

Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der
Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Professor Dr. med. Hans-Jürgen Möller

Das Gen GLRB und seine Bedeutung für die Schizophrenie

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

vorgelegt von
Christina Julia Katharina Miller

aus
München

2010

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. D. Rujescu

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. W. Zieglgänsberger

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter:

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

Tag der mündlichen Prüfung: 29.04.2010

Für meine Familie

Wir bleiben Schiffe auf dem Meer
überhaupt nicht Enten auf einem Teich

-
Sail On

(Lawrence Weiner)

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	6
1.1	Schizophrenie	6
1.1.1	Klassifikation.....	7
1.1.2	Subtypen	8
1.1.3	Verlauf	8
1.1.4	Epidemiologie	9
1.1.5	Ätiopathogenese	9
1.1.5.1	Psychosoziale Faktoren	10
1.1.5.2	Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen.....	11
1.1.5.3	Genetische Faktoren	12
1.1.5.3.1	Molekulargenetik und Schizophrenie	13
1.1.5.4	Weitere Faktoren im Zusammenhang mit Schizophrenie	16
1.1.5.4.1	Hirnstrukturelle Veränderungen bei schizophrenen Patienten	16
1.1.5.4.2	Endophänotypen.....	17
1.1.5.4.3	Startle-Reflex und Prepulse Inhibition (PPI).....	18
1.1.5.4.4	Biochemische Faktoren.....	18
1.2	Glutamat, Schizophrenie und die Rolle des NMDA-Rezeptors.....	20
1.2.1	Der NMDA-Rezeptor.....	20
1.2.1.1	Die Glyzinbindungsstelle des NMDA-Rezeptors.....	22
1.3	Glyzin Rezeptor, Beta (GLRB)	23
1.3.1	Inhibitorische Glyzinrezeptoren (GlyRs) und ihre Beta-Untereinheit.....	24
1.3.2	Genetische Abweichungen in GLRB und ihre Folgen.....	26
1.4	Fragestellung.....	28
2	Material und Methoden	29
2.1	Vorbedingungen der Studie	29
2.2	Studienteilnehmer.....	30
2.2.1	Kontrollprobanden	30
2.2.2	Schizophrene Patienten	31
2.3	Laborverfahren	34
2.3.1	DNA-Extraktion.....	34
2.3.2	Bestimmung der DNA-Konzentration	35
2.3.3	Genotypisierung	37
2.3.3.1	iPLEX-Verfahren.....	37
2.3.3.1.1	Klassische PCR	37
2.3.3.1.2	SAP Behandlung.....	39

2.3.3.1.3 iPLEX-Extensionsreaktion	39
2.3.3.2 MALDI TOF Massenspektrometrie	40
2.4 Statistische Auswertung	42
3 Ergebnisse	43
3.1 Analyse des Polymorphismus rs10001962.....	44
3.1.1 Allelverteilung.....	44
3.1.2 Genotypverteilung	45
3.2 Analyse des Polymorphismus rs6812324.....	48
3.2.1 Allelverteilung.....	48
3.2.2 Genotypverteilung	48
3.3 Analyse des Polymorphismus rs11100093.....	51
3.3.1 Allelverteilung.....	51
3.3.2 Genotypverteilung	51
3.4 Analyse des Polymorphismus rs4618360.....	54
3.4.1 Allelverteilung.....	54
3.4.2 Genotypverteilung	54
4 Diskussion	57
4.1 Diskussion der Methoden.....	57
4.2 Diskussion der Ergebnisse	61
4.3 Ausblick.....	66
5 Zusammenfassung	68
6 Abkürzungsverzeichnis.....	69
7 Literaturverzeichnis.....	71
8 Danksagung	87

1 Einleitung

Die Schizophrenie ist eine sehr komplexe und heterogene psychiatrische Erkrankung, deren meist chronischer Verlauf zu großen Beeinträchtigungen der Patienten und ihrer Angehörigen führt, letztlich - beispielsweise über hohe Gesundheitskosten, bzw. Krankenkassenbeiträge - aber auch zu einer Belastung der Allgemeinbevölkerung (Giegling et al. 2008; Rössler et al. 2005).

In den vergangenen Jahrzehnten gab es große Fortschritte in der Schizophrenieforschung, dennoch gibt es noch zahlreiche Wissenslücken, unter anderem was weitere mögliche Suszeptibilitätsgene für Schizophrenie betrifft.

Diese Arbeit untersucht vor diesem Hintergrund vier Einzelnukleotidpolymorphismen (*Single Nucleotide Polymorphisms* = SNPs), die in Bezug zu dem Gen GLRB (Glyzin Rezeptor, beta) stehen, auf ihre mögliche Assoziation mit Schizophrenie.

1.1 Schizophrenie

Nach der *International Classification of Diseases, Tenth Edition* (ICD-10) sind die schizophrenen Störungen meist durch Denk- und Wahrnehmungsstörungen sowie inadäquate und verflachte Affekte gekennzeichnet.

Dabei sind die intellektuellen Fähigkeiten und die Bewusstseinsklarheit nur selten beeinträchtigt, es können sich mit der Zeit aber gewisse Defizite entwickeln.

Psychopathologisch im Vordergrund stehen Gedankenlautwerden, Gedanken- eingebung oder Gedankenentzug, Gedankenausbreitung, Wahnwahrnehmung, Kontrollwahn, Beeinflussungswahn oder das Gefühl des Gemachten, Stimmen, die in der dritten Person den Patienten kommentieren oder über ihn sprechen, Denkstörungen und Negativsymptome (DIMDI 2005).

Historisch betrachtet gab es bereits verschiedene Einteilungsmodelle für die vielschichtige Symptomatik der Schizophrenie.

Schon 1896 beschrieb Emil Kraepelin die „Dementia praecox“, die er in einzelne Subtypen - hebephren, kataton oder paranoid-halluzinatorisch - unterteilt sah. Sie galt als Gesamtveränderung der Persönlichkeit mit fortschreitender Verschlechterung (Kraepelin 1896).

1908 wurde von Eugen Bleuler die Bezeichnung Schizophrenie, von altgriechisch „schizein“ = abspalten und „phren“ = Seele, mit einem stärkeren Bezug auf das

psychopathologische Querschnittsbild geprägt und eine Einteilung in Grund- und akzessorische Symptome erarbeitet.

Zu den Grundsymptomen zählte er Assoziations- und Affektstörungen, Autismus und Ambivalenz, zu den akzessorischen Symptomen Halluzinationen, Wahn und Katatonie (Bleuler et al. 1986; Fusar-Poli et al. 2008).

Mitte des 20. Jahrhunderts begann mit der Theorie von Kurt Schneider über die Symptome ersten und zweiten Ranges die diagnostische Operationalisierung der Schizophrenie-Symptomatik. Dabei gelten Wahnwahrnehmung, Stimmenhören, Gedankenausbreitung, Gedankenentzug, Gedankeneingebung, Gedankenlautwerden und Beeinflussungserleben als Symptome ersten Ranges; Affektveränderungen, Wahneinfälle und nicht-akustische Halluzinationen als Symptome zweiten Ranges (Brunnhuber et al. 2005).

In den 70er Jahren kam es dann zu einer Differenzierung in so genannte positive und negative Symptome, zu den positiven Symptomen zählen zum Beispiel Halluzination, Wahn, formale Denkstörungen und desorganisiertes Verhalten, zu den negativen Alogie, Affektverarmung, sozialer Rückzug und Aufmerksamkeitsstörungen (Möller et al. 2008).

1.1.1 Klassifikation

In den vergangenen Jahrzehnten wurde begonnen, einheitlichere Klassifizierungssysteme zu entwickeln, da durch Vergleichbarkeit und genaue Definitionen die Ursachenforschung erleichtert wird und damit das Ziel näher rückt, Prävention betreiben zu können und eine verbesserte Behandlung zu ermöglichen.

Momentan existieren zwei anerkannte Klassifikationssysteme. Zum einen die *International Classification of Diseases, Tenth Edition* (ICD-10) der Weltgesundheitsorganisation (WHO) und zum anderen das System der *American Psychiatric Association* (APA), das *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fourth Edition* (DSM-IV).

Die ICD-10 wird meist im klinischen Bereich eingesetzt, das DSM-IV mit seinen etwas präziseren und strengeren Kriterien – als Beispiel sei genannt, dass die ICD-10 für die Diagnose einer Schizophrenie das Vorliegen entsprechender Symptome für die Dauer von einem Monat fordert, während im DSM-IV mindestens sechs Monate verlangt werden – dient vor allem der Forschung (Möller et al. 2008).

In der ICD-10 wird zwischen einer paranoiden, hebephrenen, katatonen, und einer undifferenzierten Schizophrenie, außerdem dem schizophrenen Residuum, der

Schizophrenia simplex und der postschizophrenen Depression unterschieden (DIMDI 2005).

Das DSM-IV unterscheidet die fünf Typen paranoid, kataton, desorganisiert – letzteres entspricht der hebephrenen Form des ICD-10 -, undifferenziert und residual (Saß et al. 1996).

Beide legen die Diagnose der Schizophrenie über diverse Kriterien fest, die sich teilweise ähneln.

1.1.2 Subtypen

Am häufigsten ist die paranoide Schizophrenie, deren wesentliche Merkmale Wahnvorstellungen, Ich-Störungen und akustische Halluzinationen sind.

Der hebephrene bzw. desorganisierte Typ beginnt meist im Jugendalter, hier stehen Affekt-, Denk- und Antriebsstörungen im Vordergrund.

Beim katatonen Typ sind psychomotorische Störungen kennzeichnend, die vom Stupor bis zur Hyperkinesie reichen können.

Der undifferenzierte Typ liegt vor, wenn allgemeine Schizophreniekriterien erfüllt sind, ohne einer der anderen Schizophrenieformen zu entsprechen.

Das Schizophrene Residuum (ICD-10) bzw. der residuale Typ (DSM-IV) ist geprägt durch Negativsymptomatik und es müssen zu einem vorangegangenen Zeitpunkt Symptome einer Schizophrenie vorgelegen haben.

Eine depressive Episode, die an eine eindeutige Phase der Schizophrenie anschließt, kann, wenn sie bestimmte weitere Kriterien erfüllt, als postschizophrene Depression diagnostiziert werden.

Die Schizophrenia simplex schließlich ist eine Ausschlussdiagnose mit langsamem, chronisch-progredientem Verlauf ohne typisch psychotische Symptome (Brunnhuber et al. 2005; Möller et al. 2008).

1.1.3 Verlauf

Ebenso vielfältig wie die Erscheinungsformen der Schizophrenie sind die möglichen Verläufe. Die Krankheit kann akut oder schleichend auftreten, sie kann singulär, phasisch – mit guter bis schlechter Remission - oder chronisch verlaufen, sodass es für den Einzelfall unmöglich ist, zu Beginn der Erkrankung eine Prognose zu erstellen (Berger 2008).

Dennoch lassen sich grob drei Phasen unterscheiden (Comer 2001):

1. Die Prodromalphase: Sie geht der akuten Phase voraus und kann Monate bis Jahre dauern. Typisch sind vor allem Negativsymptome und eventuell ein „Knick“ in der Lebenslinie, häufig charakterisiert durch Interessenverlust, Leistungsabfall und Zurückgezogenheit. Diese Phase wird oft nicht erkannt.

2. Die Aktive Phase: In dieser treten die Positivsymptome in den Vordergrund, was sowohl akut als auch über einen längeren Zeitraum hinweg geschehen kann.

3. Die Residualphase: Ähneln in gewisser Weise der Prodromalphase, häufig bestehen Negativsymptome oder depressive Episoden.

1.1.4 Epidemiologie

Weltweit liegt die Lebenszeitprävalenz der Schizophrenie zwischen 0,5 und 1,6% (Rössler et al. 2005), die Prävalenzzahlen in den verschiedenen Kulturen und Ethnizitäten der Welt weisen kaum Unterschiede auf (Häfner 1993) und sind nicht geschlechtsabhängig (Häfner et al. 1991).

Das Prädilektionsalter liegt zwischen dem 22. und 32. Lebensjahr, wobei es bezüglich des Erkrankungsalters (*Age at Onset* = AaO), das bei Männern etwa 3-4 Jahre vor dem der Frauen liegt, einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Geschlechtern gibt (Häfner et al. 1999).

1.1.5 Ätiopathogenese

Heutzutage wird von einer multifaktoriellen Genese der Schizophrenie ausgegangen (Andreasen 2000).

Unter anderem spielen genetische, psychosoziale sowie einige weitere, wie beispielsweise biochemische Faktoren eine Rolle.

In neueren Konzepten wird dabei von der „Two-Hit“-Hypothese gesprochen, bei der angenommen wird, dass genetische und Umweltvariablen im Sinne eines „First Hit“ zu Hirnentwicklungsstörungen führen, welche dann wiederum – auch im Zusammenspiel mit psychosozialen Faktoren – im Rahmen einer erhöhten Vulnerabilität zum Auftreten der Erkrankung prädisponieren. Treten dann Stressoren auf („Second Hit“), wie beispielsweise

psychische Belastung, Drogenkonsum und andere, kommt es zur Schizophrenie (Maynard et al. 2001) (Abb. 1).

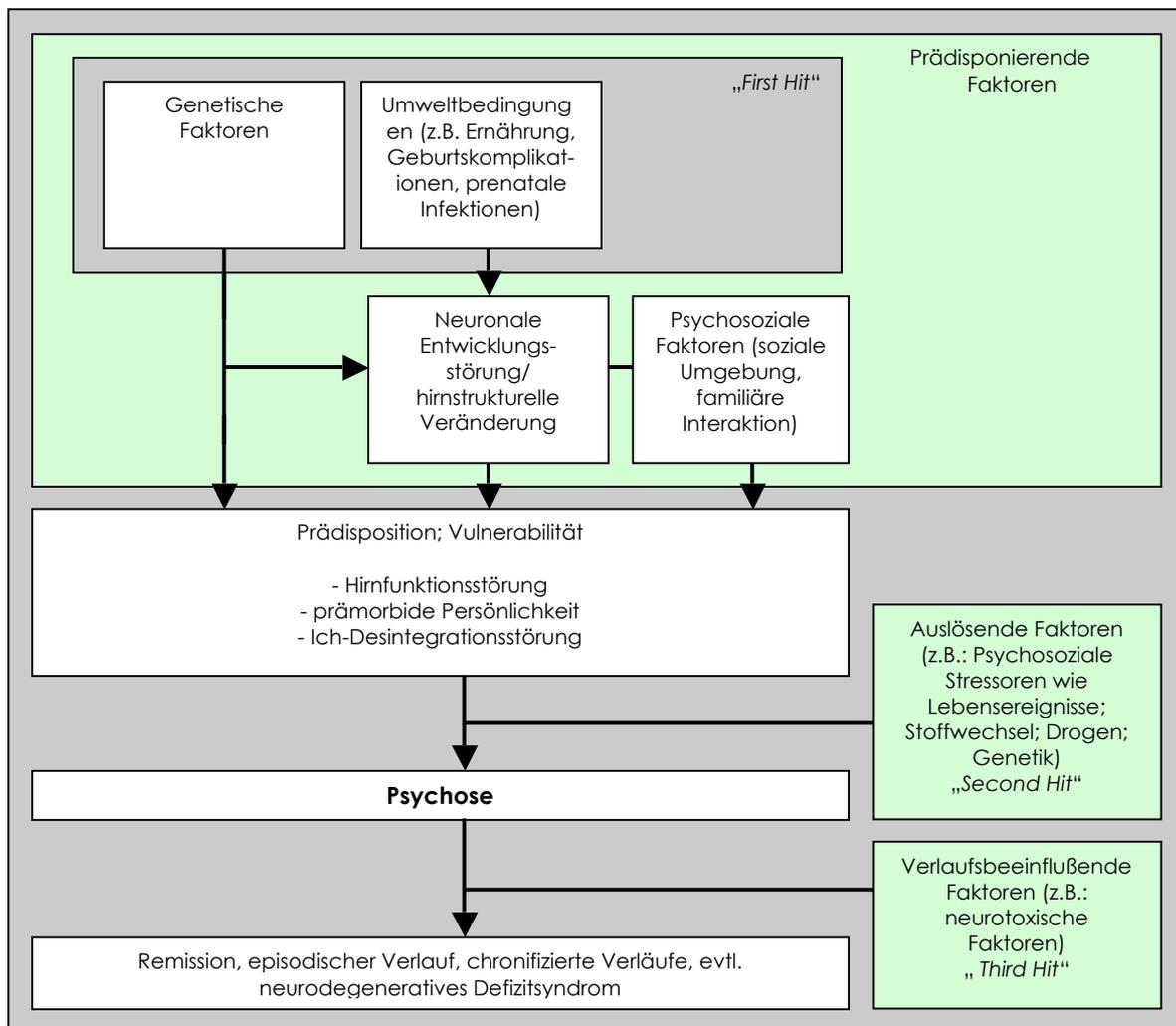


Abbildung 1: Die Ätiopathogenese der Schizophrenie, modifiziert nach Deister und Möller unter Einbezug der „Two-Hit“-Hypothese (Bayer et al. 1999; Deister et al. 1997; Maynard et al. 2001; Möller et al. 2008)

1.1.5.1 Psychosoziale Faktoren

Diverse psychosoziale Faktoren wurden schon mit der Entstehung oder dem Verlauf der Schizophrenie in Zusammenhang gebracht (Tandon et al. 2008; Walker et al. 2004; Zubin et al. 1977), unter anderem zeigt die *Life-Event-Forschung*, dass ein Zusammenhang zwischen Stressoren und der jeweiligen Symptomstärke bei schizophrenen Patienten

besteht (Norman et al. 1993). Außerdem gibt es Hinweise, dass lebensverändernde Ereignisse zur Auslösung einer Episode beitragen können (Cullberg 2003).

Die familiäre Atmosphäre spielt eine Rolle für die Rezidivprophylaxe. Für schizophrene Patienten, die in so genannten „*High-Expressed-Emotions*“-Familien - was bedeutet, dass innerfamiliär häufig kritische Bemerkungen gemacht werden oder ein überprotektives Verhalten dem Patienten gegenüber gezeigt wird - leben, besteht ein höheres Risiko ein Rezidiv zu bekommen (Rosenfarb et al. 2004).

Aber auch bei der Entstehung schizophrener Erkrankungen spielt die Familie eine Rolle, was sich beispielsweise daran erkennen lässt, dass Kinder schizophrener Mütter, die in dysfunktionale Familien adoptiert werden, ein größeres Risiko haben, an Schizophrenie zu erkranken, als jene Kinder, welche in Familien mit positiver familiärer Atmosphäre geraten (Tienari et al. 1994).

Die Tatsache, dass in den unteren sozialen Schichten ein erhöhtes Erkrankungsrisiko festgestellt werden kann, wird heutzutage meist mit der „*Drift-Hypothese*“ erklärt, die besagt, dass schizophrene Patienten aufgrund einer beeinträchtigten Lebenskompetenz schon vor der Ersterkrankung in niedrigere soziale Schichten absteigen, was sich nach Auftreten der Erkrankung weiter fortsetzt (Löffler et al. 1999).

1.1.5.2 Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen

Es wurde beobachtet, dass Patienten mit Schizophrenie besonders häufig in den Wintermonaten geboren werden (Torrey et al. 1997).

Eine gängige Annahme ist, dass Virusinfektionen der Mütter in einer vulnerablen Phase der Schwangerschaft und eine daraus resultierende Schädigung neuronaler Strukturen des ungeborenen Kindes die Ursache dieser Häufung sein könnten.

Allerdings konnte in einer großen Studie von Battle et al. weder für die häufig als signifikant diskutierte Influenza noch für Masern ein signifikanter Zusammenhang hergestellt werden (Battle et al. 1999). Dafür wurden in einer neueren Studie positive Ergebnisse bezüglich des Rubella-Virus erzielt (Brown et al. 2001).

Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen, wie beispielsweise Sepsis, Präeklampsie, Geburtsstillstand und viele andere, führen häufig zu hypoxischen Zuständen des Kindes und sind – wohl deshalb – sehr stark mit dem Auftreten von Schizophrenie assoziiert (Walker et al. 2004).

1.1.5.3 Genetische Faktoren

Eine der gängigsten Erkenntnisse der Schizophrenie-Forschung ist, dass die Vulnerabilität für die Erkrankung vererbbar ist (Walker et al. 2004).

Etlliche Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien konnten zeigen, dass es eine familiäre Häufung schizophrener Psychosen gibt und dass das Risiko daran zu erkranken, exponentiell mit der genetischen Verwandtschaft zu einem betroffenen Menschen ansteigt (Giegling et al. 2008).

Während die Allgemeinbevölkerung nur ein Risiko von etwa 1% hat, an einer Schizophrenie zu erkranken, haben Verwandte dritten Grades, die etwa 12,5% ihrer Gene teilen, ein Risiko von ca. 2%, Zweitgradangehörige, die etwa 25% ihrer Gene teilen, ein Risiko von etwa 6% und Verwandte ersten Grades, die etwa 50% ihrer Gene teilen, tragen ein Risiko von 9%.

Eineiige Zwillinge, die genetisch nahezu identisch sind haben ein Risiko von ca. 50% (Tsuang et al. 2001).

Der starke Einfluss der Gene auf die Schizophrenie konnte vor allem durch Zwillingsstudien, welche die Konkordanz für Schizophrenie bei eineiigen Zwillingen – ca. 50% - mit der Konkordanz bei zweieiigen Zwillingen – ca. 9% - vergleichen, gezeigt werden (Cannon et al. 1998; Farmer et al. 1987; Franzek et al. 1996).

Schon intrauterin kommt bei den eineiigen Zwillingen durch ihre gemeinsame Plazenta hinzu, dass nicht nur ihr Genom nahezu identisch ist, sondern auch die Umweltbedingungen (Reiss et al. 1991). Dies setzt sich postnatal fort, da eineiige Zwillinge gleichgeschlechtlich sind und sich in hohem Maße ähneln, weshalb sie höchstwahrscheinlich durch ihre Mitmenschen annähernd gleiche Reaktionen erfahren und somit eine beinahe identische Umgebung teilen.

Andererseits weist die durchschnittlich nur etwa 50%ige Konkordanz für Schizophrenie bei eineiigen Zwillingen darauf hin, dass auch nichtgenetische Faktoren beteiligt sind.

Um genetische von umweltbedingten Faktoren zu trennen, werden Adoptionsstudien angewandt. Darin konnte gezeigt werden, dass die Erkrankung durchaus eine genetische Determinante hat, aber auch, dass Umweltfaktoren einen relevanten Einfluss auf die Entstehung der Schizophrenie haben (Tienari et al. 2004).

Unbelastete Kinder, die früh in Familien mit einem schizophrenen Elternteil adoptiert wurden, litten nicht unter einem erhöhten Schizophrenierisiko, während Kinder mit genetischer Vorbelastung auch in schizophreniefreien Adoptivfamilien ein erhöhtes Erkrankungsrisiko hatten (Kety et al. 1994).

Erkrankungen des schizophrenen Spektrums traten vor allem auf, wenn erstens ein erhöhtes familiäres Risiko – beispielsweise ein erkranktes Elternteil - und zweitens ein ungünstiges psychosoziales Adoptionsmilieu vorlag.

Der Anteil, den genetische Faktoren auf die Entstehung der Schizophrenie haben, wird auf etwa 80% geschätzt (Giegling et al. 2008).

1.1.5.3.1 Molekulargenetik und Schizophrenie

Durch die Methoden der Molekulargenetik hat sich die Forschung in den letzten Jahren deutlich weiterentwickelt.

Die Schizophrenie gehört ebenso wie affektive Störungen oder Diabetes Mellitus zu den genetisch komplexen Erkrankungen (Corsico et al. 2001; Lander et al. 1994).

Das Vererbungsmuster folgt nicht den Mendelschen Vererbungsregeln (McGue et al. 1989); das aktuelle Modell der Schizophrenie geht von einer polygenen Übertragung aus, also davon, dass Mutationen an mehreren unterschiedlichen Genloci zusammenspielen, die dann jeweils einen kleinen Beitrag zur Schizophrenieentstehung leisten (Owen 2000).

Außerdem wird angenommen, dass eine genetische Heterogenität besteht, also dasselbe Merkmal – z.B. Schizophrenie – durch verschiedene Mutationen an unterschiedlichen Genloci hervorgerufen werden kann.

Um diese in Frage kommenden Gene komplexer Erkrankungen zu identifizieren, werden Kopplungs- und Assoziationsstudien als prinzipiell komplementäre Ansätze genutzt (Maier et al. 1999).

Bei Kopplungsstudien wird getestet, ob ein Markerallel in einer Familie überzufällig häufig gemeinsam mit einem bestimmten Phänotyp bzw. einer Krankheit, vererbt wird. Dabei kommt die Tatsache zum tragen, dass zwei verschiedene DNA-Abschnitte eines Chromosoms mit umso geringerer Wahrscheinlichkeit durch Rekombination voneinander getrennt werden, je näher beieinander die beiden auf dem Chromosom liegen.

Als Stichprobe dienen Familien mit zwei oder mehr erkrankten Mitgliedern, idealerweise erkrankte Geschwisterpaare, da sich bei diesen eher Homogenität für genetische Faktoren annehmen lässt als bei Großfamilien (Maier et al. 1999).

