Möller, H.-J., G. Laux, und A. Deister, 2009, *Psychiatrie und Psychotherapie*. 4., überarbeitete Auflage Stuttgart, Thieme.
- Moore, J. H., und S. M. Williams, 2002, New strategies for identifying gene-gene interactions in hypertension: *Ann.Med.*, v. 34, no. 2, p. 88-95.
- Mortensen, P. B., C. B. Pedersen, T. Westergaard, J. Wohlfahrt, H. Ewald, O. Mors, P. K. Andersen, und M. Melbye, 1999, Effects of family history and place and season of birth on the risk of schizophrenia: *N.Engl.J Med*, v. 340, no. 8, p. 603-608.
- Mothet, J. P., A. T. Parent, H. Wolosker, R. O. Brady, Jr., D. J. Linden, C. D. Ferris, M. A. Rogawski, und S. H. Snyder, 2000, D-serine is an endogenous ligand for the glycine site of the N-methyl-D-aspartate receptor: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, v. 97, no. 9, p. 4926-4931.
- Mukai, J., H. Liu, R. A. Burt, D. E. Swor, W. S. Lai, M. Karayiorgou, und J. A. Gogos, 2004, Evidence that the gene encoding ZDHHC8 contributes to the risk of schizophrenia: *Nat.Genet.*, v. 36, no. 7, p. 725-731.
- Mulle, J. G., K. V. Chowdari, V. Nimgaonkar, und A. Chakravarti, 2005a, No evidence for association to the G72/G30 locus in an independent sample of schizophrenia families: *Mol.Psychiatry*, v. 10, no. 5, p. 431-433.
- Mulle, J. G., J. A. McDonough, K. V. Chowdari, V. Nimgaonkar, und A. Chakravarti, 2005b, Evidence for linkage to chromosome 13q32 in an independent sample of schizophrenia families: *Mol.Psychiatry*, v. 10, no. 5, p. 429-431.
- Müller, B., 2008, Exekutivfunktionen - Psychologie, in T Kircher und S Gauggel eds., *Neuropsychologie der Schizophrenie, Symptome, Kognition, Gehirn*: Berlin, Heidelberg, Springer, Springer eBook Collection
- Munafo, M. R., A. S. Attwood, und J. Flint, 2008, Neuregulin 1 genotype and schizophrenia: *Schizophr.Bull.*, v. 34, no. 1, p. 9-12.
- Munafo, M. R., D. L. Thiselton, T. G. Clark, und J. Flint, 2006, Association of the NRG1 gene and schizophrenia: a meta-analysis: *Mol.Psychiatry*, v. 11, no. 6, p. 539-546.

- Murata, M., M. Tsunoda, T. Sumiyoshi, C. Sumiyoshi, T. Matsuoka, M. Suzuki, M. Ito, und M. Kurachi, 2008, Calcineurin A gamma and B gene expressions in the whole blood in Japanese patients with schizophrenia: *Prog.Neuropsychopharmacol.Biol.Psychiatry*, v. 32, no. 4, p. 1000-1004.
- Nelson, M. D., A. J. Saykin, L. A. Flashman, und H. J. Riordan, 1998, Hippocampal volume reduction in schizophrenia as assessed by magnetic resonance imaging: a meta-analytic study: *Arch.Gen.Psychiatry*, v. 55, no. 5, p. 433-440.
- Nicodemus, K. K., B. S. Kolachana, R. Vakkalanka, R. E. Straub, I. Giegling, M. F. Egan, D. Rujescu, und D. R. Weinberger, 2007, Evidence for statistical epistasis between catechol-O-methyltransferase (COMT) and polymorphisms in RGS4, G72 (DAOA), GRM3, and DISC1: influence on risk of schizophrenia: *Hum.Genet.*, v. 120, no. 6, p. 889-906.
- Nilsson, M., A. Carlsson, und M. L. Carlsson, 1997, Glycine and D-serine decrease MK-801-induced hyperactivity in mice: *J Neural Transm.*, v. 104, no. 11-12, p. 1195-1205.
- O'Tuathaigh, C. M., D. Babovic, G. J. O'Sullivan, J. J. Clifford, O. Tighe, D. T. Croke, R. Harvey, und J. L. Waddington, 2007, Phenotypic characterization of spatial cognition and social behavior in mice with 'knockout' of the schizophrenia risk gene neuregulin 1: *Neuroscience*, v. 147, no. 1, p. 18-27.
- Oh, K. et al., 2009, Association study of the G72 gene with schizophrenia in a Japanese population: a multicenter study: *Schizophr.Res.*, v. 109, no. 1-3, p. 80-85.
- Ohnuma, T. et al., 2010, No association between DAO and schizophrenia in a Japanese patient population: a multicenter replication study: *Schizophr.Res.*, v. 118, no. 1-3, p. 300-302.
- Ohnuma, T., N. Shibata, H. Maeshima, H. Baba, T. Hatano, R. Hanzawa, und H. Arai, 2009, Association analysis of glycine- and serine-related genes in a Japanese population of patients with schizophrenia: *Prog.Neuropsychopharmacol.Biol.Psychiatry*, v. 33, no. 3, p. 511-518.
- Olbrich, H. M., G. Valerius, N. Rusch, M. Buchert, T. Thiel, J. Hennig, D. Ebert, und L. T. Van Elst, 2008, Frontolimbic glutamate alterations in first episode schizophrenia: evidence from a magnetic resonance spectroscopy study: *World J Biol.Psychiatry*, v. 9, no. 1, p. 59-63.
- Oram, J., G. M. Geffen, L. B. Geffen, D. J. Kavanagh, und J. J. McGrath, 2005, Executive control of working memory in schizophrenia: *Psychiatry Res.*, v. 135, no. 2, p. 81-90.
- Otte, D. M. et al., 2009, Behavioral changes in G72/G30 transgenic mice: *Eur.Neuropsychopharmacol.*, v. 19, no. 5, p. 339-348.
- Owen, M. J., N. M. Williams, und M. C. O'Donovan, 2004, The molecular genetics of schizophrenia: new findings promise new insights: *Mol.Psychiatry*, v. 9, no. 1, p. 14-27.
- Park, S., und P. S. Holzman, 1992, Schizophrenics show spatial working memory deficits: *Arch.Gen.Psychiatry*, v. 49, no. 12, p. 975-982.
- Park, S., P. S. Holzman, und P. S. Goldman-Rakic, 1995, Spatial working memory deficits in the relatives of schizophrenic patients: *Arch.Gen.Psychiatry*, v. 52, no. 10, p. 821-828.
- Parnas, J., F. Schulsinger, H. Schulsinger, S. A. Mednick, und T. W. Teasdale, 1982, Behavioral precursors of schizophrenia spectrum. A prospective study: *Arch.Gen.Psychiatry*, v. 39, no. 6, p. 658-664.
- Paulesu, E., C. D. Frith, und R. S. Frackowiak, 1993, The neural correlates of the verbal component of working memory: *Nature*, v. 362, no. 6418, p. 342-345.
- Paunio, T. et al., 2001, Genome-wide scan in a nationwide study sample of schizophrenia families in Finland reveals susceptibility loci on chromosomes 2q and 5q: *Hum.Mol.Genet.*, v. 10, no. 26, p. 3037-3048.
- Peles, E., S. S. Bacus, R. A. Koski, H. S. Lu, D. Wen, S. G. Ogden, R. B. Levy, und Y. Yarden, 1992, Isolation of the neu/HER-2 stimulatory ligand: a 44 kd glycoprotein that induces differentiation of mammary tumor cells: *Cell*, v. 69, no. 1, p. 205-216.
- Perry, W., R. K. Heaton, E. Potterat, T. Roebuck, A. Minassian, und D. L. Braff, 2001, Working memory in schizophrenia: transient "online" storage versus executive functioning: *Schizophr.Bull.*, v. 27, no. 1, p. 157-176.
- Petryshen, T. L. et al., 2005, Support for involvement of neuregulin 1 in schizophrenia pathophysiology: *Mol.Psychiatry*, v. 10, no. 4, p. 366-74, 328.
- Pinkas-Kramarski, R., R. Eilam, O. Spiegler, S. Lavi, N. Liu, D. Chang, D. Wen, M. Schwartz, und Y. Yarden, 1994, Brain neurons and glial cells express Neu differentiation factor/hergulin: a survival factor for astrocytes: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, v. 91, no. 20, p. 9387-9391.
- Prata, D., G. Breen, S. Osborne, J. Munro, C. D. St, und D. Collier, 2008, Association of DAO and G72(DAOA)/G30 genes with bipolar affective disorder: *Am J Med.Genet.B Neuropsychiatr.Genet.*, v. 147B, no. 6, p. 914-917.
- Pukrop, R., E. Matuschek, S. Ruhrmann, A. Brockhaus-Dumke, I. Tendolkar, A. Bertsch, und J. Klosterkötter, 2003, Dimensions of working memory dysfunction in schizophrenia: *Schizophr.Res.*, v. 62, no. 3, p. 259-268.
- Pulver, A. E. et al., 1994a, Sequential strategy to identify a susceptibility gene for schizophrenia: report of potential linkage on chromosome 22q12-q13.1: Part 1: *Am.J.Med.Genet.*, v. 54, no. 1, p. 36-43.
- Pulver, A. E. et al., 1995, Schizophrenia: a genome scan targets chromosomes 3p and 8p as potential sites of susceptibility genes: *Am.J.Med.Genet.*, v. 60, no. 3, p. 252-260.
- Pulver, A. E., und K. Y. Liang, 1991, Estimating effects of proband characteristics on familial risk: II. The association between age at onset and familial risk in the Maryland schizophrenia sample: *Genet.Epidemiol.*, v. 8, no. 5, p. 339-350.
- Pulver, A. E. et al., 1994b, Psychotic illness in patients diagnosed with velo-cardio-facial syndrome and their relatives: *J Nerv.Ment.Dis.*, v. 182, no. 8, p. 476-478.

