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

Direktor: Herr Prof. Dr. Hans-Jürgen Möller

**Genetische Assoziationsstudie des Dopamin 2
Rezeptorgens und des ANKK1 Gens zum
Ansprechverhalten auf Haloperidol**

Dissertation

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

vorgelegt von

Philipp Martin Krämer

aus München

2011

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Dan Rujescu

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Klaus-Gustav Eckert

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

Tag der mündlichen Prüfung: 06.10.2011

1	EINLEITUNG.....	1
1.1	PSYCHOSEN	1
1.1.1	<i>Definition</i>	1
1.1.2	<i>Organische Psychosen</i>	1
1.1.3	<i>Schizophrene Psychosen</i>	2
1.1.3.1	Definition und Epidemiologie.....	2
1.1.3.2	Ätiologie und Genetik.....	4
1.1.3.3	Hirnstrukturelle Veränderungen.....	5
1.1.3.4	Neurotransmitter	6
1.2	THERAPIE DER PSYCHOSEN	11
1.2.1	<i>Allgemeines</i>	11
1.2.2	<i>Medikamentöse Therapie</i>	11
1.2.2.1	Entwicklung und Einteilung der Neuroleptika.....	11
1.2.2.2	Wirkung von Neuroleptika.....	12
1.2.3	<i>Haloperidol</i>	15
1.2.3.1	Indikation und Wirkung.....	15
1.2.3.2	Vergleich von Haloperidol mit anderen Antipsychotika.....	16
1.2.3.3	Nebenwirkungen	19
1.2.3.4	Zusammenhang zwischen Ansprechverhalten auf Neuroleptika und genetischen Variationen	20
1.2.3.5	Zusammenhang zwischen Ansprechverhalten auf Haloperidol und genetischen Variationen	26
1.3	DOPAMIN UND DAS DOPAMINREZEPTOR 2 GEN (DRD2).....	29
1.3.1	<i>Bedeutung des Dopamins</i>	29
1.3.2	<i>Aufbau und Vorkommen von DRD2</i>	30
1.3.3	<i>Funktion des Dopamins</i>	31
1.4	DAS BENACHBARTEN GEN ANKK1	32
1.4.1	<i>Aufbau und Vorkommen von ANKK1</i>	32
1.4.2	<i>Funktion des ANKK1 Gens</i>	34
1.5	HAPLOTYPBLOCKSTRUKTUR DER GENREGION DRD2/ANKK1	35
1.5.1	<i>Allgemeines zum Haplotyp</i>	35
2	FRAGESTELLUNG.....	38
3	MATERIAL UND METHODEN	40
3.1	VORBEDINGUNGEN DER STUDIE	40
3.2	STUDIENDESIGN.....	40
3.2.1	<i>Studienteilnehmer</i>	40
3.2.2	<i>Studienablauf</i>	41

3.2.2.1	Soziodemographische Parameter	41
3.2.2.2	Diagnosestellung	41
3.2.2.3	Erfassung der Nebenwirkungen	41
3.2.2.4	Erfassung der Response	42
3.3	MATERIAL	45
3.3.1	Geräte	45
3.3.2	Reagenzien und Verbrauchsmaterialien	46
3.3.3	Software	47
3.4	METHODEN	47
3.4.1	DNA-Extraktion	47
3.4.2	DNA-Konzentrationsbestimmung	48
3.4.3	Genotypisierungsmethoden	49
3.4.3.1	Genotypisierung	50
3.4.3.2	Restriktionsverdau	53
3.4.3.3	Gelelektrophorese	55
3.4.3.4	Fluoreszenz Resonanz Energie Transfer (FRET)	56
3.4.3.5	Statistische Auswertung	60
4	ERGEBNISSE	61
4.1	ANALYSE DER POLYMORPHISMEN DES ANKK1 GENS	61
4.1.1	Analyse des Markers <i>rs17600713</i>	61
4.1.1.1	Genotypverteilung	61
4.1.1.2	Allelverteilung	63
4.1.2	Analyse des Markers <i>rs2734849</i>	64
4.1.2.1	Genotypverteilung	64
4.1.2.2	Allelverteilung	66
4.1.3	Analyse des Markers <i>rs2587550</i>	67
4.1.3.1	Genotypverteilung	67
4.1.3.2	Allelverteilung	68
4.2	ANALYSE DER POLYMORPHISMEN DES DRD2 GENS	69
4.2.1	Analyse des Markers <i>rs1003641</i>	69
4.2.1.1	Genotypverteilung	69
4.2.1.2	Allelverteilung	70
4.2.2	Analyse des Markers <i>rs1124492</i>	71
4.2.2.1	Genotypverteilung	71
4.2.2.2	Allelverteilung	74
4.2.3	Analyse des Markers <i>rs2002453</i>	75
4.2.3.1	Genotypverteilung	75
4.2.3.2	Allelverteilung	77
4.2.4	Analyse des Markers <i>rs7117915</i>	79

4.2.4.1	Genotypverteilung.....	79
4.2.4.2	Allelverteilung.....	81
4.3	ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE	82
4.4	LD-BLOCKSTRUKTUR.....	84
5	DISKUSSION.....	85
6	ZUSAMMENFASSUNG	99
7	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	101
8	LITERATURVERZEICHNIS.....	102
9	DANKSAGUNG.....	129

1 Einleitung

Der genetische Einfluss auf die Ätiologie von Psychosen ist durch zahlreiche Studien erwiesen (Tsuang et al., 2001; Gottesmann et al., 1987; McGuffin et al., 1996; Cardno et al., 1999). Eine wichtige Rolle hierfür scheint die Genregion um das Dopaminrezeptor 2 Gen zu spielen. Dieser Rezeptor ist auch der Angriffspunkt von Haloperidol, einem Neuroleptikum, welches bei Psychosen eingesetzt wird. Daher könnte auch das Ansprechen auf eine Therapie mit Haloperidol genetisch beeinflusst werden.

Durch einen genetischen Marker, welcher mit dem Ansprechen eines Medikamentes assoziiert wäre, könnte man Patienten mit einer individuell angepassten Therapie behandeln. Die genetische Assoziation zwischen Polymorphismen auf der Dopaminrezeptor 2 Genregion und dem Ansprechverhalten auf Haloperidol bei psychotischen Patienten wurde in dieser Studie untersucht.

1.1 Psychosen

1.1.1 Definition

Eine Psychose ist eine „komplexe psychische Störung mit gestörtem Selbst- und Realitätsbezug (...)“ (Pschyrembel, 2009). Psychosen werden nach ihrer Ätiologie in organische und nicht-organische Psychosen eingeteilt. Letztere werden weiter in schizophrene Psychosen, affektive Psychosen und andere Psychosen differenziert (Möller, 2009).

1.1.2 Organische Psychosen

Bei den organischen oder auch körperlich begründbaren Psychosen kann meist ein pathomorphologisches Korrelat, eine direkte bzw. indirekte Hirnerkrankung oder

Hirnschädigung als Ursache nachgewiesen werden.

Zu den akuten reversiblen organischen Psychosen (Leitsymptom: Bewusstseinstörung) gehören Erkrankungen, die beispielsweise durch eine Durchblutungsstörung des Gehirns oder nach einem Schädelhirntrauma auftreten. Hierzu gehören das amentielle Syndrom oder das Meningeom. Das ZNS kann zudem durch Thiaminmangel, Vitamin B12-Mangel oder Infektionen so geschädigt werden, dass eine Psychose als Symptom auftritt. Auch ein Delir oder ein Durchgangssyndrom gehören zu den akuten organischen Psychosen. Eine Gefahr stellen Noxen wie Alkohol oder psychotrope Substanzen wie Metamphetamine (McKetin et al., 2006) und Cannabis (Degenhardt et al., 2006) sowohl bei Intoxikation als auch bei plötzlichem Entzug dar. Zu den Symptomen dieser Psychosen gehören Wesensveränderungen, Halluzinationen und die Entwicklung einer symptomatischen Schizophrenie.

Diese akuten, körperlich begründbaren Psychosen gehen oft unscharf über in chronische irreversible Formen. Hier sind die Leitsymptome vorwiegend Persönlichkeitsveränderung und Demenz.

1.1.3 Schizophrene Psychosen

1.1.3.1 Definition und Epidemiologie

Zu den nicht organischen Psychosen (endogene Psychosen) werden schizophrene Psychosen bzw. Schizophrenie gezählt, welche die häufigste Psychose ist.

Die Schizophrenie wurde erstmals 1896 von Emil Kraepelin als „Dementia praecox“ beschrieben. Sie ist eine schwerwiegende Erkrankung, welche sowohl in der Symptomatik als auch im Verlauf ein äußerst variables Erscheinungsbild zeigt.

Das Hauptsymptom ist eine Störung der Selbst- und Fremdwahrnehmung. Die Krankheit wurde nach verschiedensten Einteilungen klassifiziert. Durchgesetzt hat sich eine seit den 70er Jahren bekannte Klassifizierung, bei welcher die Symptome in Positiv- und Negativsymptome eingeteilt werden. Positivsymptome sind Wahn, Halluzinationen, Ich-Störungen, Größenideen, formale Denkstörungen und Erregung.

Als Negativsymptome gelten affektive Verflachung, stereotype Gedanken, sozialer Rückzug, Mangel an Spontaneität und Sprachfluß, Schwierigkeiten beim abstrakten Denken, emotionaler Rückzug und Antriebsarmut (Möller et al., 2003; Kay et al., 1987). Die Negativsymptome zeigen im Gegensatz zu den Positivsymptomen eine Persistenz im Alter und lassen differentialdiagnostisch an eine Depression denken (Fenton and McGlashan 1991).

Als Klassifikationssysteme werden derzeit die International Classification of Diseases, Tenth Edition (ICD 10) und Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition (DSM-IV), (Bramer 1988; Wittchen et al., 1996) genutzt. Bei der ICD 10 wird die Schizophrenie in sieben verschiedene Subtypen unterteilt: Paranoide, hebephrene, katatone und undifferenzierte Schizophrenie, postschizophrene Depression, schizophreses Residuum und Schizophrenia simplex. Nach dem DSM-IV wird in fünf Hauptgruppen unterteilt: paranoid, kataton, desorganisiert, undifferenziert und residual. Ein häufiger Subtyp ist der paranoide, welcher sich vor allem in Wahn und Halluzinationen und weniger in einer Negativsymptomatik äußert. Die katatone Schizophrenie zeigt sich besonders in psychomotorischen Störungen. Durch verbesserte medikamentöse Therapie ist sie in den industrialisierten Ländern selten geworden. Der hebephrene Typ (desorganisierte Schizophrenie) zeigt vor allem eine ausgeprägte Negativsymptomatik und affektive Störung mit schlechter Prognose.

Die Lebenszeitprävalenz für Schizophrenie liegt weltweit bei 0,5% -1%, die jährliche Inzidenzrate bei 0,05% (Möller et al., 2009). Unterschiedlichste soziokulturelle Kreise und Bevölkerungen zeigen ähnliche Prävalenzzahlen (Tsuang et al., 1995; Häfner et al., 1997).

Die Subtypen der Schizophrenie haben unterschiedliche Prädilektionsalter (Möller et al., 2009). Der paranoide Typ tritt eher im fortgeschrittenen Alter auf, während der hebephrene Typ üblicherweise zwischen dem 15. und 25. Lebensjahr in Erscheinung tritt. Das durchschnittliche Alter bei Erstmanifestation der Erkrankung insgesamt liegt zwischen dem 18. und 30. Lebensjahr, wobei Männer im Durchschnitt 4 Jahre früher betroffen sind (Möller et al., 2009; Loranger, 1984; Häfner et al., 1998; Hambrecht M. et al., 1992). Das spätere Auftreten der Krankheit bei Frauen und ein zweiter

Krankheitsgipfel in der Menopause wird mit einem vermutlich protektiven Einfluss von Östrogen auf das dopaminerge System erklärt. Bei Ratten wurde eine Empfindlichkeitsreduktion der dopaminergen Rezeptoren durch Östrogen gezeigt (Häfner et al., 1991).

In einer Metaanalyse aus 49 Studien von 1980 bis 2001 zeigte sich, dass Männer in höher entwickelten Ländern ein 1,42-fach erhöhtes Risiko im Vergleich zu Frauen aufweisen an Schizophrenie zu erkranken (Aleman et al., 2003).

1.1.3.2 Ätiologie und Genetik

Die genetische Disposition spielt eine entscheidende Rolle bei der Entstehung der Schizophrenie. Dies wurde in zahlreichen Studien belegt und ist inzwischen allgemein anerkannt (Tsuang et al., 2001; Gottesmann et al., 1987; McGuffin et al.; 1996, Cardno et al., 1999). Es konnte allerdings bislang kein einzelnes ursächliches Gen entdeckt werden. Vermutlich handelt es sich um eine multifaktoriell bedingte Erkrankung. So zeigt sie eine inkomplette Penetranz, großen Einfluss von Umweltfaktoren und genetische Heterogenität (Kendler, 2003; Sullivan et al., 2003).

In Zwillingsstudien konnte gezeigt werden, dass bei monozygoten Zwillingen eine Konkordanz von ca. 50% für Schizophrenie besteht und bei dizygoten Zwillingen von ca. 10%. Daraus lässt sich ein Einfluss sowohl von genetischer Disposition als auch von Umweltfaktoren ableiten (McGrath et al.; 1995, Zornberg et al., 2000). Die Bedeutung sozialer und demographischer Einflüsse beschrieben Eaton (1974), Harrison et al. (1997) und Eaton et al. (2000). Eaton untersuchte die Hospitalisierung dänischer Patienten mit Schizophrenie und konnte ein 4,2-fach erhöhtes Risiko bei Stadtbewohnern im Vergleich zur Landbevölkerung zeigen. Das Erkrankungsrisiko für Schizophrenie ist laut einer schwedischen Studie für die Stadtbevölkerung 1,65-fach erhöht (Lewis et al., 1992). Hohe Inzidenzen wurden bei sozial benachteiligten Probanden festgestellt. Hierbei sollte die social-drift Hypothese berücksichtigt werden, welche besagt, dass ein Abgleiten in eine tiefere soziale Schichten häufig als Folge, nicht aber als Ursache einer bestimmten Krankheit zu werten ist. Cantor-Graae durchsuchte MEDLINE nach populationsbezogenen Studien zwischen 1977 und 2003 (Cantor-Graae E. et al., 2005). 18 einbezogene Studien zeigten bei Einwanderern der 2.

Generation im Vergleich zur ersten Generation ein erhöhtes Risiko Schizophrenie zu entwickeln.

Menschen, welche in den Winter- und Frühlingsmonaten geboren wurden, sind laut einem Review von Torrey häufiger als der Rest der Bevölkerung betroffen (Torrey et al., 1997). Dies kann möglicherweise mit einer pränatalen Herpes simplex oder Rubella Exposition in Zusammenhang gebracht werden (Brown et al., 2000).

Murray wertete eine Störung der Neuralentwicklung als Ursache für die Schizophrenie (Murray, 1994; Gourion et al., 2004; Harrison 1997). Möglicherweise spielen Faktoren aus der Embryonal- und Fetalzeit, wie beispielsweise perinatale Hypoxie (Zornberg et al., 2000; Cannon et al., 2002), vermindertes fetales Wachstum (Hultmann et al., 1997), Frühgeburtlichkeit, geringer Kopfumfang (Kunugi et al., 1996 und 2001), Nährstoffmangel während der Schwangerschaft (Brown et al., 1996), Kaiserschnitt oder Präeklampsie (Dalman et al., 1999), eine wichtige Rolle bei der Entwicklung einer Schizophrenie. Gilvarry konnte zeigen, dass bei Müttern mit Autoimmunkrankheiten wie Diabetes mellitus das Risiko für deren Kinder steigt, an einer Psychose zu erkranken (Gilvarry et al., 1996).

Zusammengefasst lässt sich die Entstehung der Schizophrenie am besten mit dem Vulnerabilitäts-Stress Modell erklären, wonach die Kombination aus Prädisposition und belastenden Umweltfaktoren zur Entstehung der Krankheit führt (Cannon et al., 2002).

1.1.3.3 Hirnstrukturelle Veränderungen

An postmortalen Gehirnen schizophrener Patienten konnte eine Reduktion der neokortikalen grauen Substanz und eine verminderte Neuronenzahl im Hippocampus und im Frontallappen nachgewiesen werden (Benes, 2000; Bogerts, 1999a; Hilleke et al., 2000). In einer Zwillingsstudie konnte gezeigt werden, dass das Gesamtvolumen des Gehirns bei an Schizophrenie erkrankten Patienten kleiner als das ihrer gesunden Zwillinge ist (Baare et al., 2001). Hilleke et al. zeigten in einer MRT Studie, dass die graue Hirnsubstanz bei schizophrenen Patienten vermindert ist und interpretierten dies als eine Folge der Krankheit, da dieser Befund bei älteren Patienten ausgeprägter war (Hilleke et al., 2002). Sanfilipo et al. zeigten einen Zusammenhang von vermehrter

Negativsymptomatik mit verminderter präfrontaler weißer Substanz und folgerten, dass eine Verminderung der grauen Substanz eine für die Schizophrenie typische Abnormalität sei (Sanfilipo et al., 2000). Die Veränderungen der Frontallappenstruktur konnten durch eine MRT-Studie von Baare mit vermehrter negativer Symptomatik und vermindertem verbalen und visuellen Gedächtnis in Zusammenhang gebracht werden (Baare et al., 1999).

Shenton fasste in einem Review 193 MRT-Studien aus den Jahren 1988 bis 2000 zusammen und zeigte, dass Seitenventrikelvergrößerungen und Frontal- bzw. Temporallappenveränderungen häufig beschrieben wurden (Shenton et al., 2000). Ob diese pathomorphologischen Veränderungen im Laufe der Krankheit entstehen oder ob sie ursächlich für die Entwicklung der Schizophrenie sind wird in weiteren Studien zu klären sein.

1.1.3.4 Neurotransmitter

Als Ursachenerklärung für die Schizophrenie war lange Zeit die Dopamin-Hypothese vorherrschend (Carlsson, 1963; Van Rossum, 1966), welche ein erhöhtes Vorkommen von Dopamin im ZNS als Ursache für Schizophrenie verantwortlich machte. Spätere *in vitro*-Versuche zeigten eine Blockierung von Dopamin-2-Rezeptoren durch Neuroleptika (Carlsson, 1988). Es konnte eine erhöhte Freisetzung von Dopamin im limbischen System gezeigt werden welche vermutlich die Ursache für die Positivsymptomatik ist (Abi-Dargham et al., 1998). Ein Mangel an Dopamin im präfrontalen Kortex hingegen scheint die Negativsymptome hervorzurufen. Diese These wird durch die blockierende Wirkung typischer Neuroleptika auf Dopamin-2-Rezeptoren und deren höherer Effektivität bei Positivsymptomen als bei Negativsymptomen gestützt (Davis et al., 1991).

In genetischen Studien wurde ein Zusammenhang mit Polymorphismen auf dem DRD2 Gen und dem Auftreten von Schizophrenie bestätigt. In der russischen Bevölkerung beispielsweise entdeckten Monakhov et al. (2008) eine Assoziation zwischen dem C957T Polymorphismus des DRD2 Rezeptor Gens und Schizophrenie. Monakhov et al. (2008) untersuchten die drei Polymorphismen C957T (rs6277), C939T und TaqIA auf

ihren Zusammenhang mit Schizophrenie. Nur beim Polymorphismus C957T konnte eine signifikante Assoziation gezeigt werden. Auch Jönsson et al. (1999) zeigten in einer Studie eine Assoziation eines weiteren Markers (-141C Ins/Del) auf dem DRD2 Gen mit vermehrtem Vorkommen der Schizophrenie. Es wurden 129 kaukasische Patienten und 179 kaukasische Kontrollprobanden in diese Studie aufgenommen. Die Genotypisierung erfolgte als RFLP (Restriktions Fragment Längenpolymorphismus). Es konnte eine signifikant geringere Anzahl an -141C Del Allelen bei den Patienten (5,8%) im Vergleich zur Kontrollgruppe (11,2%) gezeigt werden. Lafuente et al. (2008) zeigten den Zusammenhang verschiedener Marker auf dem Dopamin 2 Rezeptor Gen mit Schizophrenie. Von den Polymorphismen -141C Ins/Del, TaqIA, TaqIB und einem DRD3 Marker konnte nur bei -141 C Ins/Del ein signifikanter Zusammenhang nachgewiesen werden. Es wurden 243 schizophrenerkrankte Patienten und 291 Kontrollen spanischer Herkunft in einer Fall-Kontroll Studie verglichen. Von Bedeutung scheint ein Polymorphismus in der 3'-Genregion des DRD2 Rezeptor Gens zu sein, der TaqIA, welcher in anderen Studien bereits mit Alkoholismus und Drogenmissbrauch assoziiert wurde (Blum et al., 1990; Comings et al., 1991). Dubertret et al. (2001) zeigten eine signifikante Assoziation von Allel 2 des TaqIA Polymorphismus mit Schizophrenie.

Weitere Studien stellen die ursprüngliche Dopamin-Hypothese auf genetischer Grundlage (Haplotypenanalysen, bzw. Assoziationsstudien) in Frage (Nieratschker et al., 2010; Behravan et al.; 2008, Moises et al.; 1991, Iwata et al., 2003.). So führten Moises et al. eine Kopplungsanalyse unter Einbeziehung des DRD2 Gens durch und konnten keinen Zusammenhang zur Schizophrenie zeigen (Moises et al., 1991).

In einer Review zeigten Nieratschker et al., dass mehrere Gene (DISC1, NRG1, etc.) eine Assoziation zur Schizophrenie aufzeigen weshalb ein einzelnes Gen als Ursache zur Entstehung eher unwahrscheinlich scheint (Nieratschker et al., 2010).

Iwata et al. untersuchten Polymorphismen auf Genen von vier Dopamin regulierenden Enzymen sowie auf 4 Dopaminrezeptor Genen, u.a. dem DRD2. Hier konnte kein Zusammenhang zur Schizophrenie gezeigt werden (Iwata et al., 2003). Hori et al. konnten keine Assoziation der Polymorphismen des DRD2 Gens Ser311Cys und -141C Ins/Del mit Schizophrenie zeigen (Hori et al., 2001).

In einem iranischem Kollektiv konnten Behravan et al. keine Assoziation von TaqIA oder TaqB mit Schizophrenie nachweisen. Sie untersuchten 38 Patienten und 63 Kontrollen iranischer Herkunft, welche alle als RFLP genotypisiert wurden (Behravan et al., 2008). Friedrich konnte keine Assoziation der Polymorphismen -141C Ins/Del und A-241G des Promoterbereichs des DRD2 Gens mit Schizophrenie zeigen (Friedrich, 2006). Zakzanis et al. untersuchten in einer Metaanalyse die Dopamin 2 Rezeptordichte und konnten bei ca. 70% der schizophrenerkrankten Patienten eine erhöhte Dichte zeigen. Die Tatsache, dass ca. 30% der an Schizophrenie erkrankten Patienten keine erhöhte Dichte an Dopaminrezeptoren 2 aufweisen, spricht ebenfalls gegen die Dopamin-Hypothese als alleingültige Erklärung (Zakzanis et al., 1998).

Ein Zusammenhang zwischen Glutamat und Schizophrenie wurde zunächst durch Carlsson et al. anhand von Tiermodellen gezeigt. Sie vermuteten eine verminderte glutamaterge Funktion in der kortikostriatalen Übertragung als zumindest mitbeteiligt bei der Pathogenese der Schizophrenie in einem multifokalem ätiologischen Konzept (Carlsson et al., 1990). Durch Stefansson et al. konnte eine Assoziation zum Neuregulin 1 Gen gezeigt werden. Dieses Gen moduliert die glutamaterge Neurotransmission und bekräftigt damit die Glutamathypothese (Stefansson et al., 2003).

Bei Verabreichung eines psychomimetischen NMDA (N-Methyl-D-Aspartat) Antagonisten wie Ketamin oder Phencyclidin zeigten gesunde Probanden schizophrenieähnliche Psychosen und schizophrene Patienten eine Exazerbation ihrer Erkrankung (Adler et al., 1999; Javitt and Zukin, 1991; Lahti et al., 1995). In Tiermodellen erkannten Kaiser et al. veränderte Genexpression im präfrontalen Kortex nach Applikation von Phencyclidin (Kaiser et al., 2004). Der artifiziell erzeugte Mangel an Glutamat im Rattenhirn rief eine veränderte dopaminerge Expression hervor und erzeugte im menschlichen Gehirn eine Psychose. Daher lag die Vermutung nahe, dass auch Glutamat einen wichtigen Einfluss auf schizophrene Symptome hat. Im Übrigen haben atypische Neuroleptika eine antagonistische wie auch agonistische Wirkung auf NMDA Rezeptoren. Egan und Weinberger untersuchten die Bedeutung des Glutamat für die Entwicklung einer Schizophrenie und konnten in drei *post mortem* Studien einen signifikanten Zusammenhang zwischen Expression von NMDA Rezeptoren (unter anderem im präfrontalen Kortex) und Schizophrenie finden (Egan and Weinberger,

1997). In einer weiteren *post mortem* Studie wurde eine verminderte GABAerge Genexpression im präfrontalen Kortex bei schizophreniekranken Patienten nachgewiesen (Volk et al., 2001). Jentsch und Roth konnten die Hypothese der Hypofunktion des Glutamats durch NMDA Rezeptor Antagonisten an Tiermodellen bestätigen (Jentsch und Roth, 1999), erwähnten aber die Bedeutung des Zusammenspiels verschiedener Neurotransmitter für die Entstehung der Schizophrenie.

Straub et al. gelang es, in einer Kopplungsstudie auf verschiedenen Genregionen auf den Chromosomen 2, 5, 6, 8 und 10 Zusammenhänge mit der Schizophrenie darzustellen. Auch hier wurde die Hypothese formuliert, dass bei der Pathogenese der Schizophrenie das Zusammenspiel mehrerer Neurotransmitter entscheidend ist (Straub et al., 2002(1)). Kegeles et al. erkannten, dass eine Veränderung des glutamatergen Systems die dopaminerge Aktivität beeinflusst (Kegeles et al., 2000). Laruelle et al. untersuchten den Einfluss der abnormen dopaminergen Stimulation auf die glutamaterge Übertragung und erkannten, dass sich beide Transmitter gegenseitig beeinflussen (Laruelle et al., 2003).

Die Serotoninhypothese wurde durch Assoziationsstudien des Serotonin 2A Rezeptor Gens von Inayama et al. und Williams et al. bekräftigt. Beide Arbeitsgruppen konnten den Zusammenhang zwischen Schizophrenie und einem Polymorphismus des Serotonin 2A Rezeptorgens nachweisen (Inayama et al., 1996, Williams et al., 1997).

Bereits 1952 wurde erkannt, dass die LSD-Psychose, welche durch Serotoninblockade auftritt, der schizophrenen Psychose ähnlich ist (Osmond und Smythies, 1952). Es wurde vermutet, dass Serotonin eine große Rolle in der Pathologie der Schizophrenie spielt. Die Blockade der Serotoninrezeptoren ist eine entscheidende Wirkung der atypischen Neuroleptika. Iqbal et al. vermuteten den hauptsächlichen Effekt von Serotonin in seiner Interaktion mit Dopamin (Iqbal et al., 1995). 1991 untersuchten Iqbal et al. Reaktionen auf die Gabe eines Serotoninagonisten (MCPP = m-chlorophenylpiperazin) und erkannten, dass schizophrene Patienten anders reagierten als Kontrollprobanden. Insbesondere zeigten sie psychotisch auffälliges Verhalten und verschlechterte PANSS-Werte (*Positive and Negative Syndrome Scale*). Zusätzlich wiesen sie verminderte Cortisol- und Prolaktinspiegel auf (Iqbal et al., 1991). Ein

weiterer Hinweis für die Bedeutung des Serotonins war die Entdeckung, dass ein Polymorphismus des für die Tryptophan-Hydroxylase kodierenden Gens eine Assoziation mit der Negativsymptomatik bei Schizophrenie zeigte (Shinkai et al., 2000). Die Tryptophan-Hydroxylase ist an der Synthese von Serotonin beteiligt. Tsai et al. zeigten eine Assoziation zwischen VNTRs (*Variable number tandem repeats*) im Serotonin-Transportergen und Schizophrenie (Tsai et al., 2002). In einer PET *in vivo* Studie wurde eine erhöhte kortikale Serotoninrezeptordichte bei Patienten mit Schizophrenie festgestellt. Diese Ergebnisse müssten aber im klinischen Zusammenhang und unter Einbeziehung der Pharmakotherapie noch weiter untersucht werden, da es sich auch nur um eine pharmakologisch induzierte Erhöhung handeln könnte (Tauscher et al., 2002). In einer Review wurde der Zusammenhang zwischen genetischen Polymorphismen des 5HT_{2C} Rezeptors und Nebenwirkungen der atypischen Neuroleptika wie z.B. Gewichtszunahme dargestellt (Reynolds et al., 2005 (1)). Nach Injektion sowohl atypischer als auch konventioneller Neuroleptika wurde durch Tiermodelle die veränderte Expression der Dopamin- und auch der Serotoninrezeptoren bestätigt (Haleem et al., 2002).

Familienstudien weisen darauf hin, dass Acetylcholin ebenfalls eine Rolle bei der Entstehung von Schizophrenie spielen könnte. Ein Polymorphismus auf dem Gen des alpha7-nikotinergen Cholinrezeptors wird in Zusammenhang mit Hörempfindungsstörungen bei Schizophrenen (Freedman et al., 1996) sowie mit der Schizophrenie an sich gebracht (Leonard et al., 1996). Tandon und Greden (1989) stellten die These auf, dass eine erhöhte Aktivität muskarinischer Rezeptoren Negativsymptomatik verursachen könnte. Sie erstellten diese These unter anderem auf Grund der Verminderung von negativer Symptomatik durch Anticholinergika (Tandon and Greden, 1989).

Zusammenfassend ist festzustellen, dass nicht ein einzelnes Transmittersystem, sondern eher eine Dysfunktion mehrerer für die Entwicklung von Schizophrenie verantwortlich ist. Diese Vermutung wird auch durch die gute antipsychotische Wirkung der Atypika unterstützt, welche mehrere Transmittersysteme (Dopamin, Serotonin, Acetylcholin, Glutamat) zum Teil sowohl antagonistisch als auch partiell agonistisch beeinflussen (Gründer et al., 2001).

1.2 Therapie der Psychosen

1.2.1 Allgemeines

Therapieziel bei Psychosen ist neben Symptomfreiheit auch die Verbesserung der Lebensqualität und die Integration des Kranken in die Gesellschaft. Obwohl Psychotherapie, Verhaltenstherapie, Patienten- und Angehörigenschulungen und kognitives Training als wichtige und effektive Therapieformen gelten (Fenton, 2000), ist doch die Pharmakotherapie das entscheidende Agens. Neuroleptika dienen in erster Linie der Akutbehandlung, um mit einem dann kooperativeren Patienten psychotherapeutische Behandlungswege einzuschlagen (Möller und Bernd, 2000). Bei wiederholten Rezidiven ist allerdings eine dauerhafte medikamentöse Rezidivprophylaxe unverzichtbar. Grundsätzlich ist die Kombination der Pharmakotherapie mit Psychotherapie die effektivste (Huber, 2005).

Pharmakologisch wird unter anderem die dopaminblockierende Wirkung der Neuroleptika genutzt. Zusätzlich ist oft eine Sedierung der agitierten oder ängstlichen Patienten notwendig (Gleixner, 2005).

1.2.2 Medikamentöse Therapie

1.2.2.1 Entwicklung und Einteilung der Neuroleptika

Delay, Deniker und Harl entdeckten 1952 Chlorpromazin aus der Gruppe der Phenothiazine. Durch die Einführung dieses ersten Neuroleptikums wurde die Hospitalisierungsrate schizophrener Patienten stark gesenkt (Braus, 2005). Die antipsychotische Potenz aller anderen Neuroleptika wird seither mit dieser Substanz verglichen; dies wird als Chlorpromazinäquivalenz bezeichnet. Durch die Wirksamkeit von Chlorpromazin entstand die oben erwähnte Dopamin-Hypothese: Durch Blockierung der Rezeptoren verschiedener Neurotransmitter im Gehirn, insbesondere der Dopaminrezeptoren, konnte eine signifikante Reduzierung der Positivsymptomatik

erreicht werden (Lambert et al., 1999; Tollefson et al., 1997).

Nach ihrer chemischen Struktur werden Neuroleptika in sieben Gruppen eingeteilt: Phenothiazine, Thioxanthene, Butyrophenone, Diphenylbutylpiperidine, Dibenzepine und Benzamide. Seit 1972 Clozapin als erstes atypisches Neuroleptikum entdeckt wurde, ist die Einteilung in typische und atypische Neuroleptika (siehe Tab. 1) allerdings sinnvoller, da die klinische Beeinflussbarkeit der verschiedenen Symptome und die Nebenwirkungen hieraus hervorgehen (Möller, 2000).

1.2.2.2 Wirkung von Neuroleptika

Von klinischer Bedeutung ist auch die Intensität der antipsychotischen Wirkung. Neuroleptika werden in hoch-, mittel- und niedrigpotente eingeteilt. Hochpotente Neuroleptika sind meist weniger sedierend als niederpotente Antipsychotika, zeigen allerdings stärkere extrapyramidalmotorische Störungen (EPMS).

Tabelle 1: Einteilung Neuroleptika

Potenz	Neuroleptikum (Handelsname)	Wirkstoff	Typisch/Atypisch
Hochpotent	Haldol	Haloperidol	Typisch
	Glianimon	Benperidol	Typisch
	Dapotum	Fluphenazin	Typisch
	Orap	Pimozid	Typisch
	Zyprexa	Olanzapin	Atypisch
	Risperdal	Risperidon	Atypisch
Mittelpotent	Propaphenin	Chlorpromazin	Typisch
	Leponex	Clozapin	Atypisch
	Taxilan	Perazin	Typisch
	Dogmatil	Sulpirid	Atypisch
	Seroquel	Quetiapin	Atypisch
Niedrigpotent	Neurocil	Levomepromazin	Typisch
	Truxal	Chlorprothixen	Typisch
	Dipiperon	Pipamperon	Typisch
	Solian	Amisulprid	Atypisch

Allen Neuroleptika ist eine blockierende Wirkung auf postsynaptische Dopaminrezeptoren gemeinsam, wodurch die Positivsymptomatik vermindert wird. In erster Linie werden D2-Rezeptoren im limbischen System blockiert, in geringerem Ausmaß auch D1- oder D4-Rezeptoren. Clozapin zum Beispiel zeigt an D4 Rezeptoren eine antagonistische Wirkung, an D1, D2, D3 und D5 nur eine leichte Blockade. Außerdem inhibiert es wie fast alle atypischen Neuroleptika die serotonerge, alpha-adrenerge, cholinerge und histaminerge Übertragung (Gelbe Liste, 2010).

Auf Grund des vermuteten relativen Dopaminmangels im frontalen Kortex ist es verständlich, dass die typischen Neuroleptika zwar sehr gute Ergebnisse bei der Positivsymptomatik aufzeigen, aber kaum Einfluss auf die Negativsymptomatik haben. Neuroleptika verstärken den krankheitsbedingt bereits bestehenden Dopaminmangel im frontalen Kortex (Tollefson et al., 1997 (1)) noch zusätzlich. Ein Nachteil ist, dass die Blockade der Dopaminrezeptoren im nigrostriatalen System eine parkinsonoide bzw. extrapyramidale Störung, akute Dyskinesien und vor allem irreversible Spätdyskinesien als Nebenwirkung auftreten lässt (Möller et al., 2000). Die antidopaminerge Wirkung im tuberoinfundibulären System hat manchmal eine Hyperprolaktinämie und dadurch bedingte Galaktorrhoe und Gynäkomastie zur Folge (Estler, 2006).

Der Vorteil der Atypika ist die differenzierte Blockade zentraler noradrenerger Rezeptoren sowie Rezeptoren im frontalen Kortex und die daraus folgende zusätzliche Verbesserung der Negativsymptomatik (Beasley et al., 1996). Unter anderem treten bei den Atypika kaum extrapyramidale Störungen und nur selten Hyperprolaktinämie auf (Leucht et al., 1999; Geddes et al., 2000; Davis et al., 2003; Haleem et al., 2002). Eine Review von Leucht zeigte, dass Atypika eine signifikant bessere Prophylaxe vor Rückfällen bieten als konventionelle Neuroleptika (Leucht et al., 2003 (1)). Eine belastende Nebenwirkung bei den Atypika ist allerdings die stärkere Gewichtszunahme, deren Ursache nicht gänzlich geklärt ist. Allerdings wird eine genetische Disposition vermutet (Müller und Kennedy, 2006). Eine mögliche Störung der Glukosetoleranz sowie das Neuauftreten eines Diabetes mellitus sind weitere relevante Nebenwirkungen (Sernyak et al., 2002). Wetterling et al. (2003) untersuchten diese Zusammenhänge und kamen zu dem Schluss, dass Clozapin und Olanzapin ein deutlich erhöhtes Risiko für

die Entwicklung eines Diabetes mellitus haben als typische Neuroleptika. Dieses Risiko entstände wegen der Appetitsteigerung und der daraus folgenden Adipositas mit gesteigerter Sekretion von Insulin und Leptin (Wetterling et al., 2003). Eine seltene aber gefährliche Komplikation einiger Atypika ist die Agranulozytose. So wurde 1975 Clozapin wegen entsprechender Blutbildveränderungen vom Markt genommen, unter der Auflage laborchemischer Kontrollen aber bald wieder zugelassen (Huber, 2005).

Neuroleptika können durch die Wirkung auf Transmittersysteme, wie beispielsweise Serotonin, zu Nebenwirkungen hervorrufen, zum anderen aber auch die klinische Wirkung maßgeblich beeinflussen. Die Blockade der Histamin H1-Rezeptoren tragen beispielsweise zur Sedierung bei, sind aber vermutlich an der Appetitsteigerung beteiligt (Möller et al., 2000). Der Antagonismus an muskarinischen Rezeptoren führt zwar zu einer Minderung der extrapyramidalen Symptomatik, gleichzeitig aber zu vegetativen Nebenwirkungen (Möller et al., 2000). Die Blockade der serotonergen Rezeptoren ist vermutlich für die Minderung der Negativsymptome verantwortlich (Estler, 2006). Neuere atypische Neuroleptika (z.B. Aripiprazol) zeigen einen anderen Grad der Blockierung, einen schwachen partiellen Agonismus an D2-Rezeptoren, und weisen dadurch ein geringeres Auftreten von EPMS auf (Gründer et al., 2003). Bei Aripiprazol besteht zusätzlich ein agonistischer Effekt auf den 5-HT(1A) Rezeptor und ein antagonistischer auf 5-HT(2A) