

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

Der Einfluss genetischer Variationen im NCAM1 Gen
auf kognitive Phänotypen

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

vorgelegt von
Katrin Böhm

aus
Regensburg

2010

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. D. Rujescu

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Elke Holinski-Feder

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter:

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

Tag der mündlichen Prüfung: 10.06.2010

Gewidmet meinen Eltern

Doris und Fritz Sekinger

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	1
1 Einleitung.....	3
1.1 Diagnostik von Intelligenz.....	3
1.1.1 Definition und Abgrenzung.....	3
1.1.2 Vergleich der Intelligenzstrukturmodelle.....	4
1.1.3 Diagnostik.....	8
1.2 Genetik und Intelligenz.....	11
1.2.1 Adoptions- und Zwillingsstudien.....	11
1.2.2 Molekulargenetik und Kopplungs- und Assoziationsstudien.....	14
1.2.3 Assoziationsstudien zur Kognition.....	16
1.3 NCAM1 und Intelligenz.....	19
1.3.1 Der Hippocampus als Mediator für Lernen und Gedächtnis.....	19
1.3.2 Synaptische Plastizität, Langzeitpotenzierung und Gedächtnis.....	21
1.3.3 Das neurale Zelladhäsionsmolekül NCAM1.....	22
1.3.4 Genstruktur und Isoformen von NCAM1.....	23
1.3.5 NCAM1 und Polysialinsäure (PSA).....	26
1.3.6 Das neurale Zelladhäsionsmolekül und Kognition.....	28
1.3.7 NCAM1 und Stress.....	30
1.3.8 NCAM1 und Schizophrenie.....	32
1.3.9 Fragestellung.....	34
2 Material und Methoden.....	36
2.1 Vorbedingungen der Studiendurchführung.....	36
2.2 Studienteilnehmer.....	36
2.2.1 Telefonscreening.....	37
2.2.2 Kleiner Fragebogen (Anamnese (I)).....	37
2.3 Klinisches Interview.....	37
2.3.1 Körperliche Untersuchung.....	38
2.3.2 Mini-Mental-State-Test.....	38
2.3.3 Deutsche Version des Strukturierten Klinischen Interviews (SKID).....	38
2.3.4 Family History Assessment Module-FHAM.....	39
2.3.5 Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar-LEBI.....	40
2.4 Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991.....	41
2.4.1 Der Verbalteil.....	41
2.4.1.1 Allgemeines Wissen.....	41
2.4.1.2 Zahlennachsprechen.....	42
2.4.1.3 Wortschatz-Test.....	42
2.4.1.4 Rechnerisches Denken.....	43
2.4.1.5 Allgemeines Verständnis.....	43
2.4.1.6 Gemeinsamkeitenfinden.....	43
2.4.2 Der Handlungsteil.....	44
2.4.2.1 Bilderergänzen.....	44

2.4.2.2	Bilderordnen.....	44
2.4.2.3	Mosaik-Test.....	44
2.4.2.4	Figurenlegen.....	45
2.4.2.5	Zahlen-Symbol-Test.....	45
2.4.3	Testauswertung.....	46
2.4.3.1	Wertpunkte A.....	46
2.4.3.2	Wertpunkte B.....	46
2.4.3.3	IQ-Werte.....	46
2.5	DNA-Extraktion.....	47
2.5.1	Vorbereitung der Blutproben und Zellyse.....	47
2.5.2	Adsorption der DNA an die Silikagel-Membran.....	48
2.5.3	Reinigung der DNA.....	48
2.5.4	Elution der DNA von der Silikamembran.....	48
2.6	Bestimmung der DNA-Konzentration.....	49
2.6.1	Materialien, Reagenzien und Geräte zur DNA Konzentrationsbestimmung ...	49
2.6.2	Vorbereitung der gDNA Standards.....	50
2.6.3	Vorbereitung der Messplatte.....	50
2.6.4	Durchführung der Messung.....	51
2.7	Genotypisierung mittels SNP- Microarrays.....	51
2.7.1	PCR Amplifikation nach dem „GoldenGate“ Assay Protokoll.....	52
2.7.2	Das Prinzip des „Bead Chip“ Arrays.....	53
2.7.2.1	Aufbau der Arraymatrix.....	53
2.7.3	Analyse der genotypspezifischen Fluoreszenzsignale.....	53
2.8	Statistische Analyse.....	54
3	Ergebnisse.....	56
3.1	Analyse des NCAM1 Polymorphismus rs1245113.....	56
3.1.1	Genotypverteilung des Polymorphismus rs1245113.....	56
3.1.2	Allelverteilung des Polymorphismus rs1245113.....	58
3.2	Analyse des NCAM1 Polymorphismus rs1369816.....	60
3.2.1	Genotypverteilung des Polymorphismus rs1369816.....	61
3.2.2	Allelverteilung des Polymorphismus rs1369816.....	63
4	Diskussion.....	65
4.1	Diskussion der Methoden.....	65
4.2	Diskussion der Ergebnisse.....	73
4.3	Ausblicke auf zukünftige Untersuchungen.....	78
5	Zusammenfassung.....	80
6	Abkürzungen und Fachbegriffe.....	81
7	Literaturverzeichnis.....	82
8	Danksagung.....	95
9	Lebenslauf.....	97

1 Einleitung

1.1 Diagnostik von Intelligenz

1.1.1 Definition und Abgrenzung

Seit mehr als 100 Jahren erfolgt eine gezielte Erforschung der Intelligenz, dennoch gibt es bisher keine verbindliche Definition. Das Problem der Psychologie ist, dass Intelligenz zwar gemessen werden kann, aber nur schwer zu definieren ist. Dies ist aber nicht eine Besonderheit des Konstruktes Intelligenz, sondern auch bei anderen mentalen Fähigkeitsbereichen wie z.B. dem „Kurzzeitgedächtnis“ der Fall. Sie bleiben häufig unscharf definiert (Amelang und Bartussek, 2001).

So ist eine Vielzahl an Intelligenzdefinitionen entstanden. Hier seien nur einige davon genannt: Im Jahr 1905 beschreiben Binet und Simon Intelligenz als Art der Bewältigung einer Situation wie gut urteilen, gut verstehen und gut denken (Binet und Simon, 1905). William Stern definierte die Intelligenz 1911 als Flexibilität des Denkens und die Fähigkeit der Anpassung an die Erfordernisse der neuen Situation (Tewes und Wildgrube, 1991).

Intelligenz ist die „zusammengesetzte oder globale Fähigkeit des Individuums, zweckvoll zu handeln, vernünftig zu denken und sich mit seiner Umgebung wirkungsvoll auseinander zusetzen“, schreibt Wechsler 1964 (Wechsler, 1964).

Neuere Meinungen sehen Intelligenz als komplexes Konstrukt, das eine Vielzahl von kognitiven Teilfähigkeiten subsummiert und nicht gänzlich durch Explizitdefinitionen gefasst werden kann (Brocke und Beauducel, 2001), oder sie sehen Intelligenz in einem sehr weiten Sinn, indem alle Fähigkeiten berücksichtigt werden, die der Mensch bei der Lösung der ihm begegnenden Probleme einsetzt (Zimbardo und Gerrig, 1999).

Rindermann sieht Intelligenz als eine plastische und durch Ernährung und Gesundheit sowie durch Erziehung, Bildung und Kultur beeinflussbare kognitive Fähigkeit (Rindermann, 2003).

Die Intelligenz ist als ein Baustein der Kognition zu verstehen. Der Begriff Kognition ist ein Oberbegriff, der in diesem Zusammenhang definiert werden muss. Kognition steht für die höheren geistigen Funktionen und beruht auf dem Zusammenwirken der Faktoren Gedächtnis,

Denken, Wahrnehmung, Aufmerksamkeit, Sprache und Intelligenz (Abb.1) (Zimbardo und Gerrig, 1999).

Zum Verständnis des täglichen Geschehens der umgebenden Umwelt werden mit den aufgeführten Funktionen geistige Operationen, sogenannte kognitive Prozesse ausgeführt.

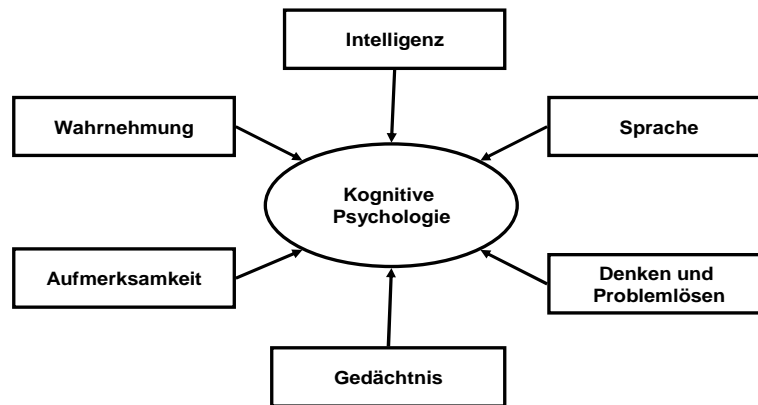


Abb.1: Kognitive Psychologie (Zimbardo und Gerrig, 2004)

Das Zusammenwirken verschiedener Faktoren/Funktionen formt die Kognitive Psychologie

1.1.2 Vergleich der Intelligenzstrukturmodelle

Intelligenzstrukturmodelle enthalten zentrale Annahmen über die Struktur der menschlichen Intelligenz und versuchen die schwer fassbare Größe der Intelligenz zu beschreiben. Alle in dieser Arbeit besprochenen Intelligenzmodelle sind auf der faktorenanalytischen Intelligenzforschung (= Testresultate von großen Probandenstichproben werden miteinander korreliert und anschließend faktorenanalysiert) aufgebaut (Pawlik, 1968).

Die einfachste Vorstellung eines Intelligenzstrukturmodells war, dass es sich um eine ganzheitliche, homogene Fähigkeit handelt. Es wurden keine weitergehenden Angaben über die Zusammensetzung oder Struktur dieser Fähigkeit gemacht. So gingen Binet und Simon 1905 von einem Ein-Faktoren-Modell aus, in dem Intelligenz etwas einheitlich Ganzes sein muss. Sie entwickelten Intelligenztests, die an französischen Schulkindern in Paris durchgeführt wurden und das Intelligenzalter von Kindern bestimmen konnten (Binet und Simon, 1905).

Auch Spearman entwickelte 1904 einen Generalfaktor der Intelligenz (= g-Faktor, liegt als Ausdruck der allgemeinen Intelligenz jeder Intelligenzleistung zugrunde). Da jedoch der g-Faktor nicht alle Beziehungen zwischen den Tests wiedergeben konnte, nahm Spearman für jeden Test einen zweiten Faktor an, der das Spezifische eines Tests repräsentieren sollte. Diese spezifischen Faktoren (= s-Faktoren) sind dem Generalfaktor hierarchisch untergeordnet und bereichsspezifische, voneinander unabhängige Faktoren. Zwar sind sie stark vom g-Faktor beeinflusst, dennoch bestimmen sie wesentlich die Leistung einer Person in bestimmten Bereichen wie z.B. bei mathematischen, räumlichen oder verbalen Aufgaben. Weil Spearman jeden Intelligenztest als durch zwei Faktoren beschreibbar angesehen hat, wurde das Modell als Zwei-Faktoren-Modell bezeichnet (Cattell, 1971;Eysenck, 1979;Spearman, 1904).

Es folgten Strukturmodelle der Intelligenz die zur Berechnung der Intelligenz nicht mehr von einem zentralen g ausgingen. Hierzu werden vor allem drei Intelligenzmodelle gerechnet. Zunächst entwickelte Thurstone 1938 die Sieben-Faktoren-Theorie. Sie setzt sich aus den Faktoren Wortverständnis, Wortflüssigkeit, Rechenfertigkeit, schlussfolgerndes Denken, Auffassungsgeschwindigkeit, räumliches Vorstellungsvermögen und Merkfähigkeit zusammen. Es handelt sich um ein Primärfaktorenmodell, welches die Existenz eines Generalfaktors verneint und sieben selbstständige Intelligenzbereiche definiert. Diese sieben voneinander unabhängigen mentalen Fähigkeiten zog Thurstone zur Berechnung der Intelligenz heran (Thurstone, 1938;Thurstone und Thurstone, 1941).

Weiterhin stellte Cattell 1963 das Modell der fluiden und kristallinen Intelligenz vor. Cattell versuchte als Erster die Gegensätzlichkeit der Theorien von Spearman und Thurstone miteinander zu verbinden, indem er ein hierarchisches Intelligenzmodell entwickelte. Er unterscheidet eine fluide (gf) von einer kristallinen Intelligenz (gc), wobei die erstere als Fähigkeit definiert ist, neuen Situationen oder Problemen gerecht zu werden, ohne dass es dazu im wesentlichen Ausmaß früherer Lernerfahrungen bedarf. Gc ist mit Spearmans g gleichzustellen und umfasst kultur-, wissens- und schulgebundenes inhaltsdifferenziertes Wissen und Denken (Amelang und Bartussek, 2001). Unter Allgemeiner Intelligenz versteht Cattell das Zusammenwirken der fluiden und kristallinen Intelligenz. Die fluide Intelligenz steigt zunächst in Kindheit und Jugend stark an, bleibt dann auf einem gewissen Plateau bestehen, um dann im erwachsenen Alter kontinuierlich abzusinken. Die kristalline Intelligenz hingegen, kann auch nach der Adoleszenz bis weit ins hohe Alter bei

entsprechender Umwelt und Anregung ansteigen. Dieses Konzept der „Mechanik“ (fluide) und „Pragmatik“ (kristalline) der Intelligenz hat in der Psychogerontologie weite Verbreitung gefunden (Lindenberger, 2000).

Ein weiteres hierarchisches Intelligenzmodell wurde 1965 von Vernon entwickelt. Bei diesem Modell gibt es vier hierarchische Ebenen. An der Spitze steht der g-Faktor; die anderen Fähigkeiten bzw. Ebenen leiten sich daraus ab. Auf Ebene II stehen die drei Faktoren Sprachverständnis, motorische Fähigkeiten und räumliches Denken. Ebene III besteht aus Unterfaktoren, die den Faktoren der Ebene II zugeordnet werden können. Diese Unterfaktoren sind räumliches Vorstellungsvermögen, motorische, mathematische, linguistische und literarische Fähigkeiten. In Ebene IV stehen die den betreffenden Test kennzeichnenden Bestandteile (Vernon, 1950; Vernon, 1965).

Das Modell von Vernon legt dar, dass die Faktoren, im Gegensatz zu Thurstones Meinung, vollständig unabhängig voneinander sind. So kann ein starker g-Faktor mit untergeordneten Gruppenfaktoren genauso herausgestellt werden wie Gruppenfaktoren mit geringerer Bezugnahme von g (Amelang und Bartussek, 2001).

Jäger verband 1982 Elemente aus den Modellen von Spearman, Thurstone und Guildford. Das entstandene Berliner Intelligenzstrukturmodell geht von zwei Ebenen aus. Die Spitze des Modells repräsentiert der g-Faktor, der für die allgemeine Intelligenz steht. Untergeordnet stehen drei operative (sprachliches, numerisches und figural-bildhaftes Denken) und vier inhaltsgebundene Fähigkeiten (Bearbeitungsgeschwindigkeit, Verarbeitungskapazität, Merkfähigkeit und Einfallsreichtum). Diese sieben Fähigkeiten bilden die Basis für die allgemeine Intelligenz (Jäger, 1982). Es unterscheidet sich dennoch von Guildfords Modell, da es keine unabhängigen Faktoren, sondern multifaktoriell bedingte Leistungen beinhaltet.

1967 wurde von Guildford ein Strukturmodell der Intelligenz entwickelt, dessen Entwurf ohne Datenerhebung geschah und theoretischer Art war. Dieses „Structure of intellect“-Modell legt den Hauptgesichtspunkt auf die Informationsverarbeitung. Es ist ein dreidimensionales Matrixmodell in dem 120 Faktoren ohne hierarchische Struktur und ohne Generalfaktor bestehen (Guilford, 1967). Guilford gliedert folgende drei Abschnitte geistiger Aufgaben: den Inhalt, die Operation und das Produkt.

Der Inhalt steht für die Art der gestellten Aufgabe. Hier gibt es folgende vier Bereiche: figural, symbolisch, semantisch und verhaltensmäßig. Die Operation ist der dadurch

ausgelöste Vorgang. Hier gibt es fünf Vorgänge: Erkenntnisvermögen, Gedächtnis, divergente Produktion, konvergente Produktion und Evaluation.

Die Verarbeitung führt zu sechs Produkten: Einheiten, Klassen, Beziehungen, Systeme, Transformationen und Implikationen. Insgesamt ergeben alle Kombinationsmöglichkeiten der drei Bereiche 120 (4 x 5 x 6) voneinander unabhängige Fähigkeiten bzw. Primärfaktoren.

Eine Unabhängigkeit von 120 Faktoren nachzuweisen ist wegen des Aufwands an Testzeit und Versuchspersonen nicht realisierbar (Undheim und Horn, 1977). Das Modell von Guildford lässt sich wissenschaftlich nicht bestätigen (Carroll, 1993).

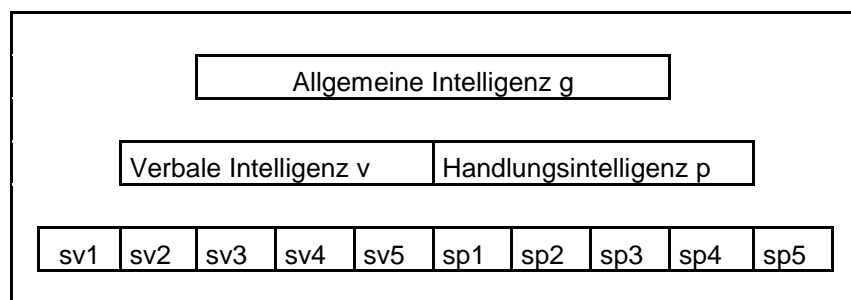


Abb.2: Intelligenzstrukturmodell von Wechsler

Dem momentan gebräuchlichsten Intelligenztest in Deutschland liegt Wechslers Strukturmodell der Intelligenz zugrunde (Steck, 1997).

Das von Wechsler 1964 entwickelte Hierarchische Strukturmodell besteht aus drei Ebenen (Abb.2). Die allgemeine Intelligenz g, die in der Neurowissenschaft als generelle kognitive Fähigkeit definiert wird, steht an der Spitze (Toga und Thompson, 2005). Nach Wechsler wird sie in Verbal-Intelligenzquotient und Handlungs-Intelligenzquotient aufgeteilt. Der Verbal-Intelligenzquotient und der Handlungs-Intelligenzquotient setzen sich wiederum aus mehreren ihnen untergeordneten Fähigkeiten oder Faktoren zusammen (Wechsler, 1964).

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass die faktorenanalytische Intelligenzforschung Folgendes erbracht hat: Generell zu unterscheiden sind einerseits Intelligenzmodelle, die von einem gemeinsamen Faktor g für alle geistigen Leistungen ausgehen (wie Spearman 1904 und Binet und Simon 1905) und andererseits Intelligenzmodelle, die kein zentrales g, sondern voneinander unabhängige mentale Fähigkeiten zur Berechnung der Intelligenz heranziehen (Thustone 1938, Vernon 1961 und Cattell 1963).

Zudem geht die Erforschung der Struktur der Intelligenz mit der Entwicklung der statistischen Methode (Faktorenanalyse) einher. Hier wird vor allem untersucht, wie viele voneinander

unabhängige Merkmalsdimensionen notwendig sind, um die Kovarianzen der Leistungen größerer Personengruppen bei verschiedenen Testaufgaben erklärbar zu machen. So gibt es unterschiedliche Auffassungen darüber, wie hoch die Anzahl von unterscheidbaren Intelligenzleistungen ist. Beispielsweise teilt Thurstone 1938 lediglich sieben Fähigkeitsbereiche ein, wogegen Guilford 1967 von 120 Leistungsbereichen ausgeht. Die Spezifität der Leistungsmerkmale (Faktoren) wird ebenso unterschieden (Tewes und Wildgrube, 1991). Tabelle 1 zeigt einen historischen Überblick zu den verschiedenen Strukturmodellen.

Tab.1: Strukturmodelle der Intelligenz

Zwei-Faktoren-Modell von Spearman 1904
Ein-Faktoren-Modell der allgemeinen Intelligenz von Binet und Simon 1905
Sieben-Faktoren-Modell von Thurstone 1938
Hierarchisches Modell der fluiden und kristallinen Intelligenz von Cattell 1963
Hierarchisches Strukturmodell der allgemeinen Intelligenz von Wechsler 1964
Hierarchisches Modell von Vernon 1965
Structure of intellect- Modell von Guilford 1967
Berliner Intelligenzstrukturmodell von Jäger 1982

1.1.3 Diagnostik

Bei Intelligenzdiagnostik mit Intelligenztests wird an das Ergebnis IQ gedacht. Der Intelligenzquotient (IQ; Mittelwert 100, Streuung 15) ist das am meisten verwendete Maß der allgemeinen Intelligenz (Rost, 1993). Ein IQ zwischen 85 und 114 gilt als durchschnittliche Intelligenz, ab 115 als überdurchschnittliche und ab 130 als hohe Intelligenz. Der Prozentrang zeigt die jeweilige Position in Vergleich zu einer repräsentativen Stichprobe auf: Prozentrang 50 (IQ 100) bedeutet, dass 50% (49,99%) der vergleichbaren Personen schlechtere Werte erlangen und 50% (49,99%) bessere. Prozentrang 99, dass 99% (98,99%) schlechtere und nur 1% (0,99%) bessere Ergebnisse erzielen (Tab.2) (Rindermann und Kwiatkowski, 2007).

Tab. 2: Statistische Maße für Intelligenz (Rindermann und Kwiatkowski, 2007)

Intelligenzquotient	Prozentrang	Verteilung	Fähigkeitsbezeichnung
< 70	0-2	ca. 2%	weit unterdurchschnittlich
70-84	3-16	ca. 14%	unterdurchschnittlich
85-99	17-49	ca. 34%	durchschnittlich
100	50	Mittelwert	Mittelwert
101-114	51-84	ca. 34%	durchschnittlich
115-129	85-98	ca. 14%	überdurchschnittlich
130≤	99-100	ca. 2%	weit überdurchschnittlich

Dies zeigt, dass Intelligenz nicht unabhängig vom gesellschaftlichen Umfeld zu sehen ist. Die Höhe des IQ stellt nach der Normierung ein reines Abweichungsmaß relativ zu einer Vergleichsgruppe dar. Es ist dennoch zu beachten, dass Messfehler größer werden, je weiter der Wert von 100 entfernt ist. Bei der Interpretation von besonders hohen oder niedrigen Werten ist deswegen Vorsicht geboten (Tewes, 1994). Ebenso legen sozial vermittelte Werte fest, welche Fähigkeiten als wertvoll angesehen werden, d.h. eine Begabung zum Cellospiel in einer Kultur ohne klassische Musik wird wertlos erscheinen.

Die Entwicklung bis zur heutigen Quantifizierung der Intelligenz begann in Paris im Jahr 1897. Hier entwarfen Binet und Simon die ersten Intelligenztests, um damit die Leistungsfähigkeit von Schulkindern messen zu können (Binet und Simon, 1905). Die gestellten Aufgaben wurden nach ihrem Schwierigkeitsgrad gegliedert. Die einfachste Aufgabe kommt dem niedrigsten Niveau und die schwerste Aufgabe dem höchsten Niveau gleich. Die Durchschnittsniveaus der unterschiedlichen Altersstufen ermöglichen eine Einstufung der Einzelwerte der Kinder als über-, unter-, oder durchschnittlich. Bei der Berechnung der Testergebnisse wird das Konzept des Intelligenzalters verwendet. Die Lösung einer bestimmten Anzahl von Aufgaben korreliert mit dem dem Lebensalter entsprechenden Intelligenz-Grundalter einer Altersstufe. Ist das Intelligenzalter um ein Jahr erhöht, entspricht dies fünf zusätzlich gelösten Aufgaben. Entsprechend der geistigen Entwicklung kann das Intelligenzalter über oder unterhalb des Lebensalters sein (Amelang und Bartussek, 1990; Gardner, 1983). Liegt ein Entwicklungsrückstand von einem Jahr vor, so ist dies bei einem kleinen Kind viel schwerwiegender als bei einem Jugendlichen (Toga und Thompson, 2005). Demnach sind Unterschiede zwischen Intelligenzalter und Lebensalter in den verschiedenen Altersstufen unterschiedlich zu bewerten.

William Stern definierte 1912 schließlich den klassischen Intelligenzquotienten (IQ), indem er das durch Binet eingeführte Intelligenzalter durch das Lebensalter dividierte und anschließend mit 100 multiplizierte. Ein Intelligenzquotient von 100 besagt, dass eine dem Altersdurchschnitt gemäße Leistung erbracht worden ist (Toga und Thompson, 2005). Anders als bei der Darstellung der Differenz von Lebensalter und Intelligenzalter wird eine allgemein vergleichbare Größe erzielt. Das Intelligenzalter steigt nicht stetig im Vergleich zum Lebensalter, d.h. im Laufe der Lebensjahre ist keine Konstanz der Intelligenzleistung gegeben. Somit sind Intelligenzquotienten bei älteren Menschen mit dieser Methode nicht bestimmbar (Amelang und Bartussek, 2001).

David Wechsler führte 1958 den Abweichungs-Intelligenzquotienten ein (Groffmann, 1983). Erwachsene werden hier mit Gleichaltrigen verglichen und für Erwachsene und Kinder werden die Durchschnittswerte und Standardabweichungen über die Altersstufen hinweg konstant gehalten (Groffmann, 1983). Die Rohpunktwerte, die für einen bestimmten Intelligenzquotienten erreicht werden müssen, sind altersabhängig. Bei steigendem Erwachsenenalter sind geringere Rohpunktwerte zu erzielen. Der beschriebene Intelligenzquotient geht von einer proportionalen Beziehung zwischen Intelligenzleistung und Lebensalter aus.

Der erste von Wechsler veröffentlichte Intelligenztest (Wechsler-Bellevue-Intelligence-Scale) wurde 1939 veröffentlicht; die „Wechsler-Adult-Intelligence-Scale“ (WAIS) wurde 1955, Revision WAIS-R und WAIS-III wurden 1981 bzw. 1997 publiziert. Die deutsche Version des amerikanischen WAIS-R ist der HAWIE-R (Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991). Er ist als Standardtest für die allgemeine Intelligenz zu sehen (Tewes, 1994), und ist in Deutschland der am häufigsten verwendete Test (Steck, 1997). Im Jahr 2006 ist der HAWIE-III veröffentlicht worden (Blöink, 2006).

Der in unserer Studie verwendete HAWIE-R ist für die Individualdiagnostik der Altersgruppen von 16 bis 74 Jahren geeignet. Der Test besteht aus 11 Untertest die inhaltlich sehr breit und heterogen angelegt sind. In der Annahme, dass sich Intelligenz in vielen verschiedenen Weisen manifestiert, erhöht die große Vielzahl der unterschiedlichen Subtests die Chance, dass der Gesamttest fair ist und ein abgerundetes Bild der Intelligenz ergibt (Mackintosh, 1998).

1.2 Genetik und Intelligenz

Inwieweit verschiedene Einflussfaktoren das Zustandekommen von unterschiedlichen Intelligenzquotienten bewirken, wird untersucht, indem sozialdemographische Faktoren wie Schulbildung, Erziehung, soziale Herkunft und Geschlecht oder genetische Faktoren bei der Berechnung des IQ berücksichtigt werden. Die Durchführung von Familien- Zwillings- und Adoptionsstudien hat gezeigt, dass etwa die Hälfte der Varianz in den allgemeinen kognitiven Fähigkeiten durch die Genetik erklärt werden kann (Boomsma, 1993;Devlin et al., 1997;McClearn et al., 1997;Plomin et al., 1999).

Zu berücksichtigen ist, dass sich der Einfluss der Heritabilität auf die kognitiven Fähigkeiten im Laufe des Lebens verändert. Zwillingsstudien und Studien von nicht verwandten Personen haben gezeigt, dass Umweltfaktoren in der Kindheit einen größeren Einfluss auf den Intelligenzquotienten haben als im Erwachsenenalter. Plomin und Mitarbeiter bezeichnen diesen Zustand in der Kindheit als geteilte Umwelt, das heisst, dass Kinder durch das Aufwachsen in der „gleichen“ Familie in gleicher Weise geformt werden (Plomin et al., 1999). Unterschiedliche kognitive Fähigkeiten zwischen Geschwistern werden durch die ungeteilte Umwelt verstärkt, denn unterschiedliche Freunde, andere Lehrer und Freizeitaktivitäten prägen Geschwister auf unterschiedliche Weise (Plomin et al., 1999). Eine aktuelle Studie widerlegt das Bild in dem die Familie für Kinder ausnahmslos eine geteilte Umwelt ist und geht davon aus, dass jedes Kind gewissermaßen eine andere Familie erlebt. So zeigt eine norwegische Studie an 334000 Brüderpaaren, dass nach dem Abschluss der Kindheit die Ältesten einen messbaren Intelligenz-Vorsprung vor ihren jüngeren Geschwistern haben. Sie profitieren wahrscheinlich von ihrer Rolle als Erklärer (Sundet et al., 2008).

Generell nimmt der Einfluss der ungeteilten Umwelt mit zunehmendem Alter ab (Bouchard, 1998), das heisst mit ansteigendem Alter wird der Phänotyp immer mehr durch den Genotyp beeinflusst (Gray und Thompson, 2004;Toga und Thompson, 2005).

1.2.1 Adoptions- und Zwillingsstudien

Die genetische Komponente der allgemeinen Intelligenz wird durch Adoptions- und Zwillingsstudien untersucht.

Bei der Durchführung von Adoptionsstudien können genetische von umweltbedingten Faktoren getrennt werden. Einerseits liegen herkunftsgleiche Gene vor, auf der anderen Seite keine geteilte Familienumwelt. Hinsichtlich der allgemeinen Intelligenz von Kindern und ihren genetischen Eltern, die durch eine Adoption voneinander getrennt leben, liegt die Korrelation bei 0.24 (Plomin et al., 1999). Getrennt aufgewachsene, genetisch verwandte Geschwister weisen die gleiche Korrelation auf (Plomin et al., 1999). Dass die Umwelt im Kindesalter einen großen Einfluss hat, zeigt sich durch ansteigende IQ-Werte bei Kindern von biologischen Eltern mit unterdurchschnittlichen IQ-Werten, die bei Adoptiveltern mit überdurchschnittlichen IQ-Werten aufwachsen (Plomin et al., 1999).

Auf der anderen Seite zeigt eine Studie mit monozygoten Zwillingen, die durch Adoption getrennt aufgewachsen sind, eine Korrelation von 0.72 bezüglich der Intelligenz, was den großen Einfluss der Genetik auf die Intelligenz unterstreicht (Bouchard und Mc Gue, 1981). Diese Korrelation stellt eine direkte Schätzung der Erbllichkeit dar (Plomin et al., 1999).

Adoptionsstudien belegen also, dass neben dem Einfluss der Umwelt, ein starker genetischer Einfluss auf die Intelligenz besteht.

Durch Zwillingsstudien kann die Konkordanz von eineiigen Zwillingen, die als genetisch identisch gelten, mit der von zweieiigen Zwillingen, die in etwa 50% der Gene teilen, verglichen werden (Evans et al., 2002). Sie zeigen, dass die durchschnittlichen Korrelationen der allgemeinen Intelligenz bei eineiigen, zusammen aufgewachsenen Zwillingen 0.86 und bei zweieiigen, zusammen aufgewachsenen Zwillingen 0.60 beträgt. Die Verdopplung der Differenz zwischen monozygoten und dizygoten Korrelationen führt zu einer Erbllichkeitsschätzung von 52% (Bouchard und Mc Gue, 1981; Bouchard et al., 1990; Loehlin et al., 1989; Pedersen et al., 1992; Plomin et al., 1999).

Das Ergebnis jeder Erbllichkeitsschätzung liefert die Subtraktion der Korrelation der dizygoten Zwillinge von der Korrelation der monozygoten Zwillinge und die anschließende Verdopplung der Differenz (Kamin und Goldberger, 2002; Plomin und Kosslyn, 2001).

Die „Minnesota Study of Twins Reared Apart“ (MISTRA-Studie) startete 1979 und stellte eine Heritabilität des IQ von 70% fest. Der WAIS wurde bei 100 getrennt aufgewachsenen Zwillingen durchgeführt und eine Korrelation von 0.69 bestimmt (Bouchard et al., 1990).

In einer acht Jahre späteren Untersuchung bei der nahezu dieselben Zwillingspärchen erneut mit dem WAIS getestet wurden, fand man eine Korrelation von 0.75 für getrennt

aufgewachsene monozygote Zwillinge und 0.47 für getrennt aufgewachsene dizygote Zwillinge. Die Erblichkeit des IQ wurde auf 76% taxiert (Newman et al., 1998).

Die „Swedish Adoption/Twin Study of Aging“ (SATSA-Studie) begann 1984. Hier wurden 351 Zwillingspärchen, die getrennt voneinander aufgewachsen sind, und 407 Zwillingspärchen, die zusammen aufgewachsen sind, untersucht. Die Studie wies Korrelationen bezüglich der Erblichkeit der allgemeinen kognitiven Fähigkeit von 0.80 für zusammen aufgewachsene eineiige Zwillinge auf, eine Korrelation von 0.78 konnte für getrennt aufgewachsene eineiige Zwillinge festgestellt werden. Die Korrelationen bei zusammen aufgewachsenen zweieiigen Zwillingen betragen 0.22 und 0.32 für getrennt aufgewachsene zweieiige Zwillinge. Diese Zahlen zeigen, dass der Effekt, der durch eine geteilte Umwelt hervorgerufen wird, eher gering ist, und dass die Genetik bei kognitiven Fähigkeiten eine wesentlich größere Rolle zu spielen scheint (Pedersen et al., 1992).

Wright und Mitarbeiter führten weitere große Studien an Zwillingspärchen in den Niederlanden, Australien und Japan durch. Die verschiedenen ethnischen Gruppen zeigten eine Erblichkeit von 71-87% für den Gesamt-IQ (Wright et al., 2001).

Die Ergebnisse der Adoptions- und Zwillingsstudien werden in Abbildung 3 veranschaulicht. Hier belegen die unterschiedlichen Korrelationen (Balken) den Einfluss von Umweltfaktoren, indem eine geteilte familiäre Umgebung, gleich welcher Form der Verwandtschaft, die Korrelation in Bezug auf den IQ erhöht.

Die höchsten Übereinstimmungen bei der allgemeinen Intelligenz zeigten Untersuchungen mit monozygoten, zusammen aufgewachsenen Zwillingen. Diese Korrelationen werden geringer, je geringer die genetische Verwandtschaft ist. Dies deutet auf einen entscheidenden Einfluss der Genetik bezüglich der Intelligenz hin und begründet eine gezielte Suche bzw. genaue Untersuchung bestimmter Gene, die eine wichtige Rolle bei der allgemeinen Intelligenz spielen könnten.

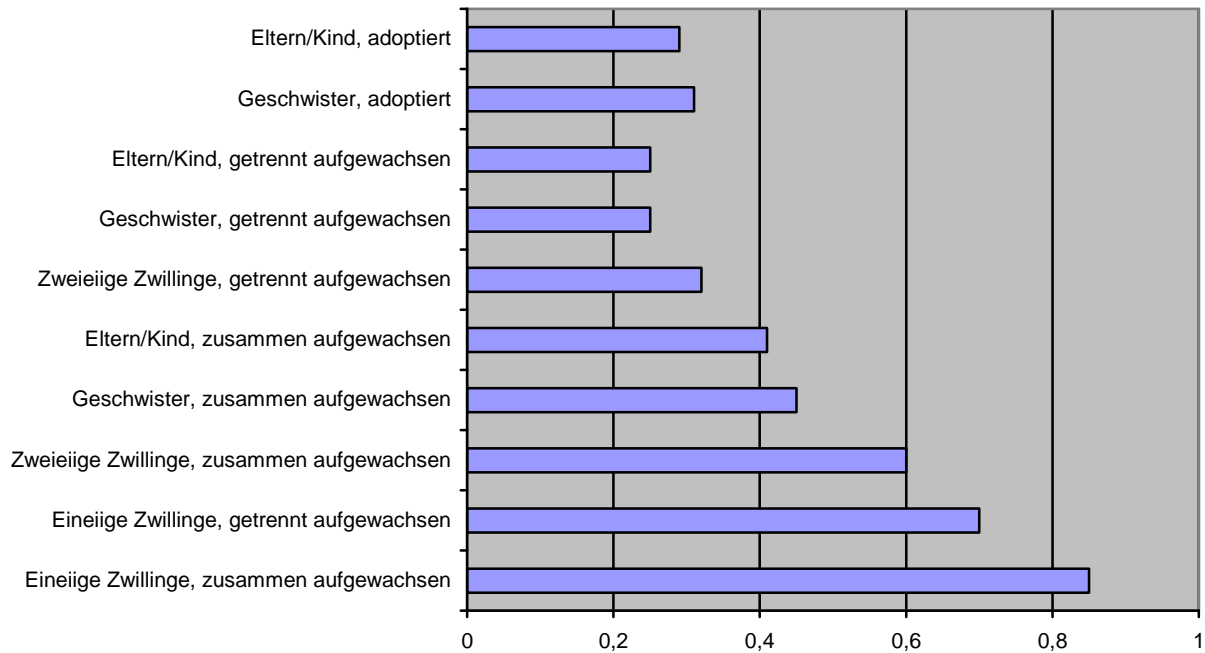


Abb.3: Korrelationen: IQ/genetische Verwandtschaft (Zimbaro und Gerrig, 2004)

Eine geteilte familiäre Umgebung erhöht die Korrelation bezüglich der Intelligenz; je näher die genetische Verwandtschaft ist, desto höher ist die Korrelation in Bezug auf die Intelligenz.

1.2.2 Molekulargenetik und Kopplungs- und Assoziationsstudien

Die bisher geschilderten Studien konnten einen Zusammenhang zwischen Genetik und kognitiven Fähigkeiten nachweisen. Die Aufgabe der molekulargenetischen Untersuchungen besteht darin, spezifische Gene zu identifizieren, die die Kognition beeinflussen könnten (Goldberg und Weinberger, 2004). Es wird sich der genetischen Heterogenität bzw. Variabilität bedient, die z.B. in Form von einzelnen Nukleotid-Polymorphismen (single-nucleotide-polymorphisms; SNPs) auftritt. Die SNPs weisen ethnische Stratifikation auf, das heisst die Frequenz einer Variation kann bei verschiedenen ethnischen Gruppen heterogen sein (De Mille et al., 2002; Palmatier et al., 1999; Rivera-Calimlim und Reilly, 1984).

Die genomische DNA aller Menschen ist zu 99,9% identisch. Lediglich 0,1% der genomischen DNA, was 3 Millionen Basenpaaren (base pairs; bp) entspricht, ist für die genetische Heterogenität, die kognitiven Fähigkeiten mit eingeschlossen, verantwortlich (Plomin et al., 2001). Im menschlichen Genom tritt etwa eine von 250-1000 Basen als differentes Allel auf, meist als SNP (Wang et al., 1998). Generell tritt nur ein kleiner Teil der SNPs in Exons auf. Basenaustausch innerhalb eines Exons bedeutet, dass es zu einem Aminosäureaustausch kommen könnte, der eine Veränderung der Proteineigenschaft nach sich zieht. Der Hauptanteil der Polymorphismen befindet sich in den sogenannten Introns und

in Desoxyribonukleinsäure (DNA)-Regionen, die nicht in „messenger“- (Boten-) Ribonukleinsäure (m-RNA) transkribiert werden (Plomin et al., 1999). In eine Polypeptidsequenz werden lediglich 2% der menschlichen DNA-Sequenz translatiert (Lander et al., 2001; Venter et al., 2001).

Um Gene, die komplexe Merkmale wie Kognition beeinflussen, zu identifizieren, gibt es mehrere Ansätze: Entweder wird das ganze Genom durch „Linkage“ (Kopplungs)- Analysen oder genomweite Assoziationsstudien untersucht, oder es findet eine Untersuchung von ausgewählten Genen in Allelassoziationsstudien statt.

Diese Strategien dienen der Entdeckung oder Einengung von chromosomalen Regionen, in denen funktionell bedeutsame DNA-Varianten vorkommen. Beide messen in differierender Weise eine Abweichung vom Mendelschen Gesetz der unabhängigen Vererbung.

Kopplungsstudien zielen im Rahmen von Familienstudien auf die Identifikation chromosomaler Regionen mit prädisponierenden Genen ab.

Assoziationsstudien können sehr geringe Geneffekte auffinden, da sie sehr sensitiv sind. Sie sind auf eine Auswahl überzeugender Kandidatengene angewiesen, oder benötigen Genomscans, welche sehr kostenintensiv sind. Beide Methoden ergänzen einander.

Kopplungsstudien dienen der Untersuchung des ganzen Genoms. Bei dieser Linkage-Analyse dienen DNA-Marker (Sequenzvariationen der genomischen DNA) als Wegweiser auf den Chromosomen. Von einer Kopplung spricht man, wenn ein DNA-Marker in der gleichen chromosomalen Region wie ein Gen liegt, das eine Verhaltensstörung beeinflusst. Marker und Verhaltensstörung treten in diesem Fall voneinander abhängig auf. Linkage-Analysen klären die Abhängigkeit des Auftretens eines Merkmals von einem DNA-Marker (Plomin et al., 1999). Diese Methode wird bei Verwandten durchgeführt (Vink und Boomsma, 2002). Es findet eine Prüfung statt, ob der DNA-Marker und das Merkmal bzw. der Phänotyp einer Familie öfter gemeinsam vererbt werden, als dies durch Zufall zu erwarten wäre (Bödecker und Ziegler, 2000; Plomin et al., 1999).

In einer die Intelligenz betreffenden genomweiten Linkage-Studie wurden 634 gesunde Geschwisterpaare aus einer niederländischen und einer australischen Untersuchung analysiert. Um chromosomale Regionen identifizierbar zu machen, die Variationen beim IQ erklären, wurden die Geschwisterpaare in einem genomweiten Scan genotypisiert und einem IQ-Test unterzogen. Es stellten sich zwei signifikante Regionen heraus: 2q24.1-2q31.1 und 6p25.3-

6p22.3. Bereiche, die mit diesen Regionen überlappen, sind bei kognitiven Beeinträchtigungen wie Autismus (2q21-33), Leseunfähigkeit und Leseschwäche (6p22.3-21.31) identifiziert worden (Posthuma et al., 2005).

Allelassoziationsstudien untersuchen den Zusammenhang zwischen Allelen und bestimmten Phänotypen, wobei es sich bei den Phänotypen meist um eine komplexe Erkrankung handelt. Bei üblicher Vorgehensweise wird eine Patientenstichprobe mit einer Kontrollgruppe gesunder Probanden verglichen. Dies ermöglicht eine Identifikation eines mit einer Erkrankung verknüpften genetischen Merkmals. Von einer Assoziation spricht man, wenn der spezifische genetische Marker häufiger bei erkrankten Personen in der analysierten Population vorkommt, als bei gesunden (Bödecker und Ziegler, 2000).

In Kognitionsstudien wird die Stärke der Beziehung zwischen den Varianten eines spezifischen Gens und dem Phänotyp Kognition getestet. Ist eine einzelne Variante der Sequenz (Allel) statistisch mit der Variation bei einem quantitativen Phänotyp (Intelligenztestergebnis) assoziiert, so ist das Allel mit dem Erscheinungsbild assoziiert und bezieht sich wahrscheinlich auf dessen genetischen Ursprung (Goldberg und Weinberger, 2004). Der Vorteil von Assoziationsstudien gegenüber Kopplungsstudien ist auf die Detektion von Suszeptibilitätsgenen mit geringen Geneffekten zurückzuführen. Oft treten genetische Variationen gemeinsam auf. Sie sind folglich nicht unabhängig voneinander, es besteht eine Korrelation. Diese Korrelation wird als Kopplungsungleichgewicht (Linkage Disequilibrium; LD) bezeichnet (Bickeböller und Fischer, 2000). Es wurde herausgefunden, dass Segmentstücke im menschlichen Genom mit starkem Kopplungsungleichgewicht existieren. Dies macht es möglich eine begrenzte Auswahl an SNPs zur Reduzierung der Gesamtzahl der zu untersuchenden SNPs vorzunehmen, ohne den Informationsgehalt zu reduzieren (Nakamura et al., 2005).

1.2.3 Assoziationsstudien zur Kognition

Bei einer Reihe von Genen konnte inzwischen eine Assoziation mit Kognition festgestellt werden. Vier Beispiele werden im Folgenden vorgestellt:

Das Apolipoprotein E (APOE) Gen wird als Kandidatengen für kognitive Fähigkeiten angesehen. Es liegt wie das NCAM1 Gen auf dem langen Arm des Chromosom 11q23 (Karathanasis, 1985; Rutishauser und Goridis, 1986). Mietus-Snyder und Mitarbeiter konnten

nachweisen, dass beide Gene miteinander gekoppelt sind (maximaler LOD-Score beträgt 15,9 bei einem Rekombinationsanteil von 0,028) (Mietus-Synder et al., 1990).

Apolipoproteine sind eine Unterfraktion der Lipoproteine und beeinflussen im zentralen Nervensystem Wachstum und Differenzierung von Neuronen. Das Epsilon 4 Allel des Apolipoprotein E Gens (APOE- ϵ 4) ist mit schlechterem räumlichen Vorstellungsvermögen, schlechterem Arbeitsgedächtnis und schlechterer Prozessgeschwindigkeit vor allem im Senium (beginnt zwischen dem 60. und 65. Lebensjahr) assoziiert (Farlow et al., 2004; Wilson et al., 2002). Beim Genotyp APOE- ϵ 4/4 schreitet der Abbau kognitiver Fähigkeiten im Alter schneller voran, als bei den Trägern der anderen Genotypen (Casselli et al., 2004).

Beim Genotyp APOE epsilon3/4 besteht ein erhöhtes Risiko, eine Alzheimer-Demenz zu entwickeln (Klages et al., 2003).

Hwang und Mitarbeiter zeigten bei 111 älteren Patienten mit der Diagnose Major Depression bei denen der Mini-Mental-State-Test (MMST) durchgeführt wurde, dass Träger des APOE- ϵ 4-Allels eine erhöhte Selbstmordrate aufweisen ($p= 0,012$) und beim Test signifikant weniger Punkte erzielten ($p= 0,021$). Ein Zusammenhang zwischen APOE- ϵ 4 und der Depression konnte nicht nachgewiesen werden (Hwang et al., 2006).

Eine Untersuchung an 134 jungen Frauen, die mit dem Wechsler Intelligenztest getestet wurden, zeigte wiederum bei Trägerinnen des APOE- ϵ 4-Allels moderat bessere Werte beim Handlungs-IQ. Dies bestätigt die Vermutung, dass die kognitive Beeinträchtigung durch APOE- ϵ 4 altersabhängig ist (Yu et al., 2000).

Eine aktuelle Studie mit 161 älteren Männern, die nicht dement waren, zeigte beim *Cognitive Abilities Screening Instrument* (CASI C-2.0) einen möglichen Einfluß des APOE- ϵ 4-Allels auf bestimmte kognitive Bereiche (Tsai et al., 2008).

NCAM1 hat die Fähigkeit Zell-Zellkontakte im neuralen Gewebe zu modifizieren und ist somit mitverantwortlich für den Zusammenhang von synaptischer Plastizität und Gedächtnis (Hoffman, 1998; Martin et al., 2000; Rose und Stewart, 1999). Dies macht einen Vergleich mit Muscarinergen Rezeptoren interessant, die ebenfalls an Gehirnfunktionen wie Lernen und Gedächtnis beteiligt sind (Dick et al., 2007). Bereits zwei Assoziationsstudien (Zwillings- und Familienstudie aus Minnesota; Niederländische Familienstudie) belegen, dass das CHRM2 Gen mitverantwortlich für Intelligenz sein könnte (Comings et al., 2003; Gosso et al., 2006).

In einer aktuellen Studie zum CHRM2 Gen in Bezug auf seine Auswirkung auf Intelligenz wurden Probanden akquiriert, die entweder ambulant oder stationär in einem von sechs über die Vereinten Staaten verteilten Alkoholsuchtzentren behandelt wurden und über eine große

Familie verfügten. Die Familien konnten unterschiedlicher Herkunft sein. Anschließend wurde der HAWIE-R durchgeführt (Dick et al., 2007).

Insgesamt wurden 27 SNPs auf ihre Assoziation zu Intelligenz untersucht. Acht SNPs zeigten signifikante Ergebnisse beim Handlungs-IQ ($p < 0.05$). Bei trockenen Alkoholikern und von der Depression geheilten Probanden zeigten sich bei sieben dieser acht SNPs auch signifikante Assoziationen. Demnach gehen die Forscher davon aus, dass die Ergebnisse der untersuchten SNPs im CHRM2 Gen unabhängig von den beiden genannten Krankheiten zu beurteilen sind, und dass die Ergebnisse die Bedeutung vom CHRM2 Gen für die Intelligenz untermauern (Dick et al., 2007).

NCAM1 ist durch seine Herstellung von Zellkontakten an der Bildung von Axonenbündeln und dem Auswachsen der Axone beteiligt. Diese Fähigkeiten machen NCAM1 zu einem wichtigen Faktor während der Ontogenese des Nervensystems (Cremer et al., 1997; Tomaszewicz et al., 1993). Auch Plexin B3 (PLXNB3) ist ein potenter Stimulator des Neuritenwachstums (Rujescu et al., 2007), womit sein Gen PLXNB3 für Gehirnentwicklung und cerebrale Verknüpfung wichtig sein könnte.

Genotypisiert wurde PLXNB3 bei 42 an Schizophrenie erkrankten Personen und bei 303 gesunden Probanden. Der Haplotyp A zeigte beim Wortschatztest (WST) die besseren Ergebnisse ($p = 0,0004$). Drei voneinander unabhängige Gruppen zeigten diesen Effekt: gesunde Männer, gesunde Frauen und schizophrene Männer (Rujescu et al., 2007).

Das Protein „brain-derived neurotrophic factor“ (BDNF) ist ebenfalls ein Mitglied der Familie der Nervenwachstumsfaktoren. Es wirkt als Neurotransmitter und spielt eine wichtige Rolle in der Hirnentwicklung und bei kognitiven Funktionen (Tsai et al., 2004). Der SNP 169G-A auf dem BDNF-Gen des Chromosom 11p13 bewirkt einen Valin66-zu-Methionin (V66M) Austausch. Mit einer schlechteren Gedächtnisleistung wurde bereits das M66 Allel in Verbindung gebracht (Egan et al., 2003). Von der Aktivität abhängige Unterschiede konnten gemäß der Sekretion von BDNF festgestellt werden. Hierbei war die Aktivität des Met-Allels geringer (Egan et al., 2003). In einer anderen Studie mit gesunden jungen Frauen hatten Val-Homozygote einen höheren Handlungs-IQ als Val/Met-Träger (Tsai et al., 2004). Die Ergebnisse der Studien deuten darauf hin, dass Val-Allelträger bessere kognitive Leistungen als Met-Allelträger aufweisen.

Gene die einen Einfluss auf synaptische Plastizität und Gedächtnis haben (CHRM2), sowie an der Ontogenese des Nervensystems beteiligt sind (APOE, BDNF, PLXNB3) und so Funktionen zeigen, die mit denen des NCAM1 Gens vergleichbar sind, konnten bereits mit verbesserter kognitiver Leistung assoziiert werden. Dies macht auch eine Assoziation des NCAM1 Gens mit Kognition denkbar.

1.3 NCAM1 und Intelligenz

Der Hippocampus als Teil des Großhirns ermöglicht Neues zu lernen und wird als das „Koordinationszentrum“ des Langzeitgedächtnisses bezeichnet (Dudel et al., 1996; Zilles und Rehkämper, 1994). Die Gedächtnisbildung im Hippocampus wäre ohne Umbauprozesse an Synapsen nicht möglich (Zilles und Rehkämper, 1994).

Das in dieser Arbeit untersuchte NCAM1 Gen ist mit seinen adhäsiven Eigenschaften einer der viel versprechenden Kandidaten für die synaptische Plastizität (Definition, siehe 1.3.2) (Hoffman, 1998; Martin et al., 2000; Rose und Stewart, 1999) und damit möglicherweise essentiell für die Bildung von Gedächtnis (Martin et al., 2000).

1.3.1 Der Hippocampus als Mediator für Lernen und Gedächtnis

Der Hippocampus und andere mit ihm in Verbindung stehende Strukturen des Limbischen Systems haben eine Bedeutung bei Lern- und Gedächtnisfunktionen (Zilles und Rehkämper, 1994).

Der Hippocampus ist ein Bestandteil des Archicortex und ist der medial gelegene Teil des Telencephalon (Großhirn). Er liegt im Gyrus dentatus und dem medialen Teil des Gyrus parahippocampalis (Hippocampalis retrocommissuralis).

Zum Hippocampus gehören mehrere Strukturen: der Gyrus dentatus, das Cornu ammonis (Ammonshorn) und das Subiculum. Es wird auch Hippocampus Formation genannt. Das Ammonshorn wird zusätzlich in weitere Subregionen, CA1-CA4, eingeteilt (Abb.4) (Zilles und Rehkämper, 1994).

Der Hippocampus ist eingebunden in das Hippocampus-System, bestehend aus bidirektionell verbundener parahippocampaler Region, zerebralen kortikalen Regionen und dem Hippocampus selbst (Fentrup, 2003).

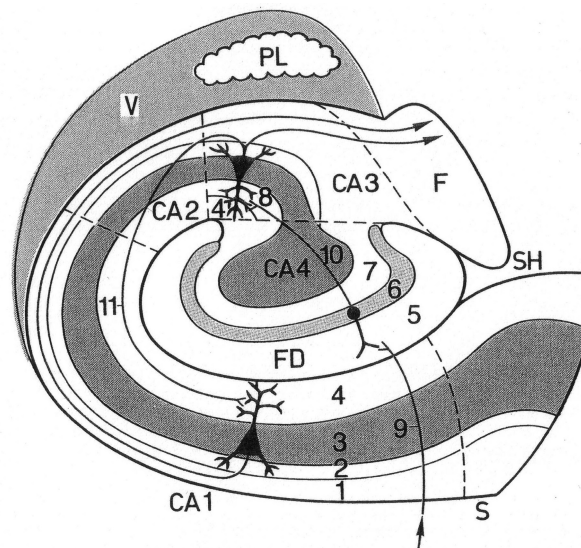


Abb.4: Regionen und Schichten des Hippocampus (Zilles und Rehkämper, 1994)

CA 1-CA 4 Regionen des Ammonshorn	3 Stratum pyramidale
PL Plexus choroideus	4 Strata radiatum und lacunosum-moleculare
F Fimbria	5 Stratum moleculare der Fascia dentata
V Unterhorn des Seitenventrikels	6 Stratum granulosum der Fascia dentata
SH Sulcus hippocampi	7 Stratum multiforme der Fascia dentata
S Subiculum	8 Stratum lucidum von CA 3
FD Fascia dentata	9 Tractus perforans
1 Alveus	10 Moosfasern
2 Stratum oriens	11 Schaffer-Kollaterale

Das Hippocampus-System erfüllt vermutlich vier Aufgaben. Es schafft Verbindungen zwischen den einzelnen Stimuli, kodiert schnell Stimuli und Ereignissequenzen, verbindet „alte“ Inhalte mit neuen Stimuli, reetabliert kortikale Inhalte und ist als Konsequenz in der Lage, „Regeln“ auf neue Situationen oder Aufgaben zu übertragen (Eichenbaum, 2000).

Die Rolle des Hippocampus scheint auf jeden Fall kurzfristig vermittelnd zu sein. Er ist zwar an der Initiierung der Konsolidierung des Langzeitgedächtnisses beteiligt, es wird aber nicht zwingend angenommen, dass der Hippocampus Speicher für die Information ist, die er prozessiert. Weiterhin bleibt umstritten, in welchem Ausmaß der Hippocampus für den Abruf von Gedächtnis notwendig ist (Eichenbaum, 2000).

Damit hätte der Hippocampus eine allgemeine integrative Funktion im Rahmen bestimmter Gedächtnismodi in einem zeitlich begrenzten Rahmen. Gemeinsam mit anderen Regionen des hippocampalen Systems bildet er das „Koordinationszentrum“ des Langzeitgedächtnisses (Dudel et al., 1996).

Bei einer beidseitigen Zerstörung des Hippocampus führt dies zum Verlust der Möglichkeit, Neues zu lernen. Das Langzeitgedächtnis bleibt jedoch nahezu unverändert (Kahle, 1991).

Der Hippocampus wird als eine Struktur gesehen, die Erinnerungen verarbeitet, wobei aber die Gedächtnisinhalte an verschiedenen anderen Stellen in der Großhirnrinde gespeichert werden (Trepel, 2008).

1.3.2 Synaptische Plastizität, Langzeitpotenzierung und Gedächtnis

Umbauprozesse an Synapsen werden unter dem Überbegriff der synaptischen Plastizität zusammengefasst. Im Hippocampus des erwachsenen Gehirns entstehen neue Verbindungen zwischen bestehenden Nervenzellen sobald ein Erwerb neuer Gedächtnisinhalte stattfindet (Trepel, 2008).

Das Phänomen der synaptischen Plastizität kann nicht nur im Hippocampus nachgewiesen werden und macht deutlich, dass Synapsen keine statischen Strukturen wie einfache Schalter sind. Im Gegenteil sind Synapsen dynamische Gebilde, die sich durch Änderung ihrer Effektivität an funktionelle Bedingungen anpassen können (Zilles und Rehkämper, 1994).

Unter einer Langzeitpotenzierung (Long-Term-Potential; LTP) als Form der synaptischen Plastizität versteht man eine lang andauernde Verstärkung der synaptischen Übertragung bei wiederholter tetanischer Reizung. Die bisher am besten untersuchte Form der LTP befindet sich an den Synapsen der Pyramidenzellen in der CA1-Region des Hippocampus (Abb.4, S.20) (Whitlock et al., 2006).

Folgender Vorgang findet statt: nach einer ersten Reizung kommt es zu einer bestimmten Größe der Reizantwort in den CA1-Pyramidenzellen. Auch wenn eine erneute Reizung gleicher Intensität erst nach Wochen auftritt, kommt es zu einer Vergrößerung der Reizantwort (Whitlock et al., 2006). Die Synapsen steigern ihre Übertragungseigenschaften in einem „Lernprozeß“ deutlich und anhaltend (meßbar im EEG). Die LTP wird daher oft als zelluläre Grundlage für Lernen und Gedächtnis angesehen (Sandi, 2004; Zilles und Rehkämper, 1994).

Über den Zusammenhang zwischen synaptischer Plastizität und Gedächtnis wurde folgende Hypothese aufgestellt: „Aktivitätsabhängige synaptische Plastizität wird während der Bildung von Gedächtnis in den betreffenden Synapsen hervorgerufen, und Plastizität ist sowohl notwendig als auch ausreichend für die entsprechende Informationsspeicherung in dieser Hirnregion“ (Martin et al., 2000).

Im Zuge dieser Hypothese wird nach Substanzen oder Vorgängen gesucht, die bei den entsprechenden synaptischen Veränderungen eine Rolle spielen könnten; NCAM1 ist mit

seiner Fähigkeit zur Modifikation von Zell-Zellkontakten im neuralen Gewebe einer der viel versprechenden Kandidaten (Hoffman, 1998; Martin et al., 2000; Rose und Stewart, 1999).

1.3.3 Das neurale Zelladhäsionsmolekül NCAM1

Zelladhäsionsmoleküle wurden erstmals 1983 von Edelman beschrieben und untersucht. Es handelt sich um membranständige Zelloberflächenglykoproteine, die der Adhäsion von Zellen mit der umgebenden Extrazellulärmatrix dienen (Edelman et al., 1983). Außerdem spielen sie bei der Zellinteraktion, der Zellerkennung und der Zelldifferenzierung eine Rolle (Gumbiner, 1996). Als Transmembranproteine können Zelladhäsionsproteine auf beiden Seiten der Zellmembran Bindungen eingehen und so Informationen zwischen Komponenten der Extrazellulärmatrix und des Cytoskeletts weiterleiten. Sie beteiligen sich an der dreidimensionalen Stabilität einer Zelle (Gumbiner, 1996).

Zelladhäsionsmoleküle lassen sich bezüglich ihrer Primärstruktur in vier Proteinfamilien unterteilen: Integrine, Selektine, Cadherine und die Immunglobulin-Superfamilie mit NCAM1 (Aplin et al., 1998). Integrine sind Heterodimere die aus einer α - und einer β -Kette bestehen, die nicht-kovalent miteinander verknüpft sind. Sie sind beteiligt an Zellwachstum, Differenzierung, Immunantworten, Wundheilung und an pathologischen Prozessen wie der Tumorentstehung (Dogic et al., 1999). Selektine sind stark glykolisierte Membranproteine, deren extrazellulärer N-Terminus eine Lektin-Domäne enthält. Sie vermitteln heterotypische Zell-Zell-Adhäsion durch Bindung an sialysierte Glykane und ermöglichen den initialen Kontakt von Leukozyten mit dem Endothel. Dies macht sie bei Entzündungsprozessen bedeutend (Vestweber und Blanks, 1999). Cadherine sind homotypische Zell-Zell-Adhäsionsmoleküle die in spezialisierten Membranbereichen wie der Zonula adhaerens und den Desmosomen von Epithelzellen lokalisiert sind. Sie sind wichtig für die Entwicklung und den Erhalt von Gewebestrukturen (Geiger und Ayalon, 1992).

Die Gruppe der Immunglobulin-Superfamilie, die neben NCAM1 auch aus Neuroglia-Cam (Ng-Cam oder L1) und TAG-1 (transient exprimiertes axonales Oberflächen-Glycoprotein) besteht, umfasst Transmembran- und membranassoziierte Glycoproteine, die eine Ähnlichkeit mit den Immunglobulin-Klassen der Antikörper aufweisen (Nicholls, 2002). NCAM1 wurde zum ersten Mal beschrieben, nachdem es in embryonalem Nervengewebe von Hühnern entdeckt worden war (Thiery et al., 1977). Die Immunglobulin (Ig)-ähnlichen Domänen bestehen in der Regel aus 55-75 Aminosäuren, die jeweils eine spezifische Disulfid-Brücke enthalten (Vaughn und Bjorkman, 1996) (Abb.6, S.25).

NCAM1 ist an der Herstellung von Zellkontakten beteiligt, und hilft somit bei der Bildung von Axonenbündeln und dem Auswachsen der Axone. Diese Fähigkeiten machen NCAM1 zu einem bedeutsamen Faktor während der Ontogenese des Nervensystems (Cremer et al., 1997;Tomasiewicz et al., 1993). Weiterhin ist es im erwachsenen Organismus an der Modifikation von Zell-Zellkontakten beteiligt, indem es durch Eingehen von spezifischen Verbindungen sowohl eine Zell-Zell-Adhäsion als auch eine De-adhäsion der Zell-Zell-Verbindung an der Synapse bewirkt (Hoffman, 1998;Martin et al., 2000;Rose und Stewart, 1999).