- Pulver, A. E. et al., 1996, The Johns Hopkins University Collaborative Schizophrenia Study: an epidemiologic-genetic approach to test the heterogeneity hypothesis and identify schizophrenia susceptibility genes: *Cold Spring Harb.Symp.Quant.Biol.*, v. 61, p. 797-814.
- Reitan, R. M., 1958, Validity of Trail Making Test as an indication of organic brain damage: *Precept Motor Skills*, v. 8, p. 271-276.
- Rietschel, M. et al., 2008, G72 and its association with major depression and neuroticism in large population-based groups from Germany: *American Journal of Psychiatry*, v. 165, no. 6, p. 753-762.
- Riley, B. P., P. J. Asherson, und P. McGuffin, 2003, Genetics and schizophrenia, in Hirsch SR und Weinberger DR eds., *Schizophrenia*: Oxford, Blackwell Science, p. 251-276.
- Rio, C., H. I. Rieff, P. Qi, T. S. Khurana, und G. Corfas, 1997, Neuregulin and erbB receptors play a critical role in neuronal migration: *Neuron*, v. 19, no. 1, p. 39-50.
- Ritchie, M. D., L. W. Hahn, und J. H. Moore, 2003, Power of multifactor dimensionality reduction for detecting gene-gene interactions in the presence of genotyping error, missing data, phenocopy, and genetic heterogeneity: *Genet.Epidemiol.*, v. 24, no. 2, p. 150-157.
- Roberts, S. B., C. J. MacLean, M. C. Neale, L. J. Eaves, und K. S. Kendler, 1999, Replication of linkage studies of complex traits: an examination of variation in location estimates: *Am.J.Hum.Genet.*, v. 65, no. 3, p. 876-884.
- Rosa, A., M. Gardner, M. J. Cuesta, V. Peralta, M. Fatjo-Vilas, S. Miret, M. E. Navarro, D. Comas, und L. Fananas, 2007, Family-based association study of neuregulin-1 gene and psychosis in a Spanish sample: *Am J Med.Genet.B Neuropsychiatr.Genet.*, v. 144B, no. 7, p. 954-957.
- Rosenthal, D., P. H. Wender, S. S. Kety, J. Welner, und F. Schulsinger, 1971, The adopted-away offspring of schizophrenics: *American Journal of Psychiatry*, v. 128, no. 3, p. 307-311.
- Rossell, S. L., und A. S. David, 2006, Are semantic deficits in schizophrenia due to problems with access or storage?: *Schizophr.Res.*, v. 82, no. 2-3, p. 121-134.
- Rossi, A., R. Pollice, P. Stratta, L. Arduini, M. G. Marinangeli, und E. Daneluzzo, 2002, Wisconsin Card-Sorting Test performance does not discriminate different patterns of premorbid behavioral abnormalities in schizophrenic patients: *Psychiatry Clin.Neurosci.*, v. 56, no. 4, p. 403-407.
- Rund, B. R., 1998, A review of longitudinal studies of cognitive functions in schizophrenia patients: *Schizophr.Bull.*, v. 24, no. 3, p. 425-435.
- Salmon, E., M. Van der Linden, F. Collette, G. Delfiore, P. Maquet, C. Degueldre, A. Luxen, und G. Franck, 1996, Regional brain activity during working memory tasks: *Brain*, v. 119 ( Pt 5), p. 1617-1625.
- Sanders, A. R. et al., 2008, No significant association of 14 candidate genes with schizophrenia in a large European ancestry sample: implications for psychiatric genetics: *American Journal of Psychiatry*, v. 165, no. 4, p. 497-506.
- Saß,H, H-U Wittchen, M Zaudig. Diagnostisches und Statistisches Manual Psychischer Störungen. Deutsche Bearbeitung. 1996. Göttingen, Hogrefe.
- Ref Type: Catalog
- Scambler, P. J. et al., 1992, Velo-cardio-facial syndrome associated with chromosome 22 deletions encompassing the DiGeorge locus: *Lancet*, v. 339, no. 8802, p. 1138-1139.
- Schaid, D. J., C. M. Rowland, D. E. Tines, R. M. Jacobson, und G. A. Poland, 2002, Score tests for association between traits and haplotypes when linkage phase is ambiguous: *Am J Hum.Genet.*, v. 70, no. 2, p. 425-434.
- Schizophrenia Linkage Collaborative Group, 1996, Additional support for schizophrenia linkage on chromosomes 6 and 8: a multicenter study. Schizophrenia Linkage Collaborative Group for Chromosomes 3, 6 and 8: *Am J Med.Genet.*, v. 67, no. 6, p. 580-594.
- Schneider, K., 1938, 25 Jahre "Allgemeine Psychopathologie" von K. Jaspers: *Nervenarzt*, v. 11, p. 281-283.
- Schneider, K., 1946, *Klinische Psychopathologie*: Stuttgart, Thieme.
- Schumacher, J. et al., 2004, Examination of G72 and D-amino-acid oxidase as genetic risk factors for schizophrenia and bipolar affective disorder: *Molecular Psychiatry*, v. 9, p. 203-207.
- Schürhoff, F., J. L. Golmard, A. Szoke, F. Bellivier, A. Berthier, A. Meary, F. Rouillon, und M. Leboyer, 2004, Admixture analysis of age at onset in schizophrenia: *Schizophr.Res.*, v. 71, no. 1, p. 35-41.
- Schwab, S. G. et al., 1998, Support for a chromosome 18p locus conferring susceptibility to functional psychoses in families with schizophrenia, by association and linkage analysis: *Am.J.Hum.Genet.*, v. 63, no. 4, p. 1139-1152.
- Schwab, S. G. et al., 1995, Potential linkage for schizophrenia on chromosome 22q12-q13: a replication study: *Am.J.Med.Genet.*, v. 60, no. 5, p. 436-443.
- Sham, P. C., P. Jones, A. Russell, K. Gilvarry, P. Bebbington, S. Lewis, B. Toone, und R. Murray, 1994, Age at onset, sex, and familial psychiatric morbidity in schizophrenia. Camberwell Collaborative Psychosis Study: *Br.J Psychiatry*, v. 165, no. 4, p. 466-473.
- Shaw, S. H. et al., 1998, A genome-wide search for schizophrenia susceptibility genes: *Am J Med.Genet.*, v. 81, no. 5, p. 364-376.
- Sherrington, R., J. Brynjolfsson, H. Petursson, M. Potter, K. Dudleston, B. Barraclough, J. Wasmuth, M. Dobbs, und H. Gurling, 1988, Localization of a susceptibility locus for schizophrenia on chromosome 5: *Nature*, v. 336, no. 6195, p. 164-167.
- Shi, J., J. A. Badner, E. S. Gershon, L. Chunyu, V. L. Willour, und J. B. Potash, 2009, Further evidence for an association of G72/G30 with schizophrenia in Chinese: *Schizophr.Res.*, v. 107, no. 2-3, p. 324-326.
- Shi, J., J. A. Badner, E. S. Gershon, und C. Liu, 2008a, Allelic association of G72/G30 with schizophrenia and bipolar disorder: a comprehensive meta-analysis: *Schizophr.Res.*, v. 98, no. 1-3, p. 89-97.
- Shi, J., E. S. Gershon, und C. Liu, 2008b, Genetic associations with schizophrenia: meta-analyses of 12 candidate genes: *Schizophr.Res.*, v. 104, no. 1-3, p. 96-107.