Da erste Kopplungsuntersuchungen zur Schizophrenie, die noch unter der Annahme stattfanden, es gäbe Gene mit Hauptwirkung, nicht repliziert werden konnten (Moldin 1997) – was impliziert, dass Mutationen mit sehr hoher Penetranz selten sind – wurden in den vergangenen Jahren einige Genom-Scans durchgeführt, die systematisch das gesamte menschliche Genom untersuchten. Allerdings waren die gefundenen

Kandidatenregionen sehr breit (etwa 20-30 Centimorgan) und die Ergebnisse konnten häufig nicht repliziert werden (Giegling et al. 2008).

Große Meta-Analysen (Lewis et al. 2003; Ng et al. 2008), dieser Daten fanden jedoch eine größere Übereinstimmung der Ergebnisse, als bisher angenommen und konnten einige Hinweise auf Kopplungen bestätigen.

Die Studie von 2003 (Lewis et al. 2003), mit 20 eingeschlossenen genomweiten Kopplungsstudien, ergab die folgenden chromosomalen Regionen: 1p13.3-q23.3, 2p12-q22.1, 2q22.1-q23.3, 3p25.3-p22.1, 5q23.2-q34, 6pter-p22.3, 6p22.3-p21.1, 8p22-p21.1, 11q22.3-q24.1, 14pter-q13.1, 20p12.3-p11, 22pter-q12.3.

In einer weiteren Meta-Analyse von 2008 (Ng et al. 2008) die 32 Kopplungsstudien einschloss, wurden Hinweise auf eine Verbindung von Schizophrenie und Loci auf Chromosom 1, 2q, 3q, 4q, 5q, 8p und 10q gefunden.

Assoziationsstudien bieten eine empfindliche Methode zum Nachweis von Suszeptibilitätsgenen mit geringem Einfluss auf eine Krankheit.

Sie überprüfen, ob ein statistisch signifikanter Unterschied in der Allelverteilung eines genetischen Polymorphismus zwischen Fall- und Kontrollgruppe besteht (Maier et al. 1999; Porteous 2008).

Bei der Auswahl der Gene, die untersucht werden sollen, können entweder solche gewählt werden, für die bereits in Kopplungsstudien ein positives Ergebnis erzielt wurde, oder solche, die ätiopathologisch mit der entsprechenden Krankheit in Zusammenhang gebracht werden können, im Falle der Schizophrenie beispielsweise Gene der dopaminergen und glutamatergen Neurotransmission (Owen 2000), aber auch Gene die mit der neuronalen Entwicklung verbunden werden (Williams et al. 2009).

Zu möglichen Suszeptibilitätsgenen der Schizophrenie gibt es inzwischen viele Assoziationsstudien, beispielsweise Studien zu DTNBP1 (Dysbindin) (Stefansson et al. 2002; Van Den Bogaert et al. 2003), G72 und DAO (Schumacher et al. 2004), bei denen eine Assoziation gefunden wurde.

Es gibt jedoch auch Studien zu den genannten Genen, die keine oder eine sehr geringe Assoziation zeigen (Goldberg et al. 2006; Hall et al. 2004; Morris et al. 2003).

Allen et al. konnten 2008 in einer groß angelegten Meta-Analyse zeigen, dass auf den 16 Genen APOE, COMT, DAO, DRD1, DRD2, DRD4, DTNBP1, GABRB2, GRIN2B, HP, IL1B, MTHFR, PLXNA2, SLC6A4, TP53 und TPH1, 24 Polymorphismen mit signifikanter Assoziation zur Schizophrenie liegen (Allen et al. 2008).

Auch bei den Assoziationsstudien gibt es inzwischen einige genomweite Studien zur Schizophrenie. In der ersten, von 2007, die etwa 500 000 Marker einschloss, wurde eine Assoziation zu dem Locus rs4129148 in der Nähe des Gens CSF2RA welches in der pseudoautosomalen Region des X- bzw. Y-Chromosoms liegt, gefunden.

Eine anschließende Sequenzierung dieses Gens und des benachbarten Gens IL3RA in einer unabhängigen Fall-Kontroll-Kohorte, führte zur Identifikation weiterer Assoziationen mit Schizophrenie. Aus diesen Ergebnissen könnten sich aufgrund des Zusammenhangs der signifikanten Ergebnisse mit dem Immunsystem interessante Erklärungen für die epidemiologischen Daten beispielsweise zu pränatalen Erkrankungen und dem Auftreten von Schizophrenie ergeben (Lencz et al. 2007).

Die zweite genomweite Assoziationsstudie zur Schizophrenie erfolgte im Rahmen der CATIE-Studie. Hier wurden 492 900 SNPs von 738 nach den Kriterien des DSM-IV an Schizophrenie erkrankte Personen und 733 Kontrollprobanden genotypisiert, ohne dass sich eine signifikante Assoziation ergab. Einige vielversprechend erscheinende SNPs aus dieser Studie könnten jedoch unter etwas anderen Studienbedingungen zur Identifikation weiterer Suszeptibilitätsloci führen (Sullivan et al. 2008).

Mit 479 ebenfalls nach Kriterien des DSM-IV an Schizophrenie Erkrankten und 2937 Kontrollen begann eine weitere genomweite Assoziationsstudie. 362 532 SNPs wurden dabei auf eine Assoziation zur Erkrankung untersucht und dann die Loci mit einem P-Wert $< 10^{-5}$ in weiteren 16 726 Studienteilnehmern einem gründlichen Follow-Up, einschließlich einer Meta-Analyse, unterzogen. Drei der zwölf in Frage kommenden Loci hielten dem Follow-Up stand, wobei die stärkste Assoziation bei ZNF804A auf Chromosom zwei zu liegen schien (O'Donovan et al. 2008).

Stefansson et al rekrutierten 2663 schizophrene Patienten und 13 498 Kontrollprobanden an insgesamt acht verschiedenen europäischen Standorten in Finnland, Deutschland, Island, Italien und Schottland. Es wurden 314 868 SNPs in die Analyse eingeschlossen und die Marker mit den besten Ergebnissen mit den Ergebnissen für diese Marker in vergleichbaren Studien kombiniert. Zusätzlich erfolgte ein Follow-Up mit weiteren 4999 Patienten und 15 555 Kontrollen. Die signifikanten Ergebnisse zu Markern in der Region des *Major Histocompatibility Complex* passen zu den Theorien über eine Beteiligung des Immunsystems an der Entstehung der Schizophrenie, während die zusätzlich gefundenen Assoziationen mit NRG1 und TCF4 die These der gestörten Hirnentwicklung stützen (Stefansson et al. 2009).

Für die Theorien zu einem Zusammenhang zwischen dem Immunsystem und Schizophrenie sprechen auch die Ergebnisse von Shi et al (Shi et al. 2009), die ebenfalls signifikante Ergebnisse in der Region des *Major Histocompatibility Complex* fanden.

Zusätzlich zu den SNPs werden auch die sogenannten *Copy Number Variants*, also Genkopiezahlvarianten in Hinblick auf ihre Assoziation zur Schizophrenie untersucht, eine genomweite Studie zu seltenen *Copy Number Variants* des Internationalen Schizophrenie Konsortiums ergab Deletionen in der Region die für das Velo-cardio-faciale Syndrom codiert, welches in 30% der Fälle auch psychotische Symptome erzeugt, aber auch große Deletionen auf Chromosom 15q13.3 and 1q21.1, die zuvor noch nie gezeigt werden konnten (The International Schizophrenia Consortium 2008).

Es besteht Hoffnung, dass die immer größer werdenden Fall-Kontroll-Zahlen zur sicheren Identifizierung weiterer Schizophrenie-relevanter Loci beitragen werden (Williams et al. 2009).

1.1.5.4 Weitere Faktoren im Zusammenhang mit Schizophrenie

Verschiedene weitere Faktoren werden im Zusammenhang mit Schizophrenie diskutiert, dazu zählen beispielsweise Veränderungen der Hirnarchitektur und einige biochemische Hypothesen, auf die im Folgenden eingegangen wird.

1.1.5.4.1 Hirnstrukturelle Veränderungen bei schizophrenen Patienten

Hirnveränderungen struktureller Art konnten bei schizophrenen Patienten wiederholt nachgewiesen werden. Typisch sind dabei eine starke Ventrikelerweiterung bei gleichzeitig reduziertem Gesamthirnvolumen, wobei die größte Volumenreduktion im Bereich der Frontallappen, der medialen Temporallappen und im Bereich hippocampaler Strukturen zu finden war (Wright et al. 2000).

Zahlreiche weitere Studien konnten auch im Thalamus schizophrener Patienten strukturelle und metabolische Unterschiede im Vergleich mit gesunden Kontrollen zeigen (Brickman et al. 2004; Danos 2004; Hazlett et al. 1999; Hazlett et al. 2004; Meador-Woodruff et al. 2003).

Als Ursache für diese Veränderungen wird eine Hirnentwicklungsstörung in der Reifungs- und Entwicklungsphase des Gehirns diskutiert (Keshavan et al. 1994; Murray et al. 1991), was durch die Tatsache gestützt wird, dass man das typische Zeichen neurodegenerativer Prozesse, die Astrogliose, welche beim Untergang von Nervenzellen entsteht, in Post-mortem-Gehirnen schizophrener Patienten nicht findet (Falkai et al. 1999).

Die These der Hirnentwicklungsstörung stützt ebenfalls, dass sich auch histologisch eine reduzierte Zellzahl und Zellgröße sowie eine gestörte hippocampale Zytoarchitektur zeigen lässt (Kovelman et al. 1984; Port et al. 1995; Sweatt 2004).

Diverse Untersuchungen deuten darauf hin, dass ein Kernproblem der Schizophrenie eine Störung der Konnektivität zwischen Neuronen ist; entweder resultierend aus Veränderungen der Axonmyelinisierung oder aus einer Abnormalität von Synapsen und Dendriten (McGlashan et al. 2000; Möller et al. 2008).

1.1.5.4.2 Endophänotypen

Das Konzept der Endophänotypen ist bei komplexen Erkrankungen wie der Schizophrenie sehr bedeutsam. Es wird davon ausgegangen, dass psychische Störungen neurobiologisch verursacht werden und dass phänomenologisch identische bzw. ähnliche Störungen nicht automatisch dieselbe neurobiologische Ursache haben müssen. Daher werden neurobiologisch definierbare Variablen gesucht - die Endophänotypen -, um psychiatrische Erkrankungen fundiert klassifizieren und Erbgänge einfacher entschlüsseln zu können.

Endophänotypen müssen einfach zu erfassen, der zugrunde liegende Genotyp eindeutig sein und unterschiedliche Häufigkeiten zwischen Gesunden und Erkrankten aufweisen. Um als Endophänotyp zu bestehen, müssen die Normabweichungen bei den Erkrankten in aktiven und nichtaktiven Phasen der Erkrankung vorhanden sein; vererbbar sein – wobei in Familien Endophänotyp und Erkrankung gemeinsam mendeln sollten. Außerdem sollten potentielle Endophänotypen bei Angehörigen eines Patienten in höherem Maß als in der Allgemeinbevölkerung vorkommen

Da die genetische Determination für die Endophänotypen weniger komplex ist als für die Krankheitsphänotypen können auf diese Weise auch für eigentliche Erkrankung möglicherweise relevante Gene einfacher identifiziert werden.

In der Schizophrenie vielfach validierte Endophänotypen sind beispielsweise Störungen des Arbeitsgedächtnisses, Störungen des episodischen bzw. deklarativen Gedächtnisses, langsame Augenfolgebewegungsstörungen und die *Prepulse Inhibition* – auf die im nächsten Abschnitt genauer eingegangen wird (Gottesman et al. 2003; Zobel et al. 2004).

1.1.5.4.3 Startle-Reflex und Prepulse Inhibition (PPI)

Der *Startle*-Reflex ist die Reaktion des Körpers auf plötzliche, intensive Reize akustischer, visueller oder taktiler Natur und dient vermutlich dem Schutz des Organismus vor Verletzungen. Typisch ist dabei ein schnelles Zucken der Gesichts- und Körpermuskulatur mit Lidschluss, Anspannung von Gesichts-, Nacken- und restlicher Skelettmuskulatur sowie eine Beschleunigung des Herzschlages (Koch 1999; Swerdlow et al. 2000).

Er lässt sich beim Menschen und bei den meisten Tieren nachweisen, ist zwischen den Spezies vergleichbar und daher in der Neurobiologie ein beliebtes Werkzeug um die Plastizität der sensomotorischen Informationsverarbeitung zu studieren (Koch et al. 1997). Sowohl eine Verstärkung, als auch eine Abschwächung des *Startle*-Reflexes sind möglich; ersteres beispielsweise drogeninduziert oder durch Sensibilisierung, zweiteres beispielsweise durch Habituation, ebenfalls drogeninduziert oder durch die sogenannte *Prepulse Inhibition* (PPI) (Kemp et al. 1993; Koch 1999; Thomson 1989).

Unter der PPI versteht man die Reduktion der *Startle*-Reaktion, wenn 30-500 Millisekunden vor dem eigentlichen *Startle*-Reiz ein erster, nicht-*Startle*-Reiz erfolgt (Koch et al. 1997). Sie gilt als ein Beispiel für die sensomotorische Bahnung.

Bei einigen neuropsychiatrischen Erkrankungen, wie beispielsweise Morbus Huntington, Tourette Syndrom, Aufmerksamkeitsdefizitsyndrom und in der Schizophrenie lassen sich Defizite in der *Prepulse Inhibition* feststellen (Koch 1999; Swerdlow et al. 2000; Swerdlow et al. 2008). Schizophrene Patienten zeigen jedoch auch eine abnormale *Startle*-Reaktion an sich (Howard et al. 1992).

1.1.5.4.4 Biochemische Faktoren

Eine gestörte Neurotransmission steht im Mittelpunkt der biochemischen Schizophrenieforschung. Das Hauptaugenmerk wird dabei auf das dopaminerge und das glutamaterge System gelenkt.

Die Dopaminhypothese entstand als beobachtet wurde, dass einerseits die bei schizophrenen Psychosen wirksamen Neuroleptika Dopamin-D2-Rezeptoren blockieren und dass andererseits mithilfe von Dopaminagonisten wie beispielsweise Amphetaminen, schizophrenieähnliche Psychosen auslösbar sind (Baumeister et al. 2002).

Die Dopaminhypothese geht ursprünglich von einer allgemeinen Überaktivität dopaminerger Neuronen aus (Carlsson et al. 1963).

Diese Theorie wurde bald in Frage gestellt, da klassische Neuroleptika zwar die Positivsymptomatik bessern, die Negativsymptomatik jedoch kaum beeinflussen (Meltzer 1997). Daher wurde 1991 postuliert, dass ein dopaminerges Ungleichgewicht zwischen frontalen dopaminergen Neuronen und mesolimbischen dopaminergen Neuronen herrscht. Bei dieser etwas erweiterten Dopaminhypothese wird davon ausgegangen, dass frontal eine dopaminerge Hypoaktivität besteht, die die Negativsymptomatik erklärt, während die mesolimbische dopaminerge Hyperaktivität die Positivsymptomatik hervorruft (Davis et al. 1991).

Seither hat sich auf Seiten der Forschung viel getan, es wurde deutlich, dass diese Theorie allein nicht reicht, um die komplexe Symptomatik der Schizophrenie zu erklären (Howes et al. 2009).

Selbstverständlich gab es in letzter Zeit weitere Befunde - beispielsweise die SPECT- und PET- Untersuchungen von Laruelle (Laruelle et al. 1999) - die die Beteiligung von Dopamin bestätigen, inzwischen hat sich jedoch die Ansicht durchgesetzt, dass eher das gestörte Gleichgewicht verschiedener Neurotransmitter und deren Wechselwirkungen untereinander die Symptomatik erklären (Carlsson et al. 2001).

Die Glutamathypothese der schizophrenen Psychosen geht von einer Unterfunktion des glutamatergen Systems aus; als klinischer Beleg dafür werden die von Phencyclidin (PCP; „angel dust“) und Ketamin induzierten Psychosen angeführt, die noch stärker dem Bild schizophrener Psychosen ähneln als Amphetaminpsychosen (Javitt et al. 2004; Krystal et al. 1994).

Hirnregionen, wie der frontale Kortex und der Hippocampus, welche beide häufig bei schizophrenen Patienten alteriert sein sollen, besitzen besonders viele glutamaterge Neuronen, sodass diese Befunde gut mit einer glutamatergen Unterfunktion vereinbar wären (Coyle 2004).

Ebenso konnte schon 1980 gezeigt werden, dass Schizophreniepatienten verminderte Glutamatspiegel im Liquor haben könnten (Kim et al. 1980).

Insgesamt wird die Neurotransmitterveränderung inzwischen immer mehr als Ausdruck einer gestörten neuronalen Entwicklung betrachtet, der pathogenetische Faktoren zugrunde liegen (Howes et al. 2009; Thome et al. 1998).

1.2 Glutamat, Schizophrenie und die Rolle des NMDA-Rezeptors

Glutamat spielt vermutlich eine große Rolle bei der Schizophrenie. Diese Theorie wird davon gestützt, dass die bei Schizophrenen häufig veränderten Hirnareale wie der Hippocampus relativ viele glutamaterge Neurone enthalten. Vor allem aber sprechen die durch PCP und Ketamin auslösbaren Symptome dafür, die in jeder Hinsicht stark denen der Schizophrenie ähneln und denen eine Unterfunktion der glutamatergen Neurotransmission zugrunde liegt (Coyle 1996; Möller et al. 2008).

Da Glutamat ubiquitär als primärer exzitatorischer Neurotransmitter im Gehirn vorkommt, ist es eher unwahrscheinlich, dass bei der Schizophrenie generalisierte Abweichungen der glutamatergen Aktivitäten vorliegen.

Auf diese Weise ist der NMDA-Rezeptor (N-methyl-D-Aspartat-Rezeptor = NMDAR) ins Zentrum des Interesses geraten (Goff et al. 2001); genau dieser nämlich wird von PCP und Ketamin blockiert (Javitt et al. 2004).

1.2.1 Der NMDA-Rezeptor

Der NMDA-Rezeptor spielt eine entscheidende Rolle in der Hirnentwicklung, beim Lernen, dem Gedächtnis und neuronalen Prozessen allgemein (Javitt et al. 2004).

Rujescu et al. konnten im Tiermodell die Theorie einer NMDAR-Hypofunktion bei Schizophrenie bekräftigen (Rujescu et al. 2006). Bei den Tieren, die unter dem Einfluß des NMDA-Antagonisten MK-801 standen, zeigten sich auf molekularer, zellulärer und funktioneller Ebene Veränderungen ähnlich denen schizophrener Patienten.

Sowohl Positiv- wie auch Negativsymptomatik lassen sich durch NMDA-Rezeptordysfunktion erklären beziehungsweise durch NMDAR-Antagonisten auslösen (Javitt et al. 2004; Tsai et al. 1998).

Der NMDA-Rezeptor gehört gemeinsam mit den AMPA- (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-propion-säure) und den Kainat-Rezeptoren zur Gruppe der ionotropen Glutamat-Rezeptoren. NMDARs sind Heteromere aus Kombinationen der Untereinheiten NR1, NR2 (Lynch et al. 2001) und NR3 (Jansen et al. 2003). Zentral sitzt ein Ionenkanal, der bei Ruhemembranpotential von Mg^{2+} blockiert ist (Coyle 2006).

Außerdem besitzt der NMDAR Bindungsstellen für verschiedene Stoffe (Jansen et al. 2003; Wood et al. 1990); darunter auch eine Bindungsstelle für Glyzin (*glycine modulatory site* = GMS bzw. Glyzin-B-Rezeptor = GlyB) (Abb. 2).

Ist der NMDAR geöffnet, strömt Ca^{2+} ein und es kann bei längerer Aktivierung des NMDARs - beispielsweise im Rahmen einer Langzeitpotenzierung - zur Proliferation von

Dendriten, zu trophischen Effekten der postsynaptischen Neuronen (Llado et al. 1999) und zur Rekrutierung von AMPA-Rezeptoren aus intrazellulären Speichern hin zur Synapse kommen (Coyle et al. 2004).

Daher wird der NMDAR als ein zentraler Faktor für die synaptische Plastizität angesehen.

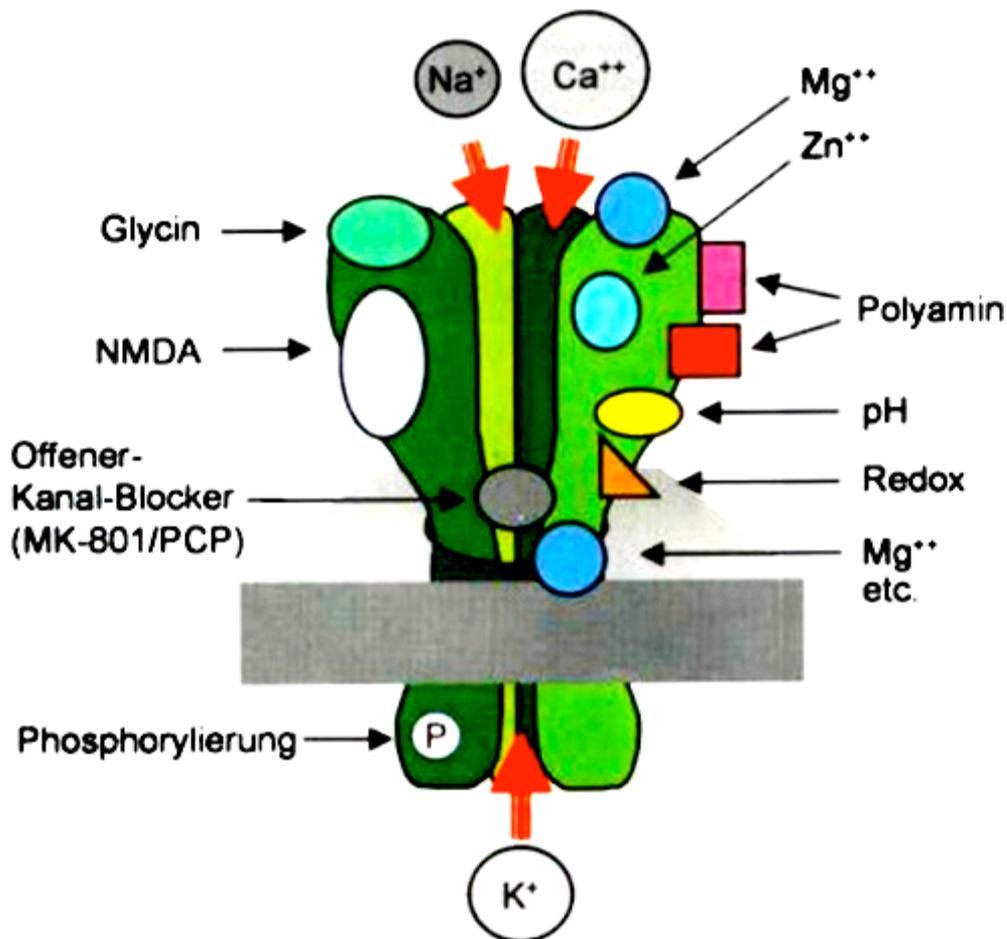


Abbildung 2: Der Aufbau des NMDA-Rezeptors mit seinen Bindungsstellen (Goethe Universität 2008).

Andererseits kann übermäßige direkte Aktivierung von NMDA-Rezeptoren auch zu oxidativem Streß und neuronalem Zelltod führen (Coyle 2006).

Dies ist beides sehr gut mit der bereits weiter oben beschriebenen These vereinbar, nach der das Kernproblem eine Störung der Konnektivität zwischen Neuronen sein könnte (McGlashan et al. 2000), da oxidativer Streß und neuronaler Zelltod sowohl zu einer veränderten Axonmyelinisierung als auch zu abnormen Synapsen und Dendriten führen können.

1.2.1.1 Die Glyzinbindungsstelle des NMDA-Rezeptors

Der NMDA-Rezeptor besitzt eine strychnin-insensitive Bindungsstelle, die sogenannte *glycine modulatory site* (GMS), welche ein Bestandteil des NMDA-Rezeptors ist (Abb. 2).

Eines der Synonyme für die GMS lautet Glyzin-B-Rezeptor (GlyB) und wird daher, aufgrund der Verwechslungsgefahr mit dem Gen Glyzin-Rezeptor, Beta (GLRB), das in dieser Arbeit behandelt wird, aber nicht für die Glyzinbindungsstelle des NMDARs zuständig ist, nicht verwendet, obwohl es in der Literatur häufiger benutzt wird, als das Synonym GMS.

Vor der Entdeckung der strychnin-**insensitiven** Glyzinbindungsstelle der NMDAR war Glyzin nur als inhibitorischer Neurotransmitter bekannt, der an strychnin-**sensitive** Glyzinrezeptoren (GlyRs) bindet (Salt 1989).

Inzwischen ist bekannt, dass, um NMDARs überhaupt aktivieren zu können, nicht nur die Glutamat- sondern auch die GMS besetzt sein muss (Coyle et al. 2004; Eulenburg et al. 2005; Kemp et al. 1993).

Es konnte gezeigt werden, dass gebundenes Glyzin die Bindung von Glutamat und damit die Funktion der NMDARs fördert und umgekehrt (Kemp et al. 1993; Thomson 1989).

Hinzu kommt, dass präklinische Studien ergaben, dass Agonisten der GMS – beispielsweise Glyzin, D-Serin, partiell D-Cycloserin und D-Alanin (Jansen et al. 2003; Kim et al. 2009) – die Effekte von dissoziativen Anästhetika wie Ketamin oder PCP aufheben können, dabei aber nicht neurotoxisch wirken (Javitt et al. 1999).

Daher rückt bei dem Versuch die glutamaterge Neurotransmission zu verbessern, die Glyzinbindungsstelle aufgrund der sich bietenden Möglichkeit, NMDARs indirekt anzuregen, ins Zentrum des Interesses.

Eine Gefahr der direkten Stimulation der NMDARs ist nämlich, dass sie zu Exzitotoxizität und neuronaler Degeneration führen kann (Coyle 2006; Jansen et al. 2003; Kim et al. 2009).

Das meiste Glyzin, welches an die NMDARs bindet, stammt aus Glia-Zellen, ein weiterer Teil kommt allerdings aus angrenzenden glycinergen Nervenendigungen und ist eigentlich für inhibitorische GlyRs gedacht. Zu diesen hat Glyzin jedoch eine deutlich niedrigere Affinität als zur GMS (Eulenburg et al. 2005; Millan 2002).

Ein Glyzintransporter (GlyT) reguliert die synaptischen Glyzin-Konzentrationen (Coyle et al. 2002); dessen astrozytärer Subtyp Gly-T1 sorgt dafür, dass die Glyzinbindungsstelle des NMDAR nie gesättigt ist (Eulenburg et al. 2005).

Wenn die NMDAR-Funktion tatsächlich über die Menge an verfügbarem Glyzin moduliert werden kann, sollte die Aktivität der NMDA-Rezeptoren steigen, wenn man diesen

Transporter inhibiert. Momentan werden daher einige GlyT-1-Inhibitoren auf ihre Wirkung überprüft (Kim et al. 2009).

Wie bereits erwähnt bindet Glyzin im ZNS außer an die GMS der NMDA-Rezeptoren auch noch an inhibitorische Glyzinrezeptoren, welche aus verschiedenen Untereinheiten bestehen. Eine davon, die Beta-Untereinheit, wird von dem Gen GLRB (Glyzin Rezeptor, Beta) codiert, das in dieser Arbeit auf seine Assoziation mit der Schizophrenie untersucht wird (Salt 1989).

1.3 Glyzin Rezeptor, Beta (GLRB)

Das Gen GLRB, kurz für Glyzin Rezeptor, Beta liegt beim Menschen auf Chromosom 4.

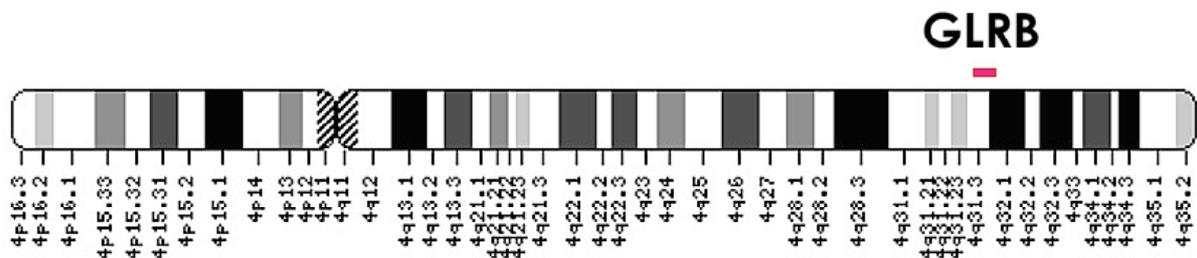


Abbildung 3: Die Lage des Gens GLRB auf Chromosom 4 (Mapview 2008).

Es codiert für die Beta-Untereinheit des inhibitorischen Glyzinrezeptors (GlyR), welcher aufgrund der Tatsache, dass Strychnin die Glyzinbindung an den Rezeptor antagonisieren kann, auch Strychnin-sensitiver Glyzinrezeptor genannt wird (OMIM 2005).

1990 wurde die Beta-Untereinheit zum ersten Mal kloniert (Grenningloh et al. 1990). Handford et al. lokalisierten GLRB 1996 an Position 4q32 (Handford et al. 1996), zwei Jahre später gaben Milani et al. 4q31.3 als Position für GLRB an (Abb. 3). Dabei zeigte sich auch, dass sich der codierende Anteil von GLRB über neun Exons erstreckt (Milani et al. 1998).

Der Startpunkt des Gens auf Chromosom 4 liegt bei 158 216 788 Basenpaaren, der Endpunkt bei 158 312 304 Basenpaaren (GeneCards 2009).

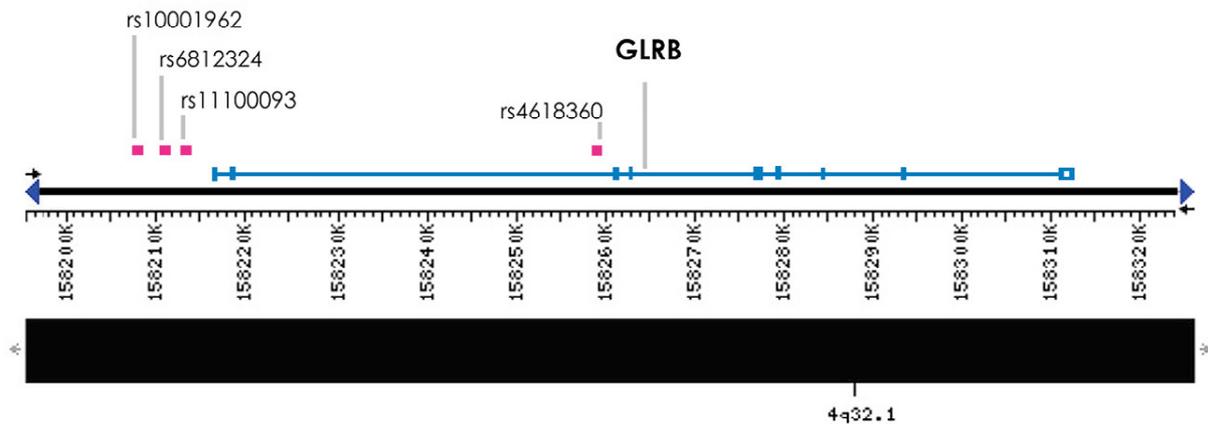


Abbildung 4: Die Lage der in dieser Arbeit untersuchten Einzelnukleotidpolymorphismen rs10001962, rs6812324, rs11100093 und rs4618360 in Bezug auf das Gen GLRB (Mapview 2008).

1.3.1 Inhibitorische Glyzinrezeptoren (GlyRs) und ihre Beta-Untereinheit

Die inhibitorischen Glyzinrezeptoren des Menschen sind Pentamere aus α_{1-3} und β Untereinheiten, die – unterschiedlich kombiniert – einen Chlorid-Kanal bilden (Abb. 5).

Sie gehören zu den ionotropen Rezeptoren (Breitinger et al. 2002).

Den Untereinheiten der inhibitorischen Glyzinrezeptoren ist gemeinsam, dass sie aus einer großen extrazellulären Domäne (N) und vier transmembranalen Segmenten (TM1-TM4) bestehen (Handford et al. 1996; Langosch et al. 1990; Milani et al. 1998).

Die Beta-Untereinheit kann, anders als die Alpha-Untereinheiten, an das intrazelluläre Ankerprotein Gephyrin binden, wodurch ermöglicht wird, dass sich Cluster aus GlyRs bilden können (Milani et al. 1998).

Ein weiterer Unterschied zur Alpha-Untereinheit ist, dass die Beta-Untereinheit alleine keinen Chloridkanal formen kann, sondern nur gemeinsam mit Alpha-Untereinheiten heteromere GlyR bildet.

Im Zusammenspiel mit Alpha-Untereinheiten jedoch erhöht sie die Effizienz des Rezeptors (Zafra et al. 1997) und scheint außerdem in heteromeren GlyRs entscheidend für deren Ligandenbindungsverhalten (Grudzinska et al. 2005) zu sein.

Klassischerweise sind GlyRs dafür bekannt, dass sie - vor allem in Rückenmark und Hirnstamm auf postsynaptischen Neuronen - inhibitorische Signale vermitteln und so bei

der Muskelbewegung und Reflexaktivität eine Rolle spielen (Aragon et al. 2003; Lynch 2009).

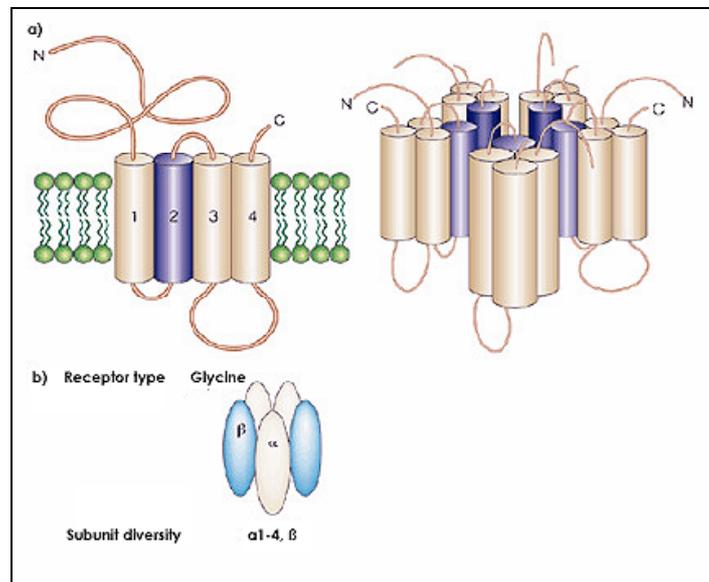


Abbildung 5: Die Struktur des inhibitorischen Glyzinrezeptors (Moss et al. 2001)

In höher gelegenen Hirnarealen gilt GABA als der vorherrschende inhibitorische Neurotransmitter; dennoch, die Beta-Untereinheit des GlycR wird im gesamten Gehirn und Rückenmark im Überfluss exprimiert, während die Alpha-Untereinheiten je nach Subtyp eher in bestimmten Bereichen des ZNS anzutreffen sind, alpha-2 beispielsweise unter anderem in Cortex, Hippocampus und Thalamus (Bechade et al. 1994; Malosio et al. 1991; Zafra et al. 1997).

GlyRs scheinen in der grauen Substanz des Rückenmarks, in der Medulla oblongata, in Hypothalamus und Thalamus vorzukommen (Rajendra et al. 1997).

Brackmann et al. konnten zeigen, dass GlyRs in etlichen Neuronen, Interneuronen und Pyramidenzellen des Hippocampus exprimiert werden und sogar Einfluss auf hippocampale Langzeitpotenzierung haben können, ein Vorgang der mit der Plastizität des Gehirns in Zusammenhang gebracht wird (Brackmann et al. 2004).

Ebenso ist inzwischen bekannt, dass auch die Basalganglien – besonders die Substantia nigra – GlyRs enthalten. Man nimmt an, dass sie dort Einfluß auf dopaminerge, cholinerge und GABAerge Nervenbahnen haben (Waldvogel et al. 2007).

Die inhibitorischen Chloridkanäle sitzen üblicherweise in postsynaptischen Membranen, es scheint jedoch zumindest im Nucleus trapezoidalis medialis (mittlerer Trapezkörperkern), auch präsynaptische GlyRs zu geben (Turecek et al. 2001), dort führen sie zu einem erhöhten exzitatorischen postsynaptischen Potential und vermehrter Transmitterausschüttung.

In utero steht den corticalen GlyRs noch wenig Glyzin zur Verfügung, dennoch scheinen sie aktiviert zu werden. Höchstwahrscheinlich wirkt das zu diesem Zeitpunkt noch reichlich im Neocortex vorhandene Taurin statt des fehlenden Glyzins als Ligand an den GlyRs.

Die Folge einer Ligandenbindung in diesem Stadium der Entwicklung ist eine Depolarisation der Zelle mit anschließendem Calciumeinstrom anstelle einer Hyperpolarisation, für die ein GlyR später im Leben bekannt ist (Aragon et al. 2003; Flint et al. 1998).

Diese Depolarisation wird dadurch bedingt, dass in den prä- und neonatalen Neuronen aufgrund eines noch fehlenden Kalium-Chlorid-Cotransporters hohe intrazelluläre Chloridkonzentrationen vorliegen, ein Zustand der bis etwa zum 10. postnatalen Tag anhält.

Besonders interessant ist, dass die Taurin- und GlyR-Expression genau dann stattfindet, wenn die Synaptogenese ihren Höhepunkt erreicht und da intrazelluläre Calciumanstiege als Folge von Depolarisationen während der Hirnentwicklung als wichtig für die Migration und Differenzierung erachtet werden, könnten GlyRs eine wichtige Rolle bei der Synapsenbildung und – stabilisierung spielen (Aragon et al. 2003; Flint et al. 1998).

Dies ist eine sehr spannende Beobachtung, wenn man bedenkt, dass Hirnentwicklungsstörungen eine entscheidende Rolle in der Schizophrenie zu spielen scheinen.

1.3.2 Genetische Abweichungen in GLRB und ihre Folgen

Zu GLRB gibt es bisher noch nicht viele Untersuchungen; trotzdem wurde der ein oder andere Zusammenhang zwischen GLRB betreffenden genetischen Veränderungen und neurologischen oder psychiatrischen Erkrankungen gefunden.

Ramanathan et al. schildern beispielsweise den Fall eines autistischen Kindes, welches eine Deletion des Chromosoms 4 zwischen 4q31.3 und 4q33 vorwies, also derjenigen Region, in der sich auch das Gen GLRB befindet (Ramanathan et al. 2004).

Dazu ist zu bemerken, dass Autismus und Schizophrenie nicht nur ähnliche Defizite in Bereichen der sozialen Wahrnehmung aufweisen (Couture et al. 2009), sondern häufig auch dieselben genetischen Variationen teilen (Burbach et al. 2009; Guilmatre et al. 2009).

Eine andere Arbeitsgruppe fand einen signifikanten Zusammenhang zwischen zwei Polymorphismen von GLRB und Essstörungen sowie Zwangserkrankungen (Gratacos et al. 2008).

Genetische Veränderungen von GLRB wurden auch bezüglich eventueller Suszeptibilität für die Idiopathische Generalisierte Epilepsie in Erwägung gezogen, es ließ sich aber keine Assoziation finden (Sobetzko et al. 2001).

In einer weiteren Studie, die indirekt an GLRB denken lässt, wurde getestet, ob ein Zusammenhang zwischen Mutationen des Glyzin Rezeptor, Alpha2, ebenfalls ein Gen des inhibitorischen Glyzinrezeptors und Schizophrenie ein Zusammenhang besteht, es konnte jedoch keiner nachgewiesen werden (Feng et al. 2001).

Die vielversprechendsten Daten gibt es momentan für GLRB und Hyperekplexie bzw. den *Startle*-Reflex. Bei Hyperekplexie handelt es sich um eine autosomal dominant vererbte, neurologische Erkrankung, die sich vor allem durch einen extrem verstärkten *Startle*-Reflex und neonatale Hypertonie charakterisieren lässt (Rees et al. 2002; Zhou et al. 2002). Verschiedene Mausmodelle konnten zeigen, dass eine gestörte glycinerge Neurotransmission bei *Startle*-Syndromen eine entscheidende Rolle spielt ((Koch et al. 1996; Rajendra et al. 1997) Es handelt sich dabei um die Mausmodelle „*spasmodic*“, bei dem eine Missensemutation in der Alpha1-Untereinheit des GlyR vorliegt, „*oscillator*“, bei dem eine Leserasterverschiebung die Alpha1-Untereinheit verändert und „*spastic*“, bei dem eine Insertion in GLRB zu irregulärem Spleißen führt (Koch et al. 1996; Rajendra et al. 1997).

Unter anderem deshalb deutet vieles darauf hin, dass nicht nur GLRA1 (Glyzin Rezeptor, Alpha1), sondern auch GLRB mit Hyperekplexie assoziiert ist (Rees et al. 2002; Zhou et al. 2002).

Zu dem Zusammenhang zwischen glycinerner Neurotransmission und *Startle*-Syndromen ist zu bemerken, dass eine gestörte *Startle*-Reaktion beziehungsweise eine gestörte *Prepulse Inhibition* (PPI) - also eine Störung der sensomotorischen Bahnung - vielfach bei schizophrenen Patienten gefunden wurde (Howard et al. 1992; Swerdlow et al. 2008).

1.4 Fragestellung

Es gilt heute als gesichert, dass eine genetische Komponente an der Entstehung der Schizophrenie beteiligt ist, dennoch ist aufgrund der Komplexität der Erkrankung bisher wenig bekannt.

Assoziationsstudien bieten dabei eine gute Möglichkeit, um weitere Suszeptibilitätsgene mit kleinen Effekten zu finden.

Weder für GLRB an sich, noch für die genannten Polymorphismen wurde bisher ein Zusammenhang mit Schizophrenie untersucht.

Der Neurotransmitter Glyzin wirkt sowohl an NMDA-Rezeptoren als auch an inhibitorischen Glyzinrezeptoren, welche im ZNS des Menschen viel weiter verbreitet sind, als früher angenommen wurde. Über ihre Funktion ist noch längst nicht alles bekannt, sie scheinen jedoch an der Gehirnentwicklung und neuronalen Plastizität beteiligt zu sein.

Außerdem könnten neurophysiologische Befunde bei schizophrenen Patienten, wie die gestörte *Prepulse Inhibition*, mit den inhibitorischen Glyzinrezeptoren in Verbindung stehen.

Daher scheinen der inhibitorische Glyzinrezeptor und damit natürlich die für ihn codierenden Gene interessante Kandidaten für einen Zusammenhang mit Schizophrenie zu sein.

Ziel dieser Arbeit ist es, festzustellen, ob zwischen den untersuchten Polymorphismen rs10001962, rs6812324, rs11100093 und rs4618360 des Gens GLRB und Schizophrenie eine Assoziation besteht.

2 Material und Methoden

Es handelt sich bei dieser Arbeit um eine Fall-Kontroll-Assoziationsstudie; insgesamt wurden 613 Kontrollprobanden und 511 Patienten eingeschlossen.

Von diesen wurden jeweils die SNPs rs10001962, rs6812324, rs11100093 und rs4618360 des Gens GLRB genotypisiert und geprüft, ob für diese SNPs eine Assoziation zu Schizophrenie besteht.

Tabelle 1: Untersuchte *Single Nucleotide Polymorphisms*

Gen	SNP_ID	Chromosom	Allele	Funktion	Contig	Chrom_pos
GLRB	rs10001962	4q32.1	A:G	5' Genregion	NT_016354.18	158208000
GLRB	rs6812324	4q32.1	C:T	5' Genregion	NT_016354.18	158211042
GLRB	rs11100093	4q32.1	A:T	5' Genregion	NT_016354.18	158213492
GLRB	rs4618360	4q32.1	A:C	Intron 2	NT_016354.18	158259160

2.1 Vorbedingungen der Studie

Die Studie wurde mit der Zustimmung der lokalen Ethikkommission durchgeführt.

Alle Studienteilnehmer wurden ausführlich über Ziel und Inhalt der Studie, über die Anonymisierung der Daten sowie ihrer Blutproben aufgeklärt und unterschrieben anschließend eine Einverständniserklärung.

Zu jedem Zeitpunkt der Studie durften sie sich gegen eine weitere Teilnahme entscheiden ohne dafür Gründe angeben zu müssen.

2.2 Studienteilnehmer

2.2.1 Kontrollprobanden

Die Rekrutierung der Kontrollprobanden verlief in mehreren Phasen. Mit Hilfe des Einwohnermeldeamtes wurden nicht verwandte Personen aus München und Umgebung randomisiert ausgewählt und per Post zu einer Teilnahme an der Studie eingeladen.

Kam eine positive Rückmeldung, folgte daraufhin ein standardisiertes Telefoninterview um mögliche psychiatrische, neurologische oder psychische Erkrankungen des potentiellen Probanden und seiner Familie auszuschließen, da nur neuropsychiatrisch unauffällige Kontrollprobanden eingeschlossen werden sollten.

Zusätzlich wurde überprüft, ob die Probanden deutschstämmig waren.

War dies der Fall und das Telefoninterview unauffällig, wurden mittels eines Anamnesebogens (Anamnese 1) allgemeine Daten, wie beispielsweise Schullaufbahn, Familienstand und Abstammung, sowie noch einmal besonders detailliert somatische und psychiatrische Vorerkrankungen – insbesondere Angststörungen, Essstörungen, affektive Störungen, Erkrankungen aus dem schizophrenen Spektrum, Alkohol- und Drogenkonsum, - missbrauch oder - abhängigkeit, Rauchverhalten und Suizidalität – sowohl des Probanden als auch in dessen Familie, erhoben.

Lagen keinerlei Anhaltspunkte für neuropsychiatrische Erkrankungen bei ihm oder in seiner Familie vor, wurde der Proband zu einem ausführlichen Interview eingeladen.

Hierbei kam das Strukturierte Klinische Interview für DSM-IV (SKID), Achse I und II zum Einsatz (Wittchen et al. 1997).

SKID I und II sind halbstrukturierte klinische Interviews, deren hohe Reliabilität sie zu einem geeigneten Instrument in der psychiatrischen Forschung machten (Segal et al. 1994; Skre et al. 1991).

Das SKID I dient der Diagnostik von Achse I Störungen nach dem DSM-IV, es können affektive Syndrome, psychotische Syndrome, psychotische Störungen, affektive Störungen, Missbrauch und Abhängigkeit von psychotropen Substanzen, Angststörungen, somatoforme Störungen und Essstörungen diagnostiziert werden.

Das SKID II dient der Diagnostik von Persönlichkeitsstörungen gemäß der Achse II des DSM-IV.

Des Weiteren wurde mittels des *Family History Assessment Modules* (FHAM; (Rice et al. 1995)) noch einmal überprüft, ob auch in der Verwandtschaft des Probanden keine psychiatrischen Diagnosen vorlagen.

Mithilfe des Leipziger Ereignis- und Belastungsinventars (LEBI; (Richter et al. 1996)) wurden bisher erlebte belastende Lebensereignisse strukturiert erfasst. Zusätzlich wurde mit einem zweiten Anamnesebogen (Anamnese 2) die genaue berufliche Karriere, Verhaltensweisen in Kindes- und Jugendalter, finanzielle Mittel und Partnerschaften abgefragt.

Nur wenn sich auch nach diesem Interview keine Hinweise auf eine neurologische oder psychiatrische Erkrankung bei den Probanden oder ihrer Verwandtschaft zeigten, wurden die Kontrollprobanden in die Studie eingeschlossen.

Insgesamt konnten so 613 gesunde deutschstämmige Kontrollprobanden für die Studie gewonnen werden; 281 (45,8%) davon waren männlich, 332 (54,2%) weiblich.

Die Altersspanne reichte von 20 bis zu 72 Jahren, wobei der Mittelwert bei 45,25 Jahren lag (Standardabweichung: 15,25) (Tab. 3).

2.2.2 Schizophrene Patienten

Bei der Rekrutierung der Patientengruppe war das Ziel, Personen kaukasischen Ursprungs auszuwählen, bei denen die lifetime-Diagnose einer Schizophrenie vorlag.

Wie bei den Kontrollprobanden wurde auch mit den Patienten eine einführende standardisierte Anamnese durchgeführt (Anamnese 1+2), die eigene und familiäre somatische, neurologische und psychiatrische Erkrankungen, die bisherige Lebensgeschichte, Besonderheiten in Kindheit und Jugend, Medikamenteneinnahme, Alkohol- und Drogenkonsum, vorangegangene psychiatrische Behandlung und stationäre Aufenthalte, eventuelle Suizidversuche, schulische und berufliche Laufbahn sowie die familiäre Situation aufzeigte.

Anschließend wurde anhand des SKID I die vorliegende Diagnose einer Schizophrenie nach der Definition des DSM-IV (Saß et al. 1996) überprüft und die Unterteilung des phänomenologischen Subtypus in paranoid, kataton, hebephren (desorganisiert) und undifferenziert vorgenommen.

Das DSM-IV fordert für die Diagnose einer Schizophrenie mindestens zwei der fünf charakteristischen Merkmale Wahnvorstellungen, Halluzinationen, desorganisierte Sprechweise, grob desorganisiertes oder katonisches Verhalten und Negativsymptomatik wie Antriebshemmung, Alogie und flacher Affekt.

Lediglich ein Merkmal reicht aus, wenn es sich dabei um bizarre Wahnvorstellungen oder Halluzinationen in Form von kommentierenden oder dialogisierenden Stimmen handelt.

Diese Symptome müssen über einen Zeitraum von mindestens sechs Monaten bestehen, wobei die Positivsymptomatik mindestens einen Monat lang angehalten haben muss.

Der Schweregrad der Erkrankung wurde hinsichtlich des aktuellen Zustandes, aber auch bezüglich des schlimmsten Ausmaßes das jemals vorgelegen hatte, beurteilt.

Weiterhin war das Alter bei Einsetzen der Prodromalsymptomatik, das Alter bei Erstmanifestation von psychotischen Symptomen und das Verlaufsmuster, vor allem hinsichtlich Remission, Residualsymptomen und Negativsymptomatik, von Interesse.

Eventuell vorliegende Komorbiditäten, wie beispielsweise Alkohol- und Drogenmissbrauch/- Abhängigkeit, Posttraumatische Belastungsreaktion, Affektive Störungen, Panik-, Zwangs-, Angst-, Anpassungsstörungen sowie Somatoforme- und Essstörungen der Patienten wurden durch die unterschiedlichen Sektionen des SKID I ebenfalls abgefragt.

Bei entsprechendem Verdacht konnte sich daran auch noch der SKID II anschließen, um eine Persönlichkeitsstörung auszuschließen.

Differenzialdiagnostisch musste definitiv eine Schizophrenie vorliegen; war das Ergebnis des SKID I eine schizoaffektive oder schizophreniforme Störung, eine affektive Störung mit psychotischen Merkmalen oder lag die Störung bisher für die Kriterien des DSM-IV zu kurz vor, war dies ein Ausschlusskriterium.

Zusätzlich zu Anamnese 1, Anamnese 2 und dem SKID wurde bei der Patientengruppe die *Positive And Negative Syndrome Scale* (PANSS) angewandt.

Die PANSS ist ein formalisiertes psychiatrisches Interview, das von Kay et al. veröffentlicht wurde (Kay et al. 1987; Kay et al. 1986).

30 Symptome werden anhand einer siebenstufigen Skala von 1 (nicht vorhanden) bis 7 (extrem ausgeprägt) bewertet. Die Symptome sind drei Skalen zugeordnet: der Positivskala, der Negativskala und der Skala der Allgemeinpsychopathologie (Tab. 2).

Die Bewertung verlief nicht nur bezüglich des derzeitigen Schweregrades, es wurde auch versucht, eine Einschätzung bezüglich des Zeitpunktes vorzunehmen, zu dem die stärkste Ausprägung der Erkrankung vorgelegen hatte.

Nur diejenigen Patienten wurden schließlich in die Studie aufgenommen, bei denen die schizophrene Symptomatik nicht die Folge von Substanzmissbrauch bzw. – abhängigkeit oder anderer körperlicher Erkrankungen war.

Entsprechend wurden beispielsweise alle Patienten, bei denen vor Beginn der Prodromalphase eine Epilepsie, eine Enzephalopathie oder ein Schädel-Hirntrauma vorlag, aber auch Patienten mit HIV- oder Hepatitis C-Infektion bzw. lifetime-i.v.-Drogenkonsum von der Studie ausgeschlossen.

Tabelle 2: Die Symptome der PANSS und ihre Zuordnung zu den drei Skalen (Kay et al. 1986)

Positivskala	Negativskala	Skala der Allgemeinpsychopathologie	
Wahnideen	Affektverflachung	Sorge um die Gesundheit	ungewöhnliche Denkinhalte
formale Denkstörungen	emotionaler Rückzug	Angst	Desorientiertheit
Halluzinationen	mangelnder affektiver Rapport	Schuldgefühle	mangelnde Aufmerksamkeit
Erregung	soziale Passivität und Apathie	Anspannung	mangelnde Urteilsfähigkeit und Einsicht
Größenideen	Schwierigkeiten beim abstrakten Denken	Manierismen und unnatürliche Körperhaltung	Willensschwäche
Misstrauen/ Verfolgungsideen	Mangel an Spontaneität und Flüssigkeit der Sprache	Depression	mangelnde Impulskontrolle
Feindseligkeit	stereotype Gedanken	motorische Verlangsamung	Selbstbezogenheit
		unkooperatives Verhalten	aktives soziales Vermeidungsverhalten

Auf diese Weise konnten 511 schizophrene Patienten kaukasischen Ursprungs rekrutiert werden, wovon 332 (65%) männlich und 179 (35%) weiblich waren.

Die Altersspanne der Patienten reichte von 18 bis zu 70 Jahren, mit einem Mittelwert von 37,8 Jahren (Standardabweichung: 11, 353) (Tab. 3).

Tabelle 3: Übersicht Studienteilnehmer

	Alter MW (SD) in Jahren	Geschlecht n (%)		Gesamt n (%)
		männlich	weiblich	
Kontrollprobanden	45,25 (15,250)	281 (45,8)	332 (54,2)	613 (100,0)
Patienten	37,80 (11,353)	332 (65,0)	179 (35,0)	511 (100,0)
Gesamt	-	613 (54,537)	511 (45,463)	1124 (100,0)

2.3 Laborverfahren

2.3.1 DNA-Extraktion

Von allen Studienteilnehmern wurde mithilfe von EDTA-Monovetten, um die Gerinnung des Blutes zu vermeiden, venöses Blut abgenommen.

Anschließend erfolgte die Extraktion der genomischen DNA mit dem QIAamp Blood Maxi Kit, entsprechend dem vorgegebenen Protokoll (QIAamp 2005).

Zu Beginn werden dabei 500µl Proteinase K vorgelegt und mit 5-10ml Vollblut versetzt, um die darin befindlichen Nukleinsäuren freizusetzen und weitere Blutbestandteile, die später die Polymerasekettenreaktion (PCR) stören könnten, zu lysieren.

Da die DNA für die Extraktion an eine Silicamembran binden soll und ihr dazu die Hydrathülle entzogen werden muß, werden 12ml eines Guanidin-HCL-Puffers (Puffer AL, Qiagen) hinzugegeben und die Lösung zwei Minuten lang auf einem Vortexer gemischt. Anschließend wird die Mischung bei 70°C für 30 Minuten im Wasserbad inkubiert, um den DNA-Gewinn zu maximieren.

Für die Fällung der DNA aus diesem Gemisch wird die Probe nun mit 96-100% Ethanol (10ml) versetzt und wieder für zwei Minuten auf dem Vortexer gemischt.

In einem nächsten Schritt wird diese Lösung dann nach und nach auf eine Silicamembran pipettiert und für jeweils 3 Minuten bei 3000 Umdrehungen pro Minute (rpm) zentrifugiert. Hierbei bindet die DNA an die Silicamembran, während RNA und Nukleinsäure-bindende Proteine durch die vorherrschenden Salz- und pH-Bedingungen ungebunden bleiben und über das Filtrat verworfen werden können.

Um letzte Proteinverunreinigungen zu beseitigen folgt nun die Zugabe von 5ml eines zweiten, Guanidin-HCL-haltigen Puffers (Waschpuffer AW1, Qiagen) und eine weitere Minute bei 5000 rpm in der Zentrifuge.

Nach Zugabe eines dritten, ethanolhaltigen Puffers (Waschpuffer AW2, Qiagen) wird anschließend noch einmal 15 Minuten lang bei 5000 rpm zentrifugiert um entstandene Verunreinigungen durch Guanidiniumsalze zu entfernen.

Abschließend erfolgt die Elution der DNA von der Silicamembran durch Zugabe von 1ml des basischen TRIS-Puffers (Puffer AE, Qiagen, pH>9,0).

Nach einer Inkubationszeit von 5 Minuten bei Raumtemperatur wird für 5 Minuten bei 5000 rpm zentrifugiert und die unter den zuvor sauren Bedingungen an die Silicamembran gebundene DNA so eluiert.

2.3.2 Bestimmung der DNA-Konzentration

Die DNA, die auf dem oben beschriebenen Weg gewonnen wurde, hat zu diesem Zeitpunkt noch eine unbekannt Konzentration, daher wurde selbige mithilfe von PicoGreen (Invitrogen) bestimmt.

Dabei handelt es sich um ein fluoreszierendes Färbemittel, das hochselektiv mit doppelsträngiger DNA interkaliert und dessen Fluoreszenz direkt von der in der Probe enthaltenen Menge an DNA abhängt (Invitrogen 2009). Dadurch können selbst kleinste Mengen quantifiziert werden.

Zunächst wird dazu eine Verdünnungsreihe mit einer humanen genomischen Standard DNA bekannter Konzentration (100ng/µl, Clontech) gebildet, die später als Eichkurve für die DNA unbekannter Konzentration dienen wird (Tab. 4).

Auch die DNA aus unseren Blutproben wird 1:10 mit H₂O bidest. vorverdünnt, damit die Konzentration den Messbereich nicht übersteigt.

Zusätzlich wird das PicoGreen-Gemisch vorbereitet. Dazu wird das gefrorene PicoGreen-Reagenz etwa sechzig Minuten bei Raumtemperatur in einem lichtundurchlässigen Behälter aufgetaut und anschließend in einem mit Aluminiumfolie umhüllten 50ml-Röhrchen mit Tris-EDTA-Puffer im Verhältnis 1:200 verdünnt.

Auf eine Messplatte (96 well flat bottom plate, black, Greiner) werden mithilfe eines Roboters (Janus Automated Workstation, Perkin Elmer), der sämtliche folgenden Pipettierschritte übernimmt, zunächst in jedes well (Vertiefung) 50µl H₂O vorgelegt.

Jeweils 5µl der absteigenden Konzentrationen (beginnend mit der höchsten Konzentration: 100ng/µl) der Standard DNA Verdünnungsreihe werden dann in die wells A-H der Spalten 1 und 2 pipettiert, sodass die Verdünnungsreihe zweifach vorhanden ist (Tab. 4).

Tabelle 4: DNA-Verteilung auf die 96-well Messplatte am Beispiel der ersten 16 wells

	genomische Standard DNA Verdünnungsreihe (jeweils 5µl)	
	1	2
A	100ng/µl	100ng/µl
B	50ng/µl	50ng/µl
C	25ng/µl	25ng/µl
D	12,5ng/µl	12,5ng/µl
E	6,25ng/µl	6,25ng/µl
F	3,125ng/µl	3,125ng/µl
G	1,5625 ng/µl	1,5625 ng/µl
H	0 ng/µl	0 ng/µl

Die vorverdünnte DNA unbekannter Konzentration wird nun ebenfalls 5µl-weise in die wells A-H der beiden nächsten Spalten der Messplatte pipettiert, sodass auch sie doppelt vorliegt.

Nun werden pro well noch 145µl PicoGreen-Gemisch pipettiert und die Messplatte mithilfe eines Greifers in ein Fluoreszenzmessgerät (Victor³ 1420 Multilabelcounter) transportiert.

Dort wird die Messplatte für 30 Sekunden in Doppelkreisen geschüttelt und dann das PicoGreen durch Licht der Wellenlänge 485nm angeregt und die Fluoreszenz bei 535nm für 0,1 Sekunde pro well gemessen.

Ein Computer (Optiplex GX620 Pentium 4 HT, Dell) berechnet den Mittelwert aus den Messergebnissen der wells gleicher Konzentration (also zum Beispiel well A1 und A2; s. Tabelle 4) und ermittelt über die Konzentrationen der Standard DNA Verdünnungsreihe die Konzentration in der DNA Probe unbekannter Konzentration.

Als letztes wird die DNA mithilfe des Roboters und H₂O (bidest.), auf eine Konzentration von 50ng/µl eingestellt.

2.3.3 Genotypisierung

2.3.3.1 iPLEX-Verfahren

Bei iPLEX handelt es sich um eine Methode zur Einzelbasenextension (SBE= *Single Base Extension*), die in Kombination mit der MALDI TOF MS (*Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation Time Of Flight Mass Spectrometry*) der Firma Sequenom, bei sehr hoher Sensitivität und Exaktheit, der automatisierten Genotypisierung von SNPs dient.

Das Verfahren basiert auf drei Schritten. Zunächst erfolgt eine klassische PCR des Genombereichs in dem die SNPs liegen, dann eine Behandlung mit SAP (*Shrimp Alkaline Phosphatase*) um überschüssige Nukleotide zu dephosphorylieren, die später die Messung stören würden und schließlich die spezielle iPLEX-Extensionreaktion, bei der für jedes Allel der SNPs ein massenspezifisches Produkt resultiert.

2.3.3.1.1 Klassische PCR

1983 wurde die „polymerase chain reaction“ von Kary Mullis und seinen Mitarbeitern entwickelt (Mullis 1990; Saiki et al. 1988) und ist inzwischen, vor allem seit der Entdeckung thermostabiler DNA-Polymerase (Taq-Polymerase, nach dem Eubakterium *Thermophilus*

aquaticus, aus dem sie stammt) zu einer unentbehrlichen Methode der Forschung geworden, mit der sich selbst winzigste Mengen DNA nachweisen lassen.

Dies wird dadurch ermöglicht, dass bei der PCR durch das Enzym DNA-Polymerase Abschnitte der DNA vervielfältigt werden können.

Dafür werden zwei sogenannte Primer benötigt, Oligonukleotide, die komplementär an jeweils ein Ende der erwünschten DNA-Sequenz binden.

Zusätzlich werden Desoxynukleotidtriphosphate (dNTPs) im Überschuss benötigt, die dann durch die DNA-Polymerase an die 3'-OH-Enden der Primer angehängt werden.

Die Reaktion muss unter geeigneten Pufferbedingungen stattfinden und basiert auf drei Unterschritten, die zyklisch wiederholt werden.

Denaturierung

Bei ca. 94°C wird die DNA denaturiert, also in ihre Einzelstränge zerlegt.

Annealing der Primer

Nach Abkühlen auf etwa 50-70°C können die ausgewählten Primer spezifisch an den komplementären DNA-Strang binden.

Extension

Bei ca. 70°C werden die Primer dann von der DNA-Polymerase als Startpunkte für den Anbau von dNTPs genutzt, was zu einer Kopie der Matrizenstränge führt.

Auf diese Weise kommt es zu einer exponentiellen Vermehrung des gewünschten DNA-Abschnittes, da die entstandenen Matrizenstrangkopien (Elongationsprodukte) im nächsten Zyklus selbst als Matrix (*template*) für eine neue Kopie dienen.

Innerhalb dieser initialen, „klassischen“ PCR wird der den jeweiligen SNP umgebende Bereich amplifiziert.

Um für gute Reaktionsbedingungen zu sorgen wurde dazu ein Gemisch aus autoklaviertem H₂O (1,850µl), PCR Puffer mit MgCl₂ (0,625µl; Qiagen), MgCl₂ (0,325µl à 25nM; Qiagen), dNTP (0,1µl à 25nM; Abgene), Primer Mix (1µl; Qiagen), genomischer DNA (1µl à 5-10ng/µl) und Hotstar Taq (0,100µl à 5U/µl; Qiagen) vorbereitet.

Nun erfolgt die PCR in einem Thermocycler, in welchem die Proben zunächst für 15 Minuten auf 94°C erhitzt (initiale Denaturierung) und dann auf dieser Temperatur für 20 Sekunden gehalten werden (Denaturierung).

Daraufhin werden die Proben für 30 Sekunden auf 56°C abgekühlt (Annealing der Primer) und anschließend für eine Minute auf 72°C erhitzt (Extension).

Die drei letzten Schritte werden insgesamt 45mal durchgeführt, um genügend *templates* zu erzeugen.

Nach dem 45. Zyklus wird die Temperatur für weitere drei Minuten auf 72°C gehalten, die Proben dann auf 4°C abgekühlt und bei dieser Temperatur bis zur Weiterverwendung gelagert.

2.3.3.1.2 SAP Behandlung

Bei der PCR werden nicht alle hinzugegebenen Nukleotide für die Amplifikation verbraucht, überflüssige Nukleotide würden aber später die Messung im Massenspektrometer stören.

Daher werden sie durch Zugabe des Enzyms „*shrimp alkaline polymerase*“ (SAP) dephosphoryliert und dadurch inaktiviert.

Konkret wird dazu ein Gemisch aus autoklaviertem H₂O (1,530µl), SAP 1U/µl (0,300µl) und 10x SAP Puffer (0,170µl) angesetzt und dieses 2µl-Gemisch vorsichtig mit 5µl des PCR-Produktes gemischt (Vortex).

Dann werden die Proben für 20 Minuten bei 37°C inkubiert und anschließend für fünf Minuten auf 85°C erhitzt um die SAP zu inaktivieren.

In einem letzten Schritt werden die mit SAP behandelten PCR-Produkte wieder auf 4°C heruntergekühlt.

2.3.3.1.3 iPLEX-Extensionsreaktion

Bei der iPLEX-Extensionsreaktion handelt es sich um eine Einzelbasenextension, bei der statt dNTPs, Didesoxynukleotide (ddNTPs) dem Gemisch hinzugefügt werden. Die Primer müssen so konzipiert sein, dass sie unmittelbar vor dem zu untersuchenden SNP an die per PCR amplifizierte DNA binden.

Das Besondere dabei ist, dass die DNA-Polymerase die Primersequenz immer nur um ein ddNTP verlängern kann, da dieses aufgrund seiner biochemischen Struktur zum Abbruch der Polymerisationsreaktion führt.

Wie schon bei der klassischen PCR kommt es also zur Verlängerung von DNA, die Extension ist jedoch auf jeweils ein Nukleotid beschränkt, welches komplementär zu dem gesuchten SNP ist.

Da die vier verschiedenen Basen der DNA unterschiedliche Massen haben, kann man nach der Amplifizierung mithilfe eines Massenspektrometers feststellen, um welche Base der Primer verlängert wurde. Die dazu jeweils komplementäre Base entspricht dem gesuchten SNP.

Das iPLEX-Gemisch für diese Extensionsreaktion besteht aus autoklaviertem H₂O (0,755µl), iPLEX Puffer (0,200µl; Sequenom), iPLEX Abbruch-Mix (0,200µl; Sequenom), Primer Mix (0,804µl à 7:14µM; Sequenom) und iPLEX Enzym (0,041µl; Sequenom).

Zusammen mit der zuvor mithilfe der klassischen PCR amplifizierten DNA kommt diese Mischung in einen Thermocycler, in dem nochmal eine PCR stattfindet.

Diesmal besteht das Programm für die unterschiedlichen Stufen der PCR aus zwei Zyklusschleifen, sodass letztendlich 200 Zyklen resultieren.

Zuerst wird die Probe dabei für 30 Sekunden auf 94°C erhitzt und bei dieser Temperatur dann für weitere fünf Sekunden zur Denaturierung gehalten. Anschließend erfolgt bei 52°C für fünf Sekunden das Annealing und bei 80° C für erneute fünf Sekunden die Extension.

Dieses Annealing und die Extension werden daraufhin noch viermal wiederholt, dann springt das Thermocyclerprogramm zurück zur Denaturierung für fünf Sekunden bei 94°C.

Dieses Muster wird insgesamt 40mal wiederholt, anschließend erfolgt noch eine dreiminütige finale Extension bei 72°C, bevor die Proben zur Lagerung auf 4°C herabgekühlt werden.

Vor der Verwendung für die Massenspektrometrie muß die Probe mit einem Ionenaustauscharz (SpectroClean; Sequenom) gereinigt werden, damit keine Störsignale auftreten.

2.3.3.2 MALDI TOF Massenspektrometrie

Mit dem MassARRAY Nanodispenser (Sequenom) wird die Probe dann auf Siliziumchips mit einer 384er Matrix (SpectroCHIP bioarray; Sequenom) aufgebracht und in das

Vakuum des Massenspektrometers überführt, wo der Chip einem intensiven Laserpuls ausgesetzt wird.

Das führt zur Desorption/Ionisation der Probe, wodurch gasförmige Ionen entstehen, die, durch ein elektrisches Feld beschleunigt, nach ihrem Masse-/Ladungsverhältnis aufgetrennt werden.

Da die in der iPLEX-Extensionreaktion erzeugten DNA-Fragmente je nach letzter angehängter Base unterschiedliche Massen haben, kann so anhand ihrer Flugdauer dieser letzten Base ein spezifischer Genotyp zugeordnet werden.

2.4 Statistische Auswertung

Um die Unterschiede in der Allel- und Genotypverteilung zwischen den schizophrenen Patienten und den gesunden Kontrollprobanden darzustellen, wurde eine statistische Auswertung mittels SPSS 15.0 (*Statistical Package for Social Sciences 15.0*) vorgenommen und die Verteilung der Genotypen hinsichtlich des Hardy-Weinberg-Gleichgewicht geprüft.

Anschließend wurde mithilfe des χ^2 - Tests die Assoziation sowohl der Allele als auch der Genotypen mit Schizophrenie überprüft, wobei ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ festgelegt wurde und $p < 0,1$ als Trend galt.

3 Ergebnisse

Um die Assoziation von GLRB mit Schizophrenie zu untersuchen, wurden die vier Polymorphismen rs10001962, rs6812324, rs11100093 und rs4618360 genotypisiert und einer statistischen Analyse bezüglich ihrer Allel- und Genotypfrequenzen unterzogen.

Insgesamt konnten 613 Kontrollprobanden und 511 schizophrene Patienten in die Studie eingeschlossen werden (Tab. 3).

Tabelle 5: Ergebnisse der Überprüfung der Genotypverteilung mithilfe des Hardy-Weinberg-Gleichgewichtes.

SNP	F	df	p-Wert
rs10001962	F=-0.02226	df=1	p=0.470882 (Pearson)
rs6812324	F=0.02495	df=1	p=0.404842 (Pearson)
rs11100093	F=0.03358	df=1	p=0.269053 (Pearson)
rs4618360	F=0.01925	df=1	p=0.523454 (Pearson)

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass sich die Genotypen in unserer Population im Hardy-Weinberg- Gleichgewicht befinden.

3.1 Analyse des Polymorphismus rs10001962

3.1.1 Allelverteilung

Die statistische Auswertung der Allelverteilung in Patienten- und Kontrollgruppe ergab die in Tabelle 6 gezeigten Häufigkeiten.

Tabelle 6: Allelverteilung rs10001962

	A-Allel n (%)	G-Allel n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollprobanden	1078 (93,7)	72 (6,3)	1150 (100,0)
Patienten	867 (91,5)	81 (8,5)	948 (100,0)
Gesamt	1945 (92,7)	153 (7,3)	2098 (100,0)

Es konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Allelhäufigkeiten in Patienten- und Kontrollgruppe festgestellt werden ($\chi^2=4,008$; OR=1,399 (1,006-1,945); df=1; p=0,045). In der Gruppe der Patienten was das seltene G-Allel überrepräsentiert.

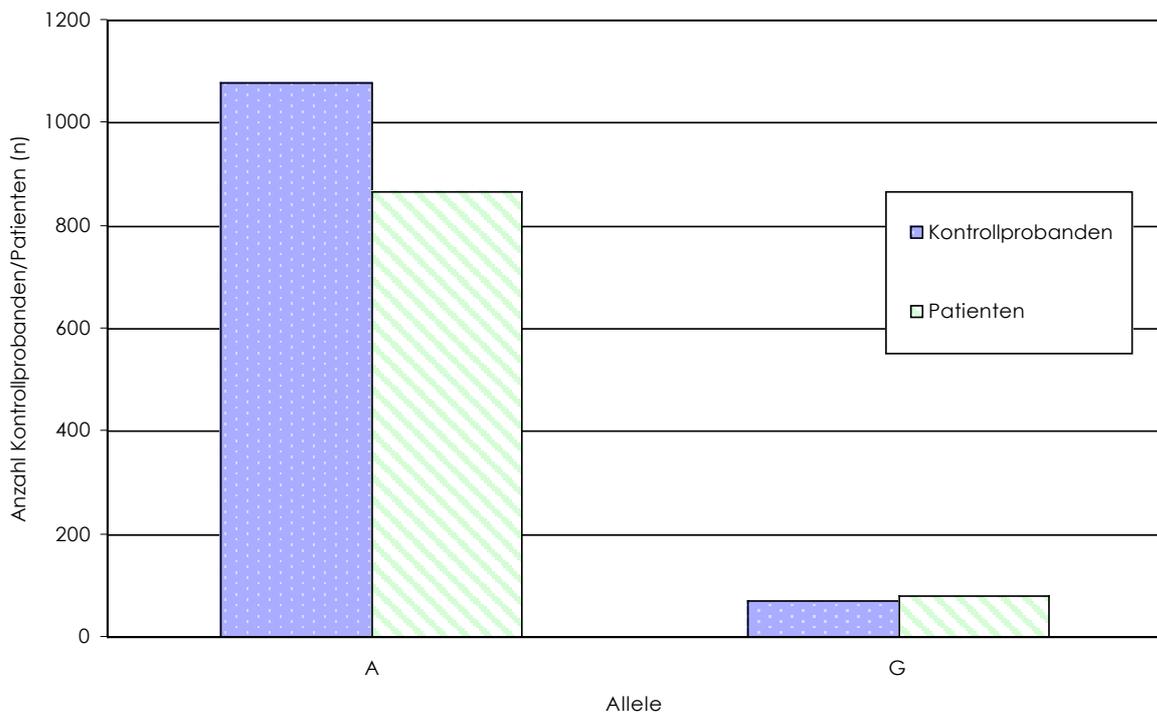


Abbildung 6: Graphische Darstellung der Allelhäufigkeiten des SNP rs10001962 auf Patienten- und Kontrollgruppe.

3.1.2 Genotypverteilung

Die Verteilung der Genotypen A/A, A/G und G/G des SNP rs10001962 auf Patienten und Kontrollprobanden zeigt Tabelle 7.

Tabelle 7: Genotypverteilung rs10001962

	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollprobanden	506 (88,0)	66 (11,5)	3 (0,5)	575 (100,0)
Patienten	394 (83,1)	79 (16,7)	1 (0,2)	474 (100,0)
Gesamt	900 (85,8)	145 (13,8)	4 (0,4)	1049 (100,0)

Auch hier war ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen vorhanden ($\chi^2=6,438$; $df=2$; $p=0,040$), in der Gruppe der Patienten was der heterozygote Genotyp A/G häufiger vorhanden.

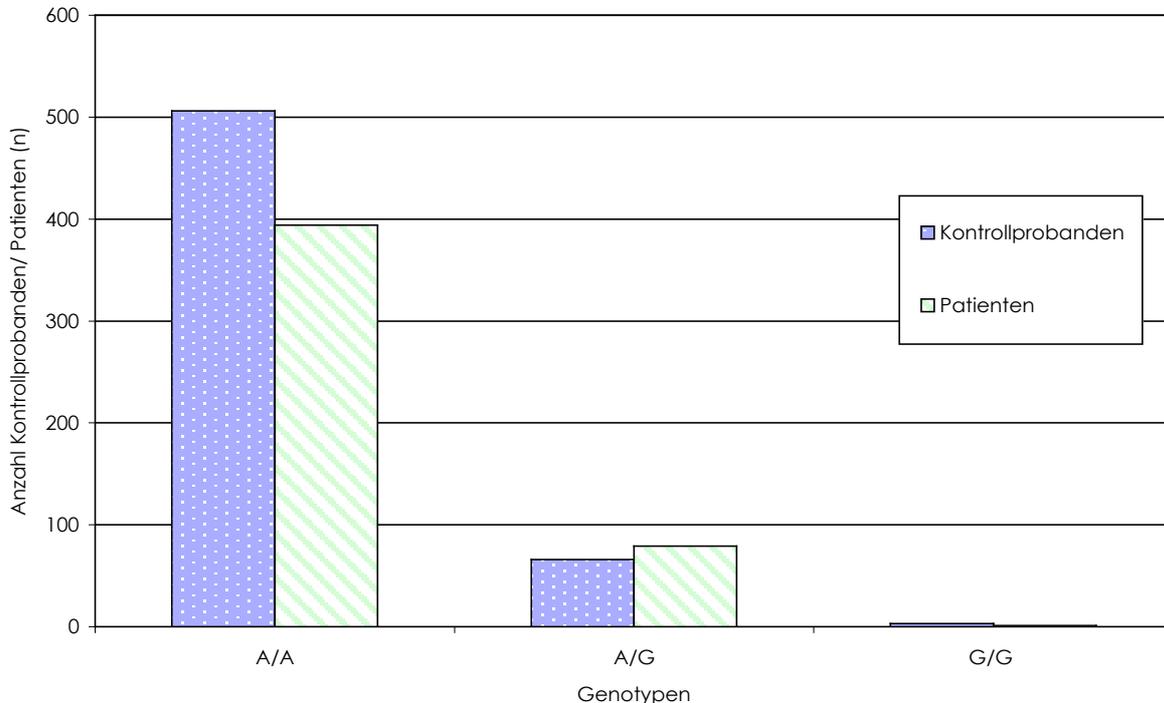


Abbildung 7: Graphische Darstellung der Genotypverteilung des SNP rs10001962 auf Kontrollprobanden und Patienten.

In Tabelle 8 wurden die Genotypen A/A und A/G und somit sämtliche Träger des A-Allels zusammengefasst und den homozygoten G-Allelträgern gegenübergestellt.

Tabelle 8: Vergleich der A-Allelträger mit den homozygoten G-Trägern

	Genotypen A/A und A/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollprobanden	572 (99,5)	3 (0,5)	575 (100,0)
Patienten	473 (99,8)	1 (0,2)	474 (100,0)
Gesamt	1045 (99,6)	4 (0,4)	1049 (100,0)

Hier konnte kein signifikanter Unterschied in der Verteilung auf die beiden Gruppen festgestellt werden ($\chi^2=0,661$; OR=0,403 (0,042-3,888); df=1; p=0,416).

Homozygotie für das G-Allel ist aufgrund der niedrigen Frequenz des G-Allels an sich (Tab. 6), in beiden Gruppen sehr selten.

Die umgekehrte Gegenüberstellung; homozygote A-Allelträger versus sämtliche G-Allelträger wird aus Tabelle 9 ersichtlich.

Tabelle 9: Vergleich der homozygoten A-Träger mit den G-Allelträgern

	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/G und G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollprobanden	506 (88,0)	69 (12,0)	575 (100,0)
Patienten	394 (83,1)	80 (16,9)	474 (100,0)
Gesamt	900 (85,8)	149 (14,2)	1049 (100,0)

Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den homozygoten A/A-Trägern und G-Trägern ($\chi^2=5,072$; OR=1,489 (1,051-2,109); df=1; p=0,024). In der Patientengruppe waren seltener homozygote A-Träger.

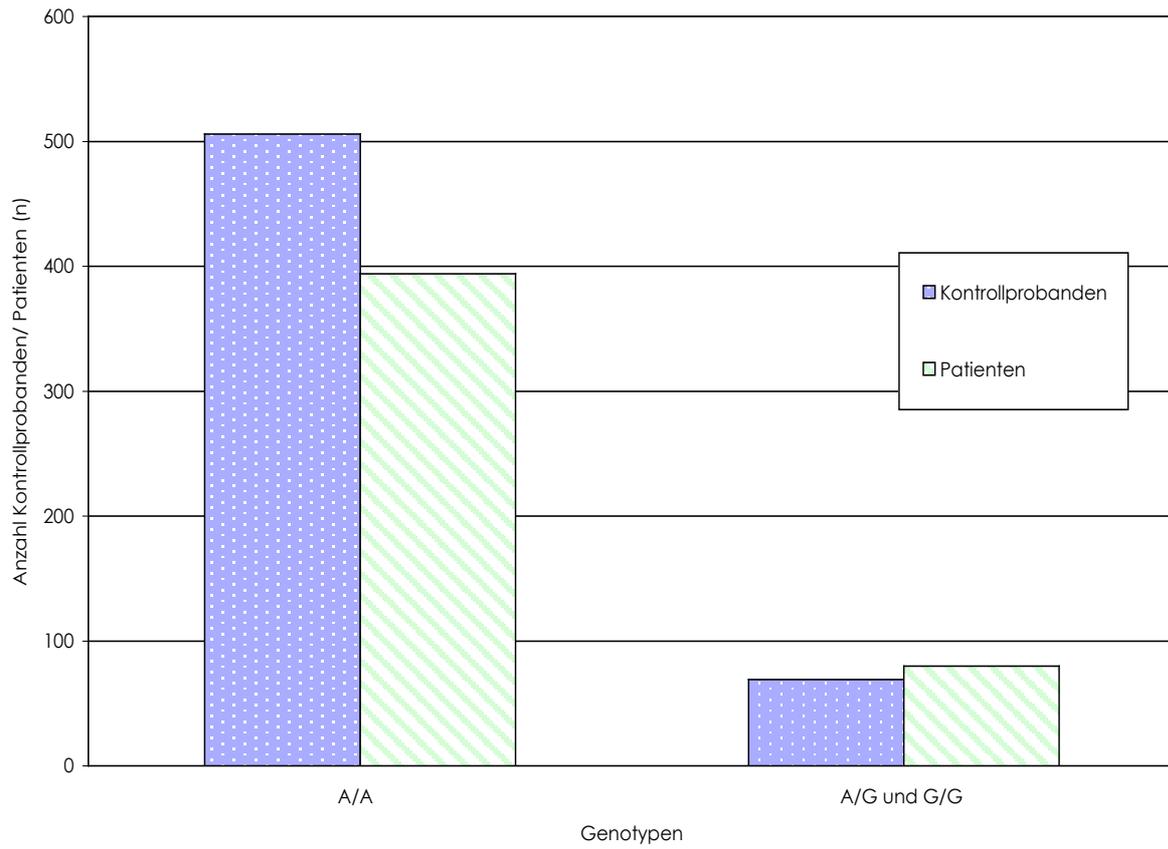


Abbildung 8: Graphische Darstellung der Verteilung der homozygoten A/A-Träger und der G-Träger auf Kontrollprobanden und Patienten.

3.2 Analyse des Polymorphismus rs6812324

3.2.1 Allelverteilung

Die Allele C und T des SNP rs6812324 waren folgendermaßen auf die beiden Gruppen der Studienteilnehmer verteilt (Tab. 10):

Tabelle 10: Allelverteilung rs6812324

	C-Allel n (%)	T-Allel n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollprobanden	225 (18,5)	991 (81,5)	1216 (100,0)
Patienten	196 (19,3)	818 (80,7)	1014 (100,0)
Gesamt	421 (18,9)	1809 (81,1)	2230 (100,0)

Bei der Allelverteilung gab es zwischen den Kontrollprobanden und den Patienten keine signifikanten Unterschiede ($\chi^2=0,246$; OR=0,948 (0,766-1,172); df=1; p=0,620). Insgesamt überwiegt in beiden Gruppen deutlich das T-Allel.

3.2.2 Genotypverteilung

Wie die Genotypen C/C, C/T und T/T des SNP rs6812324 auf die schizophrenen Patienten und die Kontrollprobanden verteilt waren, lässt sich aus Tabelle 11 ablesen.

Tabelle 11: Genotypverteilung rs6812324

	Genotyp C/C n (%)	Genotyp C/T n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollprobanden	18 (3,0)	189 (31,1)	401 (66,0)	608 (100,0)
Patienten	26 (5,1)	144 (28,4)	337 (66,5)	507 (100,0)
Gesamt	44 (3,9)	333 (29,9)	738 (66,2)	1115 (100,0)

Die Genotypverteilung zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen ($\chi^2=3,969$; df=2; p=0,137).

Genotyp C/C und C/T wurden nun zusammengefasst und dem homozygoten Genotyp T/T gegenübergestellt.

Tabelle 12: Vergleich der C-Allelträger mit den homozygoten T-Trägern

	Genotyp C/C und C/T n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollprobanden	207 (34,0)	401 (66,0)	608 (100,0)
Patienten	170 (33,5)	337 (66,5)	507 (100,0)
Gesamt	377 (33,8)	738 (66,2)	1115 (100,0)

Es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen Patienten- und Kontrollgruppe ($\chi^2=0,033$; OR=1,023 (0,798-1,313); df=1; p=0,856).

Anschließend wurden die homozygoten C-Allelträger denjenigen gegenübergestellt, die das T-Allel in ihrem Genotyp tragen (Tab. 13).

Tabelle 13: Vergleich der homozygoten C-Träger mit den T-Allelträgern

	Genotyp C/C n (%)	Genotyp C/T und T/T n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollprobanden	18 (3,0)	590 (97,0)	608 (100,0)
Patienten	26 (5,1)	481 (94,9)	507 (100,0)
Gesamt	44 (3,9)	1071 (96,1)	1115 (100,0)

Es zeigte sich ein Trend in den Genotypfrequenzen zwischen Kontrollen und Patienten ($\chi^2=3,427$; OR= 0,564 (0,306-1,042); df=1; p=0,064). Die Patientengruppe hatte häufiger den Genotyp C/C.

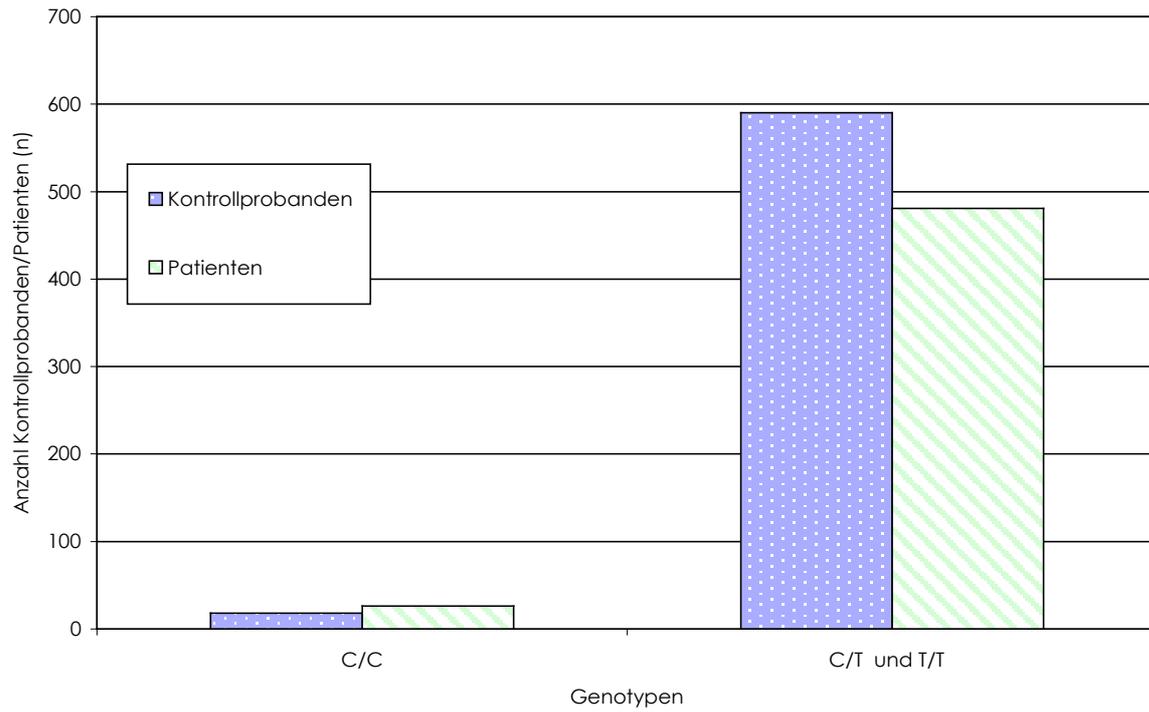


Abbildung 9: Graphische Darstellung der Verteilung der homozygoten C-Träger und der T-Allelträger des SNP rs6812324 auf die beiden Gruppen der Studienteilnehmer.

3.3 Analyse des Polymorphismus rs11100093

3.3.1 Allelverteilung

Bei dem SNP rs11100093 lag die in Tabelle 14 veranschaulichte Allelverteilung in den beiden untersuchten Studienteilnehmergruppen vor.

Tabelle 14: Allelverteilung rs11100093

	A-Allel n (%)	T-Allel n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollprobanden	177 (15,0)	1005 (85,0)	1182 (100,0)
Patienten	154 (15,7)	830 (84,3)	984 (100,0)
Gesamt	331 (15,3)	1835 (84,7)	2166 (100,0)

Es konnte kein signifikanter Unterschied in der Allelverteilung gefunden werden ($\chi^2=0,189$; OR=0,949 (0,751-1,200); df=1; p=0,663).

Das T-Allel ist in beiden Gruppen deutlich stärker vertreten als das A-Allel.

3.3.2 Genotypverteilung

In Tabelle 15 werden die Häufigkeiten der Genotypen A/A, A/T und T/T des SNP rs11100093 in Bezug auf die beiden Studienteilnehmergruppen wiedergegeben.

Tabelle 15: Genotypverteilung rs11100093

	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/T n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollprobanden	11 (1,9)	155 (26,2)	425 (71,9)	591 (100,0)
Patienten	19 (3,9)	116 (23,6)	357 (72,6)	492 (100,0)
Gesamt	30 (2,8)	271 (25,0)	782 (72,2)	1083 (100,0)

Es zeigte sich ein Trend für die Verteilung der Genotypen in den beiden Studienteilnehmergruppen ($\chi^2=4,648$; $df=2$; $p=0,098$). In der Patientengruppe war der Genotyp A/A häufiger vorhanden.

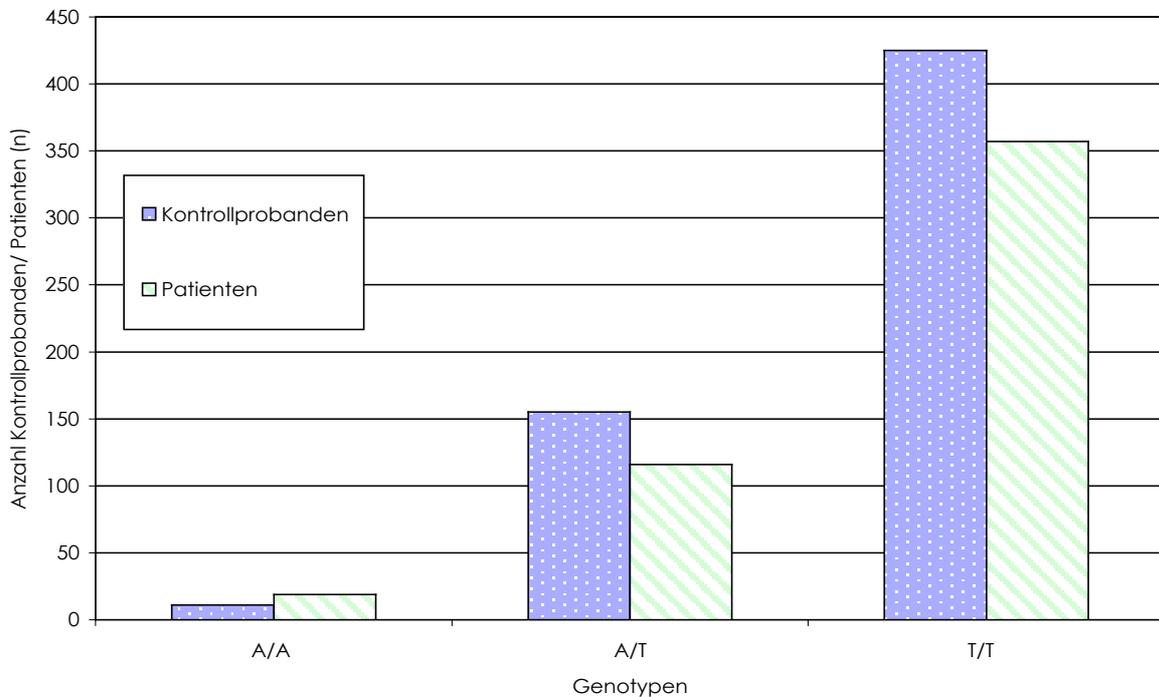


Abbildung 10: Graphische Darstellung der Genotypverteilung des SNP rs11100093 auf die beiden Studienteilnehmergruppen.

Die A-Allelträger wurden nun zusammengefasst und mit homozygot T-tragenden Kontrollprobanden bzw. Patienten verglichen (Tab. 16).

Tabelle 16: Vergleich der A-Allelträger mit den homozygoten T-Trägern

	Genotyp A/A und A/T n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollprobanden	166 (28,1)	425 (71,9)	591 (100,0)
Patienten	135 (27,4)	357 (72,6)	492 (100,0)
Gesamt	301 (27,8)	782 (72,2)	1083 (100,0)

Es konnten keine signifikanten Unterschiede gefunden werden ($\chi^2=0,056$; $OR=1,033$ (0,791-1,349); $df=1$; $p=0,812$).

Anschließend erfolgte wieder der umgekehrte Weg; es wurde geprüft, wie die Verteilung der homozygoten A-Allelträger gegenüber T-Allelträgern in beiden Gruppen ausfällt (Tab. 17).

Tabelle 17: Vergleich der homozygoten A-Träger mit den T-Allelträgern

	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/T und T/T n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollprobanden	11 (1,9)	580 (98,1)	591 (100,0)
Patienten	19 (3,9)	473 (96,1)	492 (100,0)
Gesamt	30 (2,8)	1053 (97,2)	1083 (100,0)

Hier fand sich ein signifikanter Unterschied zwischen Kontrollprobanden und Patienten ($\chi^2=3,990$; OR=0,472 (0,222-1,002); df=1; p=0,046). Die Patientengruppe hatte häufiger den Genotyp A/A als die Kontrollprobanden.

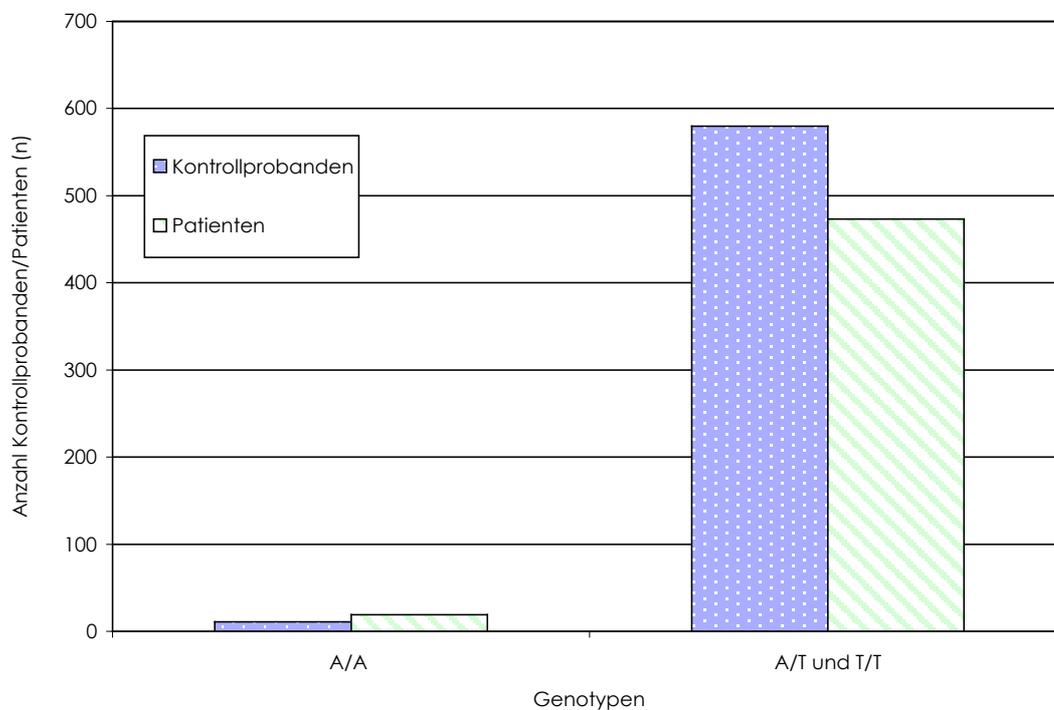


Abbildung 11: Graphische Darstellung der Verteilung von homozygoten A-Trägern und T-Allelträgern in den beiden Studienteilnehmergruppen.

3.4 Analyse des Polymorphismus rs4618360

3.4.1 Allelverteilung

Die Häufigkeiten der Allele A und C des SNP rs4618360 bei schizophrenen Patienten und gesunden Kontrollprobanden zeigt Tabelle 18.

Tabelle 18: Allelverteilung rs4618360

	A-Allel n (%)	C-Allel n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollprobanden	841 (69,9)	363 (30,1)	1204 (100,0)
Patienten	684 (69,0)	308 (31,0)	992 (100,0)
Gesamt	1525 (69,4)	671 (30,6)	2196 (100,0)

Es konnte kein signifikanter Unterschied in der Allelverteilung gefunden werden ($\chi^2=0,207$; OR=1,043 (0,869-1,252); df=1; p=0,649).

3.4.2 Genotypverteilung

Aus den beiden vorhandenen Allelen A und C des SNP rs4618360 können sich die drei verschiedenen Genotypen bilden, A/A, A/C und C/C. Tabelle 19 zeigt die Genotypfrequenzen in beiden Studienteilnehmergruppen.

Tabelle 19: Genotypverteilung rs4618360

	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/C n (%)	Genotyp C/C n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollprobanden	297 (49,3)	247 (41,0)	58 (9,6)	602 (100,0)
Patienten	237 (47,8)	210 (42,3)	49 (9,9)	496 (100,0)
Gesamt	534 (48,6)	457 (41,6)	107 (9,7)	1098 (100,0)

In der Genotypverteilung ergab sich kein signifikanter Unterschied bei Kontrollprobanden und Patienten ($\chi^2=0,264$; $df=2$; $p=0,877$).

Wie schon bei den vorangegangenen Polymorphismen, wurden auch hier die Genotypen A/A und A/C zusammengefasst und dem Genotyp C/C gegenübergestellt (Tab. 20).

Tabelle 20: Vergleich der A-Allelträger mit den homozygoten C-Trägern

	Genotypen A/A und A/C n (%)	Genotyp C/C n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollprobanden	544 (90,4)	58 (9,6)	602 (100,0)
Patienten	447 (90,1)	49 (9,9)	496 (100,0)
Gesamt	991 (90,3)	107 (9,7)	1098 (100,0)

Es ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen Kontrollprobanden und Patienten ($\chi^2=0,018$; $OR=1,028$ (0,689-1,534); $df=1$; $p=0,892$).

Nun erfolgte noch die umgekehrte Gegenüberstellung, also Genotyp A/A versus Genotyp A/C und Genotyp C/C.

Tabelle 21: Vergleich der homozygoten A-Träger mit den C-Allelträgern

	Genotyp A/A n (%)	Genotypen A/C und C/C n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollprobanden	297 (49,3)	305 (50,7)	602 (100,0)
Patienten	237 (47,8)	259 (52,2)	496 (100,0)
Gesamt	534 (48,6)	564 (51,4)	1098 (100,0)

Auch hier gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen der Gruppe der Kontrollprobanden und der Gruppe der Patienten ($\chi^2=0,263$; $OR=1,064$ (0,839-1,350); $df=1$; $p=0,608$).