Im adulten Organismus wird NCAM1 vor allem in neuronalen Geweben exprimiert. Hierzu gehören Gliazellen und Neuronen im Hippocampus und in sensorischen Nerven (Schuster et al., 2001), aber auch andere zentralnervöse Strukturen (Mirsky et al., 1986;Rutishauser und Landmesser, 1996). NCAM1 wurde aber auch in vielen nicht-neuronalen Zellen, z.B. Muskelzellen gefunden (Alberts et al., 1999).

1.3.4 Genstruktur und Isoformen von NCAM1

Das NCAM1 Gen befindet sich auf dem Chromosom 11q23 (Rutishauser und Goridis, 1986). Es besteht aus mindestens 19 Exons und hat eine Länge von 316 Kilobasen (kb) (Yang et al., 2007) (Abb.5).

Durch alternatives Spleißen der prä-mRNA, entstehen drei unterschiedliche Isoformen von NCAM1 (Owens et al., 1987). Entsprechend ihrem molekularen Gewicht spricht man von NCAM-120, NCAM-140 und NCAM-180 (Goridis und Brunet, 1992).

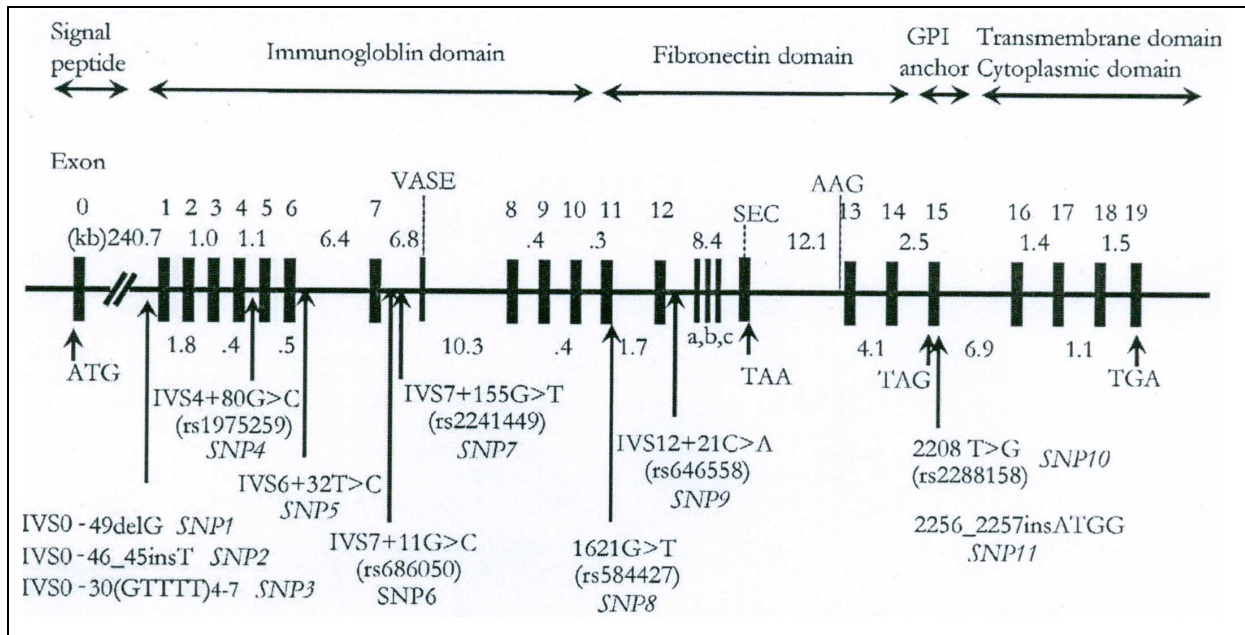


Abb.5: humanes NCAM1 Gen (Arai et al., 2004)

Oben: Schematische Darstellung des Moleküls

Unten: Schematische Darstellung der Exon-Intron-Organisation des Gens

Exons 0-14 sind bei allen NCAM1 Proteinisoformen gleich. NCAM-180 ist ein Transmembranprotein, welches zusätzlich Exon 16, 17, 18 und 19 nutzt. NCAM-140 ist ein Transmembranprotein, welches zusätzlich Exon 16, 17 und 19 nutzt. NCAM-120 hat keine Transmembrandomäne und ist über Glycosylphosphatidylinositol (GPI) an die Membran gekoppelt. Es nutzt zusätzlich Exon 15. Die Lokalisation des Start-Codons (ATG), der Stop-Codons (TAA und TAG) sowie die Länge (Kilobasen [kb]) der Introns sind angegeben. VASE (variable alternative spliced exon), SEC (secreted exon) und a, b, c, und Triplett AAG (mini-exons) sind angegeben.

Extrazellulär haben alle drei NCAM1 Isoformen prinzipiell den gleichen Aufbau: sie besitzen ein 5' Signalpeptid, fünf Immunglobulin-Domänen und zwei Fibronectin III-Bausteine (Cunningham et al., 1987) (Abb.6).

Das Signalpeptid, dem das am Ribosom zuerst gebildete N-terminale Ende vorausgeht, dient generell der Markierung des Proteins für den Transport zur Cytoplasmamembran und durch diese hindurch (Heijne von, 1990).

Frei und Mitarbeiter untersuchten die funktionellen Aufgaben der fünf Ig-Domänen der NCAM1 Moleküle, indem die Ig-Domänen einzeln synthetisiert und getestet wurden. Es zeigte sich, dass immer bestimmte Ig-Zellomänen auf verschiedene Aufgaben spezialisiert sind: so wird z.B. die Zelladhäsion v.a. von den Ig-Domänen I und II beeinflusst. Weiterhin wurden die wichtigsten Ig-Domänen für das Neuritenwachstum, die Bildung von Axonenbündeln, die Signaltransduktion und die Zellerkennung bestimmt (Frei et al., 1992).

Alle Isoformen weisen extrazellulär zwei Fibronectin III-Bausteine mit unterschiedlicher Homologie der FN III Domänen zwischen den Isoformen auf (Barthels et al., 1987). Fibronectin besteht aus zwei Polypeptidketten, die ein disulfidverbrücktes Dimer bilden. Es enthält Bindungsstellen für Kollagen, Heparin, Fibrin und für Zelloberflächenproteine und

nimmt offensichtlich über seine Fähigkeit zur Adhäsion Einfluss auf die Zellbeweglichkeit (Vaheri, 1980).

Intrazellulär unterscheiden sich die drei NCAM1 Isoformen (Abb.6). NCAM-120 ist durch Glycosylphosphatidylinositol (GPI) in der Zellmembran verankert. Die transmembranen Proteine NCAM-140 und NCAM-180 reichen mit unterschiedlich langen Domänen ins Cytoplasma (Arai et al., 2004; Sandi, 2004). Die intrazelluläre Vergrößerung des NCAM-180 ermöglicht dem Molekül die Interaktion mit dem Cytoskelett (Seyffert, 2003).

NCAM-140 wird auf humanen Leukozyten exprimiert und in diesem Zusammenhang als CD56 bezeichnet (Lanier et al., 1991). NCAM-140 beinhaltet zudem auf der vierten Ig-Domäne eine zusätzliche Aminosäuresequenz aus zehn Aminosäuren die als VASE (variable alternative spliced exon) bezeichnet wird (Small und Akeson, 1990). VASE wird entwicklungspezifisch exprimiert. Im embryonalen und postnatalen Stadium tritt es nicht auf, wird dann aber bei der Entwicklung zum adulten Organismus zunehmend im Hippocampus und olfaktorischen System exprimiert (Walsh et al., 1992).

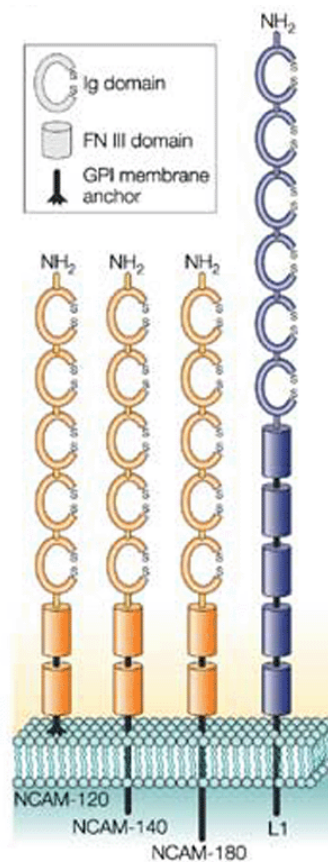


Abb.6: Die drei Isoformen des NCAM1 und L1 (Sandi, 2004)

Ein weiteres transmembranes Glycoprotein ist L1, das nicht zu der Gruppe der NCAM1-Proteine gehört, jedoch oft in diesem Zusammenhang erwähnt wird. Es enthält extrazellulär sechs Immunglobulin-ähnliche und fünf Fibronectin Typ III-Bausteine. In Kontaktzonen zwischen benachbarten Axonen und in Wachstumskegeln wird L1 hauptsächlich gefunden, wo es viele zellulären Funktionen beeinflusst (Sandi, 2004) (Abb.6).

Die drei NCAM1 Isoformen und L1 verbinden sich homophil (NCAM1 - NCAM1 oder L1 - L1) oder/und heterophil (NCAM1 - L1) über extrazelluläre Domänen (Cunningham et al., 1987; Hoffman und Edelman, 1987). Die meisten Adhäsionsvorgänge werden über die Ig-ähnlichen Domänen, die glykolisiert sind, vermittelt (Varki, 1993).

1.3.5 NCAM1 und Polysialinsäure (PSA)

Die Adhäsionsfähigkeit des NCAM1 wird durch eine polymere Polysialinsäurekette (PSA) beeinflusst (Sandi, 2004). PSA ist für die Ausbildung funktioneller Netzwerke von Neuriten notwendig. So wachsen die Neuriten des Rückenmarks ohne PSA geradlinig und unverzweigt; wird PSA exprimiert, verzweigen sich die Neuriten und bilden Netzwerke (Acheson et al., 1991).

Der monomere Baustein der PSA ist die Sialinsäure. Sie ist ein saurer Neunerzucker und ist als terminaler Bestandteil zahlreicher Glykoproteine der Hauptträger der negativen Oberflächenladung der tierischen Zelle. Es gibt zwei Polysialyltransferasen für die Biosynthese der PSA: ST8Sia-II und ST8Sia-IV (Weinhold et al., 2005). Beide Polysialyltransferasen können alle NCAM1 Isoformen binden und das Neuritenwachstum fördern (Franceschini et al., 2001).

In der PSA sind die Sialinsäuremonomere in glycosidischer Bindung aneinandergereiht. Die Länge der entstehenden Kette kann mehr als 100 Einheiten enthalten. Durch die negative Ladung und den stark hydrophilen Charakter des Polymers entsteht eine große Hydrathülle. So macht die PSA aus ihrem Trägermolekül eine „Abstand-gebietende“ Struktur (Gerardy-Schahn, 2005) (Abb.7).

NCAM1 ist bisher als einziger Träger der PSA bekannt (Gerardy-Schahn, 2005).

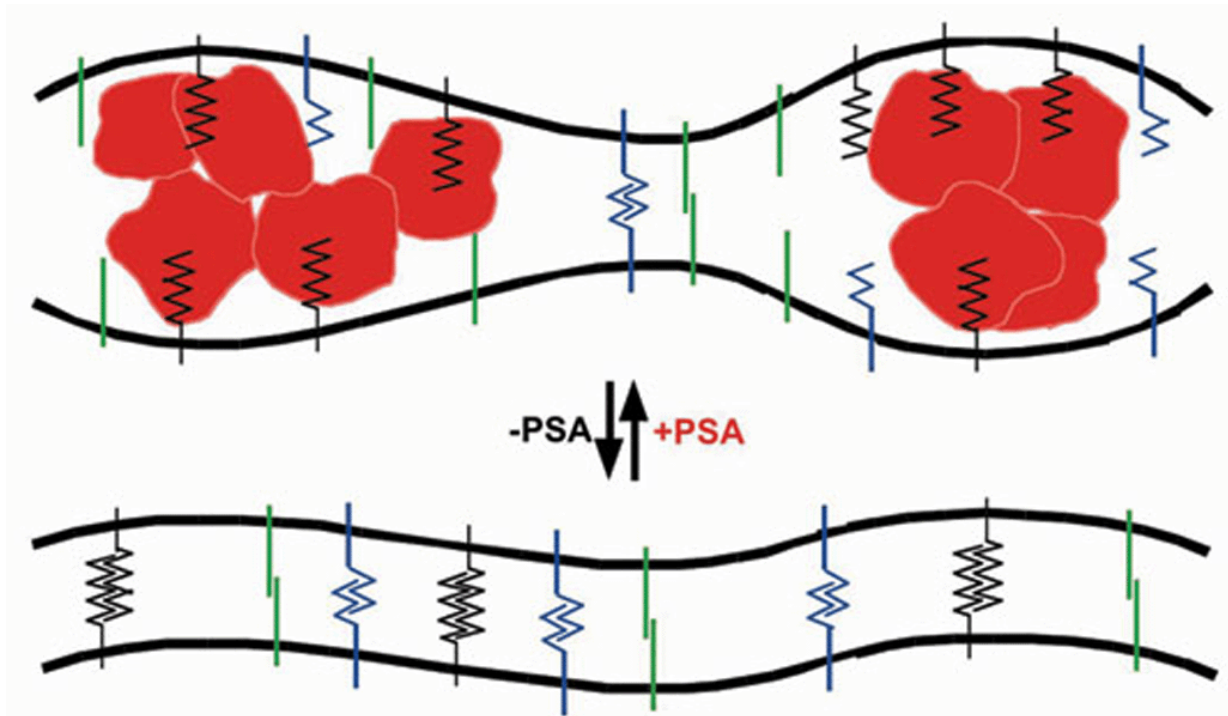


Abb.7: Modifikation des NCAM1 mit PSA (Rutishauser et al., 1988)

Die Modifikation des NCAM1 Moleküls mit PSA (Volumenvergrößerung ist als Kreis skizziert) führt zu einer funktionellen Umkehr der Adhäsion und einem vergrößerten Zell-Zellabstand.

Zwei NCAM1 Moleküle können aufgrund dieses Effektes schlechter miteinander assoziieren. Es wurde gezeigt, dass ihre homophilen Interaktionen um den Faktor 4 verringert werden (Hoffman und Edelman, 1987).

Homophile und heterophile Verbindungen von NCAM1 und L1, die zu einer Zell-Zell-Adhäsion führen, können demnach durch PSA aufgehoben werden. Dies führt zu einer De-Adhäsion der Zell-Zell-Verbindung an der Synapse (Abb.8).

PSA wird verstärkt während der Gehirnentwicklung gebildet. Im Nervensystem eines Erwachsenen ist es auf Regionen begrenzt, in denen permanent eine synaptische Plastizität zu beobachten ist, wie dies im Bulbus olfactorius, dem Gyrus dentatus und dem Hypothalamus der Fall ist (Sandi, 2004; Seki und Arai, 1993).

PSA spielt folglich eine wichtige Rolle beim räumlichen Lernen und beim hippocampalen Langzeitgedächtnis (Becker et al., 1996; Venero et al., 2006).

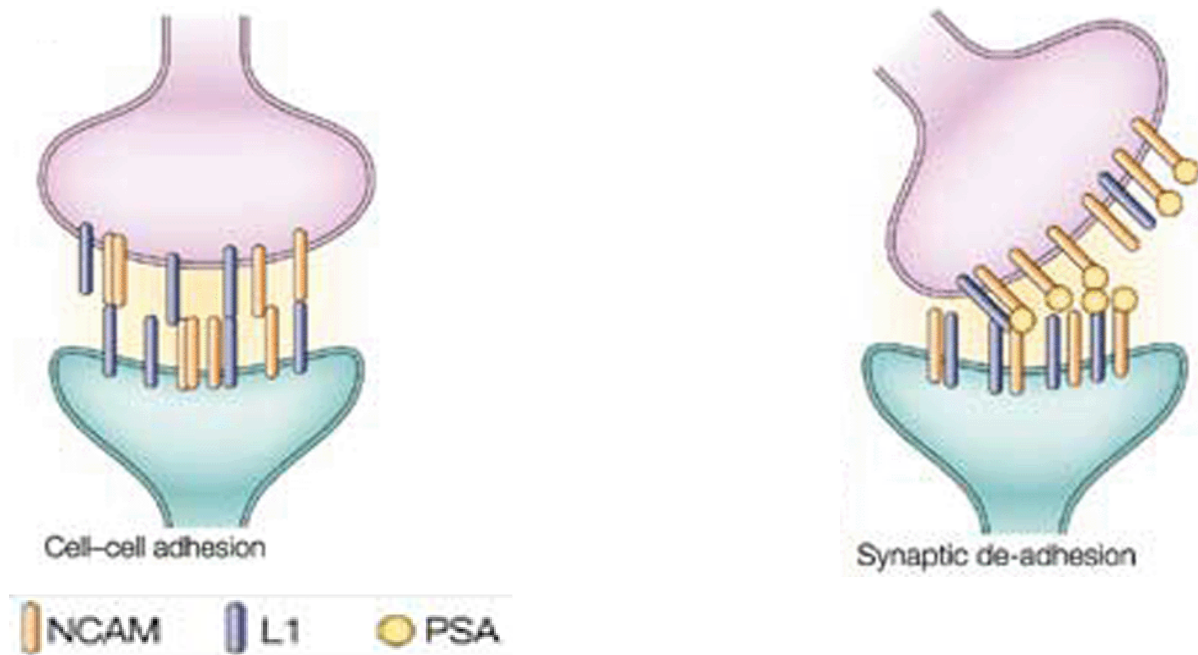


Abb.8: Zell-Zell-Adhäsion und synaptische De-Adhäsion (Sandi, 2004).

Links: Zell-Zell-Adhäsion durch homophile und heterophile Verbindungen von NCAM1 und L1;
 Rechts: synaptische Zell De-Adhäsion durch Anlagerung von PSA

1.3.6 Das neurale Zelladhäsionsmolekül und Kognition

Um die Rolle von NCAM1 im Zusammenhang mit synaptischer Plastizität und Gedächtnis auf Verhaltensebene zu prüfen, wurden von verschiedenen Forschungsgruppen Studien durchgeführt.

Murphy et al. und O`Connel et al. konnten nach spezifischen Lernvorgängen eine Erhöhung von PSA-NCAM1 bzw. PSA im hippocampalen System finden. Gezeigt wurde dies mit Ratten, die im „*Morris water maze*“-Test (= räumlicher Gedächtnistest für Ratten (Fentrup, 2003)) getestet wurden. Es wurden die Ergebnisse von drei Gruppen verglichen: Ratten, die lediglich fünf Versuche hatten, eine unter der Wasseroberfläche verborgene, ortskonstante Zielplattform direkt anzuschwimmen (zwischen jedem Versuch lagen 300 Sekunden), Ratten die zusätzlich zwei weitere fünf Versuche hatten (24 und 48 Stunden später) und Kontrollratten, die sich genauso lang wie die zweite Gruppe im Becken aufhielten, wobei aber die versteckte Plattform fehlte (Murphy et al., 1996; O`Connel et al., 1997).

Cremer et al. konnten als erstes „NCAM1-ko Mäuse“ (*knock-out* Mäuse; Nullmutation eines entsprechenden Gens) entwickeln. Hier lässt sich NCAM1 im peripheren und zentralen Nervensystem der Mäuse nicht mehr nachweisen. Unerwarteter Weise waren die NCAM1-*knock-out* Tiere lebens- und fortpflanzungsfähig und zeigten abgesehen von einem etwa 36%

kleineren Bulbus olfactorius (Riechkolben) sowie einer Reduktion des Gehirngewichts um 10% nur Defizite im Verhalten und in der Lernfähigkeit (Cremer et al., 1994).

In drei unterschiedlichen Studien mit konventionellen NCAM1-*knock-out* Mäusen wurde der *Morris water maze*-Test durchgeführt, um zu klären, ob das räumliche Orientierungsvermögen der Tiere intakt ist. Aus allen drei Untersuchungen ging ein abweichendes Ortsverhalten der NCAM1- *knock-out* Mäuse im Vergleich zu den wt-Kontrollen (*wild-type* Mäuse; Wildtypen) hervor, denn am Ende der Lernphase schwammen die ko-Mäuse in allen drei Studien deutlich langsamer zu der versteckten Plattform (Cremer et al., 1994;Stork et al., 1997;Stork et al., 2000).

Fentrup entwickelte 2003 in einer weiteren Studie konditionale ko-Mäuse (16 männliche ko-Mäuse). Diese exprimieren erst ab der dritten postnatalen Woche im Telencephalon weniger NCAM1 als die wt-Kontrollmäuse (15 männliche wt-Nestgeschwister). Er führte mit den Mäusen den *Morris water maze*-Test durch.

Es konnte nicht bestätigt werden, dass NCAM-ko Mäuse ein, vor allem im räumlichen Bereich, deutlich eingeschränktes Langzeitgedächtnis haben. Subtile Einschränkungen in der kurz- und längerfristigen Suchpräzision sowie ein verändertes, mehr zur Mitte hin orientiertes Explorationsverhalten und eine längerfristige Konsistenz in der individuellen Verhaltensanpassung wurden nachgewiesen.

Ingesamt ließen die Ergebnisse der Untersuchung vermuten, dass bei den konditionalen ko-Mäusen eine eingeschränkte synaptische Plastizität vorliegt, die zu einer Verhaltensstarrheit führt (Fentrup, 2003).

Da die Inaktivierung des NCAM1 Gens und das damit verbundene Verschwinden von PSA-NCAM1 in einer Mauslinie lediglich zu einer Verkleinerung des Riechkolbens und Gehirns führte, untersuchten Weinhold et al. die Rolle der PSA an PSA-*knock-out* Mäusen. Einzelmutanten der beiden Gene (ST8SiaII und -IV) waren wie die NCAM1-*Knockouts* lern- und verhaltensauffällig. Weinhold et al. konnten durch Verpaarung der beiden Einzelmutanten eine NCAM1-positive und PSA-negative (ST8SiaII und -IV- *knock-out*) Mausmutante entwickeln, die als Doppel-*Knockout* bezeichnet wurde.

In der postnatalen Entwicklung blieben diese Tiere stark zurück und mehr als 80% starben vor dem Erreichen der vierten Lebenswoche (Weinhold et al., 2005).

NCAM1 geht neben PSA auch mit dem an der Zelloberfläche liegenden Rezeptor für den Fibroblastenwachstumsfaktor (FGFR) Verbindungen ein. FGFR ist eine Rezeptor-Tyrosin-Kinase, die nach Bindung des Liganden durch Autophosphorylierung aktiviert wird und intrazellulär eine Signalkaskade mit nachfolgender Genaktivierung in Gang setzt. Die Aktivierung von FGFR ermöglicht wichtige Funktionen von Nerven, die Lernen, Gedächtnisbildung und Nervenregeneration ermöglichen (Hansen et al., 2008). NCAM1 bindet durch seine extrazellulären Fibronectin III-Bausteine an FGFR. Inzwischen wurden vier Peptidsequenzen der NCAM1 Fibronectin III-Bausteine als Liganden für FGFR bestimmt: FGL, BCL, dekaCAM und FRM (Hansen et al., 2008).

In einer Studie wurde gezeigt, dass das Peptid FGL, welches auf dem zweiten NCAM1 Fibronectin III-Baustein lokalisiert ist, die Phosphorylierung von FGFR bewirkt, ohne dass eine homophile Verbindung von NCAM1 mit FGFR entsteht. FGL induzierte bei Ratten nach einer Lernphase des *Morris water maze*-Tests eine Verbesserung des Langzeitgedächtnisses. In der Primärkultur der hippocampalen Neurone verbesserte FGL durch eine Aktivierung des FGFR die präsynaptische Funktion und trieb die Ausbildung von Synapsen voran (Cambon et al., 2004).

Diese Ergebnisse liefern einen experimentellen Hinweis darauf, dass die Behandlung mit einem pharmakologischen Mittel, das die NCAM1 Funktion imitiert, zu einer Potenzierung des Langzeitgedächtnisses führen könnte. Weiterhin zeigt es, dass dieses Peptid kognitive Effekte beeinflussen könnte, indem es die Ausbildung von Synapsen und so die synaptische Funktion erleichtert (Cambon et al., 2004).

Diese Studien zeigen, dass NCAM1 sowie Faktoren, die seine Funktion beeinflussen, über Effekte auf die Zell-Zell-Adhäsion Auswirkungen auf die Kognition haben können.

1.3.7 NCAM1 und Stress

Da NCAM1 und L1 einen Einfluss auf die Ontogenese des Nervenwachstums sowie die synaptische Plastizität besitzen (Hoffman, 1998; Martin et al., 2000; Rose und Stewart, 1999), ist davon auszugehen, dass sie für kognitive Leistung bedeutend sein können.

Es konnte bereits gezeigt werden, dass Stress einen tief greifenden Effekt auf die Gehirnstruktur und -funktion hat (Bremner, 1999; Kim et al., 2007; Lupien et al., 1998; Magariños und McEwing, 1995; Sandström et al., 2005). NCAM1 und L1 werden bei

diesen auf das Gehirn ausgeübten Stresseffekten als wichtige Vermittler gesehen (Koo et al., 2003; Sandi et al., 2001; Sandi, 2004; Sandi und Touyarot, 2006).

Waren Ratten chronischem Stress ausgesetzt, zeigte sich im Rahmen der Atrophie eine signifikante Verkürzung und geringere Verzweigung der apikalen Dendriten der pyramidalen CA3 Neurone (Magariños und McEwing, 1995). Ratten die zwei Stunden langem Stress ausgesetzt wurden, wiesen *in vitro* eine Reduktion von Schaffer-Kollateralen auf und zeigten ein beeinträchtigt räumliches Gedächtnis beim *Morris water maze*-Test (Kim et al., 2007).

Die Wirkung von Stress auf die Hirnmorphologie und kognitive Fähigkeiten des Menschen konnte zum ersten Mal eine Studie an älteren Menschen deutlich machen, die zeigte, dass durch Stresseinwirkung (messbar an hohen Glukokortikoidkonzentrationen) erstens eine Atrophie im Hippocampus entstanden war und zweitens kognitive Defizite auftraten (Lupien et al., 1998). Studien an Probanden mit posttraumatischen Stress (Vietnam Veteranen, Missbrauch in der Kindheit) zeigten im MRT ebenfalls eine Volumenreduktion des Hippocampus, sowie Defizite des Gedächtnisses bei den Vietnam Veteranen (Bremner, 1999).

Personen mit durch chronischen Stress ausgelöstem Burnout-Syndrom schnitten bei Gedächtnisleistungstests sowie bei auditiven und visuellen Aufmerksamkeitsprüfungen signifikant schlechter ab als die gesunde Vergleichsgruppe (Sandström et al., 2005).

Den Zusammenhang von NCAM1 und L1 mit Stresseffekten konnten Sandi und Mitarbeiter zeigen, indem sie bei Ratten, die chronischem Stress ausgesetzt waren, eine deutlich veränderte Ausschüttung von NCAM1 (Ausschüttung sinkt), PSA-NCAM1 und L1 (Ausschüttung steigt) im Hippocampus nachwiesen (Sandi et al., 2001).

Die Zunahme der PSA-NCAM1 und L1 Expression scheint nicht direkt ursächlich für die Atrophie der Nervenstrukturen zu sein, die durch Stress verursacht wird. Dennoch könnte sie eine kompensatorische Neuroprotektion bedeuten (Sandi, 2004).

Eine weitere Studie zeigte, dass erwachsene Ratten, die im pränatalen und/oder frühen postnatalen Zeitraum ständigem Stress ausgesetzt waren (Haltung von jeweils fünf Tieren in sehr kleinen Plexiglaskäfigen), eine klare Reduzierung der normalen NCAM1 Ausschüttung aufwiesen. Die Lernfähigkeit der erwachsenen Ratten war zudem im *Morris water maze*-Test beeinträchtigt. War jedoch die Umwelt, der die Tiere im späteren postnatalen Zeitraum ausgesetzt waren bereichernd (Haltung der Tiere in sehr großen Plexiglaskäfigen mit unterschiedlichem, wöchentlich wechselnden Spielzeug), so konnte dies dem pränatalen Effekt auf die Kognition entgegenwirken (Koo et al., 2003).

In einer aktuellen Studie wurden vier Monate alte Ratten je nach ihrer Reaktion auf ihnen dargebotene neue Reize in HR (*highly reactive*; stark aktiv) Ratten und LR (*low reactive*; schwach aktiv) Ratten eingeteilt. Erreichten die Ratten den 12. Lebensmonat („*mid-life*“; Lebensmitte), so wurde ein Teil der HR und LR Ratten chronischem Stress ausgesetzt, während die übrig gebliebenen Ratten ungestört blieben. Im Alter von 18 Monaten wurde die Lernfähigkeit aller Ratten im *Morris water maze*-Test, sowie einige neuroendokrinen und neurobiologischen Werte bestimmt.

Die gestressten HR Ratten schnitten im Lernfähigkeitstest schlechter ab als die gestressten LR Ratten und die übrigen ungestressten Ratten. Unabhängig von der Einteilung in HR und LR Ratten, wiesen alle gestressten Ratten eine Verringerung der NCAM-180 Isoform und von L1 auf (Sandi und Touyarot, 2006).

Die dargestellten Studien zeigen, dass chronischer Stress die NCAM1, PSA-NCAM1 und L1 Expression bei Ratten verändert (Koo et al., 2003; Sandi et al., 2001; Sandi, 2004; Sandi und Touyarot, 2006).

Nachdem chronischer Stress die kognitive Leistungsfähigkeit bei Menschen und Tieren beeinträchtigt (Bremner, 1999; Kim et al., 2007; Koo et al., 2003; Lupien et al., 1998; Magariños und McEwing, 1995; Sandi und Touyarot, 2006; Sandström et al., 2005), könnte dies als Hinweis dafür gesehen werden, dass NCAM1 bei der Kognition eine wichtige Rolle spielt.

1.3.8 NCAM1 und Schizophrenie

Die Schizophrenie ist eine psychiatrische Erkrankung bei der kognitive Defizite (z.B. Aufmerksamkeitsdefizit, Beeinträchtigung des abstrakten Denkens, Defizite im Kurz- und Langzeitgedächtnis) charakteristisch sind (Heinrichs und Zakzanis, 1998). Zunehmend wird die neurokognitive Beeinträchtigung als zentraler Gesichtspunkt sowohl für die Diagnosestellung, als auch für die Verbesserung der Behandlung der Erkrankung gesehen (Robertson et al., 2006).

Mehrere Studien deuten darauf hin, dass eine Beteiligung von NCAM1 an der Pathogenese der Schizophrenie wahrscheinlich ist.

So fanden Poltorak und Mitarbeiter heraus, dass die Menge an NCAM1 im Liquor cerebrospinalis bei an Schizophrenie Erkrankten im Vergleich zu Gesunden signifikant erhöht

ist. Eine Therapie mit Neuroleptika konnte die NCAM1 Konzentration nicht signifikant reduzieren (Poltorak et al., 1995).

Vawter und Mitarbeiter geben eine Zunahme von VASE (variable alternative spliced exon) im Liquor cerebrospinalis bei Schizophrenen an. VASE ist eine Aminosäuresequenz aus zehn Aminosäuren und befindet sich auf der vierten NCAM1 Domäne. Auch hier hatte die Behandlung der Schizophrenie-Patienten mit Neuroleptika keine Wirkung auf die VASE Konzentration im Liquor cerebrospinalis (Vawter et al., 2000).