- Shin, H. D. et al., 2007, Association analysis of G72/G30 polymorphisms with schizophrenia in the Korean population: *Schizophr.Res.*, v. 96, no. 1-3, p. 119-124.
- Shinkai, T. et al., 2007, Association analyses of the DAOA/G30 and D-amino-acid oxidase genes in schizophrenia: further evidence for a role in schizophrenia: *Neuromolecular.Med.*, v. 9, no. 2, p. 169-177.
- Smith, E. E., und J. Jonides, 1999, Storage and executive processes in the frontal lobes: *Science*, v. 283, no. 5408, p. 1657-1661.
- Smith, E. E., J. Jonides, und R. A. Koeppe, 1996, Dissociating verbal and spatial working memory using PET: *Cereb.Cortex*, v. 6, no. 1, p. 11-20.
- Spielman, R. S., R. E. McGinnis, und W. J. Ewens, 1993, Transmission test for linkage disequilibrium: the insulin gene region and insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM): *Am J Hum.Genet.*, v. 52, no. 3, p. 506-516.
- Stefani, M. R., und B. Moghaddam, 2005, Transient N-methyl-D-aspartate receptor blockade in early development causes lasting cognitive deficits relevant to schizophrenia: *Biol.Psychiatry*, v. 57, no. 4, p. 433-436.
- Stefansson, H. et al., 2003, Association of neuregulin 1 with schizophrenia confirmed in a Scottish population: *Am J Hum.Genet.*, v. 72, no. 1, p. 83-87.
- Stefansson, H. et al., 2002, Neuregulin 1 and susceptibility to schizophrenia: *Am J Hum.Genet.*, v. 71, no. 4, p. 877-892.
- Steinthorsdottir, V., H. Stefansson, S. Ghosh, B. Birgisdottir, S. Bjornsdottir, A. C. Fasquel, O. Olafsson, K. Stefansson, und J. R. Gulcher, 2004, Multiple novel transcription initiation sites for NRG1: *Gene*, v. 342, no. 1, p. 97-105.
- Strack, S., B. E. Wadzinski, und F. F. Ebner, 1996, Localization of the calcium/calmodulin-dependent protein phosphatase, calcineurin, in the hindbrain and spinal cord of the rat: *J Comp Neurol.*, v. 375, no. 1, p. 66-76.
- Stratta, P., L. Arduini, E. Daneluzzo, O. Rinaldi, G. A. di, und A. Rossi, 2004, Relationship of good and poor Wisconsin Card Sorting Test performance to illness duration in schizophrenia: a cross-sectional analysis: *Psychiatry Res.*, v. 121, no. 3, p. 219-227.
- Straub, R. E. et al., 2002a, Genetic variation in the 6p22.3 gene DTNBP1, the human ortholog of the mouse dysbindin gene, is associated with schizophrenia: *Am J Hum.Genet.*, v. 71, no. 2, p. 337-348.
- Straub, R. E. et al., 2002b, Genome-wide scans of three independent sets of 90 Irish multiplex schizophrenia families and follow-up of selected regions in all families provides evidence for multiple susceptibility genes: *Mol.Psychiatry*, v. 7, no. 6, p. 542-559.
- Straub, R. E. et al., 1998, A schizophrenia locus may be located in region 10p15-p11: *Am.J.Med.Genet.*, v. 81, no. 4, p. 296-301.
- Straub, R. E. et al., 1995, A potential vulnerability locus for schizophrenia on chromosome 6p24-22: evidence for genetic heterogeneity: *Nat.Genet.*, v. 11, no. 3, p. 287-293.
- Sullivan, P. F., 2005, The genetics of schizophrenia: *PLoS.Med.*, v. 2, no. 7, p. e212.
- Sullivan, P. F., K. S. Kendler, und M. C. Neale, 2003, Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies: *Arch.Gen.Psychiatry*, v. 60, no. 12, p. 1187-1192.
- Suvisaari, J. M., J. Haukka, A. Tanskanen, und J. K. Lonnqvist, 1998, Age at onset and outcome in schizophrenia are related to the degree of familial loading: *Br.J Psychiatry*, v. 173, p. 494-500.
- Tabor, H. K., N. J. Risch, und R. M. Myers, 2002, Opinion: Candidate-gene approaches for studying complex genetic traits: practical considerations: *Nat.Rev.Genet.*, v. 3, no. 5, p. 391-397.
- Takeuchi, Y., und K. Fukunaga, 2004, Different activation of NF-kappaB by stimulation of dopamine D2L and D2S receptors through calcineurin activation: *J Neurochem.*, v. 90, no. 1, p. 155-163.
- Tang, J. X., W. Y. Chen, G. He, J. Zhou, N. F. Gu, G. Y. Feng, und L. He, 2004, Polymorphisms within 5' end of the Neuregulin 1 gene are genetically associated with schizophrenia in the Chinese population: *Mol.Psychiatry*, v. 9, no. 1, p. 11-12.
- Tanii, Y., T. Nishikawa, A. Hashimoto, und K. Takahashi, 1994, Stereoselective antagonism by enantiomers of alanine and serine of phencyclidine-induced hyperactivity, stereotypy and ataxia in the rat: *J Pharmacol.Exp.Ther.*, v. 269, no. 3, p. 1040-1048.
- Thaminy, S., D. Auerbach, A. Arnoldo, und I. Stagljär, 2003, Identification of novel ErbB3-interacting factors using the split-ubiquitin membrane yeast two-hybrid system: *Genome Res.*, v. 13, no. 7, p. 1744-1753.
- Theberge, J. et al., 2002, Glutamate and glutamine measured with 4.0 T proton MRS in never-treated patients with schizophrenia and healthy volunteers: *American Journal of Psychiatry*, v. 159, no. 11, p. 1944-1946.
- Thiselton, D. L., B. T. Webb, B. M. Neale, R. C. Ribble, F. A. O'Neill, D. Walsh, B. P. Riley, und K. S. Kendler, 2004, No evidence for linkage or association of neuregulin-1 (NRG1) with disease in the Irish study of high-density schizophrenia families (ISHDSF): *Mol.Psychiatry*, v. 9, no. 8, p. 777-783.
- Thome, J., und P. Riederer, 2005, Grundlagen der Neurotransmission als Grundlage psychiatrischer Erkrankungen, in H.-J.Möller, G.Laux, und H.P.Kapfhammer eds., *Psychiatrie und Psychotherapie: Nachdruck Heidelberg, Springer*.
- Thomson, P. A., A. Christoforou, S. W. Morris, E. Adie, B. S. Pickard, D. J. Porteous, W. J. Muir, D. H. Blackwood, und K. L. Evans, 2007, Association of Neuregulin 1 with schizophrenia and bipolar disorder in a second cohort from the Scottish population: *Mol.Psychiatry*, v. 12, no. 1, p. 94-104.
- Tienari, P., 1991, Interaction between genetic vulnerability and family environment: the Finnish adoptive family study of schizophrenia: *Acta Psychiatr.Scand.*, v. 84, no. 5, p. 460-465.
- Tong, G., D. Shepherd, und C. E. Jahr, 1995, Synaptic desensitization of NMDA receptors by calcineurin: *Science*, v. 267, no. 5203, p. 1510-1512.

- Tsai, G., P. Yang, L. C. Chung, N. Lange, und J. T. Coyle, 1998, D-serine added to antipsychotics for the treatment of schizophrenia: *Biol.Psychiatry*, v. 44, no. 11, p. 1081-1089.
- Tsukada, H., S. Nishiyama, D. Fukumoto, K. Sato, T. Kakiuchi, und E. F. Domino, 2005, Chronic NMDA antagonism impairs working memory, decreases extracellular dopamine, and increases D1 receptor binding in prefrontal cortex of conscious monkeys: *Neuropsychopharmacology*, v. 30, no. 10, p. 1861-1869.
- Tuominen, H. J., J. Tiihonen, und K. Wahlbeck, 2005, Glutamatergic drugs for schizophrenia: a systematic review and meta-analysis: *Schizophr.Res.*, v. 72, no. 2-3, p. 225-234.
- Van Elst, L. T., G. Valerius, M. Buchert, T. Thiel, N. Rusch, E. Bubl, J. Hennig, D. Ebert, und H. M. Olbrich, 2005, Increased prefrontal and hippocampal glutamate concentration in schizophrenia: evidence from a magnetic resonance spectroscopy study: *Biol.Psychiatry*, v. 58, no. 9, p. 724-730.
- van Os, J., M. Marcelis, P. Sham, P. Jones, K. Gilvarry, und R. Murray, 1997, Psychopathological syndromes and familial morbid risk of psychosis: *Br.J.Psychiatry*, v. 170, p. 241-246.
- van Winkel, R., N. C. Stefanis, und I. Myin-Germeys, 2008, Psychosocial stress and psychosis. A review of the neurobiological mechanisms and the evidence for gene-stress interaction: *Schizophr.Bull.*, v. 34, no. 6, p. 1095-1105.
- Vartanian, T., G. Fischbach, und R. Miller, 1999, Failure of spinal cord oligodendrocyte development in mice lacking neuregulin: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, v. 96, no. 2, p. 731-735.
- Verma, A., und B. Moghaddam, 1996, NMDA receptor antagonists impair prefrontal cortex function as assessed via spatial delayed alternation performance in rats: modulation by dopamine: *J Neurosci.*, v. 16, no. 1, p. 373-379.
- Verrall, L., P. W. Burnet, J. F. Betts, und P. J. Harrison, 2009, The neurobiology of D-amino acid oxidase and its involvement in schizophrenia: *Mol.Psychiatry*.
- Verrall, L., M. Walker, N. Rawlings, I. Benzel, J. N. Kew, P. J. Harrison, und P. W. Burnet, 2007, d-Amino acid oxidase and serine racemase in human brain: normal distribution and altered expression in schizophrenia: *Eur.J Neurosci.*, v. 26, no. 6, p. 1657-1669.
- Vilella, E. et al., 2008, Association of schizophrenia with DTNBP1 but not with DAO, DAOA, NRG1 and RGS4 nor their genetic interaction: *J Psychiatr.Res.*, v. 42, no. 4, p. 278-288.
- Walss-Bass, C. et al., 2006a, A novel missense mutation in the transmembrane domain of neuregulin 1 is associated with schizophrenia: *Biol.Psychiatry*, v. 60, no. 6, p. 548-553.
- Walss-Bass, C. et al., 2006b, Association analyses of the neuregulin 1 gene with schizophrenia and manic psychosis in a Hispanic population: *Acta Psychiatr.Scand.*, v. 113, no. 4, p. 314-321.
- Wang, X. et al., 2004, Association of G72/G30 with schizophrenia in the Chinese population: *Biochem.Biophys.Res.Commun.*, v. 319, no. 4, p. 1281-1286.
- Weickert, C. S., R. E. Straub, B. W. McClintock, M. Matsumoto, R. Hashimoto, T. M. Hyde, M. M. Herman, D. R. Weinberger, und J. E. Kleinman, 2004, Human dysbindin (DTNBP1) gene expression in normal brain and in schizophrenic prefrontal cortex and midbrain: *Arch.Gen.Psychiatry*, v. 61, no. 6, p. 544-555.
- Wen, D. et al., 1992, Neu differentiation factor: a transmembrane glycoprotein containing an EGF domain and an immunoglobulin homology unit: *Cell*, v. 69, no. 3, p. 559-572.
- WHO, 1993, The ICD-10 classification of mental and behavioral disorders: diagnostic criteria for research Genf, WHO.
- Wickham, H., C. Walsh, P. Asherson, M. Gill, M. J. Owen, P. McGuffin, R. Murray, und P. Sham, 2002, Familiality of clinical characteristics in schizophrenia: *J Psychiatr.Res.*, v. 36, no. 5, p. 325-329.
- Wickham, H. et al., 2001, Familiality of symptom dimensions in schizophrenia: *Schizophr.Res.*, v. 47, no. 2-3, p. 223-232.
- Wilcox, M. A., S. V. Faraone, J. Su, E. P. Van, und M. T. Tsuang, 2002, Genome scan of three quantitative traits in schizophrenia pedigrees: *Biol.Psychiatry*, v. 52, no. 9, p. 847-854.
- Wildenauer, D. B. et al., 1996, Searching for susceptibility genes in schizophrenia by genetic linkage analysis: *Cold Spring Harb.Symp.Quant.Biol.*, v. 61, p. 845-850.
- Williams, J. et al., 1998, A meta-analysis and transmission disequilibrium study of association between the dopamine D3 receptor gene and schizophrenia: *Mol.Psychiatry*, v. 3, no. 2, p. 141-149.
- Williams, J. et al., 1996, Association between schizophrenia and T102C polymorphism of the 5-hydroxytryptamine type 2a-receptor gene. European Multicentre Association Study of Schizophrenia (EMASS) Group: *Lancet*, v. 347, no. 9011, p. 1294-1296.
- Williams, N. M. et al., 2006, Variation at the DAOA/G30 locus influences susceptibility to major mood episodes but not psychosis in schizophrenia and bipolar disorder: *Arch.Gen.Psychiatry*, v. 63, no. 4, p. 366-373.
- Williams, N. M., A. Preece, G. Spurlock, N. Norton, H. J. Williams, S. Zammit, M. C. O'Donovan, und M. J. Owen, 2003, Support for genetic variation in neuregulin 1 and susceptibility to schizophrenia: *Mol.Psychiatry*, v. 8, no. 5, p. 485-487.
- Wood, L. S., E. H. Pickering, und B. M. Dechairo, 2007, Significant support for DAO as a schizophrenia susceptibility locus: examination of five genes putatively associated with schizophrenia: *Biol.Psychiatry*, v. 61, no. 10, p. 1195-1199.
- Xi, Z. et al., 2007, No association between PPP3CC and schizophrenia in the Chinese population: *Schizophr.Res.*, v. 90, no. 1-3, p. 357-359.
- Xu, Q. et al., 2004, Association study of an SNP combination pattern in the dopaminergic pathway in paranoid schizophrenia: a novel strategy for complex disorders: *Mol.Psychiatry*, v. 9, no. 5, p. 510-521.