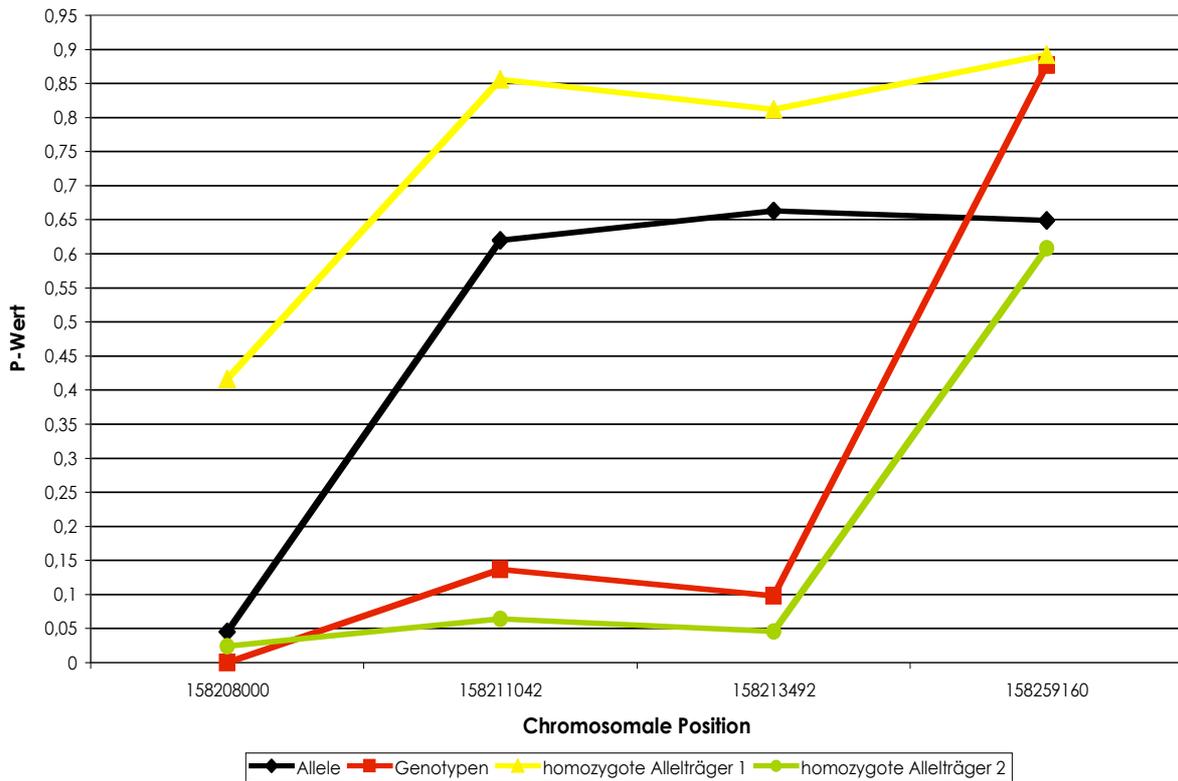


Abbildung 12: Verteilung der p-Werte in Bezug auf die chromosomale Position der untersuchten Einzelnukleotidpolymorphismen. Dabei bezieht sich die Bezeichnung „homozygote Allelträger 1“ jeweils auf die p-Werte zu Tabelle 8, 12, 16, 20 und die Bezeichnung „homozygote Allelträger 2“ jeweils auf die p-Werte zu Tabelle 9, 13, 17 und 21.

4 Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es, festzustellen, ob zwischen den vier untersuchten Polymorphismen, die in Bezug zu dem Gen GLRB stehen und Schizophrenie eine Assoziation besteht.

Dabei zeigten sich bei rs10001962, einem SNP aus der 5´Genregion von GLRB sowohl in der Allel- als auch der Genotypverteilung zwischen Patienten- und Kontrollgruppe signifikante Unterschiede.

Der Polymorphismus rs6812324, ebenfalls in der 5´Genregion von GLRB gelegen, zeigte bezüglich der Allelverteilung keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen, beim Vergleich der homozygoten C-Trägern mit den T-Allelträgern ließ sich jedoch ein Trend bezüglich der Verteilung auf die Patienten und Kontrollen erkennen.

Bei dem Polymorphismus rs11100093, wie schon die beiden erstgenannten aus der 5´Genregion des Gens, waren die beiden Allele A und T nicht signifikant unterschiedlich auf beide Gruppen verteilt, aber in der Genotypverteilung zeigte sich ein Trend und beim Vergleich der homozygoten A-Träger mit den T-Allelträgern fand sich ein signifikanter Unterschied zwischen Kontrollprobanden und Patienten.

Keinerlei signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Studienteilnehmergruppen gab es bezüglich des Polymorphismus rs4618360, der im Intron 2 des Gens GLRB liegt.

4.1 Diskussion der Methoden

Assoziationsstudien sind eine gute Methode, wenn es um die Aufdeckung von Faktoren mit nur geringem Einfluss auf die Krankheitsentstehung geht (Maier et al. 1999; Owen 2000).

In unsere Studie wurden 613 Kontrollprobanden und 511 schizophrene Patienten eingeschlossen. Ein Vergleich dieser Zahlen mit anderen Assoziationsstudien, die sich mit möglichen Suszeptibilitätsgenen für Schizophrenie beschäftigen, zeigt, dass der Trend zu immer größeren Teilnehmergruppen geht, die hier vorhandenen Teilnehmerzahlen aber

im Kontext der anderen Fallzahlen eine gute Position einnehmen (Allen et al. 2008; Owen 2000; Schumacher et al. 2004; van den Bogaert et al. 2003).

Je seltener die untersuchten Marker in einer Population sind, umso wichtiger ist es, eine große Fallzahl zu haben.

Eine vergleichbare Ethnizität ist ebenso wie eine ausreichende Gruppengröße wichtig für die Aussage einer Studie; werden unterschiedliche Ethnizitäten miteinander verglichen, können sich aufgrund unterschiedlicher Häufigkeiten der untersuchten Merkmale in den Gruppen, Verzerrungen oder falsch-positive Ergebnisse ergeben (Maier et al. 1999; Owen 2000).

Aus diesem Grund wurden in die vorliegende Untersuchung nur Menschen kaukasischer Abstammung eingeschlossen.

Das *International HapMap Project* (HapMap 2007) hat es sich zum Ziel gemacht, die genetischen Varianten in verschiedenen Populationen zu identifizieren und zu katalogisieren. Bei Betrachtung dieser Daten wird deutlich, wie unterschiedlich die Häufigkeiten eines Merkmals in verschiedenen Ethnizitäten sein können (Tab. 22).

Tabelle 22: Die Genotyp und Allelfrequenzen in der untersuchten Patienten- und Kontrollgruppe im Kontext der *International HapMap* - Daten zu den entsprechenden Polymorphismen (HapMap 2007) (Fortsetzung auf der nächsten Seite).

P = Patientengruppe
K = Kontrollgruppe
E = Europäer (Bewohner von Utah, nord- und westeuropäischer Herkunft)
C = Han Chinesen (Peking)
J = Japaner (Tokyo)
A = Afrikaner (Nigeria)

	Genotyp	Frequenz in %	Genotyp	Frequenz in %	Genotyp	Frequenz in %	Allel	Frequenz in %	Allel	Frequenz in %
rs10001962										
P	G/G	0,2	A/G	16,7	A/A	83,1	G	8,5	A	91,5
K	G/G	0,5	A/G	11,5	A/A	88	G	6,3	A	93,7
E	G/G	3,3	A/G	15	A/A	81,7	G	10,8	A	89,2
C	G/G	0	A/G	15,9	A/A	84,1	G	8	A	92
J	G/G	2,3	A/G	27,3	A/A	70,5	G	15,9	A	84,1
A	G/G	25	A/G	48,3	A/A	26,7	G	49,2	A	50,8

	Genotyp	Frequenz in %	Genotyp	Frequenz in %	Genotyp	Frequenz in %	Allel	Frequenz in %	Allel	Frequenz in %
rs6812324										
P	C/C	5,1	C/T	28,4	T/T	66,5	C	19,3	T	80,7
K	C/C	3	C/T	31,1	T/T	66	C	18,5	T	81,5
E	C/C	6,7	C/T	36,7	T/T	56,7	C	25	T	75
C	C/C	17,8	C/T	31,1	T/T	51,1	C	33,3	T	66,7
J	C/C	8,9	C/T	51,1	T/T	40	C	34,4	T	65,6
A	C/C	28,3	C/T	55	T/T	16,7	C	55,8	T	44,2
rs11100093										
P	T/T	72,6	A/T	23,6	A/A	3,9	T	84,3	A	15,7
K	T/T	71,9	A/T	26,2	A/A	1,9	T	85	A	15
E	T/T	66,7	A/T	30	A/A	3,3	T	81,7	A	18,3
C	T/T	77,3	A/T	18,2	A/A	4,5	T	86,4	A	13,6
J	T/T	75,6	A/T	22,2	A/A	2,2	T	86,7	A	13,3
A	T/T	54,2	A/T	42,4	A/A	3,4	T	75,4	A	24,6
rs4618360										
P	A/A	47,8	A/C	42,3	C/C	9,9	A	69	C	31
K	A/A	49,3	A/C	41	C/C	9,6	A	69,9	C	30,1
E	A/A	33,3	A/C	48,3	C/C	18,3	A	57,5	C	42,5
C	A/A	33,3	A/C	46,7	C/C	20	A	56,7	C	43,3
J	A/A	31,8	A/C	45,5	C/C	22,7	A	54,5	C	45,5
A	A/A	3,3	A/C	40	C/C	56,7	A	23,3	C	76,7

Auch das Alter der Studienteilnehmer kann die Ergebnisse verfälschen, beispielsweise wenn die zu vergleichenden Teilnehmergruppen ein stark unterschiedliches Durchschnittsalter haben. Besonders wenn das Durchschnittsalter der Studienteilnehmer unterhalb des typischen Alters bei Krankheitsbeginn liegt, bei der Schizophrenie also zwischen dem 22. und 32. Lebensjahr (Häfner et al. 1999), ist die Gefahr erhöht, dass bei einigen der für gesund erklärten Kontrollprobanden die Erkrankung noch nicht ausgebrochen ist, was vor allem bei genetischen Untersuchungen zu falsch-negativen Ergebnissen beim Vergleich der Kontrollprobanden mit den Patienten führen kann.

In dieser Arbeit lag das Durchschnittsalter beider Gruppen oberhalb des 32. Lebensjahres und damit über dem Prädilektionsalter der Schizophrenie. Dadurch ist zwar auch nicht ausgeschlossen, dass unter den Kontrollprobanden Menschen sind, denen ein Erkrankungsausbruch noch bevorsteht, schließlich kann die Schizophrenie auch in einem

höheren Lebensalter ausbrechen, zumindest wird aber das Risiko für Fehler aufgrund derartiger falsch-negativer Ergebnisse dadurch niedrig gehalten.

Die von uns angewandte Klassifikation nach dem DSM-IV ist aufgrund seiner präzise und streng formulierten Kriterien ein in der psychiatrischen Forschung weit verbreitetes System (Giegling et al. 2008).

Zur Diagnosestellung ist das eigens dafür entwickelte SKID aufgrund seiner hohen Reliabilität ein gut geeignetes Instrument, das auch in anderen Studien mit ähnlicher Zielsetzung genutzt wird (Goldberg et al. 2006; Segal et al. 1994; Skre et al. 1991; van den Bogaert et al. 2003).

Dass die Kontrollprobanden nicht nur anamnestisch keine psychiatrischen oder neurologischen Erkrankungen bei sich oder in der Familie haben durften, sondern auch SKID, LEBI und FHAM (Rice et al. 1995; Richter et al. 1996; Wittchen et al. 1997) durchlaufen und sich damit einer Objektivierung ihres psychiatrischen Zustandes stellen mussten, diente der Rekrutierung einer möglichst maximal „gesunden“ Kontrollgruppe.

Nachteil dieser relativ strengen Vorgehensweise ist der große zeitliche Aufwand, sowohl für die Probanden, als auch für die Rekrutierenden, besonders, wenn hohe Probandenzahlen das Ziel sind. Ein klarer Vorteil ist die daraus entstehende Kontrollgruppe, in der wenige Fehler zu erwarten sind.

Durch die zusätzliche Anwendung der PANSS (Kay et al. 1987) in der Patientengruppe sollte die Diagnose erhärtet werden, um sicherzugehen, dass tatsächlich eine Schizophrenie vorlag und nicht etwa andere Störung des schizophrenen Spektrums.

Das ist von Bedeutung, da die Abgrenzung der Schizophrenie zu anderen, ähnlichen Krankheitsbildern nicht leicht ist. Außerdem ist die Schizophrenie nicht nur eine sehr heterogene Erkrankung, es bleibt weiterhin Gegenstand wissenschaftlicher Diskussionen, ob sie als eigene Krankheitsentität existiert oder eher eine Gruppe verschiedener Erkrankungen die Entität „Schizophrenie“ bildet (Möller et al. 2008; van Praag 1976).

Klare und strenge Abgrenzungen sollen möglichst unverzerrte Ergebnisse liefern.

Andere Assoziationsstudien zur Schizophrenie integrieren oft auch Patienten mit Erkrankungen des schizophrenen Spektrums (Goldberg et al. 2006; van den Bogaert et al. 2003), mit dem Vorteil, dass dadurch die Rekrutierung hoher Patientenzahlen erleichtert wird.

Andererseits werden auf diese Weise wenig differenzierte Ergebnisse produziert.

Dadurch, dass in dieser Arbeit die Kontrollprobanden und Patienten stufenweise rekrutiert wurden und bis zum Einschluss in die Studie mehrfach und sehr ausführlich über

Fragebögen (Anamnese 1+2; FHAM (Rice et al. 1995)) zu bestimmten Themen wie Krankheitsgeschichte, Herkunft und Familienanamnese befragt wurden, sollte eine möglichst große Homogenität innerhalb der jeweiligen Gruppe erreicht werden. Außerdem wurde damit abgesichert, dass tatsächlich keine Ausschlusskriterien vorlagen. Grundsätzlich sollte für eine gültige statistische Aussage eine hohe Strukturgleichheit zwischen den beiden beobachteten Gruppen vorliegen (Gaus 1991). Randomisierung führt dazu, dass höchstens zufällige Unterschiede auftreten und dient damit der Strukturgleichheit und somit der statistischen Vergleichbarkeit.

Die Interpretation gefundener positiver und negativer Assoziationen zur Schizophrenie wird durch die Heterogenität der Erkrankung erschwert.

Da es sich zusätzlich auch noch um eine multifaktorielle und vermutlich polygenetische Erkrankung handelt (Andreasen 2000; Owen 2000), so dass einzelne Gene nur einen kleinen Effekt haben und eventuell sogar von Patient zu Patient unterschiedliche Gene zur Krankheitsentstehung beitragen, wird leicht verständlich, dass es diverse widersprüchliche Studien gibt.

Außerdem gilt es zu bedenken, dass grundsätzlich mehrere Möglichkeiten bestehen, wenn eine Assoziation zwischen einem Allel und einem Merkmal gefunden wird. Solch ein Ergebnis kann zum einen bedeuten, dass dieses Allel tatsächlich das entsprechende Merkmal – hier die Schizophrenie – beeinflusst oder dass es zumindest an ein weiteres Allel oder Gen gekoppelt ist, welches eigentlich das Krankheitsverursachende ist (Goldberg et al. 2004). Es kann aber auch ein falsch-positives Ergebnis sein, beispielsweise hervorgerufen durch systematische oder zufällige Fehler während der Datenerhebung.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

Bei der statistischen Untersuchung des Polymorphismus rs10001962 fällt zunächst auf, dass ein sehr großer Unterschied in der Häufigkeit der beiden Allele A und G besteht, bei starkem Überwiegen des A-Allels.

Es zeigten sich in der Allelverteilung, der Genotypverteilung und beim Vergleich der homozygoten A-Träger mit den G-Allelträgern signifikante Unterschiede zwischen Patienten- und Kontrollgruppe. Einzig der Vergleich der A-Allelträger mit den homozygoten G-Trägern führte zu keinem signifikanten Unterschied der beiden Gruppen. Die Aussagekraft des letzteren Ergebnisses ist jedoch ein wenig fragwürdig, wenn die unterschiedliche Allelfrequenz betrachtet wird; hier stehen bei den Kontrollprobanden 3

homozygote G-Träger 572 A-Allelträgern gegenüber, bei den Patienten ist das Verhältnis 1/473.

Trotzdem kann festgehalten werden, dass es bei rs10001962 signifikante Unterschiede zwischen den Kontrollprobanden und den Patienten gab; das G-Allel könnte demnach an Schizophrenie beteiligt sein, dennoch sollten weitere, genauere Tests in diese Richtung folgen.

Eine Betrachtung der Ergebnisse von rs6812324 ergibt, dass keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden konnten und dass auch hier wieder starke Unterschiede in der Gruppengröße vorhanden sind. Es zeigte sich jedoch beim Vergleich der homozygoten C-Träger mit den T-Allelträgern ein Trend zu den homozygot C-tragenden Patienten.

Der Polymorphismus ist aufgrund dieser Ergebnisse vermutlich eher nicht an der Schizophrenie beteiligt.

Was den SNP rs11100093 betrifft, zeigte sich beim Vergleich der homozygoten A-Träger zu den T-Allelträgern ein signifikanter Unterschied, sowie ein Trend in der Verteilung der Genotypen.

In der Allelverteilung und beim Vergleich der A-Allelträger mit den homozygoten T-Trägern waren keine statistisch signifikanten Unterschiede vorhanden.

Diese Ergebnisse könnten auf einen Zusammenhang von homozygoten A-Trägern und Schizophrenie hinweisen, da die statistischen Unterschiede genau da vorhanden waren, wo die homozygoten A-Träger separat betrachtet wurden.

Auch hier ist zwar erneut eine sehr unterschiedliche Gruppengröße gegeben, trotzdem scheint dieser Polymorphismus zumindest ein interessanter Ansatzpunkt für weitere Untersuchungen zu sein.

Bei dem Polymorphismus rs4618360 wurden keine signifikanten Unterschiede gefunden, sodass auf keinen Zusammenhang mit der Schizophrenie geschlossen werden kann.

Wie bereits erwähnt sind die hier untersuchten Polymorphismen bisher wenig erforscht, unsere Ergebnisse – besonders zu rs10001962 – werfen nun weitere Fragen auf. Grundsätzlich wäre bei einem Abstand von ca. 9kb zwischen rs10001962 und GLRB durchaus eine Beeinflussung beispielsweise der Genexpression möglich, selbiges gilt für

die anderen drei Polymorphismen. Da bisher über diese Region wenig bekannt ist, wäre eine genaue Untersuchung, vor allem in Hinblick auf ihre Funktion, sehr interessant.

GLRB und mit diesem Gen in Zusammenhang zu bringende Polymorphismen sind aus vielen Gründen ein guter Ansatzpunkt bezüglich Schizophrenie.

Dass sich in einer Studie, die den Zusammenhang zwischen Glyzin Rezeptor, alpha 2 und Schizophrenie testete, keine signifikanten Ergebnisse ergaben (Feng et al. 2001), ermöglicht noch keine abschließende Aussage, vor allem bei einer Patientenzahl von nur 113, sondern ist eher der Aufruf zu weiteren Studien in diese Richtung.

Zudem handelt es sich hier auch nur um ein funktionell betrachtet dem GLRB verwandtes Gen.

Ng et al. fanden 2008 in ihrer Metaanalyse von 32 Kopplungsstudien zur Schizophrenie unter anderem Hinweise auf Chromosom 4q (Ng et al. 2008), dem Chromosom auf dem das Gen GLRB und die vier untersuchten Polymorphismen liegen.

Auch in der vorliegenden Arbeit konnten signifikante Assoziationen zwischen Schizophrenie und *Single Nucleotide Polymorphisms* des Gens GLRB auf Chromosom 4 gefunden werden.

Dann ist da die Tatsache, dass Glyzin – und damit auch Glyzingene – über die Glyzinbindungsstelle der NMDA-Rezeptoren zu einem interessanten Ansatz in der Schizophrenieforschung geworden ist. Das liegt darin begründet, dass Glyzin für die Funktion der NMDAR essentiell ist und an NMDAR gebunden deren Funktion fördert (Coyle et al. 2004; Eulenburg et al. 2005; Kemp et al. 1993; Thomson 1989).

Hinzu kommt, dass Agonisten der NMDAR-Glyzinbindungsstelle die Effekte von dissoziativen Anästhetika wie Ketamin oder PCP aufheben können, ohne neurotoxisch zu wirken (Javitt et al. 1999).

NMDA-Rezeptoren selbst spielen eine große Rolle in der Hirnentwicklung und bei neuronalen Prozessen im allgemeinen (Javitt et al. 2004).

GLRB codiert für die Beta-Untereinheit inhibitorischer Glyzinrezeptoren, welche ebenfalls mit der neuronalen Plastizität in Verbindung gebracht werden (Brackmann et al. 2004) und wie die NMDAR Glyzin binden.

Sie konkurrieren mit der Glyzinbindungsstelle der NMDA-Rezeptoren um das vorhandene Glyzin, wobei dieses mit einer wesentlich höheren Affinität an letztere bindet.

Hier liegt natürlich die Frage nach möglichen Wechselwirkungen zwischen den inhibitorischen Glyzinrezeptoren, für deren Beta-Untereinheit GRLB codiert und der Glyzinbindungsstelle der NMDAR nahe.

Zwar sind die GlyRs in erster Linie für ihre Rolle bei der Muskelbewegung und Reflexaktivität bekannt (Aragon et al. 2003; Lynch 2009), die Beta-Untereinheit wird jedoch im gesamten ZNS exprimiert (Malosio et al. 1991).

Ein weiterer Aspekt, der die Untersuchung von GRLB rechtfertigt, ist das Mausmodell „spastic“, bei dem eine Insertion in GRLB durch irreguläres Spleißen zu einer gestörten glycinergen Neurotransmission und damit zu einem *Startle*-Syndrom führt (Koch et al. 1997; Rajendra et al. 1997).

Auch bei schizophrenen Patienten konnte vielfach eine ungewöhnliche *Startle*-Reaktion gemessen werden (Howard et al. 1992), sodass durchaus ein Zusammenhang bestehen könnte.

Bei Zebrafischen konnte eine fehlende glycinerge Transmission an den Synapsen derjenigen Mutanten festgestellt werden, bei denen Mutationen der Glyzinrezeptor-Beta-Untereinheit vorlagen. Diesen Fischen fehlte das typische synaptische Cluster der GlyRs und sie wiesen motorische Störungen auf (Hirata et al. 2005), was zeigt, dass die Beta-Untereinheit entscheidend für eine physiologische Verteilung der GlyRs ist.

Hierfür sorgt die Bindung der Beta-Untereinheit an das Ankerprotein Gephyrin (Milani et al. 1998).

Lokalisiert sind die inhibitorischen Glyzinrezeptoren unter anderem in Gebieten wie dem Thalamus und dem Hippocampus (Brackmann et al. 2004; Rajendra et al. 1997). Regionen, die bei schizophrenen Patienten häufig strukturell verändert sind (Brickman et al. 2004; Danos 2004; Hazlett et al. 2004; Kovelman et al. 1984; Meador-Woodruff et al. 2003; Port et al. 1995; Wright et al. 2000).

Betrachtet man nur die Beta-Untereinheit, finden sich sogar noch mehr Übereinstimmungen, da diese wie bereits erwähnt, ubiquitär im Zentralnervensystem (ZNS) vorkommt (Malosio et al. 1991).

Die Frage nach der Funktion der Beta-Untereinheit in den Gebieten, in denen keine Alpha-Untereinheiten und daher auch keine GlyR nachweisbar sind, ist immer noch offen.

Obwohl GlyR meist in postsynaptischen Membranen sitzen, konnten auch präsynaptische GlyR nachgewiesen werden, die zu erhöhten exzitatorischen postsynaptischen

Potentialen und vermehrter Transmitterausschüttung führen (Turecek et al. 2001) – auch wenn dies bisher nur in einer sehr kleinen Region, dem Nucleus trapezoidalis medialis, des ZNS gefunden wurde - ist es dennoch ein interessanter Ansatz, auch in Bezug auf mögliche Auswirkungen auf NMDA-Rezeptoren und ihre Funktion.

Die genannten Punkte machen deutlich, dass GLRB viele mögliche Überschneidungen mit den bisherigen Erkenntnissen zur Schizophrenie zeigt; hauptsächlich aber spricht die mutmaßliche Rolle der inhibitorischen Glyzinrezeptoren in der Synaptogenese, mit möglichen Auswirkungen auf Migration, Differenzierung, Synapsenbildung und –stabilisierung (Aragon et al. 2003; Flint et al. 1998), für eine Untersuchung von GLRB und verwandten Genen.

Hinzu kommt, dass inhibitorische Glyzinrezeptoren über ihre Beeinflussung der hippocampalen Langzeitpotenzierung bei der Plastizität des Gehirns mitwirken können (Brackmann et al. 2004).

Assoziationen von Genen oder Polymorphismen des GlyR mit Schizophrenie, wie in der vorliegenden Arbeit, lassen sich vor diesem Hintergrund ganz ausgezeichnet im Sinne eines „First Hit“ (Bayer et al. 1999; Maynard et al. 2001), mit der vielfach vertretenen Theorie einer neuronalen Entwicklungsstörung (Keshavan et al. 1994; Murray et al. 1991; Thome et al. 1998) in Einklang bringen.

Diese Theorie wird unter anderem auch durch die Ergebnisse einer der aktuellsten genomweiten Assoziationsstudien gestützt (Stefansson et al. 2009), in welcher erneut eine Assoziation des Schizophrenierisikos mit einer Störung der Hirnentwicklung, von Gedächtnis und Kognition sowie dem Immunsystem und der Schizophrenieentstehung gefunden wurde.

Dennoch gibt es noch keine Hinweise auf GLRB an sich oder benachbarte Regionen in den bisherigen genomweiten Assoziationsstudien.

Diese stellen momentan die vielversprechendste Herangehensweise zur Identifikation von Genomabschnitten, welche mitverantwortlich für die Entstehung der großen psychiatrischen Erkrankungen sind, dar.

Auch wenn keine biologischen Kriterien zur Diagnosestellung Schizophrenie bekannt sind, haben die vorhandenen genomweiten Assoziationsstudien gezeigt, dass bei dieser Erkrankung dieselben genetischen Ansätze erfolgreich sind, wie bei anderen häufigen Erkrankungen.

Zwar sind die Effektgrößen klein, doch die Hoffnung besteht, dass durch die immer größer werdenden Stichproben viele weitere spezifische Risikofaktoren für die Entstehung der Schizophrenie identifiziert werden und damit auch die Pathophysiologie deutlicher wird (O'Donovan et al. 2008).

Eine statistisch signifikante Assoziation mit GLRB ist bisher nur bei Essstörungen und Zwangserkrankungen gefunden worden (Gratacos et al. 2008).

GLRB liegt zudem in einer Region, die im Zusammenhang mit einem Fall von Autismus beschrieben wurde (Ramanathan et al. 2004) Letzteres ist vor allem deshalb interessant, da Autismus und Schizophrenie zum Teil ähnliche Defizite aufweisen und häufig dieselben genetischen Variationen teilen (Burbach et al. 2009; Couture et al. 2009; Guilmatre et al. 2009).

Dies lässt zumindest die Vermutung zu, dass GLRB durchaus Einfluss auf neuropsychiatrische Erkrankungen hat und auch auf die Schizophrenie haben könnte – inwieweit gilt es noch umfassender zu klären.

4.3 Ausblick

Bei der Suche nach mit Schizophrenie assoziierten Merkmalen steht der Wunsch im Vordergrund, das Wissen um pathogenetische Faktoren der Schizophrenie zu mehren. Ein sehr umfangreiches Projekt, wenn man die Heterogenität der Erkrankung und die Vielzahl der möglichen Faktoren die zu ihrem Ausbruch führen könnten - und sich wohlmöglich auch noch untereinander beeinflussen - betrachtet.

Viele Aspekte deuten auf eine interessante Rolle der inhibitorischen Glyzinrezeptoren und ihrer Beta-Untereinheit bei der Entstehung der Schizophrenie hin.

Wir konnten in dieser Studie einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen Polymorphismen die mit GLRB in Verbindung stehen und Schizophrenie zeigen.

Das ist allerdings erst ein Anfang, weitere Studien sollten folgen, um unser Ergebnis zu überprüfen, auch in Hinblick auf andere ethnische Populationen.

Diesbezüglich sind besonders die genomweiten Assoziationsstudien von großer Bedeutung.

Vor allem die Region upstream von GLRB, in der drei der untersuchten SNPs liegen, birgt noch viel Unbekanntes und könnte Thema weiterer Untersuchungen sein.

Was die Polymorphismen anbelangt, wäre von großem Interesse, herauszufinden, in welcher Weise sie GLRB beeinflussen können, oder ob sie an andere Marker gekoppelt sind.

Möglicherweise existieren weitere Polymorphismen von GLRB die ebenfalls mit Schizophrenie assoziiert sind, eine ausführlichere Untersuchung von GLRB in Bezug zu Schizophrenie sollte erfolgen.

Außerdem sind noch einige Fragen zu der von GLRB codierten Beta-Untereinheit offen, beispielsweise zu ihrer Funktion in den Bereichen des ZNS, in der keine GlyRs nachweisbar sind.

Ebenso ist die Rolle der GlyRs in der Gehirnentwicklung und im Wechselspiel mit glutamatergen Vorgängen erst ansatzweise erforscht, sie scheint jedoch einen vielversprechenden Ansatz in der Schizophrenieforschung zu bieten.

Insgesamt bleibt zu bemerken, dass die Schizophrenieforschung so komplex ist wie die Erkrankung selbst und Assoziationen zwischen einzelnen Polymorphismen und der Schizophrenie nur kleine Puzzleteilchen eines großen Ganzen darstellen.

Erst der Zusammenhang vieler solcher Puzzleteile ergibt gemeinsam mit weiteren Faktoren ein Bild – die Ätiopathogenese der Schizophrenie.

5 Zusammenfassung

Die Schizophrenie ist eine sehr komplexe und heterogene psychiatrische Erkrankung, deren Ätiopathogenese noch weitgehend ungeklärt ist.

Die Lebenszeitprävalenz liegt in der Allgemeinbevölkerung im Durchschnitt bei ca. 1%, mit einer ausgeprägten genetischen Komponente.

Daher stellt die Suche nach möglichen Suszeptibilitätsgenen für Schizophrenie einen Schwerpunkt der Forschung dar.

Die Identifikation solcher Gene hilft, das Wissen um die Pathogenese der Schizophrenie zu erweitern, was letzten Endes zu Fortschritten in der Behandlung, Diagnose und Prävention führen soll.

GLRB ist ein Gen auf Chromosom 4, das bisher noch nicht bezüglich einer Assoziation zu Schizophrenie untersucht wurde.

Es codiert für die Beta-Untereinheit der inhibitorischen Glyzinrezeptoren, deren Verbreitung im ZNS Überschneidungen mit bei Schizophrenie veränderten Gebieten zeigt.

Außerdem könnten inhibitorische Glyzinrezeptoren eine Rolle in der Hirnentwicklung und Neuroplastizität spielen.

Für die vorliegende Arbeit wurde eine Fall-Kontroll-Assoziationsstudie zur Beziehung zwischen vier mit GLRB in Verbindung stehenden Einzelnukleotidpolymorphismen und Schizophrenie an einem kaukasischen Kollektiv aus 511 schizophrenen Patienten und 613 gesunden Kontrollen durchgeführt.

Bei der Untersuchung von Allel- und Genotypfrequenzen fand sich bei rs10001962 und rs11100093 eine Assoziation zu Schizophrenie. Bei den Polymorphismen rs6812324 und rs4618360 ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den beiden untersuchten Gruppen.

Um zweifelsfrei von einer Beteiligung des GLRB und seiner Polymorphismen bei der Schizophrenie sprechen zu können, bedarf es weiterer Studien, sowohl in kaukasischen Populationen als auch in anderen Ethnizitäten.

Die Effekte der untersuchten Polymorphismen zu klären, könnte ein zusätzlicher, weiterführender Ansatz sein.

Außerdem sollten auch das Genprodukt von GLRB und der inhibitorische Glyzinrezeptor noch ausführlicher untersucht werden – vor allem im Hinblick auf einen möglichen Einfluss auf die Schizophrenie.

6 Abkürzungsverzeichnis

AaO	Age at Onset
AMPA	α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-propion-säure
ANA1	Anamnesbogen 1
ANA2	Anamnesbogen 2
ddNTPs	Didesoxynukleotidtriphosphate
dNTPs	Desoxynukleotidtriphosphate
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fourth Edition
DTNBP1	Dysbindin
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
FHAM	Family History Assessment Module
GLRA	Glyzin Rezeptor, Alpha
GLRB	Glyzin Rezeptor, Beta
GlyB	Glyzin B Rezeptor (= Glycine Modulatory Site = GMS)
GlyR	inhibitorischer Glyzinrezeptor (= strychnin-sensitiver Glyzinrezeptor)
GlyT	Glyzintransporter
GMS	Glycine Modulatory Site (= Glyzin B Rezeptor = GlyB)
HCL	Salzsäure
H2O	Wasser
ICD-10	International Classification of Diseases, Tenth Edition
LEBI	Leibziger Ereignis- und Belastungsinventar

MALDI TOF MS	Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation Time Of Flight Mass Spectrometry
NMDA	N-methyl-D-Aspartat
NMDAR	N-methyl-D-Aspartat-Rezeptor
PANSS	Positive And Negative Syndrome Scale
PCP	Phencyclidin ("angel dust")
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polymerasekettenreaktion)
PPI	Prepulse Inhibition
rpm	revolutions per minute; Umdrehungen pro Minute
SAP	Shrimp Alkaline Phosphatase
SBE	Single Base Extension
SKID	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
WHO	Weltgesundheitsorganisation (World Health Organisation)
ZNS	Zentralnervensystem

7 Literaturverzeichnis

Allen, N. C., Bagade, S., McQueen, M. B., Ioannidis, J. P., Kavvoura, F. K., Khoury, M. J., Tanzi, R. E. und Bertram, L. (2008). "Systematic meta-analyses and field synopsis of genetic association studies in schizophrenia: the SzGene database." *Nat Genet* 40(7): 827-34.

Andreasen, N. C. (2000). "Schizophrenia: the fundamental questions." *Brain Res Brain Res Rev* 31(2-3): 106-12.

Aragon, C. und Lopez-Corcuera, B. (2003). "Structure, function and regulation of glycine neurotransmitters." *Eur J Pharmacol* 479(1-3): 249-62.

Battle, Y. L., Martin, B. C., Dorfman, J. H. und Miller, L. S. (1999). "Seasonality and infectious disease in schizophrenia: the birth hypothesis revisited." *J Psychiatr Res* 33(6): 501-9.

Baumeister, A. A. und Francis, J. L. (2002). "Historical development of the dopamine hypothesis of schizophrenia." *J Hist Neurosci* 11(3): 265-77.

Bayer, T. A., Falkai, P. und Maier, W. (1999). "Genetic and non-genetic vulnerability factors in schizophrenia: the basis of the "two hit hypothesis"." *J Psychiatr Res* 33(6): 543-8.

Bechade, C., Sur, C. und Triller, A. (1994). "The inhibitory neuronal glycine receptor." *Bioessays* 16(10): 735-44.

Berger, M. (2008). *Psychische Erkrankungen; Klinik und Therapie; unter systematischer Berücksichtigung von Übersichtsarbeiten der Cochrane-Collaboration und des Centre for Reviews and Dissemination*. München; Jena, Elsevier, Urban&Fischer. 2: 978-3-437-22482-9

Bleuler, M. und Bleuler, R. (1986). "Dementia praecox oder die Gruppe der Schizophrenien: Eugen Bleuler." *Br J Psychiatry* 149(5): 661-2.

Brackmann, M., Zhao, C., Schmieden, V. und Braunewell, K. H. (2004). "Cellular and subcellular localization of the inhibitory glycine receptor in hippocampal neurons." *Biochem Biophys Res Commun* 324(3): 1137-42.

Breitinger, H. G. und Becker, C. M. (2002). "The inhibitory glycine receptor-simple views of a complicated channel." *Chembiochem* 3(11): 1042-52.

Brickman, A. M., Buchsbaum, M. S., Shihabuddin, L., Byne, W., Newmark, R. E., Brand, J., Ahmed, S., Mitelman, S. A. und Hazlett, E. A. (2004). "Thalamus size and outcome in schizophrenia." *Schizophr Res* 71(2-3): 473-84.

Brown, A. S., Cohen, P., Harkavy-Friedman, J., Babulas, V., Malaspina, D., Gorman, J. M. und Susser, E. S. (2001). "A.E. Bennett Research Award. Prenatal rubella, premorbid abnormalities, and adult schizophrenia." *Biol Psychiatry* 49(6): 473-86.

Brunnhuber, S., Frauenknecht, S. und Lieb, K. (2005). *Intensivkurs Psychiatrie und Psychotherapie*. München, Elsevier GmbH, Urban & Fischer Verlag: 3-437-42131-X

Burbach, J. P. und van der Zwaag, B. (2009). "Contact in the genetics of autism and schizophrenia." *Trends Neurosci* 32(2): 69-72.

Cannon, T. D., Kaprio, J., Lonnqvist, J., Huttunen, M. und Koskenvuo, M. (1998). "The genetic epidemiology of schizophrenia in a Finnish twin cohort. A population-based modeling study." *Arch Gen Psychiatry* 55(1): 67-74.

Carlsson, A. und Lindqvist, M. (1963). "Effect of Chlorpromazine or Haloperidol on Formation of 3methoxytyramine and Normetanephrine in Mouse Brain." *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)* 20: 140-4.

Carlsson, A., Waters, N., Holm-Waters, S., Tedroff, J., Nilsson, M. und Carlsson, M. L. (2001). "Interactions between monoamines, glutamate, and GABA in schizophrenia: new evidence." *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 41: 237-60.

Comer, R. J. (2001). *Klinische Psychologie; 2. deutsche Auflage*. Heidelberg; Berlin, Spektrum Akademischer Verlag:

Corsico, A. und McGuffin, P. (2001). "Psychiatric genetics: recent advances and clinical implications." *Epidemiol Psychiatr Soc* 10(4): 253-9.

Couture, S. M., Penn, D. L., Losh, M., Adolphs, R., Hurley, R. und Piven, J. (2009). "Comparison of social cognitive functioning in schizophrenia and high functioning autism: more convergence than divergence." *Psychol Med*: 1-11.

Coyle, J. T. (1996). "The glutamatergic dysfunction hypothesis for schizophrenia." *Harv Rev Psychiatry* 3(5): 241-53.

Coyle, J. T. (2004). "The GABA-glutamate connection in schizophrenia: which is the proximate cause?" *Biochem Pharmacol* 68(8): 1507-14.

Coyle, J. T. (2006). "Glutamate and schizophrenia: beyond the dopamine hypothesis." *Cell Mol Neurobiol* 26(4-6): 365-84.

Coyle, J. T. und Tsai, G. (2004). "NMDA receptor function, neuroplasticity, and the pathophysiology of schizophrenia." *Int Rev Neurobiol* 59: 491-515.

Coyle, J. T., Tsai, G. und Goff, D. C. (2002). "Ionotropic glutamate receptors as therapeutic targets in schizophrenia." *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 1(2): 183-9.

Cullberg, J. (2003). "Stressful life events preceding the first onset of psychosis. An explorative study." *Nord J Psychiatry* 57(3): 209-14.

Danos, P. (2004). "[Pathology of the thalamus and schizophrenia--an overview]." *Fortschr Neurol Psychiatr* 72(11): 621-34.

Davis, K. L., Kahn, R. S., Ko, G. und Davidson, M. (1991). "Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization." *Am J Psychiatry* 148(11): 1474-86.

Deister, A. und Möller, H.-J. (1997). *Schizophrenie und verwandte Psychosen*. Stuttgart, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft:

DIMDI (2005).

"<http://www.dimdi.de/dynamic/de/klassi/diagnosen/icd10/htmlamt12006/fr-icd.htm>."

Eulenburg, V., Armsen, W., Betz, H. und Gomez, J. (2005). "Glycine transporters: essential regulators of neurotransmission." *Trends Biochem Sci* 30(6): 325-33.

Falkai, P., Honer, W. G., David, S., Bogerts, B., Majtenyi, C. und Bayer, T. A. (1999). "No evidence for astrogliosis in brains of schizophrenic patients. A post-mortem study." *Neuropathol Appl Neurobiol* 25(1): 48-53.

Farmer, A. E., McGuffin, P. und Gottesman, II (1987). "Twin concordance for DSM-III schizophrenia. Scrutinizing the validity of the definition." *Arch Gen Psychiatry* 44(7): 634-41.

Feng, J., Craddock, N., Jones, I. R., Cook, E. H., Jr., Goldman, D., Heston, L. L., Peltonen, L., DeLisi, L. E. und Sommer, S. S. (2001). "Systematic screening for mutations in the glycine receptor alpha2 subunit gene (GLRA2) in patients with schizophrenia and other psychiatric diseases." *Psychiatr Genet* 11(1): 45-8.

Flint, A. C., Liu, X. und Kriegstein, A. R. (1998). "Nonsynaptic glycine receptor activation during early neocortical development." *Neuron* 20(1): 43-53.

Franzek, E. und Beckmann, H. (1996). "[Genetic heterogeneity of schizophrenia. Results of a systematic twin study]." *Nervenarzt* 67(7): 583-94.

Fusar-Poli, P. und Politi, P. (2008). "Paul Eugen Bleuler and the birth of schizophrenia (1908)." *Am J Psychiatry* 165(11): 1407.

Gaus, W. (1991). *Medizinische Statistik und Informationsverarbeitung. Duale Reihe - Ökologisches Stoffgebiet*. Stuttgart, Hippokrates Verlag 3-7773-0893-5

GeneCards (2009). "<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=GLRB>."

Giegling, I., Hartmann, A.-M., Genius, J., Benninghoff, J., Moller, H. J. und Rujescu, D. (2008). "Systems biology and complex neurobehavioral traits." *Pharmacopsychiatry* 41 Suppl 1: S32-6.

Goethe Universität (2008). "http://www.pharmazie.uni-frankfurt.de/PharmChem/Prof_Stark/Forschung/index.html."

Goff, D.C. und Coyle, J. T. (2001). "The emerging role of glutamate in the pathophysiology and treatment of schizophrenia." *Am J Psychiatry* 158(9): 1367-77.

Goldberg, T. E., Straub, R. E., Callicott, J. H., Hariri, A., Mattay, V. S., Bigelow, L., Coppola, R., Egan, M. F. und Weinberger, D. R. (2006). "The G72/G30 gene complex and cognitive abnormalities in schizophrenia." *Neuropsychopharmacology* 31(9): 2022-32.

Goldberg, T. E. und Weinberger, D. R. (2004). "Genes and the parsing of cognitive processes." *Trends Cogn Sci* 8(7): 325-35.

Gottesman, I. I. und Gould, T. D. (2003). "The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions." *Am J Psychiatry* 160(4): 636-45.

Gratacos, M., Costas, J., de Cid, R., Bayes, M., Gonzalez, J. R., Baca-Garcia, E., de Diego, Y., Fernandez-Aranda, F., Fernandez-Piqueras, J., Guitart, M., Martin-Santos, R., Martorell, L., Menchon, J. M., Roca, M., Saiz-Ruiz, J., Sanjuan, J., Torrens, M., Urretavizcaya, M., Valero, J., Vilella, E., Estivill, X. und Carracedo, A. (2008). "Identification of new putative susceptibility genes for several psychiatric disorders by association analysis of regulatory and non-synonymous SNPs of 306 genes involved in neurotransmission and neurodevelopment." *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*.

Grenningloh, G., Pribilla, I., Prior, P., Multhaup, G., Beyreuther, K., Taleb, O. und Betz, H. (1990). "Cloning and expression of the 58 kd beta subunit of the inhibitory glycine receptor." *Neuron* 4(6): 963-70.

Grudzinska, J., Schemm, R., Haeger, S., Nicke, A., Schmalzing, G., Betz, H. und Laube, B. (2005). "The beta subunit determines the ligand binding properties of synaptic glycine receptors." *Neuron* 45(5): 727-39.

Guilmatre, A., Dubourg, C., Mosca, A. L., Legallic, S., Goldenberg, A., Drouin-Garraud, V., Layet, V., Rosier, A., Briault, S., Bonnet-Brilhault, F., Laumonnier, F., Odent, S., Le Vacon, G., Joly-Helas, G., David, V., Bendavid, C., Pinoit, J. M., Henry, C., Impallomeni, C., Germano, E., Tortorella, G., Di Rosa, G., Barthelemy, C., Andres, C., Faivre, L., Frebourg, T., Saugier Veber, P. und Campion, D. (2009). "Recurrent rearrangements in synaptic and neurodevelopmental genes and shared biologic pathways in schizophrenia, autism, and mental retardation." *Arch Gen Psychiatry* 66(9): 947-56.

Häfner, H. (1993). "What is schizophrenia?" *Neurology, Psychopharmacology and Brain Research* 2: 36-52.

Häfner, H. und an der Heiden, W. (1999). "The course of schizophrenia in the light of modern follow-up studies: the ABC and WHO studies." *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 249 Suppl 4: 14-26.

Häfner, H., Riecher, A., Maurer, K., Fatkenheuer, B., Löffler, W., an der Heiden, W., Munk-Jorgensen, P. und Stromgren, E. (1991). "[Sex differences in schizophrenic diseases]." *Fortschr Neurol Psychiatr* 59(9): 343-60.

Hall, D., Gogos, J. A. und Karayiorgou, M. (2004). "The contribution of three strong candidate schizophrenia susceptibility genes in demographically distinct populations." *Genes Brain Behav* 3(4): 240-8.

Handford, C. A., Lynch, J. W., Baker, E., Webb, G. C., Ford, J. H., Sutherland, G. R. und Schofield, P. R. (1996). "The human glycine receptor beta subunit: primary structure, functional characterisation and chromosomal localisation of the human and murine genes." *Brain Res Mol Brain Res* 35(1-2): 211-9.

HapMap (2007). "[http://www.hapmap.org/cgi-perl/gbrowse/hapmap24_B36/.](http://www.hapmap.org/cgi-perl/gbrowse/hapmap24_B36/)"

Hazlett, E. A., Buchsbaum, M. S., Byne, W., Wei, T. C., Spiegel-Cohen, J., Geneve, C., Kinderlehrer, R., Haznedar, M. M., Shihabuddin, L. und Siever, L. J. (1999). "Three-dimensional analysis with MRI and PET of the size, shape, and function of the thalamus in the schizophrenia spectrum." *Am J Psychiatry* 156(8): 1190-9.

Hazlett, E. A., Buchsbaum, M. S., Kemether, E., Bloom, R., Platholi, J., Brickman, A. M., Shihabuddin, L., Tang, C. und Byne, W. (2004). "Abnormal glucose metabolism in the mediodorsal nucleus of the thalamus in schizophrenia." *Am J Psychiatry* 161(2): 305-14.

Hirata, H., Saint-Amant, L., Downes, G. B., Cui, W. W., Zhou, W., Granato, M. und Kuwada, J. Y. (2005). "Zebrafish bandoneon mutants display behavioral defects due to a mutation in the glycine receptor beta-subunit." *Proc Natl Acad Sci U S A* 102(23): 8345-50.

Howard, R. und Ford, R. (1992). "From the jumping Frenchmen of Maine to post-traumatic stress disorder: the startle response in neuropsychiatry." *Psychol Med* 22(3): 695-707.

Howes, O. D. und Kapur, S. (2009). "The dopamine hypothesis of schizophrenia: version III--the final common pathway." *Schizophr Bull* 35(3): 549-62.

Invitrogen (2009). "www.invitrogen.com."

Jansen, M. und Dannhardt, G. (2003). "Antagonists and agonists at the glycine site of the NMDA receptor for therapeutic interventions." *Eur J Med Chem* 38(7-8): 661-70.

Javitt, D. C., Balla, A., Sershen, H. und Lajtha, A. (1999). "A.E. Bennett Research Award. Reversal of phencyclidine-induced effects by glycine and glycine transport inhibitors." *Biol Psychiatry* 45(6): 668-79.

Javitt, D. C. und Coyle, J. T. (2004). "Decoding schizophrenia." *Sci Am* 290(1): 48-55.

Kay, S. R., Fiszbein, A. und Opler, L. A. (1987). "The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia." *Schizophr Bull* 13(2): 261-76.

Kay, S. R., Opler, L. A. und Fiszbein, A. (1986). *Positive And Negative Syndrome Scale (PANSS) - Bewertungsleitfaden*. New York, Department of Psychiatry, Albert Einstein College of Medicine - Montefiori Medical Center and Schizophrenia Research Unit, Bronx Psychiatric Center:

Kemp, J. A. und Leeson, P. D. (1993). "The glycine site of the NMDA receptor--five years on." *Trends Pharmacol Sci* 14(1): 20-5.

Keshavan, M. S., Anderson, S. und Pettegrew, J. W. (1994). "Is schizophrenia due to excessive synaptic pruning in the prefrontal cortex? The Feinberg hypothesis revisited." *J Psychiatr Res* 28(3): 239-65.

Kety, S. S., Wender, P. H., Jacobsen, B., Ingraham, L. J., Jansson, L., Faber, B. und Kinney, D. K. (1994). "Mental illness in the biological and adoptive relatives of schizophrenic adoptees. Replication of the Copenhagen Study in the rest of Denmark." *Arch Gen Psychiatry* 51(6): 442-55.

Kim, D. H., Maneen, M. J. und Stahl, S. M. (2009). "Building a better antipsychotic: receptor targets for the treatment of multiple symptom dimensions of schizophrenia." *Neurotherapeutics* 6(1): 78-85.

Kim, J. S., Kornhuber, H. H., Schmid-Burgk, W. und Holzmüller, B. (1980). "Low cerebrospinal fluid glutamate in schizophrenic patients and a new hypothesis on schizophrenia." *Neurosci Lett* 20(3): 379-82.

Koch, M. (1999). "The neurobiology of startle." *Prog Neurobiol* 59(2): 107-28.

Koch, M., Kling, C. und Becker, C. M. (1996). "Increased startle responses in mice carrying mutations of glycine receptor subunit genes." *Neuroreport* 7(3): 806-8.

Koch, M. und Schnitzler, H. U. (1997). "The acoustic startle response in rats--circuits mediating evocation, inhibition and potentiation." *Behav Brain Res* 89(1-2): 35-49.

Kovelman, J. A. und Scheibel, A. B. (1984). "A neurohistological correlate of schizophrenia." *Biol Psychiatry* 19(12): 1601-21.

Kraepelin, E. (1896). *Dementia praecox. Psychiatrie. Ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte*. Leipzig, Barth. 5. Auflage ed.:

Krystal, J. H., Karper, L. P., Seibyl, J. P., Freeman, G. K., Delaney, R., Bremner, J. D., Heninger, G. R., Bowers, M. B., Jr. und Charney, D. S. (1994). "Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses." *Arch Gen Psychiatry* 51(3): 199-214.

Lander, E. S. und Schork, N. J. (1994). "Genetic dissection of complex traits." *Science* 265(5181): 2037-48.

Langosch, D., Becker, C. M. und Betz, H. (1990). "The inhibitory glycine receptor: a ligand-gated chloride channel of the central nervous system." *Eur J Biochem* 194(1): 1-8.

Laruelle, M. und Abi-Dargham, A. (1999). "Dopamine as the wind of the psychotic fire: new evidence from brain imaging studies." *J Psychopharmacol* 13(4): 358-71.

Lencz, T., Morgan, T. V., Athanasiou, M., Dain, B., Reed, C. R., Kane, J. M., Kucherlapati, R. und Malhotra, A. K. (2007). "Converging evidence for a pseudoautosomal cytokine receptor gene locus in schizophrenia." *Mol Psychiatry* 12(6): 572-80.

Lewis, C. M., Levinson, D. F., Wise, L. H., DeLisi, L. E., Straub, R. E., Hovatta, I., Williams, N. M., Schwab, S. G., Pulver, A. E., Faraone, S. V., Brzustowicz, L. M., Kaufmann, C. A., Garver, D. L., Gurling, H. M., Lindholm, E., Coon, H., Moises, H. W., Byerley, W., Shaw, S. H., Mesen, A., Sherrington, R., O'Neill, F. A., Walsh, D., Kendler, K. S., Ekelund, J., Paunio, T., Lonqvist, J., Peltonen, L., O'Donovan, M. C., Owen, M. J., Wildenauer, D. B., Maier, W., Nestadt, G., Blouin, J. L., Antonarakis, S. E., Mowry, B. J., Silverman, J. M., Crowe, R. R., Cloninger, C. R., Tsuang, M. T., Malaspina, D., Harkavy-Friedman, J. M., Svrakic, D. M., Bassett, A. S., Holcomb, J., Kalsi, G., McQuillin, A., Brynjolfson, J., Sigmundsson, T., Petursson, H., Jazin, E., Zoega, T. und Helgason, T. (2003). "Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia." *Am J Hum Genet* 73(1): 34-48.

Llado, J., Caldero, J., Ribera, J., Tarabal, O., Oppenheim, R. W. und Esquerda, J. E. (1999). "Opposing effects of excitatory amino acids on chick embryo spinal cord motoneurons: excitotoxic degeneration or prevention of programmed cell death." *J Neurosci* 19(24): 10803-12.

Löffler, W. und Häfner, H. (1999). "Ecological pattern of first admitted schizophrenics in two German cities over 25 years." *Soc Sci Med* 49(1): 93-108.

Lynch, D. R. und Guttman, R. P. (2001). "NMDA receptor pharmacology: perspectives from molecular biology." *Curr Drug Targets* 2(3): 215-31.

Lynch, J. W. (2009). "Native glycine receptor subtypes and their physiological roles." *Neuropharmacology* 56(1): 303-9.

Maier, W., Lichtermann, D., Rietschel, M., Held, T., Falkai, P., Wagner, M. und Schwab, S. (1999). "[Genetics of schizophrenic disorders. New concepts and findings]." *Nervenarzt* 70(11): 955-69.

Malosio, M. L., Marqueze-Pouey, B., Kuhse, J. und Betz, H. (1991). "Widespread expression of glycine receptor subunit mRNAs in the adult and developing rat brain." *Embo J* 10(9): 2401-9.

Mapview (2008). "<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview>."

Maynard, T. M., Sikich, L., Lieberman, J. A. und LaMantia, A. S. (2001). "Neural development, cell-cell signaling, and the "two-hit" hypothesis of schizophrenia." *Schizophr Bull* 27(3): 457-76.

McGlashan, T. H. und Hoffman, R. E. (2000). "Schizophrenia as a disorder of developmentally reduced synaptic connectivity." *Arch Gen Psychiatry* 57(7): 637-48.

McGue, M. und Gottesman, II (1989). "Genetic linkage in schizophrenia: perspectives from genetic epidemiology." *Schizophr Bull* 15(3): 453-64.

Meador-Woodruff, J. H., Clinton, S. M., Beneyto, M. und McCullumsmith, R. E. (2003). "Molecular abnormalities of the glutamate synapse in the thalamus in schizophrenia." *Ann N Y Acad Sci* 1003: 75-93.

Meltzer, H. Y. (1997). "Treatment-resistant schizophrenia--the role of clozapine." *Curr Med Res Opin* 14(1): 1-20.

Milani, N., Mülhardt, C., Weber, R. G., Lichter, P., Kioschis, P., Poustka, A. und Becker, C. M. (1998). "The human glycine receptor beta subunit gene (GLRB): structure, refined chromosomal localization, and population polymorphism." *Genomics* 50(3): 341-5.

Millan, M. J. (2002). "N-methyl-D-aspartate receptor-coupled glycineB receptors in the pathogenesis and treatment of schizophrenia: a critical review." *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 1(2): 191-213.

Moldin, S. O. (1997). "The maddening hunt for madness genes." *Nat Genet* 17(2): 127-9.

Möller, H.-J., Laux, G. und Kapfhammer, H.-P. (2008). *Psychiatrie und Psychotherapie Bd. 1 Allgemeine Psychiatrie*. Heidelberg, Springer Medizin Verlag. 3: 978-3-540-24583-4

Möller, H.-J., Laux, G. und Kapfhammer, H.-P. (2008). *Psychiatrie und Psychotherapie Bd. 2 spezielle Psychiatrie*. Heidelberg, Springer Medizin Verlag. 3: 978-3-540-24583-4

Morris, D. W., McGhee, K. A., Schwaiger, S., Scully, P., Quinn, J., Meagher, D., Waddington, J. L., Gill, M. und Corvin, A. P. (2003). "No evidence for association of the dysbindin gene [DTNBP1] with schizophrenia in an Irish population-based study." *Schizophr Res* 60(2-3): 167-72.

Moss, S. J. und Smart, T. G. (2001). "Constructing inhibitory synapses." *Nat Rev Neurosci* 2(4): 240-50.

Mullis, K. B. (1990). "The unusual origin of the polymerase chain reaction." *Sci Am* 262(4): 56-61, 64-5.

Murray, R. M., Jones, P. und O'Callaghan, E. (1991). "Fetal brain development and later schizophrenia." *Ciba Found Symp* 156: 155-63; discussion 163-70.

Ng, M. Y., Levinson, D. F., Faraone, S. V., Suarez, B. K., Delisi, L. E., Arinami, T., Riley, B., Paunio, T., Pulver, A. E., Irmansyah, Holmans, P. A., Escamilla, M., Wildenauer, D. B., Williams, N. M., Laurent, C., Mowry, B. J., Brzustowicz, L. M., Maziade, M., Sklar, P., Garver, D. L., Abecasis, G. R., Lerer, B., Fallin, M. D., Gurling, H. M., Gejman, P. V., Lindholm, E., Moises, H. W., Byerley, W., Wijmsman, E. M., Forabosco, P., Tsuang, M. T., Hwu, H. G., Okazaki, Y., Kendler, K. S., Wormley, B., Fanous, A., Walsh, D., O'Neill, F. A., Peltonen, L., Nestadt, G., Lasseter, V. K., Liang, K. Y., Papadimitriou, G. M., Dikeos, D. G., Schwab, S. G., Owen, M. J., O'Donovan, M. C., Norton, N., Hare, E., Raventos, H., Nicolini, H., Albus, M., Maier, W., Nimgaonkar, V. L., Terenius, L., Mallet, J., Jay, M., Godard, S., Nertney, D., Alexander, M., Crowe, R. R., Silverman, J. M., Bassett, A. S., Roy, M. A., Merette, C., Pato, C. N., Pato, M. T., Roos, J. L., Kohn, Y., Amann-Zalcenstein, D., Kalsi, G., McQuillin, A., Curtis, D., Brynjolfson, J., Sigmundsson, T., Petursson, H., Sanders, A. R., Duan, J., Jazin, E., Myles-Worsley, M., Karayiorgou, M. und Lewis, C. M. (2008). "Meta-analysis of 32 genome-wide linkage studies of schizophrenia." *Mol Psychiatry*.

Norman, R. M. und Malla, A. K. (1993). "Stressful life events and schizophrenia. I: A review of the research." *Br J Psychiatry* 162: 161-6.

O'Donovan, M. C., Craddock, N., Norton, N., Williams, H., Peirce, T., Moskvina, V., Nikolov, I., Hamshere, M., Carroll, L., Georgieva, L., Dwyer, S., Holmans, P., Marchini, J. L., Spencer, C. C., Howie, B., Leung, H. T., Hartmann, A. M., Moller, H. J., Morris, D. W., Shi, Y., Feng, G., Hoffmann, P., Propping, P., Vasilescu, C., Maier, W., Rietschel, M., Zammit, S., Schumacher, J., Quinn, E. M., Schulze, T. G., Williams, N. M., Giegling, I., Iwata, N., Ikeda, M., Darvasi, A., Shifman, S., He, L., Duan, J., Sanders, A. R., Levinson, D. F., Gejman, P. V., Cichon, S., Nothen, M. M., Gill, M., Corvin, A., Rujescu, D., Kirov, G., Owen, M. J., Buccola, N. G., Mowry, B. J., Freedman, R., Amin, F., Black, D. W., Silverman, J. M., Byerley, W. F. und Cloninger, C. R. (2008). "Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up." *Nat Genet* 40(9): 1053-5.

OMIM (2005). "<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=138492>."

Owen, M. J. (2000). "Molecular genetic studies of schizophrenia." *Brain Res Brain Res Rev* 31(2-3): 179-86.

Port, R. L. und Seybold, K. S. (1995). "Hippocampal synaptic plasticity as a biological substrate underlying episodic psychosis." *Biol Psychiatry* 37(5): 318-24.

Porteous, D. (2008). "Genetic causality in schizophrenia and bipolar disorder: out with the old and in with the new." *Curr Opin Genet Dev* 18(3): 229-34.

QIAamp (2005). *QIAamp DNA Blood Midi/Maxi Handbook, 2nd Edition*. Hilden, Germany:

Rajendra, S., Lynch, J. W. und Schofield, P. R. (1997). "The glycine receptor." *Pharmacol Ther* 73(2): 121-46.

Ramanathan, S., Woodroffe, A., Flodman, P. L., Mays, L. Z., Hanouni, M., Modahl, C. B., Steinberg-Epstein, R., Bocian, M. E., Spence, M. A. und Smith, M. (2004). "A case of autism with an interstitial deletion on 4q leading to hemizyosity for genes encoding for glutamine and glycine neurotransmitter receptor sub-units (AMPA 2, GLRA3, GLRB) and neuropeptide receptors NPY1R, NPY5R." *BMC Med Genet* 5: 10.

Rees, M. I., Lewis, T. M., Kwok, J. B., Mortier, G. R., Govaert, P., Snell, R. G., Schofield, P. R. und Owen, M. J. (2002). "Hyperekplexia associated with compound heterozygote mutations in the beta-subunit of the human inhibitory glycine receptor (GLRB)." *Hum Mol Genet* 11(7): 853-60.

Reiss, D., Plomin, R. und Hetherington, E. M. (1991). "Genetics and psychiatry: an unheralded window on the environment." *Am J Psychiatry* 148(3): 283-91.

Rice, J. P., Reich, T., Buchholz, K. K., Neumann, R. J. und R., F. (1995). "Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence." *Alcoholism, Clinical and Experimental Research* 19: 1018-1023.

Richter, V. und Guthke, J. (1996). *Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI)*. Göttingen, Hogrefe:

Rosenfarb, I. S., Bellack, A. S., Aziz, N., Kratz, K. M. und Sayers, S. (2004). "Race, family interactions, and patient stabilization in schizophrenia." *J Abnorm Psychol* 113(1): 109-15.

Rössler, W., Salize, H. J., van Os, J. und Riecher-Rössler, A. (2005). "Size of burden of schizophrenia and psychotic disorders." *Eur Neuropsychopharmacol* 15(4): 399-409.

Rujescu, D., Bender, A., Keck, M., Hartmann, A. M., Ohl, F., Raeder, H., Giegling, I., Genius, J., McCarley, R. W., Moller, H. J. und Grunze, H. (2006). "A pharmacological model for psychosis based on N-methyl-D-aspartate receptor hypofunction: molecular, cellular, functional and behavioral abnormalities." *Biol Psychiatry* 59(8): 721-9.

Saiki, R. K., Gelfand, D. H., Stoffel, S., Scharf, S. J., Higuchi, R., Horn, G. T., Mullis, K. B. und Erlich, H. A. (1988). "Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase." *Science* 239(4839): 487-91.

Salt, T. E. (1989). "Modulation of NMDA receptor-mediated responses by glycine and D-serine in the rat thalamus in vivo." *Brain Res* 481(2): 403-6.

Saß, H. und Houben, I. (1996). *DSM-IV: Übersetzt nach der vierten Auflage des Diagnostic and statistical Manual of mental Disorders der American Psychiatric Association*. Göttingen, Hogrefe:

Schumacher, J., Jamra, R. A., Freudenberg, J., Becker, T., Ohlraun, S., Otte, A. C., Tullius, M., Kovalenko, S., Bogaert, A. V., Maier, W., Rietschel, M., Propping, P., Nothen, M. M. und Cichon, S. (2004). "Examination of G72 and D-amino-acid oxidase as genetic risk factors for schizophrenia and bipolar affective disorder." *Mol Psychiatry* 9(2): 203-7.

Segal, D. L., Hersen, M. und Van Hasselt, V. B. (1994). "Reliability of the Structured Clinical Interview for DSM-III-R: an evaluative review." *Compr Psychiatry* 35(4): 316-27.

Shi, J., Levinson, D. F., Duan, J., Sanders, A. R., Zheng, Y., Pe'er, I., Dudbridge, F., Holmans, P. A., Whittemore, A. S., Mowry, B. J., Olincy, A., Amin, F., Cloninger, C. R., Silverman, J. M., Buccola, N. G., Byerley, W. F., Black, D. W., Crowe, R. R., Oksenberg, J. R., Mirel, D. B., Kendler, K. S., Freedman, R. und Gejman, P. V. (2009). "Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia." *Nature* 460(7256): 753-7.

Skre, I., Onstad, S., Torgersen, S. und Kringlen, E. (1991). "High interrater reliability for the Structured Clinical Interview for DSM-III-R Axis I (SCID-I)." *Acta Psychiatr Scand* 84(2): 167-73.

Sobetzko, D., Sander, T. und Becker, C. M. (2001). "Genetic variation of the human glycine receptor subunit genes *GLRA3* and *GLRB* and susceptibility to idiopathic generalized epilepsies." *Am J Med Genet* 105(6): 534-8.

Stefansson, H., Ophoff, R. A., Steinberg, S., Andreassen, O. A., Cichon, S., Rujescu, D., Werge, T., Pietilainen, O. P., Mors, O., Mortensen, P. B., Sigurdsson, E., Gustafsson, O., Nyegaard, M., Tuulio-Henriksson, A., Ingason, A., Hansen, T., Suvisaari, J., Lonnqvist, J., Paunio, T., Borglum, A. D., Hartmann, A., Fink-Jensen, A., Nordentoft, M., Hougaard, D., Norgaard-Pedersen, B., Bottcher, Y., Olesen, J., Breuer, R., Moller, H. J., Giegling, I., Rasmussen, H. B., Timm, S., Mattheisen, M., Bitter, I., Rethelyi, J. M., Magnusdottir, B. B., Sigmundsson, T., Olason, P., Masson, G., Gulcher, J. R., Haraldsson, M., Fossdal, R., Thorgeirsson, T. E., Thorsteinsdottir, U., Ruggeri, M., Tosato, S., Franke, B., Strengman, E., Kiemenev, L. A., Melle, I., Djurovic, S., Abramova, L., Kaleda, V., Sanjuan, J., de Frutos, R., Bramon, E., Vassos, E., Fraser, G., Ettinger, U., Picchioni, M., Walker, N., Touloupoulou, T., Need, A. C., Ge, D., Yoon, J. L., Shianna, K. V., Freimer, N. B., Cantor, R. M., Murray, R., Kong, A., Golimbet, V., Carracedo, A., Arango, C., Costas, J., Jonsson, E. G., Terenius, L., Agartz, I., Petursson, H., Nothen, M. M., Rietschel, M., Matthews, P. M., Muglia, P., Peltonen, L., St Clair, D., Goldstein, D. B., Stefansson, K. und Collier, D. A. (2009). "Common variants conferring risk of schizophrenia." *Nature* 460(7256): 744-7.

Stefansson, H., Sigurdsson, E., Steinthorsdottir, V., Bjornsdottir, S., Sigmundsson, T., Ghosh, S., Brynjolfsson, J., Gunnarsdottir, S., Ivarsson, O., Chou, T. T., Hjaltason, O., Birgisdottir, B., Jonsson, H., Gudnadottir, V. G., Gudmundsdottir, E., Bjornsson, A., Ingvarsson, B., Ingason, A., Sigfusson, S., Hardardottir, H., Harvey, R. P., Lai, D., Zhou, M., Brunner, D., Mutel, V., Gonzalo, A., Lemke, G., Sainz, J., Johannesson, G., Andresson, T., Gudbjartsson, D., Manolescu, A., Frigge, M. L., Gurney, M. E., Kong, A., Gulcher, J. R., Petursson, H. und Stefansson, K. (2002). "Neuregulin 1 and susceptibility to schizophrenia." *Am J Hum Genet* 71(4): 877-92.

Sullivan, P. F., Lin, D., Tzeng, J. Y., van den Oord, E., Perkins, D., Stroup, T. S., Wagner, M., Lee, S., Wright, F. A., Zou, F., Liu, W., Downing, A. M., Lieberman, J. und Close, S. L. (2008). "Genomewide association for schizophrenia in the CATIE study: results of stage 1." *Mol Psychiatry* 13(6): 570-84.

Sweatt, J. D. (2004). "Hippocampal function in cognition." *Psychopharmacology (Berl)* 174(1): 99-110.

Swerdlow, N. R., Braff, D. L. und Geyer, M. A. (2000). "Animal models of deficient sensorimotor gating: what we know, what we think we know, and what we hope to know soon." *Behav Pharmacol* 11(3-4): 185-204.

Swerdlow, N. R., Weber, M., Qu, Y., Light, G. A. und Braff, D. L. (2008). "Realistic expectations of prepulse inhibition in translational models for schizophrenia research." *Psychopharmacology (Berl)* 199(3): 331-88.

Tandon, R., Keshavan, M. S. und Nasrallah, H. A. (2008). "Schizophrenia, "just the facts" what we know in 2008. 2. *Epidemiology and etiology.*" *Schizophr Res* 102(1-3): 1-18.

The International Schizophrenia Consortium (2008). "Rare chromosomal deletions and duplications increase risk of schizophrenia." *Nature* 455(7210): 237-41.

Thome, J., Foley, P. und Riederer, P. (1998). "Neurotrophic factors and the maldevelopmental hypothesis of schizophrenic psychoses. Review article." *J Neural Transm* 105(1): 85-100.

Thomson, A. M. (1989). "Glycine modulation of the NMDA receptor/channel complex." *Trends Neurosci* 12(9): 349-53.

Tienari, P., Wynne, L. C., Moring, J., Lahti, I., Naarala, M., Sorri, A., Wahlberg, K. E., Saarento, O., Seitamaa, M., Kaleva, M. und et al. (1994). "The Finnish adoptive family study of schizophrenia. Implications for family research." *Br J Psychiatry Suppl*(23): 20-6.

Tienari, P., Wynne, L. C., Sorri, A., Lahti, I., Laksy, K., Moring, J., Naarala, M., Nieminen, P. und Wahlberg, K. E. (2004). "Genotype-environment interaction in schizophrenia-spectrum disorder. Long-term follow-up study of Finnish adoptees." *Br J Psychiatry* 184: 216-22.

Torrey, E. F., Miller, J., Rawlings, R. und Yolken, R. H. (1997). "Seasonality of births in schizophrenia and bipolar disorder: a review of the literature." *Schizophr Res* 28(1): 1-38.

Tsai, G., van Kammen, D. P., Chen, S., Kelley, M. E., Grier, A. und Coyle, J. T. (1998). "Glutamatergic neurotransmission involves structural and clinical deficits of schizophrenia." *Biol Psychiatry* 44(8): 667-74.

Tsuang, M. T., Stone, W. S. und Faraone, S. V. (2001). "Genes, environment and schizophrenia." *Br J Psychiatry Suppl* 40: s18-24.

Turecek, R. und Trussell, L. O. (2001). "Presynaptic glycine receptors enhance transmitter release at a mammalian central synapse." *Nature* 411(6837): 587-90.

van den Bogaert, A., Schumacher, J., Schulze, T. G., Otte, A. C., Ohlraun, S., Kovalenko, S., Becker, T., Freudenberg, J., Jonsson, E. G., Mattila-Evenden, M., Sedvall, G. C., Czerski, P. M., Kapelski, P., Hauser, J., Maier, W., Rietschel, M., Propping, P., Nothen, M. M. und Cichon, S. (2003). "The *DTNBP1* (*dysbindin*) gene contributes to schizophrenia, depending on family history of the disease." *Am J Hum Genet* 73(6): 1438-43.

van Praag, H. M. (1976). "About the impossible concept of schizophrenia." *Compr Psychiatry* 17(4): 481-97.

Waldvogel, H. J., Baer, K., Allen, K. L., Rees, M. I. und Faull, R. L. (2007). "Glycine receptors in the striatum, globus pallidus, and substantia nigra of the human brain: an immunohistochemical study." *J Comp Neurol* 502(6): 1012-29.

Walker, E., Kestler, L., Bollini, A. und Hochman, K. M. (2004). "Schizophrenia: etiology and course." *Annu Rev Psychol* 55: 401-30.

Williams, H. J., Owen, M. J. und O'Donovan, M. C. (2009). "New findings from genetic association studies of schizophrenia." *J Hum Genet* 54(1): 9-14.

Wittchen, H.-U., Zaudig, M. und Fydrich, T. (1997). *Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV, Achse I und II*. Göttingen, Hogrefe:

Wood, P. L., Rao, T. S., Iyengar, S., Lanthorn, T., Monahan, J., Cordi, A., Sun, E., Vazquez, M., Gray, N. und Contreras, P. (1990). "A review of the *in vitro* and *in vivo* neurochemical characterization of the NMDA/PCP/glycine/ion channel receptor macrocomplex." *Neurochem Res* 15(2): 217-30.

Wright, I. C., Rabe-Hesketh, S., Woodruff, P. W., David, A. S., Murray, R. M. und Bullmore, E. T. (2000). "Meta-analysis of regional brain volumes in schizophrenia." *Am J Psychiatry* 157(1): 16-25.

Zafra, F., Aragon, C. und Gimenez, C. (1997). "Molecular biology of glycinergic neurotransmission." *Mol Neurobiol* 14(3): 117-42.

Zhou, L., Chillag, K. L. und Nigro, M. A. (2002). "Hyperreflexia: a treatable neurogenetic disease." *Brain Dev* 24(7): 669-74.

Zobel, A. und Maier, W. (2004). "[Endophenotype--a new concept for biological characterization of psychiatric disorders]." *Nervenarzt* 75(3): 205-14.

Zubin, J. und Spring, B. (1977). "Vulnerability--a new view of schizophrenia." *J Abnorm Psychol* 86(2): 103-26.

8 Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde in der Psychiatrischen Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München durchgeführt, dafür danke ich Herrn Prof. Dr. H.-J. Möller als dem Leiter dieser Klinik.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. D. Rujescu und natürlich Frau Dipl. Psych. I. Giegling für die Auswahl und Vergabe des Themas, die Möglichkeit zur Durchführung dieser Arbeit in Herrn Prof. Dr. Rujescus Forschungsgruppe sowie ihre konstruktive Betreuung, insbesondere aber auch für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung meiner Ergebnisse und bei der Korrektur.

Bei Frau Dr. A. Hartmann möchte ich mich für die kompetente Unterstützung bezüglich des Laborteils und die hilfreichen Hinweise im Rahmen der Korrektur meiner Arbeit bedanken.

Ein herzlicher Dank geht an Frau Dipl. Psych. Heike Konnerth für eine gründliche Einführung in die in dieser Arbeit angewandten Diagnose-Instrumente und dafür, dass sie für jede Frage und jeden Zweifel auch unter größtem Druck ein offenes Ohr hat.

Zuletzt möchte ich nun aber noch meiner Lieblingsbiomatematikerin Ute von Wangenheim und meinem Dr. Markus Schmid, die in jeder Phase der Arbeit ein offenes Ohr für mich hatten, für hilfreiche Anregungen, aufbauende Gespräche und das erste Korrekturlesen in Imst danken und vor allem auch meinen Eltern, die immer an mich glauben, immer für mich da sind und alles für mich geben!