Weiterhin fand eine immunhistochemische Analyse an postmortalen Gehirnen von 11 Schizophrenen und 10 gesunden Kontrollpersonen im Bereich des Hippocampus statt. Es konnte eine deutliche Abnahme von PSA-NCAM1 im Hilus des Hippocampus der an Schizophrenie Erkrankten im Vergleich zu der Kontrollgruppe festgestellt werden (Barbeau et al., 1995).

Eine Studie stellte relevante Veränderungen bei der Funktion des Nervus Olfactorius (=Riechnerv; 1.Hirnnerv) bei Schizophrenen fest (Good et al., 1995). Dies stimmt mit den Ergebnissen von Cremer und Mitarbeitern insofern überein, als die Inaktivierung des NCAM1 Gens bei Mäusen unter anderem zu einer Verkleinerung des Bulbus olfactorius führte (Cremer et al., 1994). Auch dies könnte einen Hinweis auf die Bedeutung von NCAM1 bei der Schizophrenie geben.

Die bisherigen Ergebnisse ließen vermuten, dass genetische Variationen des NCAM1 Gens mit der Schizophrenie assoziiert sein könnten.

Zunächst fanden Vicente et al. in einer umfassenden genetischen Studie (fünf Großfamilien aus Ostkanada (n=122); 36 Schizophrene und 86 Kontrollen) mit Kopplungsanalysen heraus, dass das NCAM1 Gen wahrscheinlich keine wesentliche Rolle bei der Schizophrenie spielt. Eher ist davon auszugehen, dass das NCAM1 Molekül bei der Ätiologie der Erkrankung involviert ist (Vicente et al., 1997).

Eine aktuelle Studie unterstreicht die Beteiligung des NCAM1 Gens bei der Ätiologie der Schizophrenie. Hier wurden im Rahmen einer genetischen Assoziationsstudie 641 an Schizophrenie erkrankte Personen europäischer Herkunft untersucht. Neun SNPs wurden genotypisiert. Bei fünf SNPs ergaben sich signifikante Assoziationen mit der Krankheit, wobei die stärkste Assoziation beim rs1836796 (befindet sich im Intron 2 des NCAM1 Gens) festgestellt wurde ($p=0,007$). Sullivan und Mitarbeiter halten es für möglich, dass Polymorphismen im NCAM1 Gen die Expression der NCAM1 Isoformen verändern, und es

dadurch zu neurokognitiven Defiziten durch Beeinträchtigung der synaptischen Plastizität kommt (Sullivan et al., 2007).

Aufbauend auf die Ergebnisse von Arai und Mitarbeitern, die einen Zusammenhang zwischen Polymorphismen im NCAM1 Gen und bipolarer affektiver Störung in der japanischen Bevölkerung feststellten (357 nicht verwandte Kontrollpersonen und Probanden mit bipolarer (n=151) oder unipolarer (n=78) Störung) (Arai et al., 2004), erfolgte eine nordamerikanische Studie, die die Assoziation von genetischen Variationen im NCAM1 Gen sowohl mit der bipolaren affektiven Störung als auch mit der Schizophrenie untersuchte. Es wurden insgesamt 160 *postmortale* Gehirne untersucht bestehend aus 55 Kontrollen, 70 bipolaren Störungen und 35 Schizophrenen. Hier deuten die Ergebnisse darauf hin, dass SNPs im NCAM1 Gen ein Risiko für beide Erkrankungen darstellen, da ein Polymorphismus (rs2303377) signifikant mit bipolarer Störung ($p < 0,0001$) und ein weiterer Polymorphismus (rs646558) mit Schizophrenie ($p < 0,0001$) assoziiert war (Atz et al., 2007).

Neben NCAM1 gehört auch das Molekül L1 zur Proteinfamilie der Immunglobulinsuperfamilie. Es wird oft im Zusammenhang mit NCAM1 erwähnt, da es sich ebenso wie NCAM1 homophil (L1 - L1) oder/und heterophil (NCAM1 - L1) verbindet und damit zu einer Zell-Zell-Adhäsion führt (Cunningham et al., 1987; Hoffman und Edelman, 1987).

Das L1 (CHL1) Gen liegt auf dem Chromosom 3p26.1 (Chen et al., 2005). Bei Polymorphismen des L1 Gens wurde eine Assoziation zur Schizophrenie in der japanischen Bevölkerung festgestellt (Sakurai et al., 2002). Eine großangelegte Untersuchung aus China bestätigt dieses Ergebnis (Chen et al., 2005).

Die geschilderten Studien deuten darauf hin, dass eine Beteiligung von NCAM1 an der Pathogenese der Schizophrenie und eine damit einhergehende Rolle bei der Kognition sehr wahrscheinlich ist.

1.3.9 Fragestellung

NCAM1 ist ein wichtiger Faktor während der Ontogenese des Nervensystems (Cremer et al., 1997; Tomasiewicz et al., 1993) und im erwachsenen Organismus maßgeblich an der synaptischen Plastizität beteiligt (Hoffman, 1998; Martin et al., 2000; Rose und Stewart, 1999).

Studien an Tieren konnten zeigen, dass ein NCAM1 Defizit über Effekte auf die Zell-Zell-Adhäsion Auswirkungen auf die Kognition hat (Cremer et al., 1994;Doyle et al., 1992;Fentrup, 2003;Murphy et al., 1996;Murphy und Regan, 1999;O`Connel et al., 1997;Skibo et al., 1998;Stork et al., 1997;Stork et al., 2000).

Ebenso wurde ein Zusammenhang von NCAM1 mit Faktoren die kognitive Prozesse negativ beeinflussen wie Stress und Schizophrenie, festgestellt (Arai et al., 2004;Atz et al., 2007;Barbeau et al., 1995;Koo et al., 2003;Poltorak et al., 1995;Sandi, 2004;Sandi und Touyarot, 2006;Sullivan et al., 2007;Vawter et al., 2000).

Untersuchungen der letzten Jahre haben gezeigt, dass genetische Variationen (Polymorphismen) unterschiedlicher Gene von Bedeutung für die Ausprägung komplexer Phänotypen, wie zum Beispiel Kognition sein könnten (Casselli et al., 2004;Comings et al., 2003;Dick et al., 2007;Egan et al., 2003;Gosso et al., 2006;Rujescu et al., 2007;Tsai et al., 2004;Tsai et al., 2008;Yu et al., 2000).

Da es einen Zusammenhang zwischen kognitiven Defiziten und Schizophrenie bzw. Stress einerseits (Bremner, 1999;Heinrichs und Zakzanis, 1998;Kim et al., 2007;Lupien et al., 1998;Magariños und McEwing, 1995;Robertson et al., 2006;Sandström et al., 2005) und zwischen Schizophrenie bzw. Stress und NCAM1 andererseits zu geben scheint (Atz et al., 2007;Barbeau et al., 1995;Koo et al., 2003;Poltorak et al., 1995;Sandi et al., 2001;Sandi, 2004;Sandi und Touyarot, 2006;Sullivan et al., 2007;Vawter et al., 2000), liegt es nahe, das NCAM1 Gen im Hinblick auf einen direkten Einfluss auf Kognition zu untersuchen.

Ziel dieser Studie war, den Zusammenhang zwischen im Intron 1 liegenden Polymorphismen rs1245113 und rs1369816 des NCAM1 Gens mit Kognition anhand einer Assoziationsstudie zu überprüfen.

Hierfür wurde mit 286 gesunden, deutschstämmigen Einwohnern Münchens der Hamburger Wechsler Intelligenztest für Erwachsene in seiner Revision von 1991 und eine Genotypisierung durchgeführt. Die genetische Untersuchung erfasste die Allel- und Genotypfrequenzen.

2 Material und Methoden

2.1 Vorbedingungen der Studiendurchführung

Die Studie wurde von der Arbeitsgruppe für Molekulare und Klinische Neurobiologie von Professor Dr. Rujescu an der Psychiatrischen Klinik der Universität München durchgeführt. Alle Probanden wurden über die Zielsetzung der Studie aufgeklärt und die anonymisierte Verwendung der erhobenen Daten und der gewonnenen Blutproben wurde zugesichert. Die Studienteilnahme erfolgte auf freiwilliger Basis nach Einholung unterschriebener Einverständniserklärungen vor der Studiendurchführung.

2.2 Studienteilnehmer

Die rekrutierten Probanden (siehe Tab.3) waren Personen deutscher Abstammung (d.h. beide Eltern und Großeltern stammen aus Deutschland). Sie wurden aus der allgemeinen Bevölkerung Münchens per Zufallsauswahl rekrutiert. In das Probandenkollektiv wurden nicht verwandte Personen aufgenommen, deren Selektion in einem mehrstufigen Verfahren erfolgte, um Personen mit neuropsychiatrischen Erkrankungen oder mit Verwandten mit neuropsychiatrischen Erkrankungen auszuschließen.

Tab. 3: Beschreibung der Probandengruppe nach Geschlecht und Schulabschluß

Gruppe (Polymorphismus)	Geschlecht n (%)		Schulabschluß n (%)	Gesamt n
	Männlich	Weiblich		
NCAM1 rs1245113	122 (42,7)	164 (57,3)	72 (25,2) Hauptschule 86 (30,1) Realschule 128 (44,7) Gymnasium	286
NCAM1 rs1369816	122 (42,7)	164 (57,3)	72 (25,2) Hauptschule 86 (30,1) Realschule 128 (44,7) Gymnasium	286

2.2.1 Telefonscreening

Erfolgte eine positive Rückantwort auf ein Einladungsschreiben, welches über die Studienziele aufklärte, so war der nächste Schritt ein standardisiertes Telefonscreening. Hierbei wurde nach neuropsychiatrischen und hirnerkrankungen der potentiellen Probanden und deren Verwandtschaft gefragt. Fernmündlich wurde nach depressiven und manischen Phasen, Angstproblemen, Essproblemen und Suizidversuchen gefragt. Die Anamnese bezüglich Medikamenteneinnahme, Medikamentenabusus, Alkohol- und Drogenabhängigkeit wurde gestellt. Weiterhin sollten in diesem ersten Gespräch psychiatrische Konsultationen, neurologische Behandlungen und psychiatrische Aufenthalte angegeben werden.

2.2.2 Kleiner Fragebogen (Anamnese (I))

Konnten während des Telefon-screenings keine relevanten Befunde festgestellt werden, erfolgte die Übersendung eines kleinen Fragebogens (Anamnese (I)).

Darin wurden nochmals schriftlich die Abstammung, allgemeine Vorerkrankungen und vor allem studienrelevante Erkrankungen wie Gemütskrankungen (Depression, Manie), Abhängigkeiten (Alkohol, Medikamente, Drogen) und psychische Probleme (Essprobleme, Zwänge, Ängste) abgefragt. Angaben über eigene Selbstmordversuche, Selbstmordversuche und Selbstmorde in der Verwandtschaft sollten aufgeführt werden.

Geburtsort, Alter, Gewicht, Größe und Händigkeit mussten ferner angegeben werden. Ebenso erfolgte eine Sozialanamnese mit Angaben zum Schulabschluß und des Berufes der Verwandten.

Ergab sich hier eine psychiatrische Erkrankung der Testperson oder eines Blutsverwandten ersten Grades oder eine relevante körperliche Erkrankung wurde die Person ausgeschlossen.

2.3 Klinisches Interview

Nach Eingang der kleinen Anamnese wurde Rücksprache mit studienbetreuenden Psychiatern und Psychologen gehalten. Wurden die Studienkriterien erfüllt, erhielten die Personen eine Einladung in die Klinik zu einem umfassenden Interview (siehe Tab.4).

Tab.4: Gliederung des klinischen Interviews

Körperliche Untersuchung
Mini-Mental-State-Test
Strukturiertes klinisches Interview I
Strukturiertes klinisches Interview II
Family History Assessment Module
Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar

2.3.1 Körperliche Untersuchung

Am Anfang des Interviews erfolgte eine standardisierte Untersuchung, um studienrelevante Vorerkrankungen klinisch auszuschließen. Ein Hörtest und eine Testung der Manumotorik wurden ebenso durchgeführt wie eine neurologische Untersuchung.

2.3.2 Mini-Mental-State-Test

Waren Probanden 60 Jahre und älter, wurde der „Mini-Mental-State“-Test (MMST) nach Folstein durchgeführt. Dieser Test eignet sich um kognitive Störungen bei älteren Personen feststellen zu können (Folstein et al., 1975). So wird er zur Abklärung von Demenz sowie Veränderungen im Laufe dieser Krankheit oder zum Nachweis der Wirkung von Medikamenten benutzt. Folgende Fähigkeiten werden in dem Test geprüft: Orientierung, Merkfähigkeit, Aufmerksamkeit, Rechenfähigkeit, Erinnerungsfähigkeit, Sprache und andere Funktionen wie Lesen und Schreiben (Stoppe, 1997). Der MMST besteht aus 30 Aufgaben, bei deren richtiger Lösung es jeweils einen Punkt gibt. Probanden, die weniger als 26 Punkte erreichten, wurden ausgeschlossen.

2.3.3 Deutsche Version des Strukturierten Klinischen Interviews (SKID)

Anschließend wurde die deutsche Version des Strukturierten Klinischen Interviews (SKID) durchgeführt. Sie teilt sich in SKID I und II und dient der Erschließung der Psychopathologie gemäß der Klassifikation des „Diagnostic and Statistical Manuals of Mental Disorders“ (DSM-IV) der „American Psychiatric Association“ in seiner vierten Revision, 1994 (Wittchen

et al., 1996; Wittchen et al., 1997). Als semistrukturiertes klinisches Interview ist SKID I ein Verfahren zur Diagnosefindung von Achse I Störungen (Psychopathologie). Diagnostiziert werden affektive Syndrome, psychotische Syndrome, psychotische Störungen, affektive Störungen, Missbrauch und Abhängigkeit von psychotropen Substanzen, Angststörungen, somatoforme Störungen und Essstörungen. SKID II erfasst Persönlichkeitsstörungen auf der Achse II. Hier werden selbstunsichere, dependente, zwanghafte, negativistische, depressive, paranoide, schizo-typische, schizoide, histrionische, narzisstische, Borderline- und antisoziale Persönlichkeitsstörungen unterschieden.

Danach wurden Fragen zu psychosozialen Beeinträchtigungen (DSM-IV Achse IV) gestellt und eine globale Beurteilung der Leistungsfähigkeit (DSM-IV Achse IV) durchgeführt. Es gibt eine zeitliche Unterscheidung zwischen Achse IV und V, diese wird durch Befragung über derzeitige und frühere Beeinträchtigungen festgelegt. Insgesamt können psychiatrische oder allgemeinmedizinische Patienten, aber auch Bevölkerungsgruppen, die sich nicht mit psychischen Störungen vorstellen, untersucht werden (Wittchen et al., 1997).

Lag eine psychiatrische Störung und/oder eine Persönlichkeitsstörung vor, wurde der Proband aus der Studie ausgeschlossen.

2.3.4 Family History Assessment Module-FHAM

Mit dem „Family History Assessment Module“-FHAM (Rice et al., 1995) wurde eine Übersicht von psychiatrischen Erkrankungen in der Familiengeschichte der Blutsverwandten erstellt. Bei diesem Test wurden Blutsverwandte 1. Grades mit 1 (z.B. Mutter, Sohn, Bruder...) 2. Grades mit 2 (Großeltern, Tante...) und 3. Grades mit 3 (Cousin...) bewertet. Den Probanden wurden Fragen zu Drogen-, Medikamenten-, Alkoholabusus, Depression, Manie, Schizophrenie, Antisoziale Tendenzen, Neurotische Störungen, Aufsuchen psychiatrischer Hilfe, psychiatrisch stationäre Aufenthalte, Selbstmordversuche und vollendete Suizide in der Verwandtschaft gestellt.

Patienten bei denen in der Blutsverwandtschaft ersten Grades psychiatrische Krankheiten nachgewiesen werden konnten, wurden ausgeschlossen.

2.3.5 Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar-LEBI

Schließlich erfolgte ein strukturiertes Interview anhand des Leipziger Ereignis- und Belastungsinventars, dem sogenannten LEBI (Richter und Guthke, 1996). Hier konnten individualspezifische Informationen über die Belastung der Probanden durch kritische Lebensereignisse gewonnen werden. Kritische Lebensereignisse sind von Bedeutung, da sie Einfluss auf das gesundheitliche Wohlbefinden und die persönliche Entwicklung haben. Die Lebensereignisse, die sowohl positiv als auch negativ vom Befragten empfunden werden, wurden retrospektiv erfasst. Das strukturierte Interview ermöglicht es auch dem Interviewer, Zusatzfragen zu stellen. Der LEBI setzt sich aus zwei Teilen zusammen. Im ersten Abschnitt werden 50 mögliche Lebensereignisse und -belastungen für Personen zwischen 18 und 60 Jahren aufgelistet. Studenten werden zusätzlich 10 Ereignisse angeboten.

Die Fragen zu den Lebensereignissen werden in fünf Bereiche eingeteilt:

1. Allgemeine soziale Situation
2. Berufliche Situation
3. Partnersituationen
4. Familiensituationen
5. Traumatische Erlebnisse

Der zweite Teil des LEBI enthält 16 Lebensziele und -werte. Hier sollte der Zusammenhang zwischen dem Belastungsgrad kritischer Lebensereignisse und persönlich wichtiger Lebensziele ermittelt werden. Ziel war es, Belastungswerte zu erlangen, die durch Summenbildung und Multiplikationen anhand vorgegebener Punktwerte in einem standardisierten Auswertungsprotokoll errechnet wurden.

Nach der Auswertung erhält der Interviewer einen subjektiven Überblick über Personenmerkmale, soziale und ökologische Kontextmerkmale, Ereignismerkmale und Merkmale der Lebensereignisbewältigung (Richter und Guthke, 1996).

Lagen auffällige Persönlichkeitsstrukturen vor, wurden die Probanden von der Studie ausgeschlossen.

2.4 Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991

Bei allen Personen wurde neben dem klinischen Interview ein Intelligenztest, der Hamburger-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991 (HAWIE-R) durchgeführt. Hierbei handelte es sich um eine Zusammenstellung von standardisierten Fragen und Aufgaben, die eine Aussage zur kognitiven Fähigkeit des Individuums machen sollten. Die Vorgehensweise und die Bewertung erfolgten gemäß dem Manual von Tewes (Tewes, 1994).

Der Hamburger-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991 (HAWIE-R) setzt sich aus einem Verbalteil mit sechs Untertests und einem Handlungsteil mit fünf Untertests zusammen (siehe Tab.5).

Tab.5: Die Untertests des HAWIE-R

Verbalteil	Handlungsteil
Allgemeines Wissen	Bilderergänzen
Zahlennachsprechen	Bilderordnen
Wortschatz-Test	Mosaik-Test
Rechnerisches Denken	Figurenlegen
Allgemeines Verständnis	Zahlen-Symbol-Test
Gemeinsamkeitenfinden	

2.4.1 Der Verbalteil

2.4.1.1 Allgemeines Wissen

Der Test besteht aus 24 Wissensfragen mit zunehmendem Schwierigkeitsgrad. Für jede richtig beantwortete Frage gibt es einen Punkt, so dass bei 24 Fragen maximal 24 Rohpunkte erzielt werden können. Nach fünf aufeinanderfolgenden, falsch beantworteten Fragen wird der Test abgebrochen.

Z.B. lautet Frage 8: „Wieviele Wochen hat das Jahr?“

Mit diesen Fragen wird die Breite des Allgemeinwissens, kulturelle Erfahrungen und die Aufgeschlossenheit des Probanden gegenüber der Umwelt erfasst (Zimmerman et al., 1973).

Es wurde Wert darauf gelegt, keine schwierigen Wörter bei der Aufgabenkonstruktion zu verwenden, damit ein vom Wortschatz unabhängiger Wissensaspekt hervorgehoben wird (Tewes, 1994). Ebenso soll akademisches und spezialisiertes Wissen nicht Bestandteil dieses Subtests sein (Blöink, 2006).

2.4.1.2 Zahlennachsprechen

Insgesamt besteht dieser Untertest aus 7 Aufgaben für das Zahlennachsprechen, jeweils 7 vorwärts und 7 rückwärts.

Jede Aufgabe besteht aus zwei Durchgängen. Der Interviewer spricht eine Zahlenreihe vor; wird diese korrekt nachgesprochen, gibt es einen Punkt. Die maximal erreichbare Rohpunktzahl ist demnach 28. Zweimaliges falsches Nachsprechen bei derselben Ziffernreihe führt zum Abbruch des Tests.

Z.B. lautet die erste Zahlenreihe beim ersten Durchgang des vorwärts Nachsprechens „5-8-2“; bis zur siebten Zahlenreihe kommt jeweils eine Zahl dazu.

Für das allgemeine intellektuelle Leistungsniveau ist dieser Test weniger aussagekräftig. Schlechte Ergebnisse sind Zeichen von Aufmerksamkeitsstörungen oder erhöhter Testangst (Tewes, 1994). Leistungsausfälle deuten klinisch auf spezielle Defekte und hirnorganische Erkrankungen hin (Matarazzo, 1982).

2.4.1.3 Wortschatz-Test

Der Interviewer nennt dem Proband Wörter, deren Bedeutung er umschreiben bzw. definieren soll. Es handelt sich um 32 Wörter, die nach aufsteigendem Schwierigkeitsgrad angeordnet sind. Nachdem jede richtige Antwort mit einem Punkt bewertet wird, gibt es maximal 32 Rohpunkte. Werden 5 Wörter falsch erklärt, wird der Test abgebrochen.

Z.B. wird in der ersten Frage nach der Bedeutung von „Apfel“ gefragt, und in der 32. Frage die Erklärung des Wortes „Geoid“ gesucht.

Dieser Untertest gilt als gutes Maß für die allgemeine Intelligenz. Das Lebensalter beeinflusst die Aufgabenbewältigung gering bis nicht. Die Lernfähigkeit und Informationsbreite des Probanden wird an dem Bestand an sprachlichen Kenntnissen überprüft (Matarazzo, 1982).

Die Aufnahmefähigkeit verbaler Stimuli über das Gehör und die verbale Ausdrucksstärke wird in diesem Untertest analysiert. Hier wird die kristalline Intelligenz gefordert (Kaufman und Lichtenberger, 1999).

2.4.1.4 Rechnerisches Denken

Für den Untertest Rechnerisches Denken muss der Proband 14 numerische Operationen im Kopf durchführen, die zunehmend schwieriger werden. Bei den ersten neun Aufgaben ist bei richtiger Antwort ein Punkt zu erzielen. Maximal zwei Punkte (in Abhängigkeit der Beantwortungszeit) können bei den letzten fünf Aufgaben erreicht werden. Die maximal erreichbare Rohpunktzahl liegt bei 19. Werden drei Aufgaben nicht in einer Zeitgrenze bewältigt, wird der Test abgebrochen.

Z.B. lautet die sechste Frage: „Ein Kasten enthält sechs Flaschen Apfelsaft. Sie möchten 36 Flaschen kaufen. Wie viele Kästen macht das?“

Der Test soll eine Aussage über die allgemeine Intelligenz und das Arbeitsgedächtnis machen (Kaufman und Lichtenberger, 1999). Der Test ist von schulischer und beruflicher Bildung abhängig, weil er die Beherrschung der Grundrechenarten voraussetzt (Matarazzo, 1982). Der Test macht auch eine Aussage zum Konzentrationsvermögen einer Person (Rapaport, 1953).

2.4.1.5 Allgemeines Verständnis

Insgesamt werden 13 Fragen zum allgemeinen Verständnis aus verschiedenen Themen- und Lebensbereichen gestellt. Jede Antwort kann je nach Qualität der Antwort mit maximal 2, einem oder null Punkten bewertet. Nach vier falsch beantworteten Fragen wird der Test abgebrochen. 26 Rohwertpunkte sind erreichbar.

Z.B. lautet die fünfte Frage: „Warum muß man Steuern zahlen?“.

Hier wurde auf eine einfache Fragenformulierung Wert gelegt (Blöink, 2006). Es wird zwischen zwei Abstraktionsebenen unterschieden, den oberflächlichen und den differenzierten Antworten. Der Test erfasst somit die Fähigkeit, Erfahrungen zu verwerten, in Ursache-Wirkungs-Zusammenhängen zu denken und Dinge zu abstrahieren (Tewes, 1994). Die soziale Intelligenz wird durch das Abfragen konventioneller Verhaltensregeln bestimmt (Kaufman und Lichtenberger, 1999).

2.4.1.6 Gemeinsamkeitenfinden

Hier werden zwei Begriffe vorgegeben, für die der Proband eine Gemeinsamkeit bzw. einen Oberbegriff nennen soll.

Insgesamt werden dem Probanden 16 Wortpaare genannt. Bei richtiger Antwort sind maximal 2 Punkte zu erreichen. Die maximale Rohpunktzahl liegt bei 32.

Z.B. wird in Frage drei nach der „Gemeinsamkeit von Mantel und Anzug“ gefragt.

Dieser Test zeigt logisches Denkvermögen (Matarazzo, 1982).

Neben einer quantitativen Analyse kann auch die Qualität der Aussagen beurteilt werden (Tewes, 1994). Wortschatzkenntnisse und sprachliches Ausdrucksvermögen kommen zur Geltung (Furth und Milgram, 1965). Der Proband muss assoziativ denken (Zimmerman et al., 1973).

2.4.2 Der Handlungsteil

2.4.2.1 Bilderergänzen

Dem Proband werden in dem Test Bilderergänzen 17 Bildvorlagen vorgelegt auf denen jeweils ein bedeutsames Detail fehlt. Dieses muss entdeckt und benannt werden. Bei drei aufeinanderfolgenden falsch oder nicht innerhalb von 20 Sekunden beantworteten Aufgaben wird der Test abgebrochen. 17 Rohpunkte sind maximal zu erreichen.

Der Test zeigt inwieweit der Proband fähig ist, bei einer visuellen Vorlage zwischen unwichtigen und wichtigen Details zu unterscheiden. Das Testergebnis ist abhängig von der Vertrautheit mit dem jeweiligen Gegenstand und differenziert daher im unteren Intelligenzbereich (Zimmerman et al., 1973). Zu diesem Test bestehen nur wenige Validitätsstudien (Tewes, 1994).

2.4.2.2 Bilderordnen

Es werden dem Probanden zehn Serien mit Bildern, die kleine Geschichten erzählen, vorgelegt. Der Proband hat die Aufgabe die Bilder in die richtige Reihenfolge zu bringen. Bei vier falsch gelösten Aufgaben in Folge wird der Test abgebrochen. Entsprechend der Zeit und der Reihenfolge sind bei der ersten Serie maximal zwei Punkte möglich. Es folgen neun weitere Serien mit jeweils sechs möglichen Punkten. Die maximale Rohpunktzahl ist 56.

Die Aufgabe besteht darin, auf visuellem Weg komplexe Handlungsabläufe zu erfassen. Die mögliche Leistung ist abhängig von der Organisation der visuellen Wahrnehmung bezüglich des Grundgedankens und der Details (Tewes, 1994). Der Test ist unter anderem ein Indikator der sozialen Intelligenz und weitgehend unabhängig von kulturellen Einflüssen (Matarazzo, 1982);

2.4.2.3 Mosaik-Test

Der Proband erhält neun mehrfarbige Würfel und neun Kärtchen mit Mustern, die mit den Würfeln nachgebaut werden sollen. Der Schwierigkeitsgrad und die Zeitgrenzen der

nachzubauenden Muster sind ansteigend. Nach drei aufeinanderfolgenden Fehlversuchen wird der Test abgebrochen. Bei den ersten zwei Mustern kann man je nach Lösungszeit maximal zwei Punkte erlangen, für die Muster drei und vier maximal sechs Punkte und für die Muster sechs bis neun sind höchstens sieben Punkte zu erzielen. Die maximale Rohpunktzahl ist 51. Hier ist das Vermögen, Formen wahrzunehmen, sie zu analysieren und alles in die einzelnen Bausteine zu trennen, von Bedeutung (Matarazzo, 1982). Dieser Untertest ist ein guter Parameter für die Fähigkeit zum problemlösenden Denken (Davis et al., 1966). Der Test zeigt wie der Teilnehmer unter Zeitdruck agiert (Doppelt und Wallace, 1955).

2.4.2.4 Figurenlegen

Dieser Untertest besteht aus vier verschiedenen Puzzles, die jeweils asymmetrische Einzelteile enthalten. Der Proband soll diese möglichst schnell zu einer Figur zusammensetzen. Hier zählt die gemessene Zeit, die ein bestimmtes Zeitfenster nicht überschreiten darf. Bei Figur eins sind höchstens acht Punkte, bei Figur zwei zwölf Punkte, bei Figur drei zehn Punkte und bei Figur vier elf Punkte zu erzielen. Insgesamt sind maximal 41 Rohpunkte zu erreichen.

Dieser Test prüft die Fähigkeit zur Wahrnehmung und Reproduktion konkreter Figuren (Matarazzo, 1982). Hier ist eine qualitative Analyse des Arbeitsstils möglich indem zu beobachten ist, ob der Proband nach Versuch und Irrtum oder zielgerichtet handelt (Tewes, 1994).

Der Test spiegelt die nonverbale Organisation der Intelligenz wieder (Cohen, 1952).

2.4.2.5 Zahlen-Symbol-Test

Bei diesem Test werden dem Probanden willkürlich aufeinander folgende Zahlen von eins bis neun vorgelegt. Jede Zahl soll innerhalb eines Zeitfensters von 90 Sekunden einem Strichsymbol zugeordnet werden. Insgesamt können maximal 100 Ergänzungsfelder mit dem entsprechenden Strichsymbol ausgefüllt werden. Ein Punkt wird vergeben für jede richtige Zuordnung eines Symbols zu einer Zahl. 93 Rohwertpunkte sind maximal zu vergeben.

Dieser Test ermittelt die allgemeine psychomotorische Geschwindigkeit und das Konzentrationsvermögen bei Routineaufgaben (Hilger und Kasper, 2002;Tewes, 1994).

Die Leistung hängt vom Grad der emotionalen Belastbarkeit (Matarazzo, 1982) und dem Alter (Tewes, 1994) ab. Ein enger Zusammenhang zur motorischen Geschwindigkeit wurde nachgewiesen (Burik, 1950;Murstein und Leipold, 1961).

2.4.3 Testauswertung

Zunächst wurden die Leistungen als Rohpunkte auf Skalen mit unterschiedlicher Länge quantifiziert. Die maximal zu erreichenden Rohpunktzahlen wurden in 3.4.1 (Verbalteil) und 3.4.2 (Handlungsteil) angegeben.

Damit die Leistungen der verschiedenen Untertests besser verglichen werden können, wurde die Rohpunktverteilung in eine entsprechende Wertpunktverteilung transformiert. Diese hat einen Mittelwert von zehn Punkten und eine Standardabweichung von drei Punkten.

Die Rohpunkte können in verschiedene Wertpunkte umgewandelt werden: Wertpunkte A oder Wertpunkte B.

2.4.3.1 Wertpunkte A

Wertpunkte A entsprechen den Abweichungswerten von den Erwartungswerten der Altersgruppe 20-34 Jahre und sind Voraussetzung für die Bestimmung des Intelligenzquotienten.

Wechsler berechnet den IQ, indem er die Wertpunkte A entsprechend dem Alter in den IQ-Wert umrechnet. Diese aus Alterstabellen abgeleiteten altersspezifischen IQ-Werte haben einen Mittelwert von 100 Punkten und eine Standardabweichung von 15 Punkten.

2.4.3.2 Wertpunkte B

Um das Testergebnis besser interpretieren zu können, kann auch die Abweichung der Rohwerte von anderen Referenzgruppen bestimmt werden. Hierzu dienen die Wertpunkte B. Sie ermöglichen die Eintragung von z.B. Abweichung von Altersnormen oder Bildungsstandard. Entsprechende Tabellen für altersspezifische oder bildungsspezifische Wertpunkte sind dem Handbuch zu entnehmen.

