

**Aus der  
Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Direktor: Herr Prof. Dr. med. H.-J. Möller**

**Der Einfluss genetischer Polymorphismen im  
ADORA2A- Gen auf kognitive Phänotypen**

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

vorgelegt von  
Stefanie Geißler

aus  
Ebersberg

2010

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. D. Rujescu

Mitberichterstatter: Prof. Dr. G. Laux

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

Tag der mündlichen Prüfung: 29.07.2010

*Meinen Eltern gewidmet*

*Gib jedem Tag die Chance, der schönste deines Lebens zu werden*

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Einleitung.....</b>	<b>2</b>
2.1	Intelligenz und kognitive Fähigkeiten.....	2
2.1.1	Die klassischen Strukturmodelle der Intelligenz.....	4
2.1.2	Die modernen Strukturmodelle der Intelligenz.....	6
2.1.3	Die Quantifizierung der Intelligenz.....	9
2.2	Die Genetik und kognitive Fähigkeiten.....	12
2.2.1	Die Genetik und Zwillingsstudien.....	13
2.2.2	Die Genetik und Adoptionsstudien.....	15
2.2.3	Die Molekulargenetik mit Kopplungs- und Assoziationsstudien.....	16
2.2.3.1	Die Molekulargenetik mit Kopplungsstudien.....	17
2.2.3.2	Die Molekulargenetik mit Assoziationsstudien.....	19
2.2.3.3	Die Assoziationsstudien und verschiedene Neurotransmittersysteme.....	19
2.3	Die Adenosinrezeptoren.....	21
2.3.1	Verteilung der Adenosinrezeptoren im Organismus.....	23
2.3.2	Bildung und Konzentration von Adenosin und dessen Einfluss auf die Neuroprotektion.....	24
2.3.3	Signalwege der Adenosinrezeptoren.....	25
2.3.3.1	G-Protein-gekoppelte Signaltransduktion der Adenosinrezeptoren.....	26
2.3.3.2	Interaktionen der Adenosinrezeptoren mit anderen Neurotransmittersystemen.....	28
2.4	Das ADORA2A-Gen.....	30
2.4.1	Genstruktur und Aufbau des ADORA2A-Rezeptors.....	30
2.4.2	Der A2a-Rezeptor und psychische Erkrankungen.....	33
2.4.3	Der A2a-Rezeptor und Morbus Alzheimer.....	34
2.4.4	Der A2a-Rezeptor und kognitive Fähigkeiten.....	35

2.4.4.1	Effekte des A1-/A2a-Rezeptorantagonisten Koffein auf kognitive Fähigkeiten.....	35
2.4.4.2	Effekte der A2a-Rezeptoren auf kognitive Fähigkeiten.....	37
2.4.4.3	Effekte der A2a-Rezeptoren auf die Langzeitpotenzierung...	38
2.5	Der A2a-Rezeptor und das Arbeitsgedächtnis.....	39
2.5.1	Das Arbeitsgedächtnis.....	39
2.5.2	Der A2a-Rezeptor und präfrontale Kognition.....	41
2.6	Fragestellung.....	42
<b>3</b>	<b>Material und Methoden.....</b>	<b>43</b>
3.1	Rekrutierung der Studienteilnehmer.....	43
3.1.1	Telefonscreening.....	43
3.1.2	Anamnese I.....	43
3.1.3	Ausschluss nicht geeigneter Probanden.....	44
3.2	Klinisches Interview.....	44
3.2.1	Der Mini-Mental-State-Test (MMST).....	45
3.2.2	Strukturiertes klinisches Interview für DSM-IV (SKID).....	46
3.2.3	Family History Assessment Module (FHAM).....	47
3.2.4	Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI).....	47
3.3	Hamburger-Wechsler Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991 (HAWIE-R).....	48
3.3.1	Der Verbalteil.....	49
3.3.2	Der Handlungsteil.....	51
3.3.3	Testauswertung.....	53
3.4	DNA-Extraktion.....	54
3.5	Bestimmung der DNA-Konzentration.....	57
3.6	Genotypisierung mittels SNP-Microarrays.....	59
3.6.1	Genotypspezifische PCR-Amplifikation nach dem GoldenGate Assay Protokoll.....	60
3.6.2	Das Prinzip des Bead Chip Arrays.....	62
3.6.3	Analyse der genotypischen Fluoreszenzsignale.....	63
3.7	Statistische Analyse.....	64

<b>4</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>66</b>
4.1	Analyse des Polymorphismus rs2267076.....	66
4.1.1	Genotyp rs2267076.....	66
4.1.2	Allel rs2267076.....	68
4.2	Analyse des Polymorphismus rs1041749.....	70
4.2.1	Genotyp rs1041749.....	70
4.2.2	Allel rs1041749.....	71
<b>5</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>74</b>
5.1	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	74
5.2	Diskussion der Methoden.....	75
5.3	Diskussion der Ergebnisse .....	78
5.4	Ausblick auf zukünftige Untersuchungen.....	87
<b>6</b>	<b>Abkürzungen und Fachbegriffe.....</b>	<b>89</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>92</b>
<b>8</b>	<b>Danksagung.....</b>	<b>112</b>
<b>9</b>	<b>Lebenslauf.....</b>	<b>113</b>
<b>10</b>	<b>Eigenständigkeitserklärung.....</b>	<b>114</b>

# 1 Zusammenfassung

Adenosinrezeptoren werden aufgrund ihrer neuromodulatorischen Wirkung vermehrt mit Lern- und Gedächtnisprozessen in Zusammenhang gebracht. Auf Rezeptorebene interagieren sie auf vielfältige Weise mit unterschiedlichen Neurotransmittersystemen. Es wird angenommen, dass durch verminderte ADORA2A-(Adenosin-2a-Rezeptor)-Gen-Aktivität eine lernverstärkende Wirkung erzielt werden kann.

Einige tierexperimentelle Arbeiten konnten bereits Zusammenhänge zwischen erhöhter Intelligenz und verminderter ADORA2A-Aktivität aufdecken. Das ADORA2A-Gen wird zudem als ein wichtiges Kandidatengen für kognitive Defizite bei Alzheimerpatienten angesehen.

Kognitive Fähigkeiten werden sowohl durch Umwelt-, als auch durch genetische Faktoren beeinflusst. In dieser Studie wurde der Einfluss der beiden natürlich vorkommenden genetischen Polymorphismen (SNPs= *single nucleotide polymorphisms*) rs2267076 und rs1041749 des ADORA2A-Gens auf kognitive Phänotypen untersucht. Zur Ermittlung einer Assoziation wurde an neuropsychiatrisch unauffälligen Einwohnern Münchens der allgemeine Intelligenztest HAWIE-R (Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991) durchgeführt.

Bei der Genotypanalyse des ADORA2A-Polymorphismus rs2267076 schnitten die homozygoten TT-Träger im Handlungsubtest *Bilderordnen* signifikant schlechter ab als CC- und CT-Träger. Ein Trend zur Signifikanz wurde im Untertest *Gemeinsamkeiten finden* festgestellt. In den beiden identischen Subkategorien wurde bei der Allelanalyse des SNP rs2267076 ein Trend beobachtet, hier zeigten jeweils die T-Allelträger die schlechteren kognitiven Leistungen.

Bei der Analyse des ADORA2A-Polymorphismus rs1041749 wurden bei der Genotyp- und Allelanalyse keine signifikanten Assoziationen entdeckt. In den Untertests *Gemeinsamkeiten finden* und *Allgemeines Wissen* gab es bei der Allelanalyse einen statistischen Trend, C-Allelträger schnitten besser ab als T-Allelträger.

Diese Studie hebt den genetischen Anteil einzelner SNPs an der allgemeinen Intelligenz hervor und liefert weitere Hinweise für ADORA2A als Kandidatengen im Rahmen von kognitiven Untersuchungen.

## 2 Einleitung

### 2.1 Intelligenz und kognitive Phänotypen

Leistungen wurden seit jeher als interindividuelle Unterschiede zur Erklärung der dahinter vermuteten Intelligenz herangezogen. So kann kein anderes Merkmal besser den beruflichen Erfolg einer Person voraussagen (Schmidt & Hunter 2004), und auch für den gesundheitlichen Zustand einer Person ist die Intelligenz scheinbar von fundamentaler Bedeutung (Gottfredson 2004).

Die wissenschaftliche Auseinandersetzung mit Intelligenz kann bis zu Beginn des 19. Jahrhunderts zurückverfolgt werden. Ärzte und Pädagogen begannen, sich mit dem Problem der geringen intellektuellen Leistungsfähigkeit auseinanderzusetzen. Binet und Simon, die 1905 den ersten Intelligenztest entwickelten, verstanden unter Intelligenz "gut urteilen, gut verstehen und gut denken" (Binet & Simon 1905). Im Laufe der Jahre wurden verschiedenste Definitionen des Intelligenzbegriffs angeboten (Tab.1).

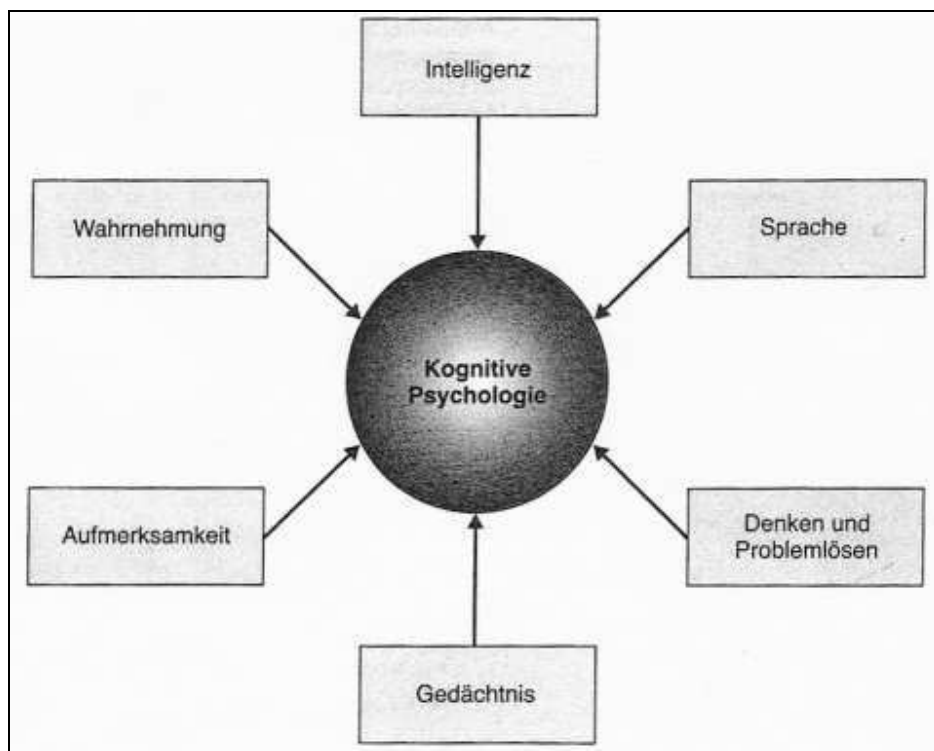
**Tab.1:** Unterschiedliche Ansätze von Autoren zur Definition der Intelligenz

<b>Definitionen von Intelligenz</b>	<b>Autor</b>
Ein Individuum ist insoweit intelligent, als es abstrakt zu denken vermag.	Terman, 1921
Intelligenz ist die zusammengesetzte oder globale Fähigkeit des Individuums, zweckvoll zu handeln, vernünftig zu denken und sich mit seiner Umgebung wirkungsvoll auseinanderzusetzen.	Wechsler, 1944
Intelligenz ist ein Zustand der Balance oder des Gleichgewichts, der durch eine Person erreicht wird, wenn sie dazu fähig ist, angemessen mit den ihr vorliegenden Daten umzugehen. Aber sie ist kein statischer Zustand, sondern in dem Sinne dynamisch, dass sie sich selbst kontinuierlich an neue Umweltreize anpasst.	Piaget, 1950
Intelligenz ist die personale Fähigkeit, sich unter zweckmäßiger Verfügung über Denkmittel auf neue Forderungen einzustellen.	Stern, 1950
Intelligenz ist kein unmittelbar beobachtbares, real definierbares Merkmal, sondern eine erschlossene Verhaltensdisposition, ein Konstrukt.	Conrad, 1983

Trotz umfassender Definitionsversuche ist es bisher noch nicht zu einem einheitlichen Konsens über das Wesen der Intelligenz gekommen. Einigkeit besteht lediglich in der Erklärung einzelner Aspekte der Intelligenz. So scheinen Fähigkeiten des Abstrakten Denkens, des Schlussfolgerns, des Problemlösens und Wissenserwerbs spezifische



Bereiche mit hohem Einfluss auf die Intelligenz darzustellen. Estes fasste diese Fähigkeiten zusammen und beschrieb Intelligenz als „das adaptive Verhalten des Einzelnen, gewöhnlich charakterisiert durch ein bestimmtes Problemlösungselement und gesteuert von kognitiven Prozessen und Operationen“ (Estes 1982). Der Begriff Kognition leitet sich von dem lateinischen Wort “cognitio” = Erkennen ab und ist als Überbegriff aller Formen des Wahrnehmens, Denkens, Erkennens und Wissens zu verstehen. Er ist eine allgemeine Bezeichnung für Denkprozesse, aktive intellektuelle Informationsverarbeitung und deren konzeptuelle Einordnung und sinnvolle Anwendung in Bezug auf das Verhalten (Pschyrembel 1989). Kognition umfasst das Wahrnehmen, die Mustererkennung, die Aufmerksamkeit, das Erinnern, das bildhafte Vorstellen, intelligentes Handeln, Denken, Problemlösen und das Sprechen und Sprachverstehen. Kognition nimmt Bezug auf den Inhalts- (Tatsachen, Begriffe, Regeln, Erinnerungen), aber auch auf den Prozessaspekt des Erkennens und Wissens. Kognitive Prozesse dienen im Alltag dazu, die Welt zu verstehen, Lösungen für Probleme zu finden und Wissen zu erlangen (Abb.1; Gerrig & Zimbardo 2008).



**Abb.1:** Kognitive Psychologie wird zusammengesetzt aus Sprache, Denken und Problemlösen, Gedächtnis, Aufmerksamkeit, Wahrnehmung und Intelligenz (Gerrig & Zimbardo 2008).

### 2.1.1 Die klassischen Strukturmodelle der Intelligenz

Die Frage nach der Intelligenz ist mit ihrer Messung verbunden. Strukturmodelle liefern hierbei wichtige Ansätze, die sich mit den verschiedenen Komponenten befassen, die am Konstrukt "Intelligenz" beteiligt sind und deren Zusammenwirken beschreiben (Tab.2; Funke & Frensch 2006).

**Tab.2:** Klassische Strukturmodelle der Intelligenz

Zwei-Faktoren-Theorie der Intelligenz, Spearman, 1904
Modell der fluiden und kristallinen Intelligenz, Catell, 1963
Intelligenzmodell nach Wechsler, 1964
Multipl. Faktorenmodell, Thurstone, 1938
Modell der Pragmatik und Mechanik, Baltes, 1990
Würfelmodell der Intelligenz, Guilford, 1967

Die 1904 veröffentlichte "Zwei-Faktoren-Theorie der Intelligenz" von Spearman gilt als Grundlage vieler weiterer Intelligenzmodelle. Aus der starken Korrelation von Leistungen von Personen in jeweils verschiedenen Intelligenztests folgerte Spearman, dass es einen Faktor allgemeiner Intelligenz gibt, den sogenannten g-Faktor oder Generalfaktor der Intelligenz (Spearman 1927). Jeder einzelne Bereich ist wieder von speziellen Fähigkeiten, wie räumlichem Vorstellungsvermögen oder logischem Denken, abhängig. Diese Spezialfaktoren bezeichnete Spearman als s-Faktoren. So hängt die Leistung in einem Rechentest beispielsweise neben der allgemeinen Intelligenz g auch von der Rechenfähigkeit s ab (Spearman 1927).

Catell, ein Schüler Spearmans, griff dessen Theorie auf und modifizierte sie zum "Modell der fluiden und kristallinen Intelligenz" (Catell 1963). Er zerlegte die allgemeine Intelligenz in zwei unabhängige Komponenten, die er fluide (Gf-Faktor) und kristalline (Gc-Faktor) Intelligenz nannte. Die fluide Intelligenz steht für die Fähigkeit, komplexe Sachverhalte zu erkennen und sich neuen Situationen oder Problemen anzupassen, messbar beispielsweise mit Matrizenaufgaben oder räumlichen Anordnungen (Catell 1963; Duncan et al. 1995). Die kristalline Intelligenz repräsentiert hingegen das erworbene Wissen und die Fähigkeit einer Person, auf dieses Wissen zurückgreifen zu können, messbar mit Allgemeinwissens- oder Wortschatztests (Gerrig & Zimbardo 2008). Die fluide Intelligenz entwickelt sich rascher und unabhängig vom individuellen

Lernverhalten und ist daher Voraussetzung für die eher umweltbedingte, auf Erfahrungen basierende kristalline Intelligenz (Amelang et al. 2006).

Wechsler entwickelte kein explizites Intelligenztheoretisches Modell. Orientiert am hierarchischen faktorenanalytischen Modell Spearman's ging er von einer allgemeinen Intelligenz aus, die das Verhalten des Individuums als Ganzes misst, wodurch auch nicht-intellektuelle, praktische Intelligenzkomponenten erfasst werden können. Er unterteilte die allgemeine Intelligenz in Verbal- und Handlungsintelligenz, denen wiederum mehrere spezielle Fähigkeiten untergeordnet sind (Conrad 1983). Basierend auf diesem Modell entstand der Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene (HAWIE; Kap.2.1.3), dem die Intelligenzdefinition von Wechsler zugrunde liegt: "Intelligenz ist ein hypothetisches Konstrukt, ist die zusammengesetzte oder globale Fähigkeit des Individuums, zielgerichtet zu handeln, rational zu denken und sich wirkungsvoll mit seiner Umwelt auseinanderzusetzen. Sie ist zusammengesetzt oder global, weil sie aus Elementen oder Fähigkeiten besteht, die, obwohl nicht völlig unabhängig, qualitativ unterscheidbar sind" (Matarazzo 1982).

Thurstone entwarf alternativ zu diesem Modell das "Modell mehrerer gemeinsamer Faktoren" („multiples Faktorenmodell"). Dieses nicht hierarchische Modell besteht aus sieben gleichberechtigten Primärfähigkeiten ("primary abilities"), die an der Bewältigung bestimmter Anforderungen beteiligt sein sollen: Diese sind verbales Verständnis, Wortflüssigkeit, schlussfolgerndes Denken, räumliches Vorstellungsvermögen, Merkfähigkeit, Rechenfähigkeit und Wahrnehmungs- bzw. Auffassungsgeschwindigkeit (Thurstone 1998).

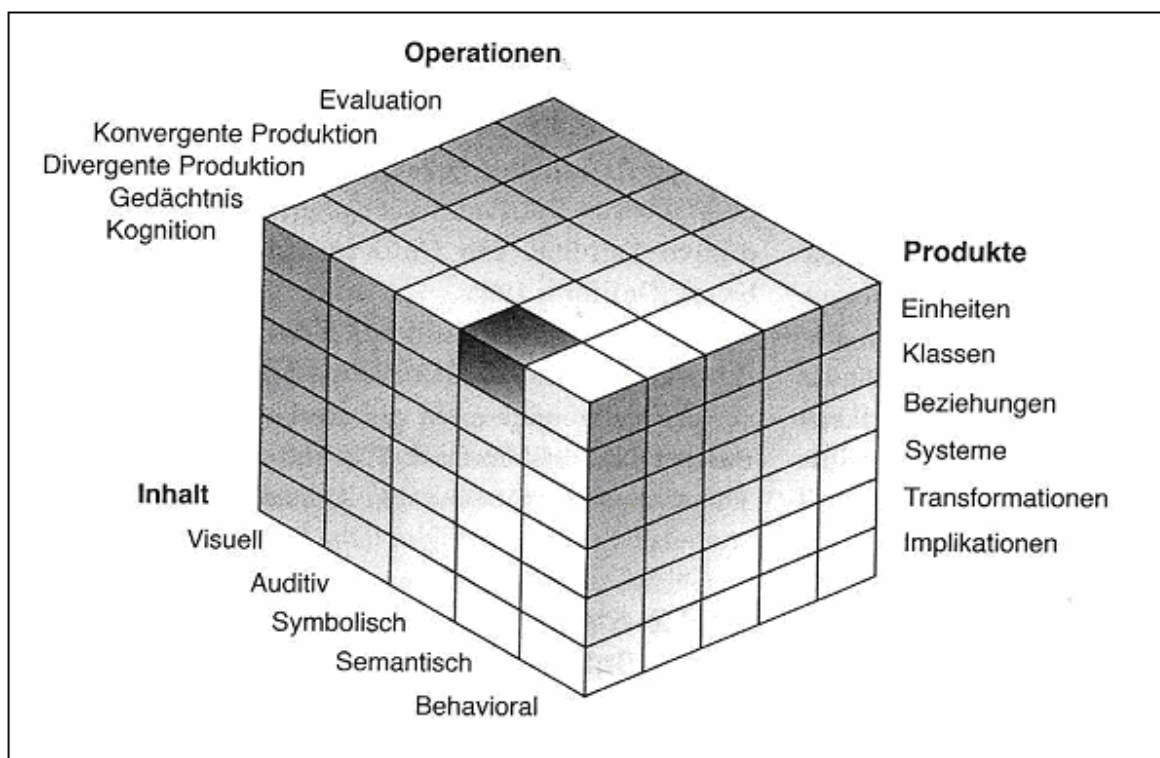
In Anlehnung an Cattells Modell unterschied Baltes zwischen einer wissensgebundenen "Pragmatik" der Intelligenz und der von ihr unabhängigen, überwiegend wissensfreien "Mechanik". Letztere repräsentiert laut Baltes die genetisch determinierte universelle Fähigkeit der Informationsverarbeitung, während unter Pragmatik das faktische und prozedurale Wissen fällt (Baltes 1990).

Guilford ging 1967 in seinem "Würfelmodell der Intelligenz" bzw. Intelligenzstrukturmodell nicht von einem hierarchischen Modell mit einem Generalfaktor und Unterfaktoren aus, sondern entschied sich explizit für eine große Vielzahl unabhängiger Einzelfaktoren (Abb.2; Guilford 1967).

Das Modell unterscheidet drei Eigenschaften der Intelligenz, die jeweils eine der drei

Dimensionen eines Würfels aufspannen (Abb.2):

1. die intellektuellen Operationen (Art der ausgeführten geistigen Aktivität: Evaluation, konvergente/divergente Produktion, Gedächtnis, Kognition),
2. deren Inhalte (Art der Information: visuell, auditiv, symbolisch, semantisch oder verhaltensmäßig) und
3. die Produkte (Form der Information: Einheiten, Klassen, Beziehungen, Systeme, Transformationen, Implikationen) intelligenten Verhaltens (Guilford 1967).



**Abb.2:** Guilfords Würfelmodell: Die drei Dimensionen des Würfels bestehen aus Operationen, Produkten und Inhalt (Guilford 1967).

## 2.1.2 Die Modernen Strukturmodelle der Intelligenz

**Tab.3:** Moderne Strukturmodelle der Intelligenz

Die biologische, psychometrische und soziale Intelligenz, Eysenck, 1980
Berliner Intelligenzstrukturmodell, Jäger, 1984
"Frames of mind", Gardner, 1983
Triarchische Intelligenztheorie, Sternberg, 1985

Eysenck entwickelte die Theorie der "biologischen Intelligenz", die besagt, dass physiologische, biochemische und neuronale/hormonelle Prozesse im Menschen an intelligentem Verhalten beteiligt sind. Dieser Teil der Intelligenz sei daher direkt messbar mithilfe des Elektroenzephalogramms, der Nervenleitgeschwindigkeit oder der Hautleitfähigkeit (Eysenck 1987). Hinzu kommt die von biologischen, biografischen, sozioökonomischen und kulturellen Faktoren beeinflussbare "psychometrische Intelligenz", quantifizierbar anhand von IQ-Tests. Zuletzt nennt Eysenck die "soziale Intelligenz", die im Bereich zwischenmenschlicher Kompetenzen unerlässlich ist und vor allem von der psychometrischen Intelligenz, Persönlichkeit, Erfahrung und Motivation des einzelnen abhängig ist (Eysenck 1987).

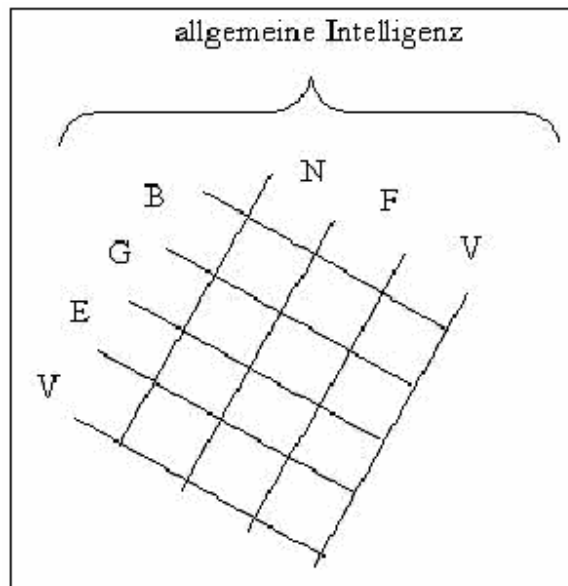
Das "Berliner Intelligenzstrukturmodell" von Jäger (Abb.3) fasste die Elemente aus den Kategorisierungs-Systemen von Spearman, Thurstone und Guilford zusammen (Jäger 1984). Auch er entwickelte wie Guilford eine bimodale Matrix, die allerdings keine Primärfaktoren enthält, sondern aus multifaktoriell bedingten Leistungen besteht (Amelang et al. 2006).

Sein Modell entwickelte er, indem er sämtliche in der Literatur der Intelligenzmessung jeweils durchgeführten Aufgabenarten (ca. 2000 Aufgaben) katalogisierte. Er extrahierte aus diesen 191 Aufgabenblöcke mit je 98 Aufgaben, die eine repräsentative Stichprobe aller Aufgaben darstellten, wobei er diejenigen Aufgaben beibehielt, die typisch für die wichtigsten Intelligenzmodelle sind. Basierend auf diesen Ergebnissen entwickelte er seine Intelligenzskala, bestehend aus Modalitäten, unter denen die Intelligenzleistungen klassifiziert werden können.

Die eine Modalität wird durch die kognitiven Prozesse (Operationen) gebildet, die während der Beschreibung der Aufgaben beansprucht werden (Abb.3): Bearbeitungsgeschwindigkeit (B), Gedächtnis (G), Einfallsreichtum (E) und Verarbeitungskapazität (V).

Denen gegenüber stellte Jäger die Art der Aufgaben, die Inhaltsfaktoren figural-bildhafte Aufgaben (F), verbale (V) und numerische (N) Aufgaben (Abb.3).

Testaufgaben können als eine Kombination der zwei Modalitäten klassifiziert werden. Oberhalb der beiden Modalitäten wird als übergeordnetes Konstrukt die allgemeine Intelligenz als nicht weiter differenzierbare Einheit angenommen (Jäger 1984).



**Abb.3:** Das Berliner Intelligenzstrukturmodell nach Jäger (1984) besteht aus Operationen (Bearbeitungsgeschwindigkeit (B), Gedächtnis (G), Einfallsreichtum (E) und Verarbeitungskapazität (V)) und Inhaltsfaktoren (figural- bildhafte (F), verbale (V), numerische (N) Aufgaben)

Gardner unterschied in seinem 1983 publizierten Buch "Frames of Mind" acht verschiedene Intelligenzen, die vor allem auf Grund logischer Überlegungen und weniger auf Grund empirischer Befunde entstanden sind (Gardner 1983).

Diese sollen einen ganzen Bereich menschlicher Erfahrungen abdecken.

**Tab.4:** Gardners Intelligenzmodell der acht Intelligenzen, 1983

1. Sprachliche Intelligenz
2. Logisch-mathematische Intelligenz
3. Naturalistische Intelligenz
4. Räumliche Intelligenz
5. Musikalische Intelligenz
6. Motorische/Kinästhetische Intelligenz
7. Interpersonale Intelligenz
8. Intrapersonale Intelligenz

Gardner ging bei der Wertschätzung seiner Intelligenzen von kulturellen Unterschieden aus. So nahm er an, dass in westlichen Kulturen vor allem die ersten beiden Intelligenzarten gefordert und gefördert werden, während diese in anderen Gegenden, z.B. auf einem Inselstaat im Westpazifik, weniger wichtig sind und dort beispielsweise

räumliche und motorische Intelligenz sehr viel höher geschätzt werden (Gardner 1983).

Die triarchische Intelligenztheorie Sternbergs basierte auf dem Ansatz, dass Intelligenz die Fähigkeit sei, aus Erfahrung zu lernen und sich an die Umgebung anzupassen. Dabei unterschied er drei wichtige Subtheorien der Intelligenz: die Komponentensubtheorie, die Zwei-Facetten- und die Kontextsubtheorie (Sternberg 1985).

Bei ersterer geht es um das Verhältnis der Intelligenz zur eigenen Person, um die Ressourcen und Kapazitäten, die jedes Individuum besitzt. Diese gliedern sich in einzelne Komponenten, die der Mensch zur Verarbeitung von Informationen benötigt: Die Metakomponente beinhaltet ausführende Prozesse, die für die Planung, Überwachung und Bewertung von Problemen von Nöten sind. Die Performanz-Komponente stellt die ausführende Einheit dar, während die Wissenserwerbkomponente den Lernprozess vorantreibt. Alle Komponenten sind kulturübergreifend wirksam und lassen sich der analytischen, kreativen und praktischen Intelligenz zuordnen (Sternberg 2004). Die Zwei-Facetten-Subtheorie geht auf die Erfahrung mit den oben genannten Komponenten ein. So ist sowohl das Ausbilden von Routine, als auch das Lösen unbekannter Probleme und die Anpassung eigener Strategien an neue Herausforderungen Zeichen von Intelligenz. Die Kontext-Subtheorie postuliert den kulturellen und umweltbezogenen Aspekt der Intelligenz. Sie erfasst die Fähigkeit des Individuums, sich einerseits immer wieder neu an die Umwelt und außergewöhnliche Situationen anzupassen, andererseits aber auch Personen in der Umwelt in Hinblick auf die eigenen Bedürfnisse zu beeinflussen (Sternberg 2004).

### **2.1.3 Die Quantifizierung der Intelligenz**

Einer der ersten Berichte über Intelligenzmessung wurde im Jahr 1905 veröffentlicht. Der französische Bildungs- und Erziehungsministers beauftragte Binet und Simons, effektivere Lehrmethoden für geistig behinderte Kinder zu entwickeln. Zur Quantifizierung der Intelligenz entwickelte Binet Aufgaben, anhand derer es erstmals möglich war, auf objektivierbare Lösungen ("falsch" vs. "richtig") zurückzugreifen und somit die Antworten der Kinder vergleichbar zu machen (Binet 1911). Die Ergebnisse wurden anhand eines Durchschnittsalters ausgedrückt und das Maß als "Intelligenzalter"

bezeichnet. Der Vergleich zwischen Lebens- und Intelligenzalter bei Binet wurde durch die Verwendung des IQ, des Intelligenzquotienten, abgelöst. Er ist definiert als Verhältnis des Intelligenzalters zum Lebensalter, multipliziert mit 100 (Stern 1912). Der Wert 100 galt als durchschnittlicher Intelligenzquotient.

Gängige Gruppen von IQ-Tests sind die Stanford-Binet-Skalen und die Wechsler-Skalen. Erstere wurde als Anlehnung an Binets Methode von Lewis Terman von der Universität Stanford entwickelt. Er standardisierte die Vorgaben der Tests, entwickelte Normen für die verschiedenen Altersstufen und veröffentlichte 1916 die "Stanford Revision of the Binet Tests" (Terman 1921). Nach mehreren Überarbeitungen wurde der für durchschnittlich begabte Menschen entwickelte Test auch für die Testung von Kleinkindern, Hochbegabten und Intelligenzgeminderten erweitert.

Die Wechsler-Intelligenzskalen beruhen auf David Wechslers Bestrebungen, die Abhängigkeit verbaler Items zu vermindern, indem er diese mit nonverbalen, handlungsbezogenen Untertests kombinierte. So war neben der Messung des Gesamt-IQs auch eine Unterteilung in Verbal-IQ und Handlungs-IQ möglich, wodurch eine genaue Beobachtung spezifischer intellektueller Fähigkeiten möglich wurde. Der Vorteil des Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene (HAWIE) lag v.a. darin, dass intraindividuelle Veränderungen durch wiederholte Testungen derselben Person gemessen werden konnten (Wechsler 1997). Im Jahr 2006 wurde der HAWIE um vier weitere Index-Werte ergänzt: das sprachliche Verständnis, die Wahrnehmungsorganisation, das Arbeitsgedächtnis und die Arbeitsgeschwindigkeit – die aktuellste Version ist der Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene (Blöink 2006).

Zudem führte David Wechsler den sog. Abweichungs-IQ ein. Dieser ist die Lineartransformation der in einem Test durch eine Person erzielten Punkte in eine Standardskala mit Mittelwert 100 und Standardabweichung 15:

$$\text{IQ} = 100 + 15 \times (x - \mu) / \sigma$$

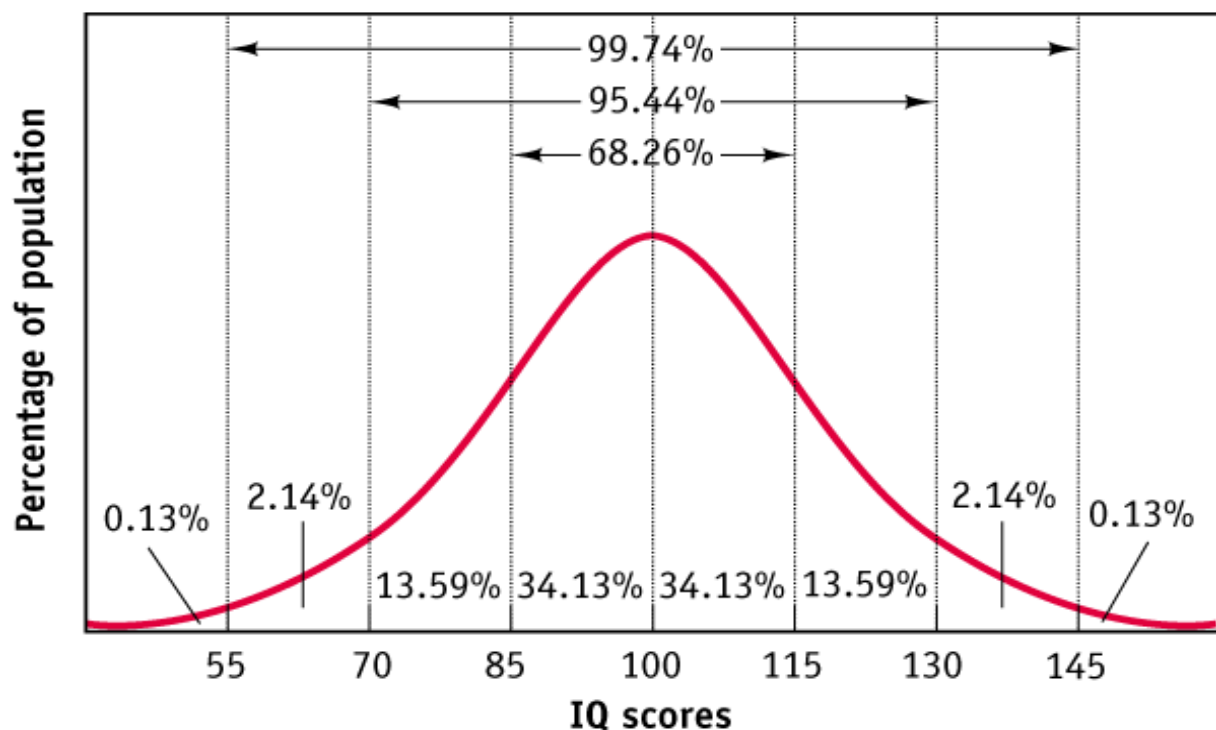
Dabei steht  $x$  für die Anzahl der Punkte, die in einem Test erreicht wurden,  $\mu$  für den Durchschnitt der jeweiligen Altersgruppe und  $\sigma$  für die Standardabweichung.

Erreicht eine Person z.B. 20 Punkte im Test, während der Durchschnitt bei 18 Punkten und die Standardabweichung bei 6 Punkten liegt, so erhält diese Person einen IQ von 105.



Mit Hilfe dieser IQ-Skala kann die durch eine Person erreichte Leistung mit der Leistung verglichen werden, die andere Personen im Test gezeigt haben. Die Interpretation findet dabei über die Differenz bzw. Abweichung vom Durchschnitt statt (daher Abweichungs-IQ), die in Standardabweichungen ausgedrückt wird. Bei einem IQ von 105 beträgt die Abweichung vom Durchschnitt 5 IQ-Punkte, was  $5/15 = 1/3$  Standardabweichungen entspricht.

Als zusätzliche Interpretationshilfe wird als Verteilung der IQ-Werte eine Normalverteilung angenommen, dargestellt mithilfe der Gauß'schen Glockenkurve (Abb.4).



**Abb.4:** Die klassische IQ-Skala anhand der Gauß'schen Normalverteilung: Da die Intelligenz eine normalverteilte Meßgröße ist, liegen aufgrund der kumulativen Normalverteilung 68,26 % im Intervall  $[\mu-1 \times \sigma, \mu+1 \times \sigma]$ , im Intervall  $[\mu-2 \times \sigma, \mu+2 \times \sigma]$  befinden sich 95,44 % und im Bereich  $[\mu-3 \times \sigma, \mu+3 \times \sigma]$  bereits 99,74 % aller getesteten Personen.

