

Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Herr Prof. Dr. Hans-Jürgen Möller
Sektion für Molekulare und klinische Neurobiologie
Leitung: Prof. Dr. D. Rujescu

Thema der Dissertation:

**„Einfluss genetischer Variationen im Prepronociceptin-Gen auf
intermediäre Phänotypen bei an Schizophrenie Erkrankten und Gesunden“**

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

Vorgelegt von
Anna–Julia Pfister

aus
Heidelberg

im Jahr
2012

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dan Rujescu

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Ortrud Steinlein

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. Ina Giegling

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

Tag der mündlichen Prüfung: 22.03.2012

Meinen Eltern gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

1	Zusammenfassung	6
2	Einleitung	8
2.1	Schizophrenie	8
2.1.1	Definition	8
2.1.2	Geschichtlicher Rückblick	9
2.1.3	Symptomatik: Positiv- und Negativsymptome	10
2.1.4	Klassifikation	10
2.1.5	Epidemiologie	11
2.1.6	Ätiologie	13
2.1.7	Verlauf und Prognose	15
2.2	Neuropathologische Veränderungen	16
2.3	Biochemische Befunde	17
2.3.1	Dopamin	17
2.3.2	Dopaminerge Signalübertragung.....	18
2.3.3	Das dopaminerge System	19
2.3.4	Dopaminhypothese	21
2.3.5	Andere Neurotransmitter-Hypothesen	23
2.4	Genetik der Schizophrenie	24
2.4.1	Grundlagen zu Genetik.....	24
2.4.2	Kopplungsanalysen	25
2.4.3	Assoziationsstudien	27
2.4.4	“Hot Candidates”	28
2.4.5	Adoptions- und Zwillingsstudien	29
2.5	PNOC (Prepronozizeptin)	31
2.5.1	Genstruktur und Polymorphismus.....	31
2.5.2	Präkursor Nozizeptin/Orphanin FQ (PNOC)	34
2.5.3	Struktur von Nozizeptin	35
2.5.4	Expression und Funktion von Nozizeptin	35
2.5.5	Nozizeptin und der Opiatrezeptor-ähnliche Rezeptor ORL-1.....	36
2.5.6	Nozizeptin und Dopamin	37
2.5.7	Nozizeptin und kognitive Fähigkeiten	37
2.6	Intermediäre (Endo-)Phänotypen	38
2.7	Kognition und kognitive Fähigkeiten	40
2.7.1	Definition der Kognition	40
2.7.2	Grundlagen der Kognitionsforschung	41
2.7.3	Kognitive Störungen und neurokognitive Befunde bei Schizophrenie	41
2.7.4	Genetik und kognitive Fähigkeiten	42
2.8	Fragestellung	46
3	Material und Methoden	47
3.1	Studiendesign	47
3.1.1	Vorbedingungen der Studiendurchführung	47
3.1.2	Studienteilnehmer.....	47
3.2	Neuropsychologische Testverfahren	53
3.2.1	Zahlenverbindungstest, ZVT	53
3.2.2	Trail Making Test, TMT	58
3.2.3	Aufmerksamkeits-Belastungstest, Test d2	62
3.3	Laborverfahren	68
3.3.1	DNA-Extraktion	68

3.3.2	Bestimmung der DNA-Konzentration	70
3.3.3	iPLEX-Verfahren	72
3.3.4	Assaydesign.....	80
3.4	Statistische Auswertung	80
4	Ergebnisse	82
4.1	Analyse des PNOC Polymorphismus rs904053	83
4.1.1	Genotyp rs904053	83
4.1.2	Allel rs904053	89
4.2	Analyse des PNOC Polymorphismus rs4732640	94
4.2.1	Genotyp rs4732640	94
4.2.2	Allel rs4732640	100
4.2.3	Assoziation von Testergebnissen und Allelverteilungen des rs4732640	100
4.2.4	Zusammenfassung der Ergebnisse	105
5	Diskussion	109
5.1	Diskussion der Ergebnisse	109
5.2	Studienvergleich: Assoziation des PNOC-Gens mit Schizophrenie	111
5.3	Studienvergleich: Kognitionsuntersuchungen	113
5.4	Methodische Gesichtspunkte	116
5.4.1	Abstammung	116
5.4.2	Diagnoseverfahren	118
5.4.3	Heterogenität	118
5.5	Ausblick	121
6	Abkürzungen und Fachbegriffe	122
7	Appendix	127
8	Literaturverzeichnis	130
9	Danksagung	158

1 Zusammenfassung

Es gilt heute als gesichert, dass sowohl bei der allgemeinen Kognition, als auch bei der Erkrankung Schizophrenie genetische Komponenten eine Rolle spielen. Assoziationen mit Schizophrenie bestätigten sich für Chromosom 5, 6, 8, 9, 10, 11, 18 und 19 (Lewis et al. 2003 und National Center for Biotechnology Information/ Online Mendelian Inheritance in Man 2009). Bei Eingrenzung der chromosomalen Regionen wurde in Kopplungsstudien das Gen Prepronozizeptin (PNOC) auf Chromosom 8p21 als Suszeptibilitätslocus für Schizophrenie erkannt (Mollereau et al. 1996, Gurling et al. 2001, O'Donovan et al. 2003, Suarez et al. 2006). PNOC kodiert die Neuropeptide Nozistatin und Nozizeptin, die im gesamten ZNS exprimiert sind und auf unterschiedlichste Weise physiologische Vorgänge beeinflussen, wobei Nozizeptin auch an der Regulation der dopaminergen Neurotransmission im frontalen Kortex beteiligt ist (Mamiya et al. 1998). Dieses System wird sowohl mit Schizophrenie (Köhler 2001) als auch mit der Entstehung kognitiver Defizite in Verbindung gebracht (Luine et al. 1990). Auch Tierstudien belegen den Einfluss von Nozizeptin auf Gedächtnisprozesse (Higgins et al. 2002).

In vorliegender Studie wurde die Assoziation der Basenaustausch-Polymorphismen (SNP) rs904053 und rs4732640, beide in der 3'Region des PNOC-Gens, zu Schizophrenie und kognitiven intermediären Phänotypen untersucht. Die vorliegende Arbeit basiert auf einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie, so dass Zusammenhänge zwischen den genannten Polymorphismen des PNOC-Gens mit Schizophrenie und Fähigkeiten wie kognitiver Leistungsgeschwindigkeit und Konzentration erfasst werden konnten. Die SNPs wurden in einer kaukasischen Stichprobe von 111 Patienten und 259 Probanden mittels des iPLEX-Verfahrens genotypisiert. Die psychometrische Messung der kognitiven Tests erfolgte mittels Zahlenverbindungstest (ZVT), Trail-Making Test (TMT) und Aufmerksamkeits-Belastungstest d2.

Signifikante Assoziation zwischen den untersuchten Polymorphismen des PNOC-Gens und Schizophrenie fanden sich nicht in dieser Arbeit.

1. Zusammenfassung

Bei der Analyse der Assoziation der Genotypfrequenz des Polymorphismus rs904053 zur kognitiven Leistungsfähigkeit und Konzentration, zeigten Träger des AA- und AG-Genotyps im ZVT signifikant bessere Leistungen als Träger des homozygoten GG-Genotyps. Träger des A-Allels schnitten bei der Analyse der Allelfrequenz sowohl im ZVT als auch im TMT (Teil A und B) signifikant besser ab, als Träger des G-Allels. Für d2 Testwerte zeigten sich keine signifikanten Leistungen. Bei der Analyse der Assoziation der Genotypfrequenz des zweiten untersuchten Polymorphismus rs4732640, zeigten sich signifikante Leistungen nur für den ZVT, wobei Träger des AA- und AT-Genotyps besser abschnitten als Träger des homozygoten TT-Genotyps. Bei der Allelfrequenz zeigten sich keine signifikanten Werte. Die signifikante Assoziation der jeweiligen A-Allelträger des Polymorphismus rs904053 und rs4732640 mit guten Leistungen im ZVT, einem sprachfreien Intelligenz-Test und Messinstrument der kognitiven Leistungsgeschwindigkeit, gibt Hinweise darauf, dass PNOC kognitive Gedächtnisprozesse beeinflussen könnte.

Aufgrund der Heritabilität und des vielschichtigen Systems welches der Begriff Kognition in sich vereint, ist der Vergleich dieser Eigenschaften komplex und sollte auch zukünftig durch Anwendung weiterer Tests überprüft werden, beispielsweise durch Intelligenztests wie dem HAWIE. Es sind weitere Studien mit möglichst analogen Studiendesigns (Assoziationsstudien mit ähnlichen Einschlusskriterien, ausreichend großer Stichprobe, ebenfalls mit PNOC-Untersuchungen) und auch unter anderen Populationen nötig, um die Hinweise zur Assoziation von Kognition und PNOC zu bestätigen und eine bessere Vergleichbarkeit und Interpretation der Ergebnisse zuzulassen.

Diese Ergebnisse replizieren den derzeitigen Forschungsstand, bei dem PNOC als nicht unmittelbares Kandidatengen der Schizophrenie postuliert wird (Blaveri et al. 2001, Imai et al. 2001, Suarez et al. 2006). Um dies zu überprüfen, sollten jedoch weitere Studien mit unterschiedlichen Markern und ausreichend großen Stichproben durchgeführt werden.

2 Einleitung

2.1 Schizophrenie

2.1.1 Definition

Schizophrenie (altgriechisch σχίζειν *schizein* „abspalten“ und φρήν *phrēn* „Zwerchfell“, das früher als Sitz der Seele oder des Geistes galt) ist als eine Diagnose für psychische Störungen des Denkens, der Wahrnehmung und der Affektivität gekennzeichnet, wobei vielfältige symptomatische Erkrankungsbilder unterschieden werden (Schmidt 2002).

Auch wenn der Begriff Schizophrenie immer noch im DSM-IV genutzt wird, hat das Konzept der Schizophrenie viele Veränderungen durchlaufen, so dass eine allgemeingültige Definition schwierig erscheint (Stefansson et al. 2004).

Blom befürwortet daher eine Weiterentwicklung der Krankheitsdefinition und warnt vor unkritischer Verwendung dieses Krankheitskonzeptes im Bereich empirischer Forschung bezüglich neurobiologischer und neuropsychologischer Determinanten für psychotische Symptome, vor allem da er größere Gemeinsamkeiten mit Kraepelins „dementia praecox Konzept“ sieht (Blom 2007).

Die Schizophrenie gehört zur Gruppe der endogenen Psychosen die differenziert werden in den Bereich der affektiven Störungen (früher „Gemütskrankungen“), wie Depressionen, manische- und bipolare Störungen und den Bereich der schizophrenen Psychosen (Möller et al. 2005). Der Begriff "endogen" beschreibt dabei den Entstehungsprozess der Erkrankung ("von innen heraus") und grenzt von anderen beispielsweise drogeninduzierten Psychosen ab (Schmidt 2002).

2.1.2 Geschichtlicher Rückblick

Emil Kraepelin (1856-1926, Ordinarius für Psychiatrie in München) beschrieb 1898 das Krankheitsbild, das heute Schizophrenie genannt wird, als „Dementia praecox“ (vorzeitige Demenz) und grenzte es von den affektiven Psychosen ab. Zuvor wurden zahlreiche Krankheitsbilder, die heute der Schizophrenie zugeordnet werden, getrennt beschrieben. Kraepelin postulierte eine Dreiteilung der Dementia praecox in eine paranoid-halluzinatorische, eine hebephrene und eine katatone Form, die jedoch fließende Übergänge zeigten. Trotzdem finden diese Untergruppen heute noch Verwendung um die jeweils dominierende Symptomatik zum Ausdruck zu bringen. Zur Bezeichnung „Dementia praecox“ führte einerseits die Störung des Denkens bei den betroffenen Patienten („Verblödung“, „Geisteskrankheit“) und andererseits der frühe Krankheitsbeginn im Vergleich zur senilen Demenz. Diese pessimistische Auffassung der Erkrankung, die auch aufgrund der mangelhaften Behandlungsmöglichkeiten entstand, ist heute widerlegt (Schmidt 2002).

Eugen Bleuler (1857-1939, Ordinarius für Psychiatrie in Zürich) führte 1908 den heute noch gültigen Begriff der „Schizophrenie“ ein, da sich weder Demenz noch der frühe Krankheitsbeginn als obligate Merkmale der Erkrankung erwiesen. Dieser Begriff kennzeichnete die Spaltung zwischen Denken, Emotion, Wille und subjektiver Persönlichkeit bei schizophrenen Patienten und unterschied die Grundsymptome Assoziationsstörungen, Affektstörungen, Autismus und akzessorische Symptome (Volz et al. 2005).

Kurt Schneider (1887-1967, Ordinarius für Psychiatrie der Universität Heidelberg) differenzierte die Symptome ersten und zweiten Ranges, und ersetzte durch diese neue Art der Diagnostik zunehmend Bleulers Klassifizierung (Ebert et al. 2005).

John Hughlings Jackson (1835-1911, Neurologe am National Hospital for Nervous Diseases, London) entwickelte die Symptomeinteilung in Positiv (bzw. Produktiv- oder Plusssymptome) und Negativ (bzw. Defizit- oder Minussymptome) (Jackson 2002).

2.1.3 Symptomatik: Positiv- und Negativsymptome

Die Symptomatik wird in Prägnanztypen unterschieden, deren Einteilung von J.H. Jackson (1835-1911) eingeführt wurde. „Positiv“ beschreibt dabei das Hinzukommen von Symptomen zum Normalzustand, im Gegensatz zu den „Negativ-“ Symptomen. Positivsymptome sind Wahnideen, Halluzinationen, Ich-Störungen und Denkstörungen, die eher im akuten Verlauf auftreten, während die negativen Symptome wie gedankliche und sprachliche Verarmung, Affektstörungen mit Gefühlsleere, Apathie, Kontaktunfähigkeit, sozialer Rückzug und Abstumpfung, so wie Antriebs- und Aufmerksamkeitsstörungen, eher im chronischen Verlauf bzw. bei Residuen auftreten. Positivsymptome lassen sich im Gegensatz zu den Negativsymptomen sehr gut mit modernen Neuroleptika therapieren.

2.1.4 Klassifikation

Heute folgt die Klassifikation von Erkrankungen des schizophrenen Formenkreises der Internationalen Klassifikation für Erkrankungen (ICD-10) der Weltgesundheitsorganisation (WHO) und dem Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV, vierte Revision) der American Psychiatric Association (APA). Allgemein findet in beiden Diagnosesystemen die Positivsymptomatik besondere Beachtung, obwohl bei höchstens 80% der als schizophren diagnostizierten Patienten diese Symptome auftreten (Möller et al. 2005).

2.1.4.1 ICD-10: „International Classification of Diseases“

ICD-10 ist eine international anerkannte Klassifikation aller Krankheiten mit einundzwanzig diagnostischen Hauptgruppen (s. Appendix). Allgemeine Kriterien nach ICD-10 für die Diagnose Schizophrenie sind nach Ausschluss anderer Ursachen (organische Hirnerkrankungen, Alkohol- und Drogenbedingte Störungen, affektive Erkrankungen), das Vorhandensein von mindestens einem der folgenden Merkmale über mindestens einen Monat:

Gedankeneingebung, -entzug, -ausbreitung, -lautwerden; Gefühl des Gemachten, der Fremdbeeinflussung und der Passivität, Wahnwahrnehmungen; kommentierende oder dialogische Stimmen. Auch das Vorhandensein von mindestens zwei der folgenden Merkmale ist ein Diagnosekriterium: tägliche Halluzinationen über mindestens einen Monat, begleitet von überwertigen Ideen oder Wahn; Neologismen, Gedankenabreißen, Gedankensperrung mit Zerfahrenheit; Katatonie, Katalepsie, Negativismus, Mutismus, Stupor; sowie Negativsymptome wie Apathie und Sprachverarmung.

2.1.4.2 DSM System: „Diagnostisches und statistisches Manual psychiatrischer Störungen“

Das 1952 von der amerikanischen Psychiater-Vereinigung (American Psychiatric Association, APA) eingeführte DSM System dient im Gegensatz zum ICD-10 als Basis für die Forschung, da es striktere und präzisere diagnostische Kriterien voraussetzt. DSM IV (überarbeitete Version von 1996) erlaubt eine 5-achsige Klassifikation, so dass verschiedene für Prognose und Therapie relevante Informationsbereiche getrennt erfassbar sind. Diese fünf Achsen sind klinische Störungen, Persönlichkeitsstörungen und Intelligenzstörungen, allgemeine medizinische Zustandsbilder, psychosoziale und Umgebungsfaktoren, sowie Globalbeurteilung des psychosozialen Funktionsniveaus.

2.1.5 Epidemiologie

Die Schizophrenie (ICD-10, Code F 20) gehört in der Gruppe schizophrenieähnlicher und wahnhafter Psychosen zu den häufigsten und schwersten Erkrankungen dieser Gruppe (Gesundheitsbericht des Bundes 1998, 2007).

Inzidenz:

In der "World Health Organization ten-country study" wird die Inzidenzrate für Schizophrenie mit 10:100.000 beschrieben (Jablensky et al. 1992). McGrath et al. fanden 2004 durch eine systematische Überprüfung vorliegender Inzidenzraten einen

signifikanten Einfluss von Geschlecht, Urbanitäts- und Migrantenstatus auf das Auftreten von Schizophrenie, sowie eine Fülle anderer Faktoren, die wiederum bestätigten, dass es mehrere wesentliche Variationen in der Inzidenz der Schizophrenie gibt (McGrath et al 2004). Während die mittlere Inzidenzrate 15,2 pro 100.000 Personen betrug, erstreckte die 10% zu 90% Quartile sich über einen mehr als fünffachen Ratenbereich (7,7 bis 43,0 pro 100.000). Die Inzidenz für Schizophrenie ist nach McGrath et al. (2004) höher in städtischen Gebieten im Vergleich zu gemischt städtisch/ländlichen Gebieten und höher unter Migranten verglichen mit Einheimischen.

Prävalenz:

Saha et al. führten 2005 eine systematische Überprüfung der Prävalenz von Schizophrenie durch und ermittelten einen Bereich von 0,4% - 0,7%, abhängig von der genutzten Prävalenz-Berechnungsart (Saha et al. 2005). In entwickelten Ländern fand sich eine geringere Prävalenzrate, die durchweg nicht geschlechtsabhängig variierte und damit nicht die Inzidenzraten widerspiegelte. Bei Migranten war die Prävalenz ebenso wie die Inzidenz höher als bei im Land Gebürtigen (Saha et al. 2005).

Rist et al. bezifferten die Erkrankungswahrscheinlichkeit (life-time Risiko) für die Durchschnittsbevölkerung ab dem vierzigsten Lebensjahr im Laufe des Lebens an Schizophrenie zu erkranken zwischen 0,5%-1,6% (Rist et al. 2005). Dieser relativ breite Bereich scheint ebenfalls auf die unterschiedliche diagnostische Urteilsbildung zurückzuführen zu sein (Rist et al. 2005). Das Prädilektionsalter für den Beginn der Erkrankung liegt bei Männern zwischen dem 15. – 25. Lebensjahr. Frauen erkranken im Durchschnitt vier Jahre später und haben einen zweiten Erkrankungsgipfel um das 50. Lebensjahr (Rist et al. 2005). Diese Befunde führten zu der Vermutung, dass Östrogen eine protektive Wirkung haben könnte (Häfner, 2003), was jedoch nicht bestätigt werden konnte (Perrez und Baumann 2005).

Davies et al. konnten 2003 zeigen, dass die Prävalenz für Personen erhöht ist, die im Frühjahr oder Herbst geboren wurden. Es wurde angenommen, dass die Mütter vermehrt Epidemien und Infektionen während ihrer Schwangerschaft ausgesetzt waren, was jedoch empirisch nicht bestätigt werden konnte (Davies et al. 2003).

2.1.6 Ätiologie

Die genaue Pathogenese der Schizophrenie ist bis heute ungeklärt, es wird jedoch von einem multifaktoriellen Prozess ausgegangen. Sowohl genetische und neuropathologische Faktoren, als auch biochemische und psychosoziale Veränderungen spielen dabei eine Rolle (Möller et al. 2005, Abb.1).

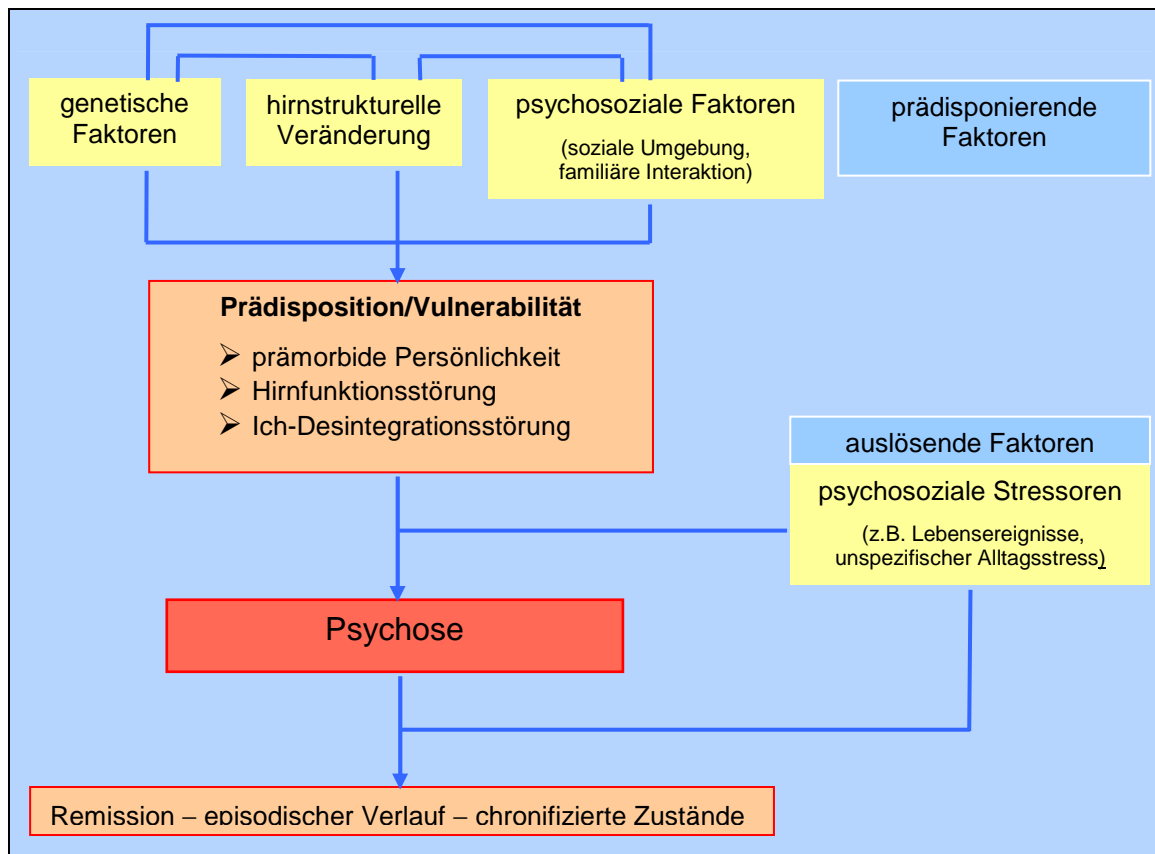


Abb. 1: **Schematisches Modell zur Ätiopathogenese der Schizophrenie** mit Einbezug der Darstellung nach Scharfetter 1995 und des Konzeptes nach Möller und Deister 2000

Ein erhöhtes Risiko an Schizophrenie zu erkranken, ist auch assoziiert mit einem fortgeschrittenen Alter väterlicherseits, insbesondere bei Frauen. So könnte dieser Aspekt vor allem in Verbindung mit *de Novo* Mutationen verantwortlich sein für Fälle von Schizophrenie (Byrne et al. 2003). Geschlechtsspezifische Analysen zeigten in dieser Studie, dass das Schizophrenie-Risiko für Männer mit 55 Jahre alten oder älteren Vätern (*incidence rate ratio* [IRR], 2.10; 95% *confidence interval* [CI], 1.35-3.28) zunahm. Für Frauen war das erhöhte Risiko assoziiert mit einem väterlichen Alter von 50 bis 54 Jahren (IRR, 2.22; 95% CI, 1.44-3.44) und älter (IRR, 3.53; 95% CI, 1.82-6.83).

Auch die Rolle frühkindlicher Infektionen bei der Entwicklung einer Schizophrenie wird diskutiert, was unter anderem durch die Häufung schizophrener Psychosen bei Menschen, die im Spätwinter und Frühjahr geboren wurden, gestützt wird (Stefansson 2009). Dabei stehen Viren im Verdacht, das Ausbrechen einer Schizophrenie zu begünstigen (Stefansson 2009), aber auch Protozoen wie *Toxoplasma gondii* (Zhu 2009) und bestimmte Borrelien (Fritzsche 2002). Außerdem scheinen geburtshilfliche Komplikationen und pränatale ischämische Insulte eine Rolle zu spielen (Wright und Murray 1993, Seidman et al. 2000). Eine eindeutige Assoziation zwischen Infektionserregern und Schizophrenie wurde jedoch noch nicht bewiesen (Stefansson 2009).

Ein weiteres Beispiel für einen möglichen Risikofaktor für Schizophrenie sind Autoimmunerkrankungen. Denn Individuen mit Schizophrenie und deren Verwandte neigen dazu, höhere Prävalenzen für Autoimmunerkrankungen zu haben, vor allem bei Erkrankungen wie interstitieller Nephritis, glutensensitiver Enteropathie, autoimmunen Schilddrüsenerkrankungen, dem Sjögren-Syndrom und Typ 1 Diabetes (Eaton et al. 2006, Juvonen et al. 2007). Ob sich dadurch jedoch auch umgekehrte Rückschlüsse auf die Erkrankung Schizophrenie als Autoimmunprozess ziehen lassen, lässt sich nicht beurteilen (Eaton et al. 2006).

2.1.6.1 Psychosoziale Aspekte – Expressed Emotion-Konzept (EE)

Empirisch relativ schwer nachweisbare psychosoziale Aspekte können ebenfalls Mitauslöser der Krankheit sein. So konnte ein Einfluss auf die Krankheit durch familiäre Dynamik und soziales Umfeld festgestellt werden (Gottesmann 1991) als Erklärung für häufigere Rezidive bei Patienten mit so genannten „high-expressed-emotions“ (HEE) in der Familie. (Rückfallquote von 76% pro Jahr). Nach diesem Expressed Emotion-Konzept (EE) haben Angehörige einen entscheidenden Einfluss auf die Erkrankung. *High-expressed-emotions* bedeutet dabei, dass die Familienangehörigen gegenüber dem Patienten übermäßig häufig Kritik äußern, Feindseligkeiten zeigen oder von einem emotionalen Überengagement gekennzeichnet sind (Rosenfarb et al. 2004).

Auffallend ist, dass akute Schübe häufig im Zusammenhang mit besonders belastenden und lebensverändernden Ereignissen auftreten, was in „Live-event“-Studien nachgewiesen werden konnte. So wurde bei 50% der schizophrenen Patienten eine Häufung kritischer Lebensereignisse (*life events*) kurz vor einer Episode als auch vor Rückfällen gezeigt (Cullberg 2003). Da die Zusammenhänge zwischen veränderungsträchtigen Lebenssituationen und erstmaliger Erkrankungsmanifestation jedoch nur nachträglich erfassbar und auch methodisch nicht kontrollierbar sind, gibt es keine validen Studien, die diese Zusammenhänge beweisen können (Perrez und Baumann 2005). Einen Einfluss der verschiedenen Umwelten in Stadt und Land auf die Erkrankung stellten Krabbendam und van Os (2005) fest. Allgemein bestimmen psychosoziale Faktoren eher den Verlauf der Erkrankung als den Ausbruch.

Zusammenfassend ist demnach eine Reihe von Aspekten für die Erkrankung Schizophrenie verantwortlich. Neben genetischen Faktoren, können auch Geburtskomplikationen und eventuell frühkindlichen Infektionen zu einer Entwicklungsstörung des Gehirns führen, welche sich in einer veränderten Vernetzung von Nervenzellen in der Ultrastruktur des Hirns äußert. Beim ausgereiften Gehirn könnte es möglicherweise bei hinzukommenden psychosozialen Belastungen, zum Ausbruch der schizophrenen Psychose kommen. Auch das Auftreten schizophrenieartiger psychotischer Symptome bei einer Reihe von organischen Erkrankungen wie z.B. bei der Epilepsie und im Verlauf von HIV-Infektionen, macht eine gemeinsame Endstrecke vieler Erkrankungsursachen die zur Entstehung der Schizophrenie beitragen, ebenfalls wahrscheinlich.

Den weitaus größten Einfluss scheint jedoch die Genetik zu haben, was in den Zwillings-, Adoptions- und Familienstudien deutlich wird.

2.1.7 Verlauf und Prognose

Verlauf und Prognose der Schizophrenie sind individuell sehr unterschiedlich. Die Prodromalphase ist schon bis zu fünf Jahre vor dem eigentlichen Auftreten der Erkrankung möglich. Schizophrene Symptome sind noch nicht abgrenzbar, jedoch verschlechtert sich das Leistungsniveau der Betroffenen und es treten häufig

depressive oder manische Symptome auf (Comer 2001, Ebert 2005). In der akuten Phase (Stunden bis mehrere Wochen) stehen die schizophrenen Symptome im Vordergrund (Comer 2001, Ebert 2005). Die Residualphase ähnelt der Prodromalphase (Ebert, 2005). Auch hier bestehen häufig Negativsymptome und depressive Episoden, weshalb besonders auf Suizidalität geachtet werden muß. Das frühere Leistungsniveau wird selten wieder erreicht (Comer 2001, Ebert 2005).

Als günstiger Verlaufsprädiktor gilt ein einzelner akuter, kurz andauernder Schub, der erst im hohen Alter bei familiär unbelasteten Menschen mit guter sozialer Anpassung auftritt. Weitere protektive Faktoren die zu einer günstigeren Prognose beitragen, sind Berufstätigkeit, Nachweis von auslösenden Ereignissen, überwiegende Positivsymptomatik und weibliches Geschlecht. Ungünstig dagegen sind junges Erkrankungsalter, soziale Isolation, Negativsymptomatik, schleichender Verlauf oder häufige Akutphasen und hohe „Expressed Emotions“ (EE) in der Familie (Möller et al. 2005).

Cannon et al. fanden fünf Schlüsselfaktoren, die stark die Wahrscheinlichkeit erhöhten, dass ein Jugendlicher Schizophrenie entwickelte: ein genetisches Risiko für Schizophrenie in Kombination mit einem erst kürzlich aufgetretenem Funktionsverlust, eine große Menge ungewöhnlicher Gedankeninhalte, Paranoia, verstärkte Beeinträchtigung sozialer Fähigkeiten und früherer oder aktueller Drogenmissbrauch (Cannon et al. 2008). Im Verlauf dieser Studie erkrankten insgesamt 35 Prozent der Studienteilnehmer an Schizophrenie, wobei Teilnehmer mit zwei oder drei dieser charakteristischen Merkmale in 68 bis 80 Prozent im Verlauf der Studie eine Schizophrenie entwickelten. Damit rücken Möglichkeiten der Prävention bei psychotischen Krankheiten in den Vordergrund, auch wenn die derzeit verfügbaren Methoden noch ungenau sind.

2.2 Neuropathologische Veränderungen

In Studien mit schizophrenen Patienten konnten anhand bildgebender Verfahren auch neuropathologische Veränderungen nachgewiesen werden. Dabei wurden in

vielen Studien eine Vergrößerung der Hirnventrikel, besonders der Seitenventrikel um durchschnittlich 20 % beschrieben (Rist et al. 2005). Hirngewebe-Untersuchungen bei verstorbenen Schizophrenen zeigten dabei bei einigen Patienten einen Mangel an Nervenfasern und Nervenfaserverbindungen in den zentralen limbischen Strukturen des Temporallappens und in frontalen Hirnregionen (Rist et al. 2005). Neben diesen Parenchymverlusten wurden in diesen Bereichen auch Auffälligkeiten der Mikrostruktur und pathologische Zellanordnungen gefunden (Rist et al. 2005). Auch bei Positronenemissionstomografien (PET) ist bei Erkrankten oft eine verminderte Frontalhirnaktivität (Hypofrontalität) zu erkennen, sowie Atrophien und verringerte Stoffwechselaktivität in Temporallappen und Hippocampus (Comer 2001).

Diese Befunde könnten einerseits Resultat früherer Hirnentwicklungsstörungen in der Peri- oder Pränatalzeit sein, andererseits auch Folge degenerativer Prozesse in der Adoleszenz.

2.3 Biochemische Befunde

Als Mitverursacher der klinischen Schizophreniesymptome werden heute Fehlfunktionen in verschiedenen Gehirnregionen (z.B. im präfrontalen Kortex) und in Neurotransmittersystemen (z.B. Glutamat und Dopamin) angenommen (Egan et al. 2004). Außerdem spielen diese Regionen und Systeme auch bei kognitiven Dysfunktionen (Aufmerksamkeitsdefizite, Defizite innerhalb des Arbeitsgedächtnisses und Defizite der Exekutivfunktionen) eine Rolle (Zinstok et al. 2007), so dass das dopaminerge System als Schlüsselsystem für kognitive Defizite und Schizophrenie angesehen wird (Egan et al. 2004, Zinstok et al. 2007).

2.3.1 Dopamin

Dopamin ist ein wichtiger Neurotransmitter des Zentralen Nervensystems (ZNS), der als häufigstes Katecholamin (80% aller Katecholamine) neuroendokrine Funktionen, lokomotorische Aktivität, Kognition und Emotion reguliert (Zawilska 2003).

Seine Wirkung entfaltet die unmittelbare Vorstufe von Adrenalin und Noradrenalin über die Stimulation von membrangebundenen D1 und D5 Rezeptoren der D1-Familie und D2, 3, und 4 Rezeptoren der D2-Familie der Dopaminrezeptoren, die alle zur übergeordneten Familie von G-Protein-gekoppelten Rezeptoren gehören (Zawilska 2003). Die Dopamine D1-ähnlichen Rezeptoren (D1 und D5 Rezeptoren) sind im zentralen Nervensystem am häufigsten vertreten.

Diese verschiedenen Rezeptor Subtypen weisen eine spezifische anatomische Verteilung auf: D1-ähnliche Rezeptoren sind v.a. postsynaptisch lokalisiert, während D2-ähnliche Rezeptoren prä- und postsynaptisch auftreten (Jaber et al 1996). Zur Familie der D2-ähnlichen Rezeptoren (D2, 3 und 4) gehören inhibitorische Autorezeptoren (D2 und D3), die die Synthese und Freisetzung von Dopamin hemmen (Hanser 2000).

Dopaminerge Neurone kommen gehäuft in mesenzephalischen Hirnstrukturen vor und machen im Vergleich zur Gesamtanzahl der Neurone im menschlichen Gehirn einen relativ geringen Anteil aus (Förstl et al. 2006). D1 und D2 Rezeptoren kommen gehäuft im mesolimbischen System der Substantia nigra vor, wo sich auch die größte Anzahl an Opiat-Rezeptoren befindet. Dies ist bedeutend, da die Affinität der Dopaminrezeptoren durch Substanzen wie Morphin, Enkephalin oder Nozizeptin (kodiert durch das in dieser Arbeit untersuchte Gen PNOC) moduliert werden können (Hanser 2000). Dabei ist die synaptische Signalübertragung dieser Substanzen der dopaminergen Signalübertragung sehr ähnlich (Pritzel et al. 2003).

2.3.2 Dopaminerge Signalübertragung

Für die chemische Signalübertragung im Nervensystem sind Synapsen zuständig (siehe Abb.3). Die Synthese der zu übermittelnden Botenstoffe, bzw. Transmitter, z.B. Dopamin, findet in der Präsynapse statt, in der die Transmitter über spezielle Transportmoleküle in Vesikel geschleust werden. Diese Vesikel werden zum synaptischen Spalt transportiert. Bei Eintreffen eines Aktionspotentials öffnen sich spannungsabhängige Ca^{2+} -Kanäle durch Depolarisation der Zellmembran und beispielsweise Dopamin wird freigesetzt (Förstl et al. 2006). Im synaptischen Spalt tritt Dopamin mit den postsynaptischen, G-Protein-gekoppelten Rezeptoren in

Wechselwirkung (unterer Teil der Abbildung), die sowohl postsynaptisch als auch präsynaptisch auftreten (Missale et al. 1998).

Das Dopamin-Signal wird durch die Wiederaufnahme des Dopamins in das präsynaptische Neuron oder durch Desaminierung des Moleküls durch Monoaminoxidasen zeitlich begrenzt (Förstl et al. 2006).

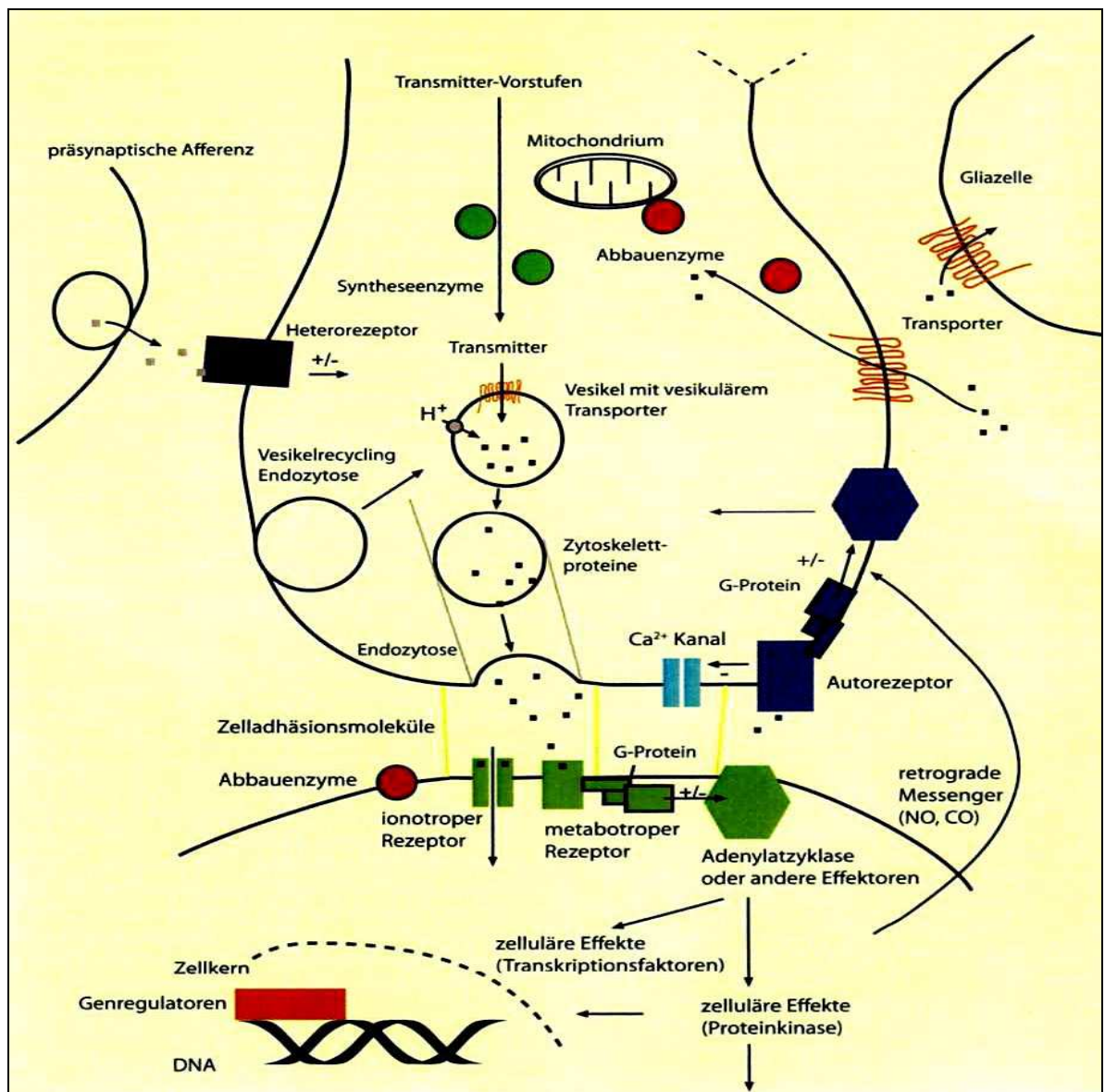


Abb. 2: Chemische Synapse (Förstl et al. 2006)

2.3.3 Das dopaminerge System

Das dopaminerge System wurde sehr eingehend untersucht, da Dysfunktionen in diesem System mit vielen Erkrankungen assoziiert sind, einschließlich

neurodegenerative Erkrankungen, Parkinson, affektive Störungen, Schizophrenie, Tourette-Syndrom und Drogenabhängigkeit (Liu 2008). Die dopaminergen Neurone entspringen dem Mesenzephalon, einem Hirnareal, in dem auch das mesolimbische System lokalisiert ist. Gebildet wird dieses System aus der Substantia Nigra (SN), dem ventralen tegmental Areal (VTA) und dem retrorubalen Feld (Teil des lateralen Tegmentums), wobei das VTA ca. 80% der dopaminergen Neurone enthält (Förstl et al. 2006).

Das dopaminerge mesolimbische System kann in drei Subsysteme unterteilt werden und zwar in das mesostriatale Dopaminsystem, das in der SN entspringt und zum dorsalen Striatum projiziert, das mesolimbische System, das dem VTA entspringt und in den Nucleus accumbens projiziert und das mesokortikale System, das ebenfalls dem VTA entspringt und den präfrontalen, zingulären und frontalen Kortex innerviert (Abb. 5).