2.4.3.3 IQ-Werte

Die IQ-Werte werden über die Wertpunkte A berechnet. Es werden drei Wertpunktsummen bestimmt: die Summe der Wertpunkte der sechs Verbaltests, die Summe der Wertpunkte der fünf Handlungstests und die Summe der Wertpunkte aller elf Untertests. Diese drei Summenwerte werden in die Ergebnistabelle des Deckblatts eingetragen. Die Tabelle mit der Altersgruppe, welcher der Proband angehört, wird herausgesucht. Anhand dieser Tabellen können entsprechend der Wertpunktsummen der jeweils äquivalente Verbal-IQ, Handlungs-

IQ und Gesamt-IQ ermittelt werden. Liegen Unterschiede zwischen dem Verbal- und dem Handlungs-IQ vor, so deutet dies entweder auf eine praktische oder eine verbal-theoretische Begabung hin. Verminderte Leistungen sollten stets vor dem Hintergrund milieuspezifischer Einflüsse und möglicher krankheits- oder verletzungsbedingter Behinderungen untersucht werden (Tewes, 1994).

2.5 DNA-Extraktion

Bei allen Probanden wurde venöses Blut abgenommen. Um eine Gerinnung des gewonnenen Blutes zu verhindern, waren die Monovetten mit EDTA angereichert. Um Anonymität herzustellen, wurden die Proben kodiert.

Die Extraktion der genomischen DNA wurde mit dem QiaAmp DNA blood Maxi Kit (Firma Quiagen, Hilden, Germany) durchgeführt. 5-10 ml Blut wurden hierfür benötigt; es wurde gemäß der Anleitung (siehe Abb.9) vorgegangen.

2.5.1 Vorbereitung der Blutproben und Zellyse

Bei Raumtemperatur wurde das EDTA Blut aufgetaut, jeweils 5-10 ml Blut wurde zur Lyse der Leukozyten und Freisetzung der Nucleinsäuren mit 500 µl Proteinase K versetzt, um durch Verdauung und Degradierung der denaturierten Proteine zu kleineren Fragmenten eine leichte Trennung von der DNA zu erreichen.

Daraufhin wurde ein Guanidin-HCL-haltiger AL-Puffer (12 ml) zugegeben.

Dieser führt zum Entzug der Hydrathülle der DNA, was eine spätere Bindung an die Silikagel-Säure ermöglicht. Anschließend wurde die Lösung zwei Minuten lang auf dem Vortexer vermischt, damit die Zellyse vollständig ist. Um einen optimalen DNA-Ertrag zu erlangen, erfolgte eine mindestens 30-minütige Inkubation der Lösung im Wasserbad bei 70°C. Hierbei wurde gleichzeitig geschüttelt.

2.5.2 Adsorption der DNA an die Silikagel-Membran

Damit die DNA auf das Säulenmaterial gefällt werden konnte, wurden der Probe 10 ml Ethanol (96-100%) zugegeben. Danach wurde die Probe für zwei Minuten vermischt, auf die Silikamembran gegeben und drei Minuten bei 3000 Umdrehungen pro Minute (rpm) zentrifugiert. Salz- und ph-Bedingungen sorgten dafür, dass Nucleinsäure bindende Proteine ungebunden blieben.

2.5.3 Reinigung der DNA

Damit die DNA von RNA- und Protein-Verunreinigungen freigemacht werden konnte, wurde die Säule erst mit Guanidin-HCL haltigem Puffer (5 ml) und anschließend zur Entfernung der Guanidiumsätze mit ethanolhaltigem Waschlösungsmittel (5 ml) gewaschen.

2.5.4 Elution der DNA von der Silikamembran

Die Elution der DNA von der Silikamembran fand unter Zugabe von 1 ml AE-Puffer (Tris-Puffer, $\text{pH} > 9,0$) statt. Hierzu wurde die DNA-haltige Membran für fünf Minuten bei Raumtemperatur inkubiert und für weitere fünf Minuten bei 5000 rpm zentrifugiert.

Die DNA, die zuvor im sauren Milieu an die Silikamembran gebunden war, ließ sich durch den basische Tris-Puffer herauslösen. Bei -80°C wurde die gewonnene DNA entweder gelagert oder für die PCR verwendet.

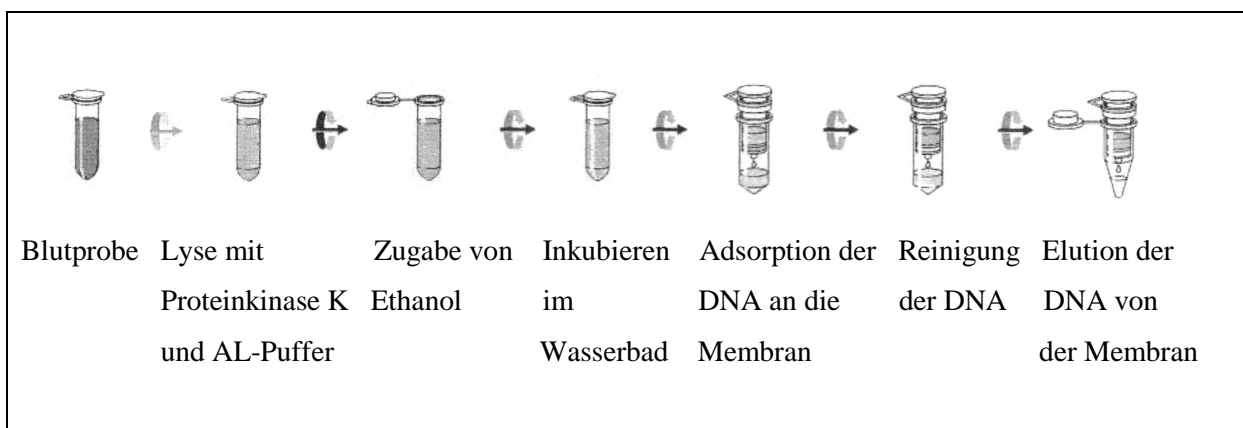


Abb.9: DNA-Extraktion gemäß der Anleitung des QIAamp DNA Blood Midi/Maxi Kit Handbuch (Firma Quiagen, Hilden, Germany)

2.6 Bestimmung der DNA-Konzentration

Die Quantifizierung der DNA wurde mit der PicoGreen Methode durchgeführt. Zunächst wurden die DNA-Proben 1:50 mit PicoGreen Lösung (5µl/ml 1× TE) verdünnt. Danach wurde die Fluoreszenz mit dem Tecan GENios Fluoreszenzleaser bestimmt und die Konzentration mit einer Eichkurve aus genomischer DNA berechnet. Eine Genauigkeit der DNA Konzentration von ca. +/-10% wird für die qualitativen SNP-Genotypisierungen als ausreichend betrachtet.

2.6.1 Materialien, Reagenzien und Geräte zur DNA Konzentrationsbestimmung

Tab.6: Verbrauchsmaterialien

Material	Hersteller
96 well Platte	Greiner
Selbstklebende Aluminiumfolie	Eppendorf
50ml konische PP-Röhrchen	Sarstedt

Tab.7: Reagenzien

Reagenzien	Hersteller
PicoGreen dsDNA quantitation reagent	PicoGreen Molecular Probes (Cat# P-7581)
1× TE, ph 7,4	Tris Base, EDTA (Roth)
Clontech Human Genomic DNA, 100ng/µl	Clontech

Tab.8: Geräte

Geräte	Hersteller
Tecan GENios Workstation 150	Applied Biosystems
Vortexer Reax	Heidolph

2.6.2 Vorbereitung der gDNA Standards

Als erstes wurden 100 μl von $1\times$ Tris-EDTA-Puffer (TE) jeweils auf die ersten zwei Reihen einer 96 well Platte mit flachem Boden pipettiert. Anschließend wurden 200 μl der humanen genomischen DNA (Clontech; 100 $\text{ng}/\mu\text{l}$) in die ersten zwei Reihen der Säule A pipettiert.

Als nächstes wurde mit Säule A beginnend eine Verdünnungsreihe hergestellt. Der Säule A wurden dabei 100 μl entnommen und in Säule B pipettiert. Das Gemisch wurde mit einer Pippettenspitze fünfmal umgerührt und anschließend 100 μl von Säule B in Säule C transferiert. Genauso wurde bei den Säulen D-G verfahren. Zur Bestimmung des Referenzwertes ($1\times$ TE: 0 $\text{ng}/\mu\text{l}$ gDNA) wurde die Säule H verwendet. Die Platte wurde versiegelt, als Standard DNA beschriftet und bei 4°C gekühlt gelagert.

Aus der Tabelle 11 sind die angegebenen Konzentrationen zu ersehen.

Tab.9: Konzentrationen der gDNA in den einzelnen Säulen

Reihen/Säulen		Konzentration($\text{ng}/\mu\text{l}$)	Volumen(μl)
A1	A2	100	100
B1	B2	50	100
C1	C2	25	100
D1	D2	12,5	100
E1	E2	6,25	100
F1	F2	3,125	100
G1	G2	1,5262	200
H1	H2	0	100

2.6.3 Vorbereitung der Messplatte

Je 5 μl der gDNA-Standard-Verdünnungsreihen wurden in eine Messplatte pipettiert (Q-Standard), die restliche Platte mit je zwei Parallelen der zu bestimmenden DNA-Proben belegt. Hierbei wurden auch 5 μl pipettiert. 60 Minuten lang wurde das gefrorene PicoGreen Reagenz in einem lichtundurchlässigen Behälter bei Raumtemperatur aufgetaut. Eine Verdünnung von 1:200 PicoGreen mit $1\times$ TE wurde in einem 50 ml Röhrchen, welches zwecks des Lichtschutzes mit Aluminiumfolie umhüllt war, hergestellt.

Durch den Vortexer wurden die Reagenzien gemischt und anschließend mit einer Dispenser-Pipette aufgezogen. Mit der Dispenser Pipette wurden jeweils 195 μl PicoGreen Verdünnung in die einzelnen Vertiefungen der Messplatte pipettiert und direkt mit selbstklebender Aluminiumfolie verschlossen.

2.6.4 Durchführung der Messung

Da es bereits nach 15 min zu einem deutlichen Abfall der Fluoreszenz kommt, wurde diese nach einer Reaktionszeit von 5-10 Minuten mit einem Photometer bestimmt. Um die Fluoreszenz messen zu können, wurde eine Anregungswelle von 485 nm verwendet und die Emission bei 540 nm bestimmt. Das verwendete Tecan Genios Gerät wurde weiterhin so eingestellt, dass 10 Lichtblitze bei einer optimalen Steigerung und Verzögerung mit einer Integrationzeit von 40 μs gemessen werden konnten.

Entsprechend der Standardkurve wurden die Ergebnisse kalibriert (8-Punkt-Kalibrierung).

Bei der Überprüfung der Qualität der Standardkurve sollte mindestens ein Pearsonscher Korrelationskoeffizient von 0,99 erhalten werden.

Konzentrationen zwischen 20 und 200 $\text{ng}/\mu\text{l}$ liegen im optimalen Messbereich dieser Methode. Wurde dieser Bereich über- oder unterschritten, so war eine neue Messung in anderer Verdünnung erforderlich.

Die Proben wurden anschließend mit $1\times$ TE auf eine Konzentration von 50 $\text{ng}/\mu\text{l}$ eingestellt.

2.7 Genotypisierung mittels SNP- Microarrays

In Zusammenarbeit mit einer Biotechnologie Firma fand die Genotypisierung der genomischen DNA statt. Hierfür wurden 644 DNA Proben (100 $\text{ng}/\mu\text{l}$) auf Mikrotiterplatten, die mit Barcodes versehen waren, pipettiert. Dann wurden die Proben versiegelt und auf Trockeneis verschickt.

Nachdem die DNA den Empfänger erreicht hatte, wurden entsprechende Oligonukleotide (Primer) für das GoldenGate Assay Protokoll (Illumina. Inc, 9885 Towne Center Drive, San Diego, CA) hergestellt und einer Qualitätskontrolle unterzogen. PCR Amplifikationsreaktionen wurden im Multiplexmaßstab mit 192 Ziel-SNPs durchgeführt. Eine Hybridisierung (komplementäre Basenpaarung) der Proben an 96-sample-high-density

Sentrix® micro-Array (Illumina) Matrizen fand nach der Amplifikation statt. Diese Matrizen gründen sich auf „bead-based capture probe“ Sequenzen.

2.7.1 PCR Amplifikation nach dem „GoldenGate“ Assay Protokoll

Zunächst erfolgt eine Immobilisierung der genomischen DNA. Oligonukleotide, die auf spezifische SNPs abzielen, werden zunächst an paramagnetische Partikel gebunden und dann mit der immobilisierten DNA vereint (Hybridisierung).

Für jeden SNP-Locus sind drei Oligonukleotide vorgesehen. Es gibt zwei allelspezifische (ASOs) und ein locusspezifisches Oligonukleotid (LSO). Jedes der drei Oligonukleotide enthält zur genomischen DNA komplementäre Bereiche und universelle PCR Primer Stellen.

Jedes ASO besteht von 5' nach 3' aus einer universellen PCR Primer Sequenz, die komplementär zu den universellen PCR Primern P1 oder P2 ist. Dieser Sequenz folgt ein zur flankierenden Sequenz des SNPs komplementärer Abschnitt, sowie ein allelspezifisches 3'Ende. Die 3'-Base ist komplementär zu einem der zwei SNP Allele.

Das LSO hat drei Abschnitte. Eine dem SNP Locus komplementäre Sequenz findet sich einige Nukleotide „downstream“ der polymorphen Stelle am 5'Ende. Die Hybridisierung an einem bestimmten Perlentyp kann durch eine spezielle Sensorsequenz in der Mitte stattfinden. Am 3'Ende findet sich ein universeller PCR Primer Abschnitt (komplementär zu P3).

Nach der Hybridisierung der Oligonukleotide an die immobilisierte genomische DNA werden in mehreren Waschgängen überschüssige und falsch hybridisierte Oligonukleotide entfernt. Anschließend werden eine allelspezifische Extension und eine Ligation der locusspezifischen Oligonukleotide durchgeführt. Das erhaltene Produkt aus „Primer 1 oder 2 komplementäre Sequenz plus 5'-flankierender Bereich des SNPs plus allelspezifisches Nukleotid plus 3'-flankierender Bereich der SNPs plus „bead“ spezifischer Bereich plus Primer 3' komplementäre Sequenz“ dient als Vorlage für die Polymerasekettenreaktion (PCR) mit den drei universellen Primern P1, P2 und P3. P1 und P2 tragen jeweils unterschiedliche Fluorophoren (Cy3 bzw. Cy5), die der allelspezifischen Detektion dienen. Durch weitere Prozessierung werden die einzelsträngigen fluoreszenzmarkierten PCR Produkte mit Hilfe einer Sensoresequenz an ihren komplementären Beadtyp hybridisiert (Illumina, 2009).

2.7.2 Das Prinzip des „Bead Chip“ Arrays

„Beads“ (Glasperlen) lagern sich am angeätzten Ende der optischen Faser an. Sie besitzen die zu den Sensoren komplementären Nucleotidsequenzen. Mit diesen Nucleotidsequenzen können die einzelnen SNP Genotypisierungen decodiert werden können. Die Sensoren werden über PCR spezifisch für einen SNP in die Probe eingeführt.

2.7.2.1 Aufbau der Arraymatrix

Mehrere 100.000 Kopien eines bestimmten Oligonukleotids sind in einer Perle kovalent gebunden. Entsprechend der Anzahl der zu untersuchenden Allele wurden 384 verschiedene Perlen für die SNP-Genotypisierung verwendet. Um eine Kreuzhybridisierung der Oligonukleotide untereinander und eine unspezifische Hybridisierung im menschlichen Genom ausschließen zu können, wurden die Oligonukleotide entsprechend ausgewählt.

Nach der Durchmischung der oligonukleotidspezifischen Perlen wurden sie mit einem fiberoptischen Faserbündel, das aus etwa 50000 einzelnen Fasern besteht, in Berührung gebracht. An das angeätzte Ende einer einzelnen Faser heftet sich jeweils eine Glasperle mit dem entsprechenden Oligonukleotid. Schließlich ergeben sich pro Faserbündel etwa 50000 Signale, die aus Vielfachen der eingesetzten Oligonucleotidproben bestehen: etwa 33 Signale pro Oligonukleotid bei maximal 1500 unterschiedlichen Perlentypen und gleichmäßiger Verteilung.

2.7.3 Analyse der genotypspezifischen Fluoreszenzsignale

Mit Hilfe eines 2 Farben Fluoreszenz Scanners erfolgte die Detektion der spezifischen Allele. Genotypen und Qualitätsbestimmung werden dadurch automatisch bestimmt und protokolliert. Da z.B. Primer 1 (P1) mit dem C-Allel, und Primer 2 (P2) mit dem G-Allel assoziiert ist, deckt das Verhältnis der zwei primerspezifischen Fluoreszenzsignale die Genotypen CC, CG oder GG auf. Gelbe Fluoreszenzsignale sind Indikatoren für heterozygote Genotypen. Rote und grüne Fluoreszenzsignale signalisieren homozygote Genotypen.

Hierzu wird ein Anregungsstrahl zur Glasperle durch das Bündel geleitet. Durch die Faser wird die emittierte Fluoreszenz zurückgeführt. Hierdurch wird die Anordnung auf der Gegenseite des faseroptischen Bündels dargestellt (Oliphant et al., 2002).

Die Genotypisierung wurde an zwei SNPs des NCAM1 Gens vorgenommen (Tab.10). Die in dieser Arbeit untersuchten Polymorphismen rs1245113 und rs1369816 liegen beide im 240715bp umfassenden Intron 1 des NCAM1 Gens, welches sich auf dem Chromosom 11q23 befindet.

Ergebnisse des Internationalen HapMap Projekts bezüglich der Allelverteilung des Polymorphismus rs1245113 in Europa zeigen, dass beide Allelvarianten relativ häufig vorkommen, da die minimale Allelfrequenz bei 47,4% liegt. Für den Polymorphismus rs1369816 ist ein Überwiegen eines Allels zu beobachten (minimale Allelfrequenz 22,4%) (Tab.11) (National Center for Biotechnology Information, 2009b).

Tab.10: Genotypisierte Polymorphismen des NCAM1 Gens auf Chromosom11q23

ID	Chromosomale Position	Allel	Position Im/zum Gen	Funktion
rs1245113	112984932	C/G	<ul style="list-style-type: none"> • Intron 1 • 118691 bp von Startcodon entfernt 	nicht codierend
rs1369816	113026609	G/T	<ul style="list-style-type: none"> • Intron 1 • 160367 bp von Startcodon entfernt 	nicht codierend

Tab.11: HapMap-Frequenzen der NCAM1 Polymorphismen bei Europäern

Polymorphismus	Allel	Prozentuale Verteilung bei Europäern
rs1245113	C	47,4%
	G	52,6%
rs1369816	G	77,6%
	T	22,4%

2.8 Statistische Analyse

Mit Hilfe der Software „Statistical package for Social Sciences“ (SPSS 15.0, SPSS Inc., Chicago, 2001, <http://www.csub.edu/ssric-trd/SPSS/SPSfirst.htm>) wurde die Auswertung durchgeführt.

Um Unterschiede bezüglich der soziodemographischen Variablen zwischen den Genotypen festzustellen, wurden t-Tests oder χ^2 -Tests durchgeführt. Ob das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht vorliegt, konnte mit dem χ^2 -Tests geprüft werden.

Zunächst wurden Varianzanalysen mit ANOVA (analysis of variance) für den Handlungs-IQ, den Verbal-IQ und den Gesamt-IQ berechnet. Hierbei wurden die Faktoren Genotyp (C/C, C/G, G/G bzw. G/G, G/T, T/T) oder Allel (C/G bzw. G/T) und das Geschlecht (männlich, weiblich) integriert und der Bildungsgrad (gering, mittel, hoch) berücksichtigt. Da der Gesamt-IQ im Gegensatz zu den Unterskalen alterskorrigiert ist, wurde das Alter nicht integriert.

Anschließend wurden zwei explorative Zwei-Faktoren-MANOVAs (multivariate analysis of variance) berechnet. Hierbei wurden die elf Untereinheiten des Hawie-R (Allgemeines Wissen, Zahlennachsprechen, Wortschatztest, Rechnerisches Denken, Allgemeines Verständnis, Gemeinsamkeiten finden, Bilderergänzen, Bilderordnen, Mosaik-Test, Figurenlegen, Zahlen-Symbol-Test), der Faktoren Genotyp (C/C, C/G, G/G bzw. G/G, G/T, T/T) oder Allel (C/G bzw. G/T) und das Geschlecht (männlich, weiblich) integriert. Nach Alter und Bildungsgrad (gering, mittel, hoch) wurde kontrolliert.

Es wurde ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ festgelegt. Als Trend wurde $p < 0,1$ gewertet.

3 Ergebnisse

Um die Assoziation von zwei Polymorphismen im NCAM1 Gen mit Kognition identifizieren zu können, wurde in der Studie der Intelligenztest HAWIE-R (Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991) und eine Genotypisierung der beiden Polymorphismen durchgeführt.

Bei dem SNP rs1245113 wurden 286 gesunde Personen genotypisiert.

Bei dem SNP rs1369816 wurden ebenfalls 286 Personen eingeschlossen. An der Studie nahmen 43% Probanden männlichen Geschlechts teil. Mit 57% waren weibliche Teilnehmer vermehrt an der Studie beteiligt.

Einen Hauptschulabschluß hatten 25% der Probanden, 30% einen Realschulabschluss und 45% das Abitur. Probanden mit dem höchsten Schulabschluss (45%) hatten demnach den größten Anteil. Die Schulbildung wurde als Covariable in die Berechnung integriert.

3.1 Analyse des NCAM1 Polymorphismus rs1245113

Bei einer Gruppe von 286 Probanden deutschen Ursprungs aus dem Raum München wurde die Assoziation der genetischen Variation rs1245113 im Intron 1 des NCAM1 Gens (118691 bp Abstand zum Startcodon) mit der Leistung beim HAWIE-R untersucht. Die Ergebnisse des Gesamt-IQ, des Verbal-IQ, des Handlungs-IQ und der elf Untereinheiten des HAWIE-R wurden hierfür in Verbindung mit den Genotypen (CC/CG/GG) und den Allelen (C/G) verwendet.

Die Genotypverteilung war im Hardy-Weinberg-Equilibrium ($\chi^2= 0,003$, $df= 2$, $p= 0,999$).

3.1.1 Genotypverteilung des Polymorphismus rs1245113

Die statistische Auswertung ergab, dass der Genotyp C/G mit einem Anteil von 51% der untersuchten Probandengruppe ($n_{\text{gesamt}}=286$) relativ stark vertreten war. Der Genotyp G/G bildete mit 30% die zweitgrößte Gruppe, gefolgt vom Genotyp C/C, der mit 19% die kleinste Gruppe des Probandenkollektivs ergab (Tab.12).

Tab.12: Darstellung der Genotypverteilung des NCAM1 Polymorphismus rs1245113

Genotyp			Gesamt n
C/C n (%)	C/G n (%)	GG n (%)	
54 (19)	147 (51)	85 (30)	286

Auf der Suche nach einer möglichen Assoziation eines Genotyps zur Intelligenzleistung, wurden der Gesamt-IQ, der Verbal-IQ, der Handlungs-IQ und die Hauptresultate der Untereinheiten des Intelligenztests für die möglichen Genotypen berechnet (Tab.13).

Tab.13: Resultate des HAWIE-R Tests assoziiert mit der Genotypenverteilung des NCAM1 Polymorphismus rs1245113

	Genotyp			F	p
	C/C (n=54)	C/G (n=147)	G/G (n=85)		
	MW (SD)	MW (SD)	MW (SD)		
Hawie - R¹					
Gesamt-IQ	109,45 (15,057)	112,48 (14,316)	112,11 (16,003)	0,239	0,788
Verbal-IQ	108,14 (15,312)	110,52 (13,403)	110,71 (15,099)	0,021	0,979
Handlungs-IQ	106,66 (16,066)	109,64 (16,555)	108,11 (16,902)	0,544	0,581
Verbaltests (Rohwerte)²					
Allgemeines Wissen	16,43 (3,334)	16,69 (3,588)	16,86 (4,212)	0,276	0,759
Zahlennachsprechen	14,3 (4,232)	13,9 (3,721)	13,81 (3,524)	1,439	0,239
Wortschatztest	21,91 (4,873)	22,63 (4,680)	23,31 (5,155)	0,008	0,992
Rechnerisches Denken	13,78 (3,118)	13,63 (3,305)	13,82 (3,444)	0,497	0,62
Allgemeines Verständnis	21,41 (3,271)	22,01 (2,600)	21,69 (3,625)	1,95	0,144
Gemeinsamkeiten finden	25,98 (4,002)	26,62 (3,427)	26,29 (3,773)	2,302	0,102
Handlungstest (Rohwerte)²					
Bilderergänzen	12,93 (3,392)	13,29 (2,784)	12,92 (4,241)	2,602	0,076
Bilderordnen	27,7 (10,860)	27,87 (11,851)	28,46 (12,687)	1,637	0,196
Mosaik-Test	31,28 (8,392)	32,29 (9,884)	31,58 (19,660)	1,642	0,196
Figurenlegen	29,39 (5,199)	30,46 (6,322)	29,99 (6,643)	0,599	0,55
Zahlen-Symbol-Test	53,15 (13,297)	54,9 (12,406)	54,67 (13,771)	1,331	0,266

df=2/278

Der Genotyp zeigte keinen Haupteffekt ($F=1,016$, $df=22/516$, $p=0,441$). Die Assoziation der Genotypenverteilung mit dem Gesamt-IQ, dem Verbal-IQ und dem Handlungs-IQ zeigte weder signifikante Werte noch einen Trend.

Die Assoziation der Genotypenverteilung mit dem Handlungstest Bilderergänzen ($F=2,602$, $df=2/278$, $p=0,076$) zeigte keinen Haupteffekt, jedoch einen Trend (Abb.10).

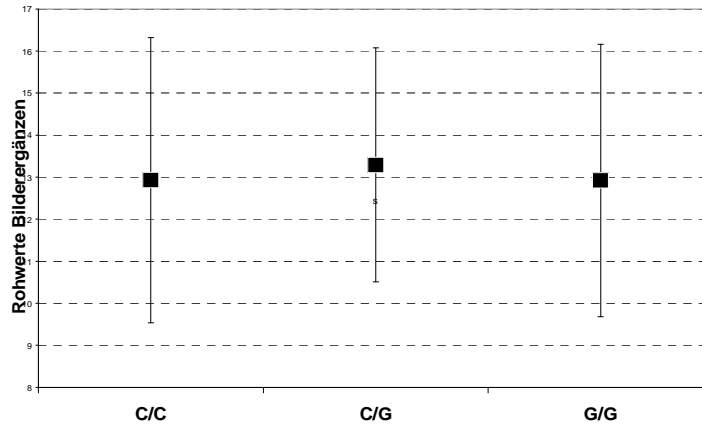


Abb.10: Assoziation der Genotypenverteilung des NCAM1 Polymorphismus rs1245113 im HAWIE-Untertest Bilderergänzen (Trend). Angegeben sind jeweils Mittelwert und die Standardabweichung

Probanden mit dem Genotyp (C/G) zeigten im Mittel etwas höhere Rohwerte als Probanden mit den Genotypen (C/C) und (G/G).

3.1.2 Allelverteilung des Polymorphismus rs1245113

Die statistische Auswertung mittels der Varianzanalyse ergab die in Tabelle 15 veranschaulichte Allelverteilung innerhalb der Probanden. Das C-Allel war nach den absoluten Zahlen mit 45% seltener vertreten als das G-Allel mit 55%. Dies entspricht in etwa der Allelhäufigkeit, die durch das Hapmap-Projekt an 30 Eltern Kind Trios an Probanden europäischen Ursprungs bestimmt wurde (Tab. 11, S.54).

Tab.14: Darstellung der Allelverteilung des NCAM1 Polymorphismus rs1245113

Allel		Gesamt n
C n (%)	G n (%)	
255 (45)	317 (55)	572

Der Gesamt-IQ, der Verbal-IQ, der Handlungs-IQ und die Hauptresultate der Untereinheiten des Intelligenztest für das C-Allel und das G-Allel werden in nachfolgender Tabelle dargestellt (Tab.15).

Tab.15: Hauptresultate des HAWIE-R Tests assoziiert mit der Allelverteilung des NCAM1 Polymorphismus rs1245113

	Allel		F	p
	C (n=255)	G (n=317)		
	MW (SD)	MW (SD)		
Hawie - R¹				
Gesamt-IQ	111,17 (14,659)	112,28 (15,194)	0,29	0,59
Verbal-IQ	109,49 (14,248)	110,62 (14,290)	0,023	0,88
Handlungs-IQ	108,35 (16,350)	108,82 (16,706)	0,533	0,466
Verbaltests (Rohwerte)²				
Allgemeines Wissen	16,58 (3,472)	16,78 (3,923)	0,031	0,86
Zahlennachsprechen	14,07 (3,933)	13,85 (3,606)	3,967	0,047
Wortschatztest	22,33 (4,757)	22,99 (4,936)	0,016	0,899
Rechnerisches Denken	13,69 (3,216)	13,73 (3,371)	0,152	0,697
Allgemeines Verständnis	21,75 (2,905)	21,84 (3,184)	1,115	0,291
Gemeinsamkeiten finden	26,35 (3,679)	26,44 (3,608)	2,867	0,091
Handlungstest (Rohwerte)²				
Bilderergänzen	13,13 (3,048)	13,09 (3,033)	2,309	0,129
Bilderordnen	27,8 (11,400)	28,19 (12,270)	2,535	0,112
Mosaik-Test	31,86 (9,263)	31,91 (10,280)	3,372	0,067
Figurenlegen	30 (5,876)	30,21 (6,479)	0,497	0,481
Zahlen-Symbol-Test	54,16 (12,767)	54,78 (13,113)	2,524	0,113

df=1/566

Das Allel zeigte keinen Haupteffekt (F=1,320, df=11/549, p=0,209). Die Assoziation der Genotypenverteilung mit dem Gesamt-IQ, dem Verbal-IQ und dem Handlungs-IQ zeigte weder signifikante Werte noch einen Trend.

Die Assoziation der Allelverteilung mit den Untereinheiten Gemeinsamkeitenfinden (F=2.867, df=1/566, p=0.091) (Abb.11A) und Mosaiktest (F=3.372, df=1/566, p=0.067)

(Abb.11B) zeigte einen Trend. In diesen beiden Untertests ist das G-Allel mit etwas höheren Rohwerten assoziiert, als das C-Allel.

Signifikant unterschiedliche Werte wurden bei dem Verbaltest Zahlennachsprechen ($F=3.967$, $df=1/566$, $p=0.047$) ermittelt (Abb.11C).

Beim Untertest Zahlennachsprechen ist dagegen das C-Allel mit einem höheren Rohwert assoziiert als das G-Allel.

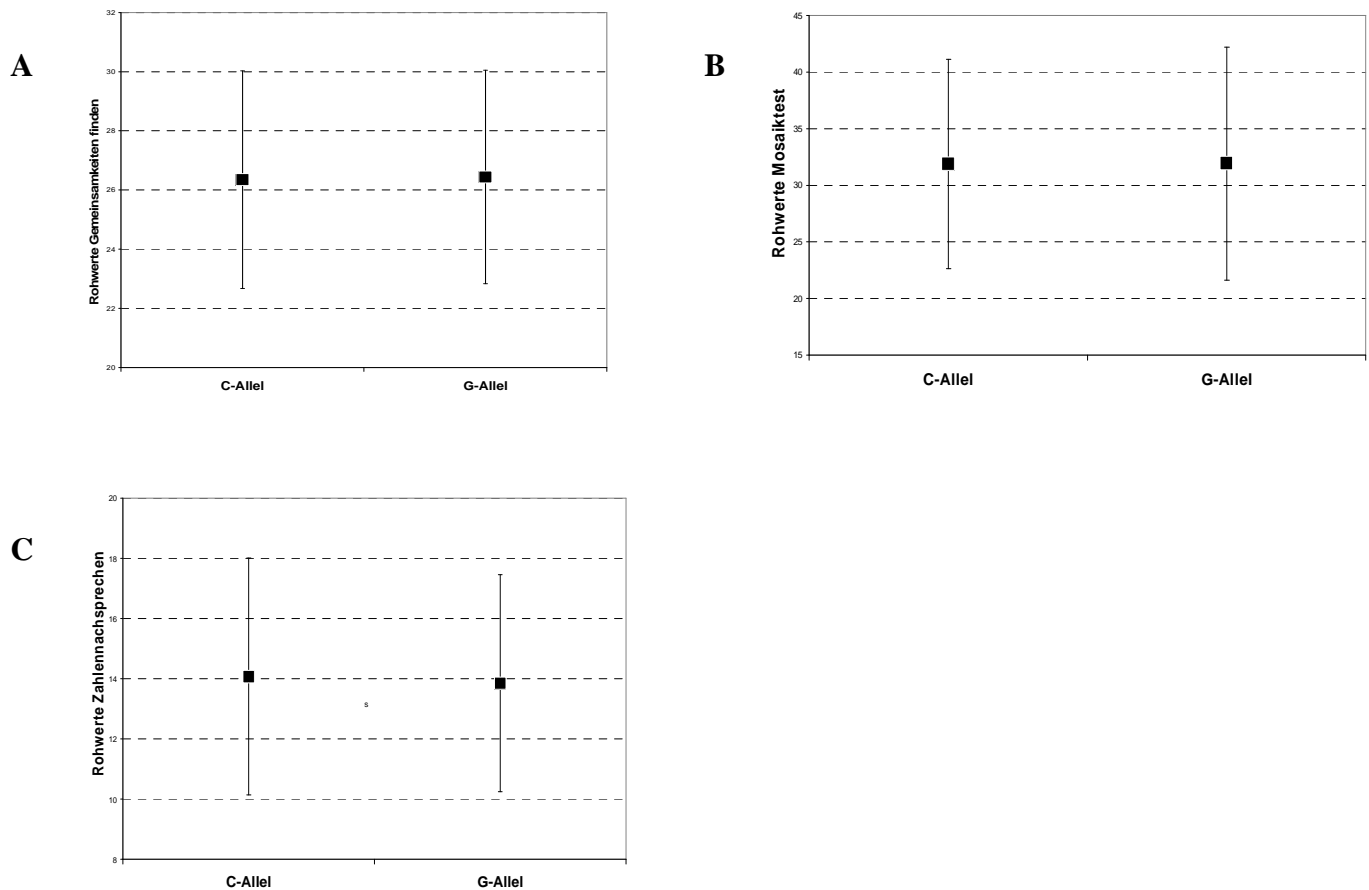


Abb.11: Assoziation der Allelverteilung des NCAM1 Polymorphismus rs1245113 in den HAWIE-Untertests Gemeinsamkeiten finden ($p=0,091$) (A), Mosaiktest ($p=0,067$) (B) und Zahlennachsprechen ($p=0,047$) (C). Angegeben sind jeweils Mittelwert und Standardabweichung

3.2 Analyse des NCAM1 Polymorphismus rs1369816

Bei einer Gruppe von 286 Probanden deutschen Ursprungs aus dem Raum München wurde der Einfluss der genetischen Variation rs1369816 (Position im Intron 1 des NCAM1 Gens; 160367 bp Abstand zum Startcodon) auf die Leistung beim HAWIE-R betrachtet. Die Ergebnisse des Gesamt-IQ, des Verbal-IQ, des Handlungs-IQ und der elf Untereinheiten des

HAWIE-R in Assoziation mit den Genotypen (GG/GT/TT) und den Allelen (G/T) des Polymorphismus wurden untersucht. Die Genotypenverteilung war im Hardy-Weinberg-Equilibrium ($\chi^2= 0,003$, $df= 2$, $p= 0,999$).

3.2.1 Genotypverteilung des Polymorphismus rs1369816

Die Genotypverteilung innerhalb der Probanden wurde durch eine statistische Auswertung festgestellt (Tab.16). Der homozygote Genotyp T/T war nach den absoluten Zahlen mit Abstand am geringsten vertreten (4%).

Tab.16: Darstellung der Genotypverteilung des NCAM1 Polymorphismus rs1369816

Genotyp			Gesamt n
GG n (%)	GT n (%)	TT n (%)	
183 (63)	93 (33)	10 (4)	286

Im Folgenden sind der Gesamt-IQ, der Verbal-IQ, der Handlungs-IQ und die Hauptresultate des HAWIE-R für die möglichen Genotypen dargestellt. Dies geschieht im Hinblick auf eine mögliche Assoziation der Genotypen mit der Intelligenzleistung (Tab.17).

Der Genotyp zeigte keinen Haupteffekt, jedoch einen Trend bei der multivariaten Prüfgröße Pillai-Spur ($F=1,458$ $df=22/520$, $p=0,082$). Diese wird berechnet, um die Effekte der Faktoren und Kovariaten sowie der Wechselwirkungen zu bestimmen und ist bei unterschiedlichen Ergebnissen anderen Teststatistiken (Wilks-Lambda, Hotelling-Spur, größte statistische Wurzel nach Roy) vorzuziehen (Olson, 1976).

Die Assoziation der Genotypenverteilung mit dem Gesamt-IQ, dem Verbal-IQ und dem Handlungs-IQ zeigte keine signifikanten Werte.

Tab.17: Resultate des HAWIE-R Tests assoziiert mit der Genotypenverteilung des NCAM1 Polymorphismus rs1369816

	Genotyp			F	p
	G/G (n=183)	G/T (n=93)	T/T (n=10)		
	MW (SD)	MW (SD)	MW (SD)		
Hawie - R¹					
Gesamt-IQ	112,57 (15,025)	109,93 (15,334)	114,70 (8,070)	0,166	0,847
Verbal-IQ	111,12 (14,211)	107,50 (14,337)	116,20 (11,887)	0,583	0,559
Handlungs-IQ	109,09 (15,334)	107,64 (17,379)	108,90 (8,749)	0,259	0,772
Verbaltests (Rohwerte)²					
Allgemeines Wissen	16,86 (3,891)	16,23 (3,414)	17,8 (3,327)	0,606	0,547
Zahlennachsprechen	13,85 (3,638)	13,98 (4,027)	15,4 (3,307)	0,667	0,514
Wortschatztest	23,28 (4,844)	21,4 (4,771)	24,1 (4,095)	1,959	0,144
Rechnerisches Denken	14 (3,263)	13,12 (3,355)	14 (3,091)	1,478	0,23
Allgemeines Verständnis	21,87 (3,213)	21,61 (2,829)	22,3 (2,406)	0,144	0,866
Gemeinsamkeiten finden	26,34 (3,509)	26,34 (3,509)	26,3 (3,653)	0,818	0,443
Handlungstest (Rohwerte)²					
Bilderergänzen	13,13 (3,118)	12,95 (2,950)	14,2 (2,348)	0,136	0,873
Bilderordnen	28,46 (12,249)	27,18 (11,626)	27,5 (7,106)	0,297	0,743
Mosaik-Test	32,22 (10,164)	31,16 (9,371)	32,5 (8,423)	0,02	0,98
Figurenlegen	30,25 (6,124)	30,28 (6,167)	26,2 (7,729)	3,009	0,051
Zahlen-Symbol-Test	54,91 (12,901)	53,85 (13,098)	53,1 (13,876)	0,396	0,673

df=2/278

Die Assoziation der Genotypverteilung mit dem Handlungstest Figurenlegen (F=3,009, df=2/278, p=0.051) zeigte einen signifikanten Wert (Abb.12).

Träger des Genotyps (T/T) schnitten im Handlungstest Figurenlegen schlechter ab als Träger des Genotyps (G/T) und Genotyps (G/G), die annähernd gleich abschnitten.

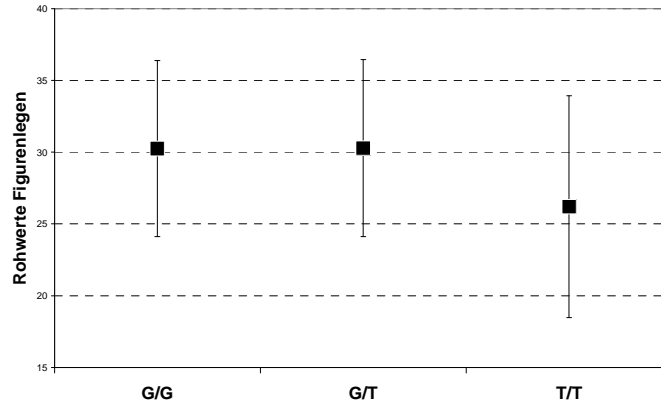


Abb.12: Assoziation der Genotypenverteilung des NCAM1 Polymorphismus rs1369816 im HAWIE-Untertest Figurenlegen (Signifikanz). Angegeben sind jeweils Mittelwert und Standardabweichung

3.2.2 Allelverteilung des Polymorphismus rs1369816

Die statistische Auswertung ergab für die Allelverteilung innerhalb der Probanden die in Tabelle 18 veranschaulichten Werte. Nach den absoluten Zahlen war das G-Allel mit 80% häufiger vertreten war als das T-Allel mit 20%.

Tab.18: Darstellung der Allelverteilung des NCAM1 Polymorphismus rs1369816

Allel		Gesamt n
G n (%)	T n (%)	
459(80)	113(20)	572

Der Gesamt-IQ, der Verbal-IQ, der Handlungs-IQ und die Hauptresultate des Intelligenztests für das G-Allel und das T-Allel sind im Folgenden dargestellt (Tab.19).

Tab.19: Hauptresultate des HAWIE-R Tests assoziiert mit der Allelverteilung des NCAM1 Polymorphismus rs1369816

	Allel		F	p
	G (n=459)	T (n=113)		
	MW (SD)	MW (SD)		
Hawie - R¹				
Gesamt-IQ	112,03 (15,093)	110,76 (14,395)	0,283	0,847
Verbal-IQ	110,38 (14,281)	109,03 (14,238)	0,395	0,53
Handlungs-IQ	108,79 (16,638)	107,86 (16,155)	0,105	0,746
Verbaltests (Rohwerte)²				
Allgemeines Wissen	16,73 (3,800)	16,5 (3,423)	0,38	0,538
Zahlennachsprechen	13,88 (3,712)	14,23 (3,921)	1,317	0,252
Wortschatztest	22,9 (4,878)	21,88 (4,740)	2,648	0,104
Rechnerisches Denken	13,82 (3,294)	13,27 (3,301)	1,945	0,164
Allgemeines Verständnis	21,82 (3,134)	21,73 (2,752)	0,158	0,692
Gemeinsamkeiten finden	26,42 (3,637)	26,34 (3,502)	0,828	0,363
Handlungstest (Rohwerte)²				
Bilderergänzen	13,09 (3,079)	13,17 (2,875)	0,308	0,579
Bilderordnen	28,2 (12,111)	27,24 (10,916)	0,002	0,966
Mosaik-Test	32,01 (9,996)	31,4 (9,154)	0,000	0,99
Figurenlegen	30,25 (6,119)	29,56 (6,579)	0,169	0,681
Zahlen-Symbol-Test	54,69 (12,920)	53,72 (13,113)	0,016	0,898

df=1/566

Das Allel zeigte keinen Haupteffekt und keinen Trend ($F=1,267$, $df=11/549$, $p=0,240$).

Die Assoziation der Allelverteilung mit dem Gesamt-IQ, dem Verbal-IQ und dem Handlungs-IQ zeigte keine signifikanten Werte. Bei der Assoziation der Allelverteilung mit den elf Untereinheiten zeigten sich keine signifikanten Werte im Verbal- und Handlungsteil.

4 Diskussion

Die Durchführung eines allgemeinen Intelligenztest (HAWIE-R: Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991) an 286 neuropsychologisch unauffälligen, in der dritten Generation deutschstämmigen Einwohnern Münchens sollte eine mögliche Assoziation der NCAM1 Polymorphismen rs1245113 und rs1369816 mit Kognition überprüfen.

Dazu wurden separat die Assoziationen mit Allelfrequenz und Genotypfrequenz berechnet.

Es zeigten sich signifikante Assoziationen mit bestimmten Teilbereichen der Kognition.

Für den Polymorphismus rs1245113 konnte mit vier Untertests des HAWIE-R ein signifikanter Zusammenhang bzw. Trend festgestellt werden. Die Assoziation mit besseren Leistungen ließ sich jedoch nicht auf ein Allel bzw. eine Subdomäne einschränken. In den Handlungstests Mosaik-Test und Bilderergänzen war sowohl das G-Allel (Mosaik-Test, Trend), als auch das C-Allel (Bilderergänzen, Trend) mit besseren Leistungen assoziiert. Ähnlich verhielt es sich mit den signifikant assoziierten Verbaluntertests. Hier war im Test Gemeinsamkeiten finden (Trend) das G-Allel, im Test Zahlennachsprechen (Signifikanz) das C-Allel mit besseren Leistungen assoziiert.

Beim SNP rs1369816 konnte ein statistischer Trend bezüglich der Prüfgröße Pillai-Spur ($p=0,082$) zwischen dem Genotyp des NCAM1 SNP rs1369816 und kognitiver Leistung festgestellt werden.

Zudem zeigte sich ein signifikanter Unterschied bei dem Handlungstest Figurenlegen, bei dem Probanden mit dem Genotyp T/T im Mittel schlechter als Probanden mit den Genotypen G/T und G/G abschnitten.

4.1 Diskussion der Methoden

-Ethnizität

Um eine Beeinflussung der Studienergebnisse durch eine unterschiedliche genetische Abstammung möglichst klein zu halten, wurden bei dieser Studie nur deutschstämmige

Probanden aus einem repräsentativen Querschnitt der Münchner Bevölkerung eingeschlossen, deren Eltern und Großeltern ebenfalls aus Deutschland stammen.

Generell ist bei Assoziationsstudien nicht auszuschliessen, dass positive oder negative Ergebnisse auch durch populationsbezogene genetische Faktoren bedingt sein könnten (Zimbarido und Gerrig, 2004). Deshalb ist die ethnische Herkunft bei jeder genetischen Untersuchung zu berücksichtigen.

In Bezug zu den in dieser Arbeit behandelten Polymorphismen sind Ergebnisse des Internationalen HapMap Projekts interessant. Insgesamt wurden aus drei Kontinenten 270 Blutproben von freiwilligen Probanden untersucht. 30 Nigerianische Ehepaare mit jeweils einem erwachsenen Kind, 30 nordamerikanische Ehepaare aus Utah mit Vorfahren aus Mittel- und Nordeuropa mit jeweils einem erwachsenen Kind, 45 nicht verwandte Japaner und 45 nicht verwandte Chinesen wurden in die Untersuchung eingeschlossen. Es wurden keine medizinischen oder phänotypischen Informationen über die Studienteilnehmer gewonnen, bis auf ihr Geschlecht und ihre Herkunft. Das Internationale HapMap Projekt zeigt, dass beim Polymorphismus rs1245113 des NCAM1 Gens bei Personen kaukasischer Herkunft das Cytosin (C) mit einem Anteil von 52,6% und das Guanin (G) mit einem Anteil von 47,4% nahezu gleich häufig vorkommen. Bei Afrikanern ist das C-Allel mit 61% häufiger vorhanden, als das G-Allel mit 39%. Hingegen liegt bei Asiaten wesentlich häufiger das Guanin mit einem Anteil von 78,6% vor (National Center for Biotechnology Information, 2009b).

Tab.20: Vergleich der HapMap-Frequenzen der NCAM1 Polymorphismen rs1245113 und rs1369816 bei Afrikanern, Asiaten und Europäern, sowie der Ergebnisse unserer Stichprobe

Polymorphismus	Allel	Verteilung bei Afrikanern in %	Verteilung bei Asiaten in %	Verteilung bei Europäern in %	Stichprobe dieser Studie in %
rs1245113	C	61,0%	21,4%	47,4%	45%
	G	39,0%	78,6%	52,6%	55%
rs1369816	G	72,5%	59,1%	77,6%	80%
	T	27,5%	40,9%	22,4%	20%

Beim Polymorphismus rs1369816 ist die Base G bei Personen kaukasischer Herkunft mit 77,6% wesentlich häufiger vertreten als die Base Thymin (T) mit 22,4%. Auch bei Afrikanern ist das G-Allel mit 72,5% häufiger vorhanden als das T-Allel mit 27,5%. Bei Asiaten ist

dieser SNP etwas ausgeglichener, denn Guanin kommt in der Untersuchung des Internationalen HapMap Projekts bei 59,1% und Thymin bei 40,9% der Probanden vor (National Center for Biotechnology Information, 2009a) (Tab.20).

Diese Ergebnisse zeigen, dass ein unterschiedliches Auftreten von Genvarianten bei den NCAM1 Polymorphismen rs1245113 und rs1369816 in verschiedenen ethnischen Gruppen besteht.

Bei einem Vergleich von den in unserer Studie ermittelten Werten mit den im Internationalen HapMap Projekt mit Europäern ermittelten Ergebnissen liegen die Basen Cytosin und Guanin im SNP rs1245113 in unserer Studie mit annähernd gleicher Verteilung vor wie im Internationalen HapMap Projekt, und zwar die Base C mit einem Anteil von 45% im Vergleich zu 47,4%, und die Base G mit einem Anteil von 55% im Vergleich zu 52,6%.

Ebenso verhält es sich mit unseren Ergebnissen beim Polymorphismus rs1369816. Die Base Guanin hat in unserer Studie einen Anteil von 80%, 77,6% sind es beim Internationalen HapMap Projekt. Die Base Thymin hat einen Anteil von 20% im Vergleich zu 22,4% (Tab.20).

Die leichten Differenzen zu den Ergebnissen des Internationalen HapMap Projekts kommen höchstwahrscheinlich durch die potentiell unterschiedliche Ethnizität zwischen Amerikanern europäischen Ursprungs einerseits und bis in die dritte Generation deutschstämmigen Probanden andererseits sowie die wesentlich höhere Stichprobenanzahl (30 Trios beim Internationalen HapMap Projekt versus 286 Probanden in dieser Studie) zustande.

Bisher wurden noch keine internationalen Studien zu den Polymorphismen rs1245113 und rs1369816 im NCAM1 Gen in Verbindung mit Kognition durchgeführt. Deshalb kann noch keine Aussage darüber getroffen werden, ob eine andere ethnische Abstammung zu unterschiedlichen Ergebnissen führen würde. Die unterschiedlichen Allel- bzw. Genotypverteilungen zwischen den Bevölkerungsgruppen lassen dies jedoch als möglich erscheinen.

Fünf SNPs des NCAM1 Gens (rs1943620, rs1836796, rs1821693, rs686050 und rs584427) wurden aktuell in zwei Studien an Probanden unterschiedlicher ethnischer Abstammung untersucht. Sullivan et al. untersuchten Assoziationen an 641 an Schizophrenie erkrankten Personen unterschiedlicher Herkunft (Afrikanische Abstammung (n=185), Europäische Abstammung (n=379) und „Andere“ (n=77)) und zogen einen Vergleich zu einem gesunden

Probandenkollektiv (Sullivan et al., 2007). Xu et al. untersuchten 288 schizophrene und 288 gesunde Han Chinesen (Xu et al., 2008).

Die Studie von Sullivan et al. zeigte ausschliesslich bei den Probanden europäischer Herkunft bei den fünf SNPs signifikante Assoziationen mit der Krankheit auf, wobei die größte Assoziation bei rs1836796 festgestellt wurde ($p=0,007$) (Sullivan et al., 2007). Die Untersuchung an den chinesischen Probanden hingegen wies bei keinem der fünf SNPs eine signifikante Assoziation zur Schizophrenie auf (Xu et al., 2008).

Beide Studien haben eine Beeinflussung der Studienergebnisse durch unterschiedliche genetische Abstammung vermieden, indem sie ihre Tests jeweils in ethnisch homogene Bevölkerungsgruppen eingeteilt haben.

Die geschilderten Studien demonstrieren, dass es von entscheidender Wichtigkeit ist, dass die untersuchte Gruppe in sich gleichartig ist - sei es als Patientengruppe die z.B. an der Schizophrenie leidet oder auch als gesunde Kontrollgruppe - um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten. Das in unserer Studie verwendete, mehrstufige Verfahren zur Selektion von in der dritten Generation deutschstämmigen Probanden ohne neuropsychiatrische Erkrankungen bei sich oder ihren Verwandten hat die Homogenität unseres Probandenkollektivs gesichert.

Eine über alle Populationen hinweg allgemeingültige Aussage scheint für das NCAM1-Gen sehr unwahrscheinlich.

-Rekrutierungsverfahren und Einschlusskriterien

Werden unterschiedliche Schwerpunkte bei den klinischen Diagnoseverfahren gesetzt oder erfolgt eine inkonsequente Anwendung der Einschlussverfahren, könnte dies die Assoziationsergebnisse zwischen Intelligenz und den NCAM1 Polymorphismen rs1245113 und rs1369816 verändern, da sich Neuropsychopathien unter anderem auch auf kognitive Fähigkeiten auswirken (Goldberg et al., 1993; Heinrichs und Zakzanis, 1998). Deshalb wurden nur Probanden in unsere Studie eingeschlossen, die sowohl selbst, als auch in der Blutsverwandtschaft keine psychiatrischen Erkrankungen hatten.

Zusätzlich wurden Probanden mit relevanten körperlichen Erkrankungen, die die Kognition beeinflussen könnten, ausgeschlossen.

Da die Probanden zunächst per Zufallsverfahren aus der Münchner Bevölkerung ausgewählt wurden, ergibt dies eine repräsentative Stichprobe für eine begrenzte geographische Lage. Dennoch sollte berücksichtigt werden, dass die angeschriebenen Probanden auch bereit sein mussten, an der Studie teilzunehmen. Es ist nicht auszuschließen, dass Personen, die an der

Studie teilnehmen, andere Eigenschaften haben könnten als Personen, die nicht teilnehmen wollen.

Es ist kritisch anzumerken, dass die Einschlusskriterien für unsere Studie durch eine zusätzliche Frage der Probanden nach vorhandenem Stress optimiert gewesen wären, da NCAM1 bei chronischem Stress eine wichtige Rolle spielt.

Stress hat generell einen tief greifenden Effekt auf die Gehirnstruktur und -funktion. So zeigte sich bei Ratten, die chronischem Stress ausgesetzt waren, eine Atrophie mit signifikanter Verkürzung und geringerer Verzweigung der apikalen Dendriten der pyramidalen CA3 Neurone (Magariños und McEwing, 1995) und *in vitro* eine Reduktion von Schaffer-Kollateralen sowie ein beeinträchtigt räumliches Gedächtnis beim *Morris water maze*-Test (Kim et al., 2007).

Die Wirkung von Stress konnte auch eine Studie an älteren Menschen deutlich machen, die zeigte, dass durch Stresseinwirkung (messbar an hohen Glukokortikoidkonzentrationen) sowohl eine Atrophie im Hippocampus entstanden war, als auch kognitive Defizite auftraten (Lupien et al., 1998). Probanden mit posttraumatischen Stress (Vietnam Veteranen, Missbrauch in der Kindheit) zeigten im MRT ebenfalls eine Volumenreduktion des Hippocampus und Defizite des Gedächtnisses bei den Vietnam Veteranen (Bremner, 1999). Patienten mit durch chronischen Stress ausgelöstem Burnout-Syndrom, hatten bei Gedächtnisleistungstests sowie bei auditiven und visuellen Aufmerksamkeitsprüfungen signifikant schlechtere Ergebnisse als die gesunde Vergleichsgruppe (Sandström et al., 2005).

Sandi und Mitarbeiter zeigten 2001 die auffallende Rolle von NCAM1 bei Stress. Ratten wurden in ihren Untersuchungen chronischem Stress ausgesetzt. Eine deutlich verringerte Ausschüttung von NCAM1 war die Folge, während die Ausschüttung von PSA-NCAM1 und L1 im Hippocampus anstieg (Sandi et al., 2001). Auch wenn die Zunahme der PSA-NCAM1 und L1 Expression nicht der Grund für die Stress bedingte Atrophie von Nervenstrukturen sein kann, so könnte sie als Ausdruck einer kompensatorischen Neuroprotektion bewertet werden (Sandi, 2004).

In einer weiteren Studie wurden Ratten im pränatalen und/oder frühen postnatalen Zeitraum durch eine sehr beengende Unterkunft ständigem Stress ausgesetzt. Auch hier zeigte sich bei den Ratten eine drastische Reduzierung der normalen NCAM1 Ausschüttung. Zudem war die Lernfähigkeit der erwachsenen Ratten beeinträchtigt. Dies konnte jedoch deutlich verbessert werden, wenn die Umwelt, der die Tiere im Erwachsenenalter ausgesetzt waren, durch einen

sehr großen Plexiglaskäfig mit ständig wechselndem Spielzeug bereichernd wirkte (Koo et al., 2003).

Aktuell wurden in einer Untersuchung vier Monate alte Ratten je nach ihrer Reaktion auf ihnen dargebotene neue Reize eingeteilt (HR für „*highly reactive*“ bzw. stark aktiv und LR für „*low reactive*“ bzw. schwach aktiv). Im 12. Lebensmonat („*mid-life*“; Lebensmitte) der Ratten wurde ein Teil der HR und LR Ratten chronischem Stress ausgesetzt, während die übrig gebliebenen Ratten ungestört blieben. Im Alter von 18 Monaten wurde die Lernfähigkeit aller Ratten im *Morris water maze*-Test, sowie einige neuroendokrinen und neurobiologischen Werte bestimmt.

Gestresste HR Ratten schnitten im Lernfähigkeitstest schlechter ab als gestresste LR Ratten und die übrigen ungestressten Ratten. Unabhängig von der Einteilung in HR und LR Ratten, wiesen alle gestressten Ratten eine Verringerung der NCAM-180 Isoform und von L1 auf (Sandi und Touyarot, 2006).

Nachdem chronischer Stress die kognitive Leistungsfähigkeit bei Studien an Menschen (Bremner, 1999; Lupien et al., 1998; Sandström et al., 2005) und im Tierversuch (Kim et al., 2007; Koo et al., 2003; Magariños und McEwing, 1995; Sandi et al., 2001; Sandi, 2004; Sandi und Touyarot, 2006) beeinträchtigt, ist davon auszugehen, dass chronisch gestresste Probanden bei kognitiven Tests schlechter abschneiden.

Der Einfluss von chronischem Stress wurde zwar in Hinblick auf seine Manifestation als neuropsychiatrische Erkrankung berücksichtigt, da dies als Ausschlusskriterium definiert war, anhaltender Stress durch alltägliche Belastungen wurde jedoch nicht direkt berücksichtigt.

Der Proband könnte sich während der Messung der kognitiven Leistung in einer Art Grauzone befunden haben. Im speziellen Fall des NCAM1 Gens könnten hier Ergebnisse verfälscht worden sein, bzw. könnten die Ergebnisse noch signifikanter sein, wäre der Ausschluss gestresster Probanden gewährleistet gewesen; oder die Signifikanz verschwindet, wenn NCAM1-Variationen eher mit Stressbewältigung als mit Kognition assoziiert sind. Um differenziertere Ergebnisse über eine mögliche Rolle von Variationen vom NCAM1 Gen in Verbindung mit Kognition zu erhalten, sollten die Ergebnisse zukünftiger Studien in Hinblick auf Subgruppen mit chronischem Stress versus Subgruppen ohne chronischen Stress überprüft werden.

-Intelligenzdiagnostik

Bei allen Probanden wurde nach dem klinischen Interview ein Intelligenztest durchgeführt. Zur Anwendung kam der Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991 (HAWIE-R), als Individualdiagnostik der Altersgruppen von 16 bis 74 Jahren. Der HAWIE ist die deutsche Fassung des WAIS-R (Wechsler-Adult-Intelligence-Scale) und dementsprechend gut mit ihm vergleichbar. Nach Meinung von Wechsler liefert er eine gute Messung von g (Faktor der allgemeinen Intelligenz) (Tewes, 1994). Durch den aus 11 Untertests bestehenden Test sind die Aufgaben sehr breit und heterogen angelegt (Mackintosh, 1998).

Die Rohwerte der einzelnen Untertests wurden statistisch ausgewertet, sowie der Verbal-, Handlungs- und Gesamt-IQ einbezogen.

Im WAIS-R Handlungsteil wird fluide und kristalline Intelligenz dargestellt, im Wortschatzteile vorwiegend die kristalline Intelligenz (Duncan et al., 1995; Woodcock, 1990). Ein strenges Vorgehen entsprechend der Handanweisung und eine Prüfung des Interviewers durch die Studienleitung vor der Freigabe zur Untersuchung des Probanden mit dem HAWIE-R ermöglichte eine größtmögliche Durchführungsobjektivität. Nicht zu vermeiden ist dennoch ein gewisser Ermessensspielraum des Einzelnen im Bezug auf die Punktevergabe. Das kann dazu führen, dass die interindividuelle Punkteverteilung in einem gewissen Maß variiert.

Beim HAWIE-R handelt es sich um einen Individualtest ohne Multiple-Choice-Aufgaben. Dies führt zu der bekannten Schwäche des HAWIE-R im Verbalteil, weil hier bis auf die Untertests Zahlennachsprechen und Rechnerisches Denken die Auswerterobjektivität aufgrund der offenen Fragen nur schwer zu gewährleisten ist. Die vom Auswerter empfundene Qualität der Antworten fließt hier mit in die Punktevergabe ein (Tewes, 1994).

Die Qualität der verschiedenen Antworten hat bei dem Wechsler-Test direkte Auswirkungen auf die Punktevergabe. Die Durchführung des Tests in Form eines Interviews ermöglicht es dem Interviewer, einen Gesamteindruck des Patienten mit seinem Krankheitsbild zu gewinnen. Mit dem Test konnte in unserem Fall bei neuropsychiatrisch gesunden Personen überprüft werden, ob tatsächlich kein Ausschlusskriterium vorliegt.

Die Ergebnisse, die mit dem HAWIE-R in unserer Studie bezüglich der Assoziation der Ergebnisse des Phänotyps Kognition mit den NCAM1-Polymorphismen rs1245113 und rs1369816 gewonnen werden konnten, sind bisher wegen des Fehlens von entsprechenden Studien nicht mit einer anderen Intelligenzdiagnostik vergleichbar.

Die Bedeutung einer genauen Überprüfung der verwendeten diagnostischen Tests für einen multifaktoriellen Phänotyp wie beispielsweise Kognition kann jedoch am Beispiel des Taq 1A-Polymorphismus des Dopamin D2 Rezeptor Gens (DRD2-Gen) dargestellt werden, welches ebenso wie NCAM1 auf Chromosom 11q23.1 lokalisiert ist (Eubanks et al., 1992).

So zeigten Tsai und Mitarbeiter eine signifikante Assoziation des Taq 1A-Polymorphismus mit dem Handlungs-IQ anhand des WAIS-R (Tsai et al., 2002), während Reuter et al mit dem Stroop-Test keine signifikante Assoziation feststellen konnten (Reuter et al., 2005). Der Stroop-Test wurde von Ridley Stroop 1935 entwickelt und ist ein Verfahren zur Messung der individuellen Interferenzneigung bei der Farb-Wort-Interferenz (Stroop, 1935). Die untersuchte Person soll die Farbe eines visuell dargebotenen Wortes benennen; dies ist in der Regel schneller möglich, wenn der Inhalt des Wortes mit der Farbe übereinstimmt, und verlangsamt, wenn der Inhalt des Wortes der Farbe widerspricht (Dunbar und MacLeod, 1984).

Der Stroop-Test ist bezüglich der Untersuchung der Aufmerksamkeit mit dem Verbaltest Zahlennachsprechen des HAWIE-R vergleichbar, denn in diesem Untertest sind schlechte Ergebnisse Zeichen von Aufmerksamkeitsstörungen oder erhöhter Testangst (Tewes, 1994). Nachdem in unserer Studie bezüglich der Allelverteilung des NCAM1 Polymorphismus rs1245113 ein signifikanter Wert im Test Zahlennachsprechen festgestellt wurde ($p=0,047$), wäre eine Kontrolle dieses Ergebnisses mit dem Stroop-Test von Interesse.

In unserer Studie wurden außerdem Assoziationen mit der Kognition bei der Allelverteilung des Polymorphismus rs1245113 in dem Handlungssubtest Mosaik-Test ($p=0,067$) und bei der Genotypenverteilung des Polymorphismus rs1369816 im Handlungssubtest Figurenlegen ($p=0,051$) ermittelt. Beide Tests überprüfen das Vermögen Formen wahrzunehmen und sie anschließend zu reproduzieren (Matarazzo, 1982). Zudem geben sie einen Hinweis auf die Fähigkeit zum problemlösenden Denken bzw. der Zielgerichtetheit versus Versuch/Irrtum des Probanden (Davis et al., 1966;Tewes, 1994). Ob unsere Ergebnisse mit anderen Tests zu bestätigen sind, könnte anhand verschiedener Untertests anderer Testverfahren überprüft werden. So bietet sich der I-S-T 2000 als revidierte, neu normierte und erweiterte Fassung des I-S-T 70 von Amthauer an, der mit den Aufgabengruppen Figurenauswahl, Würfelaufgaben und Matrizen ebenfalls figurale Intelligenz testet (Amthauer et al., 2001). Auch beim Berliner Intelligenz-Strukturmodell kann mit verschiedenen Untertests das figural-bildhafte Denken

des Probanden in Bezug auf Bearbeitungsgeschwindigkeit, Merkfähigkeit, Einfallsreichtum und Verarbeitungskapazität ermittelt werden (Amelang und Bartussek, 2001; Jäger, 1982).

Weiterhin wurde in unserer Studie in dem Verbalsubtest Gemeinsamkeiten finden eine Assoziation mit der Kognition bei der Allelverteilung des Polymorphismus rs1245113 ermittelt ($p=0,091$). Dieser Test gilt als gutes Maß für die allgemeine Intelligenz (Matarazzo, 1982; Zimmerman et al., 1973). Hier würde sich der Wortschatztest (WST) zur Überprüfung des in unserer Studie festgestellten Trends anbieten, da auch dieser Test eine grobe Einschätzung zur allgemeinen Intelligenz g geben soll (Rujescu 2007).

4.2 Diskussion der Ergebnisse

Inwieweit die Polymorphismen rs1245113 und rs1369816 des NCAM1 Gens mit kognitiven Leistungen im HAWIE-R assoziiert sind, wurde in dieser Arbeit untersucht:

-NCAM Polymorphismus rs1245113

Die Assoziation des NCAM1 Polymorphismus rs1245113 mit kognitiven Leistungen stellt sich im Untertest Bilderergänzen durch erhöhte Rohpunktwerte des heterozygoten Genotyps C/G dar, während sich die Rohpunktwerte für beide homozygoten Genotypen im Mittel auf annähernd gleichem Niveau befinden.

Die Analyse der Allelfrequenz bezüglich einer Assoziation mit kognitiver Leistung zeigte einen signifikanten Wert bei dem Untertest Zahlennachsprechen mit erhöhten Rohpunktwerten des C-Allels.

Trends konnten bei den Untertests Gemeinsamkeitenfinden und Bilderergänzen mit erhöhten Rohwertpunkten des G-Allels, sowie beim Mosaik-Test mit erhöhten Rohwertpunkten des C-Allels festgestellt werden.

-NCAM Polymorphismus rs1369816

Weiterhin wurde eine zweite Variation des NCAM1 Gens, der Polymorphismus rs1369816, getrennt nach Genotyp- und Allelfrequenz auf eine Assoziation mit den Rohwertpunkten bei den Untereinheiten des HAWIE-R untersucht.

Beim SNP rs1369816 konnte ein statistischer Trend bezüglich der Prüfgröße Pillai-Spur ($p=0,082$) zwischen dem Genotyp des NCAM1 SNP rs1369816 und kognitiver Leistung festgestellt werden.

Beim Handlungstest Figurenlegen konnte ein signifikanter Wert festgestellt werden. G/T-Heterozygote erzielten die höchsten Rohpunktwerte, gefolgt von G/G-Homozygoten. Am schlechtesten schnitten T/T-Homozygote ab.

Untersuchungen der Allelfrequenz dieses Polymorphismus zeigten keine signifikanten Assoziationen mit dem HAWIE-R.

Ansatzpunkte in Hinblick auf die Auswirkung der untersuchten Polymorphismen liefern folgende Überlegungen. Positive Assoziation zwischen einem Allel und dem Phänotyp kann allgemein drei Dinge bedeuten: erstens, dass das Allel der ursächliche Faktor im Phänotyp ist, zweitens, dass die Assoziation aus einer Verbindung zu einem anderen, nicht untersuchten Allel erfolgt und drittens, dass die Assoziation ein Artefakt ist (Goldberg und Weinberger, 2004).

Die erste Überlegung, die in dieser Studie untersuchten Polymorphismen rs1245113 und rs1369816 als ursächliche Faktoren anzusehen, ist eher unwahrscheinlich da diese Polymorphismen sogenannte genassoziierte SNPs (gSNP) sind, die entweder in unmittelbarer Nähe eines Gens oder im Intron eines Gens liegen, das heißt es findet kein Aminosäureaustausch statt und sie sind demnach kein Teil vom Protein. Zudem befinden sie sich nicht in einer Spleißstelle und können somit keinen direkten Einfluß auf das Spleißen haben. Möglicherweise handelt es sich aber um eine regulatorische Sequenz (Bindungsstelle für weitere Faktoren). Aufgrund der Positionen der von uns untersuchten Polymorphismen, die sich mitten im Intron 1 befinden, ist auch dies eher unwahrscheinlich. Genassoziierte SNPs werden aber meistens zusammen mit dem Gen vererbt und eignen sich daher gut zur Untersuchung von Zusammenhängen zwischen dem betreffenden Gen und bestimmten Phänotypen, wie in unserem Fall der Intelligenz. Ebenso kann die Kartierung von einem gSNP von Bedeutung sein, wenn diese wichtige Kontrollelemente des Gens beeinflusst und dadurch das Ablesen eines Gens behindert oder beschleunigt wird.

Zur zweiten Überlegung, dass die Assoziation aus einer Verbindung zu einem anderen, nicht untersuchten Allel erfolgt, ist zu überprüfen, ob die in dieser Studie untersuchten SNPs rs1245113 und rs1369816 im Kopplungsungleichgewicht mit anderen SNPs liegen. Wenn

eine starke Kopplung zwischen zwei Genorten vorliegt, werden die Haplotypen (die Allele der beiden Loci auf einem Chromatid) meistens als Ganzes von Eltern auf ihre Kinder vererbt. Es wird von einem Kopplungsungleichgewicht (Linkage Disequilibrium; LD) gesprochen, wenn Allelkombinationen zweier Loci auf einem Haplotypen in einer Population häufiger vorkommen, als es bei unabhängiger Kombination der Allele entsprechend ihren Allelhäufigkeiten erwartet werden würde (Bickeböller und Fischer, 2000). Im LD der SNPs, die in unserer Studie untersucht wurden, befinden sich drei weitere SNPs. Im LD von rs1245113 ist der SNP rs1245114, welcher ebenfalls im Intron 1 liegt und nicht funktionell ist. Im LD von rs1369816 liegen zwei SNPs (rs2005086 und rs7933413). Auch diese befinden sich im Intron 1 des NCAM1 Gens.

Da der LD-Block, in welchem sich die untersuchten SNPs befinden, keine offensichtlich funktionellen SNPs beinhaltet, würde dies für eine eher untergeordnete Rolle dieser Polymorphismen in der Genetik sprechen.

Die Bestimmung von LD-Blöcken ist allerdings keine statistische Festlegung. Sie kann je nach Population (Ethnizität, Stichprobengröße, Pool (krank/gesund)) und SNP-Dichte variieren.

Die dritte Überlegung, die Assoziation als ein Artefakt anzusehen, kann nur durch Replikation in unabhängigen Stichproben geklärt werden.

In der Literatur zu findende Studienresultate unterstützen die Annahme, dass NCAM1 einen Einfluss auf kognitive Fähigkeiten haben könnte.

Hier zeigen zum einen Studien die Bedeutung von NCAM1 bei der Pathogenese von Schizophrenie auf (Barbeau et al., 1995; Cremer et al., 1994; Good et al., 1995; Poltorak et al., 1995; Vawter et al., 2000). Nachdem ein entscheidendes Symptom der Schizophrenie die Beeinträchtigung der kognitiven Fähigkeiten ist (Heinrichs und Zakzanis, 1998; Robertson et al., 2006), bietet es sich an, NCAM1 in Hinblick auf seine Bedeutung für kognitive Fähigkeiten zu untersuchen.

Im Tierversuch konnte bereits gezeigt werden, dass es zu einer Steigerung der Ausschüttung von NCAM1, bzw. seiner polysialisierten Form nach spezifischen Lernvorgängen kommt (Doyle et al., 1992; Murphy et al., 1996; Murphy und Regan, 1999; O'Connell et al., 1997; Skibo et al., 1998).

Untersuchungen an NCAM1-knockout Mäusen belegen Defizite im Verhalten und in der Lernfähigkeit (Cremer et al., 1994; Doyle et al., 1992; Fentrup, 2003; Stork et al., 1997; Stork et al., 2000).

Assoziationsstudien an Patientenkollektiven, die Erkrankungen umfassen, welche mit einem Abbau kognitiver Fähigkeiten einhergehen, wie der Bipolaren Störung oder Schizophrenie kamen bei verschiedenen NCAM1 SNPs zu signifikanten Ergebnissen. So ist bei Sullivan und Mitarbeitern der SNP rs1836796 (Intron 2) mit der Schizophrenie assoziiert (Sullivan et al., 2007), bei Atz und Mitarbeitern ist der SNP rs 646558 (Intron 12) mit der Erkrankung verknüpft (Atz et al., 2007). Beide SNPs befinden sich jeweils in einem Intron des NCAM1 Gens und stehen weder zueinander, noch zu einem in unserer Studie untersuchten Polymorphismus im Kopplungsungleichgewicht (Atz et al., 2007; Sullivan et al., 2007).

Bei der Untersuchung von Patienten mit bipolarer affektiver Störung ist entsprechend den Resultaten von Atz und Mitarbeitern der SNP rs 2303377 (Intron 12) entscheidend mit der bipolaren Störung assoziiert (Atz et al., 2007), wogegen Arai und Mitarbeiter bei den drei Polymorphismen IVS6+32T>C (Intron 6), IVS7+11G>C (Intron 7) und IVS12+21C>A (rs646558, Intron 12) signifikante Ergebnisse feststellten (Arai et al., 2004). Es ist jedoch festzuhalten, dass auch diese SNPs weder untereinander, noch zu einem von uns untersuchten SNPs im Kopplungsungleichgewicht stehen (Arai et al., 2004; Atz et al., 2007).

Insgesamt belegen diese Untersuchungen die Bedeutung des NCAM1 Gens für beide Erkrankungen und damit indirekt auch seine mögliche Bedeutung für kognitive Fähigkeiten.

Nachdem die Bipolare Störung und vor allem die Schizophrenie psychiatrische Erkrankungen sind, bei denen kognitive Defizite wie ein Aufmerksamkeitsdefizit, Beeinträchtigung des abstrakten Denkens und ein Defizit im Kurz- und Langzeitgedächtnis charakteristisch sind (Heinrichs und Zakzanis, 1998), werden zunehmend diese neurokognitiven Beeinträchtigungen ins Zentrum, sowohl für die Diagnosestellung, als auch für die Verbesserung der Behandlung dieser Erkrankungen gerückt (Robertson et al., 2006). Studien zeigten bereits, dass das NCAM1 Gen mit beiden Erkrankungen assoziiert ist (Arai et al., 2004; Atz et al., 2007; Sullivan et al., 2007). In unserer Studie zeigten sich signifikante Ergebnisse bei dem Untertest Figurenlegen und Zahlennachsprechen. Beide Subtests überprüfen wichtige Merkmale kognitiver Defizite bei der Schizophrenie. So wird beim Test Figurenlegen die nonverbale Organisation der Intelligenz (abstraktes Denken) beurteilt und beim Test Zahlennachsprechen eine Aufmerksamkeitsstörung überprüft (Cohen, 1952; Tewes,

1994). Nachdem unsere Studie bei beiden Subtests signifikante Ergebnisse ermittelte, würde sich dies mit der Theorie decken, dass NCAM1 eine Rolle bei beiden Erkrankungen spielen könnte.

Stress hat enorme Auswirkungen auf die Gehirnstruktur- und funktion. Deswegen ist davon auszugehen, dass Stress kognitive Leistung entscheidend beeinflusst. NCAM1 und L1 werden als wichtige Vermittler bei diesen auf das Gehirn ausgeübten Stresseffekten gesehen (Weinhold et al., 2005).

Nachdem NCAM1-knockout Mäuse bis auf Defizite im Verhalten und in der Lernfähigkeit eine überraschende Fitness zeigen, die Adhäsion des NCAM1 durch die polymere Polysialinsäurekette (PSA) beeinflusst wird und NCAM1 das einzige bekannte Trägermolekül von PSA ist, untersuchten Weinhold et al. die beiden Gene, die für die Polysialyltransferasen ST8Sia-II und ST8Sia-IV kodieren (Sandi, 2004; Weinhold et al., 2005). PSA wird verstärkt während der Gehirnentwicklung gebildet. Im Nervensystem eines Erwachsenen wird es in Regionen gebildet, in denen permanent eine synaptische Plastizität zu finden ist, wie im Bulbus olfactorius, dem Gyrus dentatus und dem Hypothalamus (Sandi, 2004; Seki und Arai, 1993). Ebenso spielt PSA eine wichtige Rolle beim räumlichen Lernen und beim hippocampalen Langzeitgedächtnis (Becker et al., 1996; Venero et al., 2006).

Durch eine Verpaarung der beiden Einzelmutanten ST8Sia-II und ST8Sia-IV konnte eine NCAM1-positive und PSA-negative Mausmutante entwickelt werden, die als Doppel-*Knockout* bezeichnet wurde. Eine schwer beeinträchtigte Entwicklung der Tiere war die Folge: in der postnatalen Entwicklung blieben die Tiere stark zurück und mehr als 80% starben vor dem Erreichen der vierten Lebenswoche. Tiere die älter wurden waren stark kachektisch und lebten sehr selten sechs Monate und länger. Defizite in zentralnervösen Strukturen der Doppel-*Knockouts* waren ein ausgeprägter Hydrozephalus und eine starke Reduzierung der angrenzenden Strukturen wie Cortex und Hippocampus. Zudem konnten schwere Defekte in der Verschaltung der beiden Hemisphären über die Commissura anterior festgestellt werden (Weinhold et al., 2005).

Hieraus folgerten die Forscher, dass die für die Lebensfähigkeit von Mäusen wichtigen Gene ST8Sia-II und ST8Sia-IV auch beim Menschen einen größeren Einfluss haben könnten. Bisher liegen noch keine Assoziationsstudien bezüglich des Sialyltransferase 8B Gens (SIAT8B) und der Kognition vor, dennoch belegen mehrere Studien seine Bedeutung für die Schizophrenie (Arai et al., 2006; Tao et al., 2007; Vazza et al., 2007).

Eine aktuelle Studie an 643 nicht miteinander verwandten schizophrenen und 527 nicht miteinander verwandten gesunden Han Chinesen aus Shanghai konnte die positive Assoziation von zwei SNPs in der Promoter Region des SIAT8B Gens (rs3759916 und rs3759914) der vorangegangenen japanischen Studie von Arai et al. 2006 replizieren (global $p=0,0000050$) (Tao et al., 2007).

Dieses Gen bietet sich demnach als weiteres interessantes Kandidatengen für die Untersuchung von Kognition an, möglicherweise in Kombination mit dem NCAM1 Gen als funktionell relevantes interagierendes Protein.

4.3 Ausblicke auf zukünftige Untersuchungen

Bezüglich NCAM1 und Kognition konnte bisher nur auf Ergebnisse von Tierversuchen, die meist mit Mäusen durchgeführt wurden, zurückgegriffen werden.

In dieser Studie wurde jetzt eine Assoziation zwischen zwei NCAM1 Polymorphismen (rs1245113 und rs1369816) und verschiedenen Untertests des HAWIE-R bei einer gesunden Population festgestellt und der Einfluß von NCAM1 in Hinblick auf kognitive Leistungen bestätigt.

Da internationale Studien zu unseren Polymorphismen im NCAM1 Gen in Verbindung mit Kognition fehlen, kann noch keine Aussage darüber getroffen werden, ob eine andere ethnische Abstammung zu unterschiedlichen Ergebnissen führen würde. Die unterschiedlichen Allel- bzw. Genotypverteilungen zwischen den Bevölkerungsgruppen lassen dies jedoch als möglich erscheinen und machen Untersuchungen des NCAM1 Gens an verschiedenen ethnischen Gruppen in der Zukunft interessant.

In unserer Studie wurde die Homogenität des Probandenkollektivs gesichert, indem ein mehrstufiges Verfahren zur Selektion von in der dritten Generation deutschstämmigen Probanden ohne neuropsychiatrische Erkrankungen bei sich oder ihren Verwandten Anwendung fand. Diese Homogenität des Probandenkollektivs sollte auch Ziel weiterer Untersuchungen sein.

Untersuchungen an Patientengruppen mit den die Kognition beeinträchtigenden neuropsychiatrischen Erkrankungen Schizophrenie und Bipolare affektive Störung, und der

anschließende Vergleich mit gesunden Kontrollgruppen konnten bereits verschiedene Polymorphismen im NCAM1 Gen mit einer Assoziation zu den Erkrankungen identifizieren. Inwiefern diese Assoziation auf NCAM1 als Kandidatengen für die Schizophrenie oder aber Kognition bzw. eine Kombination aus beidem hinweist, muss in weiteren Studien geklärt werden.

Da nachweislich eine große gegenseitige Beeinflussung von NCAM1 und chronischem Stress besteht, durch den kognitive Fähigkeiten ebenfalls beeinträchtigt werden, ist kritisch anzumerken dass in unserer Studie zwar der Einfluss von chronischem Stress in Hinblick auf Manifestation als neuropsychiatrische Erkrankung berücksichtigt wurde, da dies als Ausschlusskriterium definiert war. Anhaltender Stress durch alltägliche Belastungen wurde jedoch nicht direkt berücksichtigt.

Um differenziertere Ergebnisse über eine mögliche Rolle von Variationen vom NCAM1 Gen in Verbindung mit Kognition zu erhalten, sollten die Ergebnisse in Hinblick auf Subgruppen mit chronischem Stress versus Subgruppen ohne chronischen Stress überprüft werden.

In unserer Studie wurde der Intelligenztest HAWIE-R angewendet. Die Ergebnisse sind bisher wegen des Fehlens von entsprechenden Studien nicht mit einer anderen Intelligenzdiagnostik vergleichbar.

Die Durchführung des HAWIE-R in Form eines Interviews ermöglicht es dem Untersucher, einen Gesamteindruck des Patienten zu gewinnen. Dadurch konnte in unserem Fall bei neuropsychiatrisch gesunden Personen überprüft werden, ob tatsächlich kein Ausschlusskriterium vorliegt.

Zur Überprüfung unserer Ergebnisse wäre die vergleichende Anwendung von anderen anerkannten Tests (z.B. I-S-T 2000, Berliner Intelligenz-Strukturmodell) sinnvoll.

Insgesamt sollten also weitere Studien mit den möglichst gleichen Populationen bei neuropsychologisch und neuropsychiatrisch gesunden Personen aus der allgemeinen Bevölkerung und an neuropsychiatrisch Kranken auf eine Assoziation zu NCAM1 Polymorphismen mit Kognition durchgeführt werden.

5 Zusammenfassung

Das NCAM1 (neurales Zelladhäsionsmolekül) Gen mit seiner Fähigkeit zur Modifikation von Zell-Zellkontakten im neuralen Gewebe, stellt ein vielversprechendes Kandidatengen für den Zusammenhang zwischen der synaptischen Plastizität und Gedächtnis dar.

Studienresultate unterstützen die Annahme, dass NCAM1 einen Einfluss auf kognitive Fähigkeiten haben könnte. Hier zeigen zum einen Studien die Bedeutung von NCAM1 bei der Pathogenese von Schizophrenie auf. Nachdem ein entscheidendes Symptom der Schizophrenie die Beeinträchtigung der kognitiven Fähigkeiten ist, bietet es sich an, NCAM1 in Hinblick auf seine Bedeutung für kognitive Fähigkeiten zu untersuchen. Im Tierversuch konnte bereits gezeigt werden, dass es zu einer Steigerung der Ausschüttung von NCAM1, bzw. seiner polysialisierten Form nach spezifischen Lernvorgängen kommt. Untersuchungen an NCAM1-knockout Mäusen belegen Defizite im Verhalten und in der Lernfähigkeit.

In der folgenden Arbeit wurde durch einen allgemeinen Intelligenztest (HAWIE-R: Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991) an 286 neuropsychologisch unauffälligen, in der dritten Generation deutschstämmigen Einwohnern Münchens eine mögliche Assoziation der im Intron 1 liegenden NCAM1 Polymorphismen rs1245113 und rs1369816 mit Kognition überprüft. Es konnte ein statistischer Trend bezüglich einer Assoziation zwischen dem Genotyp des NCAM1 SNP rs1369816 und kognitiver Leistung festgestellt werden. Zudem zeigte sich ein signifikanter Unterschied bei dem Handlungstest Figurenlegen, bei dem Probanden mit dem Genotyp T/T im Mittel am schlechtesten abschnitten. Für den Polymorphismus rs1245113 konnte mit vier Untertests des HAWIE-R ein signifikanter Zusammenhang bzw. Trend festgestellt werden. Die Assoziation mit besseren Leistungen ließ sich jedoch nicht auf ein Allel bzw. eine Subdomäne einschränken. In den Handlungstests Mosaik-Test und Bilderergänzen war einmal das G-Allel (Mosaik-Test, Trend), einmal das C-Allel (Bilderergänzen, Trend) mit besseren Leistungen assoziiert. Ähnlich verhielt es sich mit den signifikant assoziierten Verbaluntertests. Hier war im Test Gemeinsamkeiten finden (Trend) das G-Allel, im Test Zahlennachsprechen (Signifikanz) das C-Allel mit besseren Leistungen assoziiert. NCAM1 wird damit als Kandidatengen für die Intelligenzforschung bestätigt. Für die untersuchten intronischen SNPs kann ein Effekt auf Gedächtnisleistungen angenommen werden. Um diese Ergebnisse validieren und vergleichen zu können sind weitere Studien notwendig.

6 Abkürzungen und Fachbegriffe

Abkürzung	Erklärung
bp	Basenpaare (base pairs)
C	Cytosin
df	Freiheitsgrade (degrees of freedom)
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DSM-IV	Diagnostic und Statistical Manual of Mental Disorders (Fourth Edition) der American Psychiatric Association
FHAM	American History Assessment Module
G	Guanin/Guanosin
g	Generelle kognitive Fähigkeit
gDNA	Genomische Desoxyribonukleinsäure
G-Protein	Guaninnukleotid Bindungsprotein
H-Allel	Allel mit der hohen (high) Aktivität
HAWIE	Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene
IQ	Intelligenzquotient
kb	Kilobasenpaare
LEBI	Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar
MANOVA	(multivariate analysis of variance) Multivariate Analyse der Varianz
MMPI	Minnesota Multiphasic Personality Inventory
MMST	Mini-Mental-State-Test
m-RNA	Messenger (Boten-) ribonukleinsäure
MW	Mittelwert
n	Probandenzahl
NCAM1	Neurales Zelladhäsionsmolekül
ng	Nanogramm
p	(probability) Signifikanz , p-Wert
PCR	Polymerasekettenreaktion
q(Chromosom)	(queue) langer Arm eines Chromosoms
r	Reliabilität
RNA	Ribonukleinsäure
Rpm	(rounds per minute) Umdrehungen pro Minute
SD	Standardabweichung
SKID I	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV Achse I
SKID II	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV Achse II
SNP	Einzel (single)-Nukleotid-Polymorphismus
T	Thymin
TE	Tris-Ethylendiamintetraacetat Puffer
TH	Tyrosinhydroxylase
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan, Trometamol
WAIS	Wechsler Adult Intelligence Scale
WCST	Wisconsin Card Sorting Test
ZNS	Zentrales Nervensystem

7 Literaturverzeichnis

1. Acheson A, Sunshine JL, Rutishauser U (1991) NCAM polysialic acid can regulate both cell-cell and cell-substrate interactions. *J Cell Biol* 114: 143-153.
2. Alberts, B., Bray, D., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., und Walter, P. *Lehrbuch der Molekularen Zellbiologie*. Weinheim, New York, Chichester, Brisbane, Singapore, Toronto: Wiley-VCH. 1999.
3. Amelang, M. und Bartussek, D. *Differentielle Psychologie und Persönlichkeitsforschung* (3.überarbeitete und erweiterte Auflage). 1990. Stuttgart, Berlin, Köln, Kohlhammer.
4. Amelang, M. und Bartussek, D. *Differentielle Psychologie und Persönlichkeitsforschung* (5.aktualisierte und erweiterte Auflage). 2001. Stuttgart, Berlin, Köln, Kohlhammer.
5. Amthauer, R., Brocke, B., Liepmann, D., und Beauducel, A. *Intelligenz-Struktur-Test 2000 R (I-S-T 2000 R)*. 2001. Göttingen, Hogrefe.
6. Aplin AE, Howe A, Alahari SK, Juliano RL (1998) Signal transduction and signal modulation by cell adhesion receptors: the role of integrins, cadherins, immunoglobulin-cell adhesion molecules , and selectins. *PharmacolRev* 50: 197-263.
7. Arai M, Itokawa M, Yamada K, Toyota T, Arai M, Haga S, Ujike H, Sora I, Ikeda K, Yoshikawa T (2004) Association of neural cell adhesion molecule 1 gene polymorphisms with bipolar affective disorder in Japanese individuals. *Biol Psychiatry* 15: 804-810.
8. Arai M, Yamada K, Toyota T, Obata N, Haga S, Yoshida Y, Nakamura K, Minabe Y, Ujike H, Ikeda K, Mori N, Yoshikawa T, Itokawa M (2006) Association between polymorphisms in the promoter region of the sialyltransferase 8B (SIAT8B) gene and schizophrenia. *Biol Psychiatry* 59: 652-659.
9. Atz ME, Rollins B, Vawter MP (2007) NCAM1 association study of bipolar disorder and schizophrenia: polymorphisms and alternatively spliced isoforms lead to similarities and differences. *Psychiatr Genet* 17: 55-67.
10. Barbeau D, Liang JJ, Robitaille Y, Quirion R, Srivastava LK (1995) Decreased expression of the embryonic form of the neural cell adhesion molecule in schizophrenic brains. *ProcNatlAcadSciUSA* 92: 2785-2789.
11. Barthels D, Santoni MJ, Wille W, Ruppert C, Chaix JC, Hirsch MR, Fontecilla-Camps JC, Goridis C (1987) Isolation and nucleotide sequence of mouse NCAM cDNA that codes for a M, 79,000 without a membrane-spanning region. *EurMolBiolOrganJ* 6: 907-914.

12. Becker CG, Artola A, Gerardy-Schahn R, Becker T, Welzl H, Schachner M (1996) The polysialic acid modification of the neural cell adhesion molecule is involved in spatial learning and hippocampal long-term potentiation. *JNeurosciRes* 45: 143-152.
13. Bickeböllner, H. und Fischer, C. Einführung in die Genetische Epidemiologie. 2000. Berlin, Heidelberg, New York, Springer.
14. Binet A, Simon T (1905) Methodes nouvelles pour le diagnostic du nouveau intellectuel des anormaux. *Annee psychologique* 11: 191-244.
15. Blöink, R. Die Struktur der Intelligenz im Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene.HAWIE-III: Ein Beitrag zur Konstruktvalidität. Hamburg: Dr. Kovac). 2006.
16. Bödecker I, Ziegler A (2000) Assoziations- und Kopplungsstudien zur Analyse von Kandidatengenen. *Deutsche Medizinische Wochenschrift* 125: 810-815.
17. Boomsma, D. I. Current status and future prospects in twin studies of the development of cognitive abilities, infancy to old age. In T.J. Bouchard and P. Propping (eds.), *Twins as a tool of behavioral genetics*. 1993. Chichester, Wiley & Sons.
18. Bouchard TJ (1998) Genetic and environmental influences on adult intelligence and special mental abilities. *HumBiol* 70: 279.
19. 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: 228.
20. Bouchard TJ, McGue M (1981) Family studies of intelligence: a review. *Science* 212: 1055-1059.
21. Bremner JD (1999) Does stress damage the brain? *Biol Psychiatry* 45: 797-805.
22. Brocke, B. und Beauducel, A. Intelligenz als Konstrukt. In: *Perspektiven der Intelligenzforschung/ Stern & Guthke* (Hrsg.). Lengerich: Papst. 2001.
23. Burik TE (1950) Relative role of the learning and motor factors involved in the digit symbol test. *JPsychol* 30: 33-42.
24. Cambon K, Hansen SM, Venero C, Herrero AI, Skibo G, Berezin V, Bock E, Sandi C (2004) A synthetic neural cell adhesion molecule mimetic peptide promotes synaptogenesis, enhances presynaptic function, and facilitates memory consolidation. *JNeurosci* 24: 4197-4204.
25. Carroll, J. B. *Human cognitive abilities. A survey of factor-analytic studies*. Cambridge: Cambridge University Press. 1993.
26. Casselli 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.
27. Cattell, R. B. *Abilities: Their structure, growth, and action*. 1971. Boston, Houghton Mifflin.