Mit dieser IQ-Skala kann die relative Position eines Individuums in seiner Population angegeben werden und die Anzahl der Individuen, die im Durchschnitt eine höhere bzw. geringere Intelligenz aufweisen.

## 2.2 Die Genetik und kognitive Phänotypen

Es besteht heutzutage insoweit breiter Konsens, dass sowohl Vererbung als auch Umwelteinflüsse bei der Intelligenzentwicklung eine wichtige Rolle spielen (Amelang et al. 2006). In welchem Umfang die einzelnen Faktoren jedoch hierbei relevant sind, ist noch unklar. Um die Genetik der Intelligenz von Umwelteffekten unterscheiden zu können, helfen IQ-Wertbestimmungen innerhalb von Familien. Geeignete Methoden sind der Vergleich zwischen eineiigen Zwillingen und zweieiigen Zwillingen (Zwillingsstudien), Geschwistern, Verwandten mit unterschiedlichen Graden genetischer Übereinstimmung (Familienstudien) oder Adoptivkindern (Adoptionsstudien).

Die Präsenz genetischer Einflüsse bei der allgemeinen Intelligenz wurde in vielen Studien intensiv erforscht: Die verschiedenen Ergebnisse konvergieren bei einer Erbllichkeit der Intelligenz zwischen 0,50 und 0,80 (Bouchard 1998; Bouchard & Mc Gue 2003; Plomin & Petrill 1997; Posthuma et al. 2001).

Die Heritabilität der Intelligenz wird als das Verhältnis der genetischen Varianz eines Merkmals zur gesamten Varianz des Merkmals definiert. Sie basiert auf dem Anteil der Variabilität in den Testergebnissen, der auf genetische Faktoren zurückzuführen ist und wird für quantitative Merkmale wie Intelligenzquotient über die empirische Bestimmung der Varianzen des untersuchten Merkmals ermittelt. Die Gesamtvarianz ergibt sich vereinfacht aus der Summe der genetischen plus der umweltbedingten Varianz und der Messfehler-bedingten Varianz, wobei die genetische und die umweltbedingte Varianz unter bestimmten Modellvoraussetzungen geschätzt werden (Murken et al. 2006).

Zusammenfassungen der zahlreichen verschiedenen Zwillings- und Adoptionsstudien zur Erbllichkeit der Intelligenz kamen zu dem Ergebnis, dass etwa 50%, also die Hälfte der Varianz der allgemeinen kognitiven Fähigkeit, auf genetische Faktoren zurückgehen. Jeder zweite Unterschied bei der Intelligenz ist somit erblich bedingt (Plomin et al. 1999).

Interessanterweise nimmt die Erbllichkeit der Intelligenz im Verlauf des Lebens zu. Bei Vier- bis Sechsjährigen beträgt die Erbllichkeit nur 40%, steigt im mittleren Erwachsenenalter auf 60% an und erreicht mit 80% bei den älteren Erwachsenen ihren

Höchststand. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass im Laufe der Entwicklung eines Menschen, einhergehend mit immer komplexeren kognitiven Prozessen, vollständig neue Gene zum Tragen kommen (Plomin et al. 1999).

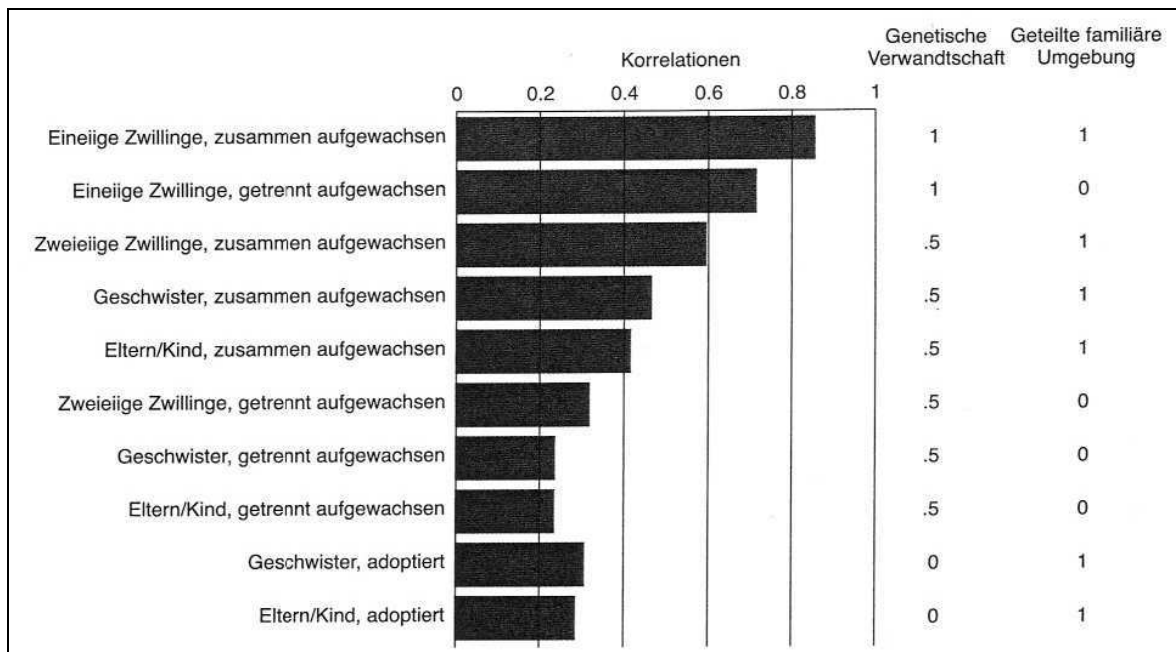
### **2.2.1 Die Genetik und Zwillingsstudien**

In der klassischen Zwillingsforschung werden eineiige Zwillinge (monozygote Zwillinge, MZ) und zweieiige Zwillinge (dizygote Zwillinge, DZ) bezüglich der Ausprägung eines Merkmals untersucht. Da eineiige Zwillinge aus einer Zygote stammen, sind sie zu fast 100% genetisch identisch. Etwaige Unterschiede durch somatische Mutationen und in mitochondrialen Genen werden hierbei nicht berücksichtigt. Zweieiige Zwillinge entstehen aus zwei Eizellen, sind also genetisch so ähnlich wie normale Geschwister und haben etwa 50% identische Gene. Wenn die Konkordanzraten eineiiger Zwillinge in Bezug auf ein bestimmtes Merkmal signifikant von den Werten zweieiiger Zwillinge abweichen, kann dies als Hinweis gedeutet werden, dass das untersuchte Merkmal in besonderem Maße genetisch beeinflusst ist (Murken et al. 2006).

Studien mit mehr als 10.000 Zwillingen haben ergeben, dass sich die Intelligenztestergebnisse eineiiger Zwillinge derart ähneln, als hätte dieselbe Person den Test zweimal gemacht. Die Konkordanz bei eineiigen Zwillingen, die zusammen aufgewachsen sind, beträgt 86 %, die Konkordanz bei einem Retest der gleichen Person liegt bei 87% (Lykken 1999).

Die Heritabilität bei getrennt aufwachsenden eineiigen Zwillingen liegt zwar niedriger, was durch den Umwelteinfluss erklärbar ist, jedoch immer noch bei 74% (Abb.5). Im Vergleich dazu sind die Testwerte zweieiiger Zwillinge, die wie normale Geschwister nur 50% der Gene gemein haben, mit 0.6 signifikant geringer. Werden in die Betrachtung über Zwillinge auch sonstige Verwandte mit einbezogen, so zeigt sich eine Abnahme der IQ-Korrelation zwischen den Vergleichspersonen mit der Abnahme ihres Verwandtschaftsgrades (Abb.5).

So beträgt die Partnerkorrelation für zusammen aufgewachsene Geschwister 0,47, für Halbgeschwister 0,31, für Großeltern und Enkel jedoch nur 0,27 (Bouchard & McGue 1981; Knusmann 1996).



**Abb.5:** IQ und genetische Verwandtschaft (Plomin & Petrill 1997): Ein sinkender Verwandtschaftsgrad ist mit einer Abnahme der IQ-Korrelationen zwischen den Vergleichspersonen verbunden.

Ergebnisse zur Korrelation der Intelligenz, die anhand großer Zwillingsstudien ermittelt wurden, werden in Tab.5 exemplarisch zusammengefasst.

**Tab.5:** Zwillingsstudien und Ergebnisse zur Korrelation der Intelligenz

Studie (Jahr)	Korrelation (getestete Personen)
Bouchard & McGue (1981)	0,72 (getrennt aufgewachsene MZ)
Bouchard et al. (1990)	0,69 (getrennt aufgewachsene MZ)
Pedersen et al., SATSA- Studie (1992)	0,80 (zusammen aufgewachsene MZ) 0,22 (zusammen aufgewachsene DZ) 0,78 (getrennt aufgewachsene MZ) 0,32 (getrennt aufgewachsene DZ)
Newman et al., MISTRA-Studie (1998)	0,75 (getrennt aufgewachsene MZ) 0,47 (getrennt aufgewachsene DZ)
McCourt et al. (1999)	0,74 (getrennt aufgewachsene MZ) 0,53 (getrennt aufgewachsene DZ)

Um die Heritabilität eines qualitativen Merkmals anhand von Zwillingsstudien zu ermitteln, werden traditionellerweise die Konkordanzraten eineiiger (MZ) und zweieiiger (DZ) Zwillinge miteinander verglichen.

Folgende Formel dient dazu: Heritabilität eines qualitativen Merkmals =  $2 \times$

(Konkordanz der MZ- Konkordanz der DZ).

Die Erblichkeit des IQ wurde bei der MISTRA-Studie auf 76% geschätzt (Newman et al. 1998), bei Kamin & Goldberger auf 42% (Kamin & Goldberger 2002), Wright ermittelte durch Untersuchungen in verschiedenen Ländern eine Erblichkeit zwischen 71 und 87% (Wright et al. 2001). McClearn ermittelte eine Erblichkeit von 55%, McGue & Christensen kamen auf 54% (McClearn et al. 1997; McGue & Christensen 2001). Die mittlere Erblichkeit der Intelligenz wurde auf 52% geschätzt (Bouchard & McGue 1981; Bouchard et al. 1990; Pedersen et al. 1992; Plomin et al. 1999).

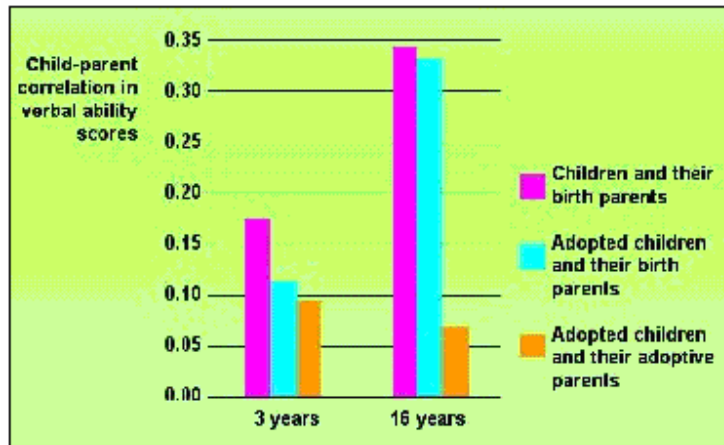
### **2.2.2 Die Genetik und Adoptionsstudien**

Adoptionsstudien ermöglichen im Gegensatz zu Verwandtenvergleichen, den Einfluss des sozialen Umfelds auf die Intelligenzentwicklung eines Kindes zu untersuchen (Knusmann 1996). Da adoptierte Kinder mit ihren Eltern und Geschwistern nicht verwandt sind, müsste bei der Annahme einer rein vererbten Intelligenz ihr IQ von dem der Familie unabhängig sein. Nach einer älteren Datenzusammenfassung beträgt die Partnerkorrelation für Adoptivgeschwister nur 24%, nach neueren Untersuchungen liegt die Korrelation für nichtbiologische Geschwister bei 32% (Knusmann 1996).

In der *Minnesota Adolescent Adoption Study* wurden 194 Adoptivkinder zwischen 16 und 22 Jahren untersucht, die als Säuglinge von ihren leiblichen Eltern getrennt wurden und etwa 18 Jahre bei ihren Adoptivfamilien lebten (Weinberg et al. 1992). Die Ähnlichkeit der Intelligenztestwerte von biologischen Eltern und Kindern ( $r = 0,41$  bzw.  $0,40$ ) war signifikant höher als die Korrelationen zwischen Adoptiveltern und Kindern ( $r = 0,21$  bzw.  $0,27$ ). Der festgestellte Einfluss der gemeinsamen Familienumwelt auf die IQ-Ähnlichkeit war im Erwachsenenalter nicht mehr nachweisbar.

Die gleichzeitig durchgeführte *Transracial Adoption Study* brachte ähnliche Ergebnisse mit Korrelationen zwischen biologischen Eltern und Adoptivkindern von 34% und 41% gegenüber Korrelationen zwischen Adoptiveltern und Adoptivkind von 21% und 27% (Weinberg et al. 1992). Aus dem seit 1975 andauernden *Colorado Adoptions Project* ging u.a. hervor, dass sich Adoptivkinder, je länger sie bei ihren Adoptiveltern lebten, in Bezug auf ihre sprachlichen Intelligenztestwerte immer mehr an die Werte ihrer biologischen Eltern angleichen (Abb.6; Plomin & deFries 1998). Mit zunehmendem Alter nimmt die Ähnlichkeiten der kognitiven Fähigkeiten zwischen Adoptivkindern und ihren

Adoptiveltern im selben Maße ab, wie der elterliche Einfluss zurückgeht, bei Erwachsenen liegt die Korrelation nahezu bei null (Abb.6).



**Abb.6:** Ergebnisse der Colorado Adoptionsstudie von 1998: die Korrelation der sprachlichen IQ-Werte zwischen dreijährigen Adoptivkindern und ihren biologischen Eltern bzw. Adoptiveltern unterscheidet sich kaum. Im Alter von 16 Jahren gleichen sich die IQ-Werte der Adoptivkinder signifikant an die IQ-Werte der biologischen Eltern an (Plomin & deFries 1998)

Je mehr Lebenserfahrung der Mensch sammelt, desto offensichtlicher werden die genetischen Einflüsse auf die phänotypische Ausprägung, während die Umwelteinflüsse immer unbedeutender werden (Gray & Thompson 2004). All diese Resultate stützen die Kernthese der Verhaltensgenetik, dass genetische Faktoren einen großen Einfluss auf die kognitiven Fähigkeiten eines Individuums haben. Zugleich deuten die Ergebnisse auch auf eine umweltbedingte Mitbeeinflussung der kognitiven Entwicklung hin.

### 2.2.3 Die Molekulargenetik mit Kopplungs- und Assoziationsstudien

Klinische Zwillings- und Adoptionsstudien liefern wichtige Beweise für die Heritabilität der Intelligenz. Die Molekulargenetik versucht, Gene zu identifizieren, die Einfluss auf kognitive Fähigkeiten nehmen können.

Das menschliche Genom besteht aus drei Milliarden Basenpaaren. Nur etwa 1,1% der chromosomalen DNA kodieren für 25.000 bis 30.000 Gene. Die Zahl der davon verschlüsselten Proteine liegt eine Größenordnung höher, da von jedem Gen normalerweise mehrere Proteine kodiert werden. Die meisten menschlichen Gene bestehen aus kodierenden Exons, die durch nicht kodierende Introns unterbrochen sind

(ca. 24 % des Genoms). Der Anteil der intergenischen nicht-kodierenden DNA wird auf ungefähr 75% geschätzt. Da Introns ebenfalls nicht für Proteine kodieren, enthalten insgesamt 99% des Genoms keine kodierenden Nukleotidsequenzen (Murken et al. 2006). In der Molekulargenetik stehen zwei Verfahren zur Identifikation von Genen zu Verfügung: Assoziations- und Kopplungsstudien. Als Marker dient die genetische Heterogenität. Während früher für genomweite Kopplungsanalysen überwiegend Mikrosatellitenmarker dienten, werden heute „*single nucleotide polymorphisms*“ (SNPs) eingesetzt, genetische Variationen eines einzelnen Nukleotids mit einer Häufigkeit von mehr als 1% in einer Population. Der Vorteil gegenüber Mikrosatelliten liegt darin, dass SNPs häufiger vorkommen und über längere Zeit stabil sind, da sie seltener als Mikrosatelliten Mutationen unterliegen (Strachan & Read 2005).

Neben den SNPs werden auch Copy Number Variations (CNV) als wichtige Quelle der interindividuellen Variabilität angesehen (Beckmann et al. 2007). Die CNVs sind submikroskopische strukturelle Chromosomenveränderungen, die definitionsgemäß mehr als 1000 Basenpaare (Mb) erfassen und in wahrscheinlich nicht zufälliger Anordnung über alle Chromosomenpaare verteilt sind (Bartholdi 2008). Meist handelt es sich um Duplikationen oder Deletionen von Chromosomenabschnitten. Ihre Anzahl variiert interindividuell in Anzahl und Verteilungsmuster. Bisher ist noch ungeklärt, wie groß der Einfluß der CNVs auf Risikofaktoren und komplexe Krankheitsbilder ist (Bartholdi 2008). In einer genomweiten Untersuchung von CNVs bei Alzheimer Erkrankten fanden sich so auf Chromosom 15q13.3 Duplikationen, welche auf die Aktivität des CHRNA1-Gens einwirken können (Heinzen et al. 2010). Dieses Gen kodiert für einen nikotinergen Acetylcholinrezeptor und wird u.a. in Verbindung mit Schizophrenie und Epilepsie gebracht (Stefansson et al. 2008; Helbig et al. 2009).

### **2.2.3.1 Die Molekulargenetik mit Kopplungsstudien**

Kopplungsstudien untersuchen das gemeinsame Auftreten eines Merkmals, etwa Intelligenz, mit einem spezifischen Marker, z.B. eines Allels, in Stammbäumen. Aufgrund eines überzufällig häufigen, gemeinsamen Auftretens von Krankheit und genetischen Marker kann so auf eine Bedeutung dieses genetischen Faktors für die Erkrankung geschlossen werden. Da Familien untersucht werden, lässt sich im Gegensatz zu Fall-Kontroll-Studien eine zu große genetische Heterogenität vermeiden. Als Maß für die

gemeinsame Vererbung von genetischen Marker und Erkrankung in einer Familie dient der *Transmissions Disäquilibrium Test* (TDT) für das Kopplungsungleichgewicht (Böddeker & Ziegler 2000). Wenn heterozygote Eltern einen Marker signifikant häufiger als 50% auf ihre betroffenen Kinder vererben, so zeigt dies eine Kopplung des vermehrt transmittierten Markers mit dem Gen bzw. Phänotypen auf. Das Ausmaß der Kopplung wird durch den Abstand von Basenpaaren zwischen Marker und Gen bestimmt. Je größer die Entfernung, desto wahrscheinlicher ist eine Trennung durch *crossing-over* in der Meiose. Ab einem Abstand von mehr als einem centiMorgan, was etwa  $10^6$  Basenpaaren entspricht, kann eine Kopplung durch den TDT kaum noch nachgewiesen werden.

Der Vorteil von Kopplungsstudien ist der relativ gute Nachweis phänotypverursachender Gene mit einem hohen relativen Risiko. Andererseits weisen sie eine geringe Power, d.h. Aussagekraft, für den Nachweis von Genen mit einem relativ kleinen Risiko auf, da der TDT nur heterozygote Merkmalsträger für die Berechnung nutzt (Hattori et al. 2005). Durch die Beschränkung auf bestimmte Familien mit jeweils spezifischen Genen besteht die Gefahr falscher oder fehlender Befunde (Schulze & McMahon 2002).

Bisher wurden zwei große genomweite Kopplungsstudien zur Intelligenz veröffentlicht (Luciano et al. 2006; Posthuma et al. 2005). Australische bzw. dänische Zwillinge wurden dabei anhand ihrer Ergebnisse im Handlungsteil (Australier) bzw. im gesamten HAWIE-III (Dänen) beurteilt. Dabei konnte eine Heritabilität des IQs zwischen 0,59 (Australier) und 0,86 (Dänen) veranschlagt werden. Als Kopplungsregion für eine signifikante Kopplung wurden die Chromosomen 2q und 6p ermittelt. Die Kopplung bei 2q war spezifisch für den Handlungs-IQ, aber vernachlässigbar für den Verbal- IQ. Das Chromosom 6p wurde mit dem Gesamt-IQ gekoppelt, es wird daher eine Verbindung zwischen diesem Chromosomenlocus und genereller Begabung angenommen.

Kandidatengene nahe dieser Region sind beteiligt am Glutamat-Neurotransmittersystem, welches eine große Rolle in Funktionen des präfrontalen Kortex spielt (Huntsman et al. 1998). Die Kopplung mit dem Gesamt-IQ liegt zudem nahe der Neuritin-1-Region. Dieses Gen ist u.a. an der Entwicklung des Nervensystems und synaptischer Plastizität (LTP) beteiligt (Naeve et al. 1997). Die Resultate der Kopplungsstudien an unselektierten, gesunden Probanden stimmen mit Ergebnisse von Studien zu psychiatrischen Erkrankungen überein. Ein Kandidatengen für Autismus liegt



auf dem Chromosom 2q21-33 und wird zusätzlich verknüpft mit kognitiven Defiziten bei jugendlicher Schizophrenie (Addington et al. 2005).

### **2.2.3.2 Die Molekulargenetik mit Assoziationsstudien**

Wenn zwei Merkmale signifikant häufiger oder seltener miteinander auftreten, als dies aufgrund der Häufigkeit der einzelnen Merkmale zu erwarten wäre, spricht man von einer Assoziation (Murken et al. 2006). In genetischen Assoziationsstudien wird untersucht, ob bestimmte Allele oder Haplotypen bei bestimmten Merkmalsträgern eines komplexen Phänotyps häufiger oder seltener vorkommen als bei Kontrollen.

Wenn der spezifische Marker in der untersuchten Population signifikant häufiger vorkommt als in einer Kontrollgruppe, liegt eine Assoziation vor (Böddeker & Ziegler 2000). Im letzten Jahrzehnt wurden mehr als 100 Marker bei Probanden mit hohem und niedrigem IQ getestet. So konnte ein funktioneller Polymorphismus in ALDH5A1-Gen identifiziert werden, der mit kognitiven Fähigkeiten verbunden ist (Plomin et al. 2004). In der ersten genomweiten Assoziationsstudie, die beinahe 10.000 SNPs an über 6000 Zwillingen untersuchte, wurden fünf mit Intelligenz assoziierte Polymorphismen identifiziert (Butcher et al. 2005). Diese befinden sich auf den Chromosomen 2, 6, 7, 11 und 18, ihre Funktionen sind bisher weitgehend unbekannt.

### **2.2.3.3 Die Assoziationsstudien und verschiedene Neurotransmittersysteme**

Für eine Reihe von Genen aus verschiedenen Neurotransmittersystemen konnte bereits eine Assoziation mit kognitiven Fähigkeiten festgestellt werden. Als Kandidatengene für kognitive Defizite dienen meist Gene, die in Verbindung mit Demenz, Gedächtnis und oxidativem Stress stehen (Deary et al. 2004).

Eine Metaanalyse von 38 Studien an mehr als 20.000 Probanden zeigte beispielsweise, dass die Expression des E4-Allels des Apolipoprotein E-Gens auf Chromosom 19q13.2 bei alten Menschen mit signifikant schlechteren kognitiven Leistungen assoziiert ist (Small et al. 2004; Caselli et al. 2004). Das Apolipoprotein E beeinflusst im ZNS und PNS die Differenzierung und das Wachstum neuronalen Gewebes. ApoE4-Träger sind gefährdeter für Demenzerkrankungen wie M. Alzheimer, auch ist ein besonders frühzeitiger Ausbruch der Erkrankung mit dem ApoE4-Phänotyp assoziiert (van der Flier et al. 2008; Hsiung et al. 2004; Orsitto et al. 2007). Dahingegen scheint das ApoE2-Allel

vor der Alzheimer Demenz zu schützen, die Dichte von Beta-Amyloid-Plaques ist im frontalen und parietalen Kortex signifikant niedriger (Lippa et al. 1997; Berlau et al. 2007). Auch dem Neurotransmitter und nervalen Wachstumsfaktor BDNF (*brain derived neurotrophic factor*) wird ein Einfluss auf Kognition zugesprochen (Tsai et al. 2004). Der Polymorphismus 169G-A des BDNF-Gens (Chromosom 11p13) beinhaltet einen Valin66-Methionin-Austausch (V66M). In mehreren übereinstimmenden Studienergebnissen konnte gezeigt werden, dass Met-Allel-Träger aufgrund einer verminderten Sekretion des BDNF signifikant schlechter in kognitiven Tests abschnitten als Val-Allelträger (Egan et al. 2003; Tsai et al. 2004).

Das Enzym Succinat-Semialdehyd-Dehydrogenase (SSADH), welches am Metabolismus des Neurotransmitter GABA beteiligt ist, spielt ebenfalls eine Rolle in kognitiven Prozessen. Ein funktioneller Polymorphismus des SSADH-Gens (Chr.6p22) wurde entdeckt, hierbei führt das minore Allel zu geringerer Enzymaktivität als das majore Allel. Die höhere Aktivität des SSADH-Enzyms ist mit besseren IQ-Ergebnissen im Vergleich zur allgemeinen Bevölkerung verknüpft (Plomin et al. 2004).

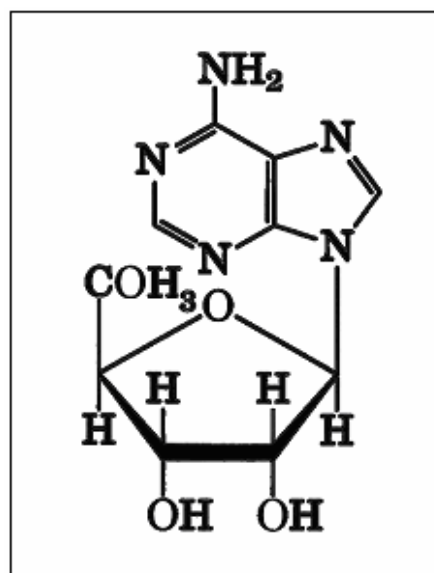
Eine wichtige Bedeutung kommt dem Neurotransmitter Dopamin bei kognitiven Funktionen zu (Previc 1999). Die Erhöhung des Dopaminlevels steigert die präfrontale Kortexfunktion (Braver et al. 1999). Variationen im Gen des Dopamin-abbauenden Enzyms Catechol-O-Methyltransferase (COMT; Chromosom 22) haben ebenfalls Einfluss auf präfrontale Kognition (Winterer & Goldmann 2003). Ein funktioneller Polymorphismus führt zum Austausch der Aminosäure Val durch Met (rs4680). Das thermostabilere Val-Allel ist assoziiert mit einer drei- bis vierfach höheren Enzymaktivität und deshalb mit einem höheren Dopaminabbau als das Met-Allel (Lachman et al. 1996). Während Studien bezüglich einer Assoziation des Val-Met Polymorphismus und Schizophrenie zum Teil widersprüchliche Ergebnisse lieferten (Strous et al. 2006), gilt der Zusammenhang des Met-Allels mit verbesserter Kognition als gut repliziert (Goldberg & Weinberger 2004; Sheldrick et al. 2008).

Ein Zusammenhang zwischen kognitiven Fähigkeiten und verschiedenen Neurotransmittersystemen und Neuromodulatoren (z.B. BDNF), konnte hergestellt werden (Sheldrick et al. 2008; Egan et al. 2003; Tsai et al. 2004). Vieles deutet darauf hin, dass über diese komplexen Netzwerke höhere kognitive Fähigkeiten etabliert werden. Auch die Adenosin-2a-Rezeptoren spielen eine wichtige Rolle bei

Intelligenzleistungen, da sie über fein abgestimmte Netzwerke mit anderen Rezeptoren interagieren und so die synaptische Neurotransmissionen kontrollieren können (Sebastião & Ribeiro 2009). Der unselektive A1-/A2a-Rezeptor-Antagonist Koffein führt beispielsweise über eine Erhöhung des BDNF und des Tyrosinkinase-Rezeptor TrkB im Hippocampus zu besseren Gedächtnisleistungen bei Mäusen (Costa et al. 2008). Es sind zahlreiche weitere Interaktionen der A2a-Rezeptoren mit Neurotransmittersystemen bekannt. So können sie beispielsweise auch die Freisetzung von GABA, Dopamin oder Glutamat beeinflussen (Salomone et al. 2009; Svenningsson et al. 1999; Popoli et al. 2003). Eine verminderte A2a-Rezeptor-Aktivität bzw. deren Blockade wurde bereits in mehreren tierexperimentellen Arbeiten für signifikant bessere kognitive Leistungen verantwortlich gemacht (Wang et al. 2006; Giménez-Llort et al. 2007).

## 2.3 Die Adenosinrezeptoren

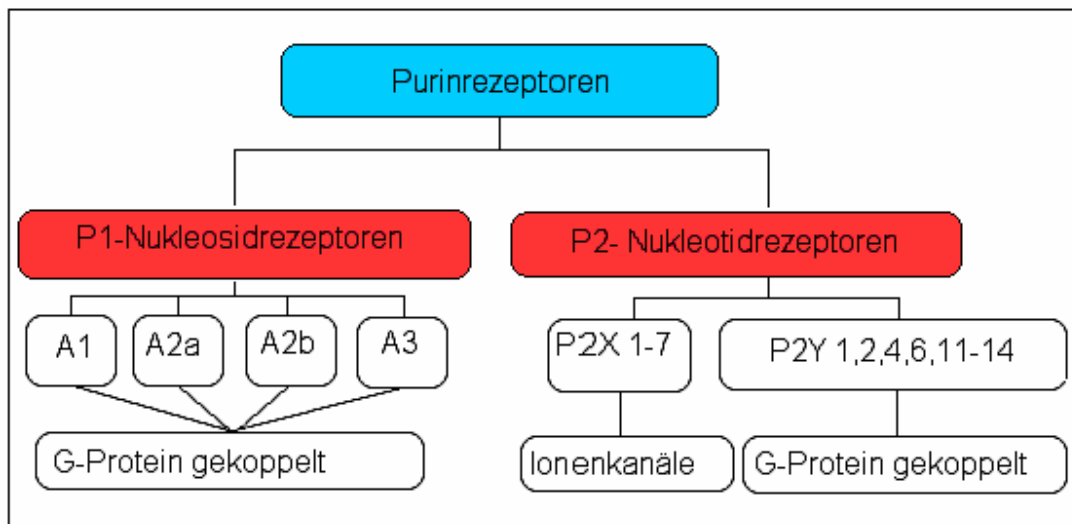
Das Nucleosid Adenosin ist im Körper weit verbreitet und an einer Vielzahl von physiologischen Funktionen beteiligt. Es besteht aus der Purinbase Adenin, die mit einer Ribose verknüpft ist (Abb.7).



**Abb.7:** chemische Strukturformel des Adenosins: Verknüpfung der Purinbase Adenin mit Ribose

Unter anderem entfaltet das Adenosin seine Wirkungen als physiologischer Agonist an

membranständigen Rezeptorproteinen, den Adenosin-Rezeptoren, die zur Gruppe der Purin-Rezeptoren gezählt werden. Es werden zwei Familien der Purinrezeptoren unterschieden, die Nucleosid (P1) - und die Nucleotid (P2) - Rezeptoren (Burnstock 2009; Abb.8). Die P1- Nucleosidrezeptoren haben als gemeinsames Substrat das Adenosin (Fredholm et al. 1994). Die heterogene Gruppe von P2-Nucleotidrezeptoren bindet Nucleosid- Di- und Trisphosphate, wie ADP und ATP (Ralevic & Burnstock 1998). Hierbei wird die Untergruppe der P2x-Rezeptoren über Ionenkanäle reguliert, die P2y-Rezeptoren über G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (Abb.8).



**Abb.8:** Einteilung der Purinrezeptoren (P1 und P2).

Adenosin und dessen Analoga können über stimulierende bzw. hemmende G-Proteine verschiedene Transduktionsmechanismen initiieren (Dunwiddie & Masino 2001). Dies führte anfangs zu der Unterteilung in inhibitorische A1- und stimulierende A2-Rezeptoren (Londos et al. 1980; van Calcar et al. 1979). Mit Hilfe von Adenosinanaloga verschiedener Affinität konnte später eine genauere pharmakologische und funktionelle Identifikation von A1- und A2-Rezeptoren erreicht werden. Durch die Klonierung der Rezeptoren konnte so die schon wegen pharmakologischer Untersuchungen geforderte Unterteilung des A2-Rezeptors in zwei Subtypen (A2a und A2b) bestätigt werden (Bruns et al. 1986). Heute sind insgesamt vier Adenosinrezeptoren bekannt (A1, A2a, A2b, A3; Fredholm et al. 2001) die sich hinsichtlich der Art der an sie gekoppelten G-Proteine sowie in ihrer Affinität unterscheiden (Tab.6).

**Tab.6:** Die vier Adenosinrezeptoren, ihr G-Protein-Kopplungsverhalten, die Expression in unterschiedlichen Geweben und ihre Rezeptoraffinität für Adenosin (modifiziert nach Fredholm et al. 2001).

Subtyp-Rezeptor	G-Protein	Expression in unterschiedlichen Geweben	Affinität für Adenosin
A1	G <sub>i1/2/3</sub> , G <sub>o</sub>	Gehirn, Rückenmark, Fettgewebe, Herz, Niere	70nM
A2a	G <sub>s</sub>	Gehirn (v.a. Nucleus Caudatus, Putamen, Nucleus Accumbens, Tuberculum olfactorium), Thymus, Herz, Endothel, Lunge, Thrombozyten, Fettgewebe, Neutrophile Granulozyten, Milz, Lymphozyten	150nM
	G <sub>olf</sub>	Riechepithel des Bulbus olfactorius	
A2b	G <sub>s</sub>	Dickdarm, Caecum, Immunsystem, Blase, Gehirn, Lunge	5100nM
A3	G <sub>i2,3</sub>	Atemwege, Leber, Immunsystem, Aorta, Gehirn, Hoden	6500nM

Während die A1- und A3-Rezeptoren G<sub>i</sub>/G<sub>o</sub>-vermittelt überwiegend inhibitorisch wirken über eine Hemmung der Adenylyl-Cyklase (AC), bewirken die A2a- und A2b-Rezeptoren über G<sub>s</sub> eine Stimulation der AC und damit einen Anstieg von cAMP in der Zelle (Tab.6; LeVine 1999; Fredholm et al. 2001).

### 2.3.1 Verteilung der Adenosinrezeptoren im Organismus

A1-Rezeptoren kommen ubiquitär im gesamten ZNS vor. Ihre Dichte ist besonders im zerebralen Cortex, Hippocampus, Cerebellum, Thalamus und Hirnstamm sehr hoch. Auch im Rückenmark, im Auge, in den Vorhöfen des Herzen, im Fettgewebe und in der Niere sind die A1-Rezeptoren in großer Zahl vorhanden (Tab.6; Fredholm et al. 2001). A2b- und A3-Rezeptoren sind ebenfalls im ZNS weit verbreitet, jedoch in geringerer Dichte (Ralevic & Burnstock 1998). Der A2b-Rezeptor kommt außerdem im Dickdarm, Zökum, in der Blase, Lunge und in Entzündungszellen des Immunsystems vor. Der A3-Rezeptor wurde bisher in hoher Dichte v.a. im Hoden und den Mastzellen von Ratten identifiziert, aber auch in geringerer Anzahl in den Atemwegen, der Leber, Aorta und im Gehirn (Tab.6; Fredholm et al. 2001). Demgegenüber werden A2a-Rezeptoren nur in wenigen Hirnregionen in hoher Konzentration exprimiert. Dazu zählen insbesondere die Kerngebiete der Basalganglien, der dorsale (Nucleus caudatus, Putamen) und der ventrale (Nucleus accumbens) Teil des Striatums (Sebastião & Ribeiro 2009; Rosin et al. 1998). Der Großteil der A2a-Rezeptoren wird somatodentritisch exprimiert (Rosin et

al. 1998). Auch in den Leukozyten (Lymphozyten, neutrophile Granulozyten), in der Milz, im Herz, in der Lunge, im Fettgewebe, im Thymus und in den Blutplättchen findet eine hohe Expression der A2a-Rezeptoren statt (Tab.6; Fredholm et al. 2001).

### **2.3.2 Bildung und Konzentration von Adenosin und dessen Einfluss auf die Neuroprotektion**

Die Bildung von Adenosin spielt sich extrazellulär auf zwei Wegen ab. Zum einen wird Adenosin aus Nerven- und Gliazellen über membranständige Transportmoleküle freigesetzt. Dies erfolgt über einen Nukleosid-Transporter durch erleichterte Diffusion. Der Transportvorgang ist passiv, also nicht an ATP oder Ionengradienten gebunden, und führt zu einer Angleichung der intra- und extrazellulären Adenosinkonzentrationen (Brundege & Dunwiddie 1996). Zum anderen wird Adenosin im Extrazellulärraum durch Dephosphorylierung von Adeninnukleotiden gebildet. Adenin-Nukleotide erreichen den Extrazellulärraum in Form von ATP, welches als Transmitter oder Co-Transmitter (z.B. von Dopamin) ausgeschüttet und zu Adenosin hydrolysiert wird (Zimmermann 1994). Die Adenosinkonzentration in Basalganglien beträgt etwa 10nM, im kortikalen Gewebe ist die Konzentration mit 25-100nM deutlich höher. Bei der Betrachtung der Affinität der Adenosinrezeptoren wird deutlich, dass unter physiologischen Bedingungen vor allem die A1- und A2a-Rezeptoren aktiviert werden (Daly & Fredholm 1998). Für die Stimulation von A2b- und A3-Rezeptoren werden höhere Konzentrationen benötigt, wie sie etwa bei pathophysiologischen Prozessen anfallen. Die Wirkung von extrazellulärem Adenosin in einem Hirnareal ist daher von mehreren Faktoren, wie der relativen Dichteverteilung der Rezeptoren und der extrazellulären Konzentration abhängig.

Die extrazelluläre Konzentration von Adenosin kann durch Kalium-Depolarisation (Dobolyi et al. 2000), Aktivierung von Glutamatrezeptoren (Melani et al. 1999; Dobolyi et al. 2000), Opiatrezeptoren (Halimi et al. 2000) oder Dauerdepolarisation durch Blockade der Natrium-Kalium-Pumpe (Dobolyi et al. 2000) ansteigen. Hypoxie führt über eine negative ATP-Bilanz der Zellen teilweise bis zu einer Verhundertfachung des Basalwertes des extrazellulären Adenosins (de Mendonca et al. 2000; Marshall 2000). Auch Ischämie (Rudolphi & Schubert 1997; von Lubitz 1999) und Hypoglykämie (Calabresi et al. 1997; Jin & Fredholm 1997) führen im Tierversuch zum Ansteigen des Adenosinspiegels. Als Regulator des Gefäßmuskeltonus beeinflusst Adenosin über die

A2a-Rezeptoren die Weitstellung der Blutgefäße (Dunwiddie & Masino 2001). Die Aktivierung führt zur Vasodilatation, dieser Effekt in Zusammenhang mit Ischämie wird als neuroprotektiv betrachtet. Steigende Adenosinpiegel führen so über eine A2a-Aktivierung zur Vasodilatation und verbesserter Blutzufuhr im ischämischen Gewebe. Allerdings zeigten mehrere Studien, dass eine Aktivierung des A2a-Rezeptors bei Ischämie sogar eine Verstärkung der Gewebeschädigung hervorruft, während eine A2a-Rezeptorblockade neuroprotektiv wirkt (von Lubitz 1999; de Mendonca et al. 2000). Diese Erkenntnisse bestätigten sich durch eine Studie, bei der an A2a-Rezeptor-Knockoutmäusen die Auswirkungen der Ischämie geringer ausfielen als in der Kontrollgruppe (Chen et al. 1999). Ob die neurotoxische Wirkung der A2a-Rezeptoren auf die erhöhte neuronale Aktivität oder das durch die Vasodilatation vergrößerte Infarkt volumen zurückzuführen ist, ist jedoch unklar.

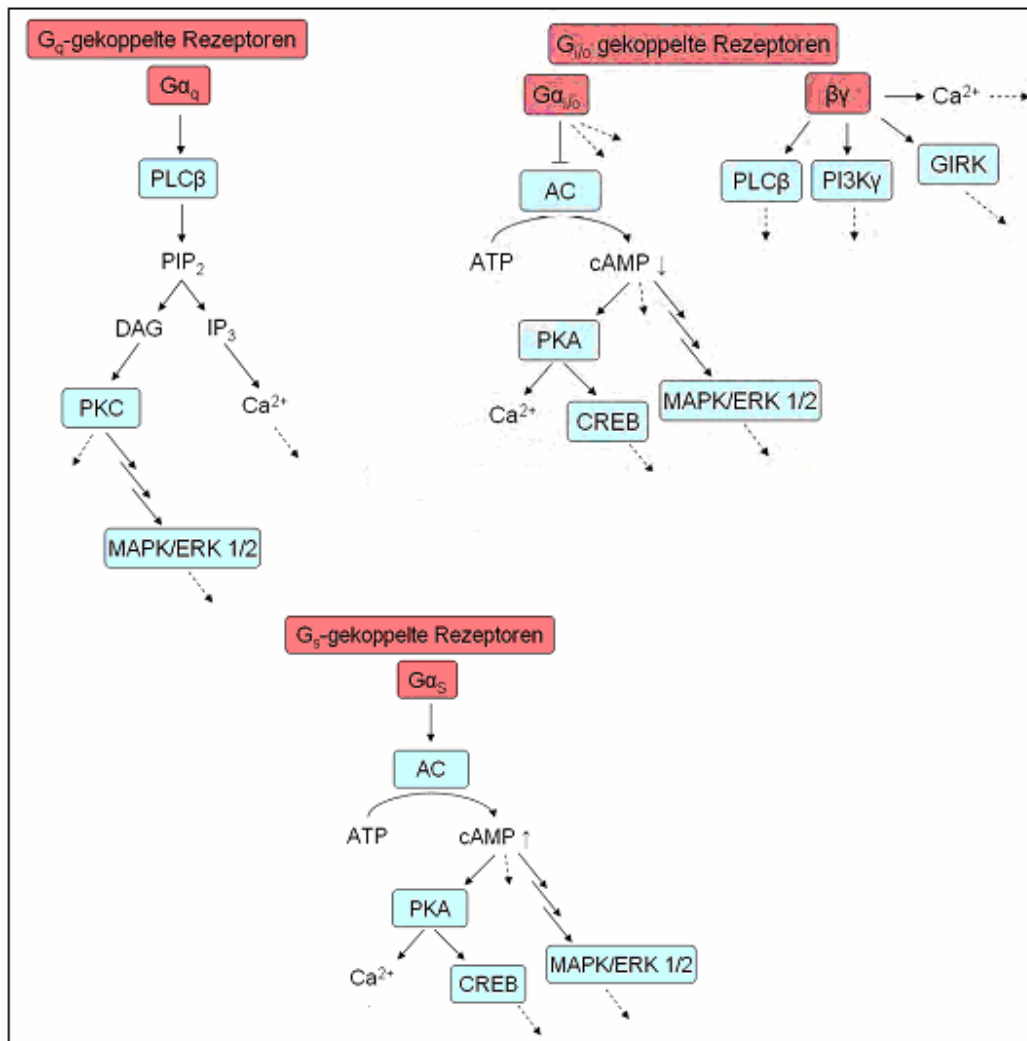
### **2.3.3 Signalwege der Adenosinrezeptoren**

Die intrazelluläre Signalfortleitung der Adenosinrezeptoren erfolgt G-Protein-gekoppelt (Fredholm et al. 2001). GTP-bindende Proteine bestehen aus drei Untereinheiten, wobei die  $\alpha$ -Untereinheit des G-Proteins eine für die jeweiligen Rezeptoren charakteristische Sequenz enthält, die verantwortlich ist für die spezifische Aktivierung der nachgeschalteten Effektorsysteme. Die Alpha-Untereinheit bindet GDP, nach Aktivierung des Rezeptors durch Adenosin GTP. Daraufhin diffundiert die Alpha-Untereinheit zum Membranprotein Adenylyl-Cyclase und stimuliert bzw. inhibiert diese (Seidel et al. 1999; Munshi et al. 1991). Eine Aktivierung der Adenylyl-Cyclase führt zu einem intrazellulären Anstieg des cAMP-Gehalts (Abb.9; Fredholm et al. 2001).

Es wurden jedoch auch cAMP-unabhängige Effekte einer A2a-Rezeptor-Aktivierung beschrieben. So verändert ein aktivierter A2a-Rezeptor beispielsweise auch die Rezeptoreigenschaften von kolokalisierten D2-Rezeptoren, indem er die Affinität der D2-Rezeptoren zu Dopamin senkt (Kap. 2.3.3.2; Rimondini et al. 1999). Aufgrund eines sehr langen intrazellulären Carboxyterminus besitzt der A2a-Rezeptor ein höheres Molekulargewicht (45kDa) im Vergleich zu den anderen Adenosinrezeptorsubtypen (36-37kDa; Baraldi et al. 2008). Dieser C-Terminus scheint als Kontaktstelle für Interaktionen mit anderen Rezeptoren wie dem Dopamin-D2-Rezeptor zu dienen (Fuxe et al. 2005). Die Stimulation von Adenosin-Rezeptoren führt so neben der G-Protein-

vermittelten Signaltransduktion auch zu veränderten Signalübertragungseigenschaften von Rezeptoren vieler anderer Neurotransmittersysteme (Sebastião & Ribeiro 2009).

### 2.3.3.1 G-Protein gekoppelte Signaltransduktion der Adenosinrezeptoren



**Abb.9:** Der Signaltransduktionsweg der Adenosinrezeptoren, modifiziert nach Hwangpo & Iyengar 2005. AC: Adenylatcyclase, ATP: Adenosin-5'-triphosphat, cAMP: cyclisches Adenosin-3'5'-monophosphat, CREB: *cAMP response element-binding protein*, DAG: Diacylglycerol, ERK: *extracellular signal regulated protein kinase*, GIRK: *G Protein-activated inwardly rectifying K<sup>+</sup> channel*, IP<sub>3</sub>: Inositol-1,4,5-trisphosphat, MAPK: Mitogen-aktivierte Proteinkinase, ERK 1 und 2 sind Vertreter davon, PI3K<sub>μ</sub>: Phosphatidylinositol-3-Kinase  $\mu$ , PIP<sub>2</sub>: Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat, PKA: Proteinkinase A, PKC: Proteinkinase C, PLC $\beta$ : Phospholipase C $\beta$ .

Die A1-Rezeptoren sind G<sub>i</sub>/G<sub>o</sub> gekoppelt, was bei einer Rezeptoraktivierung die Hemmung der Adenylat-Cyclase (AC) zur Folge hat (Tab.6; Seidel et al. 1999). Dies



führt zu einer Verringerung der intrazellulären cAMP-Konzentration. Außerdem kann über diesen Rezeptorsubtyp über die regulatorische  $\beta\mu$ -Untereinheit die Phospholipase C $\beta$  aktiviert werden, welche einen Anstieg von Inositol-1,4,5-trisphosphat (IP<sub>3</sub>) und nachfolgend der intrazellulären Ca<sup>2+</sup>-Konzentration bewirkt (Abb.9; van Biesen et al. 1995; Abbracchio et al. 1995).

Des Weiteren sind A1-Rezeptoren an Pertussistoxin- sowie ATP-sensitive Kaliumkanäle gekoppelt (Mutafova-Yambolieva & Keef 1997) und können im Zusammenspiel mit A2a-Rezeptoren cAMP-gesteuert die Aktivierung von ERK 1 und 2 (*extracellular signal-regulated protein kinases*) vermitteln (Sexl et al. 1997; Schulte & Fredholm 2003).

A2a-Rezeptoren stimulieren die Adenylyl-Cyclase durch eine Kopplung an G<sub>s</sub> (Tab.6; Munshi et al. 1991). Die AC katalysiert daraufhin die Hydrolyse von ATP zum *second messenger* cAMP (Abb.9; Ribeiro 1999). Ein erhöhtes cAMP-Niveau in der Zelle bewirkt die Aktivierung der Proteinkinase A (PKA; Abb.9). Die PKA reguliert u.a. die Aktivität wichtiger neuronaler Ca<sup>2+</sup>-Kanäle (Gubitz et al. 1996) und die CREB-vermittelte Transkription (Andrisani 1999). Im Striatum stimuliert der A2a-Rezeptor auch G<sub>olf</sub>, ein Mitglied der G<sub>s</sub>-Subfamilie von G-Proteinen, welches die Adenylyl-cyclase des olfaktorischen Riechepithels aktiviert (Tab.6); zudem wurde über eine Interaktion mit verschiedenen Ca<sup>2+</sup>-Kanälen mit entweder einer Erhöhung des intrazellulären Ca<sup>2+</sup>-Spiegel oder erniedrigtem Ca<sup>2+</sup>-Influx berichtet (Gubitz et al. 1996; Stella et al. 2002). A2b-Rezeptoren koppeln analog zu den A2a-Rezeptoren an G<sub>s</sub> und stimulieren dadurch die AC, was eine Erhöhung der intrazellulären cAMP-Konzentration bewirkt. Weiter wurde eine Kopplung über G<sub>q</sub> an die Phospholipase C beschrieben, die eine Spaltung des Phosphatidyl-Inositol-Disphosphat (PIP<sub>2</sub>) zu Diacyl-Glycerin (DAG) und Inositol-1,4,5-Trisphosphat (IP<sub>3</sub>) zur Folge hat (Abb.9). IP<sub>3</sub> ist der Mediator des IP<sub>3</sub>-Signalwegs und induziert über einen Anstieg des intrazellulären Ca<sup>2+</sup>-Spiegels die Aktivierung der PKC in Verbund mit DAG und Phosphatidyl-Serin (Abb.9; Bell et al. 1986; Feoktistov & Biaggioni 1997).

Eine Aktivierung von A3-Rezeptoren inhibiert AC über eine Kopplung an G<sub>i</sub>, außerdem wurde eine Aktivierung der PLC durch eine G<sub>q</sub>-Kopplung beobachtet (Abb.9; Palmer et al. 1995; Abbracchio et al. 1995).

Alle Adenosinrezeptoren scheinen zudem zu einer Aktivierung der *Mitogen-activated protein kinase* (MAPK) befähigt zu sein, was insbesondere eine Rolle bei der

Proliferations-Regulation vieler Zelltypen durch Adenosin spielen dürfte (Germack & Dickenson 2000; Baines et al. 1999; Feoktistov et al. 1999).

Der Abbau von Adenosin erfolgt mithilfe der membranorientierten Adenosin-Desaminase (ADA), welche Adenosin sowohl innerhalb des Cytoplasmas als auch an der Zelloberfläche zu Inosin abbaut (Hershfield 1998).

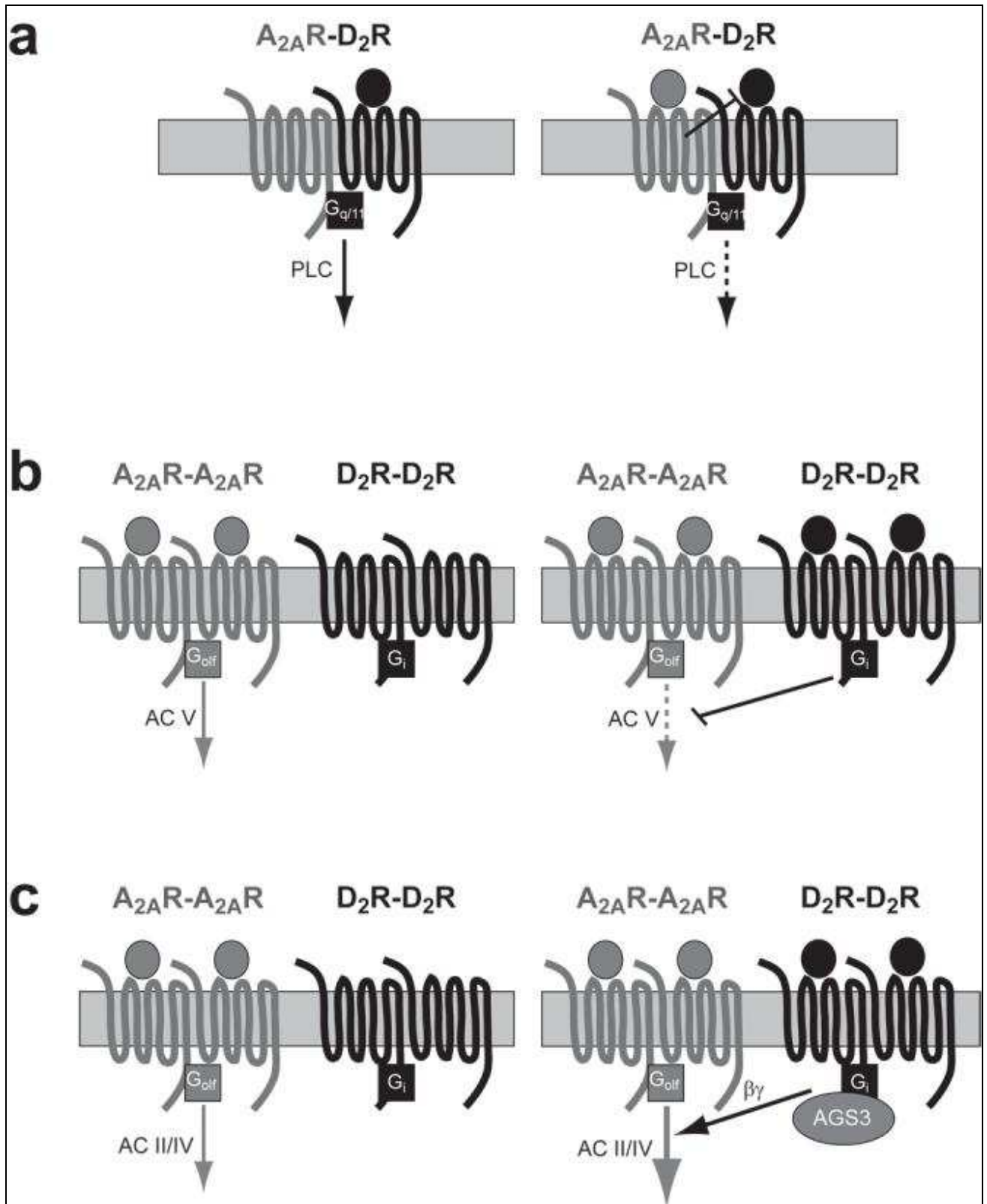
### **2.3.3.2 Interaktionen der Adenosinrezeptoren mit anderen Neurotransmittersystemen**

Adenosin-Rezeptoren interagieren mit anderen G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (Fredholm et al. 2001). Die Aktivierung von A2a-Rezeptoren führt zu einer veränderten Freisetzung beispielsweise von Acetylcholin, Dopamin, Glutamat oder GABA (Sebastião & Ribeiro 2009; Fuxe et al. 2008; Correia-de-Sá et al. 2001; Lopez et al. 2008; Svenningsson et al. 1999). Der Mechanismus scheint einerseits direkt über eine Modulation der Kalziumleitfähigkeit von Ionenkanälen und andererseits indirekt über intrazelluläre Signaltransduktionssysteme zu funktionieren (Ongini & Fredholm 1996; Sebastião & Ribeiro 1996; Ralevic & Burnstock 1998).

So führt die Aktivierung des A2a-Rezeptors beispielsweise zu einer verstärkten striatalen Ausschüttung von GABA (Cunha & Ribeiro 2000) und Glutamat (Popoli et al. 2003), aber auch ein Absinken des extrazellulären GABA-Gehalts nach Applikation des A2a-Agonisten CGS21680 wurde beobachtet, wobei aber methodische Gründe für die abweichenden Ergebnisse verantwortlich sein könnten (Svenningsson et al. 1999).

Auch über direkte Rezeptor-Rezeptor-Interaktion können aktivierte A2a-Rezeptoren ihre Wirkung entfalten. So wurde eine Interaktion von A2a- und Glutamatrezeptoren beschrieben (Lopez et al. 2008; Ciruela et al. 2006).

Am besten belegt ist die Interaktion des A2a-Rezeptors mit den D2-Rezeptoren (Ferré et al. 2008; Salomone et al. 2009). Hier senkt eine Aktivierung von A2a-Rezeptoren die Affinität der D2-Rezeptoren zu Dopamin, die Interaktion ist funktionell gesehen also antagonistisch (Abb.10; Ferré et al. 2008; Rimondini et al. 1999; Franco et al. 2000).



**Abb.10:** Mögliche Mechanismen der A<sub>2A</sub>-D<sub>2</sub>-Rezeptor-Interaktion auf zellulärer Ebene, modifiziert nach Ferré et al. 2008

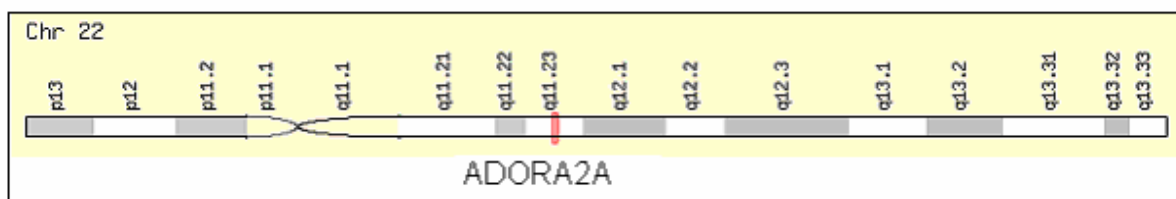
Die Aktivierung von A2a-Rezeptoren verringert die Affinität von D2-Rezeptoren zu Agonisten wie Dopamin, hemmt den  $G_{q/11}$ -PLC-Signalweg und reduziert damit die Modulation von  $Ca^{2+}$ -Kanälen durch D2-Rezeptoren (Abb.10a). Die Aktivierung von D2-Rezeptoren inhibiert über die Alpha-Untereinheit  $G_i$  die von den A2a-Rezeptoren vermittelte cAMP-Bildung durch Hemmung der Adenylyl-Cyclase über  $G_{s/olf}$  (Abb. 10b). Die Aktivierung von D2-Rezeptoren verstärkt durch einen Aktivator des G-Protein-Rezeptors (AGS3)  $G_i$ -vermittelt die A2a-Rezeptor-abhängige cAMP-Bildung durch Aktivierung der Adenylyl-Cyclase über  $G_{s/olf}$  (Abb.10c).

Eine ähnliche Interaktion gibt es auch zwischen den Rezeptorsubtypen A1 und D1, auch hier führt die Aktivierung des A1-Rezeptors zu einer reduzierten Affinität des D1-Rezeptors für Dopamin (O'Neill et al. 2007). Aufgrund dieser Neuromodulation des Adenosins durch die verschiedenen Interaktionen auf Rezeptorebene wird angenommen, dass hierdurch höhere neuronale Funktionen wie Lernen und Gedächtnis etabliert werden (Sebastião & Ribeiro 2009; Franco et al. 2000).

## 2.4 Das ADORA2A-Gen

### 2.4.1 Genstruktur und Aufbau des ADORA2A- Rezeptors

Das kodierende Gen für den ADORA2A-Rezeptor befindet sich auf dem langen Arm des Chromosoms 22 (q11.23; Abb.11). Der Rezeptor hat eine Länge von 412 Aminosäuren und ein Molekulargewicht von 45 kDa.

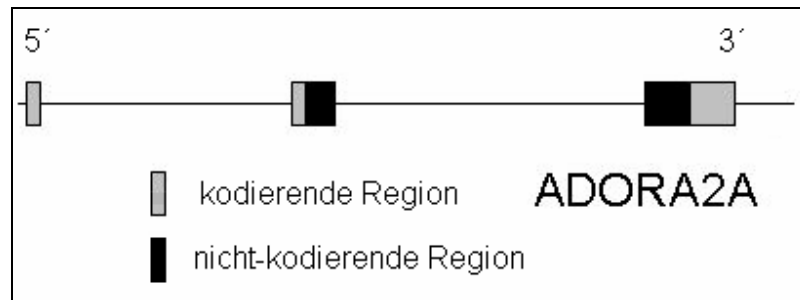


**Abb. 11:** Lokalisation des ADORA2A-Gens auf dem Chromosom 22

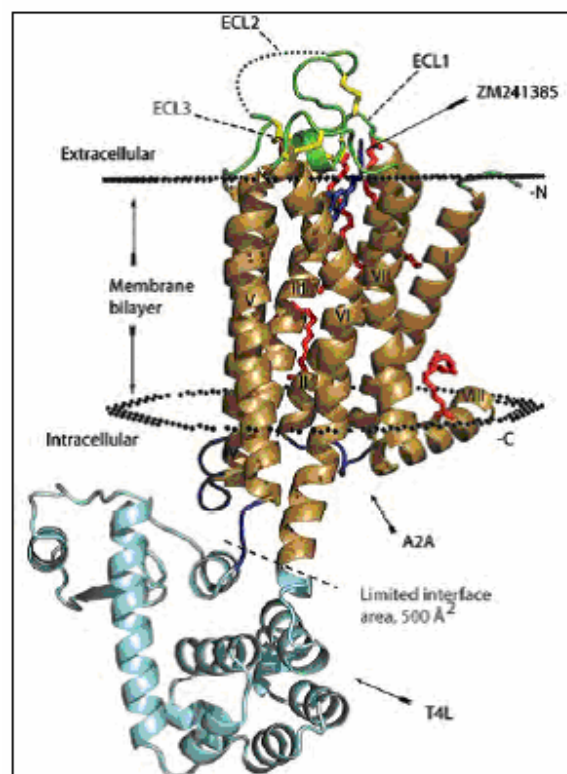
Die Struktur des polymorphen menschlichen A2a-Rezeptors wurde durch Klonierung des Chromosoms 22 untersucht (Abb.12). Während lange Zeit von zwei Exons, die von einem Intron unterbrochen sind, ausgegangen wurde (Le et al. 1996; Chu et al. 1996;

Peterfreund et al. 1996; Fredholm et al. 2001), ist mittlerweile bekannt, dass das ADORA2A-Gen aus drei Exons und zwei Introns besteht.

Die mRNA hat eine Länge von 14797bp, wobei sich das Exon 1 von 1-185bp erstreckt, Exon 2 von 5570-6175bp und Exon 3 von 13022-14796bp. Die cDNA befindet sich in den Bereichen 5844-6175bp und 13022-13928bp (Abb.12).



**Abb.12:** Genstruktur von ADORA2A; Exon 1: 1-185bp, Exon 2: 5570-6175bp, Exon 3: 13022-14796bp; cDNA: 5844-6175bp und 13022-13928bp



**Abb.13:** Aufbau (Tertiärstruktur) des A2a-Rezeptors, gebunden mit dem selektiven A2A-Antagonisten ZM241385 (Jaakola et al. 2008)

Der G-Protein-gekoppelte ADORA2A-Rezeptor weist sieben transmembranäre Regionen auf, die über drei extra- und drei intrazelluläre Schleifen unterschiedlicher Länge miteinander verbunden sind und in einem extrazellulären Aminoterminus bzw. einem intrazellulären Carboxyterminus enden (Abb.13; Kristiansen 2004). Ihre Hauptfunktion besteht in der Signaltransduktion ins Zellinnere über eine Aktivierung von G-Proteinen. Die Interaktion mit den G-Proteinen findet an den zytoplasmatischen Schleifen statt, wobei insbesondere die dritte Schleife zwischen fünfter und sechster Transmembrandomäne (Olah 1997) und Teile der zweiten Schleife zwischen dritter und vierter Transmembranregion (Wess 1997) eine wichtige Rolle zu spielen scheinen. Die Agonisten binden an einer durch die ringförmige Anordnung der transmembranären Helices gebildeten Bindungstasche unter Beteiligung des N-Terminus, der transmembranären Domänen fünf bis sieben und zweier konservierter Histidine (His250 bzw. His 278) in Helix sechs und sieben (Abb.13; Jaakola et al. 2008). In der zweiten extrazellulären Schleife und zu Beginn der dritten transmembranären Domäne finden sich zudem zwei konservierte Cysteinreste, die zur Disulfidbrückenbildung befähigt sind, und die mit Unterstützung weiterer inter- und intrahelikaler Salzbrücken und hydrophober Wechselwirkungen die Rezeptorstruktur im inaktiven Zustand stabilisieren (Kristiansen 2004). Der im Vergleich zu den anderen Adenosinrezeptoren sehr lange C-Terminus scheint als Kontaktstelle für Interaktionen mit anderen Rezeptoren wie dem Dopamin-D2-Rezeptor zu dienen (Fuxe et al. 2005).

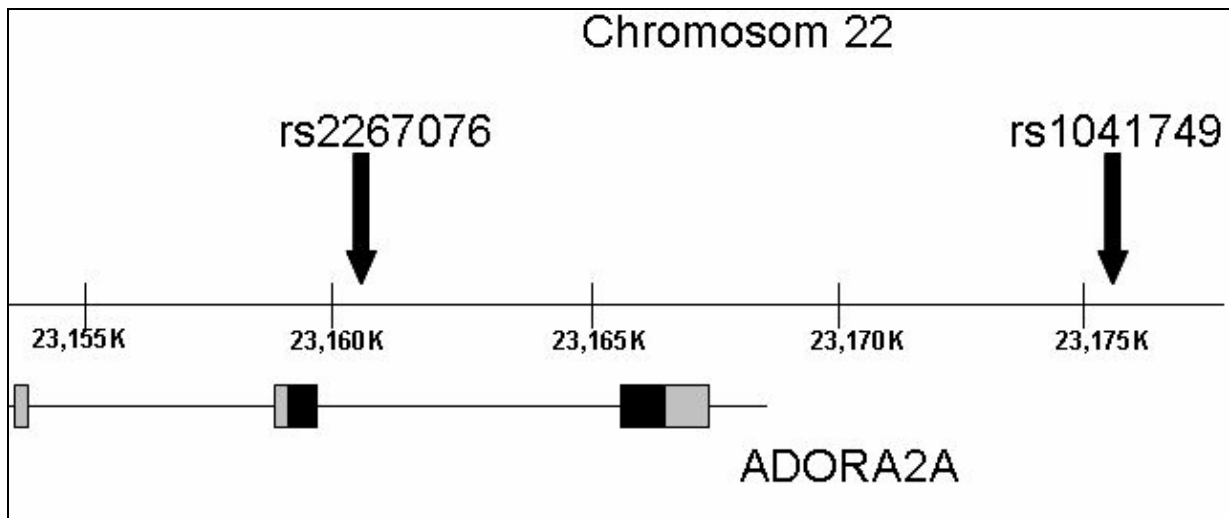
In dieser Arbeit werden die beiden Polymorphismen rs2267076 und rs1041749 des ADORA2A-Gens untersucht (Tab.7).

**Tab.7:** Genotypisierte Polymorphismen des ADORA2A-Gens

ID	Chromosom	Chromosomale Position	Gen	Position im/ zum Gen	Allel
rs2267076	22	23160595	ADORA2A	Intron 2	C/T
rs1041749	22	23176391	ADORA2A	3'Genregion	C/T

Der Polymorphismus rs2267076 befindet sich auf dem zweiten Intron des ADORA2A-Gens (Abb.14), er bewirkt einen Austausch von Cytosin durch Thymin, hat aber keinen Aminosäureaustausch zur Folge. Das Stammallel ist das Cytosin.

Das SNP rs1041749 befindet sich nahe der 3`-Genregion des ADORA2A-Gens auf dem Chromosom 22q11.23 (Abb.14). Er bewirkt den Austausch eines Cytosins durch Thymin, das angestammte Allel ist das Cytosin (Tab.7). Es findet kein Aminosäureaustausch statt.



**Abb.14:** Das ADORA2A-Gen und die Polymorphismen rs2267076 und rs1041749

#### 2.4.2 Der A2a-Rezeptor und psychische Erkrankungen

Der Neuromodulator Adenosin beeinflusst über A2a-Rezeptoren die Dopaminfreigabe der D2-Rezeptoren in den Basalganglien, insbesondere im Striatum (Salomone et al. 2009; Martinez-Mir et al. 1991). Hierbei haben A2a-Rezeptoren und D2-Rezeptoren entgegengesetzte Wirkungen (Fuxe et al. 1998). Ihre hohe Expression im Striatum und ihre Wechselwirkungen mit den zerebralen D2-Rezeptoren weisen auf ihre Schlüsselrolle bei motorischen Defiziten des M. Parkinson hin (Ferré et al. 1992; Fuxe et al. 1998).

Der Mangel an Dopamin im Rahmen des M. Parkinson führt zu einem Ungleichgewicht zugunsten des Adenosins, das therapeutisch durch die Gabe von spezifischen A2a-Rezeptorantagonisten korrigiert werden kann (Schwarzschild et al. 2006; Simola et al. 2008). Auch der protektive Effekt des nicht-selektiven Antagonisten Koffein auf die Parkinson-Erkrankung ist derzeit Gegenstand mehrerer Untersuchungen (Cauli & Morelli 2005; Xie et al. 2007). Adenosinrezeptoren haben eine zentrale Bedeutung bei

neuronalen Reparaturmechanismen, ihre protektive Wirkung entfaltet sich über eine A1-Rezeptor-Aktivierung bzw. A2a-Rezeptor-Hemmung (Boison 2008). Letztere hat bei zerebraler Ischämie eine Unterdrückung der neuronalen und glialen Glutamatfreisetzung zur Folge und schützt so vor dem Untergang des Nervengewebes (Pedata et al. 2001; Zalewska-Kaszubska 2002; Li et al. 2008).

Den A2a-Rezeptoren wird außerdem eine wichtige Rolle bei der Entstehung von aggressivem Verhalten und Angst zugesprochen (Ledent et al. 1997; Correa & Font 2008). Die unselektive A1-/A2a-Rezeptorblockade durch Koffein kann unter Umständen Angst bis hin zu Panikattacken auslösen (Uhde et al. 1984). In aktuellen Untersuchungen berichteten TT-Träger des Polymorphismus rs5751876 des ADORA2A-Gens über ein signifikant höheres subjektives Angstgefühl nach Koffeinkonsum als CC-Homozygote (Childs et al. 2008; Alsene et al. 2003; Hohoff et al. 2005). Bei Untersuchungen des ADORA2A-Polymorphismus rs2298383 hatten CC-Träger nach Koffeingenuss mehr Angst als TT-Träger (Childs et al. 2008). Weitere neuropsychiatrische Erkrankungen, die in Zusammenhang mit A2a-Rezeptoren gebracht werden, sind Basalganglien-Erkrankungen wie Chorea Huntington, Schizophrenie (Martinez-Mir et al. 1991; Ferré et al. 2004; Ferré et al. 2008), das Lesch-Nyhan-Syndrom (García et al. 2009) und Multiple Sklerose (Stone et al. 2009).

### **2.4.3 Der A2a-Rezeptor und Morbus Alzheimer**

M. Alzheimer ist eine neurodegenerative Erkrankung, die meist bei Personen über dem 65. Lebensjahr auftritt. Charakteristisch ist eine zunehmende Beeinträchtigung des Gedächtnisses, insbesondere des Kurzzeitgedächtnisses und der Merkfähigkeit. Das Altgedächtnis bleibt typischerweise lange erhalten (Gleixner et al. 2004/2005). Das histologische Korrelat des M. Alzheimer besteht aus senilen Plaques, fehlerhaft gefalteten Amyloid-Beta-(A $\beta$ -)Peptiden, die in der frontalen Hirnrinde abgelagert und schon Jahre vor Ausbruch der klinischen Symptomatik sichtbar werden. Zusätzlich zu den Plaques stellen Neurofibrillen, die sich in den Ganglienzellen und Neuriten ablagern, das pathologische Kennzeichen der Erkrankung dar. Ablagerung von kongophillem  $\beta$ -Amyloid im Gehirn von Mäusen steht in Verbindung mit einer Degeneration azetylcholinерger (Whitehouse et al. 1981) sowie serotonерger Zellen (Curcio & Kemper 1984). Das Zusammenspiel dieser Neurotransmitter ist für



Gedächtnisleistungen von großer Bedeutung (Richter-Levin & Segal 1989) und spielt eine bedeutende Rolle bei der Pathogenese der Alzheimerschen Amnesie (Maurice et al. 1996). In diesem Kontext zeigt sich auch eine zentrale Bedeutung der neuromodulierenden Wirkung von A1- bzw. A2a-Rezeptoren (Schubert et al. 2001). *Postmortem* wurden in Hirnabduktionen von Alzheimer-Erkrankten auffällige Veränderungen der Adenosinrezeptoren gefunden (Jansen et al. 1990; Ikeda et al. 1993). Eine reduzierte Rezeptordichte der neuroprotektiven A1-Rezeptoren bei erhaltener Kopplung dieses Rezeptortyps an G-Proteine wurde entdeckt (Ulas et al. 1993). Eine neuere Studie wies eine Heraufregulation und erhöhte Sensibilität von A1- und A2a-Rezeptoren im frontalen Kortex von Alzheimer-Patienten nach (Albasanz et al. 2008).

#### **2.4.4 Der A2a-Rezeptor und kognitive Fähigkeiten**

##### **2.4.4.1 Effekte des A1-/A2a-Rezeptorantagonisten Koffein auf kognitive Fähigkeiten**

Viele der biologischen Effekte des Koffeins werden über die unselektive A1-/A2a-Rezeptorblockade vermittelt. Daher können anhand von Studien mit Koffein Rückschlüsse auf die Wirkung der Adenosinrezeptoren auf kognitive Fähigkeiten gezogen werden. Koffein ist die am meisten verbreitete psychoaktive Droge weltweit und hat einen positiven Einfluss auf Wachsamkeit und Erregbarkeit. Bisherige Ergebnisse über die Wirkung des Kaffees auf Kognition sind inkonsistent. So wurden sowohl positive als auch schädliche Effekte auf intellektuelle Leistungen festgestellt, die testabhängig und aufgabenbezogen zu sein scheinen (Jung et al. 2000). Schon vor Jahren konnte nachgewiesen werden, dass Koffeinkonsum zu verbesserten Leistungen in Geschwindigkeits- und Aufmerksamkeitstest führt (Lienert & Huber 1966; Bättig et al. 1984). Auch wurde eine Verbesserung höherer kognitiver Funktionen, einschließlich des Gedächtnisses, entdeckt (Johnson-Kozlow et al. 2002). In einer grossen Studie über die Effekte habituellen Koffeinkonsums auf Kognition bei über 9000 Briten wurde ein signifikanter positiver Trend zwischen Koffein und Kognition gefunden, der altersbezogen war und insbesondere bei den ältesten Teilnehmern zu beobachten war (Jarvis 1993). Reidel und Jolles stellten basierend auf diese Ergebnisse die Hypothese auf, dass der Koffeineffekt einen supplementären Effekt auf die Gedächtnisfunktionen im

Alter habe, der nur bei verminderter cholinergischer Funktion auftreten würde (Reidel & Jolles 1996). Da die Degeneration kognitiver Fähigkeiten im Alter ihren Höhepunkt erreicht (Powell & Whitla 1994), scheinen die Koffeinwirkungen insbesondere dann einen signifikanten Einfluss auf kognitive Leistungen zu haben (Reidel & Jolles 1996). Aufgrund der komplexen Wirkungen des Koffeins wurden hierfür unterschiedliche Ursachen vermutet, das Hauptaugenmerk jedoch auf dessen unselektive Blockade der zerebralen A1- und A2a-Rezeptoren gerichtet (Kopf et al. 1999). Die chronischen Effekte des Koffeins weichen oft sehr von den akuten Koffeinwirkungen ab (Fredholm 1995). Dies könnte die Inkonsistenz einiger Studien erklären, da frühere Arbeiten meist die akuten, eher schädlichen Wirkungen untersuchten, während bisher wenige Daten über Effekte chronischen Koffeingebruchs, dem ein positiver Effekt nachgesagt wird, existieren (Fredholm 1995). Die Langzeiteinnahme von Koffein soll nach Fredholm zu wichtigen adaptiven Vorgängen im Gehirn führen (Fredholm 1995).

Adrenerge Therapie als neue Möglichkeit zur Behandlung neurodegenerativer Erkrankungen wie M. Parkinson und Alzheimer wird heutzutage stark diskutiert (Rosso et al. 2008; Ross et al. 2000). Beinahe 30% aller Parkinson-Patienten entwickeln dementielle Störungen, 30% aller Alzheimer-Erkrankten erleiden Parkinson-ähnliche Symptome (Rinne et al. 2000). Insbesondere lebenslanger, kumulativer Koffeinkonsum vermag den kognitiven Abbau im Alter aufzuhalten (Johnson-Kotzlow et al. 2002).

Interessanterweise scheint Koffeinkonsum insbesondere bei Frauen im Alter zwischen 60-80 Jahren protektiv zu wirken (Johnson-Kotzlow et al. 2002). Dies wurde in einer prospektiven Studie von Ritchie und seiner Arbeitsgruppe in drei französischen Städten näher untersucht. Fast 7000 Menschen wurden innerhalb von vier Jahren nach ihrem Koffeinkonsum befragt, es wurden kognitive Tests (Isaacs Test) und der MMST zum Ausschluss einer Demenz durchgeführt (Ritchie et al. 2007). So schnitten insbesondere Frauen, die mehr als drei Tassen Kaffee am Tag tranken, in kognitiven Tests signifikant besser ab als Frauen mit geringerem Koffeinkonsum. Der beobachtete Effekt stieg zudem mit dem Alter der Probandin an. Bei Männern wurde kein Zusammenhang zwischen Koffeinkonsum und besseren kognitiven Leistungen beobachtet (Ritchie et al. 2007). In einer ähnlich konzipierten Studie in Finnland hingegen wurde ein geringerer Leistungsabfall von Männern, die in einem Zeitraum von über zehn Jahren mehr als drei Tassen Kaffee am Tag tranken, im MMST festgestellt (van Gelder et al. 2007).

Viele tierexperimentelle Studien bedienen sich transgener Mäuse, denen pathologische menschliche Gene eingefügt wurden (Pinel & Pauli 2007). So zeigten beispielsweise transgene Mäuse, die mit einem Gen, welchem in der Alzheimererkrankung eine Rolle zugeschrieben wird, ausgestattet waren und über einen längeren Zeitraum mit 500 mg Koffein behandelt wurden, in Verhaltenstests signifikant bessere kognitive Leistungen als Kontrollmäuse (Arendash et al. 2006). In einer ähnlichen Studie mit Wildtypmäusen unter chronischer Koffeinsubstitution wurde jedoch kein Effekt auf kognitive Leistungen beobachtet (von Lubitz et al. 1993). Spontan-hypertensive Ratten (SHR), die als Tiermodell für das ADHS-Syndroms mit Lern- und Gedächtnisdefiziten assoziiert sind, zeigten nach Behandlung mit Koffein verbesserte Leistungen in räumlichen Verhaltenstests (Prediger et al. 2005).

#### **2.4.4.2 Effekte der A2a-Rezeptoren auf kognitive Fähigkeiten**

Während früher insbesondere der Einfluss der A1-Rezeptoren auf kognitive Funktionen Beachtung fand, wird mittlerweile immer mehr die Rolle der A2a-Rezeptoren bei Lern- und Gedächtnisprozessen betont (Takahashi et al. 2008). In einer Studie mit dem selektiven A2a-Rezeptorantagonist SCH58261 wurde gezeigt, dass dieser vor der Entstehung neurodegenerativer Prozesse wie der Alzheimerschen Erkrankung schütze, allerdings wurde kein genereller Effekt auf Gedächtnisprozesse beobachtet (Cunha et al. 2008).

Dall'igna und Kollegen entdeckten bei transgenen Mäusen eine geringere toxische Wirkung der Beta-Amyloide auf das Gedächtnis nach Koffeingabe (Dall'igna et al. 2007). Dieselbe Wirkung konnte durch Gabe selektiver A2a-Antagonisten, jedoch nicht durch selektive A1-Antagonisten hervorgerufen werden. So scheint vor allem die koffeininduzierte A2a-Rezeptorblockade die kognitiven Defizite bei M. Alzheimer beeinflussen zu können, nicht die A1-Rezeptorblockade. A2a-Rezeptorantagonisten zur Therapie kognitiver Erkrankungen sind derzeit Gegenstand zahlreicher pharmakologischer Studien (Daly 2007; Dall'igna et al. 2007).

Bei einer anderen Studie wurden Knock-Out-(K.O.-)Mäuse gezüchtet, die keinen A2a-Rezeptor exprimierten (Wang et al. 2006). Diese wurden zusammen mit Wildtypmäusen bezüglich ihres räumlichen Arbeitsgedächtnisses untersucht und zeigten signifikant bessere Ergebnisse (Wang et al. 2006). Aufgrund der erhöhten Konzentration von A2a-

Rezeptoren im Bulbus olfactorius, einer Region, die stark in Verbindung mit sozialer Kognition gebracht wird, untersuchte eine Arbeitsgruppe an spontan hypertensiven Ratten den Effekt von A2a-Rezeptorantagonisten auf soziale Intelligenz (Prediger & Takahashi 2005). Die intraperitoneale Substitution sowohl von Koffein als auch von dem selektiven A2a-Antagonisten ZM241385, jedoch nicht vom selektiven A1-Antagonisten DPCPX, führte zu signifikant besseren Resultaten in Tests zur Messung des sozialen Gedächtnisses (Prediger & Takahashi 2005).

#### **2.4.4.3 Effekte der A2a-Rezeptoren auf die Langzeitpotenzierung**

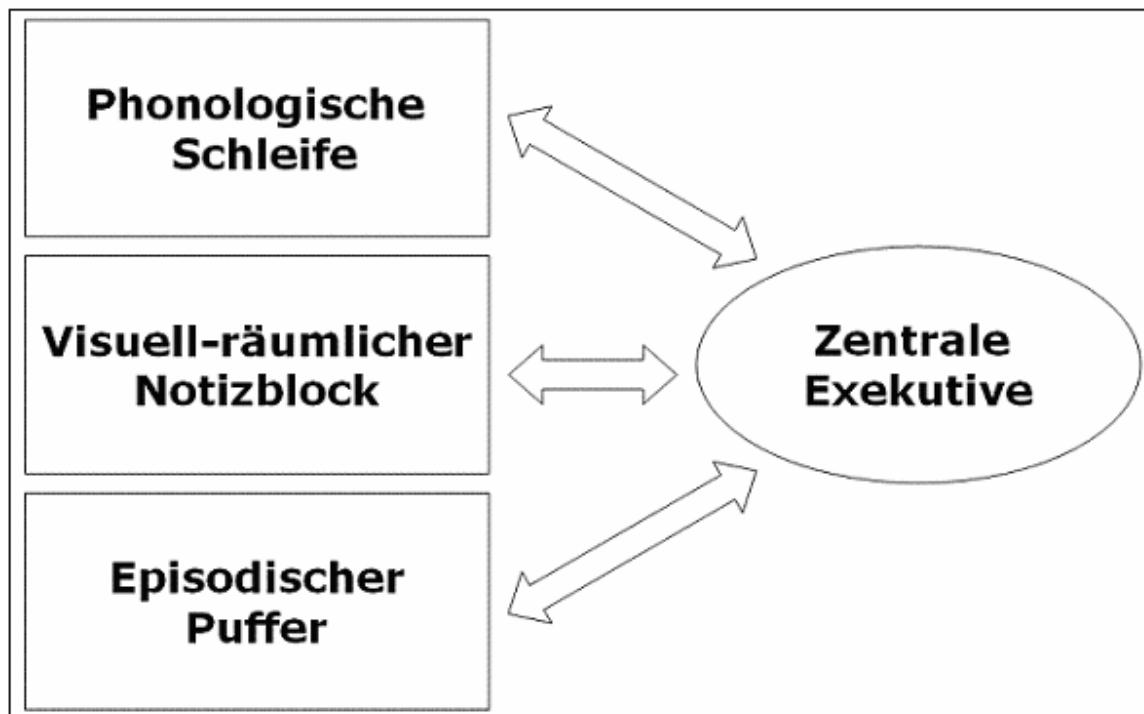
Die Langzeitpotenzierung (LTP) ist ein etabliertes zelluläres Modell für die Ausbildung von Lern- und Gedächtnisinhalten (Bliss & Collingridge 1993). Bliss und Lomo entdeckten, dass hochfrequente elektrische Reizung von präsynaptischen Neuronen zu einer Bahnung, d.h. Erleichterung, der synaptischen Übertragung mit Folgeneuronen führt (Bliss & Lomo 1973). Diese Langzeitpotenzierung (LTP) führt zur gleichzeitigen Aktivierung prä- und postsynaptischer Neuronen und wird laut der Hebb'schen Regel als die physiologische Grundvoraussetzung für Lernen und Gedächtnis angesehen (Hebb 2002). Anhand mehrerer Studien wurde die Beteiligung von A1- und A2a-Rezeptoren an der LTP untersucht (Arai et al. 1990; Kessey et al. 1997; Rebola et al. 2003). So wurde eine wichtige Rolle insbesondere der A2a-Rezeptoren für die LTP entdeckt, da die A2a-Rezeptoren über ihre G-Protein-vermittelte  $Ca^{2+}$ -Freisetzung Einfluss auf die Aktivität der Glutamat-gesteuerten NMDA-Rezeptoren im Hippocampus nehmen können (Rebola et al. 2008). Der Hippocampus ist im Zusammenspiel mit dem Neokortex bei der Überführung von Gedächtnisinhalten aus dem Kurz- in das Langzeitgedächtnis von entscheidender Bedeutung (Wiltgen et al. 2004). Hippokampale NMDA-Rezeptoren sind am Prozess der LTP beteiligt und besitzen eine entscheidende Funktion für die Etablierung von Lern- und Gedächtnisprozessen (Nakazawa et al. 2004).

So wurde beispielsweise bei Mäusen, die Defizite im Bereich dieses NMDA-Rezeptors aufwiesen, eine deutlich schlechtere Lernleistung in verschiedenen Verhaltenstests beobachtet (Shimizu et al. 2000). Die Wirkung des BDNF, welcher Induktion und Aufrechterhaltung einer LTP positiv regulieren kann (Korte et al. 1998), scheint stark abhängig von dem Vorhandensein extrazellulären Adenosins und der Aktivierung von A2a-Rezeptoren über cAMP/PKA zu sein (Diógenes et al. 2004; Fontinha et al. 2008).

## 2.5 Der A2a-Rezeptor und das Arbeitsgedächtnis

### 2.5.1 Das Arbeitsgedächtnis

Eine wichtige Theorie zum Arbeitsgedächtnis geht auf das von Alan Baddeley und Graham Hitch entwickelte Arbeitgedächtnismodell von 1974 zurück (Abb.15, Baddeley 2003). Dieses Modell basiert auf primär drei, später vier Komponenten, die miteinander in Verbindung stehen (Abb.15).

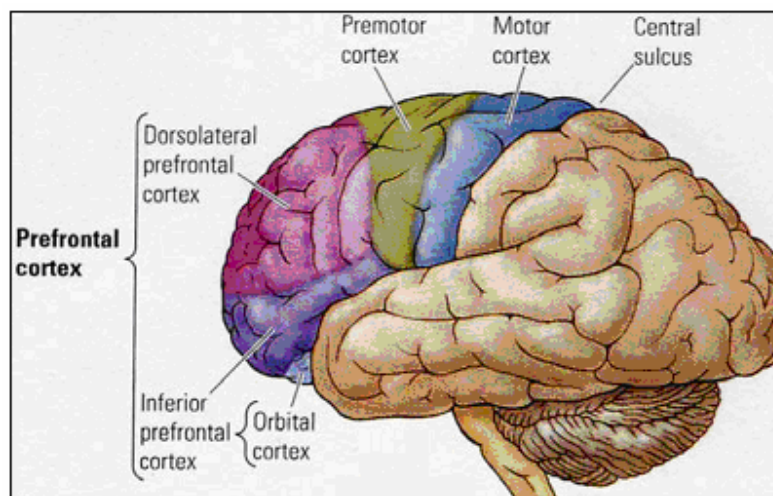


**Abb.15:** Das Arbeitsgedächtnismodell von Baddeley und Hitch, ergänzt um den *episodischen Puffer* (Baddeley 2002)

Die *zentrale Exekutive* ist die komplexeste der Komponenten. Sie ist für den Großteil der mentalen Vorgänge verantwortlich (Baddeley 2003). Ihr stehen die Subsysteme *phonologische Schleife*, welche für die Verarbeitung verbaler Informationen zuständig ist, und der *visuell-räumliche Notizblock* zur Prozessierung visueller Informationen gegenüber (Abb.15; Baddeley 2003). Zuletzt wurde das Modell um den *episodischen Puffer* erweitert, der gewissermaßen als Speicher mit begrenzter Kapazität fungiert und

es so ermöglicht, Informationen aus verschiedenen Ressourcen zu integrieren und je nach Anforderung präsent zu halten (Abb.15; Baddeley 2000).

Andere Modelle wie das prozessorientierte Modell von Nelson Cowan gehen von einer Verteilung von Aufmerksamkeitsressourcen und damit einhergehender Aktivierung neuronaler Netzwerke aus (Cowan, 1999). Nach aktuellem Wissenstand wird das Arbeitgedächtnis als anatomisches Korrelat der allgemeinen Intelligenz betrachtet: Die meisten psychometrischen Tests des Arbeitgedächtnisses stimmen signifikant mit Ergebnissen von Intelligenztests überein (Daneman & Merikle 1996; Deary 2001; Oberauer et al. 2005). Der Begriff Arbeitgedächtnis steht für die Fähigkeit, Informationen vorübergehend im Dienste von Verständnis, Denken und Planen in Erinnerung, sozusagen *online*, zu halten und diese gleichzeitig zueinander in Beziehung setzen zu können (Meyer-Lindenberg et al. 2001). Um diese komplexen kognitiven Prozesse des Arbeitgedächtnisses gewährleisten zu können, bedarf es großer kortikaler Netzwerke (Mesulam 1990; Fuster 2000). Diverse Studien an Primaten und Menschen belegen die Schlüsselfunktion des präfrontalen Kortex im komplexen neuronalen Netzwerk des Arbeitgedächtnisses (Abb.16; Petrides et al. 1992; Goldman-Rakic 1996; Bertolino et al. 2000). Nagetiere mit einer gestörten präfrontalen Funktion zeigten Defizite im räumlichen und im Arbeitgedächtnis. Defizite in Labyrinth- und Wiedererkennungstest dienen hierbei zur Abgrenzung des Arbeitgedächtnisses von Störungen des Langzeitgedächtnisses (Castner et al. 2004).



**Abb.16:** Anatomische Aufteilung des präfrontalen Kortex

### **2.5.2 Der A2a-Rezeptor und präfrontale Kognition**

Von wesentlichem Interesse für die Untersuchung von A2a-Rezeptoren in Hinblick auf das Arbeitsgedächtnis ist die Tatsache, dass sowohl A2a-, als auch D1-Rezeptoren zu einer Erhöhung des *second-messenger* cAMP und damit der neuronalen Erregbarkeit führen können. Die cAMP-vermittelte Erhöhung der Proteinkinase A hat negativen Einfluss auf das Arbeitsgedächtnis im präfrontalen Kortex, ein direkter Zusammenhang mit den Adenosinrezeptoren ist jedoch nicht gesichert (Taylor et al. 1999). Jedoch kann sowohl vermehrte, als auch verminderte Dopaminfreisetzung über die D1-Rezeptoren zu Defiziten im Arbeitsgedächtnis führen (Goldman-Rakic et al. 2000). Die tierexperimentelle Studie von Giménez-Llort über die Auswirkungen vermehrter A2a-Rezeptoren im zerebralen Kortex, Hippocampus und Kleinhirn auf das Arbeitsgedächtnis lieferte vielversprechende Resultate. Die transgenen Ratten hatten deutliche Schwierigkeiten, ein neu dargebotenes Objekt zu erkennen und zeigten bei wiederholt durchgeführten Tests einen im Vergleich zu Kontrollratten stark reduzierten Lernfortschritt (Giménez-Llort et al. 2007). Diese Resultate belegen einen direkten Zusammenhang zwischen zerebralen A2a-Rezeptoren und Arbeitsgedächtnisleistungen.

## 2.6 Fragestellung

Die Adenosin-2a-Rezeptoren stehen als zerebrale Neuromodulatoren über ein kompliziertes Netzwerk mit unterschiedlichen Neurotransmittersystemen (Dopamin, GABA, Glutamat) in Verbindung. Es wird davon ausgegangen, dass durch diese fein abgestimmten Interaktionen auf Rezeptorebene höhere neuronale Funktionen wie Lernen und Gedächtnis etabliert werden.

Viele der bis heute durchgeführten Referenzstudien zum Adenosin-2a-Rezeptor und kognitiven Leistungen beruhen auf Tiermodellen und zeigen einen signifikanten Zusammenhang zwischen der A2a-Rezeptoraktivität und Kognition.

Ein genetischer Einfluss auf die allgemeine Kognition gilt als gesichert. Anhand von Assoziationsstudien ist es auf molekularbiologischer Ebene möglich, einen Zusammenhang zwischen genetischen Variationen (Single-Nukleotid-Polymorphismen, SNPs) in Kandidatengenen und komplexen Merkmalen wie Intelligenz herzustellen.

Ziel der vorliegenden Studie ist es, Zusammenhänge zwischen den beiden Polymorphismen rs2267076 und rs1041749 des ADORA2A-Gens und kognitiven Leistungen zu erfassen. Der Polymorphismus rs2267076 befindet sich im Intron 2 des ADORA2A-Gens, er bewirkt einen Austausch von Cytosin (C) durch Thymin (T). Der Polymorphismus rs1041749, ebenfalls eine C/T-Variation, befindet sich nahe der 3'-Region außerhalb der kodierenden Region des ADORA2A-Gens.

Hierzu wurden jeweils die Allel- und Genotypfrequenzen der SNPs von 288 neuropsychologisch wie neuropsychiatrisch unauffälligen Bewohnern Münchens erfasst und in Beziehung zu deren Testleistungen gestellt, die anhand des Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991 (HAWIE-R), erhoben wurden.



## **3 Material und Methoden**

### **3.1 Rekrutierung der Studienteilnehmer**

Personen aus der allgemeinen Bevölkerung Münchens wurden angeschrieben und eingeladen, als Probanden der Kontrollgruppe an der Studie teilzunehmen. Das Probandenkollektiv setzte sich aus nicht verwandten Personen deutscher Abstammung zusammen, die in mehreren Stufen selektiert wurden. Die zufällig ausgewählten Bewohner Münchens hatten die Möglichkeit, telefonisch oder in Form eines Rückantwortschreibens ihr freiwilliges Interesse an der Studie zu bekunden.

#### **3.1.1 Telefonscreening**

Sofern die Probanden an dem Forschungsprojekt teilnehmen wollten, wurden sie in einem standardisierten Telefonscreening bezüglich etwaiger neuropsychiatrischer oder hirngorganischer Erkrankungen befragt; die Fragestellung schloss jeweils die Verwandten ersten Grades mit ein. So wurde die Medikamenteneinnahme der Probanden eruiert und eine genaue Alkohol- und Drogenanamnese abgeschlossen. Die Probanden sollten angeben, ob sie derzeit oder früher an depressiven oder manischen Phasen gelitten haben, ob sie an einer Angst- oder Essstörung leiden und ob sie schon mal versucht hätten, sich das Leben zu nehmen. Weiter wurden Informationen über psychiatrische oder neurologische Arztbesuche oder stationäre Aufenthalte in einer psychiatrischen Klinik eingeholt. Jeder dieser Faktoren wurde im Anschluss auch bezüglich der Verwandten ersten Grades erfragt.

#### **3.1.2 Anamnese I**

Sollte das Telefonscreening keinen Hinweis auf relevante psychiatrische oder neurologische Erkrankungen bei dem Probanden oder in dessen Familie ergeben haben, wurde im nächsten Schritt ein ausführlicher Fragebogen (Anamnese I) an die Interessenten versandt. Dieser beinhaltete eine detaillierte Anamnese bezüglich somatischer wie psychiatrischer Vorerkrankungen. Es wurde nach der Abstammung der Person, Eltern und der Großeltern gefragt. Allgemeine Vorerkrankungen sowie das

Rauchverhalten wurden eruiert, für die Studie relevante Erkrankungen aus dem Bereich Gemütererkrankungen (Depression, Manie), Suchterkrankungen (Alkohol, Medikamente, Drogen), Essstörungen oder neurotischer Probleme (Zwangserkrankung, Angst-/Panikstörung) wurden ausgeschlossen. Zusätzlich wurden wichtige allgemeine Informationen wie Alter, Gewicht, Größe und Händigkeit erfasst. Im Rahmen einer Sozialanamnese wurden die Probanden über ihren Familienstand, Schulabschluss und die Berufsausbildung befragt.

### 3.1.3 Ausschluss nicht geeigneter Probanden

Nach Erhalt der Anamnese I wurde in Rücksprache psychologisch und psychiatrisch tätiger Kollegen des Klinikums das Probandenkollektiv nach strengen Ausschlusskriterien (Tab.8) zusammengestellt.

**Tab.8:** Ausschlusskriterien

1. Alter < 18 Jahre
2. Psychiatrische Erkrankungen
3. Neurologische Erkrankungen
4. Suizidalität bzw. Suizidversuch in der Vergangenheit
5. Medikamentenabusus, Drogen- und Alkoholabhängigkeit
6. Einnahme psychotroper Medikamente
7. Mittelschweres bis schweres Schädel- Hirn-Trauma in der Vergangenheit
8. Andere hirnorganische oder neuropsychiatrische Erkrankungen
9. Hepatitis C, HIV-Erkrankung
10. Nicht- kaukasische Abstammung

Punkt 1-9: jetzt als auch in der Vergangenheit; Punkt 2-6,10: gilt auch für Verwandte 1. Grades

Personen, die nach dem Telefonscreening und der Anamnese I als geeignete Probanden für die Kontrollgruppe in Frage kamen, wurden darüber telefonisch informiert und zur Teilnahme an der klinischen Studie eingeladen.

## 3.2 Klinisches Interview

Die Studie beinhaltete sieben Tests bzw. Fragebögen (Tab.9) und fand in den Räumlichkeiten der psychiatrischen Klinik der LMU München statt. Die Zustimmung der lokalen Ethikkommission war vorhanden. Die Probanden wurden ausführlich über die

Zielsetzung und den Inhalt der Studie, die Anonymisierung der Daten sowie die mit der Blutentnahme verbundenen Risiken aufgeklärt. Die Studienteilnahme erfolgte auf freiwilliger Basis nach Einholung unterschriebener Einverständniserklärungen vor der Studiendurchführung. Ein Hörtest und die Prüfung der Manumotorik wurden durchgeführt. Außerdem wurden die Probanden hinsichtlich Parkinsonismus (Rigor, Tremor, Akinese) untersucht, die Prüfung der zwölf Hirnnerven und der wichtigsten Eigen- sowie Fremdreﬂexe folgte. Zuletzt wurde der Rombergstehtest und Seiltänzerengang sowie die Koordination mithilfe des Finger-Nase- und Finger-Finger-Versuchs getestet.

**Tab.9:** Elemente des klinischen Interviews

Mini-Mental-State-Test (MMST)
Hamburg-Wechsler Intelligenztest für Erwachsene (HAWIE- R)
Strukturiertes klinisches Interview I (SKID I)
Strukturiertes klinisches Interview II (SKID II)
Family History Assessment Module (FHAM)
Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI)

### 3.2.1 Der Mini-Mental-State-Test

Der Mini Mental State Test wurde 1975 von Folstein und Kollegen entwickelt, um ein für den klinischen Alltag geeignetes Screeningverfahren zur Feststellung von kognitiven Defiziten zu bieten (Folstein et al. 1975). Er dient heute vor allem zur Erstdiagnose und Verlaufsbeurteilung von Demenz oder Alzheimer. Der Test kam bei unserer Studie bei Patienten über 60 Jahren zum Einsatz, um eine beginnende kognitive Störung auszuschließen. Es wurden neun Fragenkomplexe gestellt, die aus insgesamt 30 Einzelaufgaben bestehen und je nach Erfolg mit 0-5 Punkten bewertet werden können. Der Proband musste seine zentralen kognitiven Funktionen wie zeitliche und räumliche Orientierung, Aufnahmefähigkeit, Aufmerksamkeit und Rechnen, Kurzzeitgedächtnis, Sprache, Ausführen einer Handlungsanweisung, Lesen und Ausführen einer Handlungsanweisung, Schreiben sowie Zeichnen unter Beweis stellen (Gleixner et al. 2004/2005). Maximal erreichbar waren 30 Punkte, bei einer Punktzahl unter 26 musste abgeklärt werden, ob kognitive Beeinträchtigungen vorlagen, die zu einem Ausschluss des Probanden von der Studie geführt hätten.

### **3.2.2 Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV (SKID)**

Der SKID ist ein semistrukturiertes klinisches Interview, das zur Erfassung, Klassifizierung und Diagnose psychischer Störungen und Syndrome nach Achse I und Achse II entwickelt wurde, welche entsprechend der diagnostischen Kriterien des *Diagnostic and Statistical Manuals of Mental Disorders* in seiner vierten Revision (DSM-IV, APA 1994) abgeleitet werden. Außerdem werden Kodierungsmöglichkeiten für die Beurteilung auf Achse III (medizinische Krankheitsfaktoren), Achse IV (psychosoziale und umweltbedingte Probleme) und Achse V (globales Funktionsniveau) angeboten. Das Verfahren setzt sich aus zwei Komponenten zusammen, dem SKID-I und SKID-II, und wurde bei den Patientengruppen zur Diagnosestellung eingesetzt, während es bei den Kontrollprobanden zum Ausschluss einer psychiatrischen Erkrankung diente (Wittchen et al. 1997). In Feldstudien und klinischen Kollektiven wurde eine befriedigende diagnostische Reliabilität des SKID bestätigt.

Der SKID-I wurde zur Erfassung von psychischen Störungen auf Achse I des DSM-IV eingesetzt. Das Interview begann mit einem kurzen Explorationsleitfaden, um einen Überblick über derzeitige und frühere Beschwerden des Probanden zu bekommen, bevor systematisch nach spezifischen Symptomen gefragt wurde (Wittchen et al. 1997). Dabei wurde das strukturierte Interview in verschiedene Sektionen eingeteilt, wodurch folgende psychopathologischen Krankheiten im Sinne des DSM-IV erfasst werden konnten: Affektive Syndrome, psychotische und assoziierte Symptome, psychotische Störungen, affektive Störungen, Abhängigkeit von psychotropen Substanzen, Angststörungen, somatoforme Störungen, Essstörungen, Anpassungsstörungen und optionale Störungen. Nach einer Diagnosenübersichtskodierung konnte der Interviewer klinisch entscheiden, ob das diagnostische Kriterium einer psychopathologischen Erkrankung „nicht“ (1), „unterschwellig“ (2) oder „voll“(3) erfüllt war. Letzteres hätte zu einem Ausschluss des Probanden aus der Studienkontrollgruppe geführt.

Zusätzlich sollte der Proband seine psychosozialen Beeinträchtigungen innerhalb der letzten vier Wochen und zu der von ihm wählbaren „schlimmsten Zeit“ in der Vergangenheit einschätzen (Achse IV). Diese wurden vom Untersucher durch eine globale Beurteilung der Leistungsfähigkeit des Probanden (Achse V) ergänzt. Der SKID-II diente als Verfahren zur Diagnostik der zehn auf Achse II sowie der zwei im Anhang

des DSM-IV aufgeführten Persönlichkeitsstörungen (Wittchen et al. 1997). Dabei wurden die Probanden in Hinblick auf selbstunsichere, dependente, zwanghafte, negativistische, depressive, paranoide, schizotypische, schizoide, histrionische, narzisstische, Borderline und antisoziale Persönlichkeitsstörung untersucht.

Zuerst wurde ein Screening- Fragebogen mit den Merkmalen der Achse II- Störungen vorgelesen, der aus geschlossenen Fragen bestand und mit „Ja“ oder „Nein“ beantwortet werden konnte. Im anschließenden halbstrukturierten Interview wurden nur noch die positiv beantworteten Fragen anhand eines Explorationsleitfaden verifiziert. Mit Hilfe der Anzahl der positiven Antworten konnte das jeweilige Diagnosekriterium durch den Interviewer beurteilt werden.

### **3.2.3 Family History Assessment Module (FHAM)**

Mittels des *Family History Assessment Modules* (FHAM; Rice et al. 1995) wurden anhand von 12 Screeningfragen psychiatrische Erkrankungen der Verwandten ersten Grades erfragt. Dabei wurde nach den Bereichen Alkoholismus, Drogenmissbrauch und -abhängigkeit, Depression und Suizidalität, Manie, Schizophrenie und antisoziale Persönlichkeit gefragt.

### **3.2.4 Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI)**

Unter Zuhilfenahme des Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI; Richter & Guthke 1996) sollte der Proband im letzten Teil des klinischen Interviews retrospektiv über belastende sowie erfreuliche Lebensereignisse berichten. Die dazugehörigen Items konnte er einer Liste von 50 allgemeinen Lebensereignissen und Belastungen sowie einem Zusatzteil von 10 Items für Studierende entnehmen, die vorwiegend aus negativen (Tod) oder ambivalenten (Wechsel des Wohnortes) Ereignissen bestehen, da diese einen grossen Prädiktorwert für Krankheitsausbrüche und -verschlechterungen haben (Richter & Guthke 1996). Daraufhin sollte der Proband diese kritischen Ereignisse hinsichtlich des Zeitraumes und der Zeitdauer des Auftretens, der subjektiv erlebten Belastung damals und heute, der Kontrollierbarkeit und Vorhersagbarkeit, der Bewältigung und der erhaltenen sozialen Unterstützung einschätzen. Der zweite Teil des LEBI diente der Erfassung und Gewichtung von 16 Lebenszielen und -werten (z.B. Gesundheit). Danach sollte jedem Lebensereignis, welches vom Probanden als eher

belastend angegeben wurde, dasjenige Lebensziel zugeordnet werden, welches durch den Eintritt des Lebensereignisses am meisten beeinträchtigt wurde. Abschließend sollte der Proband seine eigene Widerstandsfähigkeit (*hardiness*) und Vulnerabilität beurteilen, um einen Eindruck von seinen individuellen Ressourcen bei der Bewältigung stresshafter Lebensereignisse zu vermitteln (Kobasa 1979; Brown & Harris 1978).

### **3.3 Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991 (HAWIE-R)**

Neben dem klinischen Interview wurde bei jedem Probanden ein Intelligenztest durchgeführt.

Ein Intelligenztest ist ein Instrument der psychologischen Diagnostik zur Messung der Intelligenz einer Person. Ziel der Messung von Intelligenz ist eine Vergleichbarkeit von Personen hinsichtlich ihrer kognitiven Fähigkeiten. Bei dem HAWIE-R (Hamburg-Wechsler Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991) handelt es sich um die deutschsprachige Version des WAIS-R (Wechsler Adult Intelligence Scale - Revised 1981; Tewes 1994), einem Einzeltestverfahren zur Messung von Intelligenzleistungen der Altersstufen 16-74 Jahre, der speziell für die klinisch- psychologische Diagnostik entwickelt wurde. Er wurde nach seiner Ersterscheinung im Jahr 1956 von Curt Bondy in Anlehnung an die *Wechsler Adult Intelligence Scale* (WAIS) als HAWIE bzw. HAWIK (Hamburg-Wechsler Intelligenztest für Kinder) in Deutschland eingeführt. Das Vorgehen und die Bewertung erfolgen nach dem Manual von Tewes (Tewes 1994). Der HAWIE eignet sich vor allem für die Einschätzung des allgemeinen geistigen Entwicklungsstandes und die Untersuchung von alters-, milieu- oder krankheitsbedingten Leistungsbeeinträchtigungen (Tewes 1994).

Unterteilt wird die „allgemeine Intelligenz“ nach dem theoretischen Konzept von Wechsler in einen Verbalteil und einen Handlungsteil (Tab.10). Unterschiede in diesen Bereichen lassen dann den Rückschluss zu, ob die betreffende Person mehr praktisch oder eher verbal-theoretisch begabt ist (Tewes 1994). Außerdem bestehen die beiden Teile aus mehreren Untertests (Tab.10), mit denen möglichst viele spezifische Fähigkeiten erfasst werden sollen.

**Tab.10:** Untertests des HAWIE-R

<b>Verbalteil</b>	<b>Handlungsteil</b>
Allgemeines Wissen	Bilderergänzen
Zahlennachsprechen	Bilderordnen
Wortschatztest	Mosaiktest
Rechnerisches Denken	Figurenlegen
Allgemeines Verständnis	Zahlen-Symbol-Test
Gemeinsamkeiten finden	

### **3.3.1 Der Verbalteil**

#### Allgemeines Verständnis

Im dem Untertest *Allgemeines Verständnis* wird dasjenige Wissen geprüft, das sich ein Mensch mit durchschnittlichen Bildungsmöglichkeiten selbst aneignen kann (Matarazzo 1982). Hier spielen Bildung und kulturelle Erfahrungen des Probanden eine große Rolle. Auch Neugier und Offenheit gegenüber der Umwelt haben Einfluss auf das Ergebnis, weil das allgemeine Wissensniveau die Aufgeschlossenheit der Person gegenüber der Umwelt widerspiegelt (Tewes 1994). Dieser Subtest besteht aus 24 offenen Fragen, wobei jede richtige Antwort einen Punkt gibt.

Beispiel: „Wieviele Monate hat ein Jahr?“

#### Zahlengedächtnis

Der Test *Zahlengedächtnis* hat eine geringe Bedeutung für das allgemeine intellektuelle Leistungsniveau, Leistungsausfälle in diesem Bereich weisen eher auf klinische Defekte wie hirnorganische Krankheiten hin (Matarazzo 1982). Bei diesem Test wird neben dem Zahlengedächtnis auch die akustische Merkfähigkeit erfasst, außerdem sind schlechte Leistungen nicht selten verbunden mit Testangst oder Aufmerksamkeitsstörungen des Probanden. Der erste Durchgang besteht aus 7 mal 2 Zahlenreihen von 3 bis 9 aufeinander folgenden Zahlen, die vom Testleiter in gleich bleibendem Tonlaut vorgelesen werden, und daraufhin vom Probanden in korrekter Reihenfolge wieder gegeben werden müssen. Der zweite Durchgang enthält wiederum 7 mal 2 Zahlenreihen, diesmal aber von 2 bis 8 aufeinander folgenden Zahlen. Die Zahlen müssen nun von dem Probanden rückwärts wiedergegeben werden. Jede Zahlenreihe

wird nur einmal von dem Testleiter vorgelesen, bei korrekter Reihenfolge gibt es pro Aufgabe einen Punkt.

### Wortschatztest

Der Untertest *Wortschatztest* eignet sich als Maß für die allgemeine Intelligenz einer Person, die weitgehend unabhängig ist vom Lebensalter des Probanden. Eruiert werden hier sowohl Lernfähigkeit als auch verbale Informationsbreite (Matarazzo 1982). Der Testleiter nennt dem Probanden insgesamt 32 Wörter, deren Bedeutung daraufhin beschrieben werden sollen. Bei jeder richtigen Antwort gibt es jeweils einen Punkt. Beispiel: „Was bedeutet Beginn?“

### Rechnerisches Denken

Der Test *Rechnerisches Denken* bietet ein gutes Maß für die geistige Beweglichkeit und die allgemeine Intelligenz (Matarazzo 1982), zusätzlich fließen hier sehr stark schulische und berufliche Erfahrungen sowie ein gutes Konzentrationsvermögen mit ein. Geprüft wird das Vermögen, einfache numerische Aufgaben im Kopf und ohne Hilfsmittel zu lösen. Der Test beinhaltet insgesamt 14 Rechenaufgaben, die in ihrem Schwierigkeitsgehalt ansteigen, und zusätzlich innerhalb einer bestimmten Zeitgrenze beantwortet werden müssen. Für die ersten 9 Aufgaben gibt es jeweils einen Punkt, für die letzten fünf Aufgaben, abhängig von der Geschwindigkeit der genannten Lösung, bis zu 2 Punkte. Die maximale Rohpunktzahl liegt somit bei 19 Punkten.

Beispiel: „Wieviel sind drei Euro und fünf Euro?“ ( $\leq 15$  s = 1 Punkt)

### Allgemeines Verständnis

Der Subtest *Allgemeines Verständnis* eignet sich dazu, den „gesunden Menschenverstand“ und logische Denkprozesse des Probanden zu prüfen. Bei der Lösung der Aufgaben werden sowohl das praktische Urteilsvermögen, als auch die Fähigkeit, aus Erfahrung zu lernen und in Ursache-Wirkungs-Zusammenhängen zu denken, erfasst (Tewes 1994). Auch das Sprachvermögen und der Wortschatz spielen bei diesem Subtest eine wichtige Rolle. Dem Probanden werden 13 offene Fragen aus dem alltäglichen Leben gestellt. Im Gegensatz zu anderen Tests spielt hier besonders die Qualität der Antwort eine Rolle, wobei zwischen unsinnigen bzw. falschen,



oberflächlichen und differenzierteren Antworten unterschieden wird. Nach einem vorgegebenen Antwortkatalog werden diese dann entweder mit 0, 1 oder 2 Punkten bewertet.

Beispiel: „Warum wäscht man seine Kleidung?“

#### Gemeinsamkeiten Finden:

Der letzte Teil des Verbalteils besteht aus dem Untertest *Gemeinsamkeiten finden* und erfasst vor allem die logische Struktur der Denkprozesse des Probanden (Matarazzo 1982). Ein gutes Abstraktionsvermögen, sicherer sprachlicher Ausdruck und fundierte Wortschatzkenntnisse sind Voraussetzung für das Erreichen möglichst vieler Rohpunkte in diesem Test. Der Proband bekommt zwei Begriffe genannt, deren Gemeinsamkeit er finden soll. Auch hier spielt bei der Punktevergabe neben der quantitativen Auswertung die Qualität der Antwort eine Rolle. So kann der Proband je nach Differenziertheit seiner Antwort bis zu 2 Punkte erreichen (siehe *Allgemeines Verständnis*).

Beispiel: „Was ist das Gemeinsame von Norden und Westen?“

### **3.3.2 Der Handlungsteil**

#### Bilderergänzen:

Bei dem Test *Bilderergänzen* wird einerseits die Fähigkeit erfasst, zwischen wichtigen und unwichtigen Details bei visuellen Informationen zu unterscheiden, andererseits spielt hier auch das Wahrnehmungsvermögen, Begriffsbildung und die Identifikation bekannter Begriffe eine Rolle. Laut Matarazzo beeinträchtigt die Vertrautheit des Bildes das Testergebnis (Tewes 1994). Der Proband muss in einem vorgegebenen Bild mit schematischen Motiven dasjenige Bildelement benennen, welches bei der Darstellung fehlt. Insgesamt werden 17 Bilder vorgelegt, pro richtige Antwort gibt es einen Punkt.

#### Bilderordnen:

Beim *Bilderordnen* ist die Fähigkeit gefragt, eine Gesamtsituation richtig zu erfassen und dabei zusätzlich die Einzelaspekte hinsichtlich ihrer Bedeutung richtig einzuschätzen. Der Proband muss neben der Erfassung und Bewältigung komplexer Situationen auch seine soziale Intelligenz unter Beweis stellen (Matarazzo 1982). Die Aufgabe besteht

darin, insgesamt 10 Bilderserien, die eine Geschichte darstellen, richtig und logisch zu ordnen.

Die Punktevergabe richtet sich nach der Richtigkeit der Geschichte einerseits und nach der Geschwindigkeit des Erfolges andererseits. Pro Frage können maximal 2 Punkte erreicht werden.

#### Mosaik-Test:

Der *Mosaiktest* eignet sich besonders für die Erfassung der allgemeinen Intelligenz. Auch eignet er sich sehr für qualitative Auswertungen. Getestet wird, wie der Proband geometrische Formen wahrnimmt, sie analysiert und das Ganze in seine Komponenten zerlegt (Matarazzo 1982). Zusätzlich misst dieser Subtest die Fähigkeit des Probanden zum problemlösenden Denken und die Belastbarkeit unter Zeitdruck. Dem Probanden werden Bilder mit verschiedenen Mustern vorgelegt, die er daraufhin mit zuerst vier (Aufgabe 1-5), dann mit neun (Aufgabe 6-9) Würfeln nachlegen soll. Der Schwierigkeitsgrad steigt pro Aufgabe, die jeweils innerhalb bestimmter Zeitspannen gelöst werden müssen. Je nach Richtigkeit und Geschwindigkeit gibt es 0 bis 2 Punkte für diese Aufgaben.

#### Figurenlegen:

Der Test *Figurenlegen* ergibt bei der Durchführung die meisten methodische Probleme, wurde aber trotzdem mit in den HAWIE-R übernommen. Während er wenig innerhalb der höheren Intelligenzbereiche unterscheiden kann, bietet er vor allem die Möglichkeit, einen Einblick auf den Arbeitsstil des Probanden zu bekommen. Es wird die Vertrautheit mit Formen erfasst sowie die Fähigkeit, Relationen zwischen Teil und Ganzem herzustellen (Matarazzo 1982). Bei der Beobachtung des Probanden durch den Testleiter lässt sich aussagen, ob der Proband eher zielgerichtet oder nach dem Prinzip Versuch und Irrtum arbeitet, wie er mit Misserfolgen umgeht und wie er seine Wahrnehmung strukturiert. Dieser Test sagt viel über die nonverbale Organisation der Intelligenz aus (Cohen 1952). Dem Probanden werden vier einfarbige Puzzles mit asymmetrischen Teilen vorgelegt, die er jeweils innerhalb einer vorgegebenen Zeitspanne zu einfachen Figuren zusammensetzen soll.

Je nach Geschwindigkeit und Richtigkeit erhält der Proband bis zu 2 Punkte.

### Zahlen- Symbol- Test:

Mit dem *Zahlen-Symbol-Test* wird besonders die allgemeine psychomotorische Geschwindigkeit erfasst, auch das Konzentrationsvermögen ist für den Erfolg wichtig. Die Ergebnisse des *Zahlen-Symbol-Tests* sind außerdem stark abhängig vom Alter des Probanden (Tewes 1994). Der Testperson wird ein Schlüssel vorgegeben, mit dessen Hilfe die Zahlen 1-9 einem bestimmten Symbol zugeordnet werden können. Zuerst hat der Proband kurz Zeit, sich etwas mit den Symbolen vertraut zu machen. Daraufhin stoppt der Testleiter die Zeit und der Proband hat 90 Sekunden Zeit, die Symbole nacheinander in die dazu gehörigen Kästchen zu übertragen. Für jedes korrekt ausgefüllte Kästchen gibt es einen Punkt.

### **3.3.3 Testauswertung**

Ausgewertet wird der HAWIE-R über die Anzahl richtig gelöster Fragen. Zunächst werden die Leistungen der einzelnen Subtests als Rohpunkte auf Skalen unterschiedlicher Länge quantifiziert. Um die Leistungen in den verschiedenen Untertests vergleichen zu können, werden daraufhin die Rohpunkte in eine entsprechende Wertpunktverteilung transformiert, die stets einen Mittelwert von zehn Punkten und eine Standardabweichung von drei Punkten aufweist. Dabei können die Rohwerte in verschiedene Wertpunkte übertragen werden (Wertpunkte A oder Wertpunkte B).

Bei den Wertpunkten A handelt es sich um die Abweichungswerte von den Erwartungswerten der Altersgruppe 20-34 Jahren (Tewes 1994), die die Voraussetzung für die Bestimmung des IQ darstellen. Wechsler begründet diesen Verrechnungsmodus damit, dass die Leistungen in den einzelnen Untertests im Alter zwischen 20 und 34 Jahren ihr Maximum erreichen und in diesem Zeitpunkt auch einigermaßen konstant bleiben. Für Forschung und die klinische Diagnostik habe es sich als nützlich erwiesen, die Untertestleistungen als Abweichung vom Erwartungswert dieser Altersgruppe zu bestimmen, weil auf diese Weise altersspezifische und auch untypische Änderungen, insbesondere bei älteren Personen, besser beschrieben werden können (Tewes 1994). So lässt sich aus der Summe der Wertpunkte A der altersspezifische Intelligenzquotient

anhand von Alterstabellen berechnen. Diese IQ-Werte haben einen Mittelwert von 10 Punkten und eine Standardabweichung von 15 Punkten.

Über die Wertpunkte B ist ein Vergleich der Rohwerte mit anderen Referenzgruppen möglich, beispielsweise kann hier die Abweichung von den Altersnormen eingetragen werden oder die Wertpunkte für Probanden, die das Gymnasium besuchen oder Abitur haben. Somit können altersunabhängige Effekte besser erkannt werden. Bei der Testauswertung wird grundsätzlich zwischen Verbal-IQ (Summe der Wertpunkte der sechs Verbaltests), Handlungs-IQ (Summe der Wertpunkte der fünf Handlungstests) und Gesamt-IQ (Summe der Wertpunkte aller elf Untertests) differenziert.

Der Gesamt-IQ repräsentiert das allgemeine geistige Leistungsvermögen (g-Faktor der Intelligenz). Verminderte Leistungen sollten stets vor dem Hintergrund milieuspezifischer Einflüsse und möglicher krankheits- oder verletzungsbedingter Behinderungen analysiert werden (Tewes 1994). Die Berechnung von Gesamt-IQ, Verbal-IQ und Handlungs-IQ wird durch nahezu alle faktorenanalytischen Studien gerechtfertigt (Blöink 2006). Untersuchungen zur faktoriellen, zur kriteriumsbezogenen und zur diskriminanten Validität liegen vor.

In Bezug auf die Zuverlässigkeit des HAWIE-R liegen die inneren Konsistenzen der Untertests zwischen  $r = 0,71$  und  $r = 0,96$ , für den Handlungsteil bei  $r = 0,90$ , für den Verbal- und den Gesamtteil bei  $r = 0,96$ . Dies lässt den Rückschluss zu, dass der HAWIE-R in hohem Maße reliabel und valide ist.

### 3.4 DNA-Extraktion

**Tab.11:** Materialien zur DNA-Extraktion, Hersteller Firma Qiagen

Material	Volumen
QIAamp Maxi Spin Röhrchen	
Sammelröhrchen	
QIAGEN Protease	500µl
Puffer AL	12ml
Ethanol (96-100%)	10ml
Puffer (Guanidin-HCL)	5ml
Waschpuffer (ethanolhaltig)	5ml
Puffer AE (Tris-Puffer, > 9,0)	1ml

Bei allen Studienteilnehmern erfolgte zu Beginn der Studie eine venöse Blutentnahme mithilfe einer EDTA-Monovette. Zur Sicherstellung der Anonymität wurden die Blutproben mit einem siebenstelligen Code bezeichnet. Gemäß der vorgegebenen Anleitung wurde unter Anwendung des QiaAmp DNA blood Maxi-Kit (Firma Qiagen, Hilden, Germany) die genomische DNA extrahiert (Abb.17).

#### Vorbereitung der Blutproben:

Zuerst wurde das tiefgefrorene EDTA-Blut bei Raumtemperatur aufgetaut und jeweils 5-10ml Blut in ein 50ml großes Zentrifugenröhrchen pipettiert.

#### Zellyse

Für die Lyse der Leukozyten und die Freisetzung der Nucleinsäuren wurde daraufhin das Vollblut mit 500µl Proteinase K versetzt und mithilfe eines Vortexers kurz vermischt. Die Proteinkinase K dient der Fragmentierung von Proteinen wie Hämoglobin, Nukleasen oder Histonen, die bei der späteren PCR stören würden. Durch die Verdauung und Degradierung dieser denaturierten Proteine zu vielen kleinen Fragmenten wurde so eine erleichterte Abtrennung dieser Proteine von der DNA erreicht.

Anschließend wurde 12ml eines Guanidin-HCl haltigen Puffers zugegeben, um ideale Reaktionsbedingungen für die Lyseeigenschaften der Proteinkinase K zu schaffen. Der Puffer dient zusätzlich dazu, die Hydrathülle der DNA zu entziehen, um ihre spätere Bindung an die Silikagel-Säule zu ermöglichen.

Nun wurde die Lösung für 2 Minuten mit einem Vortexer durchgemischt, um eine vollständige Zellyse zu gewährleisten. Um eine maximale DNA-Extraktion zu gewährleisten, erfolgte nun eine Inkubation der Lösung von mindestens 30 Minuten im Wasserbad bei 70°C unter gleichmäßigem Schütteln.

#### Adsorption der DNA an die Silikagel-Membran

Der nächste Schritt diente der Bindung der DNA an die Silikagel-Membran. Hierfür wurde die Lösung mit 10ml einer 96-100%igen Ethanollösung versetzt, zwei Minuten lang auf dem Vortexer vermischt und daraufhin etwa die Hälfte der Lösung auf die Silikamembran überführt. Anschließend wurde sie für drei Minuten bei einer 3000

Umdrehungen pro Minute (rpm) zentrifugiert. Der Vorgang wurde mit dem Rest der DNA-Lösung wiederholt.

Idealerweise bindet so die DNA an die Silikamembran, während Salzgehalt und der pH-Wert dazu beitragen, dass RNA und Nukleinsäure-bindende Proteine nicht gebunden werden. Das Filtrat wurde jeweils verworfen.

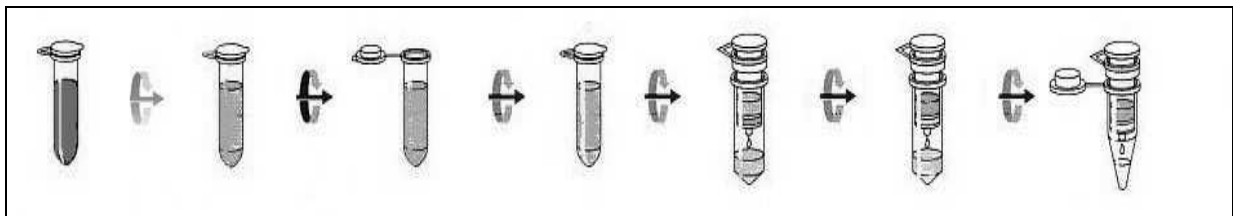
### Reinigung der DNA

Der nächste Schritt diente zur Reinigung der DNA von Verunreinigungen der Säule. Hierbei wurde die Säule primär mit 5ml Waschpuffer AW1 (Guanidin-HCl-haltiger Puffer) versetzt und für eine Minute bei 5000rpm zentrifugiert, um die Säule von RNA- und Protein-Verunreinigungen zu befreien. Daraufhin wurde ein ethanolhaltiger Waschpuffer AW2 (5ml) zur Entfernung der restlichen Guanidiumsätze beigefügt und 15 Minuten lang bei 5000rpm zentrifugiert, um auch das Ethanol vollständig zu entfernen.

### Elution der DNA

Zunächst wurde der Filter in sterile Falcon-Röhrchen überführt. Die Elution der DNA von der Silikamembran erfolgte unter Zugabe von 2 x 750µl AE-Puffer (Tris-Puffer, pH > 9,0). Dafür wurde die DNA-haltige Membran fünf Minuten lang bei Raumtemperatur mit dem AE-Puffer inkubiert und daraufhin für fünf Minuten bei 5000rpm zentrifugiert.

Da die DNA nur bei einem sauren pH-Wert an die Silikamembran bindet, kann sie nun durch den basischen Tris-Puffer von der Membran eluiert werden. Der Schritt wurde wiederholt, um eine maximale DNA-Ausbeute zu erreichen. Die so gewonnene DNA wurde bei -80°C gelagert.



**Abb.17:** DNA-Extraktion nach der Anleitung des QIAamp DNA Blood Midi/Maxi KitHandbuch (Firma Qiagen, Hilden, Germany)

### 3.5. Bestimmung der DNA-Konzentration

Für die Bestimmung der DNA-Konzentration wurde der Farbstoff PicoGreen verwendet. *PicoGreen* ist ein hochempfindlicher Fluoreszenz-Farbstoff, der spezifisch an doppelsträngige DNA bindet und es so ermöglicht, bereits kleinste Mengen DNA in Lösung quantifizieren zu können. Er fluoresziert nur im DNA-gebundenen Zustand grün. Der Messlösung ist er in einer Konzentration zugesetzt, die sicherstellt, dass er vollständig an die darin enthaltene DNA gebunden vorliegt. Die Fluoreszenzintensität ist hierbei direkt proportional zur Menge der in der Lösung enthaltenen DNA.

**Tab.12:** Materialien und Geräte zur DNA-Konzentrationsbestimmung

Material	Hersteller
<b>Verbrauchsmaterialien</b>	
96well Platte, schwarz, flacher Boden	Greiner
50ml konische PP-Röhrchen	Sarstedt
<b>Reagenzien</b>	
PicoGreen dsDNA quantitation reagent	Molecular Probes
1 x TE (pH 7,4), Tris Base, EDTA	Roth
Clontech Human Genomic DNA 100ng/µl	Clontech
<b>Geräte</b>	
Janus Automated Workstation	Perkin Elmer
Vortexer	Heidolph
Optiplex GX620 Pentium 4HT	Dell
Victor <sup>3</sup> 1420 Multilabelcounter	Perkin Elmer

Die DNA- Proben wurden 1:400 mit PicoGreen Lösung verdünnt. Die Bestimmung der DNA-Konzentration erfolgt mithilfe einer Eichkurve aus genomischer DNA (Tab.13).

**Tab.13:** Die DNA-Verdünnungsreihe (Eichkurve)

Säule	Konzentration (ng/µl)
A	100
B	50
C	25
D	12,5
E	6,25
F	3,125
G	1,5625
H	0

### Herstellung der Standard DNA Verdünnungsreihe (Eichkurve)

Als erstes wurde die Verdünnungsreihe (Tab.13) ausgehend von humaner genomischer DNA mit bekannter Konzentration (100ng/µl, Clontech) jeweils 1:1 mit H<sub>2</sub>O (bidest.) verdünnt. Nach mehrmaligem Umrühren mit einer Pipettenspitze diente die jeweilige Verdünnung nun als Ausgangssubstanz für die nächste niedrigere Konzentration.

### Vorverdünnung

Die DNA-Stammlösung (aus Blut, Zellen, Gewebe) wurde 1:10 vorverdünnt, da einerseits eine höher konzentrierte DNA für Langzeitlagerung stabiler ist, andererseits die Konzentration ohne Vorverdünnung für die Messung den Messbereich übersteigt. Mithilfe des Roboters (Janus Automated Workstation, Perkin Elmer) wurden dazu je 5µl einer Probe (Stammlösung) sowie 45µl H<sub>2</sub>O (bidest.) auf eine ABgene 96well Plate pipettiert.

### Herstellung des PicoGreen Gemischs

Das gefrorene PicoGreen-Reagenz wurde für eine Stunde bei Raumtemperatur in einem lichtundurchlässigen Behälter aufgetaut. In einem mit Aluminium Folie (Lichtschutz) umhüllten 50ml Röhrchen wurde eine Verdünnung von 1: 200 PicoGreen mit 1x TE hergestellt.

### Vorbereitung der Messplatte

Nach Herstellung des Picogreen-Gemischs wurde die Messplatte vorbereitet, wobei alle Schritte mithilfe des Roboters durchgeführt wurden. Zuerst wurden auf eine Messplatte (96 well flat bottom plate, black, Greiner) 50µl H<sub>2</sub>O (bidest.) je Vertiefung vorgelegt. Daraufhin wurden in Spalte 1 und 2 der 96well Messplatte Duplikate von 5µl gDNA-Standard als Verdünnungsreihe pipettiert (beginnend mit A1 und A2, jeweils 100 ng/µl). Im nächsten Schritt wurde die vorverdünnte DNA in Duplikaten mit einem Volumen von jeweils 5µl auf die Messplatte pipettiert, beginnend mit der Plattenposition A3. Pro Vertiefung (well) wurden zuletzt 145µl PicoGreen-Gemisch pipettiert und die Messplatte von einem Gripper in das Fluoreszenzmessgerät transportiert.



### Die Messung der DNA- Konzentration

Die Messung der DNA-Konzentration wurde im Victor<sup>3</sup> 1420 Multilabelcounter durchgeführt. Dafür wurde die Messplatte zuerst für 30s in Doppelkreisen geschüttelt. Zur Fluoreszenzbestimmung erfolgte eine Anregung des PicoGreen-Gemischs bei einer Wellenlänge von 485nm, die Messung erfolgte bei 535nm. Die Messzeit pro *well* betrug 0,1s, die Messergebnisse wurden an den Computer (Optiplex GX620 Pentium 4HT, Dell) weitergeleitet. Dieser berechnete daraufhin automatisch den Mittelwert aus den Doppelbestimmungen.

Bei einer Qualitätsprüfung der Standardkurve sollte mindestens ein Pearsonscher Korrelationskoeffizient von  $r = 0,99$  erreicht werden, eine Genauigkeit von ca. +/-10% war für die qualitative SNP-Genotypisierung ausreichend. Um im optimalen Messbereich des Geräts zu bleiben, wurde bei Konzentrationen außerhalb 20-200ng/μl eine Messung anderer Verdünnung durchgeführt.

Die DNA-Konzentration wurde auf 50ng/μl eingestellt. Anhand der ermittelten Konzentrationswerte wurde automatisch das für die Arbeitslösungskonzentration nötige Verhältnis von H<sub>2</sub>O (bidest.) zu DNA-Volumen der Ausgangslösung ermittelt und direkt im Anschluss mit dem Roboter pipettiert.

### **3.6 Genotypisierung mittels SNP-Microarrays**

Die Genotypisierung der genomischen DNA wurde zusammen mit einer Biotechnologie Firma durchgeführt. Begonnen wurde mit der Pipettierung von 644 DNA-Proben (100ng/μl) auf mit Barcodes versehene Mikrotiterplatten. Diese wurden versiegelt und auf Trockeneis verschickt.

Nach Erhalt der DNA wurden die Oligonukleotide (Primer) für das GoldenGate Assay Protokoll (Illumina. Inc, 9885 Towne Center Drive, San Diego, CA) angefertigt und einer Qualitätskontrolle unterzogen. Der Assay gründet sich auf einer Allel-spezifischen Extensionsmethode. Die PCR-Amplifikationsreaktionen wurden im Multiplexmaßstab mit 192 Ziel-SNPs durchgeführt. Nach der Amplifikation wurden die Proben an *96-sample-high-density Sentrix® micro-Array* Matrizen (Illumina) hybridisiert (komplementäre Basenpaarung). Diese Matrizen basieren auf *beadbased capture probe* Sequenzen.

### 3.6.1 Genotypspezifische PCR-Amplifikation nach dem *GoldenGate Assay* Protokoll

Zu Beginn wurde die genomische DNA immobilisiert und an paramagnetische Partikel angebunden. Daraufhin wurden Oligonukleotide, die für die gesuchten SNPs spezifisch sind, mit der immobilisierten genomischen DNA vereint (Hybridisierung).

Hierbei sind jeweils drei Oligonukleotide für einen SNP-Locus vorgesehen, wovon zwei allelspezifische (ASOs) und eines locusspezifisch (LSO) ist. Diese drei Oligonukleotide enthalten zur DNA komplementäre Bereiche und universelle PCR-Primer Stellen.

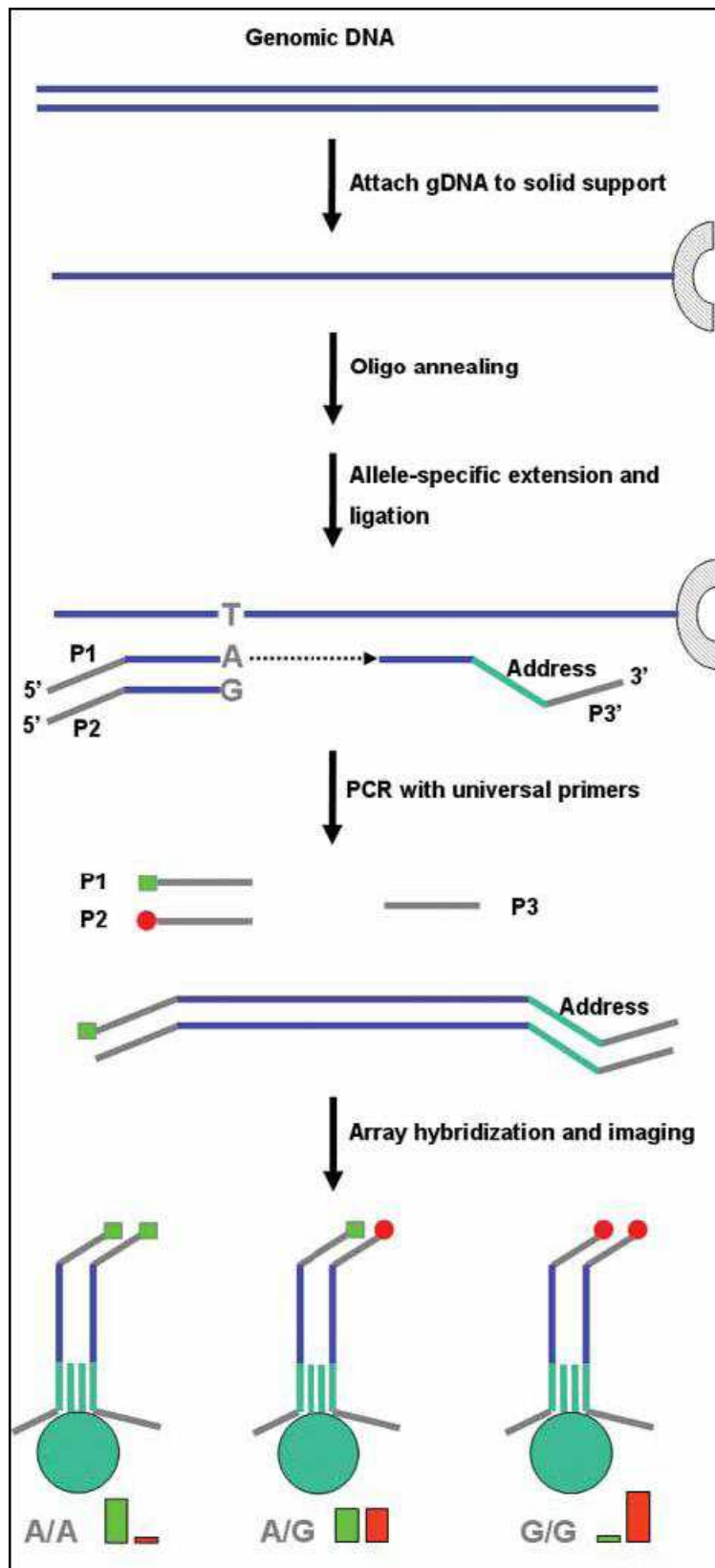
Die ASOs waren folgendermaßen aufgebaut: Vom 5´- zum 3´-Ende bestanden sie aus einer universellen PCR-Primer-Sequenz (komplementär zu den universellen PCR-Primern P1 oder P2), daran anschließend folgte ein zur Nachbarregion des SNPs komplementärer Abschnitt sowie zuletzt das allelspezifische 3´-Ende (die 3´-Base ist komplementär zu einem der zwei SNP-Allele).

Der Aufbau der LSOs gestaltete sich so: Am 5´-Ende befand sich eine zum SNP-Locus komplementäre Sequenz, einige Nukleotide *downstream* der polymorphen Stelle. Eine spezielle Sensorsequenz in der Mitte diente der Hybridisierung an einen bestimmten Perlentyp, am 3´-Ende fand sich komplementär zu P3 ein universeller PCR-Primer-Abschnitt.

Nachdem die Oligonukleotide an die immobilisierte genomische DNA hybridisiert wurden, folgten mehrere Waschvorgänge. Diese dienten der Entfernung überschüssiger oder falsch hybridisierter Oligonukleotide. Darauf schloss sich eine allelspezifische Extension Ligation der locusspezifischen Oligonukleotide an, es entstand folgendes Produkt: „Primer 1, bzw. 2, komplementäre Sequenz des 3´-flankierenden Bereichs des SNPs, plus allelspezifisches Nukleotid, plus 5´-flankierender Bereich des SNPs, plus *bead* spezifischer Bereich, plus Primer 3“.

Dies wurde nun als Grundlage genommen für die Polymerasekettenreaktion (PCR) mit den drei universellen Primern P1, P2 und P3.

P1 und P2 trugen hierbei unterschiedliche Fluorophoren (Cy3 und Cy5), die der allelspezifischen Detektion dienten. Nach mehreren Prozessierungsschritten wurden zuletzt die einzelsträngigen, mit Fluoreszenzfarbstoff markierten PCR-Produkte mithilfe von Sensoresequenzen an ihren komplementären Beadtyp hybridisiert (Abb.18).



**Abb.18:** Das GoldenGate Assay von Illumina (Illumina Inc. 2009)

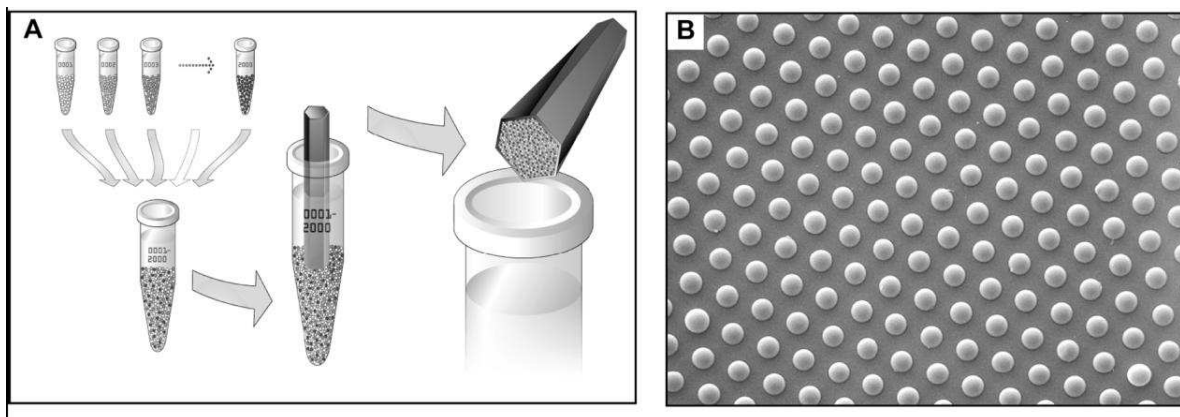
### 3.6.2 Das Prinzip des Bead Chip Arrays

Die *beads* sind Perlen, die aus Fasern mit zu Sensoren komplementären Nukleotidsequenzen bestehen. Mit deren Hilfe können die einzelnen SNP-Genotypisierungen dekodiert werden, indem die entsprechenden Sensoren über die PCR jeweils spezifisch für einen SNP in die Probe eingeführt werden.

#### Aufbau der Arraymatrix

Die Perlen enthalten jeweils mehrere 100.000 Kopien eines bestimmten Oligonukleotids, das kovalent gebunden ist. Für unsere SNP-Genotypisierung wurden entsprechend der Anzahl der zu untersuchenden Allele 384 verschiedene Perlen verwendet. Bei der Auswahl der Oligonukleotide musste darauf geachtet werden, dass es nicht zu Kreuzhybridisierungen der Oligonukleotide untereinander oder zu unspezifischen Hybridisierungen im menschlichen Genom kommen konnte.

Nach der Mischung der oligonukleotidspezifischen Perlen wurden sie mit fiberoptischen Faserbündeln bestehend aus ca. 50.000 einzelnen Fasern in Berührung gebracht (Abb.19).

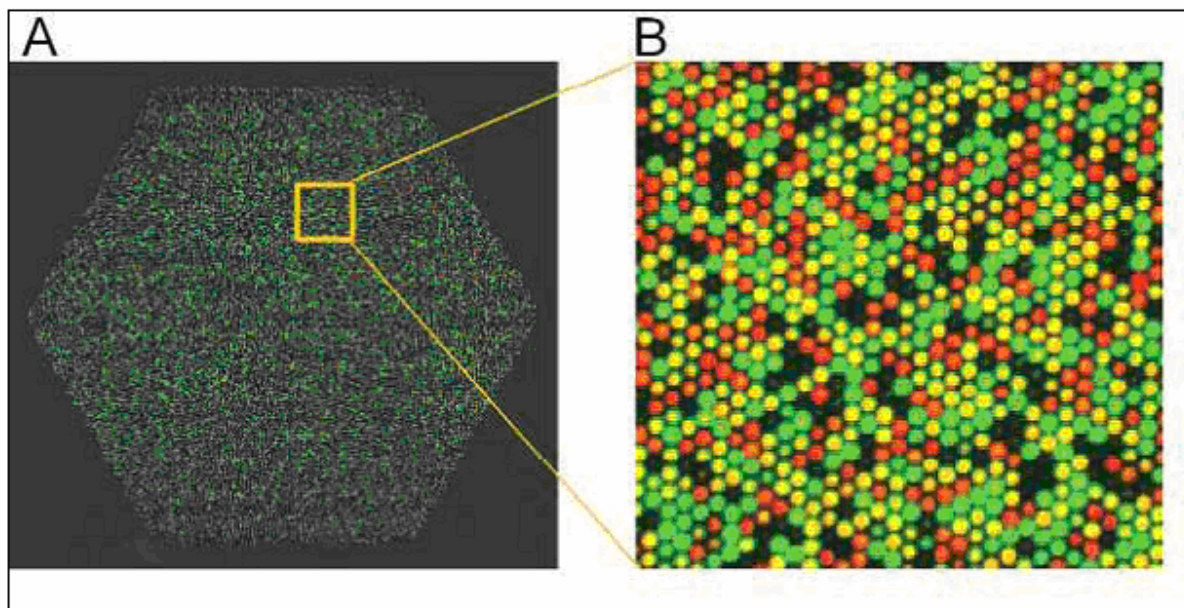


**Abb.19:** Darstellung eines fiberoptischen Faserbündels mit zufälliger Anordnung der Glasperlen (A) Hier ist die Mischung der verschiedenen Glasperlentypen dargestellt. Ein hexagonales fiberoptisches Faserbündel, dessen einzelne Fasern am Ende angeätzt wurden, wird dem Perlenpool ausgesetzt. So sammeln sich individuelle Perlen, jeweils eine Perle pro einzelne Faser, in den Mulden am Ende der Faser in beliebiger Verteilung an. (B) Elektronenmikroskopische Abbildung einer Anordnung von Siliziumperlen mit 3µm Durchmesser (Oliphant et al. 2002).

Ein Ende jeder Faser war angeätzt, dies half der Anheftung von jeweils einer Glasperle an das komplementäre Oligonukleotid. Pro Faserbündel entstanden ca. 50.000 Signale, die aus einem Vielfachen der eingesetzten Oligonukleotidproben bestanden (ca. 33 Signale pro Oligonukleotid bei max. 1500 verschiedenen Perlentypen und gleichmäßiger Verteilung).

### 3.6.3 Analyse der genotypspezifischen Fluoreszenzsignale

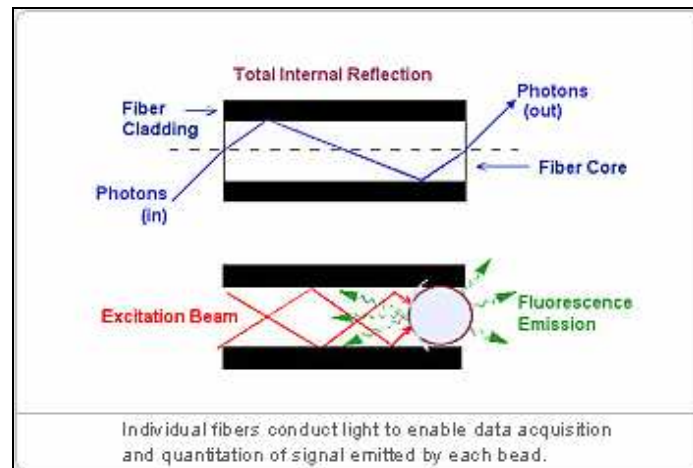
Mithilfe eines Zweifarben-Fluoreszenz-Scanners werden die spezifischen Allele ermittelt. Die Detektion der Genotypen und die Qualitätsbestimmung erfolgen automatisch und werden protokolliert. Wenn Primer 1 beispielsweise mit dem C-Allel assoziiert ist und Primer 2 mit dem T-Allel, kann durch das Verhältnis der zwei primerspezifischen Fluoreszenzsignale das Verhältnis der Genotypen CC, CT oder TT bestimmt werden (Abb.20). Rote und grüne *beads* sind Indikatoren für homozygote Genotypen; gelbe *beads* zeigen heterozygote Genotypen.



**Abb.20:** (A) Bild eines ganzen Faserbündels, (B) Vergrößerung einer Bündelsektion (Fan et al. 2003)

Die Fluoreszenz kommt dadurch zustande, dass ein anregender Strahl durch das Bündel zur Glasperle geleitet wird. Die Fluoreszenz wird durch die Faser zurück

emittiert, wodurch die Anordnung auf der Gegenseite des faseroptischen Bündels abgebildet wird (Abb.21; Oliphant et al. 2002).



**Abb.21:** Struktur und Eigenschaften einer individuellen optischen Faser (Oliphant et al. 2002)

### 3.7. Statistische Analyse

Unter Zuhilfenahme der Software *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS 15, SPSS Inc., Chicago, 2006, <http://www.spss.com/statistics/>) erfolgte die statistische Auswertung. Für die Unterscheidung bezüglich soziodemographischer Variablen zwischen den Genotyp-Untergruppen wurden t-Tests oder  $\chi^2$ -Tests durchgeführt. Das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht wurde mit dem  $\chi^2$ -Test bestätigt. Primär wurden Varianzanalysen mittels ANOVA (*analysis of variance*) für den Gesamt-IQ berechnet, wobei die Faktoren Genotyp (CC, CT, TT), Allel (C/T) und Geschlecht (weiblich/männlich) abhängig vom Bildungsgrad (gering/mittel/hoch) aufgenommen wurden.

Da der Gesamt-IQ im Unterschied zu den einzelnen Unterskalen des HAWIE-R alterskorrigiert ist, wurde das Alter nicht integriert. Außerdem wurden zwei explorative Zwei-Faktoren-MANOVAs (*multivariate analysis of variance*) berechnet unter Integration des Handlungs-IQ, des Verbal-IQ, der elf Untereinheiten des HAWIE-R (*Allgemeines Wissen, Zahlennachsprechen, Wortschatztest, Rechnerisches Denken, Allgemeines Verständnis, Gemeinsamkeiten finden, Bilderergänzen, Bilderordnen, Mosaik-Test, Figurenlegen, Zahlen-Symbol-Test*) und der Faktoren Genotyp (CC, CT, TT), Allel (C/T)

und Geschlecht (weiblich/männlich), kontrolliert nach dem Bildungsgrad (gering, mittel, hoch) und dem Alter. Das Signifikanzniveau wurde auf  $p < 0,05$  festgelegt, während  $p < 0,1$  als Trend gewertet wurde.

## 4 Ergebnisse

Zur Identifizierung von Assoziationen zweier Polymorphismen im ADORA2A-Gen mit kognitiven Leistungen wurde einerseits der HAWIE-R, andererseits eine Genotypisierung der beiden Polymorphismen durchgeführt. Unter den SNPs rs2267076 und rs1041749 wurden 288 gesunde Personen aus dem Raum München eingeschlossen.

42% (n = 122) der Probanden waren männlichen Geschlechts, der weibliche Anteil am Teilnehmerkollektiv war mit 58% (n = 166) etwas höher. Schulbildung, Alter und Geschlecht wurden als Covariable in die Berechnung aufgenommen.

### 4.1 Analyse des Polymorphismus rs2267076

Der Einfluss der genetischen Variation rs2267076 des ADORA2A-Gens wurde mit den kognitiven Leistungen beim HAWIE-R assoziiert. Dabei wurden die Ergebnisse des Gesamt-IQ, des Verbal-IQ, des Handlungs-IQ und der elf Untertests des HAWIE-R in Assoziation mit den Genotypen (CC, CT, TT) und den Allelen (C/T) betrachtet. Die Genotypverteilung war im Hardy-Weinberg-Equilibrium ( $F = -0,047$ ,  $df = 1$ ,  $p = 0,42$ ).

#### 4.1.1 Genotyp rs2267076

Die statistische Auswertung mithilfe der Varianzanalyse ergibt die in Tabelle 14 dargestellte Genotypverteilung innerhalb der Probanden. Der homozygote Genotyp CC ist nach den absoluten Zahlen mit 10% am geringsten in der Gesamtstichprobe vertreten.

**Tab. 14:** Darstellung der Genotypverteilung des Polymorphismus rs2267076

Genotyp			Gesamt (n)
CC n (%)	CT n (%)	TT n (%)	
28 (10)	133 (46)	127 (44)	288

Die ermittelten Resultate des Gesamt-IQ, Verbal-IQ, Handlungs-IQ und die Hauptresultate der elf Untereinheiten des HAWIE-R für die drei Genotypen CC, CT und TT werden in Hinblick auf eine mögliche Assoziation dieser Genotypen mit der



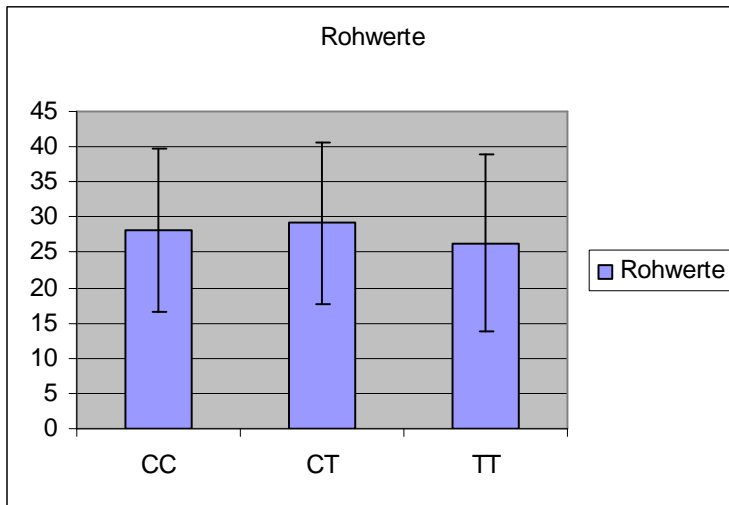
Intelligenzleistung betrachtet (Tab.15).

**Tab.15:** Resultate des HAWIE-R assoziiert mit der Genotypverteilung des ADORA2A-Polymorphismus rs2267076

	Genotyp			F	p
	CC (n=28)	CT (n=133)	TT (n=127)		
	MW (SD)	MW (SD)	MW (SD)		
<b>HAWIE-R</b>					
Gesamt-IQ	113,39 (12,479)	111,59 (15,311)	111,61 (14,967)	,482	,488
Verbal-IQ	111,46 (11,986)	109,65 (14,538)	110,30 (14,553)	,137	,711
Handlungs-IQ	110,86 (13,748)	108,11 (17,451)	108,63 (16,213)	,258	,612
<b>Verbaltests (Rohwerte)</b>					
Allgemeines Wissen	17,07 (3,066)	16,78 (3,702)	16,40 (3,979)	2,158	,118
Zahlennach-sprechen	14,57 (3,686)	13,78 (3,872)	13,94 (3,651)	,374	,689
Wortschatztest	23,11 (3,900)	22,68 (4,855)	22,44 (5,252)	1,427	,242
Rechnerisches Denken	13,39 (3,083)	13,55 (3,377)	13,82 (3,442)	,353	,703
Allgemeines Verständnis	21,71 (3,125)	21,89 (2,988)	21,65 (3,183)	,757	,470
Gemeinsamkeiten finden	26,68 (3,580)	26,55 (3,524)	25,93 (4,386)	2,334	<b>,099</b>
<b>Handlungstests (Rohwerte)</b>					
Bilderergänzen	13,36 (2,281)	13,17 (2,995)	12,90 (3,314)	,721	,487
Bilderordnen	28,14 (11,636)	29,24 (11,475)	26,31 (12,568)	4,110	<b>,017</b>
Mosaiktest	32,93 (9,533)	31,31 (9,493)	31,94 (10,609)	,033	,968
Figurenlegen	31,82 (5,677)	29,86 (6,351)	29,76 (6,481)	,970	,380
Zahlen-Symbol-Test	54,86 (13,449)	53,83 (13,713)	54,81 (12,350)	,130	,878

df (HAWIE-R, Verbal- und Handlungstests) =2/280

Die Assoziation der Genotypverteilung mit dem Gesamt-IQ und seinen Untertests Verbal-IQ und Handlungs-IQ weist keine signifikanten Werte auf. Die Assoziation der Genotypenverteilung mit der Untereinheit *Bilderordnen* (F=4,110, df=2/280, p=0,017) zeigt hingegen signifikante Unterschiede (Abb.23). CC-Träger waren mit durchschnittlich 28,14 Rohwertpunkten besser als TT-Träger mit 26,31 Punkten (Abb.22).



**Abb.22:** Rohwerte des Untertests *Bilderordnen* assoziiert mit der Genotypenverteilung des ADORA2A-Polymorphismus rs2267076. Die Träger des Genotyps TT schnitten mit 26,31 Punkten im Mittel am schlechtesten ab.

Die einzelne Überprüfung der Assoziation der Genotypverteilung zu dem Subtest *Gemeinsamkeiten finden* ( $F = 2,334$ ;  $df = 2/280$ ;  $p = 0,099$ ) zeigt innerhalb der Gesamtstichprobe einen Trend zur Signifikanz, auch hier schnitten die CC-Träger mit durchschnittlich 26,68 Punkte besser ab als die TT-Träger mit einer durchschnittlichen Rohpunktzahl von 25,93 Punkten.

#### 4.1.2. Allel rs2267076

Laut der statistischen Auswertung ist das C-Allel nach den absoluten Zahlen mit 33% ( $n = 189$ ) deutlich geringer vertreten als das T-Allel mit 67% ( $n = 387$ ; Tab.16).

**Tab.16:** Allelverteilung des Adenosinrezeptor-Polymorphismus rs2267076

Allel		Gesamt n
C n(%)	T n(%)	
189 (33)	387 (67)	576

Im nächsten Schritt werden die Ergebnisse des Gesamt-IQ, Verbal-IQ, Handlungs-IQ und der elf Untereinheiten des HAWIE-R für die beiden Allele C und T des Polymorphismus rs2267076 in Hinblick auf eine Assoziation mit kognitiven Leistungen betrachtet (Tab.17).

**Tab.17:** Resultate des HAWIE-R assoziiert mit der Allelverteilung von rs2267076

	Allel		F	p
	C (n=189)	T (n=387)		
	MW (SD)	MW (SD)		
<b>HAWIE-R</b>				
Gesamt-IQ	112,13 (14,492)	111,61 (15,190)	,482	,488
Verbal-IQ	110,19 (13,797)	110,08 (14,513)	,137	,711
Handlungs-IQ	108,93 (16,422)	108,45 (16,607)	,258	,612
<b>Verbaltests (Rohwerte)</b>				
Allgemeines Wissen	16,87 (3,513)	16,53 (3,880)	2,545	,111
Zahlennach-sprechen	14,02 (3,816)	13,88 (3,719)	,298	,585
Wortschatztest	22,81 (4,577)	22,52 (5,107)	1,586	,208
Rechnerisches Denken	13,50 (3,277)	13,73 (3,413)	,512	,475
Allgemeines Verständnis	21,84 (3,013)	21,74 (3,112)	,244	,622
Gemeinsamkeiten finden	26,59 (3,522)	26,14 (4,110)	2,990	<b>,084</b>
<b>Handlungstests (Rohwerte)</b>				
Bilderergänzen	13,22 (2,793)	12,99 (3,202)	,873	,350
Bilderordnen	28,92 (11,472)	27,32 (12,251)	2,808	<b>,094</b>
Mosaiktest	31,79 (9,483)	31,73 (10,217)	,042	,837
Figurenlegen	30,44 (6,196)	29,80 (6,420)	1,359	,244
Zahlen-Symbol-Test	54,14 (13,572)	54,48 (12,782)	,285	,594

df (HAWIE-R, Verbal- und Handlungstests) = 1/570

Die Assoziation der Allelverteilung mit dem Gesamt-IQ, Verbal-IQ und Handlungs-IQ zeigt keine signifikanten Werte. Die Überprüfung der Assoziation der Allelverteilung zu den Subtests *Gemeinsamkeiten finden* ( $F = 2,990$ ,  $df = 1/570$ ;  $p = 0,84$ ) und *Bilderordnen* ( $F = 2,808$ ;  $df = 1/570$ ;  $p = 0,094$ ) liefert innerhalb der Gesamtstichprobe einen Trend zur Signifikanz (Tab.17). Hierbei liegen die Rohpunkte der C-Allelträger beim Subtest *Gemeinsamkeiten finden* (26,59) über denen der T-Allelträger (26,14), auch beim *Bilderordnen* schnitten die C-Allelträger mit durchschnittlich 28,92 Punkten besser ab als die T-Allelträger mit 27,32 Punkten.

Die Assoziation mit den 11 Untereinheiten des HAWIE-R lässt jedoch keine eindeutige Signifikanz erkennen.

## 4.2 Analyse des Polymorphismus rs1041749

Der Einfluß der funktionellen genetischen Variation rs1041749 des ADORA-Gens wurde mit den kognitiven Leistungen beim HAWIE-R bei einem Kollektiv von 288 gesunden Probanden aus dem Raum München assoziiert.

Dabei wurden die Ergebnisse des Gesamt-IQ, des Verbal-IQ, des Handlungs-IQ und der elf Untertests des HAWIE-R in Assoziation mit den Genotypen (CC/CT/TT) und den Allelen (C/T) betrachtet. Die Genotypverteilung war im Hardy-Weinberg-Equilibrium ( $F = -0,047$ ,  $df = 1$ ,  $p = 0,42$ ).

### 4.2.1 Genotyp rs1041749

Die statistische Auswertung mithilfe der Varianzanalyse ermittelte die in Tabelle 18 dargestellte Genotypverteilung innerhalb der Probanden. Der homozygote Genotyp CC ist prozentual am geringsten vertreten (12 %).

**Tab.18:** Darstellung der Genotypverteilung des Polymorphismus rs1041749

Genotyp			Gesamt (n)
CC n (%)	CT n (%)	TT n (%)	
35 (12)	142 (49)	111 (39)	288

Für den Polymorphismus rs1041749 werden im Anschluss die ermittelten Resultate des Gesamt-IQ, Verbal-IQ und Handlungs-IQ und die Hauptresultate der 11 HAWIE-R-Subtests in Hinblick auf eine mögliche Assoziation der Genotypen CC, CT und TT mit der Intelligenzleistung dargestellt (Tab.19).

**Tab. 19:** Resultate des HAWIE-R assoziiert mit der Genotypverteilung von rs1041749

	Genotyp			F	p
	CC (n=35)	CT (n=142)	TT (n=111)		
	MW (SD)	MW (SD)	MW (SD)		
<b>HAWIE-R</b>					
Gesamt-IQ	115,60 (12,591)	110,94 (15,536)	111,64 (14,849)	,532	,588
Verbal-IQ	114,06 (13,357)	109,03 (14,660)	110,26 (13,969)	,764	,467
Handlungs-IQ	112,11 (13,837)	107,68 (17,370)	108,69 (16,233)	,294	,745
<b>Verbaltests (Rohwerte)</b>					
Allgemeines Wissen	17,63 (3,163)	16,63 (3,761)	16,34 (3,923)	1,564	,211
Zahlennach-sprechen	15,14 (3,607)	13,56 (3,786)	14,02 (3,698)	1,901	,151
Wortschatztest	24,06 (4,101)	22,37 (4,923)	22,48 (5,166)	1,102	,334
Rechnerisches Denken	13,74 (3,147)	13,46 (3,488)	13,87 (3,300)	,185	,831
Allgemeines Verständnis	22,31 (3,06)	21,73 (3,001)	21,65 (3,193)	,291	,748
Gemeinsamkeiten finden	27,09 (3,355)	26,38 (3,674)	25,92 (4,384)	1,760	,174
<b>Handlungstests (Rohwerte)</b>					
Bilderergänzen	13,83 (2,320)	12,98 (2,993)	12,94 (3,366)	,477	,621
Bilderordnen	29,74 (11,364)	28,24 (11,877)	26,74 (12,408)	1,173	,311
Mosaiktest	33,77 (8,945)	31,05 (9,834)	32,00 (10,455)	,110	,896
Figurenlegen	32,11 (5,217)	29,56 (6,676)	29,91 (6,176)	1,194	,304
Zahlen-Symbol-Test	54,89 (13,049)	54,04 (14,084)	54,62 (11,702)	,225	,799

df (HAWIE-R, Verbal- und Handlungstests) = 2/280

Der Genotyp weist laut Auswertung weder einen Haupteffekt noch einen Trend auf. Die Assoziation der Genotypverteilung mit dem Gesamt-IQ, Verbal-IQ und Handlungs-IQ liefert keine signifikanten Werte. Die Assoziation der Genotypverteilung mit den elf Untereinheiten des HAWIE-R ergibt ebenfalls keine signifikanten Ergebnisse (Tab.19).

#### 4.2.2 Allel rs1041749

Bei der statistischen Analyse des SNP rs1041749 sind die C-Allel-Träger mit n = 212

(37%) geringer vertreten als die T-Allelträger mit n = 364 (63%; Tab.20).

**Tab.20:** Allelverteilung des ADORA2A-Polymorphismus rs1041749

Allel		Gesamt n
C n(%)	T n(%)	
212 (37)	364 (63)	576

**Tab.21:** Resultate des HAWIE-R assoziiert mit der Allelverteilung von rs1041749

	Allel		F	p
	C (n=212) MW (SD)	T (n=364) MW (SD)		
<b>HAWIE-R</b>				
Gesamt-IQ	112,48 (14,738)	111,37 (15,083)	,661	,417
Verbal-IQ	110,69 (14,378)	109,78 (14,216)	,446	,504
Handlungs-IQ	109,14 (16,362)	108,30 (16,648)	,217	,642
<b>Verbaltests (Rohwerte)</b>				
Allgemeines Wissen	16,96 (3,592)	16,46 (3,853)	2,778	<b>,096</b>
Zahlennach-sprechen	14,08 (3,786)	13,84 (3,729)	,765	,382
Wortschatztest	22,93 (4,717)	22,44 (5,059)	1,818	,178
Rechnerisches Denken	13,55 (3,367)	13,71 (3,372)	,763	,383
Allgemeines Verständnis	21,92 (3,020)	21,68 (3,111)	,605	,437
Gemeinsamkeiten finden	26,61 (3,572)	26,16 (4,116)	4,056	<b>,081</b>
<b>Handlungstests (Rohwerte)</b>				
Bilderergänzen	13,26 (2,807)	12,95 (3,217)	,912	,340
Bilderordnen	28,74 (11,678)	27,32 (12,192)	1,314	,252
Mosaiktest	31,95 (9,594)	31,63 (10,199)	,081	,776
Figurenlegen	30,41 (6,325)	29,77 (6,361)	,970	,325
Zahlen-Symbol-Test	54,32 (13,696)	54,39 (12,654)	,105	,746

df (HAWIE-R, Verbal- und Handlungstests) = 1/570

Zuletzt wird die Assoziation der Resultate des Gesamt-, Verbal-, und Handlungs-IQ der elf Tests des HAWIE-R für die Allele C und T des SNPs rs1041749 untersucht (Tab.21).

Im Ergebnis zeigt die Assoziation der Allelverteilung mit dem Gesamt-IQ, Verbal-IQ und Handlungs-IQ keine signifikanten Resultate, es lässt sich auch kein Haupteffekt beobachten.

Bei Betrachtung der einzelnen Subtests lässt sich bei der Assoziation der Allelverteilung zu den Subtests *Allgemeines Wissen* ( $F=2,778$ ;  $df = 1/570$ ;  $p=0,096$ ) und *Gemeinsamkeiten finden* ( $F=4,056$ ;  $df = 1/570$ ;  $p=0,81$ ) innerhalb der Gesamtstichprobe ein Trend zur Signifikanz beobachten. Im Untertest *Allgemeines Wissen* schnitten die C-Allelträger mit im Mittel 16,96 Punkten besser ab als die T-Allel-Träger (16,46). Dieser Trend wiederholt sich auch in einer besseren Leistung der C-Allelträger (26,61) im Untertest *Gemeinsamkeiten finden* gegenüber den T-Allelträgern, die nur 26,16 Rohpunkte im Durchschnitt erreichten (Tab.21).

Insgesamt weist die Assoziation mit den elf Untereinheiten des HAWIE-R keine signifikanten Werte auf.

## 5 Diskussion

### 5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

In dieser Arbeit wurde der Zusammenhang zwischen dem ADORA2A-Gen und kognitiven Leistungen untersucht. Dafür wurden an 288 gesunden Probanden aus der allgemeinen Bevölkerung Münchens die beiden Polymorphismen rs2267076 und rs1041749 des ADORA2A-Gens genotypisiert und der Hamburg Wechsler Intelligenztest für Erwachsene durchgeführt. Die SNPs wurden getrennt nach Allel- und Genotypfrequenz auf eine Assoziation mit den Rohpunktwerten der 11 Subskalen des HAWIE-R untersucht. Zusätzlich wurde die Assoziation der Polymorphismen mit dem Verbal-, Handlungs- und Gesamtintelligenzquotienten berechnet.

Der SNP rs2267076 liegt auf dem Intron 2 des ADORA2A-Gens. Weder für den Genotyp noch für das Allel dieses Polymorphismus ergab sich ein signifikanter Effekt auf den Gesamt-, Handlungs- und Verbalintelligenzquotienten. In Bezug auf die 11 Subskalen des HAWIE-R zeigte sich eine signifikante Assoziation bei dem Subtest *Bilderordnen*. TT-Homozygote schnitten signifikant schlechter ab als CC-Homozygote und CT-Heterozygote. Lediglich ein statistischer Trend war im Untertest *Gemeinsamkeiten finden* zu beobachten. Auch hier erzielten die TT-Homozygoten im Mittel die schlechtesten Ergebnisse. Bei der Untersuchung der Allelverteilung konnte in den beiden identischen Subkategorien zudem ein Trend zur Signifikanz beobachtet werden, die T-Allelträger schnitten schlechter ab als C-Allelträger.

Der Polymorphismus rs1041749 befindet sich nahe der 3'-Region außerhalb der kodierenden Region des ADORA2A-Gens. Weder für den Genotyp noch für das Allel war ein Haupteffekt zu beobachten, auch in Hinblick auf Gesamt-, Handlungs- und Inhalts-IQ ergaben sich keine signifikanten Assoziationen. Lediglich bei der Interpretation des Allels fand sich in den beiden Subkategorien *Allgemeines Wissen* und *Gemeinsamkeiten finden* ein statistischer Trend. C-Allelträger erbrachten auch hier bessere Leistungen als T-Allelträger (Tab.22).



**Tab.22:** Rohpunktverteilung (Signifikanz sowie statistischer Trend) der mit rs2267076 und rs1041749 assoziierten HAWIE- Skalen

	Intelligenz gemessen mit dem HAWIE-R an 288 Probanden			
	Assoziation mit dem SNP rs2267076		Assoziation mit dem SNP rs1041749	
	Genotyp	Allel	Genotyp	Allel
Gesamt-IQ	ns	Ns	ns	ns
Verbal-IQ	ns	ns	ns	ns
Handlungs-IQ	ns	ns	ns	ns
Allgemeines Wissen	ns	ns	ns	C>T
Gemeinsamkeiten finden	CC>TT	C>T	ns	C>T
Bilderordnen	CC>>TT	C>T	ns	ns

>> Signifikante Ergebnisse  
 > statistischer Trend  
 ns nicht signifikante Ergebnisse

## 5.2 Diskussion der Methoden

### Ethnische Abstammung:

Die Probanden unserer Studie wurden zufällig aus der allgemeinen Bevölkerung Münchens ausgewählt. Alle Teilnehmer waren deutscher Abstammung. Teilnehmen durften nur Personen, bei denen sowohl beide Eltern als auch die Großeltern deutscher Abstammung waren. Grund für diese Vorbedingung war, dass die ethnische Herkunft stets im Vergleich berücksichtigt werden muss. Die Beständigkeit der Struktur des menschlichen Genoms kann in verschiedenen ethnischen Gruppen und regional unterschiedlich signifikant variieren.

Inkonsistente Ergebnisse vieler Replikationsstudien über Assoziationen eines SNPs können dadurch entstehen, dass die Testresultate durch bevölkerungsspezifische genetische Faktoren beeinflusst werden können. Assoziationsstudien zwischen Intelligenz und genetischen Polymorphismen, die an unterschiedlichen Populationen durchgeführt wurden, führten so trotz einheitlicher Testmethoden zu unterschiedlichen, sogar widersprüchlichen Ergebnissen (Begni et al. 2003; Hung et al. 2002).

In der europäischen Population ist das C-Allel im Polymorphismus rs2267076 des ADORA2A-Gens mit ca. 68% deutlich häufiger vertreten als das T-Allel, eine fast identische Verteilung der Allele findet sich im rs1041749-Polymorphismus mit 65%. Ähnliche Muster genetischer Variationen bezüglich dieser dem ADORA2A-Gen zugeordneten SNPs kommen beispielsweise auch bei den Japanern in Tokio (C-Allel: 68% bzw. 57%) und bei den Han-Chinesen aus Beijing (65% bzw. 53%) vor. Künftige Assoziationsstudien an diesen Populationen mit ähnlicher Allelverteilung können also mit unseren Ergebnissen verglichen werden. In anderen Bevölkerungsgruppen, beispielsweise bei einer Subpopulation aus Nigeria, kommt insbesondere bei dem SNP rs1041749 das T-Allel mit 76% deutlich häufiger vor als das C-Allel ([www.hapmap.org](http://www.hapmap.org)). Eventuell abweichende Genotyp- bzw. Allelfrequenzen bei Assoziationsstudien und Kognition sind daher zu beachten. Eine Referenzstudie zu Polymorphismen im ADORA2A-Gen und Kognition steht bisher noch aus. Daher lässt sich derzeit keine Aussage darüber treffen, inwieweit die an Kognition beteiligten genetischen Varianten innerhalb einer Population mit anderen vergleichbar sind.

Berücksichtigt werden muss zudem, dass neben der Genetik auch Umweltaspekte Einfluss auf die Ausprägung der Intelligenz nehmen können. Heritabilitätsschätzungen beziehen sich immer auf den Mittelwert von Ergebnissen innerhalb einer Population, der spezifisch genetische Beitrag zum IQ-Wert einer Person kann jedoch hieraus nicht direkt ermittelt werden. Ergebnisse verschiedener ethnischer Gruppen sind aufgrund des unbekanntem Anteils der Umwelteinflüsse daher nicht direkt vergleichbar (Gerrig & Zimbardo 2008).

### Alter

Bei der Probandenauswahl wurden nur Studienteilnehmer im Alter zwischen 18 und 65 Jahren eingeschlossen. Dadurch konnte der möglicherweise negative Einfluss neuropsychiatrischer Erkrankungen (M. Alzheimer, M. Parkinson, vaskuläre Demenz), deren Inzidenz mit dem 65. Lebensjahr signifikant zunimmt (Gleixner et al. 2004/2005), so gering wie möglich gehalten werden. Personen, die im MMST (Mini-Mental-State-Test; Kap. 3.2.1) weniger als 26 von 30 möglichen Punkten erreichten, wurden ebenfalls aus der Studie ausgeschlossen, da eine kognitive Beeinträchtigung nicht sicher ausgeschlossen werden konnte (Folstein et al. 1975).

### Diagnoseverfahren und Einschlusskriterien

Diagnoseverfahren und Ein- bzw. Ausschlusskriterien haben einen starken Einfluss auf die Ergebnisse und die Interpretation einer Studie. Untersuchungen kognitiver Fähigkeiten haben gezeigt, dass insbesondere Erkrankungen aus dem neurologischen bzw. psychiatrischen Formenkreis mögliche Störfaktoren bei der Auswertung sind, denn diese können eine Veränderung kognitiver Leistungen der Person zur Folge haben (Rue & Jarvik 1987). In einer Langzeitstudie mit Zwillingen stellte sich beispielsweise heraus, dass die an Demenz erkrankten Probanden zum Zeitpunkt der Intelligenztestung im Subtest Gemeinsamkeiten finden signifikant schlechtere Ergebnisse erbrachten als die gesunden Geschwister. Dieser Untertest scheint somit ein geeigneter Prädiktor für den kognitiven Abbau im Rahmen dementieller Erkrankungen zu sein (Rue & Jarvik 1987). Um derartige Einflüsse so gering als möglich zu halten, erfolgte die Rekrutierung unserer Studie in einem strengen, mehrstufigen Verfahren. Probanden, die selbst, oder deren Verwandte, an einer neuropsychiatrischen Erkrankungen leiden, bzw. in der Vergangenheit gelitten haben, wurden aus der Studie ausgeschlossen. Das SKID (Strukturiertes klinisches Interview für DSM-IV; Kap. 3.2.3) diente hierbei zur Diagnosestellung einer psychiatrischen Erkrankung oder Persönlichkeitsstörung des Probanden. Zum Ausschluss etwaiger psychiatrischer Erkrankungen in der Verwandtschaft wurde das FHAM (Family History Assessment Module; Kap. 3.2.4) durchgeführt.

### Intelligenzdiagnostik

Sämtliche Probanden der Studie wurden nach dem klinischen Interview, der körperlichen Untersuchung und der Blutentnahme mit dem Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene (HAWIE-R, Revision 1991) getestet. Die Auswertung erfolgte über die Anzahl der richtig gelösten Aufgaben (Rohwerte). So wurden sowohl die Ergebnisse der elf einzelnen Subtests als auch der Verbal-, Handlungs- und Gesamt-IQ berechnet.

Der HAWIE liefert nach Wechsler eine gute Messung der allgemeinen Intelligenz (Tewes 1994). Während der Verbalteil vor allem die kristalline Intelligenz beinhaltet,

repräsentiert der Handlungsteil sowohl die fluide als auch die kristalline Intelligenz (Duncan et al. 1995; Tewes 1994).

Die Durchführungsobjektivität des HAWIE-R war gewährleistet, da ein strenges Vorgehen nach dem Manual sichergestellt wurde. Zudem wurden die Interviewer vor der ersten Testung der Probanden von der geschulten Studienleitung geprüft. Da jedoch sämtliche Individualtests mit offenen Antwortmöglichkeiten einem gewissen Ermessungsspielraum des Untersuchers unterliegen, kann die Rohpunktvergabe bei unterschiedlichen Interviewern durchaus in geringem Maße variieren. Diese bekannte Schwäche des HAWIE-R macht sich besonders im Verbalteil bemerkbar und ist beispielsweise bei den Subtests *Gemeinsamkeiten finden* und *Allgemeines Verständnis* als eher kritische bis schlechte Auswertungsobjektivität zu werten. Jedoch bietet die Möglichkeit des Individualinterviews dem Testleiter detaillierte Einblicke in die Lösungsprozesse der Probanden. Diese Analyse ermöglicht ihm so neben quantitativen auch qualitative Angaben (Tewes 1994). Da der HAWIE-R in Sinne eines Intelligenzscreenings angewendet wird, kann dieses Verfahren genauere differentialdiagnostische Abklärung von Funktionsdefiziten nicht leisten.

Nachteile liegen zuletzt neben der Abhängigkeit des Ergebnisses vom Testleiter auch in der starken Kulturgebundenheit der Aufgaben und in einer ungenügenden Differenzierung im oberen IQ-Bereich. Zudem bleibt fraglich, ob die Ergebnisse eines objektiven Tests wie des HAWIE-R mit den Verhaltensuntersuchungen an Tieren der meisten Referenzstudien zu Kognitionen verglichen werden können.

Der HAWIE-R als sehr reliabler und valider Intelligenztest konnte durch Kontrollen der Studienleitung auch in der Durchführungs- und Auswertungsobjektivität optimiert werden.

### **5.3 Diskussion der Ergebnisse**

Die Intelligenz wird einerseits geprägt durch genetische Diversität, andererseits steht sie unter dem Einfluss von Umweltfaktoren. Die enorme Komplexität der Intelligenz muss daher bei ihrer Messung berücksichtigt werden (Plomin et al. 1999). Ein einzelner SNP kann nicht alleine für die Ausprägung solch komplexer Merkmale wie Intelligenz verantwortlich sein. Vielmehr scheinen höhere kognitive Funktionen durch die

Wechselwirkung vieler verschiedener SNPs in unterschiedlichen Genen zustande zu kommen. Um anhand einer Assoziationsstudie wirkungsvolle Ergebnisse erzielen zu können, ist die Auswahl eines geeigneten Kandidatengens entscheidend. Unsere Studie untersuchte eine etwaige Assoziation des Hamburg-Wechsler-Intelligenztests für Erwachsene mit zwei genetischen Markern des ADORA2A-Gens. Signifikante Ergebnisse zeigten sich in dem HAWIE-Subtest *Bilderordnen*, ein statistischer Trend war in den Subtests *Gemeinsamkeiten finden* und *Allgemeines Wissen* zu beobachten. In sämtlichen Tests schnitten die TT-Träger schlechter ab als die CC-Homozygoten. Vergleichbare Ergebnisse dazu gibt es bisher nicht, Referenzstudien wurden zumeist als Studien zur Neurotransmission mithilfe von Verhaltenstests an Nagetieren durchgeführt. Arendash und Kollegen arbeiteten beispielsweise mit transgenen Mäusen, die das für die Alzheimer Erkrankung wichtige Amyloid-Precursor-Protein-Gen (APP) hatten (Arendash et al. 2006). Einige der transgenen Tiere wurden über einen längeren Zeitraum mit einer täglichen Dosis von 500mg Koffein behandelt, der andere Teil sowie die Wildtypmäuse dienten als Kontrolle und wurden nur mit Wasser substituiert. Zuletzt wurden die Mäuse mehreren Verhaltenstests ausgesetzt und u.a. die Konzentration hippokampaler Adenosinlevel bestimmt. Die durch Koffein induzierte unselektive A1- und A2a-Rezeptorblockade führte zu signifikant besseren kognitiven Leistungen bei den Mäusen. Bei den mit Koffein substituierten Mäusen wurde außerdem eine Erhöhung des zerebralen Adenosinlevels nachgewiesen (Arendash et al. 2006). Es wurden jedoch in dieser Untersuchung keine signifikanten Effekte auf die zerebrale A1- bzw. A2a-Rezeptorkonzentration festgestellt. Die transgenen Mäuse hatten im Vergleich zu den Wildtypmäusen zwar signifikant erhöhte A2a-Rezeptordichten, diese veränderten sich jedoch unter Koffeinsubstitution nicht, und können daher auch nicht als direkte Ursache der verbesserten kognitiven Funktionen betrachtet werden. Zudem gibt es keine vergleichbaren Daten zu Wildtypmäusen, der protektive Effekt des Koffeins auf Kognition wurde nur bei den mit dem Alzheimergen ausgestatteten Mäusen beobachtet (Arendash et al. 2006). So lässt diese Datenlage allein den Rückschluss zu, dass Koffein bei an Alzheimer erkrankten Menschen vor kognitivem Abbau schützen könnte. Das Morriswasserlabyrinth, mit dem u.a. die Arbeitsgruppen von Arendash oder Giménez-Llort arbeiteten, dient zur Untersuchung von Lernverhalten und räumlicher Orientierung bei Nagetieren (Pinel & Pauli 2007). Die Tiere müssen lernen, eine für sie

unsichtbare Plattform unter der Wasseroberfläche in einem Schwimmbecken zu finden, auf diese Plattform zu klettern, um dann aus dem Becken herausgeholt zu werden. Auch das Radialarm- sowie das Y-Labyrinth werden zur Untersuchung des Lernverhaltens von Nagetieren herangezogen (Arendash et al. 2006; Wang et al. 2006).

Um den Rückschluss zuzulassen, dass mithilfe dieser Testverfahren verminderte Lernleistung und Defizite im Arbeitsgedächtnis gemessen werden können, bedarf es eines Rückblicks über experimentelle Befunde an künstlich induzierten präfrontalen Dysfunktionen an Nagetieren (Castner et al. 2004). Wie bereits erläutert, ist der präfrontale Kortex entscheidend an Vorgängen des Arbeitsgedächtnisses beteiligt (Petrides et al. 1992; Goldman-Rakic 1996; Bertolino et al. 2000). Tiere mit gestörter präfrontaler Dysfunktion zeigten deutlich schlechtere Leistungen in den genannten Verhaltenstests (Morriswasserlabyrinth, Y-Labyrinth, Radialarm-Labyrinth; Castner et al. 2004). Diese tierexperimentellen Verfahren eignen sich also gut zur Erfassung räumlicher Fähigkeiten, sie gelten als das Maß für das deklarative Arbeitsgedächtnis und setzen das Erkennen von Zusammenhängen voraus. Catell bezeichnet diese Fähigkeiten als Bestandteil der fluiden Intelligenz, da diese für die Fähigkeit steht, komplexe Sachverhalte zu erkennen, sich neuen Situationen anzupassen, und daher mit Aufgaben räumlichen Anordnungen gut messbar ist (Catell 1963). Auch der Handlungsteil des HAWIE-R repräsentiert, neben kristalliner Intelligenz, die fluide Intelligenz (Duncan et al. 1995).

Im Subtest *Bilderordnen* des Handlungsteils des HAWIE-R zeigte sich in unserer Untersuchung die einzige signifikante Assoziation des Polymorphismus rs2267076. Dieser Untertest ist dem Handlungsteil zugeordnet und dient zur Erfassung der Fähigkeit, Gesamtsituationen zu verstehen und einzelne Aspekte richtig einzuschätzen. So müssen die Bilder, um in eine richtige Reihenfolge gebracht zu werden, auf Mimik von Personen und situative Gegebenheiten hin untersucht werden. Auch hier ist das Erfassen von Zusammenhängen zentraler Bestandteil des Tests und ausschlaggebend für dessen korrekte Lösung. Außerdem setzt das Imaginieren einer Bildergeschichte stets räumliches Vorstellungsvermögen voraus. Sowohl in den tierexperimentellen Studien als auch in unserer Arbeit wurde der Einfluss der A2a-Rezeptoren auf das räumliche Arbeitsgedächtnis nachgewiesen. Da bei den Tierversuchen eine verminderte A2a-Aktivität stets zu besseren Gedächtnisleistungen führte, könnte vermutet werden,

dass der TT-Genotyp mit einer vermehrten Aktivierung der A2a-Rezeptoren einhergeht. Dies müsste in einer weiteren Studie überprüft werden.

Die Arbeitsgruppe von Dall'igna untersuchte Mäuse, die das für M. Alzheimer pathogenetisch bedeutsame Beta-Amyloid in sich trugen. Diese Tiere zeigten schon bald signifikante Defizite in Verhaltenstests. Wurden die Tiere nun mit dem unspezifischen Adenosinantagonisten Koffein oder dem selektiven A2a-Antagonisten SCH58261 behandelt, führte dies bei ihnen zu signifikant besseren Leistungen im Vermeidungs- und Alternationsverhalten (Dall'igna et al. 2007). In dieser Untersuchung konnte also ein vor Gedächtnisabbau schützender Effekt sowohl des unspezifischen A1-/A2a-Rezeptorantagonisten Koffein als auch des spezifischen A2a-Antagonisten SCH58261 nachgewiesen werden. Auch hier ist nur den Rückschluss zulässig, dass die A2a-Rezeptoren in kognitive Prozesse der Alzheimer Demenz involviert sind. Ein genereller Effekt dieser Rezeptoren auch auf gesunde Personen lässt sich hieraus nicht ableiten (Dall'igna et al. 2007).