- Yamada, K. et al., 2007, Genetic analysis of the calcineurin pathway identifies members of the EGR gene family, specifically EGR3, as potential susceptibility candidates in schizophrenia: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, v. 104, no. 8, p. 2815-2820.
- Yamada, K. et al., 2005, Identification of multiple serine racemase (SRR) mRNA isoforms and genetic analyses of SRR and DAO in schizophrenia and D-serine levels: *Biol.Psychiatry*, v. 57, no. 12, p. 1493-1503.
- Yang, J. Z. et al., 2003, Association study of neuregulin 1 gene with schizophrenia: *Mol.Psychiatry*, v. 8, no. 7, p. 706-709.
- Yue, W. et al., 2007, Association of DAOA polymorphisms with schizophrenia and clinical symptoms or therapeutic effects: *Neurosci.Lett.*, v. 416, no. 1, p. 96-100.
- Yue, W., Z. Liu, G. Kang, J. Yan, F. Tang, Y. Ruan, J. Zhang, und D. Zhang, 2006, Association of G72/G30 polymorphisms with early-onset and male schizophrenia: *Neuroreport*, v. 17, no. 18, p. 1899-1902.
- Zammit, S., P. Allebeck, S. Andreasson, I. Lundberg, und G. Lewis, 2002, Self reported cannabis use as a risk factor for schizophrenia in Swedish conscripts of 1969: historical cohort study: *BMJ*, v. 325, no. 7374, p. 1199.
- Zeng, H., S. Chattarji, M. Barbarosie, L. Rondi-Reig, B. D. Philpot, T. Miyakawa, M. F. Bear, und S. Tonegawa, 2001, Forebrain-specific calcineurin knockout selectively impairs bidirectional synaptic plasticity and working/episodic-like memory: *Cell*, v. 107, no. 5, p. 617-629.
- Zhao, X. et al., 2004, A case control and family based association study of the neuregulin1 gene and schizophrenia: *J Med Genet.*, v. 41, no. 1, p. 31-34.
- Zipp,HP. Die Bedeutung von Neuregulin 1 in der Schizophrenie. 2005. Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Zou, F., C. Li, S. Duan, Y. Zheng, N. Gu, G. Feng, Y. Xing, J. Shi, und L. He, 2005, A family-based study of the association between the G72/G30 genes and schizophrenia in the Chinese population: *Schizophr.Res.*, v. 73, no. 2-3, p. 257-261.
- Zubin, J., und B. Spring, 1977, Vulnerability--a new view of schizophrenia: *J Abnorm.Psychol.*, v. 86, no. 2, p. 103-126.
- Zuliani, R. et al., 2009, Genetic variation in the G72 (DAOA) gene affects temporal lobe and amygdala structure in subjects affected by bipolar disorder: *Bipolar.Disord.*, v. 11, no. 6, p. 621-627.

## Anhang

### Anhang 1: Analyse der Voraussetzungen zur Berechnung der MANOVA in der n-back Stichprobe

Anhang: Tabelle 1.1 Test auf Normalverteilung

	Qualität		Quantität	
	W	p-Value	W	p-Value
0-back	0,50	0,000	0,96	0,005
1-back	0,91	0,000	0,99	0,407
2-back	0,96	0,003	0,99	0,654
3-back	0,94	0,000	0,98	0,273

Anhang: Tabelle 1.2 Levene-Test auf Gleichheit der Fehlervarianzen in der Summe der korrekten Antworten bei der Genotypverteilung

		F	df1	df2	Signifikanz
N_1	0back	5,22	5	94	0,000
	1back	5,48	5	94	0,000
	2back	0,89	5	94	0,491
	3back	0,41	5	94	0,839
N_2	0back	5,38	5	97	0,000
	1back	5,38	5	97	0,000
	2back	0,80	5	97	0,553
	3back	1,04	5	97	0,401
G_1	0back	10,52	5	95	0,000
	1back	5,27	5	95	0,000
	2back	1,51	5	95	0,193
	3back	1,85	5	95	0,110
D_1	0back	5,57	5	97	0,000
	1back	5,95	5	97	0,000
	2back	0,34	5	97	0,886
	3back	0,39	5	97	0,857
D_2	0back	5,48	5	97	0,000
	1back	5,54	5	97	0,000
	2back	0,35	5	97	0,882
	3back	1,42	5	97	0,226
P_1	0back	8,98	5	97	0,000
	1back	3,77	5	97	0,004
	2back	0,19	5	97	0,967
	3back	0,67	5	97	0,646
P_2	0back	7,42	5	97	0,000
	1back	5,04	5	97	0,000
	2back	0,50	5	97	0,777
	3back	1,37	5	97	0,244
P_3	0back	6,61	5	91	0,000
	1back	4,02	5	91	0,002
	2back	0,60	5	91	0,701
	3back	1,71	5	91	0,140