28. Chen QY, Chen Q, Feng GY, Lindpaintner K, Chen Y, Sun X, Chen Z, Gao Z, Tang J, He L (2005) Case-control association study of the close homologue of L1 (CHL1) gene and schizophrenia in the Chinese population. *SchizophrRes* 73: 269-274.
29. Cohen J (1952) Factors underlying Wechsler-Bellevue performance of three neuropsychiatric groups. *JAbnormSocPsychol* 47: 359-365.
30. Comings DE, Wu S, Rostamkhani M, McGue M, Iacono WG, Cheng LS, MacMurray JP (2003) Role of the cholinergic muscarinic 2 receptor (CHRM2) gene in cognition. *MolPsychiatry* 8: 10-13.
31. Cremer H, Chazal G, Goridis C, Represa A (1997) NCAM is essential for axonal growth and fasciculation in the hippocampus. *MolCellNeurosci* 8: 323-335.
32. Cremer H, Lange R, Christoph A, Plomann M, Vopper G, Roes J, Brown R, Baldwin S, Kraemer P, Scheff S, Barthels D, Rajewsky K, Wille W (1994) Inactivation of the N-CAM Gene in mice results in size reduction of the olfactory bulb and deficits in spatial learning. *Nature* 367: 445-459.
33. Cunningham BA, Hemperly JJ, Murray BA, Prediger EA, Brackenbury R, Edelman GM (1987) Neural cell adhesion molecule: structure, immunoglobulin-like domains, cell surface modulation, and alternative RNA splicing. *Science* 236: 799-806.
34. Davis LJ, Hamlett IC, Reitan RM (1966) Relationship of conceptual ability and academic achievement to problem-solving and experiential backgrounds of retardates. *PerceptMotorSkills* 22: 499-505.
35. De Mille MMC, Kidd JR, Ruggeri V, Palmatier MA, Goldman D, Odunsi A, Okonofua F, Grigorenko Eeal (2002) Population variation in linkage disequilibrium across the COMT gene considering promoter region and coding region variation. *HumGenet* 111: 521-537.
36. Devlin B, Daniels M, Roeder K (1997) The heritability of IQ. *Nature* 388: 468-471.
37. Dick MD, Aliev F, Kramer J, Wang JC, Hinrichs A, Bertelsen S, Kuperman S, Schuckit M, Nurnberger Jr J, Edenberg HJ, Porjesz B, Begleiter H, Hesselbrock V, Goate A, Bierut L (2007) Association of CHRM2 with IQ: Converging Evidence for a Gene Influencing Intelligence. *BehavGenet* 37: 265-272.
38. Dogic D, Eckes B, Aumeilley M (1999) Extracellular matrix, integrins and focal adhesions. *Curr Top Pathol* 93: 75-85.
39. Doppelt JE, Wallace LL (1955) Standardization of the Wechsler Adult Intelligence Scale for older persons. *JAbnormSocPsychol* 51: 312-330.
40. Doyle E, Nolan PM, Bell R, Regan CM (1992) Hippocampal NCAM180 transiently increases sialylation during the acquisition and consolidation of a passive avoidance response in the adult rat. *NeurosciRes* 31: 513-523.
41. Dudel, J., Menzel, R., und Schmidt, R. F. *Neurowissenschaften*. 1996. Berlin, Heidelberg, New-York, Springer.

42. Dunbar K, MacLeod CM (1984) A horse race of a different colour: Stroop interference with transformed words. *Journal of Experimental Psychology: Human Perception and Performance* 10: 622-659.
43. Duncan J, Buegess P, Emslie H (1995) Fluid intelligence after frontal lobe lesions. *Neuropsychologica* 33: 261-268.
44. Edelman GM, Hoffman S, Chuong CM, Thierry JP, Brackenbury R, Gallin WJ, Grumet M (1983) Structure and modulation of neural cell adhesion molecules in early and late embryogenesis. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2: 515-526.
45. Egan MF, Kojima M, Callicott JH, Goldberg TE, Kolachana BS, Bertolino A, Zaitsev Eal (2003) The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell* 112: 257-269.
46. Eichenbaum H (2000) A cortical-hippocampal system for declarative memory. *NatRevNeurosci* 1: 41-50.
47. Eubanks JH, Djabali M, Selleri L, Grandy DK, Civelli O, McElligott DL, Evans GA (1992) Structure and Linkage of the D2 Dopamine Receptor and Neural Adhesion Molecule Genes on Human Chromosome 11q23. *Genomics* 14: 1010-1018.
48. Evans SM, Gillespie NA, Martin NG (2002) Biometrical genetics. *Biological Psychology* 61: 33-51.
49. Eysenck, H. J. The structure and measurement of intelligence. 1979. New York, Springer.
50. Farlow MR, He Y, Tekin S, Xu J, Lane R, Charles HC (2004) Impact of APOE in mild cognitive impairment. *Neurology* 63: 1898-1901.
51. Fentrup, N. Auswirkungen eines Defizits des Neuronalen Zelladhäsionsmoleküls (NCAM) im Telencephalon auf Lernen, Gedächtnis und Individualität bei einer gentechnisch veränderten Labormaus. 2003.
52. Folstein MF, Folstein SE, Mc Hugh PR (1975) "Mini-mental state": a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *JPsychiatrRes* 12: 189-198.
53. Franceschini I, Angata K, Ong E, Hong A, Doherty P, Fukuda M (2001) Polysialyltransferase ST8SIA II (STX) polysialylates all of the major isoforms of NCAM and facilitates neurite outgrowth. *Glycobiology* 11: 231-239.
54. Frei T, von Bohlen und Halbach F, Wille W, Schachner M (1992) Different Extracellular Domains of the Neural Cell Adhesion Molecule (N-CAM) Are Involved in Different Functions. *The Journal of Cell Biology* 118: 177-194.
55. Furth HG, Milgram NA (1965) Verbal factors in performance on WISC similarities. *JClinPsychol* 21: 424-427.
56. Gardner, H. Frames of mind: The theory of multiple intelligences. New York: Basic Books. 1983.

57. Geiger B, Ayalon O (1992) Cadherins. *Annu Rev Cell Cell Biol* 8: 307-332.
58. Gerardy-Schahn R (2005) NCAM und Polysialinsäure: Wieviel Luxus erlaubt sich die Natur? *MHH Forschungsbericht* 2005 65-72.
59. Goldberg TE, Gold JM, Greenberg R, Griffin S, Schulz SC, Pickar D, Kleinman JE, Weinberger DR (1993) Contrasts between patients with affective disorders and patients with schizophrenia on a neuropsychological test battery. *Am J Psychiatry* 150: 1355-1362.
60. Goldberg TE, Weinberger DR (2004) Genes and the parsing of cognitive processes. *Trends in Cognitive Science* 8: 335.
61. Good KP, Kopala LC, Martzke JS, Honer WG (1995) Converging lateralized olfactory and neuropsychological deficits in male patients with schizophrenia. *SchizophrRes* 15: 119.
62. Goridis C, Brunet JF (1992) NCAM: Structural diversity, function and regulation of expression. *Semin Cell Biol* 3: 189-197.
63. Gosso MF, van Belzen M, de Geus EJC, Polderman JC, Heutink P, Boomsma DI, Posthuma D (2006) Association between the CHRM2 gene and intelligence in a sample of 304 Dutch families. *Genes Brain Behav* 5: 577-584.
64. Gray JR, Thompson PM (2004) Neurobiology of intelligence: Science and ethics. *Nature Reviews* 5: 471-482.
65. Groffmann, K. J. Die Entwicklung der Intelligenzmessung (In: Groffmann, K.J. & Michel, L. / Enzyklopädie der Psychologie). 1983. Göttingen, Hofgrefe.
66. Guilford, J. P. The nature of human intelligence. New York: Mc Graw Hill. 1967.
67. Gumbiner BM (1996) Cell adhesion: the molecular basis of tissue architecture and morphogenesis. *Cell* 84: 345-357.
68. Hansen SM, Li S, Bock E, Berezin V (2008) Synthetic NCAM-derived Ligands of the Fibroblast Growth Factor Receptor. 2008 *Neurochem Res.*
69. Heijne von G (1990) The signal peptide. *J Membr Biol* 115: 195-201.
70. Heinrichs RW, Zakzanis KK (1998) Neurocognitive deficit in schizophrenia: a quantitative review of the evidence. *Neuropsychology* 12: 426-445.
71. Hilger E, Kasper S (2002) Kognitive Symptomatik bei schizophrener Erkrankung: Diagnostik und Pharmakotherapie. *Journal für Neurologie, Neurochirurgie und Psychiatrie* 3: 17-22.
72. Hoffman KB (1998) The relationship between adhesion molecules and neuronal plasticity. *Neurobiol* 18: 461-475.
73. Hoffman S, Edelman GM (1987) A proteoglycan with HNK-1 antigenic determinants is a neuron-associated ligand for cytostatin. *ProcNatlAcadSciUSA* 84: 2523-2527.

74. Hwang JP, Yang CH, Hong CJ, Lirng JF, Yang YM, Tsai SJ (2006) Association of APOE genetic polymorphism with cognitive function and suicide history in geriatric depression. *Dement Geriatr Cogn Disord* 22: 334-338.
75. Illumina (2009) www.illumina.com/General/pdf/LinkageIV/GOLENGATE_ASSAY_FINAL.pdf.
76. Jäger AO (1982) Mehrmodale Klassifikation von Intelligenzleistungen: Experimentell kontrollierte Weiterentwicklung eines deskriptiven Intelligenzstrukturmodells. *Diagnostica* 23: 195-225.
77. Kahle, W. *Nervensystem und Sinnesorgane*. 1991. Stuttgart, Georg Thieme Verlag.
78. Kamin LJ, Goldberger AS (2002) Twin studies in behavioral research: A skeptical view. *Theoretical Population Biology* 61: 122-149.
79. Karathanasis SK (1985) Apolipoprotein multigene family: Tandem organization of the human apolipoprotein AI, CIII and AIV genes. *ProcNatAcadSciUSA* 82: 6374-6378.
80. Kaufman, A. S. und Lichtenberger, E. O. *Essentials of WAIS-III assessment*. 1999. New York, John Wiley and Sons.
81. Kim JJ, Lee HJ, Welday AC, Song E, Cho J, Sharp PE, Jung MW, Blair HT (2007) Stress induced alterations in hippocampal plasticity, place cells, and spatial memory. *ProcNatAcadSciUSA* 104: 18297-18302.
82. Klages JD, Fisk JD, Rockwood K (2003) APOE genotype, memory test performance, and risk for Alzheimer's disease in the Canadian Study of Health and Aging. *Dement Geriatr Cogn Disord* 15: 1-5.
83. Koo JW, Park CH, Choi SH, Kim NJ, Kim HS, Choe JC, Suh YH (2003) The postnatal environment can counteract prenatal effects on cognitive ability, cell proliferation, and synaptic protein expression. *FASEBJ* 17: 1556-1558.
84. Lander ES, Linton LM, Birren Beal (2001) The International Human Genome Sequencing Consortium (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409: 860-921.
85. Lanier LL, Chang C, Azuma M, Ruitenberg JJ, Hemperly JJ, Phillips JH (1991) Molecular and functional analysis of human natural killer cell-associated neural cell adhesion molecule (N-CAM/CD56). *J Immunol* 146: 4421-4426.
86. Lindenberger U (2000) Intellektuelle Entwicklung über die Lebensspanne: Überblick und ausgewählte Forschungsbrennpunkte. *Psychologische Rundschau* 51: 135-145.
87. Loehlin JC, Horn JM, Willerman L (1989) Modeling IQ change: Evidence from the Texas Adoption Project. *Child Development* 60: 993-1004.
88. Lupien SJ, de Leon M, de Santi S, Convit A, Tarshish C, Nair NP, Thakur M, McEwen BS, Hauger RL, Meaney MJ (1998) Cortisol levels during human aging predict hippocampal atrophy and memory deficits. *NatureNeurosci* 1: 69-73.

89. Mackintosh, N. J. IQ and Human Intelligence. 1998. Oxford, Oxford University Press.
90. Magariños AM, McEwing B (1995) Stress-induced atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3c neurons: involvement of glucocorticoid secretion and excitatory amino acid receptors. *Neuroscience* 69: 89-98.
91. Martin SJ, Grimwood PD, Morris RG (2000) Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis. *AnnuRevNeurosci* 23: 649-711.
92. Matarazzo, J. D. Die Messung und Bewertung der Intelligenz Erwachsener nach Wechsler. 1982. Bern, Stuttgart, Wien, Hans Huber.
93. McClearn GE, Johansson B, Berg S, Pedersen NL, Ahern F, Pettrill S, Plomin R (1997) Substantial genetic influence on cognitive abilities in twins 80 or more years old. *Science* 276: 1560-1563.
94. Mietus-Synder M, Charmley P, Korf B, Ladas JAA, Gatti RA, Karathanasis SK (1990) Genetic linkage of the Human Apolipoprotein AI-CIII-AIV Gene Cluster and the Neural Cell Adhesion Molecule (NCAM) Gene. *Genomics* 7: 633-637.
95. Mirsky R, Jessen KR, Schachner M, Goridis C (1986) Distribution of the adhesion molecules N-CAM and L1 on peripheral neurons and glia in adult rats. *Journal of Neurocytology* 15: 799-815.
96. Murphy KJ, O'Connell AW, Regan CM (1996) Repetitive and transient increase in hippocampal neural cell adhesion molecule polysialylation state following multitrial spatial training. *JNeurochem* 67: 1268-1274.
97. Murphy KJ, Regan CM (1999) Sequential training in separate paradigms impairs second task consolidation and learning-associated modulations of hippocampal NCAM polysialylation. *NeurobiolLearnMem* 72: 28-38.
98. Murstein BI, Leipold WD (1961) The role of learning and motor abilities in the Wechsler-Bellevue Digit-Symbol subtest. *EducPsycholMeasure* 21: 103-112.
99. Nakamura Y, Matsuda I, Bentley D, Donnelly P, Cardon L, Hudson T, Yang H, Shen Y (2005) A haplotype map of the human genome. *Nature* 437: 1241-1242.
100. National Center for Biotechnology Information (2009a) http://ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=1369816.
101. National Center for Biotechnology Information (2009b) http://ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=1245113.
102. Newman DL, Tellegen A, Bouchard TJ (1998) Individual differences in adult ego development: Sources of influence in twins reared apart. *JPersSocialPsychol* 74: 985-995.
103. Nicholls, J. G. Vom Neuron zum Gehirn. 2002. Heidelberg, Berlin, Spektrum Akademischer Verlag.

104. 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.
105. Olson CL (1976) On choosing a test statistic in multivariate analysis of variance. *Psychological Review* 83: 586.
106. Owens GC, Edelman GM, Cunningham BA (1987) Organization of the neural cell adhesion molecule (N-CAM) gene: alternative exon usage as the basis for different membrane associated domains. *ProcNatlAcadSciUSA* 84: 294-298.
107. O'Connell AW, Fox GB, Barry T, Murphy KJ, Fichera G, Foley AG, Kelly J, Regan CM (1997) Spatial learning activates neural cell adhesion molecule polysialylation in a corticohippocampal pathway within the medial temporal lobe. *JNeurochem* 68: 2538-2546.
108. Palmatier MA, Kang AM, Kidd KK (1999) Global variation in the frequencies of functionally different catechol-O-methyltransferase alleles. *BiolPsychiat* 46: 557-567.
109. Pawlik, K. *Dimension des Verhaltens*. 1968. Stuttgart, Huber.
110. Pedersen NL, Plomin R, Nesselroade JR, Mc Cleary GE (1992) A quantitative genetic analysis of cognitive abilities during the second half of the life span. *Psychological Science* 3: 346-353.
111. Plomin, R., De Fries, J. C., und Mc Cleary, G. E. *Gene, Umwelt und Verhalten*. 1999. Bern, Hans Huber.
112. Plomin, R., De Fries, J. C., Mc Cleary, G. E., und Mc Guffin, P. *Behavioral Genetics* 4th edn. New York: Worth. 2001.
113. Plomin R, Kosslyn SM (2001) Genes, brain and cognition. *NatNeurosci* 4: 53-77.
114. Poltorak M, Hemperly JJ, Williams JR, El-Mallakh R, Freed WJ (1995) Disturbances in cell recognition molecules (N-CAM and L1 antigen) in the CSF of patients with schizophrenia. *Experimental Neurology* 131: 266-272.
115. Posthuma D, Luciano M, de Geus EJC, Wright MJ, Slagboom PEal (2005) A genome wide scan for intelligence identifies quantitative trait loci on 2q and 6p. *AmJHumGenet* 77: 318-326.
116. Rapaport SR (1953) Intellectual deficit in organics and schizophrenics. *JConsultPsychol* 17: 389-395.
117. Reuter M, Peters K, Schroeter K, Koebeke W, Lenardon D, Bloch B, Hennig J (2005) The influence of the dopaminergic system on cognitive functioning: A molecular genetic approach. *BehavBrainRes* 14: 93-99.
118. Rice JP, Reich T, Buchholz KK, Neuman RJ, Fishman R, e.al. (1995) Comparison of direct interview and family history diagnosis of alcohol dependence. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research* 19: 1018-1023.

119. Richter, V. und Guthke, J. Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI); Handanweisung. Göttingen, Bern, Toronto, Seattle: Hogrefe Verlag für Psychologie. 1996.
120. Rindermann, H. Studentexte Entwicklungspsychologie. 95-145. 2003. Köln, Kölner Studien Verlag.
121. Rindermann, H. und Kwiatkowski, V. Entwicklungsdiagnostik. 2007. München, Reinhard/UTB.
122. Rivera-Calimlim L, Reilly DK (1984) Differences in erythrocyte catechol-O-methyltransferase activity between Orientals and Caucasians: difference in levodopa tolerance. *ClinPharmacolTher* 35: 804-809.
123. Robertson GS, Hori SE, Powell KJ (2006) Schizophrenia: an integrative approach to modelling a complex disorder. *JPsychiatryNeurosci* 31: 157-167.
124. Rose SP, Stewart MG (1999) Cellular correlates of stages of memory formation in the chick following passive avoidance training. *BehavBrainRes* 98: 237-243.
125. Rost, D. H. Lebensumweltanalyse hochbegabter Kinder. 1993. Göttingen, Hogrefe.
126. Rujescu D, Meisenzahl EM, Krejcová S, Giegling I, Zetzsche T, Reiser M, Born CM, Möller HJ, Veske H, Gal A, Finckh U (2007) Plexin B3 is genetically associated with verbal performance and white matter volume in human brain. *Mol Psychiatry* 12: 190-194.
127. Rutishauser U, Acheson A, Hall AK, Mann DM, Sunshine J (1988) The neural cell adhesion molecule (NCAM) as a regulator of cell-cell interactions. *Science* 240: 53-57.
128. Rutishauser U, Goridis C (1986) NCAM: the molecule and its genetics. *reviews* 72-76.
129. Rutishauser U, Landmesser L (1996) Polysialic acid in the vertebrate nervous system: a promoter of plasticity in cell-cell interactions. *Trends Neurosci* 19: 422-427.
130. Sakurai K, Migita O, Toru M, Arinami T (2002) An association between a missense polymorphism in the close homologue of L1 (CHL1, CALL) gene and schizophrenia. *Mol Psychiatry* 7: 412-415.
131. Sandi C (2004) Stress, cognitive impairment and cell adhesion molecules. *Nature Reviews* 5: 917-928.
132. Sandi C, Merino JJ, Cordero MI, Touyarot K, Venero C (2001) Effects of chronic stress on contextual fear conditioning and the hippocampal expression of the neural cell adhesion molecule, its polysialylation, and L1. *Neuroscience* 102: 329-339.
133. Sandi C, Touyarot K (2006) Mid-life stress and cognitive deficits during early aging in rats: individual differences and hippocampal correlates. *Neurobiology of Aging* 27: 128-140.

134. Sandström A, Rhodin IN, Lundberg M, Olsson T, Nyberg L (2005) Impaired cognitive performance in patients with chronic burnout syndrome. *Biological Psychology* 69: 271-279.
135. Schuster, T., Krug, M., Stalder, M., Hackel, N., Gerardy-Schahn, R., und Schachner, M. Immunoelectron microscopic localization of the neural recognition molecules L1, NCAM, and its isoform NCAM180, the NCAM-associated polysialic acid, beta1 integrin and the extracellular matrix molecule tenascin-R in synapses of the adult rat hippocampus. 2001.
136. Seki T, Arai Y (1993) Highly polysialylated neural cell adhesion molecule (NCAM-H) is expressed by newly generated granule cells in the dentate gyrus of the adult rat. *JNeurosci* 13: 2351-2358.
137. Seyffert, W. *Lehrbuch der Genetik*. 2003. Heidelberg, Berlin, Spektrum Akademischer Verlag GmbH.
138. Skibo GG, Davies HA, Rusakov DA, Stewart MG, Schachner M (1998) Increased immunogold labelling of neural cell adhesion molecule isoforms in synaptic active zones of the chick striatum 5-6 hours after one-trial passive avoidance training. *Neuroscience* 82: 1-5.
139. Small SJ, Akeson R (1990) Expression of the unique NCAM VASE exon is independently regulated in distinct tissues during development. *J Cell Biol* 111: 2089-2096.
140. Spearman Ch (1904) "General intelligence", objectively determined and measured. *American journal of Psychology* 15: 201-293.
141. Steck P (1997) *Psychologische Testverfahren in der Praxis - Ergebnisse einer Umfrage unter Testanwendern*. *Diagnostica* 43: 267-284.
142. Stoppe, G. *Diagnose und Differentialdiagnose der Demenz und Demenzerkrankungen in:* Claus Wächtler, *Demenzen*. Stuttgart: Thieme. 1997.
143. Stork O, Welzl H, Cremer H, Schachner M (1997) Increased intermale aggression and neuroendocrine response in mice deficient for the neural cell adhesion molecule (NCAM). *European Journal of Neuroscience* 9: 1117-1125.
144. Stork O, Welzl H, Wolfer D, Schuster T, Mantei N, Stork S, Hoyer D, Lipp HP, Obata K, Schachner M (2000) Recovery of emotional behaviour in neural cell adhesion molecule (NCAM) null mutant mice through transgenic expression of NCAM180. *EurJNeurosci* 12: 3291-3306.
145. Stroop JR (1935) Studies of interference in serial verbal reactions. *Journal of Experimental Psychology* 18: 634-662.
146. Sullivan PF, Keefe RSE, Lange LA, Lange EM, Stroub TS, Liebermann J, Maness PF (2007) NCAM1 and Neurocognition in Schizophrenia. *BiolPsychiat* 61: 902-910.
147. Sundet JM, Eriksen W, Tambs K (2008) Intelligence Correlations Between Brothers Decrease With Increasing Age Difference: Evidence for Shared Environmental Effects in Young Adults. *Psychological Science* 19: 843-847.

148. Tao R, Li C, Zheng Y, Qin W, Zhang J, Li X, Xu Y, Shi YY, Feng G, He L (2007) Positive association between SIAT8B and schizophrenia in the Chinese Han population. *SchizophrRes* 90: 108-114.
149. Tewes, U. HAWIE-R: Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991. 1994. Bern, Göttingen, Toronto, Seattle, Huber.
150. Tewes, U. und Wildgrube, K. *Psychologie-Lexikon*. 180-182. 1991.
151. Thiery JP, Brackenbury R, Rutishauser U, Edelman GM (1977) Adhesion among neural cells of the chick embryo. II. Purification and characterization of a cell adhesion molecule from neural retina. *JBiolChem* 252: 6841-6845.
152. Thurstone, L. L. *Primary mental abilities (Vol1)*. Chicago: Psychometr. Monogr. 1938.
153. Thurstone LL, Thurstone TG (1941) *Factorial studies of intelligence*. The University of Chicago Press.
154. Toga AW, Thompson PM (2005) Genetics of brain structure and intelligence. *AnnuRevNeurosci* 28: 1-23.
155. Tomasiewicz H, Ono K, Yee D, Thompson C, Goridis C, Rutishauser U, Magnuson T (1993) Genetic deletion of a neural cell adhesion molecule variant (N-CAM-180) produces distinct defects in the central nervous system. *Neuron* 11: 1163-1174.
156. Trepel, M. *Neuroanatomie, Struktur und Funktion*. 2008. München, Jena, Urban&Fischer.
157. Tsai S-J, Gau YT, Liu YJ, Hsieh CH, Liou YJ, Hong C-J (2008) Association study of brain-derived neurotrophic factor and apolipoprotein E polymorphisms and cognitive function in aged males without dementia. *Neurosci Lett* 10.
158. Tsai S-J, Hong C-J, Yu W-Y, 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.
159. Tsai S-J, Yu W-Y, Lin C-H, Chen T-J, Chen S-P, Hong C-J (2002) Dopamine D2 Receptor and N-Methyl-D-Aspartate Receptor 2B Subunit Genetic Variants and Intelligence. *Neuropsychobiology* 45: 128-130.
160. Undheim JO, Horn JL (1977) Critical evaluation of Guildford's Structure-of-Intelligence-Theory. *Intelligence* 1: 65-81.
161. Vaheri A (1980) Fibronectin (cold-insoluble globulin): role in defence. *Schweiz Med Wochenschr* 110: 1437-1440.
162. Varki A (1993) Biological roles of oligosaccharides: all the theories are correct. *Glycobiology* 3: 97-130.
163. Vaughn DE, Bjorkman PJ (1996) The (Greek) key to structures of neural adhesion molecules. *Neuron* 16: 261-273.

164. Vawter MP, Frye MA, Hemperly JJ, VanderPutten DM, Usen N, Doherty P, Saffell JL, Issa F, Post RM, Wyatt RJ, Freed WJ (2000) Elevated concentration of NCAM VASE isoforms in schizophrenia. *Journal of Psychiatric Research* 34: 25-34.
165. Vazza G, Bertolin C, Scudellaro E, Vettori A, Boaretto F, Rampinelli S, De Sanctis G, Perini G, Peruzzi P, Mostacciolo ML (2007) Genome-wide scan supports the existence of a susceptibility locus for schizophrenia and bipolar disorder on chromosome 15q26. *Mol Psychiatry* 12: 87-93.
166. Venero C, Verrero AI, Touyarot K, Cambon K, Lopez-Fernandez MA, Berezin V, Bock E, Sandi C (2006) Hippocampal upregulation of NCAM expression and polysialylation plays a key role on spatial memory. *EurJNeurosci* 23: 1585-1595.
167. Venter JC, Adams MD, Myers EWeal (2001) The sequence of the human genome. *Science* 291: 1304-1351.
168. Vernon, P. E. The structure of human abilities. London: Methuen. 1950.
169. Vernon PE (1965) Ability factors and environmental influences. *American Psychologist* 20: 723-733.
170. Vestweber D, Blanks JE (1999) Mechanisms that regulate the function of the selectins and their ligands. *Physiol Rev* 79: 181-213.
171. Vicente AM, Macciardi F, Verga M, Bassett AS, Honer WG, Bean G, Kennedy JL (1997) NCAM and schizophrenia: genetic studies. *Molecular Psychiatry* 2: 65-69.
172. Vink JM, Boomsma DI (2002) Gene finding strategies. *Biological Psychology* 61: 53-71.
173. Walsh FS, Furness J, Moore SE, Ashton S, Doherty P (1992) Use of the neural cell adhesion molecule VASE exon by neurons is associated with a specific down-regulation of neural cell adhesion molecule-dependent neurite outgrowth in the developing cerebellum and hippocampus. *J Neurochem* 59: 1959-1962.
174. Wang DG, Fan J-B, Siao CJeal (1998) Large-scale identification, mapping and genotyping of single nucleotide polymorphisms in the human genome. *Science* 280: 1077-1082.
175. Wechsler, D. Die Messung der Intelligenz Erwachsener (3.unveränderte Auflage). 1964. Bern, Huber.
176. Weinhold B, Seidenfaden R, Röckle I, Mühlenhoff M, Schertzinger F, Conzelmann S, Marth JD, Gerardy-Schahn R, Hildebrandt H (2005) Genetic ablation of polysialic acid causes severe neurodevelopmental defects rescued by deletion. *JBiolChem* 280: 42971-42977.
177. Whitlock JR, Heynen AJ, Shuler MG, Bear MF (2006) Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. *Science* 313: 1093-1097.
178. Wilson RS, Bienias JL, Berry-Kravis E, Evans DA, Bennett DA (2002) The apolipoprotein E epsilon 2 allele and decline in episodic memory. *JNeurol Neurosurg Psychiatry* 73: 672-677.

179. Wittchen, H.-U., Saß, H., und Zaudig, M. Diagnostisches und Statistisches Manual Psychischer Störungen DSM-IV. Göttingen, Bern, Toronto, Seattle: Hogrefe Verlag für Psychiatrie. 1996.
180. Wittchen, H.-U., Zaudig, M., und Fydrich, T. SKID Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV Achse I und II. Göttingen, Bern, Toronto, Seattle: Hogrefe Verlag für Psychiatrie. 1997.
181. Woodcock RW (1990) Theoretical foundations of the WJ-R measures of cognitive ability. *JPsychoeducAssess* 8: 231-258.
182. Wright MJ, de Geus EJC, Ando J, Luciano M, Posthuma D, Ono Yeal (2001) Genetics of cognition: Outline of a collaborative twin Study. *Twin Research* 4: 48-56.
183. Xu Z, He Z, Huang K, Tang W, Li Z, Tang R, Xu Y, Feng G, He L, Shi Y (2008) No genetic association between NCAM1 gene polymorphisms and schizophrenia in the Chinese population. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 32: 1633-1636.
184. Yang B-Z, Kranzler HR, Zhao H, Gruen JR, Luo X, Gelernter J (2007) Association of haplotypic variants in DRD2, ANKK1, TTC12 and NCAM1 to alcohol dependence in independent case-control and family samples. *Human Molecular Genetics* 16: 2844-2853.
185. Yu W-Y, Lin C-H, Chen S-P, Hong C-J, Tsai S-J (2000) Intelligence and event-related potentials for young female human volunteer apolipoproteinE ϵ 4 and non- ϵ 4 carriers. *Neuroscience Letters* 294: 179-181.
186. Zilles, K. und Rehkämper, G. Funktionelle Neuroanatomie. 1994. Berlin, Heidelberg, New York, Springer.
187. Zimbardo, P. G. und Gerrig, R. J. Psychologie. 1999. Berlin, Springer.
188. Zimbardo, P. G. und Gerrig, R. J. Psychologie. München: Pearson Studium. 2004.
189. Zimmerman, I. L., Woo-Sam, J. W., und Glasser, A. J. Clinical Interpretation of the Wechsler Adult Intelligence Scale. 1973. New York, Grune & Stratton.

8 Danksagung

Für die freundlichen Hilfen und Erklärungen bei der Eingewöhnung, Durchführung und Fertigstellung meiner Arbeit möchte ich zunächst allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe Rujescu danken.

Professor Dr. med. Hans-Jürgen Möller danke ich für die Möglichkeit an der von ihm geleiteten Psychiatrischen Universitätsklinik der Ludwig-Maximilians-Universität zu promovieren.

Professor Dr. med. Dan Rujescu danke ich für die Bereitstellung des interessanten und abwechslungsreichen Themas.

Sehr bedanken möchte ich mich bei Frau Dr. psych. Ina Giegling für die stete Betreuung und Beratung. Ebenso ein herzliches Dankeschön für ihre Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Studienergebnisse, dem Korrekturlesen und der Beantwortung all meiner Fragen.

Besonderer Dank gilt Frau Dr. biol. hum. Annette Hartmann, die große Unterstützung bei den labortechnischen, genetischen und literarischen Angelegenheiten gab.

Zusätzlich halfen mir Frau Biologin Marion Friedl, Dr. med. Just Genius und Dr. med. Jens Benninghoff stetig und spontan bei kleineren Schwierigkeiten. Vielen Dank!

Meinen Mitdoktoranden Frau Pharmazeutin Claudia Goller, ZÄ Monika Bestelmeyer, ZÄ Nicola Thiess, cand. med. dent. Nils Möller, Dr. med. dent. Johannes Stitzinger und ZA Tobias Schön möchte ich für die intensive, schöne, und oft auch lustige Zeit danken.

Meinem Mann Andreas Böhm verdanke ich eine Einführung im Umgang von Excel Tabellen und kleineren Graphiken.

Meiner Schwester Dr. med. Birgit Fernandes-Sekinger danke ich, dass sie trotz Familiennachwuchs Zeit für meine Fragen gefunden hat.

Schließlich möchte ich allen Probanden danken, denn sie haben Zeit und Mühe in diese Studie investiert.

Zuletzt möchte ich meinen Eltern, Doris und Fritz Sekinger, für ihre immerwährende Unterstützung und ihr Vertrauen in mich während der Zeit meines Studiums und der Zeit der Durchführung der vorliegenden Arbeit danken.