Prediger und al behandelten transgene, spontan-hypertensive Ratten (SHR) u.a. mit Koffein und dem selektiven A2a-Antagonisten ZM241385. Sie verwendeten das Modell der SHR aus dem Grund, weil es ein etabliertes Modell für das ADHS-Syndrom darstellt, welches mit verminderter Aufmerksamkeit- und Konzentrationsfähigkeit sowie Defiziten in Lernen und Gedächtnis assoziiert wird (Prediger et al. 2005). Sowohl Koffein als auch ZM241385 führten zu signifikant besseren Ergebnissen in Tests zur Erfassung des sozialen Gedächtnisses und Habituation-Dishabituationstests (Prediger et al. 2005). Auch der Subtest *Bilderordnen* des HAWIE-R, der in unserer Studie signifikante Ergebnisse erzielte, ist eine etablierte Methode zur Messung sozialer Intelligenz (Matarazzo 1982). So scheinen A2a-Rezeptoren neben dem Effekt auf das räumliche Arbeitsgedächtnis auch Einfluss auf soziale Intelligenz zu haben.

In Predigers und Dall'ignas Untersuchungen wurde mit Koffein ein unselektiver A1- und A2a-Rezeptorantagonist verwendet, der unterschiedlichste biologische Wirkungen im menschlichen Organismus entfalten kann. Ein direkter Rückschluss der kognitiven Leistungen auf die A2a-Rezeptorblockade ist daher nicht möglich. In Dall'ignas Untersuchung wurde daher zusätzlich der selektive A2a-Rezeptorantagonist SCH58261, bei Prediger der selektive A2a-Rezeptorantagonist ZM241385, substituiert. Die Gabe der selektiven A2a-Antagonisten führte in beiden Studien, ebenso wie Koffein, zu

verbesserten kognitiven Leistungen, wohingegen die Gabe eines selektiven A1-Rezeptorantagonisten keine Signifikanz erbrachte (Dall'igna et al. 2007; Prediger et al. 2005). Früher wurde insbesondere der Einfluss der A1-Rezeptoren auf kognitive Funktionen betont, doch anhand dieser Ergebnisse rückte die Rolle der A2a-Rezeptoren bei Lern- und Gedächtnisprozessen in den letzten Jahren immer mehr in den Vordergrund (Takahashi et al. 2008).

Die Arbeitsgruppe von Wang züchtete gentechnisch veränderte K.O.-Mäuse, denen der A2a-Rezeptor vollständig fehlte. Diese Mäuse wurden mit Wildtypmäusen im Y-Labyrinth beobachtet und zeigten signifikant bessere kognitive Leistungen (Wang et al. 2006). Durch Untersuchung von Nagern, die kein A2a-Rezeptorgen exprimieren, konnte hier das in den vorherigen tierexperimentellen Arbeiten genannte Problem der unspezifischen Wirkung des Koffeins umgangen werden (Wang et al. 2006).

Das Forscherteam um Giménez-Llort untersuchte den Einfluss erhöhter ADORA2A-Rezeptorlevel im Gehirn auf das Arbeitsgedächtnis. Hierfür züchteten sie die transgene Ratte *TGR (NSE hA2A)*, die sich durch eine Überexpression von A2a-Rezeptoren im zerebralen Kortex, Hippokampus und Zerebellum auszeichnete. Diese Ratte wurde in verschiedenen Lern- und Gedächtnistests mit Wildtypmännchen verglichen und schnitt im sechsarmigen Radiallabyrinthtest und Morriswasserlabyrinth signifikant ( $p \leq 0,05$ ) schlechter ab als die Kontrolltiere (Giménez-Llort et al. 2007).

In Ritchies Arbeitsgruppe wurde der neuroprotektive Effekt des Koffeins in einer prospektiven Bevölkerungsstudie untersucht. Bei mehr als 7000 französischen Staatsbürgern wurde über vier Jahre hinweg der Koffeinkonsums dokumentiert und in Verbindung mit Leistungen in kognitiven Tests gebracht (Ritchie et al. 2007). Die Tests zur Erfassung der Kognition beinhalteten bei Ritchie et al. den MMST, einen Test zur Erfassung des visuell-räumlichen Gedächtnisses und den Isaac-Set-Test, einen Test zur Detektion dementieller Störungen bei alten Leuten, der vor allem verbale Wiedergabe und Flüssigkeit erfasst (Isaacs & Kennie 1973). In Ritchies Studie wiesen ältere Frauen, die mehr als drei Tassen Kaffee pro Tag konsumierten, signifikant bessere Gedächtnisleistungen auf als Männer und Frauen, die weniger bzw. kein Koffein zu sich nahmen (Ritchie et al. 2007). Insbesondere das verbale und das räumliche Gedächtnis waren durch den erhöhten Koffeinkonsum verbessert (Ritchie et al. 2007). Auch hier fiel



erneut der Effekt verminderter A2a-Rezeptoraktivität auf das räumliche Arbeitsgedächtnis auf. Neu war hier der Aspekt, dass eine A2a-Rezeptorblockade verbale Fertigkeiten verbessern könnte. Auch in unserer Arbeit wurde mit dem HAWIE-R neben Handlungsfertigkeiten der Verbal-IQ bestimmt. Hier ergab sich zwar kein Haupteffekt, es wurde jedoch ein statistischer Trend in den beiden Subtest *Gemeinsamkeiten finden* und *Allgemeines Wissen* ermittelt. Dieser Zusammenhang zwischen dem ADORA2A-Gen und verbalen Fähigkeiten sollte in weiteren Studien überprüft werden.

Die Methoden der Referenzstudien zur Erfassung der Intelligenz sind alle nicht direkt mit dem HAWIE-R unserer Studie vergleichbar, zeigen aber die funktionellen Mechanismen auf.

Es wurden wichtige Erkenntnisse über den Einfluss der A2a-Rezeptoren auf Kognition erbracht, die die Arbeitshypothese unserer Studie stützen. Bei der Zusammenfassung der Ergebnisse der aktuellen Untersuchungen zu A2a-Rezeptoren und kognitiver Funktion liegen mehrheitlich übereinstimmende Resultate vor:

1. Unselektive A1- und A2a-Rezeptorblockade in Form von Koffein führt zu verbesserten kognitiven Leistungen bei APP-Knock-in-Mäusen, indem sie u.a. zuvor erniedrigte Adenosinlevel auf hochnormale Werte erhöht (Arendash et al. 2006).
2. Selektive A2a-Rezeptorblockade bei APP-Knock-in-Mäusen kann diesen Effekt ebenfalls hervorrufen (Dall' Igna et al. 2007).
3. Koffein und A2a-Rezeptorblocker, jedoch nicht A1-Rezeptorblocker, führen zu verbesserten sozialen Gedächtnisleistungen bei Nagern (Prediger & Takahashi 2005; Prediger et al. 2005).
4. Ohne A2a-Rezeptoren erzielen Mäuse signifikant bessere kognitive Leistungen (Wang et al. 2006).
5. Eine erhöhte Expression von A2a-Rezeptoren hingegen ist mit signifikanten Einbußen im Arbeitsgedächtnis verbunden (Giménez-Llort et al. 2007).
6. Frauen, die über viele Jahre regelmäßig und viel (mehr als drei Tassen am Tag) Koffein konsumieren, zeigen bessere kognitive Leistungen als ihre Altersgenossinnen (Ritchie et al. 2007).
7. Polymorphismen im ADORA2A-Gen weisen einen Zusammenhang zu kognitiven Phänotypen beim Menschen auf, TT-Genotypen des SNP rs2267076 erreichen

signifikant schlechtere Ergebnisse im HAWIE-R Untertest *Bilderordnen* als CC-Genotypen.

Bei der Analyse aller bisherigen Untersuchungen zu den A2a-Rezeptoren und Kognition muss berücksichtigt werden, dass die exakten funktionellen Mechanismen der A2a-Rezeptoren, die für diese kognitiven Defizite verantwortlich sind, bisher nicht geklärt sind.

Die neuromodulatorische Wirkung des Adenosins ist gut dokumentiert. Zum Teil über komplizierte Netzwerke, teilweise durch direkte Rezeptor-Rezeptor-Interaktionen greifen sie in die Aktivität unterschiedlicher Neurotransmittersysteme wie Dopamin, GABA und Glutamat ein (Ferré et al. 2008; Sebastião & Ribeiro 2009). Diese neuromodulatorischen Fähigkeiten scheinen Einfluss auf höhere neuronale Funktionen wie Lernen und Gedächtnis nehmen zu können (Takahashi et al. 2008). Da die genauen neurobiologischen Details jedoch noch nicht bekannt sind, gibt es verschiedene Theorien zu der möglichen Wirkung der A2a-Rezeptoren auf Kognition.

Dem Neurotransmitter Dopamin wird bereits eine überragende Bedeutung bei kognitiven Vorgängen im Menschen zugesprochen (Previc 1999). Eine erhöhte zerebrale Dopaminkonzentration steigert die präfrontale Aktivität (Braver et al. 1999). Assoziationsstudien zu Polymorphismen in COMT-Gen, einem Abbauenzym des Dopaminstoffwechsel, lieferten vielversprechende Hinweise über die Schlüsselfunktion dieses Neurotransmitters in kognitiven Vorgängen (Goldberg & Weinberger 2004; Sheldrick et al. 2008). So könnte der A2a-Rezeptor über die Interaktion mit den D2-Rezeptoren, und einer hiermit verbundenen reduzierten Affinität der D2-Rezeptoren zu Dopamin, eine mögliche Erklärung für verminderte Gedächtnisleistungen bei erhöhter A2a-Rezeptoraktivität bieten (Giménez-Llort et al. 2007). Und im Umkehrschluss auch für die verbesserten Gedächtnisleistungen bei fehlender A2a-Aktivität verantwortlich sein (Wang et al. 2006). Eine erhöhte A2a-Rezeptoraktivität könnte auch zu signifikanter Downregulation von D2- Rezeptoren führen, was die beobachteten Veränderungen im Arbeitsgedächtnis ausgelöst hat.

Einen weiteren Erklärungsansatz bietet die über A2a-Rezeptoren gekoppelte Stimulation der Adenylylzyklase, die zu einem erhöhten cAMP-Level und einer damit verbundenen Aktivierung der Proteinkinase A führt (Ribeiro 1999; Seidel et al. 1999; Munshi et al. 1991). Dies bedingt über eine vermehrte GABA- bzw. Glutamat-Freisetzung in striatalen

Signalwegen eine erhöhte neuronale Erregbarkeit (Ferré et al. 1994; Popoli et al. 2003). Diese durch A2a-Rezeptoren ausgelöste Dysbalance zwischen pyramidalen Glutamat- und nicht-pyramidalen GABA-Nervenzellen im zerebralen Kortex könnte ein Grund für die hierdurch beobachteten Arbeitsgedächtnisdefizite sein (Giménez-Llort et al. 2007). Vielleicht liegt die Ursache auch in der Tatsache, dass A2a- und D1-Rezeptoren funktionell sehr ähnlich sind, da beide durch ihre Aktivierung zu erhöhten intrazellulären cAMP-Levels und damit verbundener erhöhter neuronaler Erregbarkeit führen. Die zentrale Rolle der D1-Rezeptoren für Arbeitsgedächtnisleistungen ist bereits gründlich erforscht, sowohl erhöhte wie erniedrigte D1-Rezeptoraktivität kann zu Defiziten im Arbeitsgedächtnis führen (Goldman-Rakic et al. 2000). Auch in diesem Ansatz könnte die Lösung der Frage liegen, inwiefern A2a-Rezeptoren Einfluss auf kognitive Funktionen nehmen können.

Zudem wurde in aktuellen Studien die Beteiligung der A2a-Rezeptoren bei synaptischer Plastizität festgestellt. Die Langzeitpotenzierung (LTP) ist ein etabliertes Modell für Gedächtnis- und Lernvorgänge im Gehirn. Eine aktuelle Studie lieferte erste wichtige Erkenntnisse über den positiven Einfluss der A2a-Rezeptoren auf die Aktivität der hippocampalen NMDA-Rezeptoren, vermittelt über eine G-Protein-vermittelte  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung (Rebola et al. 2008). Da der  $\text{Ca}^{2+}$ -Einstrom postsynaptische Aktionspotentiale und somit die Kaskade von Ereignissen auslöst, die eine LTP induzieren, kann der A2a-Rezeptor auf diesem Weg Lern- und Gedächtnisvorgänge entscheidend mitbeeinflussen (Rebola et al. 2008). Der unselektive A1-/A2a-Rezeptorantagonist Koffein kann laut aktuellen Studienergebnissen außerdem zur Erhöhung des BDNF führen (Costa et al. 2008), welchem eine positive Rolle in synaptischer Plastizität zugesprochen wird (Korte et al. 1998). So könnte eine Aktivierung von A2a-Rezeptoren beispielsweise über die intrazellulär ausgelöste cAMP/PKA-Kaskade zum Anstieg der zerebralen BDNF-Konzentration führen (Diógenes et al. 2004; Fontinha et al. 2008) und so die LTP positiv regulieren. Dafür spricht, dass die Erhöhung des BDNF in der Studie von Costa entscheidend mit verbesserten kognitiven Leistungen der Mäuse korrelierte (Costa et al. 2008).

Verschiedene Testverfahren und deren Resultate, einschließlich unserer Ergebnisse, führen so bisher zu mehrheitlich konsistenten Ergebnissen.

Ob der ADORA2A-Polymorphismus rs2267076 in Bezug auf eine Assoziation mit Kognition abhängig von einer Erkrankung, vom verwendeten Intelligenztest, vom Geschlecht oder von der ethnischen Herkunft ist, kann aufgrund der geringen Anzahl der Referenzstudien nicht final beurteilt werden. Die bisherigen Studienaussagen und -methoden sind dafür zu heterogen.

Unsere Studie konnte einen Zusammenhang zwischen genetischen Variationen im ADORA2A-Gen und kognitiven Phänotypen nachweisen, und zwar anhand einer Assoziationsstudie, in der Personen mit dem SNP rs2267076 und Genotyp TT signifikant schlechtere Ergebnisse im Untertest *Bilderordnen* des HAWIE-R erzielten. In weiteren Untertests konnte zudem ein Trend zur Signifikanz beobachtet werden. Zukünftige Untersuchungen müssen unsere Ergebnisse im Rahmen von weiteren Assoziationsstudien verifizieren. Eine genauere Untersuchung der beiden Polymorphismen rs2267076 und rs1041749 ist notwendig, um deren eventuellen Einfluss auf die Genaktivität des ADORA2A-Gens verstehen zu können.

Da der Test *Bilderordnen* nur einer von elf Untertests im HAWIE-R ist, und nur einen von mehreren Sekundärfaktoren misst, die auf die allgemeine Intelligenz wirken, ist es nicht verwunderlich, dass zwischen Gesamt-IQ, dem Verbal-IQ und dem Handlungs-IQ und den beiden Polymorphismen keine signifikanten Assoziationen gefunden wurden. Übertragen auf die Ebene der Neurotransmittertransmission würden unsere Ergebnisse bedeuten, dass die Aktivität der A2a-Rezeptoren bei Trägern des TT-Genotyps verstärkt sein müsste. Dies würde den Rückschluss zulassen, dass die Nukleotidsubstitution C/T in dem Polymorphismus rs2267076 mit kognitiven Prozessen assoziiert ist. Allerdings lässt sich die Auswirkung dieses Polymorphismus auf die Genexpression und Rezeptoraktivität nicht mithilfe der Ergebnisse unserer Studie beantworten.

## 5.4 Ausblick auf zukünftige Untersuchungen

Die Ergebnisse dieser Studie sind überwiegend konsistent mit Referenzstudien hinsichtlich des wichtigen Einflusses der A2a-Rezeptoren auf kognitive Fähigkeiten. Die Rolle des ADORA2A-Gens als Kandidatengen für Intelligenzuntersuchungen konnte auf molekulargenetischer Basis im humanen System bestätigt werden. In künftigen Untersuchungen müssen diese Ergebnisse zu den Polymorphismen rs2267076 und rs1041749 verifiziert werden, sowie die funktionelle Relevanz dieser oder weiterer Polymorphismen geklärt werden.

Die Analyse von Polymorphismen im menschlichen Genom ermöglicht es, eine Signifikanz genetischer Variationen zu entdecken und gezielte Assoziationen zwischen menschlichen Genen und phänotypischen Merkmalen wie Krankheit oder kognitiven Leistungen herzustellen.

Zukünftige Untersuchungen sollten in größeren Stichproben zwischen neuropsychiatrisch und neuropsychologisch gesunden Personen aus der allgemeinen Bevölkerung auf eine Assoziation zu den ADORA2A-Polymorphismen mit Kognition durchgeführt werden. Die Effizienz kann durch eine strenge selektive Auswahl der untersuchten Personen noch erhöht werden.

Mittels diverser molekularbiologischer und klinischer Methoden konnten bereits einige physiologische und kausale Zusammenhänge zwischen A2a-Rezeptoren und Kognition aufgedeckt werden. Dennoch sind die genauen funktionellen Mechanismen noch nicht bekannt. Die Vorgänge und Mechanismen der A2a-Rezeptorwirkung auf Neurotransmitterebene, die die kognitiven Defizite bewirken können, müssen noch exakter analysiert werden.

In den letzten Jahren wurden neben dem ADORA2A-Gen viele Kandidatengene identifiziert, die eine mögliche Veränderung menschlicher kognitiver Prozesse bewirken können. Die Identifizierung dieser Gene bietet wichtige Einblicke in die molekulare Ursache der multigenetisch bedingten kognitiven Prozesse. Zukünftige Tests müssen in großer Zahl bisher nicht untersuchte SNPs im Rahmen von Assoziationsstudien auf ihre mögliche Beeinflussung kognitiver Phänotypen analysieren. Eine Entdeckung aller an Lern- und Gedächtnisprozessen beteiligten Gene kann einen sehr wichtigen Beitrag zum Verständnis der Funktionsweise des menschlichen Gehirns leisten.

Der vermutlich protektive Einfluss des weltweit verbreiteten Genussmittels Koffein vor kognitiver Degeneration ermöglicht interessante Ansätze in der Prävention und Therapie kognitiver Störungen. Der demographische Wandel, die zunehmende Überalterung der Gesellschaft und der damit verbundene Anstieg neurodegenerativer Erkrankungen erfordern intensivste Bemühungen in der medizinischen Forschung.

Aktuell werden in klinisch kontrollierten Studien bereits A2a-Rezeptorantagonisten als Therapiemöglichkeit neuropsychiatrischer Erkrankungen (M. Parkinson, M. Alzheimer) untersucht. Unsere Studie kann einen wichtigen Beitrag dazu leisten, neue Möglichkeiten zur Therapie und Prävention kognitiver Störungen zu entwickeln.

## 6 Abkürzungen und Fachbegriffe

A	Adenin (Nukleobase)
A- (Rezeptor)	Adenosin- (Rezeptor)
AC	Adenylylcyclase
ADA	Adenosindesaminase
ADHS	Aufmerksamkeitsdefizitsyndrom
ALDH5A1	Aldehyddehydrogenase 5 A1
AL-Puffer	Aluminium-Puffer
ADORA2A	Humaner Adenosin-2a-Rezeptor
ADP	Adenosindiphosphat (Nukleotid)
AMP	Adenosinmonophosphat (Nukleotid)
APA	American Psychological Association
Apo E	Apolipoprotein E
AS	Aminosäure
ASO	Allelspezifisches Oligonukleotid
ATP	Adenosintriphosphat (Nukleotid)
bidest.	Doppelt destilliert
BDNF	brain-derived neurotrophic factor
bp	Basenpaar
C	Cystein (Aminosäure)
C	Cytosin (Nukleobase)
C- (terminal)	Carboxy- Terminus
Ca <sup>2+</sup>	Calcium
cAMP	Zyklisches Adenosinmonophosphat
CREB	cAMP response element-binding protein
cM	centiMorgan
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
D- (Rezeptor)	Dopamin- (Rezeptor)
DAG	Diacyl-Glycerin
df	Degrees of freedom (Freiheitsgrade)
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dsDNA	Doppelsträngige Desoxyribonukleinsäure
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (4th edition) der American Psychiatric Association (APA)
DZ	dizygot
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ERK	Extracellular-signal Regulated Kinase
FHAM	Family History Assessment Module
G	Guanin (Nukleobase)
g (-Faktor)	Allgemeine kognitive Fähigkeit, Generalfaktor der Intelligenz
GABA	Gamma-Aminobuttersäure
gDNA	Genomische Desoxyribonukleinsäure
GDP	Guanosindiphosphat (Nukleotid)
G-Protein	Guaninnukleotid Bindungsprotein

GTP	Guanosintriphosphat (Nukleotid)
HAWIE-R	Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991
HCl	Salzsäure
HSpA8	Hitze-Schock-Protein A8
ICD-10	Internationale Klassifikation psychischer Störungen (ICD-10) der Weltgesundheitsorganisation WHO
IP3	Inositol-1,4,5 Trisphosphat
IQ	Intelligenzquotient
K <sup>+</sup>	Kalium
kb	Kilobasenpaare
K.O.-Maus	Knockout-Maus
LEBI	Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar
LSO	Locusspezifisches Oligonukleotid
LTP	Langzeitpotenzierung
M- (Rezeptor)	Muskarinischer Acetylcholin-Rezeptor
M.	Morbus
MAPK	<i>Mitogen-activated protein kinase</i>
Met	Methionin
MMST	Mini-Mental-State-Test
MW	Mittelwert
MZ	Monozygot
N	Stickstoff (Atom)
n	Probandenanzahl
N-terminal	Amino-terminal
ng	Nanogramm
nM	K <sub>d</sub> -Wert für Affinität
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
p	p-Wert, Signifikanz
p (Chromosom)	Kurzer Arm eines Chromosoms
P	Primer
PCR	Polymerasekettenreaktion
pH	Negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration
PIP2	Phosphatidyl-Inositol-Disphosphat
PKA	Proteinkinase A
PLC	Phospholipase C
q (Chromosom)	Langer Arm eines Chromosoms
r	Korrelationskoeffizient
RNA	Ribonukleinsäure
rpm	Umdrehungen pro Minute
SD	Standardabweichung
SHR	Spontan hypertensive Ratte
SKID I	Strukturiertes klinisches Interview für DSM-IV Achse I
SKID II	Strukturiertes klinisches Interview für DSM-IV Achse II
SNP	Single-Nukleotid-Polymorphismus



SSADH	Succinat-Semialdehyd-Dehydrogenase
$\sigma$	Standardabweichung
TE	Tris-Ethylendiamintetraacetat Puffer
T	Thymin (Nukleobase)
TDT	Transmissions Disäquilibrium Test
TNF $\alpha$	Tumornekrosefaktor $\alpha$
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan, Trometamol
UE	Untereinheit
UTR	Untranslatierte Region
Val	Valin
WST	Wortschatztest
WT-Mäuse	Wildtypmäuse
ZNS	Zentrales Nervensystem

## 7 Literaturverzeichnis

Abbracchio MP, Brambilla R, Ceruti S, Kim HO, von Lubitz DK, Jacobson KA, Cattabeni F (1995) G protein-dependent activation of phospholipase C by adenosine A3 receptors in rat brain. *Mol Pharmacol.* 48: 1038-1045.

Addington AM, Gornick M, Duckworth J, Sporn A, Gogtay N, Bobb A, Greenstein D, Lenane M, Gochman P, Baker N, Balkissoon R, Vakkalanka RK, Weinberger DR, Rapoport JL, Straub RE (2005) GAD1 (2q31.1), which encodes glutamic acid decarboxylase (GAD67), is associated with childhood-onset schizophrenia and cortical gray matter volume loss. *Mol Psychiatry* 10: 581–588.

Albasanz JL, Perez S, Barrachina M, Ferrer I, Martín M (2008) Up-regulation of adenosine receptors in the frontal cortex in Alzheimer's disease. *Brain Pathol.* 18: 211-219.

Alsene K, Deckert J, Sand P, de Wit H (2003) Association between A2a receptor gene polymorphisms and caffeine-induced anxiety. *Neuropsychopharmacology* 28: 1694-1702.

Amelang M, Bartussek D, Stemmler G, Hagemann D (2006) *Differentielle Psychologie und Persönlichkeitsforschung*. 6. Auflage, Kohlhammer Verlag

Andrisani OM (1999) CREB- mediated transcriptional control. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 9: 19-32.

Arai A, Kessler M, Lynch G (1990) The effects of adenosine on the development of long-term potentiation. *Neurosci Lett.* 119: 41-44.

Arendash GW, Schleif W, Rezai-Zadeh K, Jackson EK, Zacharia LC, Cracchiolo JR, Shippy D, Tan J (2006) Caffeine protects Alzheimer's mice against cognitive impairment and reduces brain beta-amyloid production. *Neuroscience* 142: 941-952.

Baddeley A (2000) The episodic Buffer: a neu component of working memory? *Trends Cogn Sci.* 4: 417-423.

Baddeley AD (2002) Is working memory still working? *European Psychologist* 7: 85-97.

Baddeley A (2003) Working memory and language: an overview. *J Commun Disord.* 36: 189-208.

Bättig K, Buzzi R, Martin JR (1984) The effects of caffeine on physiological functions and mental performance. *Experientia* 40: 1218-1223.

Baines CP, Cohen MV, Downey JM (1999) Signal transduction in ischemic preconditioning: the role of kinases and mitochondrial K(ATP) channels. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 10: 741-754.

Baltes PB (1990) Entwicklungspsychologie der Lebensspanne: Theoretische Leitsätze. *Psychologische Rundschau* 41: 1-24.

Baraldi PG, Tabrizi MA, Gessi S, Borea PA (2008) Adenosine receptor antagonists: translating medicinal chemistry and pharmacology into clinical utility. *Chem. Rev.* 108: 238-263.

Bartholdi D (2008) Medizinische Genetik: Copy number variants (CNV) Krankheitsverursachend, Risikofaktor oder bedeutungslose Normvariante? *Schweiz Med Forum* 8: 1007-1008.

Beckmann JS, Estivill X, Antonarakis SE (2007) Copy number variants and genetic traits: closer to the resolution of phenotypic to genotypic variability. *Nat Rev Genet.* 8: 639-646.

Begni S, Moraschi S, Bignotti S, Fumagalli F, Rillosi L, Perez J Gennarelli M (2003) Assoziation between the G1001C Polymorphism in the Grin1 gene promotor region and schizoprenia. *Biol Psychiatry* 53: 617-619.

Bell RM, Hannun YA, Loomis CR (1986) Mechanism of regulation of protein kinase C by lipid second messengers. *Symp. Fundam Cancer Res.* 39: 145-156.

Berlau DJ, Kahle-Wroblewski K, Head E, Goodus M, Kim R, Kawas C (2007) Dissociation of neuropathologic findings and cognition: case report of an apolipoprotein E epsilon2/epsilon2 genotype. *Arch Neurol.* 64: 1193-1196.

Bertolino A, Esposito G, Callicott JH, Venkata SM, Van Horn JD, Frank JA, Berman KF, Weinberger DR (2000) Specific Relationship between Prefrontal Neuronal NAcetylaspartate and Activation of the Working Memory Cortical Network in Schizophrenia. *Am J Psychiatry* 157: 26-33.

Binet A & Simon T (1905) Methodes nouvelles pour le diagnostique du nouveau intellectuel des anormaux. *Annee psychologique* 11: 191-244.

Bliss TV, Lomo T (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol.* 232: 331-356.

Bliss TV, Collingridge GL (1993) A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361: 31-39.

Blöink R (2006) Die Struktur der Intelligenz im Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene. HAWIE-III: Ein Beitrag zur Konstruktvalidität. Hamburg: Dr. Kovac.

Böddeker I & Ziegler A (2000) Assoziations- und Kopplungsstudien zur Analyse von Kandidatengenen. *Deutsche medizinische Wochenschrift* 125: 810-815.

- Boison D (2008) Adenosine as a neuromodulator in neurological diseases. *Curr Opin Pharmacol.* 8: 2-7.
- Bouchard TJ & McGue M (1981) Familial studies of intelligence: a review. *Science* 212: 1055-1059.
- Bouchard TJ, Lykken DT, McGue M, Segal NL, Tellegen A (1990) Sources of human psychological differences: the Minnesota Study of Twins Reared Apart. *Science* 250: 223-228.
- Bouchard TJ (1998) Genetic and environmental influences on adult intelligence and special mental abilities. *Hum Biol.* 70: 257-279.
- Bouchard TJ & McGue M (2003) Genetic and environmental influences on human psychological differences. *J Neurobiol.* 54: 4-45.
- Braver TS, Barch DM, Cohen JD (1999) Cognition and control in schizophrenia: a computational model of dopamine and prefrontal function. *Biol. Psychiatry* 46: 312-328.
- Brown GW & Harris T (1978) Social origins of depression. London: Tavistock
- Brundege JM, Dunwiddie TV (1996) Modulation of excitatory synaptic transmission by adenosine released from single hippocampal pyramidal neurons. *J Neurosci* 16: 5603-5612.
- Bruns RF, Lu GH, Pugsley TA (1986) Characterization of the A2 adenosine receptor labeled by [3H]NECA in rat striatal membranes. *Mol Pharmacol.* 29: 331-346.
- Burnstock G (2009) Purinergic signalling: past, present and future. *Braz J Med Biol Res.* 42:3-8. Review
- Butcher LM, Meaburn E, Knight J, Sham PC, Schalkwyk LC, Craig IW, Plomin R (2005) Snps, microarrays and pooled DNA: identification of four loci associated with mild mental impairment in a sample of 6000 children. *Hum Mol Genet.* 14: 1315-1325.
- Calabresi P, Centonze D, Pisani A, Bernardi G (1997) Endogenous adenosine mediates the presynaptic inhibition induced by aglycemia at corticostriatal synapses. *J Neurosci* 17: 4509-4516.
- Caselli RJ, Reiman EM, Osborne D, Hentz JG, Baxter LC, Hernandez JL, Alexander GG (2004) Longitudinal changes in cognition and behavior in asymptomatic carriers of the APOE e4 allele. *Neurology* 62: 1990-1995.
- Castner SA, Goldman-Rakic PS, Williams GV (2004) Animal models of working memory: insights for targeting cognitive dysfunction in schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl).* 174: 111-125. Review.

Catell RB (1963) Theory of fluid and crystallized Intelligence: A critical experiment. *Journal of Educational Psychology* 54: 1-22.

Cauli O, Morelli M (2005) Caffeine and the dopaminergic system. *Behav Pharmacol.* 16: 63-77.

Chen JF, Huang Z, Ma J, Zhu J, Moratalla R, Standaert D, Moskowitz MA, Fink JS, Schwarzschild MA (1999) A(2A) adenosine receptor deficiency attenuates brain injury induced by transient focal ischemia in mice. *J Neurosci* 19: 9192-9200.

Childs E, Hohoff C, Deckert J, Xu K, Badner J, de Wit H (2008) Association between ADORA2A and DRD2 polymorphisms and caffeine-induced anxiety. *Neuropsychopharmacology.* 33: 2791-2800.

Chu YY, Tu KH, Lee YC, Kuo ZJ, Lai HL and Chern Y (1996) Characterization of the rat A2a adenosine receptor gene. *DNA Cell Biol* 15: 329-337.

Ciruela F, Casadó V, Rodrigues RJ, Luján R, Burgueño J, Canals M, Borycz J, Rebola N, Goldberg SR, Mallol J, Cortés A, Canela EI, López-Giménez JF, Milligan G, Lluís C, Cunha RA, Ferré S, Franco R (2006) Presynaptic control of striatal glutamatergic neurotransmission by adenosine A1-A2A receptor heteromers. *J Neurosci.* 26: 2080-2087.

Cohen J (1952) Factors underlying Wechsler-Bellevue performance of three neuropsychiatric groups. *J Abnorm Psychol* 47: 359-365.

Conrad W (1983) Intelligenzdiagnostik. In Michel L (Hrsg.) Intelligenz und Leistungsdiagnostik. Göttingen Toronto, Zürich: Hofgreffe Verlag für Psychologie.

Correa M, Font L (2008) Is there a major role for adenosine A2A receptors in anxiety? *Front Biosci.*13: 4058-4070.

Correia-de-Sá P, Timóteo MA, Ribeiro JA (2001) Synergism between A(2A)-adenosine receptor activation and vasoactive intestinal peptide to facilitate [3H]-acetylcholine release from the rat motor nerve terminals. *Neurosci Lett.* 309:101-104.

Costa MS, Botton PH, Mioranza S, Ardais AP, Moreira JD, Souza DO, Porciúncula LO (2008) Caffeine improves adult mice performance in the object recognition task and increases BDNF and TrkB independent on phospho-CREB immunoccontent in the hippocampus. *Neurochem Int.* 53: 89-94.

Cowan N (1999) An embedded-processes model of working memory. In Miyake A & Shah P (Hrsg.) Models of working memory: Mechanisms of active maintenance and executive control. 62-101. Cambridge: *Cambridge University Press*

Cunha RA, Ribeiro JA (2000) Purinergic modulation of [(3)H]GABA release from rat hippocampal nerve terminals. *Neuropharmacology* 39: 1156-1167.

Cunha GM, Canas PM, Melo CS, Hockemeyer J, Müller CE, Oliveira CR, Cunha RA (2008) Adenosine A2A receptor blockade prevents memory dysfunction caused by beta-amyloid peptides but not by scopolamine or MK-801. *Exp Neurol*. 210: 776-781.

Curcio CA, Kemper T (1984) Nucleus raphe dorsalis in dementia of the Alzheimer type: neurofibrillary changes and neuronal packing density. *J Neuropathol Exp Neurol*. 43: 359-368.

Dall'Igna OP, Fett P, Gomes MW, Souza DO, Cunha RA, Lara DR (2007) Caffeine and adenosine A(2a) receptor antagonists prevent beta-amyloid (25-35)-induced cognitive deficits in mice. *Exp Neurol*. 203: 241-245.

Daly JW, Fredholm BB (1998) Caffeine-an atypical drug of dependence. *Drug Alcohol Depend*. 51: 199-206. Review.

Daly JW (2007) Caffeine analogs: biomedical impact. *Cell Mol Life Sci*. 64: 2153-2169.

Daneman M & Merikle PM (1996) Working memory and language comprehension: A metaanalysis. *Psychonomic Bulletin & Review* 3: 422-433.

Deary IJ (2001) Human intelligence differences: towards a combined experimental-differential approach. *Trends in Cognitive Sciences* 5: 164-170.

Deary IJ, Wright AF, Harris SE, Whalley LJ, Starr JM (2004) Searching for genetic influences on normal cognitive ageing. *Trends Cogn Sci* 8: 178-184.

de Mendonca A, Sebastiao AM, Ribeiro JA (2000) Adenosine: does it have a neuroprotective role after all? *Brain Res Brain Res Rev* 33: 258-274.

Diógenes MJ, Fernandes CC, Sebastião AM, Ribeiro JA (2004) Activation of adenosine A2A receptor facilitates brain-derived neurotrophic factor modulation of synaptic transmission in hippocampal slices. *J Neurosci*. 24: 2905-2913.

Dobolyi A, Reichart A, Szikra T, Nyitrai G, Kekesi KA, Juhasz G (2000) Sustained depolarisation induces changes in the extracellular concentrations of purine and pyrimidine nucleosides in the rat thalamus. *Neurochem Int* 37: 71-79.

Duncan J, Burgess P, Emslie H (1995) Fluid intelligence after frontal lobe lesions. *Neuropsychologica* 33: 261-168.

Dunwiddie TV, Masino SA (2001) The role and regulation of adenosine in the central nervous system. *Annu Rev Neurosci* 24: 31-55.

Egan, MF, Kojima M, Callicott JH, Goldberg TE, Kolachana BS, Bertolino A, Zaitsev E; Gold B, Goldman D, Dean M, Lu B, Weinberger DR (2003) The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell* 112: 257-269.

Estes, WK (1982) Multiple coding and processing stages: A review. In F. Klix, J. Hofmann & E. van der Meer (Eds.), *Cognitive research in psychology*: 14-21. Berlin: VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften.

Eysenck, HJ (1980) *Intelligenz, Struktur und Messung*. Heidelberg: Springer.

Eysenck, HJ (1987) Speed of information processing, reaction time, and the theory of intelligence. In P.A. Vernon (ed.), *Speed of information-processing and intelligence*. Norwood, NJ: Ablex.

Fan J, Oliphant A, Shen R, Kermani BG, Garcia F, Gunderson KL, Hansen M, Steemers F, Butler SL, Deloukas P, Galver L, Hunt S, McBride C, Bibikova M, Rubano T, Chen J, Wickham E, Doucet D, Chang W, Campbell D, Zhang B, Kruglyak S, Bentley D, Haas J, Rigault P, Zhou L, Stuelpnagel J, Chee MS (2003) Highly parallel SNP Genotyping. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 68: 69-78.

Feoktistov I, Biaggioni I (1997) Adenosine A2B receptors. *Pharmacol. Rev*, 49: 381-402.

Feoktistov IA, Goldstein E, Biaggioni I (1999) Role of p38 mitogen-activated protein kinase and extracellular signal-regulated protein kinase in adenosine A2B receptor-mediated interleukin-8 production in human mast cells. *Mol Pharmacol*: 726-734.

Ferré S, Fuxe K, von Euler G, Johansson B, Fredholm BB (1992) Adenosine-dopamine interactions in the brain. *Neuroscience* 3: 501-512.