Anhang: Tabelle 1.3 Levene-Test auf Gleichheit der Fehlervarianzen in der Reaktionszeit bei der Genotypverteilung

		<b>F</b>	<b>df1</b>	<b>df2</b>	<b>Signifikanz</b>
<b>N_1</b>	0back	1,26	5	93	0,286
	1back	0,44	5	93	0,817
	2back	1,63	5	93	0,160
	3back	1,39	5	93	0,235
<b>N_2</b>	0back	2,19	5	96	0,062
	1back	0,93	5	96	0,467
	2back	1,64	5	96	0,156
	3back	1,34	5	96	0,252
<b>G_1</b>	0back	1,65	5	94	0,155
	1back	1,45	5	94	0,215
	2back	0,73	5	94	0,602
	3back	1,99	5	94	0,087
<b>D_1</b>	0back	1,85	5	96	0,111
	1back	0,79	5	96	0,557
	2back	1,22	5	96	0,304
	3back	1,97	5	96	0,090
<b>D_2</b>	0back	2,69	5	96	0,026
	1back	1,66	5	96	0,152
	2back	0,39	5	96	0,856
	3back	1,29	5	96	0,273
<b>P_1</b>	0back	1,30	5	96	0,272
	1back	0,61	5	96	0,695
	2back	0,90	5	96	0,485
	3back	1,99	5	96	0,087
<b>P_2</b>	0back	1,03	5	96	0,403
	1back	0,71	5	96	0,615
	2back	0,47	5	96	0,798
	3back	1,82	5	96	0,115
<b>P_3</b>	0back	0,90	5	90	0,483
	1back	0,66	5	90	0,653
	2back	0,39	5	90	0,856
	3back	1,67	5	90	0,150

## Anhang

Anhang: Tabelle 1.4 Box-Test auf Gleichheit der Kovarianzmatrizen in der Summe der korrekten Antworten in der Genotypverteilung x Fall-/Kontrollgruppen

	<b>Box-M-Test</b>	<b>F</b>	<b>df1</b>	<b>df2</b>	<b>Signifikanz</b>
N_1	157,99	2,65	50	4045,46	0,000
N_2	139,26	3,10	40	9589,65	0,000
G_1	192,11	3,12	50	1980,86	0,000
D_1	127,91	3,85	30	7881,62	0,000
D_2	163,35	2,75	50	3234,06	0,000
P_1	180,30	3,10	50	4700,90	0,000
P_2	172,85	3,00	50	7213,44	0,000
P_3	160,63	2,76	50	6375,17	0,000

Anhang: Tabelle 1.1 Box-Test auf Gleichheit der Kovarianzmatrizen in der Reaktionszeit bei der Genotypverteilung

	<b>Box-M-Test</b>	<b>F</b>	<b>df1</b>	<b>df2</b>	<b>Signifikanz</b>
N_1	59,39	1,00	50	4060,19	0,481
N_2	46,99	1,05	40	9635,80	0,391
G_1	54,16	0,88	50	1984,93	0,711
D_1	32,01	0,96	30	7916,66	0,522
D_2	87,62	1,47	50	3232,10	0,017
P_1	74,49	1,28	50	4715,88	0,090
P_2	51,40	0,89	50	7242,99	0,686
P_3	44,24	0,76	50	6402,47	0,892

## Anhang 2: Ergebnisse des Kruskal-Wallis-Tests in der n-back Stichprobe

Anhang: Tabelle 2.2 Kruskal-Wallistest bei den Genotypen und der Reaktionszeit

		Chi <sup>2</sup>	df	p	Bonferroni
N_1	0-back	0,05	2	0,975	1,000
	1-back	1,38	2	0,502	1,000
	2-back	1,10	2	0,576	1,000
	3-back	2,73	2	0,255	1,000
N_2	0-back	0,34	2	0,844	1,000
	1-back	0,60	2	0,741	1,000
	2-back	0,07	2	0,965	1,000
	3-back	1,06	2	0,588	1,000
G_1	0-back	6,33	2	<b>0,042</b>	1,000
	1-back	3,63	2	0,163	1,000
	2-back	2,18	2	0,366	1,000
	3-back	3,76	2	0,152	1,000
D_1	0-back	0,87	2	0,647	1,000
	1-back	0,79	2	0,673	1,000
	2-back	0,85	2	0,654	1,000
	3-back	2,01	2	0,367	1,000
D_2	0-back	1,71	2	0,424	1,000
	1-back	0,08	2	0,961	1,000
	2-back	2,79	2	0,248	1,000
	3-back	1,35	2	0,509	1,000
P_1	0-back	1,32	2	0,518	1,000
	1-back	0,98	2	0,612	1,000
	2-back	0,32	2	0,850	1,000
	3-back	0,73	2	0,694	1,000
P_2	0-back	0,37	2	0,830	1,000
	1-back	3,66	2	0,161	1,000
	2-back	0,21	2	0,902	1,000
	3-back	1,64	2	0,441	1,000
P_3	0-back	0,21	2	0,900	1,000
	1-back	1,88	2	0,391	1,000
	2-back	0,29	2	0,866	1,000
	3-back	2,33	2	0,312	1,000

Anhang: Tabelle 2.3 Ergebnisse des Kruskal und Wallis-Tests beim Genotyp und Summe der korrekten Antworten

		Chi <sup>2</sup>	df	p	Bonferroni
N_1	0-back	2,78	2	0,249	1,000
	1-back	1,26	2	0,533	1,000
	2-back	4,52	2	0,105	1,000
	3-back	0,41	2	0,813	1,000
N_2	0-back	0,80	2	0,671	1,000
	1-back	0,88	2	0,646	1,000
	2-back	1,00	2	0,605	1,000
	3-back	0,64	2	0,728	1,000
G_1	0-back	0,33	2	0,850	1,000
	1-back	0,65	2	0,724	1,000
	2-back	1,70	2	0,428	1,000
	3-back	1,64	2	0,440	1,000
D_1	0-back	0,63	2	0,729	1,000
	1-back	0,98	2	0,612	1,000
	2-back	0,23	2	0,891	1,000
	3-back	0,19	2	0,908	1,000
D_2	0-back	0,01	2	0,997	1,000
	1-back	0,56	2	0,755	1,000
	2-back	1,24	2	0,539	1,000
	3-back	2,92	2	0,232	1,000
P_1	0-back	1,23	2	0,541	1,000
	1-back	7,91	2	<b>0,019</b>	1,000
	2-back	1,89	2	0,371	1,000
	3-back	2,18	2	0,336	1,000
P_2	0-back	0,37	2	0,830	1,000
	1-back	3,42	2	0,181	1,000
	2-back	0,65	2	0,724	1,000
	3-back	1,15	2	0,562	1,000
P_3	0-back	0,56	2	0,750	1,000
	1-back	3,22	2	0,199	1,000
	2-back	0,96	2	0,618	1,000
	3-back	1,72	2	0,424	1,000

### Anhang 3: Ergebnisse der univariaten Varianzanalysen in der n-back Stichprobe

Anhang: Tabelle 3.4 univariate Varianzanalyse des Markers N\_1 NRG1-Gen und Interaktion von N\_1 und Fall-/Kontrollgruppe auf die Qualität (Summe der korrekten Antworten) im n-back Test

	Abhängige Variable	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz	Partielles Eta-Quadrat
N_1	0back	46,79	2	23,39	0,26	0,771	0,006
	1back	34,75	2	17,37	0,07	0,931	0,002
	2back	665,02	2	332,51	1,51	0,226	0,031
	3back	15,53	2	7,76	0,94	0,392	0,020
CC*N_1	0back	18,20	2	9,10	0,10	0,903	0,002
	1back	100,99	2	50,49	0,20	0,812	0,004
	2back	202,87	2	101,43	0,46	0,632	0,010
	3back	8,97	2	4,48	0,54	0,581	0,011

Anhang: Tabelle 3.5 univariate Varianzanalyse des Markers N\_1 im NRG1-Gen und Interaktion von N\_1 und Fall-/Kontrollgruppe auf die Quantität (Mittelwert der Reaktionszeit) im n-back Test

	Abhängige Variable	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz	Partielles Eta-Quadrat
N_1	0back	8.244,26	2	4122,13	0,20	0,812	0,004
	1back	139.068,03	2	69534,02	1,83	0,165	0,038
	2back	9.705,39	2	4852,70	0,12	0,880	0,003
	3back	122.558,32	2	61279,16	0,55	0,575	0,012
CC*N_1	0back	71.445,76	2	35722,88	1,80	0,170	0,037
	1back	332.413,14	2	166206,57	4,39	<b>0,015</b>	0,086
	2back	81.903,13	2	40951,56	1,08	0,343	0,023
	3back	21.251,61	2	10625,81	0,09	0,908	0,002

Anhang: Tabelle 3.6 univariate Varianzanalyse des Markers N\_2 im NRG1-Gen und Interaktion von N\_2 und Fall-/Kontrollgruppe auf die Qualität (Summe der korrekten Antworten) im n-back Test

	Abhängige Variable	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz	Partielles Eta-Quadrat
N_2	0back	47,35	2	23,67	0,28	0,760	0,006
	1back	153,23	2	76,62	0,31	0,731	0,006
	2back	136,36	2	68,18	0,31	0,733	0,006
	3back	6,68	2	3,34	0,45	0,640	0,009
CC*N_2	0back	147,84	2	73,92	0,86	0,427	0,017
	1back	282,83	2	141,42	0,58	0,562	0,012
	2back	829,30	2	414,65	1,89	0,156	0,038
	3back	78,15	2	39,07	5,24	<b>0,007</b>	0,097

Anhang

Anhang: Tabelle 3.7 univariate Varianzanalyse des Markers N\_2 im NRG1-Gen und Interaktion von N\_2 und Fall-/Kontrollgruppe auf die Quantität (Mittelwert der Reaktionszeit) im n-back Test

	Abhängige Variable	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz	Partielles Eta-Quadrat
N_2	0back	3.845,44	2	1.922,72	0,10	0,907	0,002
	1back	88.688,90	2	44.344,45	1,15	0,322	0,023
	2back	5.091,78	2	2.545,89	0,07	0,933	0,001
	3back	337.647,84	2	168.823,92	1,57	0,213	0,032
CC*N_2	0back	63.562,43	2	31.781,21	1,61	0,206	0,032
	1back	197.221,39	2	98.610,69	2,55	0,083	0,050
	2back	68.580,38	2	34.290,19	0,93	0,398	0,019
	3back	60.384,58	2	30.192,29	0,28	0,755	0,006

Anhang: Tabelle 3.8 univariate Varianzanalyse des Markers G\_1 im G72-Gen und Interaktion von G\_1 und Fall-/Kontrollgruppe auf die Qualität (Summe der korrekten Antworten) im n-back Test

	Abhängige Variable	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz	Partielles Eta-Quadrat
G_1	0back	108,06	2	54,03	0,62	0,540	0,013
	1back	121,69	2	60,84	0,26	0,770	0,005
	2back	149,04	2	74,52	0,35	0,707	0,007
	3back	1,72	2	0,86	0,11	0,895	0,002
CC*G_1	0back	86,92	2	43,46	0,50	0,608	0,010
	1back	1.327,21	2	663,60	2,85	0,063	0,057
	2back	648,97	2	324,48	1,52	0,224	0,031
	3back	18,01	2	9,00	1,17	0,316	0,024

Anhang: Tabelle 3.9 univariate Varianzanalyse des Markers G\_1 im G72-Gen und Interaktion von G\_1 und Fall-/Kontrollgruppe auf die Quantität (Mittelwert der Reaktionszeit) im n-back Test

	Abhängige Variable	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz	Partielles Eta-Quadrat
G_1	0back	34183,68	2	17091,84	0,84	0,434	0,018
	1back	63234,59	2	31617,30	0,78	0,462	0,016
	2back	38052,34	2	19026,17	0,52	0,598	0,011
	3back	15063,64	2	7531,82	0,07	0,935	0,001
CC*G_1	0back	38511,09	2	19255,54	0,95	0,391	0,020
	1back	92789,94	2	46394,97	1,14	0,324	0,024
	2back	67449,98	2	33724,99	0,92	0,404	0,019
	3back	171576,67	2	85788,33	0,77	0,467	0,016

Anhang: Tabelle 3.10 univariate Varianzanalyse des Markers D\_1 im DAO-Gen und Interaktion von D\_1 und Fall-/Kontrollgruppe auf die Qualität (Summe der korrekten Antworten) im n-back Test

	Abhängige Variable	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz	Partielles Eta-Quadrat
D_1	0back	64,57	2	32,28	0,37	0,689	0,008
	1back	297,00	2	148,50	0,61	0,547	0,012
	2back	176,05	2	88,03	0,39	0,678	0,008
	3back	11,12	2	5,56	0,68	0,508	0,014
CC*D_1	0back	135,08	2	67,54	0,78	0,460	0,016
	1back	109,77	2	54,89	0,22	0,799	0,005
	2back	189,58	2	94,79	0,42	0,658	0,009
	3back	0,21	2	0,11	0,01	0,987	0,000

Anhang: Tabelle 3.11 univariate Varianzanalyse des Markers D\_1 im DAO-Gen und Interaktion von D\_1 und Fall-/Kontrollgruppe auf die Quantität (Mittelwert der Reaktionszeit) im n-back Test

	Abhängige Variable	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz	Partielles Eta-Quadrat
D_1	0back	17.038,14	2	8.519,07	0,42	0,659	0,009
	1back	99.525,37	2	49.762,68	1,23	0,296	0,025
	2back	32.162,40	2	16.081,20	0,44	0,647	0,009
	3back	79.558,48	2	39.779,24	0,36	0,701	0,007
CC*D_1	0back	1.309,57	2	654,78	0,03	0,968	0,001
	1back	28.700,42	2	14.350,21	0,36	0,702	0,007
	2back	37.163,63	2	18.581,81	0,51	0,605	0,010
	3back	1.635,69	2	817,84	0,01	0,993	0,000

Anhang: Tabelle 3.12 univariate Varianzanalyse des Markers D\_2 im DAO-Gen und Interaktion von D21 und Fall-/Kontrollgruppe auf die Qualität (Summe der korrekten Antworten) im n-back Test