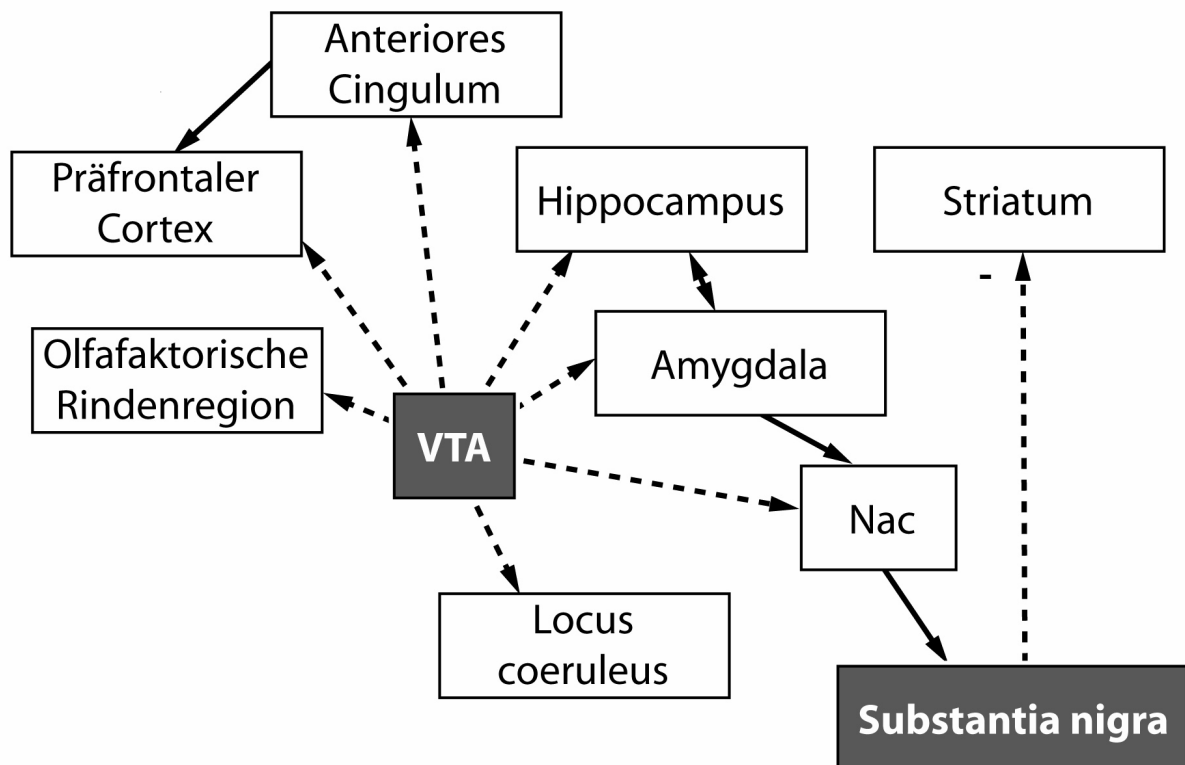


Abbildung 3: Zusammenhänge der Hirnregionen mit den dopaminergen Projektionen:

Grau = Orte der Dopamin-Produktion;

Gestrichelte Pfeile = Dopamintransmission (nach Henning und Netter 2005)

Das mesolimbische System steuert und beeinflusst kognitive und exekutive Leistungen wie Aufmerksamkeitszustände, Fehlerkontrolle, Erkennen der emotionalen Komponenten von Gestik, Mimik, Körperhaltung und Sprache, Lernen und Gedächtnisbildung sowie Problemlösen und Handlungsplanung (Förstl et al. 2006). Diese Leistungen werden gesteuert vom ventralen tegmentalen Areal (emotionales Gedächtnis), von Hippocampus (Kontextgedächtnis), von basalem Vorderhirn (Aufmerksamkeitssteuerung) und vom präfrontalen Kortex (Kognition und Exekutivfunktionen), in dem auch Dopamin eine erhöhte Penetranz zeigt (Förstl et al. 2006). Die dopaminerge Überaktivität im ventralen tegmentalen Areal wird als eine der Ursachen für die Entstehung der Schizophrenie diskutiert (Förstl et al. 2006).

2.3.4 Dopaminhypothese

Biochemische Befunde bei Erkrankten wiesen ein gestörtes Gleichgewicht in Neurotransmittersystemen auf (Rist et al. 2005). Basierend auf der Dopaminhypothese, die aufgrund weitreichender Erfahrungen mit Neuroleptika und Amphetaminen aufgestellt wurde (Fragel 2007), ging man jahrzehntelang von einer Übererregbarkeit zentralnervöser dopaminerger Strukturen aus (Carlsson 1988, Davis et al. 1991).

Dopaminrezeptoren gelten als Hauptangriffsort von Neuroleptika und deren antagonistischer Wirkung an postsynaptischen Rezeptoren, um die angenommene Überfunktion im dopaminergen System auszugleichen (Carlsson 1988, Davis et al. 1991). Im Gegensatz dazu fördern Amphetamine und Kokain die Ausschüttung von Dopamin in den synaptischen Spalt und/oder hemmen die Wiederaufnahme des Transmitters in die Präsynapse (Kapur et al. 1996). Dieser künstlich erzeugte Dopaminanstieg führt zu ähnlichen Psychosen, wie sie bei schizophrenen Patienten beobachtet werden. Dies wurde mit Hilfe von PET bestätigt (Breier et al. 1997).

Die von Carlsson (1988) und Davis et al. (1991) beschriebene dopaminerge Überaktivität gilt v.a. für das mesolimbische System, in dem sich eine ungewöhnlich hohe Anzahl an Dopaminrezeptoren fand, insbesondere von D2-Rezeptoren (Comer 2001). Der Ausgangspunkt der mesolimbischen Fasern scheint dabei das ventrale Tegmentum zu sein, das in die Amygdala, Gyrus cinguli, orbitales Frontalhirn,

Hippocampus, lateralen Hypothalamus und Nucleus accumbens projiziert (Köhler 2001).

Die Dopaminhypothese stützt sich auf die Beobachtung, dass der überwiegende Teil der (klassischen) Neuroleptika eine Dopamin-D₂-antagonistische Wirkung hat, die die Positivsymptomatik vieler Schizophrenieformen lindern können und dass durch Agonisten wie Amphetamin schizophrenieähnliche Psychosen ausgelöst werden können (Kapur et al. 1996).

Allerdings verhält sich die Konzentration von Dopamin und seinem Hauptmetaboliten, der Homovanillinsäure (HVA), in Liquor, Blutplasma und Hirngewebe widersprüchlich, da eine erhöhte dopaminerge Aktivität prinzipiell mit einer erhöhten Dopaminkonzentration einher gehen müsste (Perrez und Baumann 2005). Auch kann die Dopaminhypothese nicht erklären, warum schizophrene Patienten nicht nur eine Positiv-Symptomatik aufweisen, sondern auch negative Symptome zeigen.

So wurde eine revidierte Dopaminhypothese entwickelt, die nicht mehr von einem generellen Dopaminüberangebot ausging, sondern ein gestörtes Gleichgewicht zwischen kortikalen und subkortikalen Systemen postulierte.

Ein Erklärungsversuch ging davon aus, dass durch eine Hyperaktivität des mesolimbischen Dopaminsystems die positive Symptomatik entsteht, während die dopaminerge Hypoaktivität im präfrontalen Kortex mit schizophrener Negativsymptomatik einhergeht (Davis et al. 1991).

Des Weiteren wurde von einer erhöhten Dichte der D₂-Rezeptoren bei schizophrenen Patienten in den mesolimbischen Strukturen ausgegangen, wobei auch D₃- und D₄-Rezeptoren eine Rolle spielen (Seeman et al. 1993).

Hemmende D₂-Rezeptoren finden sich vor allem im ventralen Striatum, seltener in limbischen Regionen, in denen eher D₁- und D₄-Rezeptoren vorkommen. Da auch eine erhöhte bzw. reduzierte Synthese und Freisetzung von Dopamin für möglich gehalten wird (Pritzel et al. 2003), könnten vermehrte D₂-Rezeptoren im Bereich der Basalganglien die erhöhte Dopaminsynthese kompensieren. So könnte es durch eine geringere D₂-Dichte im Neokortex und im limbischen System zu einer erhöhten Aktivität der D₁-Rezeptoren und gleichzeitig zu einer erhöhten Dopaminsynthese kommen, was wiederum mit der Hypothese von Pritzel et al. übereinstimmt.

Später untersuchte regionale Unterschiede in zerebralen Strukturen sollen das dopaminerge System sowohl aktivieren als auch blockieren können und deshalb sowohl Positiv- als auch Negativsymptomatiken auslösen können (Perrez und Baumann 2005).

2.3.5 Andere Neurotransmitter-Hypothesen

Störungen in den serotonergen und histaminergen Transmittersystemen werden ebenfalls als mögliche Verursacher der Schizophrenie genannt. Diese Beobachtung stützt sich auf die Wirksamkeit von atypischen Neuroleptika, die beispielsweise an H₁- oder 5-HT_{2A}-Rezeptoren eine verminderte Wirkung entfalten sollen (Burnet et al. 1997, Harrison 1999, Raymond et al. 2001, Tauscher et al. 2002, East et al. 2002). Bei Lern- und Gedächtnisprozessen spielen diese Systeme ebenfalls eine wichtige Rolle (Passani und Blandina 1998, Eguiagaray 2004, Gülpinar und Yegen 2004). Dere et al. zeigten die Relevanz dieser Neurotransmitter im episodischen und prozeduralen Gedächtnis für Alzheimer- und Parkinsonpatienten in Studien mit *knockout* Mäusen (Dere et al. 2008). Die Wirkung von Antidementiva setzt ebenfalls an histaminergen-, serotonergen-, GABAergen, Glutamatergen und anderen Neurotransmittersystemen an. Diese Medikamente wurden ebenfalls auf der Basis der Kenntnisse über kognitive Defizite, Lernen und Gedächtnis entwickelt und weiterentwickelt (Vornin und Seredenin 2007). Auch das glutamaterge System, welches eng an das dopaminerge System gekoppelt ist, so wie Hormone und Botenstoffe (z.B. Sexualhormone und Östrogen), werden als Ursache der Erkrankung diskutiert (Olney und Farber 1995, Carlsson et al. 1999).

2.4 Genetik der Schizophrenie

2.4.1 Grundlagen zu Genetik

2.4.1.1 Genetische (Basenaustausch-) Polymorphismen: SNPs

Über 99 Prozent der DNA- Sequenz des menschlichen Genoms ist bei allen Menschen gleich und deswegen für die Erforschung individueller Unterschiede beispielsweise bei der Kognition oder bei den Zusammenhängen mit Schizophrenie irrelevant. Die wenigen Varianten in der Basenpaarung der DNA finden sich in einzelnen Allelen, wenn beispielsweise eine Nukleinsäure durch eine andere ersetzt wird. Durch diese Allelvarianten oder Basenaustausch-Polymorphismen, kurz SNPs (engl. „Single Nucleotide Polymorphisms“) genannt, kann auch das von diesem Gen kodierte Protein verändert werden. Solche SNPs treten ca. einmal pro 1000 Basenpaaren auf, so dass ein Anteil von ungefähr 1,8 Millionen SNPs vermutet wird, von denen jedoch nur 5-10% vermutlich mit Krankheiten assoziiert sind (Plomin et al. 2001, Kim und Misra 2007).

Ein Beispiel für eine Krankheit, die mit einem bestimmten Einzelnukleotidpolymorphismus assoziiert ist, ist die nächtliche Frontallappen-Epilepsie (Okada 2010). Diese autosomal-dominant vererbte Erkrankung wird durch Mutationen des CHRNA4, CHRNA2, oder CHRNB2 Gens verursacht, das die alpha4, beta2 oder alpha2 Untereinheit des neuronalen nikotinergen Acetylcholinrezeptors kodiert (Okada 2010). Durch eine Insertion in das CHRNA4 Gen kommt es zu einer herabgesetzten Permeabilität der Rezeptoruntereinheit für Kalzium, was die Affinität des Rezeptors für Acetylcholin erhöht und so zu einer gestörten Elektrophysiologie des Gehirns führt (Okada 2010).

Dieses Beispiel zeigt, dass ein SNP neuronale Prozesse derart beeinflussen kann, dass entscheidende kortikale Funktionen gestört werden. Dabei können SNPs von Rezeptorebene, über ganze neuronale Transmissionssysteme, bis hin zu Auswirkungen auf das gesamte Gehirn durch Beeinflussung der neuronalen Funktionsfähigkeit Einfluss nehmen.

2.4.2 Kopplungsanalysen

In genetischen Kopplungsanalysen und Assoziationsstudien wurde eine sehr große Anzahl an Genloci auf verschiedensten Chromosomen mit sehr unterschiedlichem Erfolg untersucht. Derzeit wird eine multifaktoriell-polygene Übertragung zahlreicher Gene angenommen. Durch Kopplungsstudien konnten Assoziationen mit Schizophrenie auf den Chromosomen 1, 3, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 18, 19 und 22 identifiziert werden (Lewis et al. 2003 und National Center for Biotechnology Information/ Online Mendelian Inheritance in Man 2009).

Mit Hilfe von Kopplungsanalysen konnten bis heute zwar eine Reihe von chromosomalen Regionen, die mit der Diagnose Schizophrenie verknüpft zu sein scheinen, auf verschiedenen Chromosomen festgestellt werden, jedoch mit unterschiedlichen Ergebnissen (Hovotta et al. 1998, Kendler et al. 2000, Maziade et al. 2001, Kohn und Lerer 2002, Sklar 2002, Lerer et al. 2003, Ng 2008, Holmans et al. 2009, Holliday et al. 2009).

Die Ergebnisse in Tabellenform von Sklar et al. werden hier beispielhaft dargestellt (Sklar et al. 2002, Tab.1). Dabei fanden sich aussagekräftige Resultate auf 1p, 8p, and 13q, mit Reproduzierbarkeit in unabhängigen Stichproben:

Tabelle 1: **Zusammenfassung der signifikantesten Kopplungssignale in der Schizophrenie** (nach Sklar et al. 2002)

“Summary of most significant linkage findings in schizophrenia”

Chromosome	Reference	Families (n)	Most significant	Multiple models	Replicated ²	Encouraging data in
			evidence for linkage ¹ lod or NPL value	genetic + phenotypic >2		same region ³ less than two studies within 10 Mb
1q21-22	22	22	6.5	Yes	Yes	Yes
6p22-24	164	265	3.51	Yes	Yes	Yes
6q21-22	106	734	3.10 (0.0036)	No	No	Yes
8p21	21	54	4.54	Yes	Yes	Yes
10p11-15	60	43	3.36 (0.0004)	No	No	Yes
13q32	21	54	4.18 (0.00002)	Yes	Yes	Yes
22q11-13	155	70	2.16	Yes	No	No

¹In cases where the same family sample was utilized in multiple reports, the linkage results for the study with the largest sample size is represented.

²Significant linkage in one study and replicated ($p > 0.01$) in independent sample.

³Original study and at least one additional study in an independent sample with suggestive evidence for linkage.

In einer genomweiten Kopplungsanalyse fand sich 2009 auch bei Holmans et al. der Hinweis auf Kopplung von Schizophrenie in europäischen Familien mit den Chromosomen 8p21, 8q24.1, 9q34 und 12q24.1, sowie signifikante Hinweise für eine Kopplung auf Chromosom 10p12 und 22q11.1. Hinweise für eine Kopplung zeigten sich jedoch am konsistentesten auf Chromosom 8p21 - ein Hinweis, dass ein oder mehrere Suszeptibilitätsloci in dieser Region existieren könnten (Holmans et al. 2009).

In Kopplungsanalysen ist der LOD Score, *Logarithm of Odds Score* eine statistische Kenngröße bei der Identifizierung von Chromosomenabschnitten, welche die Ausprägung eines bestimmten quantitativen Merkmals beeinflusst, bzw. zur statistischen Abschätzung der Wahrscheinlichkeit, ob zwei Loci (Genorte) auf demselben Chromosom nah beieinander liegen und somit gekoppelt vererbt werden. Ist der LOD-Score größer 3 bedeutet dies einen Indikator für eine Genkopplung.

Kopplungsanalysen lassen die Überprüfung einer überzufällig häufigen Assoziation eines Merkmales (Phänotypus) mit einem genetischen Marker über viele Generationen hinweg zu. Dies geschieht anhand eines Familienstammbaumes und mit einem Marker dessen chromosomale Position bekannt ist. So können Genom-Scans durchgeführt werden, in denen mit einer relativ geringen Zahl von DNA-Markern (ca. 300-400) das gesamte Genom eines Individuums systematisch gescreent werden kann (Förstl et al. 2006).

Die Schwäche dieser Methode liegt in der geringen Teststärke, da bei Schizophrenie und Kognition nicht ein einzelnes Gen einen Großteil der Varianz aufklären kann, wie es bei Merkmalen, die nach den klassischen Mendelschen Gesetzen vererbt werden, der Fall ist.

Frühe Kopplungsstudien basierten auf wenigen Familien mit mannigfaltig betroffenen Individuen, wobei bald erkannt wurde, dass für repräsentative Ergebnisse größere Stammbäume nötig sind, auch wenn die Penetranz der untersuchten Allele evt. nicht sehr hoch ist, da der Einfluss dieser Allele trotzdem ein zwei- oder sogar dreifaches Erkrankungsrisiko darstellen kann (Williams et al. 2003, Suarez et al. 2006, Holmans et al. 2009). Enttäuschenderweise wurden mehrere Kopplungen bei genomweiten Signifikanzleveln beobachtet, die nicht konsistent reproduziert werden konnten

(Owen et al. 2005). Andererseits wurde bei Ng et al. über eine Metaanalyse mit 32 Kopplungsstudien und zusammengefasst 7476 Genotypfällen berichtet, die unerwartet viele signifikante Kopplungen aufzeigte (Ng et al. 2008). Dieses Übermaß an Kopplungssignalen könnte die Existenz für große aber kumulativ betrachtet ungewöhnliche bzw. seltene Effekte reflektieren.

2.4.3 Assoziationsstudien

Die quantitative Genetik wird durch Assoziationsstudien ergänzt, die als Fall-Kontrollstudien entworfen werden. Mit ihnen wird untersucht, ob ein Genpolymorphismus signifikant häufiger bei Patienten im Vergleich zu Kontrollprobanden auftritt. Methodisch weisen Assoziationsanalysen eine hohe Sensitivität, aber nur eine geringe Spezifität auf (Förstl et al. 2006).

Verglichen mit Kopplungsanalysen, können durch Assoziationsstudien Allele mit schwachen Effekten besser ermittelt werden (Williams et al. 2009). Da Assoziationsstudien bis zur Entwicklung der genomweiten Assoziationsstudien (GWA) mittels Assaytechnologie keine großen genomischen Segmente abdecken können, musste der Fokus auf eine spezifische Hypothese gesetzt werden, wie üblicherweise auf ein funktionelles Kandidatengen welches beispielsweise als relevant bei der Entstehung einer bestimmten Erkrankung postuliert wurde (Williams et al. 2009). Eine sehr gut entwickelte Einrichtung bezüglich Assoziationsinformationen von Kandidatengenen ist die frei zugängliche Datenbank „Schizophrenia Research Forum“ (<http://www.schizophreniaforum.org/>) (Allen et al. 2008).

Ein anderer wichtiger Assoziationsansatz ist die vorrangige Suche von Genabschnitten in mutmaßlichen Kopplungsregionen, auch bezeichnet als positioneller Kandidatengen Ansatz, der erfolgreicher zu sein scheint als der funktionelle Kandidatengen Ansatz (Williams et al. 2009). Am besten untersucht sind dabei zur Zeit Neuregulin 1 (NRG1), Dystrobrevin-Bindungs Protein 1 (DTNBP1) und D-Aminosäureoxidasen Inhibitor (DAOA) (Owen et al. 2005, Ross et al. 2006, Williams et al. 2009).

Genomweite Assoziationsstudien dagegen werden häufig genutzt, um komplexe Erkrankungen zu untersuchen, da sie die Vorteile der Assoziation (Fähigkeit auch kleinere Effekte zu detektieren) sowie die der Kopplung (keine Notwendigkeit einer spezifischen Kenntnis der Pathogenese) einbeziehen.

Durch die Molekulargenetik wurde die quantitative Genetik erweitert, so dass genetische Variationen auch quantitativ interpretiert werden können (Plomin und Spinath 2004). Dabei sollen nicht einzelne Gene für eine komplexe Erkrankung oder ein Konstrukt gefunden werden, sondern QTL-Gene (*Quantitative Trait Loci*) in einem genetisch multiplen System, die zusammen einen großen Anteil der Varianz des *Traits* aufklären können (Plomin und Spinath 2004).

2.4.4 “Hot Candidates”

Die Bedeutung der Gene in der Chromosom 8p Region für neuropsychiatrische Störungen, ist wie oben beschrieben, mehrfach gezeigt worden (Sklar et al. 2002, Holmans et al. 2009). Es gibt bisher 484 analysierte Gene, die auf 8p lokalisiert sind und von denen die meisten höchstwahrscheinlich Onkogene und Tumorsuppressorgene sind (Tabare´s-Seisdedos und Rubenstein 2009). Molekulargenetische Studien und Entwicklungsstudien identifizierten in dieser Region 21 Gene, die offenbar einen sehr großen Anteil an der Entwicklung von neuropsychiatrischen Störungen (Schizophrenie, Autismus, Bipolare Störungen und Depression), neurodegenerativen Störungen (M. Alzheimer, M. Parkinson) und Karzinomen haben: ADRA1A, ARHGEF10, CHRNA2, CHRNA6, CHRN3, DKK4, DPYSL2, EGR3, FGF17, FGF20, FGFR1, FZD3, LDL, NAT2, NEF3, NRG1, PCM1, PLAT, PPP3CC, SFRP1 und VMAT1/SLC18A1 (Tabare´s-Seisdedos und Rubenstein 2009).

Weiterhin können auch strukturelle Variationen auf 8p, wie Genkopie-Polymorphismen, Mikrodeletionen oder Mikroduplikationen zur Entwicklung von Autismus, Schizophrenie und anderen Erkrankungen einschließlich Karzinomen führen (Tabare´s-Seisdedos und Rubenstein 2009).

2 - Einleitung

Die zurzeit interessantesten, bzw. am besten untersuchten Kandidatengene für Schizophrenie auf Chromosom 8 sind in der folgenden Abbildung (Abb.2) grau hinterlegt, bzw. gelb markiert (SZGene database 2009):

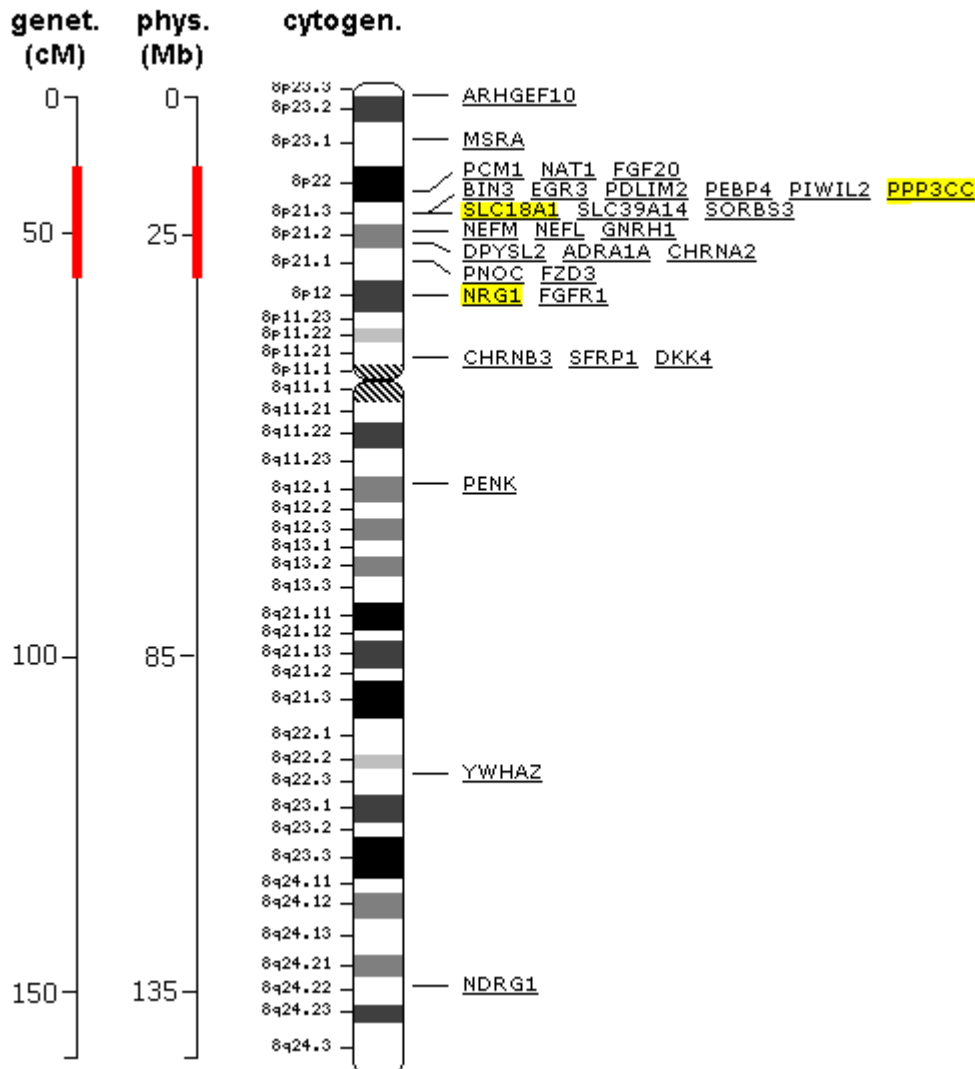


Abbildung 4: **Chromosom 8 - Lokalisation publizierter Kandidatengene für Schizophrenie**

— Implied Schizophrenia Linkage Region (Summary of Linkage Studies)

2.4.5 Adoptions- und Zwillingsstudien

Genetische Faktoren erklären nur ca. 60% der Varianz in der Entstehung schizophrener Erkrankungen (Cannon et al. 1998, McGue und Gottesman 1991). Dies bestätigt sich in Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien (Williams et al. 1999, Möller et al. 2005). Je enger dabei die Verwandtschaft mit einem Schizophreniekranken ist, desto wahrscheinlicher scheint auch eine eigene

2 - Einleitung

Erkrankung zu werden (siehe Tab. 2). Bei eineiigen Zwillingen liegt die Konkordanzrate bei ca. 45%, was in etwa dem Lebenszeitrisko für Kinder entspricht, deren Eltern beide an Schizophrenie erkrankt sind. Bei zweieiigen Zwillingen liegt die Konkordanzrate bei 20 % und bei Kindern mit nur einem erkrankten Elternteil liegt das Lebenszeitrisko bei 10% (Möller et al. 2005).

Die Ergebnisse von Zwillingsstudien lassen somit eine genetische Mitbeteiligung bei der Entstehung der Krankheit erkennen, jedoch lässt die Konkordanzrate homozygoter Zwillinge auf weitere Entstehungsbedingungen der Schizophrenie schließen, da bei ausschließlicher Erbbedingtheit eine vollständige Penetranz (100 %) zu erwarten wäre. Daher wird heute von einem Vulnerabilitäts-Stress-Modell ausgegangen, bei dem eine genetisch angelegte, durch neuropathologische und biochemische Veränderungen im Gehirn früh erworbene Krankheitsdisposition unter dem Einfluss verschiedener Stressoren über verschiedene Zwischenstufen zur akuten Krankheitsmanifestation führt (Roche Lexikon Medizin 1998). Dieses Modell beschreibt das Zusammenspiel von Genetik mit anderen „Stressoren“ die gemeinsam zur Krankheit Schizophrenie führen.

Tab.2: **Durchschnittliches Erkrankungsrisiko für Schizophrenie** (nach Comer 2001):

	Indexpatient(en)	Lebenszeitrisko
Angehörige I. Grades	Beide Eltern erkrankt, bzw. eineiige Zwillinge	45%
	Zweieiige Zwillinge	20%
	Ein Elternteil erkrankt, bzw. Geschwister erkrankt	5-10%
Angehörige II. Grades	Onkel/Tante, Nichte/Neffe, Enkel	< 5%
Angehörige III. Grades	Vettern, Ehegatten, Allgemeinbevölkerung	1-2%

Für eine polygene Vererbung spricht auch, dass familiäre Schizophrenie nicht die Regel ist: 80% der Patienten haben keine erkrankten Eltern oder Geschwister, 60% keine Angehörigen I. und II. Grades (Perrez und Baumann 2005).

Um genetische und so genannte soziale Vererbung zu differenzieren, wurde in Adoptionsstudien gezeigt, dass adoptierte Kinder eine Schizophrenie entwickelten, mehr schizophrene Blutsverwandte haben als nicht-schizophrene Adoptivkinder und dass das Erkrankungsrisiko für Kinder schizophrener Eltern, die in einer gesunden Adoptivfamilie aufwachsen, deutlich höher liegt, als für Kinder nicht-schizophrener Eltern, die in einer kranken Adoptivfamilie aufwachsen (Carter et al. 2002). 26% der Varianz konnte in solchen Adoptionsstudien durch die Interaktion zwischen genetischer Belastung und belastenden Umweltbedingungen vor der Erkrankung aufgeklärt werden (Carter et al. 2002).

2.5 PNOG (Prepronozipeptin)

2.5.1 Genstruktur und Polymorphismus

Die Mehrheit der Metaanalysen über Schizophrenie-Genom-Erfassungen, zeigten signifikante Nachweise für Kopplungen mit einer ganzen Anzahl chromosomaler Regionen (Lewis et al. 2003). In einigen dieser Regionen wurden Kandidatengene, bzw. Suszeptibilitätsgene identifiziert, für die über nachweisliche Assoziationen mit Schizophrenie berichtet wurde und die eine Prädisposition für die Erkrankung darstellen (Craddock et al. 2005).

Die Bedeutung der Gene in der Chromosom 8p Region für neuropsychiatrische Störungen ist mehrfach nachgewiesen worden (Sklar et al. 2002, Holmans et al. 2009). Von den mehr als 480 analysierten Genen auf 8p, sind die meisten höchstwahrscheinlich Onkogene und Tumorsuppressorgene (Tabare's-Seisdedos und Rubenstein 2009). Im Ergebnis unterstützten die vorliegenden Studien einen Schizophrenie-Prädispositionsort auf Chromosom 8p21: Blouin et al. identifizierten auf Chromosom 8 durch Kopplungsstudien ein Prädispositionsort für Schizophrenie, was u.a. durch Blaveri et al. bestätigt werden konnte (Blouin et al. 1998, Blavari et al. 2001). Andererseits fanden Hovotta et al. und Bailer et al. keine signifikanten Beweise für eine Kopplung zu 8p (Hovotta et al. 1998, Bailer et al. 2002). Dabei muss der unterschiedliche Aufbau der Studien und die Art der verwendeten

Methoden beachtet werden. So wurde beispielsweise bei Bailer et al. lediglich eine kleine, isolierte Population untersucht (Bailer et al. 2002).

Kendler et al. fanden in groß angelegten Studien Assoziationen zwischen 8p22-21 und mehreren klinischen Schizophreniemerkmalen bei 265 betroffenen Familien (Kendler et al. 1999 und 2000). Auf das Chromosom 8p21 als potentiellen Platz für Prädispositionsgene für Schizophrenie wiesen auch Pulver et al. hin (Pulver et al. 1995 und Pulver 2000). Weiterhin zeigten Chiu et al., dass eine Veranlagung für Schizophrenie in einigen Familien mit der 8p21 Region assoziiert zu sein scheint (Chiu et al. 2002). Suarez et al. suchten ebenfalls mittels eines vollständigen und genomweiten Kopplungs-Screenings nach Suszeptibilitätsorten für Schizophrenie (Suarez et al. 2006). Sie konnten einen signifikanten Kopplungspeak auf Chromosom 8 zeigen und fanden einen erneuten Beweis für eine Verbindung u.a. zu Chromosom 8p23.3-p21.2.

Im Genlocus 8p21, dem kurzen Arm von Chromosom 8, ist auch das PNOC-Gen lokalisiert (siehe folgende Abb. 5, Mollereau et al. 1996), was Gurling et al. und O'Donovan et al. erneut bestätigten (Gurling et al. 2001, O'Donovan et al. 2003).

Der Aufbau des PNOC-Gens zeigt strukturelle Ähnlichkeit zu Vorläuferproteinen der traditionellen endogenen Opiatpeptide Enkephalin (Preproenkephalin: PPENK), Dynorphin/Neo-Endorphin (Preprodynorphin: PPDYN) und β -Endorphin (Preproopiomelanocortin: PPOMC). Dies lässt die Zugehörigkeit der vier Gene zur gleichen Familie, bzw. einen gleichen evolutionären Ursprung vermuten (Mollereau et al. 1996).

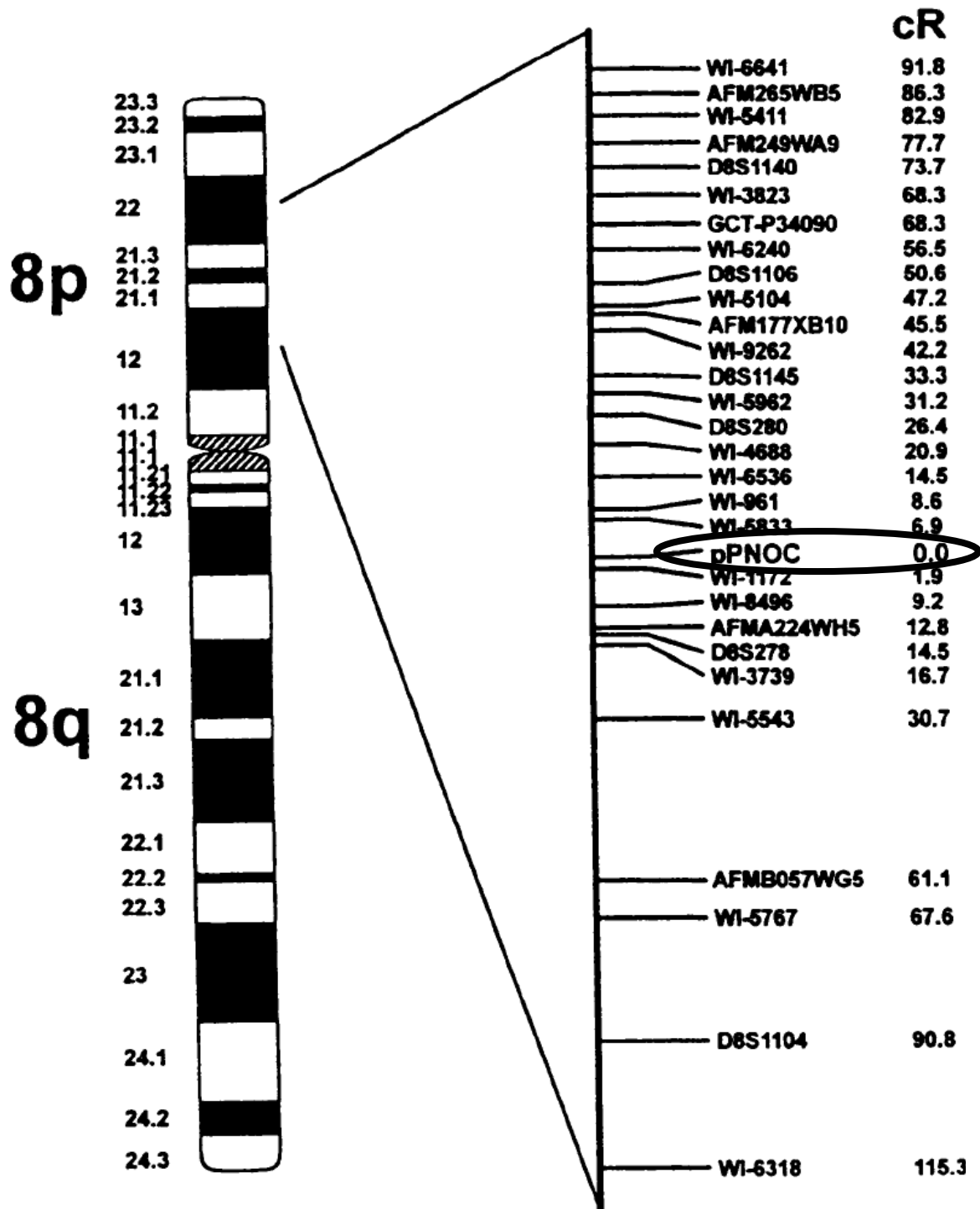


Abb. 5: Darstellung des menschlichen Chromosoms 8 und der physischen Karte seines kurzen Armes, in Nachbarschaft des PNOC-Gens. Die Abstände sind unter cR dargestellt, beginnend vom PNOC Abschnitt auf beiden Seiten (NCBI 2010)

Das menschliche PNOC-Gen besteht aus 4 Exons. Exon I beinhaltet die 5' nicht translatierte Region, Exons II und III teilen sich ein offenes Leseraster und Exon IV beinhaltet die 3' nicht translatierte Region (siehe Abb. 6, Mollereau et al. 1996, Zaveri et al. 2006).

2 - Einleitung

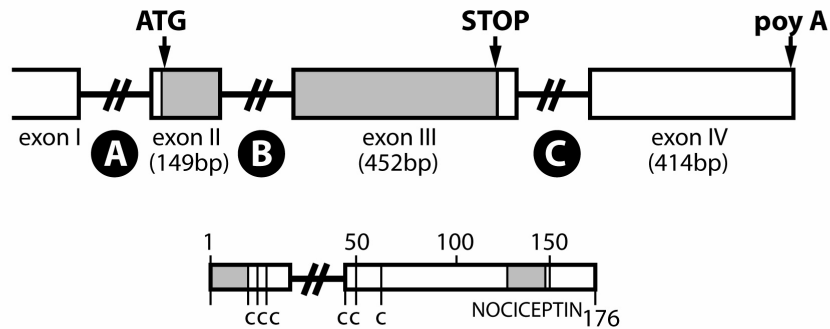


Abb. 6: **Oben: Genereller Aufbau des PNOC-Gens.** Das PNOC-Gen besteht aus 4 Exon (nummeriert mit I bis IV) zwischen denen sich je ein Intron befindet (A, B und C). Die schraffierten Boxen entsprechen den kodierenden Regionen. ATG, STOP, und poly A stellen den Transkriptionsstart- und Stopppunkt dar, sowie die Polyadenylierungsseite. **Unten: Translatierte Region des menschlichen PNOC.** Die Boxen zeigen die kodierenden Regionen, die unterbrochene Linie markiert ein Intron (nach Mollereau 1996).

2.5.2 Präkursor Nozizeptin/Orphanin FQ (PNOC)

Das Vorläuferprotein Nozizeptin, bzw. Orphanin FQ wird von dem Gen Prepronozizeptin (PNOC) kodiert (Abb. 7). Dieses Neuropeptid, das über das gesamte zentrale Nervensystem exprimiert ist, trägt beide Bezeichnungen, da es zeitgleich von zwei Forschergruppen entdeckt wurde (Reinscheid 2006).

Neuropeptide sind Bestandteile langer Vorläufermoleküle (Präkursor), die einerseits durch Präkursorgene und zum anderen durch eine anschließende gewebsspezifische Prozessierung der Genprodukte aktiviert werden können (Hanser 2000). Weitere Regulationen der mRNA-Expression der Neuropeptide folgen, beispielsweise über cAMP, neurotrophe Faktoren, oder über die Depolarisation der intrazellulären cAMP-Konzentrationen (Zaveri et al. 2000).

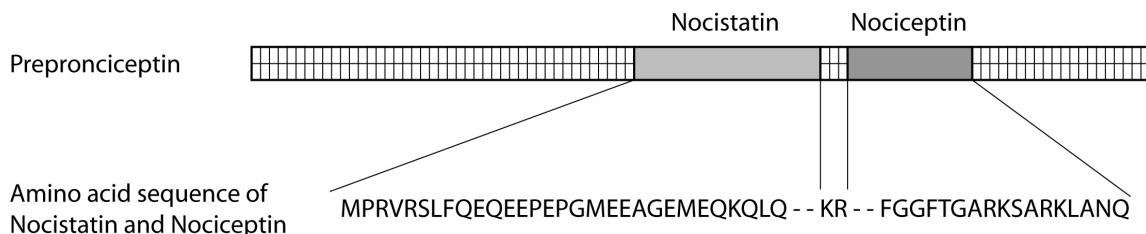


Abb. 7: **Struktur von Prepronozizeptin** - die Aminosäuresequenzen von Nozistatin und Nozizeptin/Orphanin FQ im Prepronozizeptin-Gen (nach Imai et al. 2001).

2.5.3 Struktur von Nozizeptin

Nozizeptin hat die Aminosäuresequenz: Phenylalanin-Glycin-Glycin-Phenylalanin-Threonin-Glycin-Alanin-Arginin-Lysin-Serin-Alanin-Arginin-Lysin-Leucin-Alanin-Asparagin-Glutamin (Phe-Gly-Gly-Phe-Thr-Gly-Ala-Arg-Lys-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Ala-Asn-Gln) (Nothacker et al. 1996). Die molekulare Masse des Heptadecapeptids Nozizeptin beträgt $1,810 \text{ g}\cdot\text{Mol}^{-1}$ und die mRNA von Nozizeptin, geschätzt über die Northern Blot Analyse, beträgt ca. 1.2-1.3 kb (Meunier et al. 1995, Zaveri et al. 2000).

2.5.4 Expression und Funktion von Nozizeptin

Nozizeptin/Orphanin FQ hat im menschlichen Gehirn eine hohe Aktivität im zerebralen Kortex, projizierenden Arealen des mesolimbischen und mesokortikalen Systems, im Hippocampus, im Kleinhirn und im Striatum (Norton et al. 2002, Berthele et al. 2003). Die mRNA von Nozizeptin ist sowohl im ventral tegmental Areal (VTA) als auch in der Substantia Nigra (SN) exprimiert (Norton et al. 2002). Fiset et al. zeigten, dass neutrophile Granulozyten (weiße Blutzellen) eine Quelle für Nociceptin darstellen (Fiset et al. 2003).

Nozizeptin spielt eine große Rolle in verschiedenen Hirnfunktionen, wodurch Verhaltensprozesse beeinflusst werden (Darland et al. 1998). Durch die Lokalisation des Nozizeptin/Orphanin FQ Rezeptors auf dopaminergen Neuronen ist das Peptid in der Lage dopaminerge neuronale Aktivität zu beeinflussen (Mamiya et al. 1998, Norton et al. 2002). Es greift also in die Neurotransmission ein (Reinscheid 2006) und inhibiert beispielsweise die Neuronen des Locus coeruleus - die Quelle von Noradrenalin (Di Giannuario und Pieretti 2000). Des Weiteren hemmt es die Noradrenalinausschüttung im Kortex, im Zerebellum, in hippocampalen und in hypothalamischen Strukturen (Reinscheid 2006). Nozizeptin verringert auch den Serotonin (5-HT)-Einfluss im ZNS (Tao et al. 2007) und im Kortex (Di Giannuario und Pieretti 2000), indem es u.a. im dorsalen Raphekern (der Quelle von Serotonin) die Kalium-Leitfähigkeit erhöht. Es verringert die Ausschüttung von Glutamat in Neuronen der Amygdala und des Zerebellums (Reinscheid 2006). Nach Injektion von Nozizeptin wurden auch Neurone der Amygdala hyperpolarisiert und die Acetylcholin-Ausschüttung inhibiert (Di Giannuario und Pieretti 2000).

Damit spielt Nozizeptin u.a. eine Rolle bei Schmerz, Lernen, Gedächtnis, Angst, auditorischer Wahrnehmung, neuroendokriner Kontrolle, Schlaf und neuronaler Entwicklung (Blaveri et al. 2001), wobei das im PNOC-Gen benachbarte Nozistatin eine antagonistische Wirkung bzgl. Lern- und Gedächtnisprozessen zeigt (Okuda-Ashitaka und Ito 2000). So konnte beispielsweise nachgewiesen werden, dass eine Dysregulation von Nozizeptin räumliches Lernen behindert und exploratorisches Verhalten verschlechtern kann (Sandin et al. 1997, Mamiya et al. 1998). Zudem spielt Nozizeptin eine große Rolle bei der Regulation von Arousal und Aufmerksamkeit (Darland et al. 1998). Die Verabreichung von Nozizeptin reduziert die Schmerzwahrnehmung (Nozizeption), verstärkt die Nahrungsaufnahme, aktiviert die neuroendokrine Antwort auf Stress, verschlechtert die motorische Koordination, verändert die Lokomotion und beeinflusst Lern- und Gedächtnisprozesse (Di Giannuario und Pieretti 2000).

2.5.5 Nozizeptin und der Opiatrezeptor-ähnliche Rezeptor ORL-1

Die Bindung und Wirkung von Nozizeptin an ORL-1, einem G-Protein gekoppelten Opiatrezeptor-ähnlichen Rezeptor, führte wahrscheinlich mit zur Namensgebung des Peptids (Nozizeption=Schmerzempfindung). Trotz Opiatrezeptorähnlichkeit binden Opiate hier nur mit geringer Affinität (Darland et al. 1998). Gehirn-*Mapping*-Studien stützten diesen Unterschied zu klassischen Opiatrezeptoren, da sie auch eine andere neuroanatomische Verteilung von Opiatpeptiden und -rezeptoren nachwiesen (Ciccocioppo et al. 2000). Jedoch zeigt nicht nur der Aufbau des PNOC-Gens strukturelle Ähnlichkeit zu Vorläuferproteinen der traditionellen Opiatpeptide (Mollereau et al. 1996), sondern das beschriebene ORL-1-System und damit Nozizeptin hat auch die gleichen Effekte wie die Opiatrezeptoren: Aktivierung führt zu Blockierung von Adenylatzyklase und Calcium-Kanälen, sowie erhöhter Leitfähigkeit von Kalium-Kanälen (Mollereau et al. 1994, Narayanan et al. 2004).

2.5.6 Nozizeptin und Dopamin

Opiate können durch Inhibition hemmender GABAerger Neurone die Aktivität der nigrostriatalen und mesolimbischen dopaminergen Neurone modulieren (Narayanan et al. 2004). Es wird vermutet, dass Nozizeptin ähnlich inhibitorisch wirkt, da Nozizeptin und das Opiat Dynorphin A sehr ähnliche Funktionsweisen zeigen (Di Giannuario und Pieretti 2000). Auch die Dichte der mRNA von ORL-1, dem Liganden von Nozizeptin, ist im ventralen tegmental Areal (VTA) und in der Substantia nigra mit 80-85% sehr hoch (Norton et al. 2002). Über Aktivierung von ORL-1 findet eine direkte Hemmung dopaminerg neuronaler Aktivität an den Zellkörpern statt (Norton et al. 2002). So reduziert Nozizeptin im Nucleus accumbens über das VTA die Dopaminausschüttung (Narayanan et al. 2004) und hat auch eine direkte Wirkung auf Hypothalamus und Amygdala (Bonnet und Gastpar 1999). Damit kann Nozizeptin auch die durch Morphin induzierte Erhöhung der extrazellulären, intrazerebroventrikulären Dopaminmenge verringern (Di Giannuario und Pieretti 2000). Jedoch führt die Injektion von Nozizeptin in das Striatum interessanterweise zu einer Erhöhung des extrazellulären Dopamins (Norton et al. 2002, Narayanan et al. 2004).

Auch auf Prolaktin, welches die Synthese von Dopamin stimuliert und die Dichte von Dopaminrezeptoren erhöht (Hanser 2000), haben Nozizeptin und ORL-1 einen Einfluss (Shieh und Pan 2001, Norton et al. 2002). Die Prolaktin-Sekretion wird erhöht, indem Nozizeptin die Neuronen im Nucleus arcuatus hyperpolarisiert und damit die Dopaminausschüttung in der Hypophyse inhibiert (Shieh und Pan 2001).

Demnach beeinflusst Nozizeptin das dopaminerge System wohl auf vielfältige Weise, u.a. auch in mesenzephalischen Strukturen, was wiederum Auswirkungen auf die dopaminerge Transmission im präfrontalen Kortex haben könnte.

2.5.7 Nozizeptin und kognitive Fähigkeiten

Schon lange ist bekannt, dass die mRNA von ORL-1 in kortikalen und limbischen Regionen im Gehirn exprimiert ist, was Hinweise gab auf die wichtige Rolle von ORL-1 an kognitiven, mnestischen und Aufmerksamkeitsprozessen und der Beteiligung von Nozizeptin an der Regulation von Lernen und Gedächtnis (Mamiya et al. 1998,

Higgins et al. 2002). So zeigten Nozizeptin *Knockout*-Mäuse u.a. bessere Gedächtnisfunktionen in der *passive avoidance task* (Langzeitgedächtnis: Enkodierung, Konsolidierung, Erinnern/Abruf, Vergessen) als Wildtyp-Mäuse (Noda et al. 2000). Eine Regulation der Lern- und Gedächtnisprozesse im Hippocampus durch Nozizeptin wurde schon 1999 durch Wie und Xie beschrieben, die zeigten, dass Nozizeptin Veränderungen in der synaptischen Plastizität bidirektional im Hippocampus inhibieren kann (Wei und Xie 1999). Nozistatin als Gegenspieler zu Nozizeptin kann wohl dessen synaptische Transmissionsinhibition aufheben und spielt damit ebenfalls eine wichtige Rolle in der synaptischen Modulation bei Lern- und Gedächtnisprozessen (Hiramatsu und Inoue 1999, Mogil und Pasternak 2001). Gesichert ist, dass ORL-1 sowohl auf das Kurzzeit- als auch auf das Langzeitgedächtnis einen beträchtlichen Einfluss hat (Noda et al. 2000, Okuda-Ashitaka und Ito 2000).

2.6 Intermediäre (Endo-)Phänotypen

Die Schizophrenie ist als komplexe Erkrankung ein Resultat aus einer Vielzahl von zum Teil wechselwirkender Faktoren. Schon 1966 wurde, um einen klareren Zusammenhang zur genetischen Ebene herzustellen, das Konzept der Endophänotypen beschrieben, die biochemisch oder mikroskopisch abbildbare biologische Charakteristika darstellen und sich zwischen diesen beiden Ebenen bewegen sollten (John und Lewis 1966, Gottesman und Shields 1973). Während der Begriff Genotyp molekularbiologisch messbare Parameter des Erbgutes darstellt, ist der Phänotyp die anschauliche Charakteristik eines Organismus, die sich aus der Interaktion von Genom und Umweltbedingungen ergeben. Epigenetische Faktoren können die Entwicklung von Phänotypen modifizieren (Gallinat 2005).

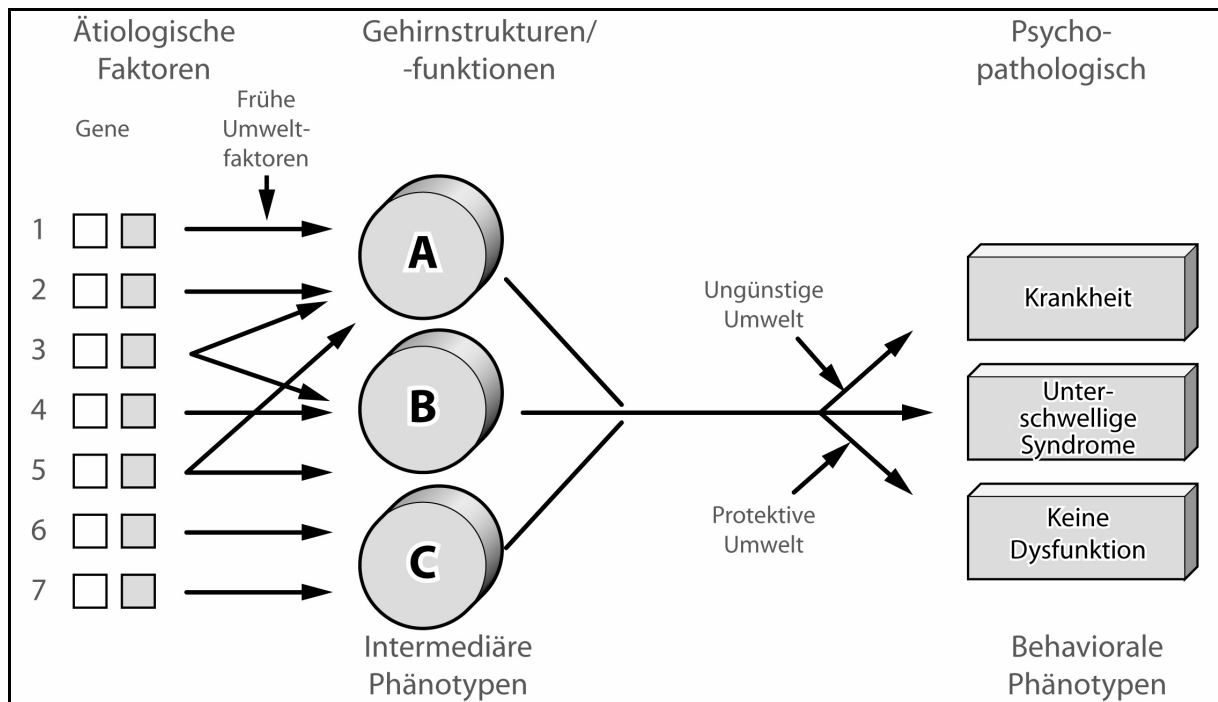


Abb. 8: **Hypothetische Beziehung zwischen Suszeptibilitätsgenen und dem Phänotyp der Erkrankung** (nach Zobel und Maier 2003)

Der intermediäre Phänotyp hat damit einen näheren Bezug zum Genotyp und wird von ihm in einer weniger komplexen Form als der klinische Phänotyp beeinflusst, während sich der klinische Phänotyp einer Erkrankung prinzipiell aus einer bestimmten Anzahl von intermediären Phänotypen zusammensetzt (Abb. 8). Im Idealfall ergibt sich aus der Kenntnis der Genetik dieser Endophänotypen auch die genetische Konstellation der Erkrankung bzw. einer pathophysiologischen Untergruppe dieser Erkrankung.

Nach Begleiter und Porjesz, muss solch ein intermediärer Phänotyp folgende Kriterien erfüllen (Begleiter und Porjesz 1995):

- Er muss eine signifikante Vererbbarkeit aufweisen.
- In der Patientenpopulation muss die Eigenschaft prävalent sein.
- Der Marker muss über den Verlauf der Erkrankung stabil bleiben und darf sich auch nach Symptomrückgang nicht verändern.
- Bei Verwandten 1.Grades muss eine höhere Rate als in der Normalpopulation bestehen.
- In der gesunden Bevölkerung darf er nur eine geringe Basisrate besitzen.

Mit der Identifizierung von intermediären Phänotypen entstehen neue Möglichkeiten in der Diagnostik, Prävention und Erforschung komplexer psychiatrischer Krankheiten, sowie bei der Suche nach einer Kandidatenregion für ein krankheitsverursachendes Gen, da unabhängig von der Nosologie die genetische Basis von biologischen Charakteristika aufgeklärt werden kann.

Für die Erkrankung der Schizophrenie wurde eine Reihe von intermediären Phänotypen vorgeschlagen. So fanden Holzman et al. eine Verlangsamung der Augenfolgebewegung bei schizophrenen Patienten und ihren Angehörigen (Holzman et al. 1977). Franke et al. (1992) ermittelten eine höhere Fehlerquote beim Wisconsin-Card-Sorting Test bei schizophrenen Patienten und deren gesunden Angehörigen als in der Normalbevölkerung.

Gleichermaßen verhielten sich Konzentration (Chen und Faraone 2000, Cornblatt und Malhotra 2001), Diskriminationsverhalten (Faraone et al. 2000) und Intelligenz (Krabbendam et al. 2001).

Auch hirnanatomische Merkmale können solche Marker darstellen. So fanden Seidman et al. (2002) quantitativ abgeschwächte Normabweichungen im Hippokampusvolumen, Cannon et al. (2001) geringere Volumina im kortikalen Bereich und Vogeley et al. (2000) eine vermehrte Gyrierung bei schizophrenen Patienten und ihren gesunden Angehörigen gegenüber der Normalbevölkerung.

2.7 Kognition und kognitive Fähigkeiten

2.7.1 Definition der Kognition

Kognition (lat. *cognoscere*: „erkennen, erfahren, kennen lernen“) ist die von einem verhaltenssteuernden Subsystem (bei höher entwickelten Lebewesen das Gehirn) ausgeführte Informationsumgestaltung (Goldstein 2007).

Kognition spielt eine wichtige Rolle in der Intelligenzforschung. Sie ist ein der Intelligenz übergeordnetes System, das alle Formen des Wissens umfasst, also Fähigkeiten wie Sprache, Wahrnehmung, Aufmerksamkeit und Konzentration, Gedächtnis, Denken und Problemlösen in sich vereint (Zimbardo und Gerrig 2004).

2.7.2 Grundlagen der Kognitionsforschung

Das Konzept der Universalgene, die Einfluss auf diverse Domänen kognitiver Fähigkeiten haben, ist inzwischen weithin akzeptiert (Plomin und Kovas 2005, Kovas and Plomin 2007). Unter Einsatz einer repräsentativen Stichprobe von viertausend 12 Jahre alten Zwillingspaaren aus der englischen „Twins Early Development Study“, prüften Haworth et al. die genetische und umfeldbedingte Überschneidung von web-gestützten Tests zu generellen kognitiven Fähigkeiten, Lesen, Mathematik und Sprachleistung für die Besten 15% der Stichproben. Universalgene sind dabei genauso nachweisbar, wie sie es für die gesamte Verteilung von Fähigkeiten und für kognitive Defizite sind (Haworth et al. 2009).

Mit den hier genutzten Tests (Zahlenverbindungstest, Trail Making Test und d2 Aufmerksamkeitsbelastungstest), wurden kognitive Leistungen und damit auch die generelle Gehirnfunktion, Planung und Handlung, exekutives Arbeitsgedächtnis, sowie Aufmerksamkeits- und Konzentrationsleistungen bei Schizophrenen und Gesunden überprüft.

2.7.3 Kognitive Störungen und neurokognitive Befunde bei Schizophrenie

Bei Schizophrenen treten häufig kognitive Beeinträchtigungen auf, die möglicherweise Ausdruck von Störungen der Informationsverarbeitung darstellen (Dickinson D. 2008). So finden sich auch in der funktionellen Bildgebung häufig Abnormitäten, die als Korrelate kognitiver Störungen gesehen werden können. Auch Schwächen der selektiven Aufmerksamkeit für irrelevante Informationen und Störungen der Reaktions- und Assoziationshierarchien treten auf (Möller et al. 2005). Kognitive Störungen bei Schizophrenie betreffen hauptsächlich Exekutivfunktionen wie Problemlösung und Nutzung abstrakter Konzepte, verbales und non-verbales Gedächtnis, Aufmerksamkeit und Sprache (Elvevag et al. 2002). Diese kognitiven Störungen sind jedoch nicht spezifisch für die Schizophrenie, wie eine Metaanalyse mit einer großen Patientenzahl ergab (Heinrichs und Zakzanis 1998).

In Metaanalysen zeigte ein Vergleich zwischen Schizophrenen Patienten und Gesunden schlechtere Leistungen in Aufmerksamkeitstests, in Tests der psychomotorischen Koordination, des akustischen und visuellen Arbeitsgedächtnisses und der exekutiven Funktionen (Perrez und Baumann 2005, Goldman-Rakic 1994). Frith et al. postulierten als Grund für die Beeinträchtigung exekutiver Funktionen, die aufgabenspezifische Aktivierungsminderung des dorsolateralen präfrontalen Kortex (Frith et al. 1992). Cohen und Servan-Schreiber dagegen fassten die Defizite als dopaminerge Dysfunktion des dorsolateralen präfrontalen Kortex auf, wodurch die Patienten die Fähigkeit verlören, die aufgabenrelevanten, z.B. durch die Testinstruktion gegebenen, Aspekte des jeweiligen Kontextes im Arbeitsgedächtnis zu behalten und bei der Bearbeitung der Aufgaben angemessen zu berücksichtigen (Cohen und Servan-Schreiber 1992).

Im Laufe der Erkrankung Schizophrenie treten häufig kognitive Defizite auf und da sowohl der Schizophrenie als auch der Kognition ein komplexer, nichtmendelscher Erbgang zugrunde liegt, wird versucht Kandidatengene zu finden, die mit beidem assoziiert sind. Allerdings sind diese Kandidatengene schwer zu identifizieren (Plomin et al. 1999, Goldberg und Weinberger 2004). Ein genetischer Zusammenhang zwischen Kognition und Schizophrenie wurde auch von Touloupoulou nachgewiesen (Touloupoulou et al. 2007).

Als Ursache kognitiver Defizite bei schizophrenen Patienten wird häufig die Positivsymptomatik vermutet, es wurden jedoch auch Korrelationen zwischen kognitiven Störungen und negativen Symptomen beobachtet (Addington und Addington 2000, Harvey et al. 1996).

2.7.4 Genetik und kognitive Fähigkeiten

Allgemeine kognitive Fähigkeiten sind zu einem großen Teil erblich, so dass in den letzten Jahren ein größerer Fokus auf die Differenzierung der Gene, die bei der Vererbung von kognitiven Fähigkeiten eine Rolle spielen, gelegt wurde (Plomin et al. 2001). Einzelne Gene können dabei sehr unterschiedliche Auswirkungen auf

2 - Einleitung

Kognition haben. Sie können beispielsweise kleine Teilbereiche wie Rezeptoruntereinheiten beeinflussen, aber auch in die Effizienz neuronaler Reparationsvorgänge eingreifen (Dickinson 2008).

Der britische Psychologe Spearman etablierte schon vor einem Jahrhundert einen allgemeingültigen „General Factor of Intelligence“ (g), da er durch Vergleich verschiedener Intelligenztests herausfand, dass fast alle Testmodule innerhalb eines solchen Tests miteinander korrelieren, was später bestätigt werden konnte, auch wenn weiterhin für die Ausprägung dieses Faktors die Vererbung eine umstrittene Rolle spielt (Spearman 1904, Thurstone und Thurstone 1941, Lubinski 2004). In Zwillingsstudien fand sich, dass „g“ zu einem großen Teil von der genetischen Variabilität abhängt. Viele Zwillingsstudien schätzen die Erblichkeit für allgemeine kognitive Fähigkeit auf 50% ein, wobei sich der Einfluss der Erblichkeit mit dem Alter steigert von ca. 20% in der frühen Kindheit bis über 60% im jungen Erwachsenenalter und sogar bis 80% im hohen Alter (McClearn et al. 1997, Plomin und Craig 1997, Davis et al. 2009).

Es wird auch angenommen, dass sich die Erblichkeit von „g“ auf das Gehirnvolumen auswirken kann, da das kortikale Volumen (auf einer Skala von 0 für keine Korrelation bis 1 für vollständige Korrelation) zu mindestens 0.4 mit „g“ korreliert. Damit entsprechen höhere „g“-Werte auch größeren Gehirnvolumina (Vernon et al. 2000, Posthuma et al. 2002). Auch individuelle Unterschiede der regionalen Volumina (beispielsweise im Broca- oder Wernicke-Areal), die mit „g“ zusammenhängen, werden auf genetische Faktoren zurückgeführt (Thompson et al. 2001, 2002). Kortikale Volumina und damit die allgemeine Kognition oder „g“, ändern sich jedoch während des Lebens auch genetisch unabhängig, z.B. durch Umwelteinflüsse, Lernen und Erfahrung (Maguire et al. 2000, Lenroot et al. 2009).

Obwohl Nachweise für einen generellen „g“-Faktor vorliegen, wird weiter diskutiert, ob ein einzelner Faktor alleinverantwortlich sein kann für die große Spannweite kognitiver Fähigkeiten (Roznowski et al. 2000, Garlick 2002, Raab und Gigerenzer 2005). So scheinen spezifische kognitive Fähigkeiten auch einzeln, für sich, sehr unterschiedlich stark oder schwach ausgeprägt vererbt zu werden, was auf den Einfluss unterschiedlicher Gene hinweist. McClearn et al. testeten beispielsweise betagte Zwillinge in mehreren Untersuchungen zu Untergruppen kognitiver

Fähigkeiten, darunter auch Thurstone's Tests zu den primären intellektuellen Fähigkeiten (Thurstone 1938) und Subtests der Wechsler Adult Intelligence Scale WAIS (Wechsler 1981). Es fanden sich Erblichkeiten von 0.62 für die allgemeine Kognition, 0.55 für verbale Fähigkeiten, 0.32 für räumliches Erfassungsvermögen, 0.62 für die kognitiven Leistungsgeschwindigkeit und 0.52 für das Gedächtnis (McClearn et al. 1997). Bei Untersuchungen der Exekutivfunktionen (beispielsweise durch Tests wie den TMT, aber auch *Digit Symbol Substitution*, *Color-Word-Interference* und verbale Flüssigkeit), zeigten sich Erblichkeiten zwischen 0.34 und 0.68 (Swan und Carmelli 2002, Fis et al. 2008). Fan et al. entwickelten einen Test der exekutiven Aufmerksamkeit, die der Aufmerksamkeitstest d2 misst und fanden einen hohen Grad an Erblichkeit von 0.78 (Fan et al. 2001).

Damit scheinen sich die einzelnen kognitiven Systeme, die zu „g“ beitragen, in ihren Erblichkeiten individuell zu unterscheiden, so dass auch ein modulares System vorstellbar ist, in dem „g“ für ein zusammengesetztes Maß an genetischen Prozessen und Merkmalen steht (Greenwood und Parasuraman 2003).

Eine weitere Hypothese besagt, dass die allgemeinen kognitiven Fähigkeiten nicht nur von den Genen selbst, sondern auch von deren Epistase, der Gen-Interaktion abhängt, was als „Emergenesis“ bezeichnet wird. Das bedeutet, dass die Vererbung nicht nur auf der Summe einzelner Gene, sondern auch auf deren Interaktion beruht (Lykken et al. 1992). Damit hängen die Ergebnisse von Tests zu kognitiven Fähigkeiten auch stark von der Motivation der Testperson ab, ob diese ihre ungeteilte Aufmerksamkeit auf eine Aufgabe richten kann und ob Begriffe im Gedächtnis behalten und verarbeitet werden können. Daher könnte „g“ auch das Zusammenwirken einiger weniger Gene, die eine Rolle für Arbeitsgedächtnis und Aufmerksamkeit spielen, repräsentieren (Duncan et al. 2000, Plomin 2001, Swan und Carmelli 2002).

Zusammenfassend ist also zu sagen, dass, wie durch Spearman postuliert (Spearman 1904, 1928), trotz kontroverser Diskussionen im Laufe des letzten Jahrhunderts ein stabiler „g“ Faktor für generelle kognitive Fähigkeiten existiert, der mindestens 40-50% der Varianz bestimmt (Gustafsson 1984, Johnson und Bouchard 2005).

Die Hauptkritiker stellten dem im Laufe der Zeit eine Zahl weiterer, ausgedehnter, unabhängiger Domänen kognitiver Fähigkeiten gegenüber (gewöhnlich <10). Die bekanntesten dabei sind Thurstone's *primary mental abilities* (PMAs, primäre intellektuelle Fähigkeiten, Thurstone 1938), und Gardner's *multiple intelligences* (MI, multiple Intelligenzen, Gardner 1983), von denen sich jedoch keine durchsetzen konnte. Beispielsweise konnten die als unabhängig postulierten PMAs positiv miteinander korreliert werden und selbst Thurstone's eigene Daten beinhalteten einen stabilen „g“ Faktor (Eysenck 1939, Johnson und Bouchard 2005, Deary et al. 2009).

In Ergänzung zu „g“, wurde in dem Bereich der Kognition, der Fokus auf die Erforschung der genetischen Grundlagen geistiger Fähigkeiten gelegt. Dies schließt beispielsweise Arbeitsgedächtnis (wichtig in der Altersforschung), Exekutivfunktionen (häufig Grundlegend bei der Erforschung psychischer Erkrankungen), Sprache und mathematische Grundlagen ein, da in diesen Bereichen bereits spezifische, genetisch beeinflusste Störungen dieser Fähigkeiten entdeckt wurden (Deary et al. 2009). Dabei ist zu berücksichtigen, dass „g“ in diesen Bereichen immer mitwirkt. Es werden demnach sowohl der Gesamtverbund „g“, als umfassende Domäne der Kognition, als auch sehr spezifisch getestete Fähigkeiten betrachtet (Deary et al. 2009).

Intelligenztests korrelieren mit Tests für Arbeitsgeschwindigkeit bei generellen Informationsprozessen wie z.B. der Reaktionszeit (Deary 2000, 2009) und sie korrelieren mit dem Gehirnvolumen (McDaniel 2005). Die Mechanismen dieser Assoziationen sind unbekannt, allerdings lässt sich immer öfter nachweisen, dass Intelligenz sowohl eine effiziente Funktion des parietal-frontalen Gehirnnetzwerk voraussetzt (Jung und Haier 2007), als auch intakte Marklager (Chiang et al. 2009).

2.8 Fragestellung

Es gilt heute als gesichert, dass sowohl bei der allgemeinen Kognition, als auch bei der Erkrankung Schizophrenie genetische Komponenten eine Rolle spielen. Vorliegende Studie basiert auf einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie, da Assoziationsstudien eine sensitive Methode darstellen, um auf molekulargenetischer Ebene nach Suszeptibilitätsgenen mit kleinen Effekten bei solch komplexen Bildern wie Kognition und Schizophrenie zu suchen. Das Gen Prepronozizeptin (PNOC), das das Neuropeptid Nozizeptin kodiert, wurde durch Kopplungsstudien als Suszeptibilitätsgen für Schizophrenie erkannt. Die mRNA von Nozizeptin ist über das gesamte ZNS verteilt und da dieses Neuropeptid in fast allen monoaminen Neurotransmittersystemen (Noradrenalin, Serotonin und Dopamin) eine inhibitorische Wirkung hat, wird davon ausgegangen, dass es auch in dem komplexen Feld der Kognition, an der sehr viele Gehirnareale beteiligt sind, eine Rolle spielen könnte. Ziel der vorliegenden Studie ist es, Zusammenhänge zwischen den untersuchten Polymorphismen des PNOC-Gens rs904053 und rs4732640 mit Schizophrenie und Fähigkeiten wie kognitiver Leistungsgeschwindigkeit und Konzentration im Zahlenverbindungstest (ZVT), dem Trail-Making Test (TMT) und dem Aufmerksamkeits-Belastungstest d2 an einer kaukasischen Population zu erfassen. Dazu wurden neben den Testdurchführungen, die Allel- und Genotypfrequenzen von 111 schizophrenen Patienten und 259 gesunden Kontrollprobanden bestimmt und verglichen.

3 Material und Methoden

3.1 Studiendesign

Diese Arbeit wurde als Fall-Kontroll-Assoziationsstudie konzipiert. Es wurden 111 Patienten sowie 259 Kontrollprobanden in die Studie eingeschlossen. Die SNPs rs904053 und rs4732640 des PNOC-Gens wurden genotypisiert und deren Assoziation zu Schizophrenie und kognitiver Leistungsgeschwindigkeit, bzw. Konzentrationsfähigkeit untersucht.

Als Messinstrument der Bearbeitungsgeschwindigkeit und Konzentration dienten der ZVT (Zahlen-Verbindungstest, Oswald und Roth 1987), der TMT (Trail Making Test, Reitan 1979,1992) und der Test d2 (Aufmerksamkeits-Belastungstest, Brickenkamp 2001).

3.1.1 Vorbedingungen der Studiendurchführung

Die Studie wurde mit Zustimmung der lokalen Ethikkommission durchgeführt. Bei allen Teilnehmern fand eine Aufklärung hinsichtlich der Zielsetzung der Studie und der anonymisierten Verarbeitung der erhobenen Daten und Blutproben statt. Über die Einwilligung zur Studienteilnahme wurden unterschriebene Einverständniserklärungen eingeholt. Alle Teilnehmer erhielten eine finanzielle Aufwandsentschädigung.

3.1.2 Studienteilnehmer

3.1.2.1 Kontrollgruppe

Es nahmen 259 gesunde, nicht verwandte Probanden, die zufällig aus der Bevölkerung Münchens ausgewählt wurden, an der Studie teil. Personen, die nach dem Einladungsschreiben, welches die Studienziele vorstellte, Interesse hatten,

konnten eine Rückantwort mit ihrer Telefonnummer senden. Danach wurde ein standardisiertes Telefonscreening durchgeführt.

In diesem ersten Auswahlverfahren wurde nach hirnrorganischen, psychiatrischen neurologischen und somatischen Erkrankungen und Vorerkrankungen bei den Probanden, sowie deren Verwandten 1. Grades gefragt.

Zur Vervollständigung wurde den Probanden außerdem ein Anamnesebogen zugesandt. Damit sollten depressive, schizophrene oder manische Phasen, Zwangsstörungen, Angst- und Panikstörungen, Medikamenten-, Alkohol- und Drogenabusus, Essstörungen und Suizidalität ausgeschlossen werden. Außerdem wurde nach Geburtskomplikationen, schulischem und beruflichem Werdegang, Familienstand und Lebenszufriedenheit gefragt. Auch der kulturelle und genetische Hintergrund der Probanden wurde abgefragt, um eine homogene Gruppe zu erhalten.

Lagen bis zu diesem Punkt keine Ausschlusskriterien vor, wurden die Probanden eingeladen und mehrere weitere standardisierte Befragungen durchgeführt, darunter der Hamburger-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene HAWIE-R (Tewes 1991) zur Beurteilung der kognitiven Fähigkeiten.

Des Weiteren wurde das Strukturierte Klinische Interview (SKID, Wittchen et al. 1997) gemäß der Klassifikation des *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (DSM-IV) der *American Psychiatric Association* in seiner vierten Revision (Wittchen et al. 1996) verwendet. Dabei diente SKID I der Erfassung und Diagnostik von psychopathologischen Störungen (im DMS-V beschrieben als Achse I, Hauptdiagnose) und SKID II der Erfassung von Persönlichkeitsstörungen (Achse II) (siehe Abschnitt 3.1.2.3). Des Weiteren wurden psychosoziale Beeinträchtigungen und deren auslösende Belastungsfaktoren, so genannte „*life-events*“ (Achse IV) erhoben und die globale Beurteilung der Leistungsfähigkeit (Achse V) durchgeführt. Psychiatrische Diagnosen unter Verwandten ersten Grades wurden mit Hilfe des *Family History Assessment Modules* (FHAM) beurteilt (Rice et al. 1995).

Das Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar LEBI (Richter und Guthke 1996), diente der Erfassung kritischer und traumatischer Lebensereignisse und der dadurch individuell empfundenen Belastung im beruflichen, sozialen und familiären Bereich.

Dabei spielte auch der Zeitraum, die Kontrollierbarkeit, Vorhersagbarkeit und die erhaltene Unterstützung im sozialen Umfeld eine wichtige Rolle.

In einem zweiten Fragebogen (ANA II) wurden weitere anamnestische Daten aus Kindheit und Jugend erhoben, sowie weitere mögliche Belastungssituationen aus Partnerschaften, beruflicher Karriere oder finanzieller Situation.

Außerdem fand eine Blutentnahme zur Blutextraktion und späteren Genotypisierung statt.

Der Studienausschluss erfolgte bei psychiatrischen und neurologischen Erkrankungen, Achse I und II Störungen oder einer positiven Familienanamnese in den genannten Bereichen.

3.1.2.2 Schizophrene Patienten

Insgesamt nahmen 111 schizophrene Patienten an der Studie teil. Die Rekrutierung der Patientengruppe basierte auf einem Patientenpool mit an Schizophrenie erkrankten Personen, die in verschiedenen psychiatrischen Kliniken Münchens stationär behandelt wurden. Aus dieser Gruppe wurden telefonisch Studienteilnehmer gewonnen. Bei diesem Gespräch wurden auch die Studienziele erklärt und der Ablauf der Untersuchungen vorgestellt. Eine Aufnahme in die Studie erfolgte ausschließlich bei Patienten, die im Untersuchungszeitraum nicht in stationärer Behandlung waren. Bei Einwilligung und Interesse wurde ein Termin vereinbart.

Hier wurde nun ein diagnostisches Interview durchgeführt, das in zwei Anamnesebögen erfasst wurde. Dabei wurde die persönliche Entwicklung, schulischer und beruflicher Werdegang, die familiäre und finanzielle Situation und Erkrankungen seit frühester Kindheit aufgenommen, sowie die aktuelle Medikation, Alkohol- und Drogenkonsum, Nikotinabusus, bisherige psychiatrische und psychologische Therapien und eventuell vorhandene Suizidalität.

Zur Sicherung der Diagnose Schizophrenie wurde das Strukturierte Klinische Interview (SKID) gemäß der Klassifikation des *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (DSM-IV) der *American Psychiatric Association* in seiner vierten Revision verwendet (Wittchen et al. 1997), das im folgenden Abschnitt (3.1.2.3) erläutert wird.

Ausschlusskriterien für das Patientenkollektiv waren schizoaffektive Störungen, andere Störungen aus dem schizophrenen Formenkreis, organische Ursachen für die Entstehung einer Psychose und drogeninduzierte Psychosen. Auch die Erkrankung am HI-Virus oder an Hepatitis C war für diese Studie ein Ausschlusskriterium.

3.1.2.3 SKID, Strukturiertes Klinisches Interview

Zur Sicherung der Diagnose einer Schizophrenie, müssen charakteristische Symptome wie Wahnvorstellungen, Halluzinationen, desorganisierte Sprache, katatonies Verhalten für mindestens einen Monat und weitere Symptome wie z.B. Willensschwäche, Anhedonie und Affektverflachung für mindestens sechs Monate vorliegen.

Differentialdiagnostisch müssen affektive und schizoaffektive Störungen (DSM-IV-Code: 295.70) ausgeschlossen werden können. Auch der Konsum psychotroper Substanzen und organische Erkrankungen wie beispielsweise Epilepsie, Enzephalopathie oder Lues als mögliche Auslöser der Schizophrenie sollten ausgeschlossen werden. Ebenso sollten in der Vorgeschichte keine autistischen oder andere tief greifenden Entwicklungsstörungen aufgefallen sein.

Erstmanifestation, Verlauf (episodisch, kontinuierlich, mit oder ohne Negativ- bzw. Positivsymptomatik etc.) und Remissionsgrad der Erkrankung können mit Hilfe des SKID I erfasst werden.

SKID I mit insgesamt neun Abschnitten (A bis I):

Teil A kodiert alle jemals aufgetretenen affektiven Symptome, d.h. Symptome für Depression, Manie, Hypomanie und Dysthymie.

Teil B fragt psychotische Symptome ab.

Teil C befasst sich mit der genauen Diagnose einer Schizophrenie mit Unterteilung in die verschiedenen Subtypen: paranoider Typus, katatoner Typus, desorganisierter Typus, undifferenzierter Typus oder Residualtypus.

Außerdem wird das Auftreten anderer psychotischen Störungen abgeklärt:

Bei der schizophrenieformen Störung (DSM-IV-Code: 295.40) müssen die Symptome (sowohl Positiv- als auch Negativsymptomatik) für mindestens einen Monat vorhanden sein, dürfen aber nicht länger als sechs Monate andauern.

Bei der kurzen psychotischen Störung (DSM-IV-Code: 298.80) muss nur ein Symptom, z.B. Halluzination, vorliegen, welches maximal einen Monat andauern darf.

Die wahnhaftige Störung (DSM-IV-Code: 297.10) ist dadurch gekennzeichnet, dass eine wahnhaftige Symptomatik für mindestens einen Monat im Vordergrund steht.

Die gemeinsame psychotische Störung (DSM-IV-Code: 297.30) wird dann diagnostiziert, wenn eine Person die gleiche psychotische Symptomatik zeigt, wie eine andere Person, mit der diejenige viel Zeit verbringt.

Teil D differenziert die affektiven Symptome in Major Depression, Bipolare Störung I und II, depressive sowie manische Symptome als Prodromalphase bzw. postpsychotisches Syndrom.

Teil E klärt Alkoholabhängigkeit bzw. Alkoholmissbrauch und den Konsum psychotroper Substanzen ab.

Teil F fragt Angststörungen (Phobien, Zwangsstörungen, Panikstörungen, Generalisierte Angststörung) ab.

Teil G beurteilt somatoforme Störungen.

Teil H dient der diagnostischen Abklärung einer Ess-Störung (Anorexie, Bulimie, *Binge Eating Disorder*).

Teil I beurteilt Anpassungsstörungen. Diese diagnostische Einordnung ist zu erwägen, falls bei dem Patienten keine aktuelle andere psychische Störung besteht.

Eine posttraumatische Belastungsstörung (*Posttraumatic Stress Disorder*, PTSD) sollte ebenfalls abgegrenzt werden.

3.1.2.4 GAS-Skala: Global Assessment Scale

Anschließend wurde mit der *Global Assessment Scale*, GAS-Skala (0-100 Punkte) die momentane Leistungsfähigkeit im psychischen, sozialen und beruflichen Bereich im Vergleich zur Leistungsfähigkeit in diesen Bereichen in der schlimmsten Phase der Erkrankung (niedrigste Stufe) eingeschätzt (Tabelle 3).

Die GAS-Skala wurde von Endicott et al. 1976 aus der *Health Sickness Rating Scale* (HSRS Skala) entwickelt (Endicott et al. 1976).

Tab. 3: **Global Assessment Scale, GAS-Skala** (0-100 Punkte) (Endicott et al. 1976)

GAS-Skala	
100-91	Keine Symptome
90-81	Vorübergehende Symptome, gutes Zurechtkommen
80-71	Minimale Symptome
70-61	Einige leichte Symptome
60-51	Mäßige Symptome, kommt nur mit Schwierigkeiten zurecht
50-41	Schwere Symptomatik, behandlungsbedürftig
40-31	Stärkere Beeinträchtigung auf mehreren Gebieten
30-21	Auf fast allen Gebieten unfähig zu handeln
20-11	Benötigt Bewachung, um eine Selbst- oder Fremdgefährdung zu verhindern
10-1	ständige Überwachung nötig, keinerlei Versuche ein Minimum an Körperpflege aufrecht zu erhalten

3.2 Neuropsychologische Testverfahren

Falls nach den beschriebenen Voruntersuchungen keine Ausschlussgründe vorlagen, wurden die Untersuchungen an einem weiteren Termin in der Psychiatrischen Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München fortgesetzt.

Hierbei wurde eine Reihe neuropsychologischer Tests durchgeführt, unter anderem der ZVT (Zahlen-Verbindungstest), der TMT Teil A und B (Trail-Making Test) und der Test d2 (Aufmerksamkeits-Belastungstest).

Mit diesen Tests wurde nicht nur die kognitive Leistungsgeschwindigkeit und Konzentration bei den Teilnehmern gemessen, sondern auch ein sprachfreier Intelligenztest angewandt.

3.2.1 Zahlenverbindungstest, ZVT

Als Vorlage des Zahlenverbindungstests, diente die zweite, überarbeitete und erweiterte Auflage von Oswald und Roth, die auch als Quelle zur weiteren Beschreibung des ZVTs diente (Oswald und Roth 1987).

Dieser Test ist als sprachfreier Intelligenz-Test ein Messinstrument der kognitiven Leistungsgeschwindigkeit und kann von Probanden unterschiedlichster Bildung bearbeitet werden, da er nicht mehr als das Zählen von 1 bis 90 voraussetzt.

3.2.1.1 Testaufbau

Der ZVT setzt sich aus vier Zahlenmatrizen zusammen, von denen jede 90 unterschiedlich angeordnete Ziffern beinhaltet. Diese 90 Ziffern müssen so rasch und korrekt wie möglich in der üblichen Zählreihenfolge von 1 (niedrigste Zahl) bis 90 (höchste Zahl) mit einem flüssig schreibenden Kugelschreiber ohne abzusetzen verbunden werden, während der Versuchsleiter die Testbearbeitungszeit mit einer Stoppuhr misst. Zum Kennenlernen der Technik wird vor der Testabnahme ein Übungsblatt mit zwei Beispielen bearbeitet. Die Testergebnisse werden auf einem Protokollblatt notiert.

3.2.1.2 Testdurchführung

Der Test kann sowohl als Einzel- als auch als Gruppenversuch durchgeführt werden, wobei die Bearbeitungszeit je nach Lebensalter, Leistung der Versuchspersonen und Testform (Gruppen- oder Einzeltest) zwischen 5 und 10 Minuten variiert. Da für die hier beschriebene Studie nur die Einzelversuche zur Anwendung kamen, wird im Folgenden nicht weiter auf die Gruppenversuche eingegangen.

Unterlagen:

Ein vollständiger Testsatz besteht aus einem Auswertungs-/Übungsbogen und vier Testmatrizen (A, B, C und D). Außerdem sind ein Kugelschreiber und eine Stoppuhr nötig.

Ablauf:

Angaben zur Person, in unserem Fall der siebenstellige Code zur Datenanonymisierung, sowie Alter der Testperson werden auf dem Auswertungs-/Übungsbogen vermerkt. Dieser Auswertungs-/Übungsbogen enthält einerseits Felder zum Vermerken der erbrachten Testleistung, dient aber andererseits auch zur standardisierten Anweisung des Testablaufes, sowie zur Bearbeitung zweier Beispielfelder durch die Testperson.