Ferré S, O'Connor WT, Snaprud P, Ungerstedt U, Fuxe K (1994) Antagonistic Interaction between adenosine A2a receptors and dopamine D2 receptors in the ventral striopallidal system. Implications for the treatment of schizophrenia. *Neuroscience* 63: 765-773.

Ferré S, Ciruela F, Canals M, Marcellino D, Burgueno J, Casadó V, Hillion J, Torvinen M, Fanelli F, Benedetti Pd P, Goldberg SR, Bouvier M, Fuxe K, Agnati LF, Lluís C, Franco R, Woods A (2004) Adenosine A2A-dopamine D2 receptor-receptor heteromers. Targets for neuro-psychiatric disorders. *Parkinsonism Relat Disord*. 10: 265-271.

Ferré S, Quiroz C, Woods AS, Cunha R, Popoli P, Ciruela F, Lluís C, Franco R, Azdad K, Schiffmann SN (2008) An update on adenosine A2A-dopamine D2 receptor interactions: implications for the function of G protein-coupled Receptors; *Curr Pharm Des*. 14: 1468-1474.

Folstein MF, Folstein SE, Mc Hugh PR (1975) „Mini-mental state“: a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*. 12: 189-198.

Fontinha BM, Diógenes MJ, Ribeiro JA, Sebastião AM (2008) Enhancement of long-term potentiation by brain-derived neurotrophic factor requires adenosine A2A receptor activation by endogenous adenosine. *Neuropharmacology* 54: 924-933.

Franco R, Ferre S, Agnati L, Torvinen M, Gines S, Hillion J, Casado V, Lledo P, Zoli M, Lluís C, Fuxe K (2000) Evidence for adenosine/dopamine receptor interactions: indications for heteromerization. *Neuropsychopharmacology* 23: 50-59.

Fredholm BB, Abbracchio MP, Burnstock G, Daly JW, Harden TK, Jacobson KA, Leff P, Williams M (1994) Nomenclature and classification of purinoceptors. *Pharmacol Rev* 46: 143-156.

Fredholm BB (1995) Adenosine, adenosine receptors and the actions of caffeine. *Pharmacol Toxicol* 76: 93-101.

Fredholm BB, Ijzerman AP, Jacobson KA, Klotz KN, Linden J (2001) International Union of Pharmacology. XXV. Nomenclature and classification of adenosine receptors. *Pharmacological Reviews* 53: 527-552.

Funke J, Frensch PA (2006) Handbuch der Allgemeinen Psychologie - Kognition. Göttingen - Hogrefe

Fuster JM (2000) Cortical dynamics of memory. *Int J Psychophysiol.* 35: 155-164.

Fuxe K, Ferré S, Zoli M, Agnati LF (1998) Integrated events in central dopamine transmission as analyzed at multiple levels. Evidence for intramembrane adenosine A2A/dopamine D2 and adenosine A1/dopamine D1 receptor interactions in the basal ganglia. *Brain Res Brain Res Rev.* 26: 258-273.

Fuxe K, Ferré S, Canals M, Torvinen M, Terasmaa A, Marcellino D, Goldberg SR, Staines W, Jacobsen KX, Lluís C, Woods AS, Agnati L, Franco R (2005) Adenosine A2A and dopamine D2 heteromeric receptor complexes and their function. *J. Mol. Neurosci.* 26: 209-219.

Fuxe K, Marcellino D, Rivera A, Diaz-Cabiale Z, Filip M, Gago B, Roberts DC, Langel U, Genedani S, Ferraro L, de la Calle A, Narvaez J, Tanganelli S, Woods A, Agnati LF (2008) Receptor-receptor interactions within receptor mosaics. Impact on neuropsychopharmacology. *Brain Res Rev.* 58: 415-452.

García MG, Puig JG, Torres RJ (2009) Abnormal adenosine and dopamine receptor expression in lymphocytes of Lesch-Nyhan patients. *Brain Behav Immun.*: Epub ahead of print

Gardner H (1983) Frames of mind: A theory of multiple intelligences. New York: Basic Books

Germack R & Dickenson JM (2000) Activation of protein kinase B by the A(1)-adenosine receptor in DDT(1)MF-2 cells. *Br J Pharmacol.* 130: 867-874.

Gerrig RJ & Zimbardo PG (2008) Psychologie, Intelligenz und Intelligenzdiagnostik. 18.Auflage. München: Pearson Studium



Giménez-Llort L, Schiffmann SN, Schmidt T, Canela L, Camón L, Wassholm M, Canals M, Terasmaa A, Fernández-Teruel A, Tobeña A, Popova E, Ferré S, Agnati L, Ciruela F, Martínez E, Scheel-Kruger J, Lluís C, Franco R, Fuxe K, Bader M (2007) Working memory deficits in transgenic rats overexpressing human adenosine A2A receptors in the brain. *Neurobiol Learn Mem.* 87: 42-56.

Gleixner C, Müller M, Wirth S (2004/2005) Neurologie und Psychiatrie für Studium und Praxis. 4.Auflage. Medizinische Verlags- und Informationsdienste, Breisach

Goldberg TE & Weinberger DR (2004) Genes and the parsing of cognitive processes. *Trends Cogn Sci* 8: 325-335.

Goldman-Rakic PS (1996) Regional and cellular fractionation of working memory. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 13473-13480.

Goldman-Rakic PS, Muly EC 3rd, Williams GV (2000) D(1) receptors in prefrontal cells and circuits. *Brain Res Brain Res Rev.* 31: 295-301.

Gottfredson LS (2004) Intelligence: is it the epidemiologists' elusive "fundamental cause" of social class inequalities in health? *Journal of Personality and Social Psychology* 86: 174-199.

Gray JR & Thompson PM (2004) Neurobiology of intelligence: Science and ethics. *Nature Reviews* 5: 471-482.

Gubitza AK, Widdowson L, Kurokawa M, Kirkpatrick KA, Richardson PJ (1996) Dual signalling by the adenosine A2a receptor involves activation of both N and P-type calcium channels by different G proteins and protein kinases in the same striatal nerve terminals. *J Neurochem.* 67: 374-381.

Guilford JP (1967) The nature of human intelligence. New York: MacGraw Hill

Halimi G, Devaux C, Clot-Faybesse O, Sampol J, Legof L, Rochat H, Guieu R (2000) Modulation of adenosine concentration by opioid receptor agonists in rat striatum. *Eur J Pharmacol* 398: 217-224.

Hattori E, Liu C, Zhu H, Gershon ES (2005) Genetic tests of biologic systems in affective disorders. *Molecular Psychiatry* 10: 719-740.

Hebb D (2002) The organization of behavior. A neuropsychological theory. Erlbaum Books, Mahwah, New York (Nachdruck der Ausgabe New York 1949)

Heinzen EL, Need AC, Hayden KM, Chiba-Falek O, Roses AD, Strittmatter WJ, Burke JR, Hulette CM, Welsh-Bohmer KA, Goldstein DB (2010) Genome-wide scan of copy number variation in late-onset Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 19: 69-77

Helbig I, Mefford HC, Sharp AJ, Guipponi M, Fichera M, Franke A, Muhle H, de Kovel C, Baker C, von Spiczak S, Kron KL, Steinich I, Kleefuss-Lie AA, Leu C, Gaus V, Schmitz B, Klein KM, Reif PS, Rosenow F, Weber Y, Lerche H, Zimprich F, Urak L, Fuchs K, Feucht M, Genton P, Thomas P, Visscher F, de Haan GJ, Moller RS, Hjalgrim H, Luciano D, Wittig M, Nothnagel M, Elger CE, Nurnberg P, Romano C, Malafosse A, Koeleman BP, Lindhout D, Stephani U, Schreiber S, Eichler EE, Sander T (2009) 15q13.3 microdeletions increase risk of idiopathic generalized epilepsy. *Nat Genet* 41: 160-162.

Hershfield MS (1998) Adenosine deaminase deficiency: clinical expression, molecular basis, and therapy. *Semin Hematol.* 35: 291-298.

Hohoff C, McDonald JM, Baune BT, Cook EH, Deckert J, de Wit H (2005) Interindividual variation in anxiety response to amphetamine: possible role for adenosine A2A receptor gene variants. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 139: 42-44.

Hsiung GY, Sadovnick AD, Feldman H (2004) Apolipoprotein E epsilon4 genotype as a risk factor for cognitive decline and dementia: data from the Canadian Study of Health and Aging. *CMAJ.* 171: 863-867.

Hung CC, Chen HY, Chen CH (2002) Systemic mutations analysis of the human glutamate receptor, ionotropic, N-Methyl-D-aspartate1 gene (Grin1) in schizophrenia patients. *Psychiatric Genetics* 12: 225-230.

Huntsman MM, Tran BV, Potkin SG, Bunney WE, Jones EG (1998) Altered ratios of alternatively spliced long and short gamma2 subunit mRNAs of the gamma-amino butyrate type a receptor in prefrontal cortex of schizophrenics. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 15066-15071.

Hwangpo TN, Iyengar R (2005) Heterotrimeric G proteins and their effector pathways. *Humana Press: New York:* 109-134.

Ikeda M, Mackay KB, Dewar D, McCulloch J (1993) Differential alterations in adenosine A1 and kappa 1 opioid receptors in the striatum in Alzheimer's disease. *Brain Res.* 616: 211-217.

Illumina Inc. (2009) The GoldenGate Assay. [http://www.genomecenter.ucdavis.edu/dna\\_technologies/images/gg\\_assay.jpg](http://www.genomecenter.ucdavis.edu/dna_technologies/images/gg_assay.jpg)

Isaacs B, Kennie AT (1973) The Set test as an aid to the detection of dementia in old people. *Br J Psychiatry* 123: 467-470.

Jaakola VP, Griffith MT, Hanson MA, Cherezov V, Chien EYT, Lane JR, Ijzerman AP, St. Hilaire C (2008) The 2.6 Angstrom crystal structure of a human A2A adenosine receptor bound to an antagonist. *Science* 322:1211-1217.

Jäger AO (1984) Intelligenzstrukturforschung: Konkurrierende Modelle, neue Entwicklungen, Perspektiven. *Psychologische Rundschau* 35: 21-35.

Jansen KL, Faull RL, Dragunow M, Synek BL (1990) Alzheimer's disease: changes in hippocampal N-methyl-D-aspartate, quisqualate, neurotensin, adenosine, benzodiazepine, serotonin and opioid receptors- an autoradiographic study. *Neuroscience*. 39: 613-627.

Jarvis MJ (1993) Does caffeine intake enhance absolute levels of cognitive performance? *Psychopharmacology* (Berl) 110: 45-52.

Jin S, Fredholm BB (1997) Adenosine A1 receptors mediate hypoxia-induced inhibition of electrically evoked transmitter release from rat striatal slices. *Eur J Pharmacol* 329: 107-113.

Johnson-Kozlow M, Kritz-Silverstein D, Barrett-Connor E, Morton D (2002) Coffee consumption and cognitive function among older adults. *Am J Epidemiol*. 156: 842-850.

Jung RE, Yeo RA, Gangestad SW (2000) Developmental instability predicts individual variation in verbal memory skill after caffeine ingestion. *Neuropsychiatry Neuropsychol Behav Neurol* 13: 195-198.

Kamin LJ & Goldberger AS (2002) Twin studies in behavioral research:A skeptical view. *Theoretical Population Biology* 61: 83-95.

Kessey K, Trommer BL, Overstreet LS, Ji T, Mogul DJ (1997) A role for adenosine A2 receptors in the induction of long-term potentiation in the CA1 region of rat hippocampus. *Brain Res*. 756: 184-190.

Knussmann R (1996) Vergleichende Biologie des Menschen, Lehrbuch der Anthropologie und Humangenetik. 2. Auflage. Gustav Fischer Verlag

Kobasa SC (1979) Stressful life events, personality and health: an inquiry into hardiness. *Journal of Personality and Social Psychology* 37: 1-11.

Kopf SR, Melani A, Pedata F (1999) Adenosine and memory storage: effect of A<sub>1</sub> and A<sub>2</sub> receptor antagonists. *Psychopharmacology* (Berl) 146: 214-219.

Korte M, Kang H, Bonhoeffer T, Schuman E (1998) A role for BDNF in the late-phase of hippocampal long-term potentiation. *Neuropharmacology* 37: 553-559.

Kristiansen K (2004) Molecular mechanisms of ligand binding, signaling, and regulation within the superfamily of G-protein-coupled receptors: molecular modeling and mutagenesis approaches to receptor structure and function. *Pharmacol. Ther.*103: 21-80.

Lachman HM, Papolos DF, Saito T, Yu YM, Szumlanski CL, Weinshilboum RM (1996) Human catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics: description of a functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders. *Pharmacogenetics* 6: 243-250.

Le F, Townsend-Nicholson A, Baker E, Sutherland GR, Schofield PR (1996) Characterization and chromosomal localization of the human A2a adenosine receptor gene: ADORA2A. *Biochem Biophys Res Commun.* 223: 461-467.

Ledent C, Vaugeois JM, Schiffmann SN, Pedrazzini T, El Yacoubi M, Vanderhaeghen JJ, Costentin J, Heath JK, Vassart G, Parmentier M (1997) Aggressiveness, hypoalgesia and high blood pressure in mice lacking the adenosine A2a receptor. *Nature* 388: 674-678.

LeVine H 3rd (1999) Structural features of heterotrimeric G-protein-coupled Receptors and their modulatory proteins. *Mol Neurobiol.* 19: 111-149.

Li W, Dai S, An J, Xiong R, Li P, Chen X, Zhao Y, Liu P, Wang H, Zhu P, Chen J, Zhou Y (2008) Genetic inactivation of adenosine A(2A) receptors attenuates acute traumatic brain injury in the mouse cortical impact model. *Exp Neurol.* 215: 69-76.

Lienert GA, Huber H (1966) Differential effects of coffee on speed and power tests. *J Psychol* 63: 269-274.

Lippa CF, Smith TW, Saunders AM, Hulette C, Pulaski-Salo D, Roses AD (1997) Apolipoprotein E-epsilon 2 and Alzheimer's disease: genotype influences pathologic phenotype. *Neurology.* 48: 515-519.

Londos C, Cooper DM, Wolff J. (1980) Subclasses of external adenosine receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 77: 2551-2554.

Lopez S, Turle-Lorenzo N, Johnston TH, Brotchie JM, Schann S, Neuville P, Amalric M (2008) Functional interaction between adenosine A2A and group III metabotropic glutamate receptors to reduce parkinsonian symptoms in rats. *Neuropharmacology.* 55: 483-490.

Luciano M, Wright MJ, Duffy DL, Wainwright MA, Zhu G, Evans DM, Geffen GM, Montgomery GW, Martin NG (2006) Genome-wide scan of IQ finds significant linkage to a quantitative trait locus on 2q. *Behav Genet.* 36: 45-55.

Lykken (1999) Happiness. New York, Golden Books

Marshall JM (2000) Adenosine and muscle vasodilatation in acute systemic hypoxia. *Acta Physiol Scand.* 168: 561-573.

Martinez-Mir MI, Probst A, Palacios JM (1991) Adenosine A2-Receptors: selective localization in the human basal ganglia and alterations with disease. *Neuroscience* 42: 697-706.

Matarazzo JD (1982) Die Messung und Bewertung der Intelligenz Erwachsener nach Wechsler. Bern, Stuttgart, Wien: Huber.

Maurice T, Lockhart BP, Privat A (1996) Amnesia induced in mice by centrally administered beta-amyloid peptides involves cholinergic dysfunction. *Brain Res.* 706: 181-193.

McClearn GE, Johansson B, Berg S, Pedersen NL, Ahern F, Petrill S, Plomin R, (1997) Substantial genetic influence on cognitive abilities in twins 80 or more years old. *Science* 276: 1560-1563.

McCourt K, Bouchard TJ, Lykken DT, Tellegen A (1999) Authoritarianism revisited: Genetic and environmental influences examined in twins reared apart and together. *Pers Individ Differ.* 27: 985-1014.

McGue M & Christensen K (2001) The heritability of cognitive functioning in very old adults: Evidence from Danish twins aged 75 years and older. *Psych Aging* 16: 272-280.

Melani A, Corsi C, Gimenez-Llort L, Martinez E, Ogren SO, Pedata F, Ferre S (1999) Effect of N-methyl-D-aspartate on motor activity and in vivo adenosine striatal outflow in the rat. *Eur J Pharmacol* 385: 15-19.

Mesulam MM (1990) Large-scale neurocognitive networks and distributed process for attention, language, and memory. *Ann Neurol.* 28: 597-613.

Meyer-Lindenberg A, Poline JB, Kohn PD, Holt, JL, Egan MF, Weinberger DR, Berman KF (2001) Evidence for Abnormal Cortical Functional Connectivity During Working Memory in Schizophrenia. *Am J Psychiatry* 158: 1809-1817.

Munshi RI, Pang H, Sternweis PC, Linden J (1991) A1 adenosine receptors of bovine brain couple to guanine nucleotide- binding proteins Gi1, Gi2, and Go. *J Biol Chem.* 266: 22285-22289.

Murken J, Grimm T, Holinski-Feder E, (2006) Taschenlehrbuch Humangenetik. 7. Auflage. Georg Thieme Verlag

Mutafova-Yambolieva VN, Keef KD (1997) Adenosine-induced hyperpolarization in Guinea pig coronary artery involves A2b Receptors and KATP channels. *Am J Physiol.* 273: 2687-2695.

Naeve GS, Ramakrishnan M, Kramer R, Hevroni D, Citri Y, Theill LE (1997) Neuritin. A gene induced by neural activity and neurotrophins that promotes neuritogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 2648-2653.

Nakazawa K, McHugh TJ, Wilson MA, Tonegawa S (2004) NMDA receptors, place cells and hippocampal spatial memory. *Nat Rev Neurosci* 5: 361-372.

Newman DL, Tellegen A, Bouchard TJ (1998) Individual differences in adult age development: Sources of influence in twins reared apart. *J Pers Social Psychol.* 74: 985-995.

Oberauer K, Schulze R, Wilhelm O, Suss HM (2005) Working memory and intelligence—their correlation and their relation: comment on Ackermann, Beier, and Boyle. *Psychol Bull.* 131: 30-60.

Olah ME (1997) Identification of A<sub>2A</sub> adenosine receptor domains involved in selective coupling to G<sub>s</sub>. Analysis of chimeric A<sub>1</sub>/A<sub>2A</sub> adenosine receptors. *J. Biol. Chem.* 272: 337-344.

Oliphant A, Barker DL, Stuelpnagel JR, Chee MS (2002) BeadArray Technology: Enabling an accurate, cost-effective approach to high-throughput genotyping. *BioTechniques* 32: 56-61.

O'Neill C, Nolan BJ, Macari A, O'Boyle KM, O'Connor JJ (2007) Adenosine A<sub>1</sub> receptor-mediated inhibition of dopamine release from rat striatal slices is modulated by D<sub>1</sub> dopamine receptors. *Eur J Neurosci.* 26: 3421-3428.

Ongini E, Fredholm BB (1996) Pharmacology of adenosine A<sub>2A</sub> receptors. *Trends Pharmacol Sci* 17: 364-372.

Orsitto G, Seripa D, Panza F, Franceschi M, Cascavilla L, Placentino G, Matera MG, Paris F, Capurso C, Solfrizzi V, Dallapiccola B, Pilotto A (2007) Apolipoprotein E genotypes in hospitalized elderly patients with vascular dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 23: 327-333.

Palmer TM, Gettys TW, Stiles GL (1995) Differential interaction with and regulation of multiple G-proteins by rat A<sub>3</sub> adenosine receptors. *J. Biol. Chem.* 270: 16895-16902.

Pedata F, Corsi C, Melani A, Bordoni F, Latini S (2001) Adenosine extracellular brain concentrations and role of A<sub>2A</sub> receptors in ischemia. *Ann NY Acad. Sci.* 939: 74-84.

Pedersen NL, Plomin R, Nesselroade JR, McClearn GE (1992) A quantitative genetic analysis of cognitive abilities during the second half of the life span. *Psychological Science* 3: 346-353.

Peterfreund RA, MacCollin M, Gusella J, Fink JS (1996) Characterization and expression of the human A<sub>2a</sub> adenosine receptor gene. *J Neurochem.* 66: 362-368.

Petrides M, Alivisatos B, Meyer E, Evans AC (1992) Functional activation of the human frontal cortex during the performance of verbal working memory tasks. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 878-882.

Piaget J (1950) *Abriss der genetischen Epistemologie.* Wissen Media Verlag

Pinel JPJ, Pauli P (2007) *Biopsychologie.* 6. Auflage. Pearson Studium

Plomin R & Petrill S (1997) Genetics and intelligence: what's new? *Intelligence* 24: 53-77.

Plomin R & DeFries JC (1998) The genetics of cognitive abilities and disabilities. *Sci Am.* 278: 62-69.

Plomin R, De Fries JC, McClearn GE (1999) Gene, Umwelt und Verhalten. Bern: Hans Huber.

Plomin R, Turic DM, Hill L, Turic DE, Stephens M, Williams J, Owen MJ, O'Donovan MC (2004) A functional polymorphism in the succinate-semialdehyde dehydrogenase (aldehyde dehydrogenase 5 family, member a1) gene is associated with cognitive ability. *Mol Psychiatry* 9: 582-586.

Popoli P, Frank C, Tebano MT, Potenza RL, Pintor A, Domenici MR (2003) Modulation of Glutamate release and excitotoxicity by Adenosine A2a receptors. *Neurology* 61: 69-77.

Posthuma D, Neale MC, Boomsma DI, de Geus EJC (2001) Are smarter brains running faster? heritability of alpha peak frequency, IQ, and their interrelation. *Behavior Genetics* 31: 567-579.

Posthuma D, Luciano M, Geus EJ, Wright MJ, Slagboom PE, Montgomery GW, Boomsma DI, Martin NG (2005) A genomewide scan for intelligence identifies quantitative trait loci on 2q and 6p. *Am J Hum Genet* 77: 318-326.

Powell DH, Whitla DK (1994) Normal cognitive aging: toward empirical perspectives. *Curr Dir Psychol Sci.* 3: 27-31.

Prediger RD, Takahashi RN (2005) Modulation of short-term social memory in rats by adenosine A1 and A(2A) receptors. *Neurosci Lett.* 376: 160-165.

Prediger RD, Pamplona FA, Fernandes D, Takahashi RN (2005) Caffeine improves spatial learning deficits in an animal model of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) - the spontaneously hypertensive rat (SHR). *Int J Neuropsychopharmacol.* 8: 583-594.

Previc FH (1999) Dopamine and the origins of human intelligence. *Brain Cogn.* 41: 299-350.

Pschyrembel (1989). Klinisches Wörterbuch. Berlin, New York: Walter de Gruyter.

Ralevic V & Burnstock G (1998) Receptors for purines and pyrimidines. *Pharmacol Rev.* 50: 413-492.

Rebola N, Sebastião AM, de Mendonca A, Oliveira CR, Ribeiro JA, Cunha RA (2003) Enhanced adenosine A2A receptor facilitation of synaptic transmission in the hippocampus of aged rats. *J Neurophysiol.* 90: 1295-1303.

Rebola N, Lujan R, Cunha RA, Mulle C (2008) Adenosine A2A receptors are essential for long-term potentiation of NMDA-EPSCs at hippocampal mossy fiber synapses. *Neuron*. 57: 121-134.

Reidel WJ, Jolles J (1996) Cognition enhancers in age-related cognitive decline. *Drugs Aging* 8: 245-274.

Ribeiro JA (1999) Adenosine A2A receptor interactions with receptors for other neurotransmitters and neuromodulators. *Eur J Pharmacol*. 375: 101-113.

Rice JP, Reich T, Buchholz KK, Neuman RJ, Fishman R, Rochberg N, Hesselbrock VM, Nurnberger JI Jr., Schuckit MA, Begleiter H (1995) Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 19: 1018-1023.

Richter V & Guthke J (1996) Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI); Handanweisung. Göttingen, Bern, Toronto, Seattle: Hogrefe Verlag für Psychologie

Richter-Levin G, Segal M. (1989) Spatial performance is severely impaired in rats with combined reduction of serotonergic and cholinergic transmission. *Brain Res*. 477: 404-407.

Rimondini R, Fuxe K, Ferre S (1999) Multiple intramembrane receptor-receptor interactions in the regulation of striatal dopamine D2 receptors. *Neuroreport* 10: 2051-2054.

Rinne JO, Portin R, Ruottinen H (2000) Cognitive impairment and the brain dopaminergic system in Parkinson disease: [<sup>18</sup>F]fluorodopa positron emission tomographic study. *Arch Neurol* 57: 470-475.

Ritchie K, Carriere I, de Mendonca A, Portet F, Dartiques JF, Rouaud O, Barberger-Gateau P, Ancelin ML (2007) The neuroprotective Effects of caffeine: a prospective Population study (the Three City Study). *Neurology* 69: 536-545.

Rosin DL, Robeva A, Woodard RL, Guyenet PG, Linden J (1998) Immuno-histochemical localization of adenosine A2A receptors in the rat central nervous system. *J Comp Neurol*. 401: 163-186.

Ross GW, Abbott RD, Petrovitch H (2000) Association of coffee and caffeine intake with the risk of Parkinson disease. *JAMA* 283: 2674-2679.

Rosso A, Mossey J, Lippa CF (2008) Caffeine: neuroprotective functions in cognition and Alzheimer's disease. *Am J Alzheimers Dis Other Demen*. 23: 417-422.

Rudolphi KA & Schubert P (1997) Modulation of neuronal and glial cell function by adenosine and neuroprotection in vascular dementia. *Behav Brain Res*. 83: 123-128.



Rue AL & Jarvik LR (1987) Cognitive function and prediction of dementia in old age. *International Journal of Aging and Human Development* 25: 79-89.

Rujescu D, Hartmann A, Gonnerman C, Möller H-J, Giegling I (2003) M129V variation in the prion protein may influence cognitive performance. *Mol Psychiatry* 8: 937-941.

Salomone JD, Farrar AM, Font L, Patel V, Schlar DE, Nunes EJ, Collins LE, Sager TN (2009) Differential actions of adenosine A1 and A2A antagonists on the effort-related effects of dopamine D2 antagonism. *Behav Brain Res.* 201:216-222

Schmidt FL & Hunter J (2004) General mental ability in the world of work: Occupational attainment and job performance. *Journal of Personality and Social Psychology* 86: 162-173.

Schulte G, Fredholm BB (2003) Signalling from adenosine receptors to mitogenactivated protein kinases. *Cell. Signal.* 15: 813-827.

Schulze TG, McMahon FJ (2002) Genetic Association Mapping at the Crossroads: Which Test and Why? Overview and Practical Guidelines. *American Journal of Medical Genetics Neuropsychiatric Genetics* 114: 1-11.

Schwarzschild MA, Agnati L, Fuxe K, Chen JF, Morelli M (2006) Targeting adenosine A2A receptors in Parkinson's disease. *Trends in Neurosciences* 29: 647-654.

Sebastião AM, Ribeiro JA (2009) Adenosine receptors and the central nervous system. *Handb. Exp. Pharmacol.* 193: 471-534.

Seidel MG, Klinger M, Freissmuth M, Holler C (1999) Activation of mitogen-activated protein kinase by the A(2A)-adenosine receptor via a rap1-dependent and via a p21(ras)-dependent pathways. *J Biol Chem.* 274: 25833-25841.

Sexl V, Mancusi G, Holler C, Gloria-Maercker E, Schutz W, Freissmuth M (1997) Stimulation of the Mitogen-activated Protein Kinase via the A2A-adenosine receptor in Primary Human Endothelial Cells. *J Biol Chem.* 272: 5792-5799.

Sheldrick AJ, Krug A, Markov V, Leube D, Michel TM, Zerres K, Eggermann T, Kircher T (2008) Effect of COMT val158met genotype on cognition and personality. *Eur Psychiatry.* 2: 385-389.

Shimizu E, Tang YP, Rampon C, Tsien JZ (2000) NMDA receptor-dependent synaptic reinforcement as a crucial process for memory consolidation. *Science* 290: 1170-1174.

Simola N, Morelli M, Pinna A (2008) Adenosine A2A receptor antagonists and Parkinson's disease: state of the art and future directions. *Curr Pharm Des.* 14: 1475-1489.

Small B, Rosnick CB, Fratiglioni L, Backman L (2004) Apolipoprotein E and cognitive performance: a meta-analysis. *Psychol Aging* 19: 592-600.

Spearman C (1904) General intelligence, objectively determined and measured. *American Journal of Psychology* 15: 201-293.

Spearman C (1927) *The abilities of man*. New York: Macmillan

Stefansson H, Rujescu D, Cichon S, Pietilainen OP, Ingason A, Steinberg S, Fossdal R, Sigurdsson E, Sigmundsson T, Buizer-Voskamp JE, Hansen T, Jakobsen KD, Muglia P, Francks C, Matthews PM, Gylfason A, Halldorsson BV, Gudbjartsson D, Thorgeirsson TE, Sigurdsson A, Jonasdottir A, Bjornsson A, Mattiasdottir S, Blondal T, Haraldsson M, Magnusdottir BB, Giegling I, Moller HJ, Hartmann A, Shianna KV, Ge D, Need AC, Crombie C, Fraser G, Walker N, Lonqvist J, Suvisaari J, Tuulio-Henriksson A, Paunio T, Touloupoulou T, Bramon E, Di Forti M, Murray R, Ruggeri M, Vassos E, Tosato S, Walshe M, Li T, Vasilescu C, Muhleisen TW, Wang AG, Ullum H, Djurovic S, Melle I, Olesen J, Kiemeny LA, Franke B, Kahn RS, Linszen D, van Os J, Wiersma D, Bruggeman R, Cahn W, Germeys I, de Haan L, Krabbendam L, Sabatti C, Freimer NB, Gulcher JR, Thorsteinsdottir U, Kong A, Andreassen OA, Ophoff RA, Georgi A, Rietschel M, Werge T, Petursson H, Goldstein DB, Nothen MM, Peltonen L, Collier DA, St Clair D, Stefansson K (2008) Large recurrent microdeletions associated with schizophrenia. *Nature* 455: 232-236.

Stella SL Jr, Bryson EJ, Thoreson WB (2002) A2A adenosine receptors inhibit calcium influx through L-type calcium channels in rod photoreceptors of the salamander retina. *J. Neurophysiol.* 87: 351-360.

Stern W (1912) *Die psychologischen Methoden der Intelligenzprüfung und deren Anwendung an Schulkindern*. Leipzig: Barth

Stern W (1950) *Allgemeine Psychologie auf personalistischer Grundlage*. Den Haag

Sternberg RJ (1985) *Beyond IQ: A triarchic theory of human intelligence*. New York: Cambridge University Press.

Sternberg RJ (2004) Culture and intelligence. *American Psychologist* 59: 325-338.

Stone TW, Ceruti S, Abbrachio MP (2009) Adenosine receptors and neurological disease: neuroprotection and neurodegeneration. *Handb. Exp. Pharmacol.* 193:535-578.

Strachan T & Read AP (2005) *Molekulare Humangenetik*. 3.Auflage, Elsevier GmbH München

Strous RD, Lapidus R, Viglin D, Kotler M, Lachman HM (2006) Analysis of an association between the COMT polymorphism and clinical symptomatology in schizophrenia. *Neurosci Lett.* 393: 170-173.

Svenningsson P, Le Moine C, Fisone G, Fredholm BB (1999) Distribution, biochemistry and function of striatal adenosine A2A receptors. *Prog Neurobiol* 59: 355-396.

Takahashi RN, Pamplona FA, Prediger RD (2008) Adenosine receptor antagonists for cognitive dysfunction: a review of animal studies. *Front Biosci.* 13: 2614-2632.

Taylor JR, Birnbaum S, Ubriani R, Arnsten AF (1999) Activation of cAMP-dependent protein kinase A in prefrontal cortex impairs working memory performance. *J Neurosci.* 19: RC23.

Terman LM (1921) The measurement of intelligence. Boston: Houghton Mifflin

Tewes U (1994) HAWIE-R: Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991. Bern, Göttingen, Toronto, Seattle: Huber.

Thurstone LL (1998) Primary mental abilities (Vol.1). Chicago: Psychometr. Monog.r

Tsai SJ, Hong CJ, Yu YW, Chen TJ (2004) Association study of a brain-derived neurotrophic factor (BDNF) val66met polymorphism and personality trait and intelligence in healthy young females. *Neuropsychobiology* 49: 13-16.

Uhde TW, Boulenger JP, Kimerson DC, Pos RM (1984) Caffeine and behavior: Relation to psychopathology and underlying mechanisms. Caffeine: relationship to human anxiety, Plasma MHPG, and cortisol. *Psychopharmacology Bulletin* 20: 426-430.

Ulas J, Brunner LC, Nguyen L, Cotman CW (1993) Reduced density of adenosine A1 receptors and preserved coupling of adenosine A1 receptors to G proteins in Alzheimer hippocampus: a quantitative autoradiographic study. *Neuroscience.* 52: 843-854.

van Biesen T, Hawes BE, Luttrell DK, Krueger KM, Touhara K, Porfiri E, Sakaue M, Luttrell LM, Lefkowitz RJ (1995) Receptor-tyrosine-kinase- and G beta gamma-mediated MAP kinase activation by a common signalling pathway. *Nature.* 376: 781-784.

van Calker D, Muller M, Hamprecht B (1979) Adenosine regulates via two different types of receptors the accumulation of cyclic AMP in cultured brain cells. *J Neurochem* 33: 999-1005.

van der Flier WM, Pijnenburg YA, Schoonenboom SN, Dik MG, Blankenstein MA, Scheltens P (2008) Distribution of APOE genotypes in a memory clinic cohort. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 25: 433-438.

van Gelder BM, Buijsse B, Tijhuis M, Kalmijn S, Giampaoli S, Nissinen A, Kromhout D (2007) Coffee consumption is inversely associated with cognitive decline in elderly European men: the FINE Study. *Eur J Clin Nutr.* 61: 226-232.

Von Lubitz DK, Paul IA, Bartus RT, Jacobson KA (1993) Effects of chronic administration of adenosine A1 receptor agonist and antagonist on spatial learning and memory. *Eur J Pharmacol.* 249: 271-280.

von Lubitz DK (1999) Adenosine and cerebral ischemia: therapeutic future or death of a brave concept? [corrected and republished article originally printed in *Eur J Pharmacol* 1999 Jan 15; 365: 9-25]. *Eur J Pharmacol* 371: 85-102.

Wang DG, Fan JB, Siao CJ, Berno A, Young P, Sapolsky R, Ghandour G, Perkins N, Winchester E, Spencer J, Kruglyak L, Stein L, Hsie L, Topaloglou T, Hubbell E, Robinson E, Mittmann M, Morris MS, Shen N, Kilburn D, Rioux J, Nusbaum C, Rozen S, Hudson TJ, Lipshutz R, Chee M, Lander ES (1998) Large-scale identification, mapping and genotyping of single nucleotide polymorphisms in the human genome. *Science* 280: 1077-1082.

Wang JH, Ma YY, van den Buuse M (2006) Improved spatial recognition memory in mice lacking adenosine A2A receptors. *Exp Neurol*. 199: 438-445.

Wechsler D (1944) The measurement of adult intelligence. Baltimore, Williams & Wilkins

Wechsler D (1997) Manual for the Wechsler Adult Intelligence Scale-III. San Antonio, TX: Psychological Corporation.

Weinberg RA, Scarr S, Waldman ID (1992) The Minnesota Transracial Adoption Study: A follow-up of IQ test performance at adolescence. *Intelligence* 16: 117–135.

Wess J (1997) G-protein coupled receptors: molecular mechanisms involved in receptor activation and selectivity of G-protein recognition. *FASEB J*. 11, 346- 354.

Whitehouse PJ, Price DL, Clark AW, Coyle JT, DeLong MR (1981) Alzheimer disease: evidence for selective loss of cholinergic neurons in the nucleus basalis. *Ann Neurol*. 10: 122-126.

Wiltgen BJ, Brown RA, Talton LE, Silva AJ (2004) New circuits for old memories: the role of the neocortex in consolidation. *Neuron* 44: 101-108.

Winterer G, Goldman D (2003) Genetics of human prefrontal function. *Brain Res Rev*. 43: 134-163.

Wittchen HU, Zaudig M, Fydrich T (1997) SKID Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV Achse I und II. Göttingen, Bern, Toronto, Seattle. Hogrefe Verlag für Psychiatrie.

Wright MJ, de Geus EJC, Ando J, Luciano M, Posthuma D, Ono Y, Hansell N, Van Baal C, Hiraishi K, Hasegawa T, Smith G, Geffen G, Geffen L, Kanba S, Miyake A, Martin N, Boomsma D (2001) Genetics of cognition: Outline of a collaborative twin Study. *Twin Research* 4: 48-56.

Xie X, Ramkumar V, Toth LA (2007) Adenosine and dopamine receptor interactions in striatum and caffeine-induced behavioral activation. *Comp Med*. 57: 538-545.

Zalewska-Kaszubska J (2002) Neuroprotective mechanisms of adenosine action on CNS Neurons. *Neurol Neurochir Pol*. 36: 329-336.

Zimmermann H (1992) 5'-Nucleotidase: molecular structure and functional aspects. *Biochem J*. 285: 345-365.

Zimmermann H (1994) Signalling via ATP in the nervous system. *Trends Neurosci.* 17: 420.

Zimmermann H (1996) Biochemistry, localization and functional roles of ectonucleotidases in the nervous system. *Prog Neurobiol.* 49: 589-618.

## 10 Eigenständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, daß ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema „Der Einfluss genetischer Polymorphismen im ADORA2A- Gen auf kognitive Phänotypen“ selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe angefertigt habe. Es wurden von mir ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen. Eine Promotionsarbeit über dieses Thema liegt noch nicht vor.

München, den 14.02.2010

Stefanie Geißler