	Abhängige Variable	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz	Partielles Eta-Quadrat
D_2	0back	37,67	2	18,84	0,21	0,808	0,004
	1back	317,78	2	158,89	0,65	0,526	0,013
	2back	112,86	2	56,43	0,25	0,779	0,005
	3back	4,81	2	2,40	0,29	0,746	0,006
CC*D_2	0back	19,99	2	9,99	0,11	0,893	0,002
	1back	56,00	2	28,00	0,11	0,892	0,002
	2back	274,53	2	137,27	0,61	0,546	0,012
	3back	4,09	2	2,05	0,25	0,779	0,005

Anhang

Anhang: Tabelle 3.13 univariate Varianzanalyse des Markers D\_2 im DAO-Gen und Interaktion von D\_2 und Fall-/Kontrollgruppe auf die Quantität (Mittelwert der Reaktionszeit) im n-back Test

	Abhängige Variable	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz	Partielles Eta-Quadrat
<b>D_2</b>	0back	3.523,65	2	1.761,82	0,09	0,916	0,002
	1back	24.388,16	2	12.194,08	0,30	0,745	0,006
	2back	80.490,88	2	40.245,44	1,13	0,329	0,023
	3back	390.850,72	2	195.425,36	1,82	0,168	0,036
<b>CC*D_2</b>	0back	35.737,54	2	17.868,77	0,89	0,414	0,018
	1back	55.728,36	2	27.864,18	0,67	0,512	0,014
	2back	164.851,82	2	82.425,91	2,31	0,105	0,046
	3back	193.451,16	2	96.725,58	0,90	0,410	0,018

Anhang: Tabelle 3.14 univariate Varianzanalyse des Markers P\_1 im PPP3CC-Gen und Interaktion von P\_1 und Fall-/Kontrollgruppe auf die Qualität (Summe der korrekten Antworten) im n-back Test

	Abhängige Variable	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz	Partielles Eta-Quadrat
<b>P_1</b>	0back	164,22	2	82,11	0,98	0,376	0,020
	1back	1.259,82	2	629,91	3,00	0,054	0,058
	2back	99,74	2	49,87	0,22	0,798	0,005
	3back	10,61	2	5,30	0,65	0,520	0,013
<b>CC*P_1</b>	0back	237,07	2	118,53	1,42	0,245	0,029
	1back	1.362,59	2	681,29	3,24	<b>0,043</b>	0,063
	2back	534,53	2	267,26	1,20	0,303	0,024
	3back	5,82	2	2,91	0,36	0,698	0,007

Anhang: Tabelle 3.15 univariate Varianzanalyse des Markers P\_1 im PPP3CC-Gen und Interaktion von P\_1 und Fall-/Kontrollgruppe auf die Quantität (Mittelwert der Reaktionszeit) im n-back Test

	Abhängige Variable	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz	Partielles Eta-Quadrat
<b>P1</b>	0back	54.711,36	2	27.355,68	1,39	0,252	0,028
	1back	58.098,54	2	29.049,27	0,74	0,478	0,015
	2back	47.734,82	2	23.867,41	0,65	0,521	0,014
	3back	422.271,30	2	211.135,65	2,03	0,137	0,041
<b>CC*P1</b>	0back	33.276,87	2	16.638,43	0,85	0,431	0,017
	1back	173.500,30	2	86.750,15	2,22	0,114	0,044
	2back	42.259,20	2	21.129,60	0,58	0,561	0,012
	3back	529.036,15	2	264.518,07	2,54	0,084	0,050

Anhang: Tabelle 3.16 univariate Varianzanalyse des Markers P<sub>2</sub> im PPP3CC-Gen und Interaktion von P<sub>2</sub> und Fall-/Kontroll-gruppe auf die Qualität (Summe der korrekten Antworten) im n-back Test

	Abhängige Variable	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz	Partielles Eta-Quadrat
P <sub>2</sub>	0back	131,36	2	65,68	0,78	0,461	0,016
	1back	565,44	2	282,72	1,28	0,282	0,026
	2back	19,72	2	9,86	0,04	0,957	0,001
	3back	2,04	2	1,02	0,12	0,883	0,003
CC*P <sub>2</sub>	0back	192,04	2	96,02	1,14	0,324	0,023
	1back	1.398,49	2	699,24	3,17	0,046	0,061
	2back	406,56	2	203,28	0,90	0,408	0,018
	3back	2,13	2	1,06	0,13	0,878	0,003

Anhang: Tabelle 3.17 univariate Varianzanalyse des Markers P<sub>2</sub> im PPP3CC-Gen und Interaktion von P<sub>2</sub> und Fall-/Kontroll-gruppe auf die Quantität (Mittelwert der Reaktionszeit) im n-back Test

	Abhängige Variable	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz	Partielles Eta-Quadrat
P <sub>2</sub>	0back	33.249,85	2	16.624,92	0,83	0,440	0,017
	1back	6.645,50	2	3.322,75	0,09	0,918	0,002
	2back	5.898,75	2	2.949,38	0,08	0,922	0,002
	3back	99.525,11	2	49.762,56	0,46	0,630	0,010
CC*P <sub>2</sub>	0back	829,34	2	414,67	0,02	0,980	0,000
	1back	276.012,70	2	138.006,35	3,57	<b>0,032</b>	0,069
	2back	85.368,01	2	42.684,01	1,17	0,314	0,024
	3back	507.129,55	2	253.564,77	2,37	0,099	0,047

Anhang: Tabelle 3.18 univariate Varianzanalyse des Markers P<sub>3</sub> im PPP3CC-Gen und Interaktion von P<sub>3</sub> und Fall-/Kontroll-gruppe auf die Qualität (Summe der korrekten Antworten) im n-back Test

	Abhängige Variable	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz	Partielles Eta-Quadrat
P <sub>3</sub>	0back	136,57	2	68,28	0,82	0,443	0,018
	1back	565,25	2	282,63	1,42	0,247	0,030
	2back	81,90	2	40,95	0,18	0,831	0,004
	3back	0,14	2	0,07	0,00	0,991	0,000
CC*P <sub>3</sub>	0back	183,87	2	91,93	1,10	0,336	0,024
	1back	1.275,87	2	637,93	3,20	<b>0,045</b>	0,066
	2back	284,41	2	142,20	0,64	0,528	0,014
	3back	2,03	2	1,01	0,12	0,885	0,003

## Anhang

Anhang: Tabelle 3.19 univariate Varianzanalyse des Markers P<sub>3</sub> im PPP3CC-Gen und Interaktion von P<sub>3</sub> und Fall-/Kontroll-gruppe auf die Quantität (Mittelwert der Reaktionszeit) im n-back Test

	Abhängige Variable	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz	Partielles Eta-Quadrat
<b>P3</b>	0back	28.631,02	2	14.315,51	0,72	0,489	0,02
	1back	12.758,21	2	6.379,10	0,16	0,855	0,00
	2back	15.147,14	2	7.573,57	0,20	0,818	0,00
	3back	219.102,03	2	109.551,01	0,99	0,376	0,02
<b>CC*P3</b>	0back	420,80	2	210,40	0,01	0,989	0,00
	1back	202.512,47	2	101.256,24	2,49	0,088	0,05
	2back	109.492,04	2	54.746,02	1,45	0,240	0,03
	3back	213.857,52	2	106.928,76	0,97	0,385	0,02