Die folgenden vier Matrizen sollen ohne Zeitbegrenzung jeweils bis zum Ende (Ziffer 90, mit „ENDE“ beschriftet) vom Probanden bearbeitet werden, während der Versuchsleiter die Bearbeitungszeit stoppt und protokolliert. Dabei spielt die Reihenfolge in der die vier Bögen (A, B, C, D) bearbeitet werden keine Rolle.

3.2.1.3 Testauswertung

Die Bearbeitungszeiten der Testmatrizen A, B, C und D werden addiert und durch 4 dividiert, was den Gesamtrohwert (ZVT RW) ergibt.

Mit Hilfe der Altersnormen für Einzelversuche des Testmanuals können die diesem Rohwert entsprechenden T-Werte ($\bar{X} = 50$, $s = 10$), C-Werte (Centilwerte: $\bar{X} = 5$, $s =$

2) und Prozentrangplätze ermittelt werden. Außerdem gestatten die Normtabellen den Autoren zufolge einen Vergleich mit IQ- (entsprechend dem HAWIE, Wechsler 1964: $\bar{X} = 100$, $s = 15$) und Standard-Werten (SW, entsprechend dem IST, Amthauer 1970: $\bar{X} = 100$, $s = 10$) (Oswald und Roth 1987).

Normwerte:

Der ZVT wurde mit Hilfe einer nach Schulart, sozialem Status und Gemeindegrößenklasse geschichteten Eichstichprobe von insgesamt 2109 Probanden normiert (Oswald und Roth 1987).

Gemeindegrößenklasse meint dabei die Sortierung der Gemeinden nach den Bevölkerungszahlen eines bestimmten Stichtages (in der Regel 30.06. bzw. 31.12.).

Die Normwerte beim Einzelversuch gelten für die Altersgruppen zwischen 8 und 60 Jahren, wobei es auch eine spezielle Version für das höhere Lebensalter (ZVT-G) als Teil des Nürnberger-Alters-Inventars NAI (Oswald und Fleischmann 1986) gibt.

Alle Normwerte wurden über lineare Transformationen berechnet. Die empirischen Verteilungen der einzelnen Altersgruppen erreichen jeweils mindestens einen Prozentrangplatz (PR) von 1 % bzw. 99 %.

Interpretation der Ergebnisse:

Der ZVT als spezifischer Intelligenztest zur Messung der „kognitiven Leistungsgeschwindigkeit“ misst im Wesentlichen die so genannte *speed*-Komponente (Geschwindigkeitskomponente) gebräuchlicher Intelligenztests oder das Fähigkeitsbündel, das bei Thurstone mit *perceptual speed* (Thurstone und Thurstone 1941) und bei Jäger mit Bearbeitungsgeschwindigkeit bezeichnet wird (Jäger 1982). Diese basale Intelligenzgrundfunktion ist hoch mit allgemeiner Intelligenz korreliert (Oswald und Roth 1987).

Durch Ablesen des individuellen Prozentrangplatzes in den Normwerttabellen, lässt sich erkennen, um wieviel Prozent aller Fälle der jeweiligen Altersgrundgesamtheit der betreffende Testwert unter- bzw. überschritten wird und damit, wie viele Probanden pro 100 der Altersgrundgesamtheit schlechtere bzw. bessere Ergebnisse im ZVT erzielten.

Für Vergleiche zwischen den Ergebnissen im ZVT und den Ergebnissen in anderen Intelligenztests (z.B. dem IST oder dem HAWIE), können die SW- oder IQ-Transformationen in den Normwerttabellen herangezogen werden. Allerdings sollten die jeweiligen aus ZVT-Ergebnissen abgeleiteten IQ bzw. SW-Schätzungen beim HAWIE und IST um +6 IQ Punkte bzw. +4 SW-Punkte korrigiert werden (Oswald und Roth 1987).

Im Vergleich deutlich günstigere Ergebnisse beim ZVT können dabei als mögliche Hinweise für milieubedingte sprachliche Minderleistungen gedeutet werden.

Andererseits können deutlich geringere Leistungen beim ZVT gegenüber verbalen und kristallinen Intelligenzleistungen, z.B. der Verbal-IQ im HAWIE (Catell 1963), als Hinweise für mögliche hirnorganische Schädigungen angesehen werden.

3.2.1.4 Gütekriterien

Der ZVT ist objektiv (sowohl bei der Durchführung, als auch bei der Auswertung) hoch reliabel und entspricht einem Gültigkeitsbereich, der ihn als einen spezifischen Intelligenztest zur Messung kognitiver Leistungsgeschwindigkeit ausweist. Die Gütekriterien wurden unter Berücksichtigung der Einflüsse von Schulart, Alter, Geschlecht und unterschiedlichen Zeitabständen zwischen den wiederholten Testdurchführungen in unterschiedlichen Stichproben überprüft.

Reliabilität/Zuverlässigkeit:

Bei separater Betrachtung möglicher schulspezifischer Einflüsse kann dem Test eine weitgehende schulartenunabhängige Zuverlässigkeit bescheinigt werden. Und auch für altersabhängige Veränderungen der Testzuverlässigkeit konnten keine Anhaltspunkte ermittelt werden. Somit kann der Test unabhängig von Schulbildung und Alter als zuverlässiges Messinstrument der kognitiven Leistungsgeschwindigkeit eingesetzt werden.

In allen untersuchten Stichproben ließen sich Übungsgewinne nach wiederholten Testdurchführungen mit den gleichen Matrizen bei den gleichen Probanden feststellen. Allerdings wird die reale Bedeutung der rein numerischen teils deutlichen Unterschiede eher gering eingeschätzt, da zur Bestimmung der individuellen

Leistung stets der Mittelwert aus den vier Testmatrizen berechnet wird. Außerdem betrug der Übungsgewinn nie mehr als 5 bis 6 T-Werte, was sich noch im Bereich des Standardmessfehlers bewegt und in dieser Größenordnung bei allen Intelligenztests beobachtet werden kann. So geht selbst ein hohes Maß an Übungsgewinn nicht zu Lasten der Testzuverlässigkeit.

Validität/Gültigkeit:

Die Gültigkeit des ZVT wurde mit korrelationsstatistischen, faktorenanalytischen Untersuchungen und Extremgruppenvergleichen überprüft.

Die Ergebnisse des ZVT korrelieren mit verschiedenen Intelligenztests mittel bis hoch und ergeben durchwegs einen Intelligenzfaktor, der in Übereinstimmung mit bisherigen Forschungsarbeiten als kognitive Leistungsgeschwindigkeit bezeichnet werden kann (Oswald und Roth 1987). Dieser Faktor weist deutliche Beziehungen zu komplexeren Intelligenzleistungen auf.

Zwischen Schulnoten und Schulleistungstests konnten erwartungsgemäß – da nur in homogenen schulspezifischen Stichproben untersuchbar – nur geringe bis mittlere korrelative Zusammenhänge beobachtet werden (Oswald und Roth 1987).

Extremgruppenvergleiche zwischen Sonderschülern und Gymnasiasten belegten eine hohe Diskriminationsfähigkeit des ZVT und ermöglichten die Ableitung von Hypothesen für differentialdiagnostische und pädagogische Maßnahmen im Sonderschulbereich (Oswald und Roth 1987).

Signifikante Zusammenhänge zwischen ZVT und Aktivationsparametern, insbesondere der subjektiv erlebten inneren Anspannung sowie mit evozierten Potentialen als Ausdruck hirnpfysiologischer Informationsverarbeitung konnten als zusätzliche Stützung der Bedeutung des ZVT als eines Tests zur Erfassung basaler allgemeiner Intelligenzfunktionen gedeutet werden (Oswald und Roth 1987).

Keine Zusammenhänge konnten zwischen Aufgabenmotivation und Bearbeitungszeiten im ZVT beobachtet werden, ebenfalls keine mit Einfachreaktionszeiten (Oswald und Roth 1987). Mit Konzentrationstests konnten dagegen geringe bis mittlere Zusammenhänge festgestellt werden. Diese erwiesen sich allerdings als sehr stichprobenabhängig (Oswald und Roth 1987).

Im Vergleich zu traditionellen Intelligenztests, wie z.B. dem PSB (Prüfsystem für Schul- und Bildungsberatung nach Horn 1969) und HAWIE, erwies sich der ZVT –

u.a. in Zwillingsuntersuchungen – als stärker genetisch verankert und weniger milieuabhängig (Oswald und Roth 1987).

In klinischen Untersuchungen bewährte sich der ZVT als ein sensitives und diagnostisch relevantes Instrumentarium bei Hirnleistungsstörungen und deren Behandlung (Oswald und Roth 1987).

Standardmessfehler:

Der Standardmessfehler lässt sich für alle Normwerte nach folgender Formel berechnen:

$$s_e = s_x \cdot \sqrt{1 - r_t}$$

(Lienert 1969)

3.2.2 Trail Making Test, TMT

Als Vorlage für den Trail Making Test diente das „*Manual for Administration and Scoring*“ von Ralph M. Reitan, das auch als Hauptquelle bei der weiteren Beschreibung des TMT diente (Reitan 1979, 1992).

Der TMT wurde von Partington 1938 aus den *Taylor Number Series* unter dem Namen „*Partington Pathway Test*“ modifiziert (Long und Alsworth 1997) und bis 1949 weiterentwickelt und standardisiert (Partington und Leiter 1949). Schon 1944 konstruierten Psychologen der US-Armee nach diesem Vorbild für den *New Army Individual Test of General Mental Ability (AIT-1)* zwei Testvorlagen, die als *Trail Making Test* bezeichnet wurden (U.S. War Department: The Adjutant General's Office 1944). Dieser Test wurde vom amerikanischen Militär mit dem Ziel konstruiert, die intellektuellen Fähigkeiten aller Intelligenzklassen sowohl bei weißen als auch bei schwarzen Amerikanern möglichst rationell zu ermitteln (Oswald und Roth 1987).

Der Test liegt in zwei Ausführungen vor: eine für Erwachsene, bzw. über 15jährige und eine für Kinder zwischen 9 und 14 Jahren, wobei im Folgenden nur auf die Form für Erwachsene eingegangen werden soll, da nur diese bei der vorliegenden Studie zum Einsatz kam.

3.2.2.1 Testaufbau

Der Test besteht aus zwei Teilen, die dem ZVT optisch sehr ähnlich sind. In Teil A müssen die Ziffern von 1 bis 25 so rasch und korrekt wie möglich durch Striche mit einem flüssig schreibenden Kugelschreiber miteinander verbunden werden, in Teil B müssen die Zahlen 1 bis 13 alternierend mit den Buchstaben A bis L verbunden werden, also 1-A-2-B-3-C usw.

Der Versuchsleiter misst die Testbearbeitungszeit mit einer Stoppuhr. Zum Kennenlernen der Technik wird vor der Testabnahme je ein Übungsblatt mit einem Beispiel bearbeitet. Die Testergebnisse werden auf einem Protokollblatt notiert.

3.2.2.2 Testdurchführung

Die Bearbeitungszeit des Tests variiert je nach Lebensalter und Leistung der Versuchspersonen von wenigen Sekunden bis zu mehr als 52 Sekunden (TMT-A) bzw. über 121 Sekunden (TMT-B).

Unterlagen:

Ein vollständiger Testsatz besteht aus je einem Übungsbogen für Teil A und Teil B und zwei Testmatrizen: eine für Teil A und eine für Teil B. Außerdem sind ein Kugelschreiber und eine Stoppuhr nötig.

Ablauf:

Jedes Testblatt wird mit einem siebenstelligen, alphanumerischen Code zur Datenanonymisierung gekennzeichnet. Je ein Übungsblatt mit einem verkürzten Beispielausschnitt dient vor jedem Untertest (A und B) zur standardisierten Anweisung des Testablaufes, sowie zur Übung für die Testperson. Zuerst wird Teil A und anschließend Teil B ohne Zeitbegrenzung vom Probanden bearbeitet, wobei jeder Teil so schnell und fehlerfrei wie möglich und bis zum Ende bearbeitet werden soll, während der Versuchsleiter die Bearbeitungszeit stoppt und protokolliert.

Falls der Proband einen Fehler macht, ist es wichtig, dass der Versuchsleiter ihn stoppt und zum letzten korrekt getroffenen Kreis zurückführt, da dies den häufigsten

Fehler bei der Durchführung des Tests darstellt. Allerdings muss dies schnell und effizient geschehen, da die Zeit weiterläuft. Daher wird der Proband vorher, bei der Erläuterung des Tests auf diese mögliche Unterbrechung hingewiesen und der Versuchsleiter sollte den Test routiniert anleiten können, um durch die Unterbrechung nicht selbst Verzögerungen zu verursachen.

3.2.2.3 Testauswertung

Teil A und B werden getrennt voneinander ausgewertet. Die Bearbeitungszeiten der Testteile A und B werden in vier Kategorien von 0 bis 3 eingeteilt, welche das Endergebnis des TMT („Score“) darstellen. Dabei bedeutet Score 0 das beste Ergebnis mit einer Bearbeitungszeit beim TMT A von ≤ 26 Sekunden und Score 3 das schlechteste Ergebnis mit einer Bearbeitungszeit ≥ 52 Sekunden (siehe Tabelle 4 und 5).

Tab. 4: Kategorien bei der Auswertung des TMT (Reitan und Wolfson 1988)

Score	0	1	2	3
TMT Teil A (Sekunden)	0 – 26	27 - 39	40 - 51	> 51
TMT Teil B (Sekunden)	0 – 65	66 - 85	86 - 120	> 121

Normwerte:

Der TMT wurde mit Hilfe von Testungen bei gesunden und hirngeschädigten Probanden normiert. Reitan überprüfte 1958 die Gültigkeit des Tests bei einer Gruppe von 84 gesunden und 200 hirngeschädigten Probanden (Reitan 1958).

Basierend auf diesen Studien wurden Normränge für Erwachsene erstellt, die mit Gehirnfunktionen korrelierten und hier in Tabelle 5 dargestellt sind (Reitan und Wolfson 1988).

Tab. 5: **Gehirnstatus in Korrelation zur Durchführungsschnelligkeit von TMT A und B (Reitan und Wolfson 1988)**

Gehirnfunktion	Hervorragende Ergebnisse	Normale aber nicht perfekte Ergebnisse	Mild bis moderat beeinträchtigt	Moderat bis schwer beeinträchtigt
TMT Teil A (Sekunden)	0 - 26	27 – 39	40 – 51	> 51
TMT Teil B (Sekunden)	0 - 65	66 – 85	86 – 120	> 121

Interpretation der Ergebnisse:

Der TMT erfordert eine schnelle Erkennung der verschiedenen Symbole wie Ziffern und Buchstaben, die Fähigkeit das Blatt durchgehend im Überblick zu behalten um die folgende Nummer oder den folgenden Buchstaben schnell zu identifizieren, Flexibilität bei der Integration der numerischen oder alphabetischen Serien und die Fähigkeit zur Ausführung dieser Erfordernisse unter Zeitdruck.

Da der Test stark abhängig ist von der morphologisch-funktionellen Beschaffenheit des zentralen Nervensystems, werden Variablen wie Alter, Bildung etc. bei der Auswertung nicht miteinbezogen, da Beeinträchtigungen des Gehirns in jeder Alters-, Bildungsschicht usw. vorkommen können und damit nach solchen Variablen nicht valide klassifizierbar sind (Reitan und Wolfson 1988).

3.2.2.4 Gütekriterien

Der Test wurde mit dem Ziel konstruiert, die intellektuellen Fähigkeiten aller Intelligenzklassen bei Amerikanern afrikanischen und europäischen Ursprungs möglichst rationell zu ermitteln. Besonderes Gewicht wurde auf die hohe Zuverlässigkeit der Subtests und auf eine relativ große Unabhängigkeit von kulturellen und sozialen Bedingungen gelegt (Oswald und Roth 1987).

Eine Reihe von Studien zeigte, dass der Gemütszustand oder die Motivation der Testteilnehmer keine Determinante bezüglich der Testauswertung darstellt (Alvarez

1962). Außerdem konnten Studien bei Teilnehmern mit zerebralen Läsionen zeigen, dass der TMT, v.a. Teil B sehr sensitiv Hirnschädigungen misst, unabhängig von Ursache oder Lokalisation (Lateralisation) der Schädigung (Reitan und Wolfson 1993).

3.2.3 Aufmerksamkeits-Belastungstest, Test d2

Als Vorlage des Aufmerksamkeits-Belastungstests, diente die neunte überarbeitete und neu normierte Auflage von Rolf Brickenkamp, die auch als Quelle zur weiteren Beschreibung des d2 im Folgenden diente (Brickenkamp 2001).

Entwickelt wurde der Test ursprünglich im Institut für Sicherheit in Bergbau, Industrie und Verkehr des Technischen Überwachungs-Vereins Essen zur Beurteilung der Krafftahreignung, v.a. gestützt auf Untersuchungen von Lauer (Lauer 1955). Die erste Auflage des daraus weiterentwickelten Tests d2 erschien 1962 (Brickenkamp 1962).

Eingesetzt wird der Test inzwischen v.a. in der klinisch-medizinischen Psychologie, u.a. bei schizophrenen Patienten, aber auch in vielen anderen Teilbereichen, wie z.B. in Arbeits-, Sport-, Pädagogischer-, oder Pharmakopsychologie.

Der Test d2 misst als Durchstreichtest Tempo und Sorgfalt des Arbeitsverhaltens bei der Unterscheidung ähnlicher visueller Reize (Detaildiskrimination) und ermöglicht damit die Beurteilung individueller Aufmerksamkeits- und Konzentrationsleistungen.

Die Testdurchführung erfordert zwar ein hohes Maß an Aufmerksamkeit und Konzentration, aber keine speziellen Fertigkeiten und Fähigkeiten, da sie nicht mehr als die Unterscheidung der Buchstaben d und p voraussetzt und somit von Probanden unterschiedlichster Bildung vollzogen werden kann.

3.2.3.1 Testaufbau

Der d2 besteht aus einem Testbogen, auf dem zum Kennenlernen der Technik vor der Testabnahme erklärt und geübt wird und einem gesonderten Testbogen mit 14 Testzeilen à 47 Zeichen.

Insgesamt finden sich 16 verschiedene Zeichen, die aus der Kombination der Buchstaben d und p mit einem, zwei, drei, oder vier Strichen entstanden sind.

3.2.3.2 Testdurchführung

Der Test kann sowohl als Einzel- als auch als Gruppenversuch durchgeführt werden. Da für die hier beschriebene Studie nur die Einzelversuche zur Anwendung kamen, wird der Test im Folgenden als Einzeltest beschrieben.

Unterlagen:

Ein vollständiger Testsatz besteht neben der Handanweisung zur standardisierten Durchführung aus einem Testbogen, zwei Auswertungsschablonen und einem Auswertungsformblatt. Außerdem werden Schreibwerkzeuge und eine Stoppuhr benötigt.

Ablauf:

Angaben zur Person, in unserem Fall der siebenstellige Code zur Datenanonymisierung, sowie Alter, Geschlecht, Schulbildung und eventuelle Benutzung von Sehhilfen werden abgefragt und sofern nicht schon notiert, auf dem Testbogen vermerkt. Eine Übungsreihe auf dem Testbogen dient zur standardisierten Anweisung des Testablaufes, sowie zur beispielhaften Bearbeitung von Zeichen durch die Testperson.

Aus dieser gemischten Reihenfolge soll jedes d, das mit zwei Strichen versehen ist durchgestrichen werden, während alle übrigen Zeichen als irrelevant erkannt und nicht durchgestrichen werden sollen, da sie sonst als Fehler berechnet werden (Verwechslungsfehler). Dabei wird außerdem, wie in Kapitel 3.2.3.3 beschrieben, zwischen Auslassungsfehlern (nicht markierte d's mit zwei Strichen) und Verwechslungsfehlern unterschieden.

Zum Durchstreichen hat der Proband pro Zeile 20 Sekunden Zeit, die der Versuchsleiter stoppt und dem Proband mit dem Ausruf „Halt, nächste Zeile“ signalisiert. Der Proband markiert das zuletzt visuell bearbeitete Zeichen mit einem

Strich hinter diesem Zeichen, so dass bei der Auswertung die Gesamtzahl bearbeiteter Zeichen inklusive Fehler (GZ) abgelesen werden kann. Insgesamt soll so schnell und so fehlerfrei wie möglich gearbeitet werden. Für jede der insgesamt 14 Zeilen hat der Proband 20 Sekunden Zeit, was (vorherige Erläuterungen abgezogen) eine Testdauer von 280 Sekunden (4,66 Minuten) ergibt.

3.2.3.3 Testauswertung

Mit den zwei im Testsatz enthaltenen Auswertungsschablonen wird die Identifikation von Auslassungsfehlern (F1, fälschlicherweise nicht markierte d's mit zwei Strichen) und Verwechslungsfehlern (F2, fälschlicherweise markierte Zeichen), sowie das Ablesen von GZ (Zeichenanzahl vor dem zuletzt markierten Leerzeichen, das der Proband nach 20 Sekunden erreicht hat) erleichtert.

Das Auswertungsformblatt enthält neben dem Schema zur Aufnahme der Testergebnisse (GZ, F, FPR, GZ-F, KL) und deren Transformation in Prozentränge und Standardwerte, ein Diagramm, das die Testergebnisse (insbesondere das Verhältnis von quantitativer und qualitativer Leistung) besser veranschaulichen soll.

Normwerte:

In der angewendeten 9. Auflage des Manuals zum Test d2 (Brickenkamp 2001) stehen zwei deutsche Normen zur Verfügung, die auf unterschiedlichen Stichproben beruhen: einer deutschen Stichprobe der Bundesanstalt für Arbeit (BA) in Nürnberg 1994 (N = 3275), basierend auf einer selektiven Stichprobe von Ratsuchenden beim Psychologischen Dienst der BA, die eine Aus- bzw. Weiterbildung unterhalb der Hochschulebene anstrebten, und einer deutschen Eichstichprobe (N = 3176) aus dem Jahre 2000 (Brickenkamp 2001).

Letztgenannte wird als bevölkerungsrepräsentativer Standard vorgeschlagen. Sie enthält für nahezu alle zu erwartenden Rohwerte von GZ, GZ-F und KL die zugehörigen Standardwerte (SW 70 bis 130), eine erweiterte tabellarische Darstellung der Prozentrangplätze für F % und F (PR = 1, 5, 10, 25, 50, 75, 90, 95, 99) und ist, da keine gravierenden geschlechtsspezifischen Unterschiede bei der

Bearbeitung des d2 nachweisbar waren, nur nach Altersklassen (9-10, 11-12, 13-14, 15-16, 17-19, 20-39 und 40-60 Jahre) aufgeschlüsselt.

Interpretation der Ergebnisse:

Brickenkamp und Karl verstehen unter Aufmerksamkeit oder Konzentration eine leistungsbezogene, kontinuierliche und fokussierende Reizselektion, die Fähigkeit eines Individuums, sich bestimmten (aufgaben-) relevanten internen oder externen Reizen selektiv, d.h. unter Abschirmung gegenüber irrelevanten Stimuli, ununterbrochen zuzuwenden und diese schnell und korrekt zu analysieren (Brickenkamp und Karl 1986).

Da der Test d2 eine auf externe visuelle Reize bezogene Konzentrationsleistung ist, ist er auch ein Test der individuellen Koordination von Antriebs- und Kontrollfunktionen, die sich in drei Verhaltenskomponenten manifestieren:

1. im Tempo bzw. in der Quantität, d.h. in der Menge des in einer bestimmten Zeiteinheit bearbeiteten Materials (Antrieb)
2. in der Qualität, d.h. der Güte, Sorgfalt und Genauigkeit der Bearbeitung, die sich invers aus dem Fehleranteil erschließen lässt (Kontrolle)
3. im zeitlichen Verlauf der Leistung, der Rückschlüsse auf Besonderheiten des Arbeitsverhaltens, wie Anfangserregung, Konstanz oder Instabilität, frühzeitige Sättigung, Ermüdung und dergleichen, ermöglichen soll (Kontrolle)

Dies spiegelt sich im Test unter folgenden Abkürzungen, bzw. beim Ablesen folgender Werte wieder:

GZ: der Leistungsrohwert = Bearbeitungstempo = Gesamtzahl bearbeiteter Zeichen inklusive Fehler

FPR: der Fehleranteil = F % = Fehler relativ = Sorgfalt, Leistungsgüte (je geringer der Fehleranteil, desto höher die Leistungsgüte)

GZ-F: der Gesamtleistungswert = fehlerkorrigierte Leistungsmenge = Konzentrationsleistungswert

Die Konzentrationsleistung ergibt sich aus der individuellen Koordination dieser Verhaltenskomponenten und ist damit ein Resultat aus dem Zusammenwirken von Antriebs- und Steuerungsinstanzen.

Weitere Werte sind:

- F:** der Fehlerrohwert, also die Summe aller Fehler absolut: F_1 plus F_2 , wobei F_1 die Auslassungsfehler bezeichnet und F_2 die Verwechslungsfehler. Dieser Wert ist zur Berechnung der anderen Messwerte nötig.
- SB:** die Schwankungsbreite, also die maximale minus die minimale Bearbeitungsmenge pro Zeile, steht für die Konstanz des Arbeitstempos während des Testverlaufs. Da die Schwankungsbreite als wenig reliabel gilt und meist von geringer diagnostischer Bedeutung ist, wurde auf eine Normierung dieses Wertes verzichtet und stattdessen F in die Normtabelle aus dem Jahre 2000 (s.o.) einbezogen.
- KL:** der verfälschungsresistente Konzentrationsleistungswert (im Gegensatz zu GZ-F) beschreibt die Anzahl der richtig durchgestrichenen Zeichen minus F_2 .
- Ü-Syndrom:** das Übersprungssyndrom gilt als Indiz für instruktionswidriges Probandenverhalten.

Das Interpretationsschema (Abb. 9) veranschaulicht die Struktur des im Manual vorliegenden Diagnosediagramms und gibt Hinweise für die Beurteilung individueller Leistungspositionen.

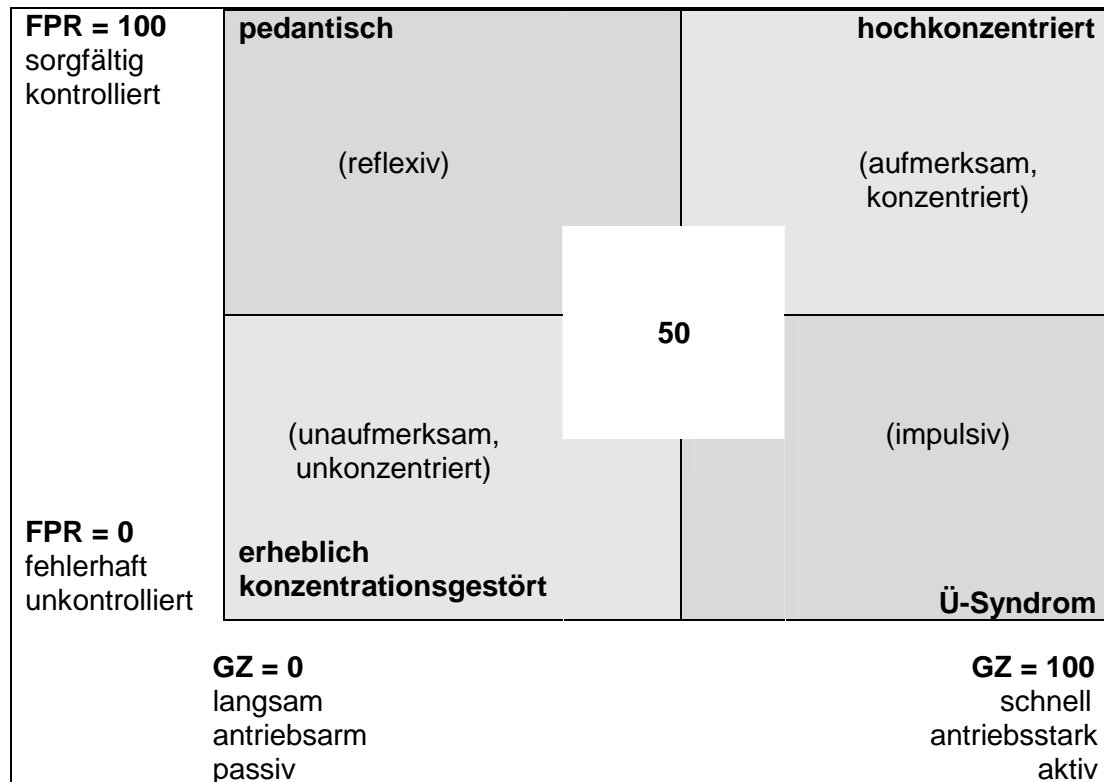


Abb. 9: **Interpretationsschema zum Test d2** (nach Brickenkamp 2001)

y-Achse: FPR (Sorgfalt, bzw. Leistungsgüte)

x-Achse: GZ (Bearbeitungstempo)

Der grau unterlegte Mittelbereich um den Prozentrangplatz (PR) 50 bezeichnet den Leistungsbereich, der sowohl quantitativ als auch qualitativ durchschnittliches Niveau repräsentiert.

Das allgemeine, normierte Leistungsniveau steigt also als Diagonale von links unten nach rechts oben an.

In der unteren Diagrammfeldhälfte zeigt sich das Ausmaß mit dem das Bearbeitungstempo der Leistungsgüte vorauseilt:

Im Extremfall, beim so genannten Ü-Syndrom (rechts unten), ist das Tempo so hoch und die Bearbeitungsqualität so gering, dass der Verdacht auf instruktionswidriges Verhalten gerechtfertigt erscheint.

Je langsamer und sorgfältiger (evt. übergenau) der Test bearbeitet wird, umso weiter entfernt sich die Leistungsposition von der Diagonale in Richtung linke obere Ecke, je unkonzentrierter und fehlerreicher gearbeitet wird in Richtung linke untere Ecke.

Damit liegen überdurchschnittliche, hervorragende Ergebnisse für Konzentrationsleistung im rechten oberen Feld.

3.2.3.4 Gütekriterien

Objektivität:

Durch standardisierte Instruktionen und Untersuchungssituationen ist die Durchführungsobjektivität gegeben. Klare und eindeutige Auswertungsregeln sichern die Auswertungsobjektivität, während Interpretationsobjektivität durch die Normierung des d2 gewährleistet wird (Brickenkamp 2001).

Reliabilität:

Insgesamt sprechen die Reliabilitätskoeffizienten der Skalen für GZ, GZ-F und KL (Koeffizienten regelmäßig über $r = 0,90$) für eine sehr hohe Zuverlässigkeit. Die Skalen für F und FPR erwiesen sich als befriedigend bis hoch zuverlässig (Brickenkamp 2001).

Validität:

Psychologische, Konstrukt- und empirische Validität erwiesen sich in allen Bereichen als mindestens gut (Brickenkamp 2001).

3.3 Laborverfahren

Die Laborverfahren wurden nach Standardprotokollen der Sektion Molekulare und Klinische Neurobiologie, Klinikum für Psychiatrie der Ludwig Maximilians Universität (LMU) München durchgeführt.

3.3.1 DNA-Extraktion

DNA kann u.a. aus Blut, Lymphozyten und Hirngewebe gewonnen werden. Bei den Probanden der vorliegenden Studie wurde mit EDTA-Monovetten Blut entnommen um die Blutgerinnung im Entnahmeröhrchen zu verhindern. Nach Kennzeichnung mit

dem siebenstelligen Code zur Wahrung der Anonymität, wurde aus dem gewonnenen Blut die DNA-Extraktion nach dem QIAamp Blood Maxi Kit (QIAamp DNA Blood Midi/Maxi Handbook, Firma Qiagen, Hilden, Germany, 2005) durchgeführt.

Um die genomische DNA der Zellen zugänglich zu machen, wurde dabei zunächst eine Auflösung der Leukozytenmembranen durchgeführt, durch die die Nukleinsäuren freigesetzt und die denaturierten Proteine fragmentiert wurden. Zur erleichterten Proteinfragmentierung wurden 5-10 ml Blut mit 500 µl Proteinkinase K versetzt. 12 ml AL-Lysepuffer schafften dabei optimale Reaktionsbedingungen für die verwendete Protease. Mit Guanidin-HCL wurde der DNA die Hydrathülle entzogen um eine bessere Bindung an die später benötigte Silikagelmembran zu ermöglichen. Um eine komplette Zelllyse zu erreichen und möglichst viel DNA zu gewinnen, folgte eine 2 minütige Mischung auf dem Vortexer sowie eine 30 minütige Inkubation im Wasserbad unter gleichmäßigem Schütteln bei 70°C.

Für die Fällung der genomischen DNA auf die Silikatmembran der Extraktionssäule wurden 10 ml Ethanol (96-100%ig) zu der Probe gegeben und erneut 2 Minuten auf dem Vortexer gemischt. Anschließend konnte die Lösung sukzessiv auf die Silikatmembran gegeben werden und die Extraktionssäule jeweils für 3 Minuten bei 3000rpm (Umdrehungen pro Minute) zentrifugiert werden.

Für den Erhalt einer gereinigten DNA, wurden 5 ml eines Guanidin-HCL haltigen Waschpuffers hinzugefügt, sowie 1 Minute bei 5000rpm zentrifugiert. Die im Lysat vorherrschenden pH- und Salzkonzentrationsbedingungen ermöglichen, dass DNA an die Membran gebunden bleibt, während RNA-, Proteine oder andere Kontaminationen ausgewaschen werden. Anschließend wurden die Guanidinsalze durch Zugabe eines ethanolhaltigen Waschpuffers (5 ml) und 15 minütige Zentrifugation bei 5000rpm wieder entfernt.

Mit Hilfe von 2x650µl eines basischen Tris-Puffers (pH > 9,0) wurde die zuvor unter saurem Milieu gebundene DNA wieder von der Membran gelöst (eluiert). Dazu wurde dieser AE-Puffer direkt auf die Silikagelmembran pipettiert, die anschließend 5

Minuten bei Raumtemperatur inkubiert und für weitere 5 Minuten bei 5000rpm zentrifugiert wurde.

3.3.2 Bestimmung der DNA-Konzentration

Zur DNA-Konzentrationsbestimmung wurde PicoGreen Lösung eingesetzt, ein für doppelsträngige DNA hochselektiver Farbstoff, der in DNA interkaliert und nach Anregung fluoresziert, so dass kleinste Mengen DNA quantifiziert werden können (Invitrogen 2008).

Zur Erstellung einer Standardverdünnungsreihe wurde DNA der Firma Clontech mit bekannter Konzentration von 100 ng/μl verwendet. Diese Konzentration wurde schrittweise mit Tris-Ethylendiamintetraacetat Puffer (TE) verdünnt auf 50 ng/μl, 25 ng/μl, 12,5ng/μl, 6,25 ng/μl, 3,125 ng/μl, 1,5625 ng/μl und 0,78125 ng/μl, so dass insgesamt acht Verdünnungen entstanden.

Die Konzentrationsbestimmung wurde in 96 well Platten durchgeführt. Zur Vorbereitung dieser Messplatte wurde je 2 x 5 μl der DNA-Standardverdünnungsreihe sowie ebenfalls je 2 x 5 μl der zu messenden DNA-Proben in die Messplatte pipettiert.

Das gefrorene PicoGreen Reagenz wurde unter Lichtabschirmung (Alufolie) ca. 60 Minuten bei Raumtemperatur aufgetaut. Dann erfolgte die Verdünnung von 1:200 PicoGreen mit 1 x TE in lichtundurchlässigen 50ml Röhrchen, die auf dem Vortexer gemischt wurden. Mit einer Dispenser-Pipette wurden je 195 μl der PicoGreen Verdünnung auf die vorbereitete DNA-Lösung pipettiert und die Platte erneut unter Lichtschutz gebracht.

Die Fluoreszenzbestimmung erfolgte zügig durch einen Tecan Genios Fluoreszenzreader, da es bereits nach etwa 15 Minuten zu einem deutlichen Fluoreszenzabfall kommt.

Dabei wurde eine Anregungswellenlänge von 485 nm genutzt und die Emission bei 540 nm gemessen. Außerdem wurden 10 Lichtblitze bei einer optimalen Steigerung und Verzögerung mit einer Integrationszeit von 40 μs gemessen.

3 - Material und Methoden

Für die Standardkurve wurden die ermittelten Werte kalibriert. Bei der Qualitätskontrolle der erhobenen Standardkurve galt mindestens ein Pearsonscher Korrelationskoeffizient von $r = 99$.

Der optimale Messbereich liegt bei Konzentrationen zwischen 20 und 200 ng/μl, da in diesem Bereich ein lineares Fluoreszenzsignal besteht. Wurde dieser Bereich über- oder unterschritten, erfolgte die Messung erneut in anderer Verdünnung. Alle Lösungsproben wurden auf eine Konzentration von 50 ng/μl eingestellt.

Die weitere Untersuchung der DNA wurde im Genetic Research Centre (GRC) vorgenommen, wo alle Proben in Hinblick auf SNPs (Single Nucleotide Polymorphismen) genotypisiert wurden. Dazu wurde das iPLEX-Verfahren angewendet.

3.3.3 iPLEX-Verfahren

Das iPLEX-Verfahren beruht im Wesentlichen auf folgenden Schritten (Oeth et al. 2005, Abb. 10):

1. Eine konventionelle PCR-Reaktion zur Vervielfältigung des zu untersuchenden Genombereichs (Amplifikation mit PCR Produkt)
2. Eine weitere spezielle PCR-Reaktion, bei der für jedes Allel eines SNPs massenspezifische Produkte entstehen (iPLEX-Reaktion)
3. Die Messung der Massen im MassArray MALDI TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation Time-Of-Flight Mass Spectrometry) der Firma Sequenom (San Diego, CA) mit anschließender Darstellung des Spektrums

Das Besondere am iPLEX-Verfahren ist die Möglichkeit der Multiplex-Reaktionen, was die gleichzeitige Durchführung von 35 - 40 PCR-Reaktionen bedeutet.

So können zu einer DNA-Lösung eines Probanden bis zu 40 Primerpaare gegeben und mit Enzym und Nucleotiden versetzt zur PCR-Reaktion gebracht werden, wobei 40 Amplifikate in einem Ansatz entstehen. Das MALDI-TOF Massenspektrometer erlaubt bei sehr hoher Sensitivität und Genauigkeit eine automatisierte Genotypisierung im Hochdurchsatz und Analyse von SNPs.

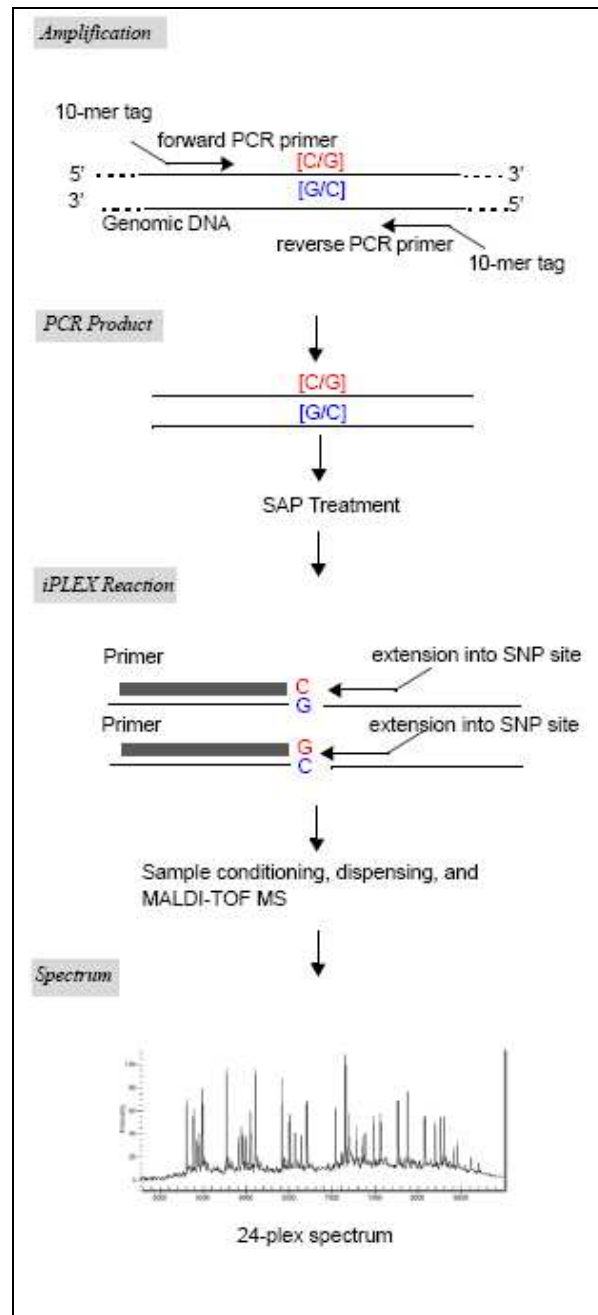


Abb. 10: **iPLEX Assay** - das Schema stellt einen einzelnen Assay dar (Oeth, P. et al. 2005)

3 - Material und Methoden

3.3.3.1 Schritt 1: die konventionelle PCR

Mit Hilfe der Polymerase Kettenreaktion kann DNA vervielfältigt, bzw. amplifiziert werden. Diese Methode wurde 1983 von Kary Mullis und seinen Mitarbeitern entwickelt (Mullis et al. 1990, Saiki et al. 1985). Eine spezielle, thermostabile DNA Polymerase (Syntheseleistung etwa 1000 Basenpaare (1kb) pro Minute) amplifiziert dabei ein DNA-Segment, wenn dies zwischen zwei Regionen bekannter Basensequenzen liegt. An diesen Regionen werden komplementäre Oligonukleotide (Primer) eingesetzt, die nach ihrer Bindung an die vorher aufgetrennten DNA Einzelstränge als Starterkennungspunkt für die Polymerase dienen. Bei geeignetem Puffersystem und ausreichend Desoxynukleotidtriphosphaten (dNTPs) als Bausteine, werden exakte Kopien der vorhandenen DNA-Fragmente synthetisiert. Bei der PCR erfolgt die Amplifikation der DNA-Sequenz, die den zu genotypisierenden Marker enthält. Sowohl die DNA Lösung (12,5 ng) als auch der PCR-Mastermix (PCR-Puffer, Nukleotid-Mix, Primer und Taq Polymerase) wurden mit Hilfe eines Pipettierroboters (Microlab 4000, Firma Hamilton) auf vier 96 well Platten (Firma ABgene) verteilt.

In jedes well wurden folgende Komponenten gegeben:

Tab. 6: **PCR Cocktail Mix** (GRC-Standard-Protokoll)

Reagenz	Konzentration in 5µl	Volumen (1rxn)	Hersteller
Reinstwasser	k. A.	1.850µl	Purelab ultra, Firma ELGA
PCR Puffer mit MgCl ₂ (10x)	1.25x	0.625µl	Firma Qiagen
MgCl ₂ (25mM)	1.625mM	0.325µL	Firma Qiagen
dNTP (Nukleotid) Mix (25mM)	500µM	0.100µl	Firma ABgene
Primer Mix (je 500nM)	100nM	1.000µl	Firma Sequenom
Hotstar Taq Puffer (5U/µl)	0,5U/rxn	0.100µl	Firma Qiagen
Genomische DNA (5ng/µL)	5ng/rxn	2.500µL	
Gesamt		6.500µL	

3 - Material und Methoden

Der Inhalt der vier 96 well Platten wurde anschließend auf einer 384 well Platte zusammengeführt und nach Zentrifugation für 1 min bei 2000 rpm (Zentrifuge 5810R, Firma Eppendorf) in einem Thermocycler (GeneAmp PCR System 9700, Firma Applied Biosystems) zur Polymerase Kettenreaktion (PCR) gebracht die aus drei Reaktionsschritten besteht, welche sich zyklisch wiederholen:

1. **initiale Denaturierung** (Auftrennung): Erhitzen auf 94°C für 15 Minuten.
2. **Denaturierung**: Erhitzen auf 94°C für 20 Sekunden.
Die doppelsträngige DNA diffundiert in zwei Einzelsträngen auseinander.
3. **Annealing**: Die 30-sekündige Abkühlung auf 56°C ermöglicht die Anlagerung der forward- und reverse-Primer an die Einzelstränge der DNA.
4. **Elongation**: Die Synthese komplementärer DNA-Stränge in 5´-3´-Richtung durch die Polymerase erfolgt bei einer einminütigen Temperaturerhöhung auf 72°C, entsprechend dem Arbeitsoptimum der Taq-Polymerase.
5. **finale Elongation**: Es folgt eine erneute Erwärmung auf 72°C für 3 Minuten.

Schritt 2 bis 4 werden 45-mal wiederholt, so dass sich am Ende ausreichend Template für das weitere Vorgehen im Reaktionsansatz befindet. Gelagert werden kann das Produkt bei 4°C.

3.3.3.2 Dephosphorylierung

Um nicht integrierte Desoxynukleotide (dNTPs) zu dephosphorylieren und damit zu entfernen, werden folgende Schritte angeschlossen:

1. Mischung des SAP-Cocktails:

Tab. 7: **Zusammensetzung des SAP-Cocktails** (nach Oeth et al. 2005)

Reagenz	Volumen (1 rxn)	Hersteller
Reinstwasser	1.530µl	Sequenom
SAP Puffer 10x	0.170µl	Sequenom
SAP Enzym (1U/µl)	0.300µl	Sequenom
Total		2.000µl

3 - Material und Methoden

2. Zufügen von 2µl des SAP-Cocktails zu jeder 5µl PCR-Reaktion.
3. Mischen der Proben auf dem Vortexer.
4. Inkubieren der SAP behandelten PCR Probe in einem Standard Thermocycler:
 - 37°C für 20 Minuten
 - 85°C für 5 Minuten
 - Abkühlen auf 4°C

Shrimp Alkaline Phosphatase SAP (Firma Sequenom) inaktiviert dabei den Ansatz, so dass überschüssige dNTPs im nächsten Schritt die Reaktion nicht stören können. Wichtig ist, dass der Cocktail nach SAP-Zugabe auf dem Vortexer gut gemischt wird, da dies die dNTP Dephosphorylierung maximiert. Auch dieses Produkt kann bei 4°C gelagert werden.

3.3.3.3 Justierung der Extensionsprimer

Ein wichtiger Schritt für erfolgreiche iPLEX Reaktionen ist der Konzentrationsabgleich der Extensionsprimer. Charakteristisch für das MassArray MALDI-TOF MS ist das umgekehrte Verhältnis zwischen dem Signal-Rausch-Verhältnis des Analyten und gesteigerter Massenumsetzung. Je größer das Extensionsprodukt, desto kleiner ist das Signal-Rausch-Verhältnis. In extremen Fällen kann das Signal nicht mehr vom Rauschen unterschieden werden. Daher stellt eine Methode zur Justierung der Extensionsprimer die Einteilung nach ihrer Masse dar - in eine leichte und eine schwere Gruppe. Bei der schweren Gruppe wird die Konzentration zur Unterscheidung anschließend verdoppelt.

3.3.3.4 Schritt 2: die iPLEX-Extensions-Reaktion

Bei der Extensions-Reaktion handelt es sich um eine PCR-Reaktion mit modifizierten Bedingungen, so dass für jedes Allel eines SNPs massenspezifische Primerextensionsprodukte synthetisiert werden. Diese Extensionsprimer werden

3 - Material und Methoden

dabei so designed, dass sie sich unmittelbar vor dem zu untersuchenden SNP an das PCR-Produkt anlagern. Es wird ein modifizierter Terminationsmix (Firma Sequenom) verwendet, der für alle Extensionsprodukte genutzt werden kann.

Für die Primerextensionsreaktion werden folgende Reagenzien gemischt (Tabelle 8):

Tab. 8: Zusammensetzung des iPLEX-Cocktails (GRC-Standard-Protokoll)

Reagenz	Volumen	Hersteller
Reinstwasser	0.755µl	Sequenom
iPLEX Puffer Plus(10x)	0.200µl	Sequenom
iPLEX Terminationsmix	0.200µl	Sequenom
Primer Mix (7µM:14 µM)*	0.804µl	Sequenom
iPLEX Enzyme	0.041µl	Sequenom
Total	2.000µl	

*7µM and 14µM kennzeichnet die verdoppelte Konzentration zur Primerjustierung der schweren Primergruppe. Primer der leichten Gruppe sollten mit 0.625µM und Primer der schweren Gruppe mit 1.25µM in die finale Reaktion gegeben werden.

Den für die Extension verwendeten Didesoxynucleotiden fehlt am 3'Ende ein Sauerstoffatom, so dass die Polymerase beim Treffen auf ein solches Nucleotid keine Phosphodieesterbindung zum nächsten Nucleotid bilden kann und die Replikation an dieser Stelle gestoppt wird.

Der Gebrauch von Didesoxynucleotiden führt demnach zu einer Verlängerung um lediglich eine einzige Base (single base extension, SBE), so dass DNA Fragmente unterschiedlicher Masse entstehen. Außerdem haben die Didesoxynucleotide spezielle funktionelle Gruppen, die ihre Massen leichter unterscheiden lassen.

Der iPLEX Cocktail (Tabelle 8) wurde jedem der 384 *wells* zugegeben und anschließend die PCR-Reaktion im Thermocycler durchgeführt.

3 - Material und Methoden

Reaktionsablauf:

1. **initiale Denaturierung:** Erhitzen auf 94°C für 30 Sekunden.
2. **Denaturierung:** Erhitzen auf 94°C für 5 Sekunden.
3. **Annealing:** 5 Sekunden Abkühlung auf 52° C - ermöglicht die Anlagerung des Extensions-Primers direkt neben dem SNP.
4. **Elongation:** Temperaturerhöhung auf 80° C für 5 Sekunden.
5. **finale Elongation:** Temperaturerhöhung auf 72° C für 3 Minuten entsprechend dem Arbeitsoptimum der Taq-Polymerase.

Schritt 2 bis 4 wird vierzigmal durchlaufen. Innerhalb jedes dieser Zyklen erfolgt eine fünfmalige Wiederholung von Schritt 3 und 4, so dass sich eine Gesamtzyklenzahl von 200 (5 x 40) ergibt. Schritt 5 findet nach diesen 200 Zyklen statt. Die Proben werden auf 4°C abgekühlt und können so gelagert werden.

3.3.3.5 Entsalzung mit Clean Resin

Nach dieser PCR werden die Proben mit dem Ionenaustauscherharz Clean Resin (Firma Sequenom) entsalzt, um die Spektrometeranalysen zu optimieren. Verunreinigungen mit Kalium- (38 Da) oder Natriumionen (22Da) können eine präzise heterozygote Alleldiskrimination für SNPs wie A/C (24Da) und C/G (40Da) komplizieren.

Tabelle 9 zeigt die Massenunterschiede der Allele, die sich alle um mindestens 15 Da unterscheiden.

Tab. 9: **Massenunterschiede innerhalb der iPLEX-Produkte** (Oeth et al. 2005)

Terminator	A	C	G	T
A	0	-24	16	55,9
C	24	0	40	70,0
G	-16	-40	0	39,9
T	-55,9	-79,9	-39,9	0

Zum Entsalzen werden die Proben mit 25µl Wasser und 6mg Resin verdünnt.

3 - Material und Methoden

3.3.3.6 Schritt 3: Messung im MALDI-TOF

Zur Analysierung der verwendeten iPLEX SpectroCHIP® Bioarrays wurde eine MassARRAY Workstation Version 3.3 Software genutzt (Firma Sequenom).

Prinzip des MALDI-TOF:

Die Proben bzw. Primerextensionsprodukte werden bei dieser Methode in eine Matrix eingebracht, die aus der organischen 3-Hydroxypicolinsäure (3-HPA) besteht. Diese verhindert das Auskristallisieren der Proben-DNA, welche die Messung stark erschweren würde.

Die Reaktionslösung wurde auf einen Siliziumchip (Firma Sequenom) unter Einsatz des MassARRAY Nanodispenser (Firma Sequenom) übertragen. Auf jedem SpectroCHIP® stehen 384 Spots aus 3-HPA zur Verfügung. Zur Kalibrierung des Massenspektrometers dienen zehn weitere Spots, sowie eine Mischung von Oligonukleotiden bekannter Masse. Ein Chipschlitten führt den SpectroCHIP® in das MassARRAY MALDI-TOF Massenspektrometer (Firma Sequenom) ein.

Im Massenspektrometer wird die Matrix und damit die Probe durch einen intensiven Laserpuls von wenigen Nanosekunden verdampft und zugleich ionisiert. Dies ist nötig, da nur geladene Teilchen im MALDI-TOF MS gemessen werden können. Die entstandenen Ionen werden in einem Vakuum beschleunigt, wobei ihre Flugdauer in einer feldfreien Driftstrecke (Flugrohr) gemessen wurde. Da sie hier abhängig von Masse bzw. Ladungsverhältnis (m/z) aufgetrennt werden, kann über die Zeitdifferenz beim Auftreffen auf den Detektor ein Rückschluss über die Masse gemacht werden, da gilt: Je schwerer ein Ion, desto langsamer fliegt es. So lässt sich die molekulare Masse exakt bestimmen.

3 - Material und Methoden

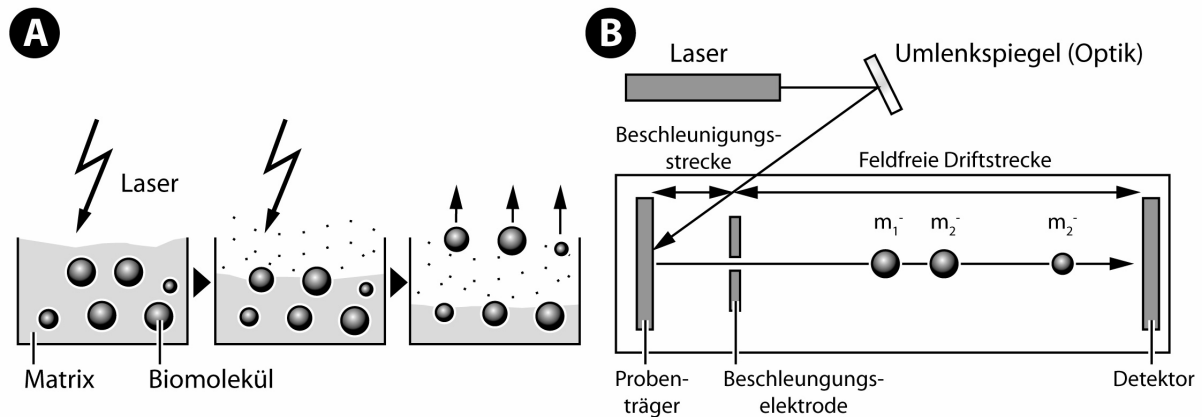


Abb. 11: **Schematische Darstellung des Aufbaus eines Massenspektrometers**

A: Ionisation der Proben: Durch den Laserbeschuss treten die Proben in einfach geladene Ionen über.
B: Beschleunigungsstrecke und Flugrohr: Aufgrund ihres m/z -Verhältnisses kommen die Ionen unterschiedlich schnell an dem Detektor an, werden dort registriert und mit der oben genannten Software einem Genotyp zugeordnet.

SNP-Detektion mit dem MALDI-TOF:

Wird beispielsweise ein A/G-Single Nucleotid Polymorphismus (SNP) untersucht, so wird an den Extensionsprimer bei Vorhandensein eines Adenins ein Didesoxythymine angehängt und bei Vorhandensein eines Guanins ein Didesoxycytosin. Für jeden SNP können sich in Abhängigkeit vom Genotyp nur zwei diskrete Massen ergeben. Die Identifikation des vorliegenden Genotyps erfolgte mit der TYER Analyzer 3.3.0 Software (Firma Sequenom), der sowohl die Masse des Extensionsprimers als auch die Massen der Didesoxynucleotide bekannt sind.

Da jede gemessene Masse einen Peak erzeugt, ergeben sich für das o.g. Beispiel drei Varianten:

1. Der Proband ist homozygot für Adenin (A): großer Peak bei der für A berechneten Masse.
2. Der Proband ist homozygot für Guanin (G): großer Peak bei der für G berechneten Masse.
3. Der Proband ist heterozygot (A/G): zwei kleinere Peaks – einer bei A und einer bei G.

3 - Material und Methoden

3.3.4 Assaydesign

Der Assay für den SNP rs904053 und für rs4732640 wurde mit Hilfe der Spectro Designer Software (Firma Sequenom, San Diego, CA) konzipiert. Die flankierenden Sequenzen (siehe Tabelle 10) sind über das NCBI (National Centre für Biotechnology Information) recherchierbar (NCBI, 2009).

Tab. 10: **SNP Informationen für rs904053 und rs4732640**

SNP ID	Allele	Funktion	Chromosom	Chromosom 8 Position	Contig Accession Nr.
rs904053	C/T	3' Genregion zu PNOG und ZNF395	8	28258855	NT_023666.17
rs4732640	A/T	3' Genregion zu PNOG und Intron 4 von ZNF 395	8	28268555	NT_023666.17

Tab. 11: **Verwendete Primer für SNP rs904053 und rs904053**

SNP ID	forward Primer	reverse Primer	Extensionsprimer	Fragment länge
rs904053	ACGTTGGATGAACAG CACTCTCATAGGG	100	GTTATTTATAAT AGGGAACCCA	126
rs904053	ACGTTGGATGAGTTT TTCTAGGACACAGGC	98	TAGGACACAGGC AATAAATACAC	126

3.4 Statistische Auswertung

Die statistischen Auswertung wurde mit der Software *Statistical Package for Social Sciences* durchgeführt (SPSS Version 14.00 Inc, Chicago 2005). Dabei wurde die Genotypverteilung auf das Vorliegen des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts überprüft und Unterschiede in den Häufigkeiten der Allele und Genotypen mit dem

3 - Material und Methoden

zweiseitigen Chi-Quadrat-Test (χ^2 -Test) bei Patienten und Kontrollprobanden verglichen. Um den Einfluss der Covariablen Geschlecht (männlich, weiblich), Alter und Schulbildung (Hauptschulabschluss, Realschulabschluss, Abitur) zu überprüfen wurde zunächst ANOVA (*analysis of variance*) berechnet. Im Anschluss wurde MANCOVA (*multiple analysis of covariance*) mit den Genotypen oder Allelen als unabhängige Variablen und den Testwerten des ZVT/TMT und d2 als abhängigen Variablen durchgeführt. Geschlecht, Alter und Schulbildung wurden als Covariablen integriert.

Das Signifikanzniveau wurde als $p < 0.05$ definiert und $p < 0.1$ wurde als Trend festgelegt.

4 Ergebnisse

Im Rahmen der Studie zur Identifizierung von Assoziationen zweier Nukleotid-Polymorphismen im Prepronociceptin-Gen auf Chromosom 8 (rs904053 und rs4732640) mit kognitiver Leistungsgeschwindigkeit und Konzentration, wurden der Zahlenverbindungstest (ZVT) mit dem Trail-Making Test (TMT) und der Aufmerksamkeits-Belastungstest (d2), sowie eine Genotypisierung der beiden Polymorphismen durchgeführt, um auch Unterschiede in der Allelhäufigkeit zwischen der Gruppe der Kontrollprobanden und der Patientengruppe untersuchen zu können.

An der Studie nahmen insgesamt 370 Personen teil, darunter 190 Männer (51,4%) und 180 Frauen (48,6%). In der Kontrollgruppe befanden sich 259 Probanden (70%) und in der Patientengruppe 111 (30%). Im Mittel waren die Teilnehmer 44,91 Jahre alt (Minimum 19 Jahre, Maximum 74 Jahre), wobei sich innerhalb der Patientengruppe mehr jüngere Teilnehmer befanden als in der Kontrollgruppe (Tabelle 12):

Tab 12: Altersverteilung der Stichprobe

	N (Teilnehmerzahl)	Mittelwert	Standardabweichung
Kontrollprobanden	259	47,39	15,53
Patienten	111	39,12	10,23
Gesamt	370	44,91	14,63

df = 368

Neben Geschlecht, Alter und Gesundheitsstatus wurde auch die Schulbildung als Covariable in die Berechnung aufgenommen: 25,7% hatten einen Hauptschulabschluss, 36,8% Realschulabschluss und 37,6% das Abitur. Somit waren mehr Teilnehmer mit dem höchsten Schulabschluss vertreten.

4 - Ergebnisse

4.1 Analyse des PNOC Polymorphismus rs904053

Es wurde der Einfluss der genetischen Variation rs904053 in der 3'Region des PNOC-Gens mit der Leistung beim ZVT/TMT und d2 bei 314 Probanden ausgewertet. Unter diesen Teilnehmern befanden sich insgesamt 156 Männer (49,68%) und 158 Frauen (50,32%). Bei beiden Tests fand diese Betrachtung immer in Verbindung mit den drei Genotypen (AA/AG/GG) und den zwei Allelen Adenin, Guanin (A/G) statt.

Sowohl in der Kontrollgruppe, als auch bei den Patienten waren die Genotypen des Polymorphismus rs904053 innerhalb des Hardy-Weinberg-Equilibriums verteilt (Chi-square oder $\chi^2 = 0,347$, $df = 2$, $p = 0,841$).

4.1.1 Genotyp rs904053

4.1.1.1 Assoziation des Genotyps von rs904053 mit Schizophrenie

Die statistische Auswertung mittels der Varianzanalyse ergab die in Tabelle 13 veranschaulichte Genotypverteilung innerhalb der Probanden, in der deutlich wird, dass der homozygote Genotyp A/A sowohl bei Kontrollprobanden als auch bei Patienten am häufigsten vertreten ist mit insgesamt fast 60% (etwas häufiger bei den Patienten), gefolgt vom heterozygoten Genotyp A/G mit insgesamt über 36% (etwas häufiger bei den Gesunden).

Für den Genotyp ergab der Chi-Quadrat-Test $\chi^2 = 1,16$, $df = 2$, asymptotische (zweiseitige) Signifikanz $p = 0,56$, wobei 16,7% eine erwartete Häufigkeit kleiner 5 haben und die minimale erwartete Häufigkeit 3,39 ist. Da $\chi^2 < 3,39$ ist, ist die Verteilung der drei Genotypen (AA/AG/GG) des rs904053 unter den Studienteilnehmern unabhängig von deren Gesundheitsstatus (schizophren, nicht schizophren).

4 - Ergebnisse

Tab.13: Darstellung der Genotypverteilung des PNOC Polymorphismus rs904053

	Genotyp			Gesamt n (%)
	A/A (Adenin/Adenin) n (%)	A/G (Adenin/Guanin) n (%)	G/G (Guanin/Guanin) n (%)	
Kontrollen	140 (57,6%)	92 (37,9%)	11 (4,5%)	243 (100,0%)
Patienten	45 (63,4%)	22 (31,0%)	4 (5,6%)	71 (100,0%)
Gesamt	185 (58,9%)	114 (36,3%)	15 (4,8%)	314 (100,0%)

4.1.1.2 Assoziation von Testergebnissen und Genotypen des rs904053

Zahlenverbindungstest und Trail Making Test

Um Hinweise auf eine mögliche Assoziation eines Genotyps zur kognitiven Leistungsgeschwindigkeit und Konzentration zu erhalten, wurde beim Zahlenverbindungstest der Rohwert der Ergebnisse („ZVT RW“) für die Schnelligkeit (in Sekunden) in der gesamten Durchführung beurteilt.

Dies wird auch bei den zwei Teilen (A und B) des Trail Making Test betrachtet und hier mit „Sek“ (= Sekunden) bezeichnet. Außerdem wird beim Trail Making Test „Score“, das Endergebnis des Tests betrachtet: die Umrechnung der Zeit in die 4 Leistungsgruppen 0 bis 3, wobei 0 das beste Ergebnis darstellt, 3 das schlechteste.

Dies ist in nachfolgender Tabelle 14 dargestellt.

4 - Ergebnisse

Tab. 14: Resultate des ZVT/TMT assoziiert mit der Genotypenverteilung des PNOC
Polymorphismus rs904053

	Genotyp			F	p
	A/A (Adenin/Adenin) n =185	A/G (Adenin/Guanin) n = 114	G/G (Guanin/Guanin) n = 15		
	MW (SD)	MW (SD)	MW (SD)		
ZVT					
ZVT RW	77,31 (21,15)	76,93 (20,86)	86,24 (37,01)	4,45	0,012
TMT					
TMT A Sek	26,28 (9,05)	27,30 (10,99)	28,87 (11,12)	1,43	0,240
TMT A Score	0,54 (0,72)	0,62 (0,84)	0,87 (0,74)	2,47	0,086
TMT B Sek	72,50 (29,67)	72,87 (32,33)	77,20 (49,65)	1,56	0,211
TMT B Score	0,85 (0,96)	0,87 (0,97)	0,73 (1,03)	0,08	0,916

df=2/300

Es wurde ein signifikanter Zusammenhang gezeigt bei der Assoziation von erreichtem Rohwert im Zahlenverbindungstest (ZVT RW: F= 4,449, df=2/300, p=0.012) und den untersuchten Genotypen des Polymorphismus rs904053, wobei

4 - Ergebnisse

Träger des Genotyps G/G am schlechtesten abschnitten (Abb. 12). Hinweis auf eine mögliche Assoziation ($F=2.47$, $df=2/300$, $p=0.086$) der Leistung im Trail Making Testteil A und damit der generellen Gehirnfunktion mit den Genotypen des Polymorphismus rs904053 ergab auch die Untersuchung des TMT Score, wobei erneut G/G-Träger am schlechtesten abschnitten (Abb. 13).

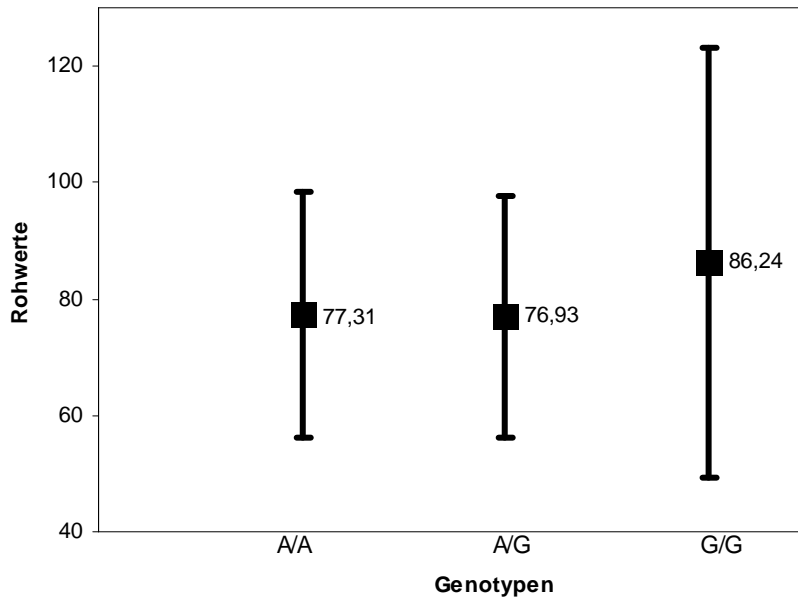


Abb. 12: ZVT RW (MW ± Standardabweichung) assoziiert mit der Genotypenverteilung des PNOC Polymorphismus rs904053

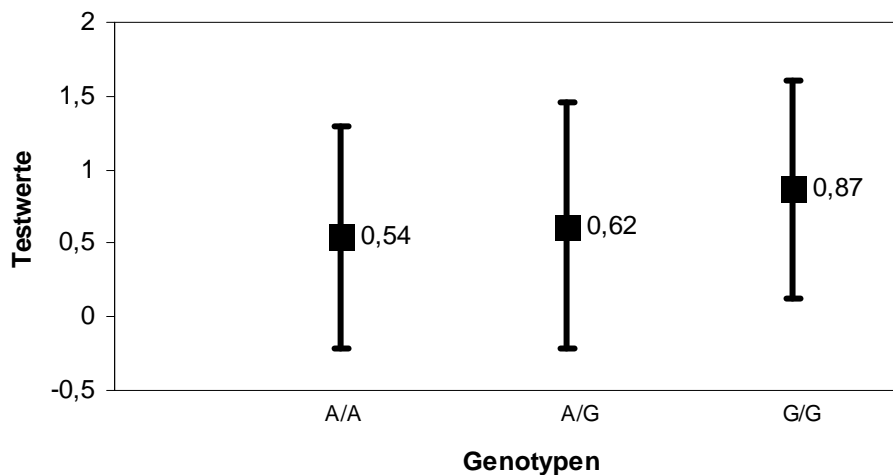


Abb. 13: TMT Testwerte des TMT A Score (MW ± Standardabweichung), assoziiert mit der Genotypenverteilung des PNOC Polymorphismus rs904053

Aufmerksamkeits-Belastungs-Test d2

Beim Aufmerksamkeits-Belastungs-Test d2 wurde betrachtet der Leistungsrohwert (GZ, Bearbeitungstempo bzw. Gesamtzahl bearbeiteter Zeichen inklusive Fehler),

4 - Ergebnisse

Fehlerrohwert (F, Summe aller Fehler absolut: $F1 + F2 = \text{Auslassungsfehler} + \text{Verwechslungsfehler}$), Gesamtleistungswert (GZ-F, fehlerkorrigierte Leistungsmenge) und Fehleranteil (FPR oder F %, Sorgfalt oder Leistungsgüte: je geringer der Fehleranteil, desto höher die Leistungsgüte).

Diese Werte wurden für die möglichen Genotypen in nachfolgender Tabelle berechnet (Tab. 15).

Tab. 15: Resultate des Aufmerksamkeits-Belastungs-Test d2 Tests assoziiert mit der Genotypenverteilung des PNOC Polymorphismus rs904053

	Genotyp				
	A/A (Adenin/Adenin) n =185	A/G (Adenin/Guanin) n = 114	G/G (Guanin/Guanin) n = 15		
	MW (SD)	MW (SD)	MW (SD)	F	p
D2 (Rohwerte)					
GZ	399,86 (85,28)	400,52 (79,91)	385,53 (104,77)	0,77	0,461
F	21,21 (22,16)	19,12 (14,24)	24,80 (19,44)	0,58	0,556
FPR	5,36 (5,29)	4,93 (3,69)	7,46 (8,79)	2,59	0,077
GZ-F	378,70 (84,39)	381,39 (80,12)	360,73 (109,59)	1,03	0,357

df=2/300

4 - Ergebnisse

Es zeigte sich bei der Untersuchung der Leistungsgüte bzw. Sorgfalt/Genauigkeit (FPR) im Aufmerksamkeits-Belastungs-Test d2 ein Trend ($F= 2,59$, $df=2/300$, $p=0,077$) mit dem Genotyp des Polymorphismus rs904053. Dabei erzielten wie beim Zahlenverbindungstest Probanden mit dem Genotyp GG die schlechtesten Ergebnisse (Abb. 14).

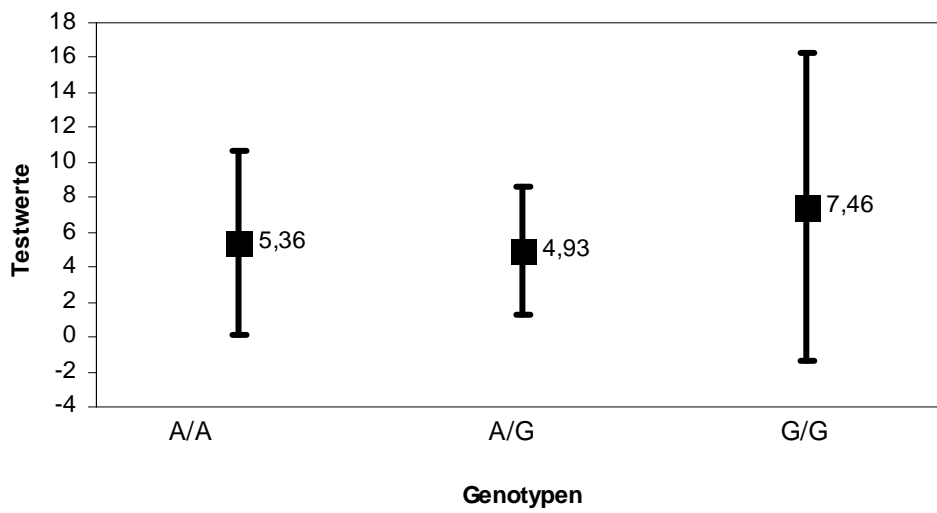


Abb. 14: d2 Testwerte des FPR (MW \pm Standardabweichung), assoziiert mit der Genotypenverteilung des PNOC Polymorphismus rs904053

Homo- und heterozygote Genotypen für das Adenin-Allel schnitten bei diesen Assoziationen insgesamt besser ab als Guanin-Homozygote.

4 - Ergebnisse

4.1.2 Allel rs904053

4.1.2.1 Assoziation der Allele von rs904053 mit Schizophrenie

Die statistische Auswertung mittels der Varianzanalyse ergab die in Tabelle 16 veranschaulichte Allelverteilung innerhalb der Probanden, wobei nach den absoluten Zahlen das Adenin-Allel mit 77,07% sehr viel häufiger vertreten als das Guanin-Allel (22,93%) ist.

Für das Allel ergab der Chi-Quadrat-Test $\chi^2 = 0,34$, $df = 1$, $p = 0,56$. Die Verteilung der zwei Allele (A und G) des SNP rs904053 unter den Studienteilnehmern, ist unabhängig von deren Gesundheitsstatus (schizophren, nicht schizophren).

Tab.16: Darstellung der Allelverteilung des PNOC Polymorphismus rs904053

	Allel		Gesamt n (%)
	A (Adenin) n (%)	G (Guanin) n (%)	
Kontrollen	186 (76,5%)	57 (23,5%)	243 (100,0%)
Patienten	56 (78,9%)	15 (21,1%)	71 (100,0%)
Gesamt	242 (77,07%)	72 (22,93%)	314 (100,0%)

4.1.2.2 Assoziation von Testergebnissen und Allelverteilungen des rs904053

Zahlenverbindungstest und Trail Making Test

Um Hinweise auf eine mögliche Assoziation eines Allels zur kognitiven Leistungsgeschwindigkeit und Konzentration zu erhalten, wurde wie bei den Genotypen der Rohwert der Zahlenverbindungstestergebnisse (RW) und beim Trail Making Test (Teil A und B) „Sek“ (Zeit) und „Score“ (Endergebnis) betrachtet und mit den möglichen Allelverteilungen assoziiert (Tabelle 17).

4 - Ergebnisse

Tab.17: Resultate des ZVT/TMT assoziiert mit der Allelverteilung des PNOC Polymorphismus rs904053

	Allel				
	A (Adenin)	G (Guanin)			
	n =484	n = 144	MW (SD)	MW (SD)	F
ZVT (Rohwerte)					
ZVT RW	77,22 (21,04)	78,87 (25,03)	5,531	0,019	
TMT					
TMT A Sek	26,52 (9,53)	27,63 (10,96)	2,490	0,115	
TMT A Score	0,56 (0,74)	0,67 (0,82)	4,15	0,042	
TMT B Sek	72,59 (30,25)	73,77 (36,22)	3,44	0,046	
TMT B Score	0,86 (0,96)	0,84 (0,98)	0,07	0,792	

df= 1/618

Auch bei den untersuchten Allelverteilungen des Polymorphismus rs904053, konnten signifikante Zusammenhänge mit Intelligenzleistungen bzw. kognitiver Leistungsgeschwindigkeit gezeigt werden:

4 - Ergebnisse

1. bei der Assoziation von erreichtem Rohwert im Zahlenverbindungstest (ZVT RW: $F= 5,53$, $df=1/618$, $p=0,019$),
2. bei der Assoziation von erreichtem Score im Trail Making Testteil A ($F= 4,15$, $df=1/618$, $p=0,042$)
3. bei der Assoziation von erreichter Zeit im Trail Making Testteil B ($F= 3,44$, $df=1/618$, $p=0,046$), wobei Träger des Allels Guanin immer am schlechtesten abschnitten (Abb. 15, 16 und 17).

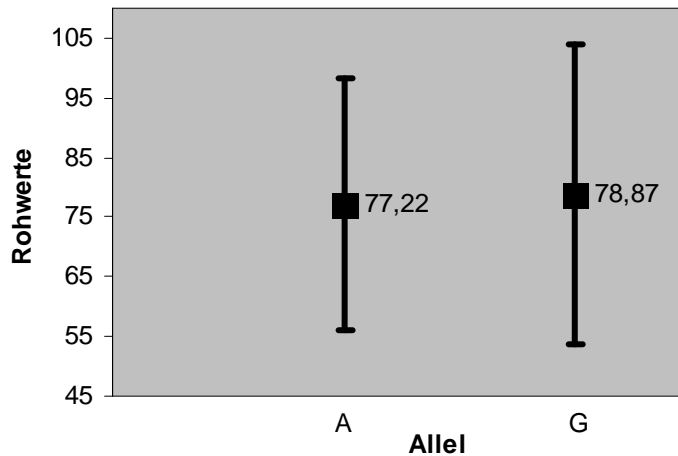


Abb. 15: ZVT RW (MW \pm Standardabweichung) assoziiert mit der Allelverteilung des PNOC Polymorphismus rs904053

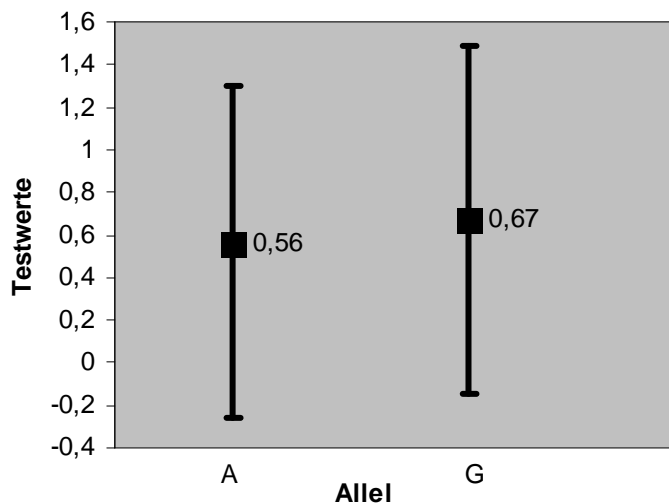


Abb. 16: TMT A Score (MW \pm Standardabweichung) assoziiert mit der Allelverteilung des PNOC Polymorphismus rs904053

4 - Ergebnisse

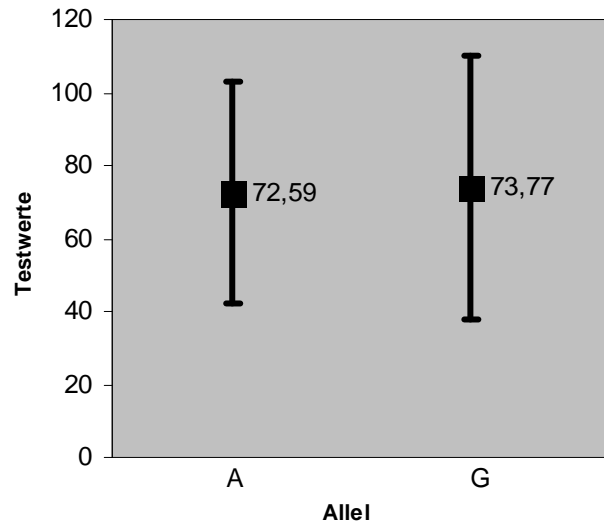


Abb. 17: TMT B Sek (MW ± Standardabweichung) assoziiert mit der Allelverteilung des PNOG Polymorphismus rs904053

Aufmerksamkeits-Belastungs-Test d2

Beim Test d2 wurde erneut GZ der Leistungsrohwert, F der Fehlerrohwert, GZ-F der Gesamtleistungswert und FPR die Sorgfalt oder Leistungsgüte betrachtet und mit den möglichen Allelverteilungen assoziiert (Tabelle 18).

4 - Ergebnisse

Tab.18: Resultate des Aufmerksamkeits-Belastungstest d2 assoziiert mit der Allelverteilung des PNOC Polymorphismus rs904053

	Allel			
	A (Adenin)	G (Guanin)		
	n =484	n = 144	F	p
	MW (SD)	MW (SD)		
D2 (Rohwerte)				
GZ	400,01 (83,88)	397,40 (85,04)	1,32	0,252
F	20,71 (20,55)	20,31 (15,48)	0,07	0,795
FPR	5,26 (4,96)	5,46 (5,19)	1,59	0,207
GZ-F	379,34 (83,24)	377,09 (86,57)	1,19	0,275

df= 1/618

Hier ergaben sich keine signifikanten Zusammenhänge oder Hinweise auf mögliche Assoziationen zwischen Testleistungen beim Aufmerksamkeitsbelastungstest d2 und den Allelverteilungen des Polymorphismus rs904053.

4 - Ergebnisse

4.2 Analyse des PNOC Polymorphismus rs4732640

Es wurde der Einfluss der funktionellen genetischen Variation rs4732640 in der 3'Region des PNOC-Gen und in Intron 4 von ZNF 395 auf Chromosom 8 auf die Leistung beim ZVT/TMT und d2 bei 370 Probanden deutschen Ursprungs aus dem Raum München untersucht. Unter diesen Teilnehmern befanden sich insgesamt 190 Männer (51,35%) und 180 Frauen (48,65%). Bei beiden Tests fand diese Betrachtung immer in Assoziation mit den Genotypen (AA/AT/TT) und den Allelen Adenin, Thymin (A/T) des Polymorphismus statt.

Sowohl in der Kontrollgruppe, als auch bei den Patienten waren die Genotypen dieses Polymorphismus rs4732640 innerhalb des Hardy-Weinberg-Equilibriums verteilt (Chi-square oder $\chi^2 = 0,633$, $df = 2$, $p = 0,997$).

4.2.1 Genotyp rs4732640

4.2.1.1 Assoziation des Genotyps von rs4732640 mit Schizophrenie

Die statistische Auswertung mittels der Varianzanalyse ergab die in Tabelle 19 veranschaulichte Genotypverteilung innerhalb der Probanden, wobei der homozygote Genotyp A/A nach den absoluten Zahlen am geringsten vertreten war (13,8%).

Für den Genotyp ergab der Chi-Quadrat-Test $\chi^2 = 3,04$, $df=2$, $p = 0,22$. Die Verteilung der drei Genotypen (AA/AG/GG) des rs4732640 unter den Studienteilnehmern war unabhängig von deren Gesundheitsstatus (schizophren, nicht schizophren).

4 - Ergebnisse

Tab.19: Darstellung der Genotypverteilung des PNOG Polymorphismus rs4732640

	Genotyp			Gesamt n (%)
	A/A n (%)	A/T n (%)	T/T n (%)	
Kontrollen	41 (15,8%)	119 (45,9%)	99 (38,2%)	259 (100,0%)
Patienten	10 (9,0%)	55 (49,5%)	46 (41,4%)	111 (100,0%)
Gesamt	51 (13,8%)	174 (47,0%)	145 (39,2%)	370 (100,0%)

4.2.1.2 Assoziation von Testergebnissen und Genotypen des rs4732640

Zahlenverbindungstest und Trail Making Test

Um Hinweise auf eine mögliche Assoziation eines Genotyps zur kognitiven Leistungsgeschwindigkeit und Konzentration zu erhalten, wurden beim Zahlenverbindungstest der erreichte Rohwert (RW), beim Trail Making Test (Teil A und B) die Bearbeitungszeit („Sek“) und die erreichte Gesamtpunktzahl „Score“ betrachtet und mit den möglichen Genotypen assoziiert (Tabelle 20).

4 - Ergebnisse

Tab. 20: Resultate des ZVT/TMT assoziiert mit der Genotypenverteilung des PNOC Polymorphismus rs4732640

	Genotyp				
	A/A (Adenin/ Adenin) n = 51	A/T(Adenin/ Thymin) n = 174	T/T(Thymin/ Thymin) n = 145		
	MW (SD)	MW (SD)	MW (SD)	F	p
ZVT					
ZVT RW	78,08 (24,89)	77,62 (20,82)	79,07 (23,76)	3,99	0,019
TMT					
TMT A Sek	28,06 (10,73)	26,96 (10,06)	26,99 (9,93)	0,58	0,560
TMT A Score	0,73 (0,85)	0,60 (0,79)	0,58 (0,74)	1,39	0,250
TMT B Sek	72,10 (32,94)	73,18 (31,27)	74,82 (32,75)	1,83	0,162
TMT B Score	0,84 (0,96)	0,89 (0,98)	0,88 (1,03)	0,37	0,692

df = 2/356

Es wurde ein signifikanter Zusammenhang gezeigt bei der Assoziation von erreichtem Rohwert im Zahlenverbindungstest (ZVT RW: F= 3,99, df=2/356,

4 - Ergebnisse

p=0.019) und den untersuchten Genotypen des Polymorphismus rs4732640, wobei Träger des Genotyps T/T am schlechtesten abschnitten (Abb. 18).

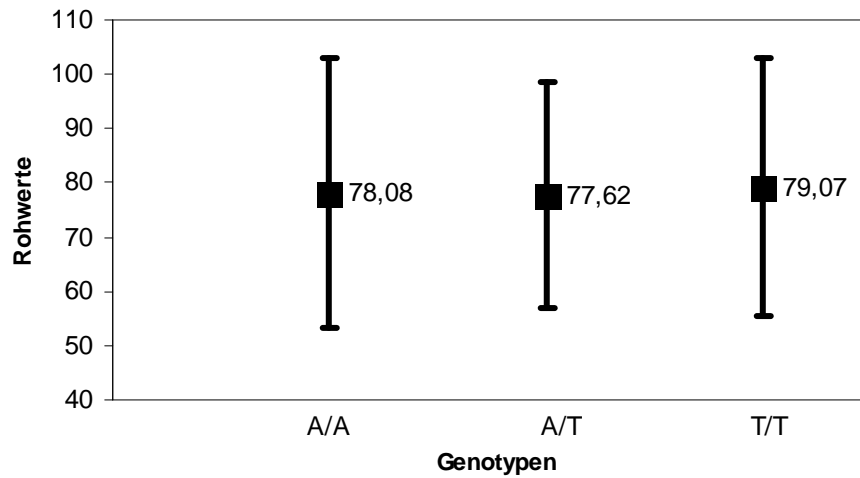


Abb. 18: ZVT RW (MW ± Standardabweichung) assoziiert mit der Genotypenverteilung des PNOG Polymorphismus rs4732640

Aufmerksamkeits-Belastungs-Test d2

Beim Aufmerksamkeits-Belastungs-Test d2 wurde betrachtet GZ der Leistungsrohwerwert (Bearbeitungstempo bzw. Gesamtzahl bearbeiteter Zeichen inklusive Fehler), F der Fehlerrohwerwert, GZ-F der Gesamtleistungswert (fehlerkorrigierte Leistungsmenge) und FPR der Fehleranteil (F %, Sorgfalt oder Leistungsgüte: je geringer der Fehleranteil, desto höher die Leistungsgüte).

Diese Werte wurden für die möglichen Genotypen in nachfolgender Tabelle berechnet (Tab. 21).

4 - Ergebnisse

Tab. 21: **Resultate des Aufmerksamkeitsbelastungstests d2 assoziiert mit der Genotypenverteilung des PNOC Polymorphismus rs4732640**

	Genotyp				
	A/A(Adenin/ Adenin)	A/T(Adenin/ Thymin)	T/T(Thymin/ Thymin)		
	n = 51	n = 174	n = 145		
	MW (SD)	MW (SD)	MW (SD)	F	p
D2 (Rohwerte)					
GZ	395,86 (87,14)	390,71 (81,54)	403,08 (89,94)	2,53	0,081
F	18,92 (13,59)	21,67 (20,53)	20,83 (21,22)	0,16	0,849
FPR	5,268 (5,50)	5,69 (5,76)	5,29 (4,97)	1,81	0,166
GZ-F	376,94 (88,82)	369,08 (81,35)	382,27 (89,78)	2,80	0,062

df = 2/356

Hinweis auf eine mögliche Assoziation der Leistung im Aufmerksamkeitsbelastungstest d2 mit den Genotypen des Polymorphismus rs4732640 ergab die Untersuchung von GZ, des Leistungsrohwerter (F= 2,53, df=2/356, p=0.081) und des Gesamtleistungswertes GZ-F (F= 2,80, df=2/356, p=0.062).

T/T-Träger schnitten erneut am schlechtesten bei Betrachtung des Leistungsrohwerter ab, beim Gesamtleistungswert jedoch erbrachten die

4 - Ergebnisse

heterozygoten A/T-Träger die schlechtesten Leistungen und T/T-Träger die besten (Abb. 19 und 20).

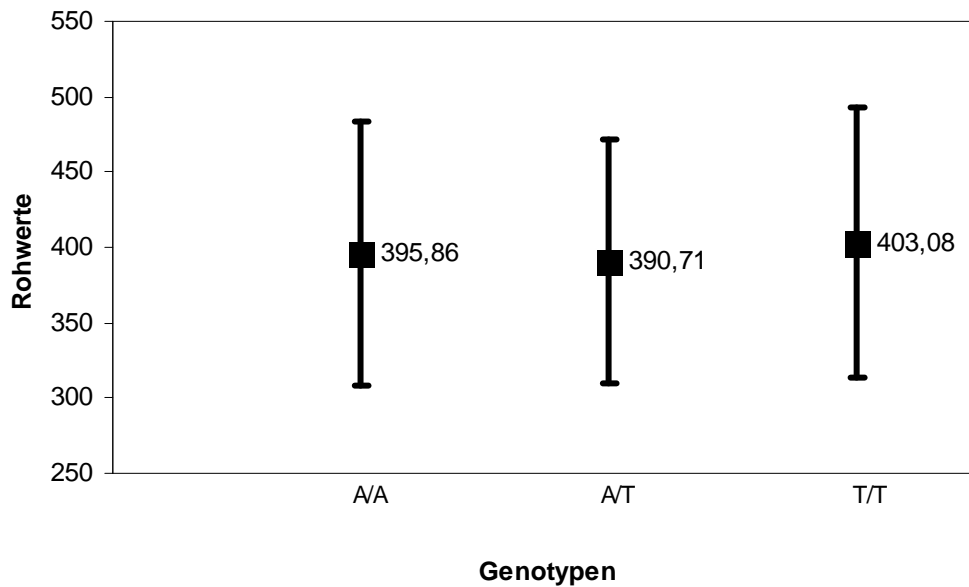


Abb. 19: D2 Rohwerte für GZ (MW \pm Standardabweichung) assoziiert mit der Genotypenverteilung des PNOC Polymorphismus rs4732640

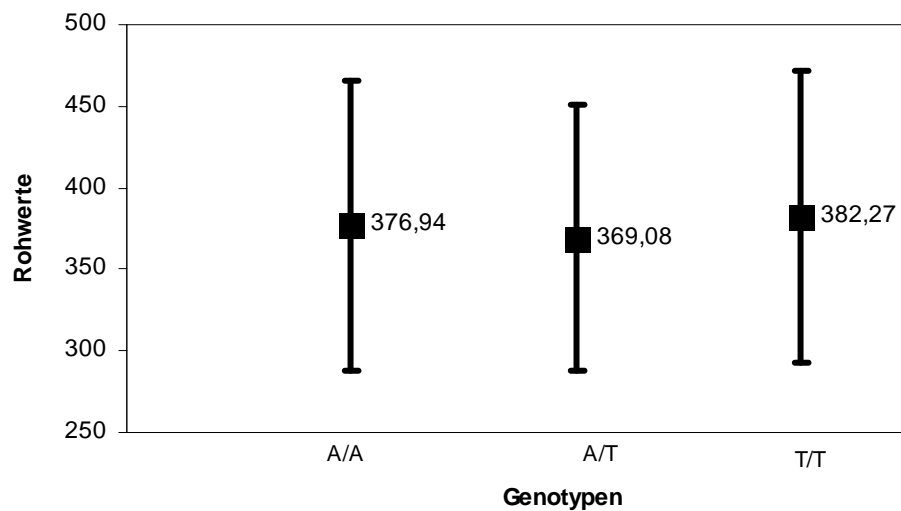


Abb. 20: D2 Rohwerte für GZ-F (MW \pm Standardabweichung) assoziiert mit der Genotypenverteilung des PNOC Polymorphismus rs4732640

4 - Ergebnisse

4.2.2 Allel rs4732640

4.2.3 Assoziation von Testergebnissen und Allelverteilungen des rs4732640

Für das Allel ergab der Chi-Quadrat-Test $\chi^2 = 1,67$, $df = 1$, $p = 0,20$. Die Verteilung der zwei Allele (A und T) des rs4732640 unter den Studienteilnehmern war unabhängig von deren Gesundheitsstatus (schizophren, nicht schizophren).

Die statistische Auswertung mittels der Varianzanalyse ergab die in Tabelle 22 veranschaulichte Genotypverteilung innerhalb der Probanden. Nach den absoluten Zahlen war das T-Allel mit 62,70% häufiger vertreten als das A-Allel (37,29%).

Tab.22: Darstellung der Allelverteilung des PNOC Polymorphismus rs4732640

	Allel		Gesamt n (%)
	A (Adenin) n (%)	T (Thymin) n (%)	
Kontrollen	201 (38,8%)	317 (61,2%)	518 (100,0%)
Patienten	75 (33,8%)	147 (66,2%)	222 (100,0%)
Gesamt	276 (37,29%)	464 (62,70%)	740 (100,0%)

4.2.3.1 Assoziation von Testergebnissen und Allelverteilungen des rs4732640

Zahlenverbindungstest und Trail Making Test

Um Hinweise auf eine mögliche Assoziation eines Allels zur kognitiven Leistungsgeschwindigkeit und Konzentration zu erhalten, wurde wie bei den Genotypen der Rohwert der Zahlenverbindungstestergebnisse (RW) und beim Trail Making Test (Teil A und B) „Sek“(Zeit) und „Score“ (Endergebnis) betrachtet und mit den möglichen Allelverteilungen assoziiert (Tabelle 23).

4 - Ergebnisse

Tab.23: Resultate des ZVT/TMT assoziiert mit der Allelverteilung des PNOC Polymorphismus rs4732640

	Allel			
	A (Adenin) n =276	T (Thymin) N = 464		
	MW (SD)	MW (SD)	F	p
ZVT				
ZVT RW	77,79 (22,32)	78,53 (22,66)	0,89	0,345
TMT				
TMT A SEK	27,37 (10,29)	26,98 (9,96)	1,27	0,260
TMT A SCORE	0,64 (0,81)	0,59 (0,76)	2,76	0,097
TMT B SEK	72,78 (31,78)	74,20 (32,14)	0,66	0,418
TMT B SCORE	0,87 (0,97)	0,88 (1,00)	0,39	0,531

df= 1/730

Hinweis auf eine mögliche Assoziation (F= 2,76, df=1/730, p=0.097) der Gesamtleistung „Score“ im Trail Making Testteil A und damit der generellen

4 - Ergebnisse

Gehirnfunktion mit den Allelverteilungen des Polymorphismus rs4732640 ergab die Untersuchung des TMT Score, wobei A-Träger schlechter abschnitten (Abb. 21).

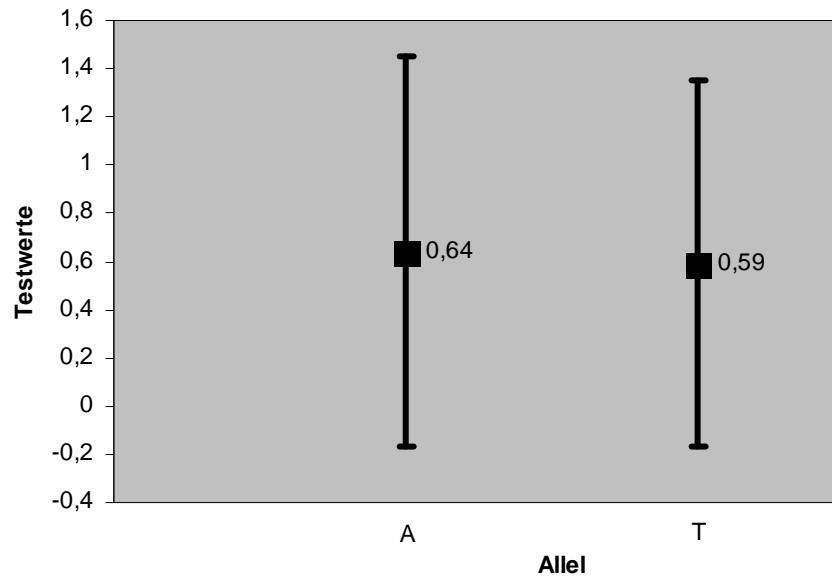


Abb. 21: TMT A Score (MW ± Standardabweichung) assoziiert mit der Allelverteilung des PNOC Polymorphismus rs4732640

4 - Ergebnisse

Aufmerksamkeits-Belastungs-Test d2

Beim Test d2 wurde erneut GZ der Leistungsrohwert, F der Fehlerrohwert, GZ-F der Gesamtleistungswert und FPR die Sorgfalt oder Leistungsgüte betrachtet und mit den möglichen Allelverteilungen assoziiert (Tabelle 24).

Tab. 24: Resultate des Aufmerksamkeitsbelastungstest d2 assoziiert mit der Allelverteilung des PNOC Polymorphismus rs4732640

	Allel			
	A (Adenin)	T (Thymin)		
	n =276	n = 464	F	p
	MW (SD)	MW (SD)		
D2 (Rohwerte)				
GZ	392,62 (83,37)	398,44 (86,90)	3,23	0,073
F	20,65 (18,28)	21,14 (20,93)	0,01	0,903
FPR	5,53 (5,65)	5,44 (5,27)	1,29	0,256
GZ-F	371,99 (83,94)	377,32 (86,76)	3,39	0,066

df= 1/730

Hinweis auf eine mögliche Assoziation der Leistung im Aufmerksamkeitsbelastungstest d2 mit den Allelverteilungen des Polymorphismus rs4732640 ergab die Untersuchung von GZ, des Leistungsrohwertes (F= 3,23,

4 - Ergebnisse

df=1/730, $p=0.073$) und des Gesamtleistungswertes GZ-F ($F= 3,39$, df=1/730, $p=0,066$), wobei A-Träger schlechter abschnitten (Abb. 22 und 23).

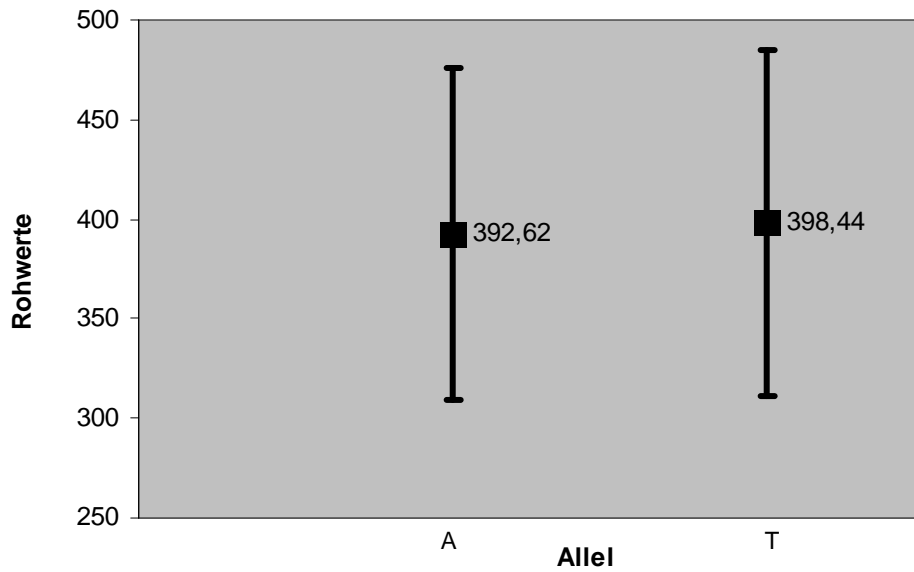


Abb. 22: GZ (MW \pm Standardabweichung) assoziiert mit der Allelverteilung des PNOC Polymorphismus rs4732640

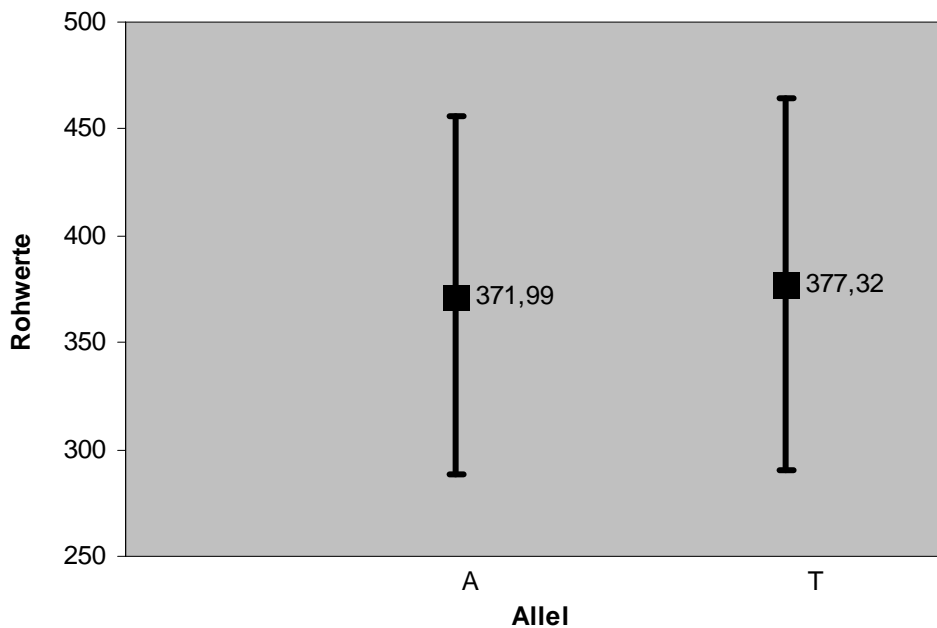


Abb. 23: GZ-F (MW \pm Standardabweichung) assoziiert mit der Allelverteilung des PNOC Polymorphismus rs4732640

4 - Ergebnisse

4.2.4 Zusammenfassung der Ergebnisse

4.2.4.1 Polymorphismus rs904053

Es wurde ein signifikanter Zusammenhang gezeigt bei der Assoziation von erreichtem Rohwert im Zahlenverbindungstest (ZVT RW: $F= 4,449$, $df=2/300$, $p=0.012$) und den untersuchten Genotypen des Polymorphismus rs904053, wobei Träger des Genotyps G/G am schlechtesten abschnitten (Abb. 20), sowie bei der Assoziation von erreichtem Rohwert im Zahlenverbindungstest (ZVT RW: $F= 5,53$, $df=1/618$, $p=0,019$) mit schlechterem Abschneiden des G-Allels.

Hinweis auf eine mögliche Assoziation ($F=2.47$, $df=2/300$, $p=0.086$) der Leistung im Trail Making Testteil A und damit der generellen Gehirnfunktion mit den Genotypen des Polymorphismus rs904053 ergab auch die Untersuchung des TMT Score, wobei erneut G/G-Träger am schlechtesten abschnitten bei der Assoziation von erreichtem Score im Trail Making Testteil A ($F= 4,15$, $df=1/618$, $p=0,042$) (Abb. 17).

Signifikante Zusammenhänge zwischen Allelverteilung und Intelligenzleistungen, bzw. kognitiver Leistungsgeschwindigkeit, zeigten sich auch bei der Assoziation von erreichter Zeit im Trail Making Testteil B ($F= 3,44$, $df=1/618$, $p=0,046$), wobei Träger des Allels Guanin am schlechtesten abschnitten.

Es zeigte sich bei der Untersuchung der Leistungsgüte bzw. Sorgfalt/Genauigkeit (FPR) im Aufmerksamkeits-Belastungs-Test d2 eine mögliche Assoziation ($F= 2,59$, $df=2/300$, $p=0,077$) mit dem Genotyp des Polymorphismus rs904053. Dabei erzielten wie beim Zahlenverbindungstest Probanden mit dem Genotyp GG die schlechtesten Ergebnisse (Abb. 18). Beim Aufmerksamkeitsbelastungstest d2 ergaben sich keine signifikanten Zusammenhänge oder Hinweise auf mögliche Assoziationen zwischen Testleistungen und den Allelverteilungen des Polymorphismus rs904053.

Homo- und heterozygote Genotypen für das Adenin-Allel schnitten damit bei diesen Assoziationen insgesamt besser ab als Guanin-Homozygote und Adenin-Allelträger schnitten durchwegs besser ab als Guanin-Allelträger.

4 - Ergebnisse

Allgemein schnitten damit bei rs904053 homo- und heterozygote Genotypen und Allele für Adenin besser ab als Guanin-Homozygote.

4.2.4.2 Polymorphismus rs4732640

Es wurde ein signifikanter Zusammenhang gezeigt bei der Assoziation von erreichtem Rohwert im Zahlenverbindungstest (ZVT RW: $F= 3,99$, $df=2/356$, $p=0.019$) und den untersuchten Genotypen des Polymorphismus rs4732640, wobei Träger des Genotyps T/T am schlechtesten abschnitten (Abb. 18). Bei der Allelverteilung ergaben sich keine signifikanten Ergebnisse.

Hinweis auf eine mögliche Assoziation der Leistung im Aufmerksamkeitsbelastungstest d2 mit den Genotypen und Allelverteilungen des Polymorphismus rs4732640 ergab die Untersuchung von GZ, des Leistungsrohwerter (F= 2,53, $df=2/356$, $p=0.081$ und $F= 3,23$, $df=1/730$, $p=0.073$) und des Gesamtleistungswertes GZ-F (F= 2,80, $df=2/356$, $p=0.062$ und $F= 3,39$, $df=1/730$, $p=0,066$), wobei A-Träger schlechter abschnitten (Abb. 19 und 20).

Hinweis auf eine mögliche Assoziation ($F= 2,76$, $df=1/730$, $p=0.097$) der Gesamtleistung „Score“ im Trail Making Testteil A und damit der generellen Gehirnfunktion mit den Allelverteilungen des Polymorphismus rs4732640 ergab die Untersuchung des TMT Score, wobei A-Träger schlechter abschnitten (Abb. 21).

T/T-Träger schnitten erneut am schlechtesten bei Betrachtung des Leistungsrohwerter ab, beim Gesamtleistungswert jedoch erbrachten die heterozygoten A/T-Träger die schlechtesten Leistungen und T/T-Träger die besten (Abb. 22 und 23).

Genotyp A/A schnitt bei diesen Assoziationen durchwegs besser ab als die Genotypen A/T und T/T.

4 - Ergebnisse

Übersicht Ergebnisse bei SNP rs904053:

Genotyp:	Bester Testwert	Mittelbereich	Schlechtster Testwert	
TMT A Score	A/A	A/G	G/G	Trend
d2 FPR	A/G	A/A	G/G	
ZVT RW	A/A	A/G	G/G	Signifikante Werte

Allel:	Bester Testwert	Schlechtster Testwert	
TMT A Score	A	G	Signifikante Werte
TMT B Sek	A	G	
ZVT RW	A	G	

Übersicht Ergebnisse bei SNP rs4732640:

Genotyp:	Bester Testwert	Mittelbereich	Schlechtster Testwert	
d2 GZ	A/T	A/A	T/T	Trend
d2 GZ-F	T/T	A/A	A/T	
ZVT RW	A/T	A/A	T/T	Signifikante Werte

Allel:	Bester Testwert	Schlechtster Testwert	
D2 GZ	T	A	Trend
D2 GZ-F	T	A	
TMT A Score	T	A	

4 - Ergebnisse

Bei der Analyse der Assoziation des Polymorphismus rs904053 zur kognitiven Leistungsfähigkeit und Konzentration, zeigten Träger des AA- und AG-Genotyps im ZVT signifikant bessere Leistungen als Träger des homozygoten GG-Genotyps und für Teil A des TMT Trendbildungen. Träger des A-Allels schnitten bei der Analyse der Allelfrequenz sowohl im ZVT als auch in Teil A des TMTs signifikant besser ab, als Träger des G-Allels. Für den d2 ergaben sich bei diesem SNP nur Trendbildungen im Genotyp für den FPR-Wert, mit einem besseren Abschneiden der Träger des AA und AG-Genotyps.

Bei der Analyse der Assoziation des Polymorphismus rs4732640, zeigten Träger des AA- und AT-Genotyps im ZVT signifikant bessere Leistungen als Träger des homozygoten TT-Genotyps. Beim d2 Wert GZ zeigten sich Trendbildungen in der Genotypfrequenz mit besseren Leistungen für AT-Träger, als für homozygote Genotypen. Trendbildungen waren auch bei der Genotypfrequenz für den d2 Wert GZ-F zu finden, allerdings mit besseren Leistungen bei TT-Trägern.

Träger des T-Allels schnitten bei der Analyse der Allelfrequenz sowohl bei den d2 Werten GZ und GZ-F als auch in Teil A des TMTs besser ab, als Träger des A-Allels und bildeten mit diesen Werten Trends. Signifikante Werte fanden sich bei der Allelfrequenz allgemein nicht, auch nicht für den ZVT.

5 Diskussion

5.1 Diskussion der Ergebnisse

In dieser Fall-Kontroll-Assoziationsstudie wurde die Assoziation des Basenaustausch-Polymorphismus rs904053 und rs4732640 des PNOC-Gens mit Schizophrenie und kognitiver Leistungsgeschwindigkeit, bzw. Konzentrationsfähigkeit untersucht. Es wurden 111 Patienten in das Patientenkollektiv, sowie 259 Kontrollprobanden in das Kontrollkollektiv eingeschlossen. Als Messinstrument der Bearbeitungsgeschwindigkeit und Konzentration dienten der ZVT (Zahlen-Verbindungstest), der TMT (Trail Making Test) und der Test d2 (Aufmerksamkeits-Belastungstest). Die SNPs wurden mittels des IPLEX-Verfahrens genotypisiert.

Ziel war damit zum einen die Identifizierung einer Assoziation der Polymorphismen mit kognitiver Leistungsgeschwindigkeit und Konzentration, zum anderen die Untersuchung von Unterschieden in der Allel- und Genotyphäufigkeit zwischen der Gruppe der Kontrollprobanden und der Patientengruppe.

Aufgrund der Studienergebnisse lassen sich folgende Aussagen treffen:

Die Verteilung der drei Genotypen (AA/AG/GG bei SNP rs904053, bzw. AA/AT/TT bei SNP rs4732640), sowie die Verteilung der zwei Allele (A und G, bzw. A und T) unter den Studienteilnehmern war (nach dem Ergebnis des Chi-Quadrat-Tests) unabhängig von deren Gesundheitsstatus (schizophren, nicht schizophren) und befand sich im Hardy-Weinberg-Equilibrium. Eine signifikante Assoziation zwischen den untersuchten Polymorphismen des PNOC-Gens und der Erkrankung Schizophrenie fand sich nicht in dieser Arbeit. Diese Ergebnisse replizieren den derzeitigen Forschungsstand, bei dem PNOC nicht als unmittelbares Kandidatengen der Schizophrenie postuliert wird (Blaveri et al. 2001, Imai et al. 2001, Suarez et al. 2006). Jedoch gibt die signifikante Assoziation der jeweiligen A-Allelträger des Polymorphismus rs904053 und rs4732640 mit guten Leistungen im ZVT, einem sprachfreien Intelligenz-Test und Messinstrument der kognitiven Leistungsgeschwindigkeit, Hinweise darauf, dass PNOC kognitive Gedächtnisprozesse beeinflussen könnte.

5 - Diskussion

Denn die Ergebnisse in unserer Untersuchung zeigten einen signifikanten Haupteffekt bei Genotypverteilung ($p=0,012$) und Allelverteilung ($p=0,019$) des SNPs rs904053 mit guten Leistungen im Zahlenverbindungstest ZVT. Träger des AA- und AG-Genotyps zeigten dabei signifikant bessere Leistungen als Träger des homozygoten GG-Genotyps. Auch Träger des A-Allels schnitten bei der Analyse der Allelfrequenz im ZVT signifikant besser ab, als Träger des G-Allels. Ebenso ergab sich ein signifikanter Haupteffekt zwischen der Genotypverteilung ($p=0,019$) des SNPs rs4732640 und dem ZVT-Ergebnis, jedoch keine signifikanten Werte bei der Allelverteilung.

Auch beim Trail Making Testteil A und B (TMT A, TMT B) ergaben sich signifikante Ergebnisse für SNP rs904053 in Zusammenhang mit den Allelverteilungen: bei der Assoziation mit der Gesamtleistung („Score“) im TMT A ($p=0,042$) und bei der Assoziation von erreichter Zeit im TMT B ($p=0,046$), wobei Träger des A-Allels bei der Analyse der Allelfrequenz signifikant besser abschnitten, als Träger des G-Allels. Hinweis auf eine mögliche Assoziation ($p=0,097$) der Gesamtleistung („Score“) im TMT A mit den Genotypen des SNPs rs904053 und der Allelverteilung des SNPs rs4732640 ergab die Untersuchung des TMT Score wobei Träger des A-Allels schlechter abschnitten.

Im Aufmerksamkeitsbelastungstest d2 ergaben sich keine signifikanten Werte, es zeigte sich jedoch bei der Untersuchung der Leistungsgüte bzw. Sorgfalt/Genauigkeit (FPR) eine mögliche Assoziation ($p=0,077$) mit dem Genotyp des SNP rs904053. Dies kann als Trend zur Signifikanz gewertet werden. Dabei erzielten wie beim Zahlenverbindungstest Probanden mit dem Genotyp GG die schlechtesten Ergebnisse.

Bei SNPs rs4732640 ergaben sich ebenfalls ein Hinweis auf eine mögliche Assoziation und damit ein Trend zur Signifikanz der Leistung im Aufmerksamkeitsbelastungstest d2 mit den Genotypen und GZ, des Leistungsrohwerter ($p=0,081$) und des Gesamleistungswertes GZ-F ($p=0,062$). T/T-Träger schnitten im Genotyp erneut am schlechtesten bei Betrachtung des Leistungsrohwerter GZ ab, beim Gesamleistungswert GZ-F jedoch erbrachten die heterozygoten A/T-Träger die schlechtesten Leistungen und T/T-Träger die besten. Hinweis auf eine mögliche Assoziation der Leistung im Aufmerksamkeitsbelastungstest d2 mit den Allelverteilungen des SNPs rs4732640

5 - Diskussion

ergab die Untersuchung von GZ, des Leistungsrohwerthes ($p=0,073$) und des Gesamtleistungswertes GZ-F ($p=0,066$), wobei A-Träger schlechter abschnitten.

5.2 Studienvergleich: Assoziation des PNOC-Gens mit Schizophrenie

Die Bedeutung der Gene in der Chromosom 8p Region für neuropsychiatrische Störungen ist mehrfach nachgewiesen worden (Sklar et al. 2002, Holmans et al. 2009). Im Ergebnis unterstützten die vorliegenden Studien einen Schizophrenie-Prädispositionsort auf Chromosom 8p21: Auch Blouin et al. identifizierten auf Chromosom 8 durch Kopplungsstudien ein Prädispositionsort für Schizophrenie, was u.a. durch Blaveri et al. bestätigt werden konnte (Blouin et al. 1998, Blavari et al. 2001). Das in dieser Arbeit untersuchte PNOC-Gen, wurde als plausibles Kandidatengen angesehen, da es in dieser Region gelegen ist (Gurling et al. 2001, O'Donovan et al. 2003). Das Vorläuferprotein Nozizeptin, bzw. Orphanin FQ wird von dem Gen Prepronozizeptin (PNOC) kodiert (Reinscheid 2006).

Die in Kapitel 2.5 angeführte Referenzstudie von Blaveri et al. bestätigt zwar auf Chromosom 8 durch Kopplungsstudien ein Prädispositionsort für Schizophrenie und auch, dass Nozizeptin u.a. eine Rolle bei Kognition, Aufmerksamkeit und Gedächtnis spielt, jedoch zeigte sich ebenfalls bei ihnen kein signifikanter Unterschied in der Allelhäufigkeit des Markers zwischen dem Kollektiv schizophrener Patienten und dem gesunden Probandenkollektiv. Bei dieser Fall-Kontrollstudie mit 316 gesunden Probanden und 130 an Schizophrenie erkrankten Patienten englischer Abstammung, wurde der neue, nah an PNOC gelegene Dinukleotidmarker D8S2611 verwendet, der jedoch auf die Funktion des PNOC-Gens keinen direkten Einfluss hat (Blaveri et al. 2001).

Auch die Studie von Imai et al. war als Fall-Kontroll-Assoziationsuntersuchung konzipiert. Dabei wurden 100 gesunde Probanden und 87 an Schizophrenie erkrankte Patienten japanischer Abstammung in die Studie eingeschlossen und genetische Variationen der Promotor- und Kodierungsregionen des PNOC-Gens untersucht, um Assoziationen zwischen natürlicherweise auftretenden Mutationen und der Manifestation von Schizophrenie zu ermitteln. Die zunächst signifikanten Unterschiede von Allelhäufigkeiten zwischen Gesunden und Patienten erwiesen sich jedoch nach der Bonferroni-Korrektur als nicht-signifikant, so dass Imai et al. davon

5 - Diskussion

ausgehen, dass das PNOC-Gen nicht mit Schizophrenie assoziiert ist (Imai et al. 2001). Bisher konnte PNOC also nicht eindeutig als Kandidatengen für Schizophrenie identifiziert werden.

In der hier vorgestellten Arbeit zeigte sich keine Assoziation der Genotypen und der Allele der Polymorphismen rs4732640 und rs904053 im Hinblick auf Schizophrenie. Da die Einschlusskriterien sehr genau ausgewählt wurden, die Stichprobenmenge groß genug war, was zu einer größeren Teststärke führte (Bortz 1999), scheint die Möglichkeit der Auswirkung methodischer Artefakte relativ gering zu sein. Eine mögliche Erklärung für das negative Ergebnis könnte die Lage des Polymorphismus sein. SNP rs904053 befindet sich sowohl in der 3' Genregion des PNOC-Gens, als auch dem benachbarten ZNF395, während rs4732640 3' zu PNOC und in Intron 4 von ZNF395 liegt. Auch wenn das humane Genom entschlüsselt ist, sind die Mechanismen der Genexpression noch unzureichend bekannt. Daher ist es wichtig, auch Regionen zu untersuchen, die im Grenzbereich des kodierenden Bereichs des Gens liegen, da die genaue Interaktion nicht bekannt ist. Dies wurde in dieser Studie berücksichtigt, führte aber zu keinem signifikanten Ergebnis. Also bestätigt unsere Untersuchung die bisherigen Ergebnisse der beiden Referenzstudien von Blaveri et al. und Imai et al. (Blaveri et al 2001, Imai et al. 2001).

Allerdings ist die Vergleichbarkeit der Studien dadurch begrenzt, dass die Studie von Imai et al. beispielsweise an einer japanischen Population durchgeführt wurde und es zwischen dem genetischen Pool in Europa und Asien Häufigkeitsverschiebungen gibt (Imai et al. 2001). Daher konnten sowohl in dieser Studie als auch in der Studie von Imai et al. nur Studienteilnehmer mit dem gleichen kulturellen und genetischen Hintergrund teilnehmen und für eine bessere Vergleichbarkeit sollten gleiche Marker unter gleichen Einschlusskriterien für die Studienteilnehmer verwendet werden. Außerdem müssen die Ergebnisse bei Imai et al. differenziert betrachtet werden, da es sich um eine relativ kleine Stichprobengröße handelt. So konnten bei dem Nukleotidaustausch Guanin (G) zu Adenin (A) (G/A) innerhalb der Promotorregion des PNOC-Gens nur 23 Patienten mit einem kontinuierlichen Verlauf der Erkrankung und 33 Patienten mit deutlicher Negativsymptomatik kategorisiert werden. Da ein Verlust der Teststärke durch den geringen Stichprobenumfang möglich erscheint,

5 - Diskussion

könnten die Ergebnisse dieser zwei Polymorphismen auch als Trend zur Signifikanz gewertet werden.

Die Ergebnisse von Blaveri et al. können zusätzlich mit der Lokalisation des Dinukleotidmarkers D8S2611 zusammenhängen, der keinen direkten Einfluss auf die Funktion des PNOC-Gens hat (Blaveri et al. 2001).

Es ist auch möglich, dass trotz der oben angeführten negativen Ergebnisse für PNOC als Kandidatengen der Schizophrenie, bisher nicht ausreichend Studien mit unterschiedlichen Markern durchgeführt wurden, bzw. wie bei Imai et al. die Stichproben zu klein waren.

5.3 Studienvergleich: Kognitionsuntersuchungen

Diese Arbeit ist bislang die erste molekulargenetische Assoziationsstudie über den Zusammenhang des PNOC-Gens zu kognitiver Leistung und Konzentration. Einziger signifikanter Wert bei Polymorphismus rs4732640, ist das ZVT-Ergebnis beim Genotyp. Anders stellt sich dies beim Polymorphismus rs904053 dar: Beim ZVT finden sich sowohl beim Genotyp, als auch bei der Allelverteilung signifikante Werte. Signifikanz findet sich auch bei der Allelverteilung in Assoziation mit TMT A Score und TMT B Zeit und ein Trend zur Signifikanz beim Genotyp assoziiert mit TMT A Score. Insgesamt schneidet das Guanin-Allel immer am schlechtesten ab.

Referenzstudien zur Neurotransmission liefern Hinweise darauf, dass das Nozizeptin/ORL-1 System in kognitive, mnestiche und Aufmerksamkeitsprozesse, sowie bei der Regulation von Lernen und Gedächtnis involviert ist, während das im PNOC-Gen benachbarte Nozistatin eine antagonistische Wirkung bzgl. Lern- und Gedächtnisprozessen hat (Mamiya et al. 1998, Okuda-Ashitaka und Ito 2000, Blaveri et al. 2001, Higgins et al. 2002). Bisher gibt es jedoch keine humanen Studien zum PNOC-Gen und Kognitionen, so dass lediglich Tierstudien als Referenzen herangezogen werden konnten. Um Assoziationen zwischen der Neuropeptidregulation und beobachtbaren Verhaltensweisen herzustellen arbeiteten Higgins et al. beispielsweise mit Verhaltensanalysen an Mäusen, wozu sie Nozizeptin Knockout-Mäuse züchteten und deren Leistungen in einem Wasserlabyrinth mit

5 - Diskussion

Wildtypmäusen verglichen (Higgins et al. 2002). Dabei zeigte sich bei den Mäusen mit herabgesetzter Nozizeptin-Aktivität durch die Inaktivierung von ORL-1, eine signifikante Reduktion der Dopaminkonzentration im frontalen Kortex ($p < 0.05$). Nozizeptin Knockout-Mäuse zeigten bessere Gedächtnisfunktionen im „*passive avoidance task*“ (Langzeitgedächtnis: Enkodierung, Konsolidierung, Erinnern/Abruf, Vergessen) als Wildtyp-Mäuse (Noda et al. 2000). Demnach ist in diesem System bei normaler Nozizeptin-Aktivität die Dopaminkonzentration im frontalen Kortex erhöht, was wiederum mit kognitiven Defiziten assoziiert sein kann (Arnsten und Robbins 2002).

Auch wenn die Ergebnisse unserer Arbeit mit den Ergebnissen der oben angeführten Referenzstudien nicht direkt vergleichbar sind, geben sie doch weitere Hinweise auf eine Beteiligung des PNOC-Gens an kognitiven Prozessen. So zeigt sich auch dort ein Zusammenhang zwischen dem Neuropeptid und Kognition, was die Hypothese bestätigt, dass Nozizeptin Lern- und Gedächtnisprozesse beeinflusst. Der Fokus der Tierversuche lag auf räumlichen Lern- und Gedächtnisprozessen während der hier eingesetzte ZVT ein spezifischer Intelligenztest zur Messung kognitiver Leistungsgeschwindigkeit ist, der TMT ein Messinstrument der generellen Gehirnfunktion und der Test d2 die Beurteilung individueller Aufmerksamkeits- und Konzentrationsleistungen ermöglicht.

Weil sich bei den Ergebnissen unserer Messmethoden signifikante Zusammenhänge (ZVT und TMT), oder mindestens Trends zur Signifikanz (Test d2) zeigten, können unsere Ergebnisse als Hinweise darauf gewertet werden, dass das PNOC-Gen bzw. die dadurch kodierten Produkte zusätzlich zu den in Tierexperimenten untersuchten Phänotypen weitere kognitive Teilbereiche beeinflussen könnten. Dazu wären abgesehen von der Validierung der hier dargestellten Ergebnisse in weiteren Stichproben, funktionelle Untersuchungen in humanen Systemen notwendig, beispielsweise durch Nachweis einer veränderten Nozizeptin-Aktivität als Folge von Variationen im PNOC-Gen, einer daraus folgenden Veränderung der Dopaminkonzentration im frontalen Kortex und sich daraus ableitbaren kognitiven Defiziten.

Das Vorläuferprotein Nozizeptin, bzw. Orphanin FQ wird von dem Gen Prepronozizeptin (PNOC) kodiert. Es ist nachgewiesen, dass das Nozizeptin/ORL-1

5 - Diskussion

System involviert ist in Kognitions- und Aufmerksamkeitsprozesse (siehe Kapitel 2.5, Mamiya et al. 1998, Higgins et al. 2002) und Nozistatin, das ebenfalls von dem Präkursorprotein PPNOC transkribiert wird, die Wirkungen von Nozizeptin auf Gedächtnisprozesse aufheben kann (Mogil und Pasternak 2001).

Die Ergebnisse bei Mamiya et al. zeigen, dass eine verringerte Nozizeptin-Aktivität mit verbesserten kognitiven Fähigkeiten und einer geringeren Dopaminausschüttung im frontalen Kortex assoziiert ist, während bei erhöhter Nozizeptin-Aktivität und erhöhter Dopaminausschüttung schlechtere Ergebnisse erzielt werden (Mamiya et al. 1998). Erhöhte Peptidaktivität liegt beispielsweise bei verstärkter Gentranskription vor, oder auch bei erhöhter Rezeptordichte. Bei unserer Studie wurde das PNOC-Gen betrachtet, so dass davon auszugehen ist, dass bei den signifikant besseren Testergebnissen des A-Allels bzw. des AA-Genotyps bei SNP rs904053 sowie rs4732640 in den durchgeführten Kognitionstests eine erniedrigte Genexpression von PNOC vorgelegen haben könnte.

Auf der Ebene der Peptidausschüttung führen die angeführten Ergebnisse zu der Hypothese, dass die Aktivität von Nozizeptin bei Trägern des A-Allels sowie des homozygoten Genotyps AA bei SNP rs904053 verringert ist, während bei SNP rs4732640 das Gleiche für Träger des T-Allels zu gelten scheint, so dass Personen mit diesen Eigenschaften bessere Ergebnisse in Aufmerksamkeits-/Konzentrations- und Kognitionsprozessen zeigen. Inwieweit sich diese Polymorphismen auf die Genexpression und damit die Neuropeptidaktivität auswirkt, kann mit den Ergebnissen dieser Studie nicht beantwortet werden.

Eine weitere Interpretationsmöglichkeit liegt in den Studiendesigns. Die angeführten Referenzstudien beziehen sich hauptsächlich auf Aufgaben räumlicher Anordnungen, in denen kontextuelle Signale erkannt werden müssen. Nach Catell wird mit diesen Aufgaben die fluide Intelligenz gemessen (Zimbardo und Gerrig 2004). Die hier genutzten Tests prüfen wichtige Teilbereiche der Kognition. Jeder für sich misst dabei jedoch auch bestimmte Untergruppen. Alle Tests sind sprachunabhängig und messen sowohl fluide als auch kristalline Intelligenzleistungen, wobei räumliche Gedächtnisfähigkeiten eher keine Rolle spielen. Damit sind diese Testdesigns mit den Designs der Tierstudien schwer vergleichbar. Auch hier sind also weitere Forschungsergebnisse mit analogen Studiendesigns nötig, um eine bessere Vergleichbarkeit und Interpretation der Ergebnisse zuzulassen.

5.4 Methodische Gesichtspunkte








5.4.1 Abstammung

Die ethnische Herkunft ist bei jeder Studie zu berücksichtigen, da es zu differierenden Ergebnissen in unterschiedlichen Populationen kommen kann. Innerhalb unserer Untersuchung waren die Studienteilnehmer des Kontrollkollektivs deutscher Abstammung aus dem Raum München. Bei dem Patientenkollektiv wurden Patienten mit kaukasischer Abstammung eingeschlossen. Eine Referenzstudie zu Variationen im PNOG-Gen und Schizophrenie, welche zu dem gleichen Ergebnis wie unsere Untersuchung gekommen ist, stammt aus Japan (Imai et al. 2001). Da die Struktur des menschlichen Genoms regional unterschiedlich variiert, ist unklar, inwieweit sich die Schizophrenie verursachenden, genetischen Varianten in europäischen und asiatischen Populationen vergleichen lassen (Freudenberg et al. 2002).

Das Internationale HapMap Projekt (International HapMap Project 2010), eine Zusammenarbeit von akademischen Forschern, nichtkommerziellen biomedizinischen Forschungsgruppen und Unternehmen in Japan, Großbritannien, Kanada, China, Nigeria und den USA, das seit 2002 Muster genetischer Variation des Menschen beschreibt, zeigt beispielsweise, dass bei dem in dieser Arbeit verwendeten SNP rs4732640 in der asiatischen Population der Genotyp T/T im Vergleich zur europäischen Population seltener auftritt und bei der untersuchten afrikanischen Population Genotyp A/A häufiger vorkommt (NCBI 2010).








5 - Diskussion

Tab.25: Darstellung der Populationsunterschiede der Genotypverteilung bei SNP rs4732640

Sample Ascertainment				Genotype Detail		
Population	Individual Group	Sample	Source	A/A 	A/T 	T/T 
HapMap-CEU	European	112	IG	0.232	0.375	0.393
						
HapMap-HCB	Asian	90	IG	0.600	0.378	0.022
						
HapMap-JPT	Asian	90	IG	0.578	0.378	0.044
						
HapMap-YRI	Sub-Saharan African	120	IG	1.000		
						

Bei dem anderen in dieser Studie verwendeten SNP rs904053 sind die Genotypen in den einzelnen Populationen ebenfalls nach den Analysen von HapMap unterschiedlich verteilt (NCBI 2010).

Tab.26: Darstellung der Populationsunterschiede der Genotypverteilung bei SNP rs904053

Sample Ascertainment				Genotype Detail		
Population	Individual Group	Sample	Source	A/A 	A/G 	G/G 
HapMap-CEU	European	120	IG	0.55	0.35	0.10
						
HapMap-HCB	Asian	90	IG	0.44	0.44	0.11
						
HapMap-JPT	Asian	88	IG	0.40	0.47	0.11
						
HapMap-YRI	Sub-Saharan African	120	IG	0.90	0.10	
						

5 - Diskussion

Erblichkeit allein kann jedoch keine adäquate Erklärung für die Unterschiede bei kognitiver Leistungsfähigkeit und Konzentration über ethnische Gruppen hinweg liefern. Auch Umweltfaktoren wie Ernährung, Gesundheitssysteme und kulturelle Werte spielen eine Rolle (Zimbardo und Gerrig 2004). Daher wäre es wichtig, diese Ergebnisse auch bei anderen Populationen zu untersuchen, um den Einfluss des PNOG-Gens auf kognitive Phänotypen näher zu definieren.

5.4.2 Diagnoseverfahren

Unterschiedliche klinische Diagnoseverfahren und Einschlusskriterien können ebenfalls die Assoziationsergebnisse beeinflussen. Schizophrenie stellt häufig nicht eine isolierte Erkrankung mit immer gleicher Ätiologie, Ausprägung und Symptomatik dar, sondern ist meist eine Mischung aus verschiedenen miteinander verwandten Störungen (Stefansson et al. 2004). Daher sind die Kriterien für die Einschlussdiagnose sehr wichtig, um eine gemeinsame genetische Grundlage wahrscheinlicher zu machen. Bei Blaveri et al. finden sich keine genauen Angaben zur Zusammensetzung ihres Patientenkollektivs, wodurch die Vergleichbarkeit dieser Studie mit unserer Arbeit ebenfalls erschwert wird (Blavari et al. 2001). Außerdem sollten die Einschlusskriterien des Kontrollkollektivs beachtet werden, da auch hier Unterschiede bei der kulturellen und ethnischen Zugehörigkeit, bei Vorerkrankungen, Familienanamnese sowie Alters- und Geschlechtsverteilung divergierende Studienergebnisse produzieren können.

5.4.3 Heterogenität

Wie bereits angeführt, wird von einer hohen Heritabilität der Kognition ausgegangen (Plomin und Kovas 2005, Kovas and Plomin 2007). Eine Erklärung warum das PNOG-Gen bisher in keiner Studie mit Schizophrenie assoziiert werden konnte, obwohl beispielsweise schon bei Blouin et al. ein Suszeptibilitätslocus auf Chromosom 8p21 detektiert wurde (Blouin et al. 1998), ist zum einen auch hier die Heterogenität der Krankheit selbst und zum anderen die Heterogenität der für sie verantwortlichen Gene. Ähnlich kann dies auch in Bezug auf Kognition und

5 - Diskussion

Konzentration interpretiert werden. Die Heritabilität von Kognition als übergeordnetes System der Intelligenz ist mittlerweile gut belegt, wobei es schwierig ist, einzelne Gene zu differenzieren, so dass das Konzept der „Universalgene“ entstand (Plomin und Kovas 2005, Kovas and Plomin 2007). In den Referenzstudien zur Kognition zeigten sich signifikante Ergebnisse bezüglich des Einflusses von Nozizeptin auf Gedächtnisprozesse. In der hier vorgestellten Studie fanden sich signifikante Ergebnisse für den Zahlenverbindungstest ZVT als Messinstrument der kognitiven Leistungsgeschwindigkeit, sowie für den Trail Making Test TMT als eines der besten Messinstrumente der generellen Gehirnfunktion. Für den Aufmerksamkeitsbelastungstest d2 (Beurteilung individueller Aufmerksamkeits- und Konzentrationsleistungen), fanden sich Trends zur Signifikanz. Daraus lässt sich schließen, dass das PNOC-Gen in kognitive Prozesse involviert ist. Nozizeptin scheint einen negativen Einfluss auf Kognitionen zu haben, während Nozistatin diesen Effekt von Nozizeptin wieder aufheben kann (Okuda-Ashitaka und Ito 2000).

Der ZVT als spezifischer Intelligenztest zur Messung der „kognitiven Leistungsgeschwindigkeit“ misst im Wesentlichen die so genannte *speed*-Komponente (Geschwindigkeitskomponente) gebräuchlicher Intelligenztests oder das Fähigkeitsbündel, das bei Thurstone mit *perceptual speed* (Thurstone und Thurstone 1941) und bei Jäger mit Bearbeitungsgeschwindigkeit bezeichnet wird (Jäger 1982). Diese basale Intelligenzgrundfunktion ist hoch mit allgemeiner Intelligenz korreliert und kann nach Anpassung beispielsweise auch mit dem Intelligenztest wie dem HAWIE verglichen werden (Oswald und Roth 1987). Der ZVT ist objektiv (sowohl bei der Durchführung, als auch bei der Auswertung), hoch reliabel und entspricht einem Gültigkeitsbereich, der ihn als einen spezifischen Intelligenztest zur Messung kognitiver Leistungsgeschwindigkeit ausweist.

Der TMT scheint eines der besten Messinstrumente der generellen Gehirnfunktion zu sein, so dass er Verwendung bei der initialen Evaluation neuropsychologischer Funktionen findet (Reitan 1955, 1958). Matheson und Langdon bestätigten u.a. durch Anwendung des TMT die These, dass die Verschlechterungen im exekutiven Arbeitsgedächtnis als reliabler kognitiver Marker für negativ- und evt. auch positivsymptomatische Schizophrenieanfälligkeit betrachtet werden kann, unabhängig von familiärer Vorbelastung (Matheson und Langdon 2008). Auch Fis und Kollegen nutzten u.a. den TMT um zu zeigen, dass Kinder schizophrener Eltern

5 - Diskussion

signifikant mehr Schwierigkeiten in Bereichen von Exekutivfunktionen haben, als Kinder ohne familiäre Vorbelastungen und damit als „high-risk group“ eingestuft werden können (Fis et al. 2008). Wölwer und Gaebel fanden verminderte Leistung im TMT Teil B bei Patienten mit akuter Schizophrenie assoziiert mit einer uneffizienten Abfolge von Planung und Handlung, wobei kein Zusammenhang zwischen Planungsfähigkeit und Psychopathologie, bzw. Medikation bestand (Wölwer und Gaebel 2002). Der TMT besitzt eine hohe Zuverlässigkeit der Subtests. Außerdem wurde bei der Entwicklung Wert auf eine relativ große Unabhängigkeit von kulturellen und sozialen Bedingungen gelegt (Oswald und Roth 1987).

Der Test d2 misst als Durchstreichtest Tempo und Sorgfalt des Arbeitsverhaltens bei der Unterscheidung ähnlicher visueller Reize (Detaildiskrimination) und ermöglicht damit die Beurteilung individueller Aufmerksamkeits- und Konzentrationsleistungen. Als Ergebnis erhält man den Leistungsrohwert, bzw. das Bearbeitungstempo (Gesamtzahl bearbeiteter Zeichen inklusive Fehler), den Fehleranteil in % und damit die Sorgfalt oder Leistungsgüte und den Gesamtleistungswert oder Konzentrationsleistungswert (fehlerkorrigierte Leistungsmenge). Die Konzentrationsleistung ergibt sich aus der individuellen Koordination dieser Verhaltenskomponenten und ist damit ein Resultat aus dem Zusammenwirken von Antriebs- und Steuerungsinstanzen. Insgesamt sprechen die Reliabilitätskoeffizienten der Skalen für den Leistungsrohwert und den Gesamtleistungswert für eine sehr hohe Zuverlässigkeit. Die Skalen für den Fehleranteil in % erwiesen sich als befriedigend bis hoch zuverlässig (Brickenkamp 2001). Psychologische, Konstrukt- und empirische Validität erwiesen sich in allen Bereichen als mindestens gut (Brickenkamp 2001). Huguelet und Kollegen zeigten u.a. mit dem Test d2, dass Schizophrene, begründet auf Aufmerksamkeitsdefiziten, schlechtere Ergebnisse als Gesunde in den Bereichen Konzentration, Sprachverständnis und Sprachgedächtnis hervorbrachten (Huguelet et al. 2002).

Außerdem wurden die Durchführungs- und Auswertungsobjektivität der verwendeten Tests (ZVT, TMT und d2) durch Kontrollen der Studienleitung optimiert. Dementsprechend kann davon ausgegangen werden, dass die Ergebnisse der Testauswertungen äußerst valide sind und die Leistungen der Probanden von den Testleitern unabhängig waren.

5.5 Ausblick

Innerhalb dieser Arbeit konnte keine signifikante Assoziation zwischen den Polymorphismen rs904053 und rs4732640 des PNOC-Gens und Schizophrenie gefunden werden. Da unsere Ergebnisse gezeigt haben, dass Variationen im PNOC-Gen mit Kognition assoziiert sind und kognitive Dysfunktionen eines der Hauptmerkmale des Krankheitsbildes der Schizophrenie sind, sollte trotzdem PNOC als mögliches Kandidatengen nicht verworfen werden. Eher sollten diese Befunde, wie auch die Ergebnisse von Imai et al., an einer größeren unabhängigen Stichprobe repliziert werden (Imai et al. 2001).

Prinzipiell könnten auch andere Gene aus dem ORL-1 System oder ein Gen, das die Expression von PNOC beeinflusst, in die Entstehung von Schizophrenie involviert sein, so dass weitere Assoziationsstudien mit Genen aus dem ORL-1 System vorliegen sollten, um genauere Aussagen zur Assoziation von PNOC mit Schizophrenie treffen zu können. Außerdem sollten dafür Polymorphismen innerhalb des PNOC-Gens verwendet werden, die funktionelle Auswirkungen besitzen und bei denen Überschneidungen zum nächsten Genabschnitt oder in eine andere Kodierungsregion ausgeschlossen werden können.

Des Weiteren ist Kognition eine sehr umfangreiche Einheit aller Formen des Wissens: Sprache, Wahrnehmung, Aufmerksamkeit und Konzentration, Gedächtnis, Denken und Problemlösen. Daher ist der Vergleich mit Subgruppen dieser Einheit komplex und sollte auch zukünftig durch Anwendung anderer Tests überprüft werden, beispielsweise durch Intelligenztests wie dem HAWIE.

Diese Untersuchung sollte als Basis für die weitere Forschung im Bereich der Kognitionen gesehen werden. Weiterführende Untersuchungen wären für die Behandlung/Prävention im Rahmen der Schizophrenie von großem Nutzen, da die Resozialisierung vieler Patienten oft an den schweren kognitiven Defiziten scheitert.

6 Abkürzungen und Fachbegriffe

Abkürzungen und Fachbegriffe	Erklärung
A	Adenin/Adenosin
Abusus	missbräuchliche Anwendung
AE-Puffer	Elutionspuffer Fa. Quiagen (basischer Tris-Puffers (pH > 9,0))
AIT-1	<i>New army individual Test of general mental ability</i>
Ätiologie	Lehre von den Ursachen der Krankheiten
Affekt (<i>affectus</i>)	(lat.) Gemütszustand
Akoasma	ungeformte akustische Halluzination (Dröhnen, Poltern...)
AL-(Lyse)Puffer	Aluminium-Puffer (Guanidin-HCL)
Alogie	(griech. Unvernunft, Unlogisch) Denkstörung mit Sprachverarmung, „A-Symptom“ der Schizophrenie
(Gen-)Amplifikation	selektive Vervielfachung eines bestimmten Gens
ANA I und II	Anamnese(frage-)bogen I und II
Anhedonie	(griech. nicht + Lust, Freude) Lust-, Freudlosigkeit
ANOVA	(engl. <i>analysis of variance</i>) Varianzanalyse
Antipsychotika	Neuroleptika, Psychopharmaka zur Therapie der Schizophrenie
Annealing	Anlagerung zweier Primer an die DNA
APA	American Psychiatric Association
ARA	Acetylcholin Receptor Inducing Activity
Arg	Arginin
BA	Bundesanstalt für Arbeit
bipolar(is)	(lat.) zweipolig, mit zwei polaren Ausprägungen
bp	(engl. <i>base pairs</i>) Basenpaare
C	Cytosin
cDNA	(engl. <i>complementary DNA</i>) Komplementär-DNA (mit Hilfe der reversen Transkriptase meist aus mRNA hergestellt)
CI	<i>Confidence Interval</i>
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
Contig	(engl. <i>contiguous</i> = angrenzend, zusammenhängend), Set überlappender DNA-Stücke (<i>reads</i>), die von derselben genetischen Quelle stammen
C-Terminus	Carboxy-Ende
Cyt	Cytosin
D'	Maß für das Disequilibrium (Kopplungsungleichgewicht), Wert für die

6 - Abkürzungen und Fachbegriffe

	Assoziation der am häufigsten vorkommenden Allele eines Genorts
d2	Aufmerksamkeits-Belastungs-Test
Denaturierung	Auftrennung
df	(engl. <i>degrees of freedom</i>) Freiheitsgrade
DNA	Desoxyribonukleinsäure (Säure engl. <i>acid</i>)
dNTP	Desoxynukleotidtriphosphat
DRD2, D2	Dopamin 2-Rezeptor
DRD3, D3	Dopamin 3-Rezeptor
DSM-IV	<i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders - Fourth Edition - American Psychiatric Association</i>
Dysthymie	ältere Bez. für Zylothymie, manisch-depressive Erkrankung
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EE	Expressed Emotion-Konzept
Elongation	Synthese komplementärer DNA-Stränge
Enzephalopathie	krankhafte, nicht-entzündliche Hirnveränderung
F	Fehlerrohwert = F1+F2 = Auslassungsfehler + Verwechslungsfehler
FHAM	<i>Family History Assessment Modules</i>
FPR	Fehleranteil = F % = Leistungsgüte, Sorgfalt
G	Guanin/Guanosin
GABA	Gamma Aminobuttersäure
Gap	Genetic analysis package
GAS	<i>Global Assessment Scale</i>
Gln	Glutamin
GRC	<i>Genetic Research Centre</i>
GZ	Leistungsrohwert = Bearbeitungstempo = Gesamtzahl bearbeiteter Zeichen inklusive Fehler
GZ-F, GZF	Gesamtleistungswert = fehlerkorrigierte Leistungsmenge
5-HAT	5-Hydroxy-Tryptamin (Serotonin)
HAWIE	Hamburger Wechsler Intelligenztest Revision (für Erwachsene)
HCL	Salzsäure
HEE	<i>High expressed emotion</i>
Hebephrenie	Schizophrenieform mit Antriebs-, Affekt- und formalen Denkstörungen
3-HPA	3-Hydroxypicolinsäure
HSRS-Skala	Health Sickness Rating Scale
HVA	Homovanillinsäure
ICD-10	(engl. <i>International Classification of Diseases, Injuries and Causes of Death</i>) Klassifikationssystem für Krankheiten der Weltgesundheitsorganisation
ID	Identifikation bei Single Nucleotid Polymorphismen

6 - Abkürzungen und Fachbegriffe

IRR	<i>Incidence rate ratio</i>
Katalepsie	<i>psych</i> anhaltendes Verharren in einer Körperhaltung unter Erhöhung der Muskelspannung (v.a. bei katatoner Schizophrenie)
Katatonie	<i>psych</i> Willkürmotorikstörung: Katalepsie, (katatoner) Stupor, Raptus
kb	Kilobasenpaare
kD	Kilo-Dalton, Maß für Molekulargewicht
Konkordanz	Übereinstimmung bestimmter Eigenschaften, z.B. bestimmter Merkmale bei eineiigen („konkordanten“) Zwillingen
LD	Linkage Disequilibrium, Kopplungsungleichgewicht
LEBI	Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar
LOD Score	<i>Logarithm of Odds Score</i> = statistische Kenngröße bei der Identifizierung von Chromosomenabschnitten, welche die Ausprägung eines bestimmten quantitativen Merkmals beeinflussen, bzw. zur statistischen Abschätzung der Wahrscheinlichkeit, ob zwei Loci (Genorte) auf demselben Chromosom nah beieinander liegen und somit gekoppelt vererbt werden. <i>LOD-Score</i> >3: Indikator für eine Genkopplung
Lues	Syphilis, harter Schanker
MANCOVA	(engl. <i>multiple analysis of covariance</i>) Multivarianzanalyse der Covariablen
Manie (<i>Mania</i>)	(latein. Besessenheit, Raserei) affektive Psychose
MANOVA	(engl. <i>multiple analysis of variance</i>) Multivarianzanalyse
MASS ARRAY MALDI-TOF System	<i>Mass Array Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight System</i>
mb	Megabasen
ml	Milliliter
mmol	Millimol
min	Minute
mRNA	Messenger(Boten-)Ribonukleinsäure
Mw	Mittelwert
m/z	Masse dividiert durch Zeit
N (n)	Probanden-/Teilnehmerzahl
NAI	Nürnberger-Alters-Inventar
ncbi, NCBI	<i>National Centre for Biotechnology Information</i>
Neuroleptika	Antipsychotika, Psychopharmaka zur Therapie der Schizophrenie
ng	Nanogramm
nl	Nanoliter
ns	Nanosekunde
NRG	Neuregulin
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat

6 - Abkürzungen und Fachbegriffe

nmol	Nanomol
N-Terminus	Amino-Ende
OR	Odds Ratio
OPRL1	<i>opioid receptor-like-1</i> Rezeptor
p Chromosom	(franz. <i>petit</i>) kurzer Arm eines Chromosoms
PSB	Prüfsystem für Schul- und Bildungsberatung
p-Wert	(engl. <i>probability</i>) Signifikanz
PANSS	Positiv- und Negativ-Syndrom Skala
Parathymie	Störung des Affektlebens (v.a. bei Schizophrenie), indem zum jeweiligen Denkinhalt ein inadäquater, evtl. entgegengesetzter Affekt auftritt
Parenchym(a)	spezifisches Gewebe eines Organs
PCP	Phencyclidin
PCR	Polymerasekettenreaktion
PET	Positronenemissionstomografie
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration
PPENK	(engl. <i>Prepro-enkephalin</i>) Enkephalin, Opiatpeptid
PPDYN	(engl. <i>Prepro-dynorphin</i>) Dynorphin/Neo-Endorphin, Opiatpeptid
PPOMC	(engl. <i>Prepro-opio-melano-cortin</i>) β -Endorphin, Opiatpeptid
PR	(engl. <i>Percentile Rank</i>) Prozentrangplatz
Primer	DNA-Oligonukleotid
PSD	Postsynaptische Dichte
PTSD	(engl. <i>Posttraumatic Stress Disorder</i>) posttraumatische Belastungsstörung
q Chromosom	(franz. <i>queue</i>) langer Arm eines Chromosoms
QTL	<i>Quantitative Trait Loci</i>
Raptus	(latein. Abreißen) plötzlicher Erregungszustand bei seelischen Störungen, v.a. (katatoner) Schizophrenie
RDC	<i>Resarch Diagnostic Criteria</i>
Reliabilität	Zuverlässigkeit
Remission	vorübergehendes Nachlassen chronischer Krankheitszeichen, ohne Erreichen der Genesung
Restitutio ad integrum	Heilung mit vollständiger Wiederherstellung ursprünglicher Verhältnisse
RFLP	Restriktions-Fragmentlängen-Polymorphismus
RNA	Ribonukleinsäure
rpm	(engl. <i>rounds per minute</i>) Umdrehungen pro Minute
RW	Rohwert
SAP	Shrimp Alkaline Phosphatase
Score	Endergebnis des Trail-Making Tests

6 - Abkürzungen und Fachbegriffe

SB	Schwankungsbreite beim d2
SBE	engl. <i>single base extension</i>
SD	Standardabweichung
SKID I	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV Achse I
SKID II	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV Achse II
SNP	(<i>single nucleotide polymorphism</i>) Basenaustausch-Polymorphismus
Stupor (katatoner)	(lat.) Erstarrung, Betäubung
Suszeptibilität	(engl. <i>susceptibility</i>) Empfänglichkeit, Anfälligkeit, Prädisposition, erblich festgelegte Eigenschaft (leichter als andere) zu erkranken
SW	Standard-Wert
T	T-Test der Mittelwertgleichheit
Taq	<i>Thermus aquaticus</i> , Bakterium, aus dem die Isolation der Taq-Polymerase für das PCR-Verfahren erfolgt
TDT	Transmission Disequilibrium Test
Thy	Thymin/Thymidin
TM	Transmembran
TMT	Trail-Making Test
TMT Score	Endergebnis des Trail-Making Tests
TE	Tris-Ethylendiamintetraacetat Puffer
Validität	Gültigkeit
VTA	ventrales tegmentales Areal
WHO	<i>World Health Organisation</i>
X ²	chi-square, Chi-Quadrat
ZNS	Zentrales Nervensystem
ZVT	Zahlen-Verbindungs-Test
ZVT RW	Rohwert der Ergebnisse beim Zahlen-Verbindungs-Test
°C	Grad Celsius
µl	Mikroliter
µs	Mikrosekunde

7 Appendix

ICD-10:

F0 Organische-, einschließlich symptomatischer psychischer Störungen

F1 Psychische- und Verhaltensstörungen durch psychotrope Substanzen

F2 Schizophrenie, schizotype und wahnhaftige Störungen

F3 Affektive Störungen

F4 Neurotische-, Belastungs- und somatoforme Störungen

F5 Verhaltensauffälligkeiten mit körperlichen Störungen und Faktoren

F6 Persönlichkeits- und Verhaltensstörungen

F7 Intelligenzminderung

F8 Entwicklungsstörungen

F9 Verhaltens- und emotionale Störungen mit Beginn in der Kindheit und Jugend

Die nächste Unterteilung der Gruppe F2 erfolgt in F20-F29 „Schizophrenie, schizotype und wahnhaftige Störungen“:

F20 Schizophrenie

F21 Schizotype Störung

F22 Anhaltende wahnhaftige Störung

F23 Akute vorübergehende psychische Störungen

F24 Induzierte wahnhaftige Störung

F25 Schizoaffektive Störungen

F28 Sonstige nichtorganische psychotische Störungen

F29 Nicht näher bezeichnete nichtorganische Psychose

Die Untergruppen der Schizophrenie lassen sich wie folgt aufteilen:

F20 Schizophrenie

F20.0 Paranoide Schizophrenie

F20.1 Hebephrene Schizophrenie

F20.2 Katatone Schizophrenie

7 - Appendix

- F20.3 Undifferenzierte Schizophrenie
- F20.4 Postschizophrene Depression
- F20.5 Schizophrenes Residuum
- F20.6 Schizophrenia simplex
- F20.8 Sonstige Schizophrenie
- F20.9 Nicht näher bezeichnete Schizophrenie

Folgende Verlaufsbilder lassen sich unterscheiden:

- F20.x0 Kontinuierlich
- F20.x1 Episodisch, mit zunehmenden Residuum
- F20.x2 Episodisch, mit stabilen Residuum
- F20.x3 Episodisch remittierend
- F20.x4 Unvollständige Remission
- F20.x5 Vollständige Remission
- F20.x8 Sonstige
- F20.x9 Verlauf unklar, Beobachtungszeitraum weniger als ein Jahr.
(Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information)

DSM IV:

Die fünf Achsen:

- I. Klinische Störungen und andere klinische Zustandsbilder
- II. Persönlichkeitsstörungen, Intelligenzstörungen
- III. Allgemeine medizinische Zustandsbilder
- IV. Psychosoziale und Umgebungsfaktoren
- V. Globalbeurteilung des psychosozialen Funktionsniveaus

7 - Appendix

Modifizierte Kriterien zur Diagnose einer Schizophrenie nach DSM-IV:

Kriterium A	
A1	Wahnphänomene
A2	Halluzinationen
A3	Desorganisierte Sprache
A4	Desorganisiertes oder katatones Verhalten
A5	Negative Symptome (Willensschwäche, Alogie, Anhedonie, flacher Affekt)
Kriterium B	Die Symptome führen zu einer deutlichen beruflichen und sozialen Dysfunktion
Kriterium C	Kriterium A muss für mindestens 1 Monat erfüllt sein; einige andere Symptome müssen für mindestens 6 Monate anhalten
Kriterium D	Ausschluss einer schizoaffektiven Störung oder einer affektiven Störung mit psychotischen Symptomen
Kriterium E	Fehlen eines medizinischen Krankheitsfaktors
Kriterium F	Ausschluss einer autistischen Störung oder Entwicklungsstörung im Kindes- und Jugendalter

Die Kriterien A1-A4 entsprechen den positiven Symptomen.

Modifizierte Kriterien zur Diagnose einer Schizophrenie nach DSM-IV sind in A bis F unterteilt: Kriterium A beinhaltet Positivsymptome (Wahnphänomene, Halluzinationen, desorganisierte Sprache, desorganisiertes oder katatones Verhalten) und Negativsymptome (Willensschwäche, Alogie, Anhedonie, flacher Affekt). Kriterium B beschreibt die Dysfunktion im beruflichen und sozialen Bereich. Kriterium C legt fest, dass Kriterium A für mindestens 1 Monat erfüllt sein muss; während einige andere Symptome mindestens 6 Monate anhalten müssen. Weiterhin besagt Kriterium D, dass eine schizoaffektive Störung oder eine affektive Störung mit psychotischen Symptomen ausgeschlossen sein muss. Kriterium E lässt das Fehlen eines medizinischen Krankheitsfaktors überprüfen und Kriterium F eine autistische Störung oder Entwicklungsstörung im Kindes- und Jugendalter ausschließen.

8 Literaturverzeichnis

Allen, NC., Bagade, S., McQueen, MB., Ioannidis, JP., Kavvoura, FK., Khoury, MJ., Tanzi, RE., Bertram, L. 2008: "Systematic meta-analyses and field synopsis of genetic association studies in schizophrenia, the SzGene database", *Nat Genet*, 40(7):827–834

Alvarez, R.R. 1962: "Comparison of depressive and brain-injured subjects on the Trail Making Test", *Perceptual and Motor Skills*, 14: 91-96

American Psychiatric Association 1994: "Diagnostic and statistical manual of mental disorders", 4th edn. American Psychiatric Association, Washington, DC

Amthauer, R. 1970: "Intelligenz-Struktur-Test, I-S-T 70" Göttingen

Arnsten, AFT. und Robbins, TW. 2002: "Neurochemical modulation of prefrontal cortical function in humans and animals" in: Stuss, DT. und Knight, RT. (ed.) *Principles of frontal lobe function*, Oxford: Oxford University Press: S.51-84

Begleiter, H. und Porjesz, B. 1995: „Neurophysiological phenotypic factors in the development of alcoholism. Alcohol and Alcoholism, Vol. 1, The Genetics of Alcoholism“, *Oxford University Press, New York*: 269-293

Berthele, A., Platzer, S., Dworzak, D., Schadrack, J., Mahal, B., Büttner, A., Assmus, HP., Wurster, K., Zieglgänsberger, W., Conrad, B., Tölle, TR. 2003: „[3H]-nociceptin ligand-binding and nociceptin opioid receptor mrna expression in the human brain“, *Neuroscience*, 121(3):629-640

Blaveri, E., Kalsi, G., Lawrence, J., Quedsted, D., Moorey, H., Lamb, G., Kohen, D., Shiwach, R., Chowdhury, U., Curtis, D., McQuillin, A., Gramoustianou, E.S. Gurling, H.M.D. 2001: "Genetic association studies of schizophrenia using the 8p21-22 genes: prepronociceptin (PNOC), neuronal cholinergic receptor alpha polypeptide 2

8 - Literaturverzeichnis

(CHRN2) and arylamine N-acetyltransferase 1 (NAT1)", *European Journal of Human Genetics* 9: 469-472

Blom, JD. 2007: "A hundred years of schizophrenia: from Bleuler to DSM-V", *Tijdschr Psychiatr.* 49(12):887-895

Blouin, J.-L., Dombroski, B.A., Nath, SK., Lasseter, V.K., Wolyniec, PS., Nestadt, G., Thornquist, M., Ullrich, G., McGrath, J., Kasch, L., Lamacz, M., Thomas, MG., Gehrig, C., Radhakrishna, U., Snyder, SE., Balk, KG., Neufeld, K., Swartz, KI., DeMarchi, N., Papadimitriou, GN. et al. (28) 1998: "Schizophrenia susceptibility loci on chromosomes 13q32 and 8p21", *Nature Genetics* 20: 70-73

Bonnet, U. und Gastpar, M. 1999: „Opioide“, Gastpar, M., Mann, K. und Rommelspacher, H. (Hrsg.), *Lehrbuch der Suchterkrankungen*, Stuttgart: Thieme.

Bortz, J. 1999: *Statistik für Sozialwissenschaftler*, 5., vollständig überarbeitete Auflage. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag.

Breier, A., Su, TP., Saunders, R., Carson, RE., Kolachana, BS., de Bartolomeis, A., Weinberger, DR., Weisenfeld, N., Malhotra, AK., Eckelman, WC., Pickar, D. 1997: "Schizophrenia is associated with elevated amphetamine induced synaptic dopamine concentrations: evidence from a novel positron emission tomography method", *Proc Natl Acad Sci USA* 94(6): 2569-2574

Brickenkamp, R. und Karl, G.A. 1986: "Geräte zur Messung von Aufmerksamkeit, Konzentration und Vigilanz", *Handbuch apparativer Verfahren in der Psychologie*, Göttingen, Hogrefe Verlag

Brickenkamp, R. 1962: „Test d2 Aufmerksamkeitsbelastungstest, Manual“, 1. Auflage, Hogrefe Verlag für Psychologie, Göttingen

Brickenkamp, R. 2001: „Test d2 Aufmerksamkeits-Belastungs-Test Manual“, 9., überarbeitete und neu normierte Auflage, Hogrefe Verlag für Psychologie, Göttingen, Bern, Toronto, Seattle

8 - Literaturverzeichnis

Burnet, PW., Eastwood, SL., Harrison, PJ. 1997: "(3H)WAY-100635 for 5-HT1A receptor autoradiography in human brain: a comparison with (3H)8-OH-DPAT and demonstration of increased binding in the frontal cortex in schizophrenia", *Neurochem Int* 30(6): 565-574

Byrne, M., Agerbo, E., Ewald, H., Eaton, WW., Mortensen, PB. 2003: "Parental Age and Risk of Schizophrenia. A Case-control Study", *Archives of General Psychiatry* 60(7):673-678

Cannon, TD., Kaprio, J., Lönnqvist, J., Huttunen, M., Koskenvuo, M. 1998: "The genetic epidemiology of schizophrenia in a Finnish twin cohort. A population-based modeling study", *Archives of General Psychiatry* 55: 67-74

Cannon, TD., Gasperoni, TL., Van Erp, TGM., Rosso, IM. 2001: "Quantitative neural indicators of liability to schizophrenia: implications for molecular genetic studies" *Am J Med Genet* 105: 16–19

Cannon, TD., Cadenhead, K., Cornblatt, B., Woods, SW., Addington, J., Walker, E., Seidman, LJ., Perkins, D., Tsuang, M., McGlashan, T., Heinssen, R. 2008: "Prediction of Psychosis in Youth at High Clinical Risk, A Multisite Longitudinal Study in North America", *Archives of General Psychiatry* 65(1):28-37

Carlsson, A. 1988: "The current status of the dopamine hypothesis of schizophrenia" *Neuropharmacology* 1(3): 179-186

Carlsson, A., Hansson, LO., Waters, N., Carlsson, ML. 1999: "A glutamatergic deficiency model of schizophrenia", *Br J Psychiatry Suppl*: 2-6

Cattell, R.B. 1963: "Theory of fluid and crystallized intelligence: A critical experiment", *Journal of Educational Psychology* 54: 1-22

Chen, WJ. und Faraone, SV. 2000: "Sustained attention deficits as markers of genetic susceptibility to schizophrenia", *Am J Med Genet* 97: 52–57

8 - Literaturverzeichnis

Chiang, M-C., Barysheva, M., Shattuck, DW., Lee, AD., Madsen, SK., Avedissian, C., Klunder, AD., Toga, AW., McMahon, KL., de Zubicaray, GI., Wright, MJ., Srivastava, A., Balov, N., Thomson, PM. 2009: "Genetics of brain fiber architecture and intellectual performance", *J Neurosci* 29:2212–2224

Chiu, YF., McGrath, JA., Thornquist, MH., Wolyniec, PS., Nestadt, G., Swartz, KL., Lasseter, VK., Liang, KY., Pulver, AE. 2002: "Genetic heterogeneity in schizophrenia II: conditional analyses of affected schizophrenia sibling pairs provide evidence for an interaction between markers on chromosome 8p and 14q", *Mol Psychiatry* 7(6): 658–664

Ciccocioppo, R., Angeletti, S., Panocka, I., Massi, M. 2000: "Nociceptin/Orphanin FQ and drugs of abuse", *Peptides* 21: 1071-1080

Cohen, JD. und Servan-Schreiber, D. 1992: "Context, cortex, and dopamine: A connectionist approach to behaviour and biology in schizophrenia", *Psychological Review* 99: 45-77

Comer, RJ. 2001: „Klinische Psychologie“, 2. deutsche Auflage, Heidelberg, Berlin, Spektrum Akademischer Verlag

Cornblatt, BA. und Malhotra, AK. 2001: "Impaired attention as an endophenotype for molecular genetic studies of schizophrenia", *Am J Med Genet* 105: 11–15

Craddock, N., O'Donovan, MC., Owen, MJ. 2005: "The genetics of schizophrenia and bipolar disorder: dissecting psychosis", *J Med Genet* 42:193–204

Cullberg, J. 2003: "Stressful life events preceding the first onset of psychosis. An explorative study" *Nordic Journal of Psychiatry* 57: 209-214

Darland, T. Heinricher, M.M., Grandy, D.K. 1998: „Orphanin FQ/nociceptin: a role in pain and analgesia, but so much more“, *Trends in neurosciences* 21: 215-221

8 - Literaturverzeichnis

Davis, KL, Kahn, RS, Grant, K, Davidson, M 1991: "Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization" *Am J Psychiatry* 148(11):1474-1486

Davies, G., Welham, J., Chant, D., Torrey, EF., McGarth, J. 2003: "A systematic review and meta-analysis of Northern hemisphere season of birth studies in schizophrenia", *Schizophrenia Bulletin* 29: 587-593

Davis, OS., Haworth, CM., Plomin, R. 2009: "Dramatic increase in heritability of cognitive development from early to middle childhood: an 8-year longitudinal study of 8,700 pairs of twins", *Psychol Sci.* 20(10):1301-1308

Deary, IJ. 2000: "Looking down on human intelligence", *Cambridge University Press*, Cambridge

Deary, IJ., Johnson, W., Houlihan, LM. 2009: "Genetic foundations of human intelligence", *Hum Genet.* 126(1):215-32

Dere, E., Zlomuzica, A., Viggiano, D., Ruocco, LA., Watanabe, T., Sadile, AG., Huston, JP., De Souza-Silva, MA. 2008: "Episodic-like and procedural memory impairments in histamine H1 Receptor knockout mice coincide with changes in acetylcholine esterase activity in the hippocampus and dopamine turnover in the cerebellum", *Neuroscience* 157(3):532-541

Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information DIMDI, online: <http://www.dimdi.de/static/de/klassi/diagnosen/icd10/htmlgm2007/fr-icd.htm>

Dickinson D. 2008: "Digit symbol coding and general cognitive ability in schizophrenia: worth another look?", *Br J Psychiatry.* 193(5):354-356

Di Giannuario, A. und Pieretti, S. 2000: "Nociceptin differentially affects morphine-induced dopamine release from the nucleus accumbens and nucleus caudate in rats", *Peptides* 21: 1125-1130

8 - Literaturverzeichnis

Dohrenwend, BP., Levay, I., Shrout, PE., Schwartz, S., Naveh, G., Link, BG. 1992: "Socioeconomic status and psychiatric disorders: The causation-selection issue", *Science* 255: 946-952

Duncan, J., Seitz, RJ., Kolodny, J., Bor, D., Herzog, H., Ahmed, A., Newell, FN., Emslie, H. 2000: "A neural basis for general intelligence", *Science* 289 (5478): 457-460

East, SZ., Burnet, PW., Leslie, RA., Roberts, JC., Harrison, PJ. 2002: "5-HT6 receptor binding sites in schizophrenia and following antipsychotic drug administration: autoradiographic studies with (125I)SB-258585", *Synapse* 45(3): 191-199

Eaton WW, Byrne, M., Ewald, H., Mors, O., Chen, CY., Agerbo, E., Mortensen, PB. 2006: "Association of Schizophrenia and Autoimmune Diseases: Linkage of Danish National Registers", *Am J Psychiatry* 163(3): 521-528

Ebert, D. und Loew, T. 2005: „Psychiatrie systematisch“, 6. Auflage, Bremen, Uni-Med Verlag AG

Egan, MF., Straub, RE., Goldberg, TE., Yakub, I., Callicott, JH., Hariri, AR., Mattay, VS., Bertolino, A., Hyde, TM., Shannon-Weickert, C., Akil, M., Crook, J., Vakkalanka, RK., Balkissoon, R., Gibbs, RA., Kleinman, JE. und Weinberger, DR. 2004: „Variation in GRM3 affects cognition, prefrontal glutamate, and risk for schizophrenia“ *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101: 12604-12609

Eguiagaray, JG., Egea, J., Bravo-Cordero, JJ., García, AG. 2004: "Neurotransmitters, calcium signalling and neuronal communication", *Neurocirugia (Astur)* 15(2):109-118

Elvevag, B., Weickert, T., Wechsler, M. 2002: "An investigation of the integrity of semantic boundaries in schizophrenia", *Schizophrenia Research* 53(3): 187-198

8 - Literaturverzeichnis

Endicott, J., Spitzer, RL., Fleiss, JL., Cohen, J. 1976: "The global assessment scale. A procedure for measuring overall severity of psychiatric disturbance", *Arch Gen Psychiatry* 33:766-771

Eysenck, HJ. 1939: "Primary mental abilities", *Br J Educ Psychol* 9:270–275

Fan, J., Wu, Y., Fossella, JA., Posner, MI. 2001: "Assessing the heritability of attentional networks", *BMC Neuroscience* 2(1): 14

Faraone, SV., Seidman, LJ., Kremen, WS., Toomey, R., Pepple, JR., Tsuang, MT. 2000: "Neuropsychologic functioning among the nonpsychotic relatives of schizophrenic patients: the effect of genetic loading", *Biol Psychiatry* 48: 120–126

Fis, NP., Cetin, FC., Erturk, M., Erdogan, E., Dedeoglu, C., Yazgan, Y. 2008: "Executive dysfunction in Turkish children at high risk for schizophrenia", *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 17(7):424-31

Fiset, MÉ., Gilbert, C., Poubelle, PE., Pouliot, M. 2003: "Human Neutrophils as a Source of Nociceptin: A Novel Link between Pain and Inflammation", *Biochemistry* 42 (35): 10498 -10505

Förstl, H., Hautzinger, M., Roth, G. (Hrsg.) 2006: „Neurobiologie psychischer Störungen“, Heidelberg, Springer Medizin Verlag

Franke, P., Maier, W., Hain, C., Klingler, T. 1992: „Wisconsin Card Sorting Test: an indicator of vulnerability to schizophrenia?“, *Schizophr Res* 6: 243–249

Freudenberg, J., Cichon, S., Nöthen, MM., Propping, P. 2002: „Blockstruktur des menschlichen Genoms. Ein Organisationsprinzip der genetischen Variabilität“, *Deutsches Ärzteblatt* 99: A 3190-3195

Frith, ChD. 1992: "The Cognitive neuropsychology of schizophrenia", Hove: Erlbaum

8 - Literaturverzeichnis

Fritzsche, M. 2002: "Seasonal correlation of sporadic schizophrenia to Ixodes ticks and Lyme borreliosis", *Int J Health Geogr.* 1(1):2

Gallinat, J. 2005: „Neurophysiologische Indikatoren zentraler Neurotransmission“, Habilitationsschrift Charité Universitätsmedizin Berlin, Digitale Dissertation FU Berlin (online: <http://www.diss.fu-berlin.de/2006/268/index.html>)

Gardner, H. 1983: "Frames of mind: the theory of multiple intelligences", *Basic*, New York

Garlick, D. 2002: "Understanding the nature of the general factor of intelligence: the role of individual differences in neural plasticity as an explanatory mechanism", *Psychol Rev.* 109(1):116-136

Gesundheitsbericht für Deutschland 1998, 2007: „Krankenhausstatistik - Diagnosedaten der Patienten und Patientinnen in Krankenhäusern“, Kapitel 5.14, Statistisches Bundesamt, Zweigstelle Bonn, Graurheindorfer Straße 198, 53117 Bonn, <http://www.destatis.de>

Goddemeier, C. 2007: „Eugen Bleuler: Den Menschen hinter der Psychose wieder finden“, *Themen der Zeit*, PP 6, Ausgabe Mai 2007, Seite 225

Goldberg, TE. und Weinberger, DR. 2004: "Genes and the parsing of cognitive processes", *Trends in cognitive Sciences* 8: 325-335

Goldman-Rakic, PS. 1994: "Working memory dysfunction in schizophrenia", *The Journal of Neuropsychiatry & Clinical Neurosciences* 6: 348-357

Goldstein, EB. 2007: "Cognitive Psychology: Connecting Mind, Research and Everyday Experience", *Cengage Learning Services*, Taschenbuch

Gottesman, II. 1991: "Schizophrenia genesis: the origin of madness", *Academic Press, New York*, W.H. Freeman

8 - Literaturverzeichnis

Gottesman, I. und Shields, J. 1972: "Schizophrenia and Genetics: A Twin Study Vantage Point", *Academic Press, New York*

Gottesman, I. und Shields, J. 1973: "Genetic theorizing and schizophrenia", *Br. J Psychiatry* 122: 15-30

Greenwood, P.M. und Parasuraman, R. 2003: "Normal genetic variation, cognition, and aging", *Behavioral and Cognitive Neuroscience Reviews* 2(4): 278-306

Gülpinar, M.A. und Yegen, B.C. 2004: „The physiology of learning and memory: role of peptides and stress“, *Curr Protein Pept Sci* 5(6):457-473

Gurling, H.M., Kalsi, G., Brynjolfson, J., Sigmundsson, T., Sherrington, R., Mankoo, B.S., Read, T., Murphy, P., Blaveri, E., McQuillin, A., Petursson, H., Curtis, D. 2001: "Genomewide genetic linkage analysis confirms the presence of susceptibility loci for schizophrenia, on chromosomes 1q32.2, 5q33.2, and 8p21-22 and provides support for linkage to schizophrenia, on chromosomes 11q23.3-24 and 20q12.1-11.23", *Am J Hum Genet.* 68(3):661-673

Gustafsson, J.E. 1984: "A unifying model for the structure of intellectual abilities", *Intelligence* 8:179–203

Häfner, H. 2003: „Gender differences in schizophrenia“, *Psychoneuroendocrinology* 18 (Suppl.2): 17-54

Hambrecht, M., Klosterkötter, J., Häfner, H. 2002: „Früherkennung und Frühintervention schizophrener Störungen“, *Deutsches Ärzteblatt* 99(44): A-2936 / B-2491 / C-2334

Hanser, H. 2000: „Lexikon der Neurowissenschaft in vier Bänden“, Heidelberg, Berlin, Spektrum Akademischer Verlag

8 - Literaturverzeichnis

Harrison, P.J. 1999: "Neurochemical alterations in schizophrenia affecting the putative receptor targets of atypical antipsychotics. Focus on dopamin (D1, D3, D4) and 5-HT2a receptors", *Br J Psychiatry Suppl* 38: 12-22

Haworth, CMA., Dale, PS., Plomin, R. 2009: "Generalist Genes and High Cognitive Abilities", *Behav Genet* 39:437–445

Heinrichs, RW., Zakzanis, KK. 1998: "Neurocognitive deficit in schizophrenia: A quantitative review of the evidence", *Neuropsychology* 12: 426-445

Henning, J. und Netter, P. 2005:" Neurotransmitter und Persönlichkeit" in: Henning, J. und Netter, P. (Hrsg.) *Biopsychologische Grundlagen der Persönlichkeit*, München, Spektrum Akademischer Verlag: S.191-289

Higgins, GA., Kew, JNC., Richards, JG., Takeshima, H., Jenck, F., Adam, G., Wichmann, J., Kemp, JA., Grottick, AJ. 2002: "A combined pharmacological and genetic approach to investigate the role of orphanin FQ in learning and memory", *European Journal of Neuroscience* 15: 911-922

Hilger, E. und Kasper, S. 2002: „Neurochirurgie und Psychiatrie“, *Journal für Neurologie* 3 (4):17-22

Hiramatsu, M. und Inoue, K. 1999: "Effects of nocistatin on nociceptin-induced impairment of learning and memory in mice", *European Journal of Pharmacology* 367: 151-155

Holliday, EG., Nyholt, DR., Tirupati, S., John, S., Ramachandran, P., Ramamurti, M., Ramadoss, AJ., Jeyagurunathan, A., Kottiswaran, S., Smith, HJ., Filippich, C., Nertney, DA., Nancarrow, DJ., Hayward, NK., Watkins, WS., Jorde, LB., Thara, R., Mowry, BJ. 2009: "Strong evidence for a novel schizophrenia risk locus on chromosome 1p31.1 in homogeneous pedigrees from Tamil Nadu, India", *Am J Psychiatry* 166(2):238

8 - Literaturverzeichnis

Holmans, PA., Riley, B., Pulver, AE., Owen, MJ., Wildenauer, DB., Gejman, PV., Mowry, BJ., Laurent, C., Kendler, KS., Nestadt, G., Williams, NM., Schwab, SG., Sanders, AR., Nertney, D., Mallet, J., Wormley, B., Lasseter, VK., O'Donovan, MC., Duan, J., Albus, M. et al. (35) 2009: "Genomewide linkage scan of schizophrenia in a large multicenter pedigree sample using single nucleotide polymorphisms", *Mol Psychiatry*, 14(8): 786–795

Holzman, PS., Kringlen, E., Levy, DL., Proctor, LR., Haberman, SJ., Yasillo, NJ. 1977: "Abnormal-pursuit eye movements in schizophrenia. Evidence for a genetic indicator", *Arch Gen Psychiatry* 34: 802–805

Horn, W. 1969: „Prüfsystem für Schul- und Bildungsberatung, PSB“, Göttingen

Hovotta, I., Lichtermann, D., Juvonen, H., Suvisaari, J., Terwilliger, JD., Arajärvi, R., Kokko-Sahin, ML., Ekel, J., Lonnqvist, J., Peltonen, L. 1998: „Linkage analysis of putative schizophrenia gene candidate regions on chromosomes 3p, 5q, 6p, 8p, 20p and 22q in a population-based sampled finnish family set“, *Mol Psychiatry* 3(5): 452-457

Huguelet, P., Nicastro, R., Zanello, A. 2002: "Influence of attention on an auditory-verbal learning test in schizophrenic patients", *Encephale* 28(4):291-297

Imai, K., Harada, S., Kawanishi, Y., Tachikawa, H., Okubo, T., Suzuki, T. 2001: "Association analysis of polymorphisms in the prepronociceptin gene and schizophrenia" *Journal of Human Genetics* 46: 442-447

International HapMap Project 01/2011: <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/index.html.en>

Invitrogen European Headquarters 2008, Inchinnan Business Park, Paisley PA4 9RF, UK: <http://products.invitrogen.com>

Jaber, M., Robinson, SW., Missale, C., Caron, MG. 1996: "Dopamine receptors and brain function", *Neuropharmacology* 35(11):1503-1519

8 - Literaturverzeichnis

- Jablensky, A., Sartorius, N., Ernberg, G., Anker, M., Korten, A., Cooper, JE. 1992: "Schizophrenia: Manifestations, incidence and course in different cultures: A World Health Organization ten-country study", *Psychological Medicine Monographs* 20:1-97
- Jackson, JH. 2002: "John Hughling Jackson (1834-1911). In the origins of concepts of positive and negative symptoms in psychology and psychiatry", *Vertex*, 13(49):226-230
- Jäger, AO. 1982: "Mehrmodale Klassifikation von Intelligenzleistungen: Experimentell kontrollierte Weiterentwicklung eines deskriptiven Intelligenzstrukturmodells", *Diagnostica* 28: 195-225
- John, B. und Lewis, KR. 1966: "Chromosome variability and geographical distribution in insects: chromosome rather than gene variation provide the key to differences among populations" *Science* 152: 711-721
- Johnson, W. und Bouchard, TJ. 2005: "Constructive replication of the visual-perceptual-image rotation model in Thurstone's (1941) battery of 60 tests of mental ability", *Intelligence* 33:417–430
- Johnson, W. und Bouchard, TJ. 2005: "The structure of human intelligence: It is verbal, perceptual, and image rotation (VPR), not fluid and crystallized", *Intelligence* 33:393–416
- Jung, RE. und Haier, RJ. 2007: "The parieto-frontal integration theory (P-FIT) of intelligence: converging neuroimaging evidence", *Behav Brain Sci* 30:135–154
- Juvonen, H., Reunanen, A., Haukka, J., Muhonen, M., Suvisaari, J., Arajärvi, R., Partonen, T., Lönnqvist, J. 2007: "Incidence of schizophrenia in a nationwide cohort of patients with type 1 diabetes mellitus", *Arch. Gen. Psychiatry* 64: 894–899
- Kapur, S., Remington, G., Jones, C., Wilson, A., DaSilva, J., Houle, S., Zipursky, R. 1996: "High levels of dopamine D2 receptor occupancy with low-dose haloperidol treatment: a PET study", *Am J Psychiatry* 153:948-950

8 - Literaturverzeichnis

Kendler, KS., MacLean, CJ., Ma, Y., O'Neill, FA., Walsh, D., Straub, RE. 1999: "Marker-to-marker linkage disequilibrium on chromosomes 5q, 6p, and 8p in Irish high-density schizophrenia pedigrees", *Am J Med Genet* 88: 29–33

Kendler, KS., Myers, JM., O'Neill, FA., Martin, R., Murphy, B., MacLean, CJ., Walsh, D., Straub, RE. 2000: "Clinical features of schizophrenia and linkage to chromosomes 5q, 6p, 8p, and 10p in the Irish Study of High-Density Schizophrenia Families", *Am J Psychiatry* 157(3): 402-408

Kim, S. und Misra, A. 2007: „SNP genotyping: technologies and biomedical applications“, *Annu Rev Biomed Eng.* 9: 289-320

Köhler, T. 2001: „Biopsychologie - ein Lehrbuch“, Stuttgart, Berlin, Köln, Verlag Kohlhammer

Kohn, Y. und Lerer, B. 2002: "Genetics of schizophrenia: a review of linkage findings", *Isr J Psychiatry Relat Sci.* 39(4): 340-51

Kovas, Y. und Plomin, R. 2007: "Learning abilities and disabilities: generalist genes, specialist environments", *Curr Dir Psychol Sci.*16:284–288

Krabbendam, L., Marcelis, M., Delespaul, P., Jolles, J., van Os, J. 2001: "Single or multiple familial cognitive risk factors in schizophrenia?", *Am J Med Genet* 105: 183–188

Krabbendam, L. und van Os, J. 2005: "Schizophrenia and urbanicity: a major environmental influence-conditional on genetic risk", *Schizophr Bull.* 31(4):795-799

Kraepelin E. 1913: „Psychiatrie - ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte“, 3. Band, 8. Auflage, Leipzig, Barth

Lauer, AR. 1955: „Comparison of group paper-and-pencil tests for measuring driving aptitude of army personnel“, *Journal of Applied Psychology* 39

8 - Literaturverzeichnis

Lenroot, RK., Schmitt, JE., Ordaz, SJ., Wallace, GL., Neale, MC., Lerch, JP., Kendler, KS., Evans, AC., Giedd, JN. 2009: "Differences in genetic and environmental influences on the human cerebral cortex associated with development during childhood and adolescence", *Hum Brain Mapp.* 30(1):163-174

Lerer, B., Segman, RH., Hamdan, A., Kanyas, K., Karni, O., Kohn, Y., Korner, M., Lanktree, M., Kaadan, M., Turetsky, N., Yakir, A., Kerem, B., Macciardi, F. 2003: "Genome scan of Arab Israeli families maps a schizophrenia susceptibility gene to chromosome 6q23 and supports a locus at chromosome 10q24", *Mol Psychiatry*, 8(5): 488-498

Lewis, CM., Levinson, DF., Wise, LH., DeLisi, LE., Straub, RE., Hovatta, I., Williams, NM. 2003: "Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: schizophrenia", *Am J Hum Genet* 73:34–48

Lienert, GA. 1961, 1969: „Testaufbau und Testanalyse“, 3. Auflage, Weinheim

Liu, F., Wang, M., Lee, F. 2008: "Dopamine Receptor Interacting Proteins (DRIPs) of Dopamine D1-like Receptors in the Central Nervous System", *Mol Cells*, 25(2):149-57

Long, CJ. und Alsworth, M. 1997: "Test Reviews. The Trail Making Test", *Neuropsychology and Behavioural Neuroscience, Undergraduate Neuropsychology* (online: <http://neuro.psyc.memphis.edu/NeuroPsyc/np-test1.htm#top>)

Lubinski, D. 2004: "Introduction to the special section on cognitive abilities: 100 years after Spearman's (1904) 'General intelligence,' objectively determined and measured", *J Pers Soc Psychol.* 86(1):96-111

Luine V., Bowling, D., Hearn, M. 1990: "Spatial memory deficits in aged rats: contributions of monoaminergic systems", *Brain Research* 537: 271-278

8 - Literaturverzeichnis

Lykken, DT., McGue, M., Tellegen, A., Bouchard, T.J. Junior 1992: "Emergenesis. Genetic traits that may not run in families", *The American Psychologist* 47(12): 1565-1577

Maguire, EA., Gadian, DG., Johnsrude, IS., Good, CD., Ashburner, J., Frackowiak, RS., Frith, CD. 2000: "Navigation- related structural change in the hippocampi of taxi drivers", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 97(8): 4398-4403

Mamiya, T., Noda, Y., Nishi, M., Takeshima, H., Nabeshima, T. 1998: "Enhancement of spatial attention in nociceptin/Nozizeptin receptor-knockout mice", *Brain Research* 783: 236-240

MassArray MALDI TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation Time-Of-Flight Mass Spectrometry) der Firma Sequenom (San Diego, CA): www.sequenom.de

Matheson, S. und Langdon, R. 2008: "Schizotypal traits impact upon executive working memory and aspects of IQ", *Psychiatry Res.* 159(1-2):207-14

Maziade, M., Roy, MA., Rouillard, E., Bissonnette, L., Fournier, JP., Roy, A., Garneau, Y., Montgrain, N., Potvin, A., Cliché, D., Dion, C., Wallot, H., Fournier, A., Nicole, L., Lavallée, JC., Mérette, C. 2001: "A search for specific and common susceptibility loci for schizophrenia and bipolar disorder: a linkage study in 13 target chromosomes", *Mol Psychiatry.* 6(6):684-693

Maziade, M., Roy, MA., Rouillard, E., Bissonnette, L., Fournier, JP., Roy, A., Garneau, Y., Montgrain, N., Potvin, A., Cliche, D., Dion, C., Wallot, H., Fournier, A., Nicole, L., Lavallee, JC., Merette, C. 2001: "A search for specific and common susceptibility loci for schizophrenia and bipolar disorder: a linkage study in 13 target chromosomes", *Mol Psychiatry* 6(6): 684-693

8 - Literaturverzeichnis

McClearn, GE., Johansson, B., Berg, S., Pedersen, NL., Ahern, F., Petrill, SA., Plomin, R. 1997: "Substantial genetic influence on cognitive abilities in twins 80 or more years old" *Science* 276 (5318): 1560-1563

McDaniel, MA. 2005: "Big-brained people are smarter: a meta-analysis of the relationship between in vivo brain volume and intelligence", *Intelligence* 33:337–346

McGrath, J., Saha, S., Welham, J., El Saadi, O., MacCauley, C., Chant, D. 2004: "A systematic review of the incidence of schizophrenia: the distribution of rates and the influence of sex, urbanicity, migrant status and methodology", BioMed Central Ltd. (online: <http://www.biomedcentral.com/1741-7015/2/13>)

McGue, M. und Gottesman, II. 1991: "The genetic epidemiology of schizophrenia and the design of linkage studies", *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience* 240: 174-181

McKusick, V.A. 1996, 1998; Contributors: Hamosh, A. 2000, 2001, Converse, P.J. 2001: "Prepronociceptin; PNOC - Nociceptin included - Gene map locus 8p21", OMIM - Online Mendelian Inheritance in Man, Johns Hopkins University: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=601459>

Meunier, J.-C., Mollereau, C., Toll, L., Suaudeau, C., Moisand, C., Alvinerie, P., Butour, J.-L., Guillemot, J.-C., Ferrara, P., Monsarrat, B., Mazarguil, H., Vassart, G., Parmentier, M. und Costentin, J. 1995: "Isolation and structure of the endogenous agonist of opioid receptor-like ORL1 receptor", *Nature* 377: 532-535

Missale, C., Nash, SR., Robinson, SW., Jaber, M., Caron, MG. 1998: "Dopamine receptors: from structure to function" *Pharmacological Reviews* 78: 189-223

Möller, H.-J. und Deister, A. 2000: „Schizophrenie“, in Möller, H.-J., Laux, G. und Kapfhammer, H.P. (eds.), *Psychiatrie und Psychotherapie*, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg

8 - Literaturverzeichnis

Möller, HJ., Laux, G., Deister, A. 2005: „Psychiatrie und Psychotherapie“ Duale Reihe, 3., überarbeitete Auflage, Stuttgart, Georg Thieme Verlag KG

Mogil, JS. und Pasternak, GW. 2001: “The molecular and behavioral pharmacology of the Orphanin FQ/Nociceptin peptide and receptor family”, *Pharmacological Reviews* 53: 381-415

Mollereau, C., Parmentier, M., Mailleux, P., Butour, JL., Moisand, C., Chalon, P., Caput, D., Vassart, G., Meunier, JC. 1994: „ORL1, a novel member of the opioid receptor family“, *Federation of European Biochemical Societies Letters* 341: 33-38

Mollereau, C., Simons, MJ., Soularue, P., Liners, F., Vassart, G., Meunier, JC. Parmentier, M. 1996: “Structure, tissue distribution, and chromosomal localization of the prepronociceptin gene”, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93: 8666-8670

Mullis, KB. 1990: “The unusual origin of the Polymerase Chain Reaction”, *Scientific American*: 36-43

Myers, David G. 2005: „Psychologie“, *Springer-Lehrbuch*, Amerikanische Originalausgabe erschienen bei Worth Publishers, New York and Basingstoke, 2004. Korrigierter Nachdruck, 2005, S. 742

Narayanan, S., Lam, H., Carroll, F.I., Lutfy, K. 2004: “Orphanin FQ/nociceptin suppresses motor activity through an action along the mesoaccumbens axis in rats”, *Journal of Psychiatric Neuroscience* 29: 116-123

National Center for Biotechnology Information (NCBI) 2009: <http://ncbi.nlm.nih.gov/SNP>

National Center for Biotechnology Information NCBI, Online Mendelian Inheritance in Man OMIN 7/2009: „schizophrenia“: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>

8 - Literaturverzeichnis

National Center for Biotechnology Information NCBI, Single Nucleotide Polymorphism 01/2011: "Tab. 25: Darstellung der Populationsunterschiede der Genotypverteilung bei SNP rs4732640": http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=4732640

National Center for Biotechnology Information NCBI, Single Nucleotide Polymorphism 01/2011: "Tab. 26: Darstellung der Populationsunterschiede der Genotypverteilung bei SNP rs904053": http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=904053

National Center for Biotechnology Information NCBI, Map Viewer 09/2010: „Darstellung des menschlichen Chromosoms 8 und der physischen Karte seines kurzen Armes, in Nachbarschaft des PNOC-Gens“: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview/maps.cgi>

Ng., MY., Levinson, DF., Faraone, SV., Suarez, BK., Delisi, LE., Arinami, T., Riley, B., Paunio, T., Pulver, AE., Irmansyah, Holmans, PA., Escamilla, M., Wildenauer, DB., Williams, NM., Laurent, C., Mowry, BJ., Brzustowicz, LM., Maziade, M., Sklar, P., Garver, DL. et al. (82) 2008: "Meta-analysis of 32 genome-wide linkage studies of schizophrenia", *Mol Psychiatry* 14(8):774-785

Noda, Y., Mamiya, T., Manabe, T., Nishi, M., Takeshima, H., Nabeshima, T. 2000: „Role of nociceptin systems in learning and memory“, *Peptides* 21: 1063-1069

Norton, CS., Neal, CR., Kumar, S., Akil, H., Watson, SJ. 2002: "Nociceptin/orphanin FQ and opioid receptor-like receptor mRNA expression in dopamine systems", *J Comp Neurol.* 18, 444(4):358-368

Nothacker, H.-P., Reinscheid, RK., Mansour, A., Henningsen, RA., Ardati, A., Monsma Jr., FJ., Watson, SJ., Civelli, O. 1996: "Primary structure and tissue distribution of the orphanin FQ precursor", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93: 8677-8682

8 - Literaturverzeichnis

O'Donovan, MC., Williams, NM., Owen, MJ. 2003 "Recent advances in the genetics of schizophrenia", *Hum Mol Genet.* 12 Spec No 2:R125-133

Oeth, P., Beaulieu, M., Park, C., Kosman, D., del Mistro, G., van den Boom, D., Jurinke, C. 2005: „iPLEX™ Assay: Increased Plexing Efficiency and Flexibility for MassARRAY, System Through Single Base Primer Extension with Mass-Modified Terminators“, *Sequenom Application Note*, Doc. No. 8876-006, R01; CO 050154

Okada, M. 2010: "Generation of epilepsy animal model bearing a genetic abnormality identified in autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy (ADNFLE) of humans", *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi* 30(1):9-14

Okuda-Ashitaka, E. und Ito, S. 2000: "Nocistatin: a novel neuropeptide encoded by the gene for the nociceptin/orphanin FQ precursor", *Peptides* 21: 1101-1109

Olney, JW. und Farber, NB. 1995: "Glutamate receptor dysfunction and schizophrenia", *Arch Gen Psychiatry* 52:998-1007

Oswald, WD. und Roth, E. 1987: „Der Zahlen-Verbindungs-Test (ZVT) Ein sprachfreier Intelligenz-Test zur Messung der „kognitiven Leistungsgeschwindigkeit“ Handanweisung“, 2., überarbeitete und erweiterte Auflage, Hogrefe Verlag für Psychologie, Göttingen, Bern, Toronto, Seattle

Oswald, WD. und Fleischmann, UM. 1986: „Das Nürnberger-Alters-Inventar NAI. Testanweisung, Normwerte, Testmaterial“, Nürnberg (Universität Erlangen-Nürnberg)

Owen, MJ., Craddock, N., O'Donovan, MC. 2005: "Schizophrenia, genes at last?", *Trends Genet.* 21:518–525

Partington und Leiter 1949: „Partington Pathway Test“

Passani, MB. und Blandina, P. 1998: "Cognitive implications for H3 and 5-HT3 receptor modulation of cortical cholinergic function: a parallel story", *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 20(8):725-733

8 - Literaturverzeichnis

Perrez, M. und Baumann, U. 2005: „Lehrbuch Klinische Psychologie-Psychotherapie“
Bern, Verlag Huber

PicoGreen Lösung von Invitrogen Corporation: www.invitrogen.com

Plomin, R. und Craig, I. 1997: “Human behavioural genetics of cognitive abilities and disabilities”, *Bioessays* 19(12): 1117-1124

Plomin, R., DeFries, J.C., McClearn, G.E. und Rutter, M. 1999: „Gene, Umwelt und Verhalten. Einführung in die Verhaltensgenetik“, Bern, Göttingen, Toronto, Seattle, Verlag Huber

Plomin R. 2001: “The genetics of g in human and mouse”, *Nature Reviews Neuroscience* 2(2): 136-141

Plomin, R., DeFries, J.C., McClearn, G.E., McGuffin, P. 2001: „Behavioral Genetics“, 4th edition, New York, Worth Publishers

Plomin, R. und Spinath, F.M. 2004: “Intelligence: Genetics, Genes, and Genomics”, *Journal of Personality and Social Psychology* 86: 112-129

Plomin, R. und Kovas, Y. 2005: “Generalist genes and learning disabilities”, *Psychol Bull.* 131(4):592-617

Posthuma, D., De Geus, E.J., Baaré, W.F., Hulshoff Pol, H.E., Kahn, R.S., Boomsma, D.I. 2002: “The association between brain volume and intelligence is of genetic origin”, *Nat Neurosci.* 5(2):83-84

Pritzel, M., Brand, M., Markowitsch, H.J. 2003: „Gehirn und Verhalten. Ein Grundkurs der physiologischen Psychologie“, Heidelberg, Berlin, Spektrum Akademischer Verlag

8 - Literaturverzeichnis

Pulver, AE., Lasseter, VK., Kasch, L., Wolyniec, P., Nestadt, G. 1995: „Schizophrenia: a genome scan targets chromosomes 3p and 8p as potential sites of susceptibility genes”, *Am. J. Med. Genet.* 60:252–60

Pulver, AE. 2000: “Search for schizophrenia susceptibility genes”, *Biol. Psychiatry* 47(3):221–30

QIAamp DNA Blood Midi/Maxi Handbook, 2nd Edition, Quiagen 2005

Raab, M. und Gigerenzer, G. 2005: „Intelligence as smart heuristics“, In: Sternberg RJ, Pretz JE (ed) *Cognition and intelligence: Identifying the mechanisms of the mind*, Cambridge: Cambridge University Press; 188–207

Raymond, JR., Mukhin, YV., Gelasco, A., Turner, J., Collinsworth, G., Gettys, TW., Grewal, JS., Garnovskaya, MN. 2001: “Multiplicity of mechanisms of serotonin receptor signal transduction”, *Pharmacol Ther* 92(2/3): 179-212

Reinscheid R.K. 2006: “The Nozizeptin/Orphanin FQ receptor as a novel drug target in psychiatric disorders”, *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets* 5: 219-224

Reitan, RM. 1955: “The relation of the Trail Making Test to organic brain damage”, *Journal of Consulting Psychology*, 19: 393-394

Reitan, RM. 1958: “The validity of the Trail Making Test as an indicator of organic brain damage”, *Perceptual and Motor Skills* 8: 271-130

Reitan, RM. und Wolfson, D. 1988: „Traumatic brain injury. Vol.II. Recovery and rehabilitation”, Tucson, *Neuropsychology Press*

Reitan, RM. 1979, 1992: „Trail Making Test - Manual for Administration and Scoring“, Reitan Neuropsychology Laboratory POB 66080 Tucson AZ USA

Reitan, RM. und Wolfson, D. 1993: „The Halstead-Reitan Neuropsychological Test Battery: Theory and clinical interpretation“, 2nd ed., Tucson, *Neuropsychology Press*

8 - Literaturverzeichnis

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

Richter, V. und Guthke, J. 1996: „Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI)“, Hogrefe Verlag

Riedel M., Schaub A., Möller H-J., Müller N. 1999: "Pathogenese der Schizophrenie: zum derzeitigen Stand der Forschung“, *Psychiatrie und Psychotherapie*, Themenheft Schizophrenie, Bayerische Private Akademie für Psychotherapie BAP, 4. Jahrgang, Band 4, Heft 1: 46-56

Rist F., Cohen R., Watzl H. 2005: „Schizophrenie: Ätiologie/Bedingungsanalyse“, Perrez, M. und Baumann, U. (Hrsg), *Lehrbuch Klinische Psychologie-Psychotherapie*, Bern, Verlag Huber

Roche Lexikon Medizin, 4., neubearbeitete und erweiterte Auflage 1998, Hoffmann-La Roche AG und Urban & Fischer

Rosenfarb, IS., Bellack, AS., Aziz, N., Kratz, KM., Sayers, S. 2004: "Race, family interactions, and patient stabilization in schizophrenia", *Journal of Abnormal Psychology* 113: 109-115

Ross, CA., Margolis. RL., Reading, SA., Pletnikov, M., Coyle, JT. 2006: "Neurobiology of schizophrenia", *Neuron* 52:139–153

Roznowski, M., Dickter, DN., Hong, S., Sawin, LL., Shute, VJ. 2000: „Validity of measures of cognitive processes and general ability for learning and performance on highly complex computerized tutors: is the g factor of intelligence even more general?“, *J Appl Psychol.* 85(6):940-955

8 - Literaturverzeichnis

Saha, S., Chant, D., Welham, J., McGrath, J. 2005: "A Systematic Review of the Prevalence of Schizophrenia", *PLoS Medicine*, Vol. 2, No. 5, e141

Saiki, RK., Scharf, S., Faloona, F., Mullis, KB., Horn, GT., Erlich, HA., Arnheim, N. 1985: „Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analyses for diagnosis of sickle cell anemia“, *Science* 230:1350-1354

Sambook, J. 1989: "Analysis and cloning of eukaryotic genomic DNA", *Molecular cloning, A laboratory manual* 2.e., Cold Spring Laboratory Press

Sandin, J., Georgieva, J., Schott, PA., Ögren, SO., Terenius, L. 1997: "Nociceptin/Orphanin FQ microinjected into hippocampus impairs spatial learning in rat", *European Journal of Neuroscience* 9: 194-197

Scharfetter, C. 1995: „Schizophrene Menschen“, Psychologie Verlags Union 4 ed., Weinheim

Schmidt, JU. 2002: „Schizophrenie. Definition“, Leipzig, *Psychiatrie-aktuell*, Janssen-Cilag GmbH

Seeman, P., Guan, HC., Van Tol, HHM. 1993: "Dopamine D4 receptors elevated in schizophrenia" *Nature* 365: 441-445

Seidman, LJ., Buka, SL., Goldstein, JM., Horton, NJ., Rieder, RO., Tsuang, MT. 2000: "The relationship of prenatal and perinatal complications to cognitive functioning at age 7 in the New England Cohorts of the National Collaborative Perinatal Project", *Schizophr Bull.* 26(2):309-321

Seidman, LJ., Faraone, SV., Goldstein, JM. 2002: "Left hippocampal volume as a vulnerability indicator for schizophrenia: a magnetic resonance imaging morphometric study of nonpsychotic first-degree relatives", *Arch Gen Psychiatry* 59: 839–849

8 - Literaturverzeichnis

Shieh, KR. und Pan, JT. 2001: "Effects of Nociceptin on central dopaminergic neuronal activities and prolactin secretion", *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 280: 705-712

Sklar, P. 2002: "Linkage analysis in psychiatric disorders: the emerging picture. Annu Rev", *Genomics Hum Genet* 3: 371-413

Software *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS), Version 14,0 Inc, Chicago, 2005: SPSS GmbH Software Theresienhöhe 13 80339 München Germany Phone: +49.89.4890740 Fax: +49.89.4483115 E-mail: info@spss.de URL: <http://www.spss.com/de>

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

Spearman, C. 1928: „THE ABILITIES OF MAN", *Science* 68(1750):38

Stefansson, H., Steinthorsdottir, V., Thorgeirsson, TE., Gulcher, JR., Stefansson, K. 2004: "Neuregulin 1 and schizophrenia", *Annals of Medicine* 36: 62-71

Stefansson, H., Ophoff, RA., Steinberg, S., Andreassen, OA., Cichon, S., Rujescu, D., Werge, T., Pietiläinen, OP., Mors, O., Mortensen, PB., Sigurdsson, E., Gustafsson, O., Nyegaard, M., Tuulio-Henriksson, A., Ingason, A., Hansen, T., Suvisaari, J., Lonqvist, J., Paunio, T., Børglum, AD. et al. (108) 2009: „Common variants conferring risk of schizophrenia“, *Nature*, 460(7256):744-747

Suarez, BK., Duan, J., Sanders, AR., Hinrichs, AL., Jin, CH., Hou, C., Buccola, NG., Hale, N., Weilbaecher, AN., Nertney, DA., Olincy, A., Green, S., Schaffer, AW., Smith, CJ., Hannah, DE., Rice, JP., Cox, NJ., Martinez, M., Mowry, BJ., Amin, F. et al. (28) 2006: "Genomwide linkage scan of 409 European-ancestry and African American families with schizophrenia: suggestive evidence of linkage at 8p23.3-p21.2 and 11p13.1-q14.1 in the combined sample", *Am J Hum Genet.* 78(2):315-333

8 - Literaturverzeichnis

Swan, GE. und Carmelli D. 2002: "Evidence for genetic mediation of executive control: A study of aging male twins", *Journal of Gerontology Series B, Psychological Sciences and Social Sciences* 57(2): 133-143

SZGene database 2009: "Chromosom 8 - Lokalisation publizierter Kandidatengene für Schizophrenie", www.schizophreniaforum.org/res/sczgene/default.asp

Tabare´s-Seisdedos, R. und Rubenstein, JLR. 2009: "Chromosome 8p as a potential hub for developmental neuropsychiatric disorders: implications for schizophrenia, autism and cancer", *Molecular Psychiatry* 14, 563–589

Tao, R., Thakkar, MM., McCarley, RW. Auerbach, S.B. 2007: "Nociceptin/Orphanin FQ decreases serotonin efflux in the rat brain but in contrast to a κ -opioid has no antagonistic effect on μ -opioid-induced increases in serotonin efflux", *Neuroscience*: doi: 10.1016/j.neuroscience.2007.02.011

Tauscher, J., Kapur, S., Verhoeff, NP., Hussey, DF., Daskalakis, ZJ., Wisniewski, ST., Wilson, AA., Houle, S., Kasper, S., Zipursky, RB. 2002: "Brain serotonin 5-HT(1A) receptor binding in schizophrenia measured by positron emission tomography and (11C)WAY-100635", *Arch Gen Psychiatry* 59(6): 514-520

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

International Schizophrenia Consortium, Purcell, SM., Wray, NR., Stone, JL., Visscher, PM., O'Donovan, MC., Sullivan, PF., Sklar, P. et al. (121) 2009: „Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder“ The International Schizophrenia Consortium, Manuscript preparation, *Nature* 460(7256):748-752

Thompson, PM., Cannon, TD., Narr, KL., van Erp, T., Poutanen, VP., Huttunen, M., Lönqvist, J., Standertskjöld-Nordenstam, CG., Kaprio, J., Khaledy, M., Dail, R., Zoumalan, CI., Toga, AW. 2001: „Genetic influences on brain structure“, *Nature Neuroscience* 4(12): 1253-1258

8 - Literaturverzeichnis

Thompson, P.M., Cannon, T.D., Toga, AW. 2002: „Mapping Genetic Influences on Human Brain Structure“, *Trends in Molecular Medicine* 34(7-8):523-36

Thurstone, LL. 1938: “Primary mental abilities”, *Psychometric Monographs*, vol 1

Thurstone, LL. und Thurstone, TG. 1941: “Factorial studies of intelligence”, Chicago: The University of Chicago Press, *Psychometric Monographs* No. 2

Toulopoulou, T., Picchioni, M., Rijdsdijk, F., Hua-Hall, M., Ettinger, U., Sham, P., Murray, R. 2007: “Substantial genetic overlap between neurocognition and schizophrenia: genetic modeling in twin samples”, *Arch Gen Psychiatry* 64(12):1348-1355

U.S. War Department 1944: “The Adjutant General’s Office. The new Army Individual Test of General Mental Ability“, Washington, *Psychological Bulletin* 41: 532-538

Vernon, PA., Wickett, JC., Banzana, PG., Stelmack, RM. 2000: “Handbook of intelligence”, Sternberg, R.J. (ed), *Cambridge University Press* 245–264

Vogeley, K., Axmann, TS., Pfeiffer, U. 2000: „Disturbed gyrification of the prefrontal region in male schizophrenic patients: A morphometric postmortem study“, *Am J Psychiatry* 157: 34–39

Volz, A., Frieboes, R-M., Spring, K. 2005: „Psychiatrie in Frage und Antwort“, Elsevier, Urban&FischerVerlag: 48-49

Vornin, TA., Seredenin, SB. 2007: “Nootropes (cognition enhancers) and neuroprotectors”, *Eksp Klin Farmakol* 70(4):44-58

Wechsler, D. 1964: „Die Messung der Intelligenz Erwachsener“, 3. unveränderte Auflage, Bern, Verlag Huber

8 - Literaturverzeichnis

Wechsler, D. 1981: "Wechsler Adult Intelligence Scale - Revised (WAIS-R)", New York, Psychological Corporation

Wei, WZ. und Xie, CW. 1999: "Orphanin FQ suppresses NMDA receptor-dependent long-term depression and depotentiation in hippocampal dentate gyrus", *Learning & Memory* 6: 467-477

Weltgesundheitsorganisation: Internationale Klassifikation psychischer Störungen. ICD-10 Kapitel V (F). Klinisch-diagnostische Leitlinien. 5., durchgesehene und ergänzte Auflage 2005, Verlag Hans Huber

Williams, HJ., Owen, MJ., O'Donovan, MC. 2009: „Schizophrenia genetics: new insights from new approaches“, *Br Med Bull.* 91:61-74

Wittchen, HU., Saß, H., Zaudig, M. 1996: „Diagnostisches und Statistisches Manual Psychischer Störungen DSM-IV“, Göttingen, Bern, Toronto, Seattle, Hogrefe Verlag für Psychiatrie

Williams, NM., Rees, Ml., Holmans, P., Norton, N., Cardno, AG. 1999: "A twostage genome scan for schizophrenia susceptibility genes in 196 affected sibling pairs", *Hum. Mol. Genet.* 8:1729–1739

Williams, NM., Norton, N., Williams, H., Ekholm, B., Hamshere, ML., Lindblom, Y., Chowdari, KV., Cardno, AG., Zammit, S., Jones, LA., Murphy, KC., Sanders, RD., McCarthy, G., Gray, MY., Jones, G., Holmans, P., Nimgaonkar, V., Adolfson, R., Osby, U., Terenius, L. 2003: "A systematic genomewide linkage study in 353 sib pairs with schizophrenia", *Am J Hum Genet.* 73(6):1355–1367

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

8 - Literaturverzeichnis

Wölwer, W. und Gaebel, W. 2002: „Impaired Trail-Making Test-B performance in patients with acute schizophrenia is related to inefficient sequencing of planning and acting”, *Journal of psychiatric research* 36 (6): 407-16

Wright, P. und Murray, RM. 1993: “Schizophrenia: prenatal influenza and autoimmunity”, *Ann Med.* 25(5):497-502

Zaveri, N.T., Green, C.J., Toll, L. 2000: “Transcriptional regulation of the human prepronociceptin gene”, *Biochemical and Biophysical Research Communication* 276: 710-717

Zaveri, N.T., Waleh, N., Toll, L. 2006: “Regulation of the prepronociceptin gene and its effect on neuronal differentiation”, *Gene* 384: 27-36

Zawilska, JB. 2003: “Dopamine receptors-structure, characterization and function”, *Postepy Hig Med Dosw.* 57(3):293-322

Zimbardo, P.G. und Gerrig, R.J. 2004: „Psychologie“ München, Pearson Studium, 16. Auflage, Kapitel 8 (S. 243-323)

Zinstok, JR., de Wilde, O., van Amelsvoort, TAMJ., Tanck, MW., Baas, F., Linszen, DH. 2007: “Association between the DTNP 1 gene and intelligence: a case-control study in young patients with schizophrenia and related disorders and unaffected siblings” *Behavioral and Brain Functions* 3: 19

Zobel, A. und Maier, W. 2003: „Endophänotypen ein neues Konzept zur biologischen Charakterisierung psychischer Störungen“, *Der Nervenarzt*, Springer Verlag

Zhu, S. 2009: “Psychosis may be associated with toxoplasmosis”, *Med Hypotheses* 73(5):799-801

9 Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde in der Psychiatrischen Klinik, Sektion für Molekulare und klinische Neurobiologie des Klinikums der Universität München durchgeführt.

Herrn Prof. Dr. med. Möller danke ich dafür, dass ich diese Arbeit an der von ihm geleiteten Psychiatrischen Universitätsklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München durchführen durfte.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Rujescu und Frau Dr. Giegling für die Möglichkeit zur Durchführung der vorliegenden Arbeit in ihrer Forschungsgruppe, für die hervorragende Betreuung, die Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Studienergebnisse, das Korrekturlesen und die immer sofortige Hilfe bei all meinen Fragen.

Eine sehr große Hilfe für meine Arbeit war auch Frau Dr. Annette Hartmann. Ich möchte ihr ganz herzlich danken für ihre sehr hilfsbereite und kompetente Unterstützung bei allen Fragen, besonders zu labortechnischen und genetischen Angelegenheiten, so wie den sehr hilfreichen Anregungen im Rahmen der Korrektur. Bei Frau Dr. Heike Konnerth möchte ich mich ebenso für die hervorragende, kompetente Betreuung und freundschaftliche Unterstützung auch über die wissenschaftliche Tätigkeit hinaus bedanken. Durch sie und die gute Teamarbeit der Doktoranden Carolin Cohen (geborene Weißer), Andreas von Hahn, Andrea Rupp, Stefan Schertl und Maxie Zimmermann, war es eine sehr lehrreiche und schöne Zeit. Ebenso gilt mein Dank allen Probanden, die sich als Teilnehmer für diese Studie zur Verfügung gestellt haben.

Meinem Freund Dipl.-Inf. Univ. Thomas Pernpeintner danke ich für seine sehr hilfreichen Anregungen im Rahmen der Korrektur bzw. zu den Ausfertigungen der graphischen Darstellungen.

Der herzlichste Dank gilt meinen Eltern, die mich durch Ihre Liebe, Förderung, ihr Interesse, Verständnis und ihre beständigen Ermutigungen immer verlässlich begleitet haben.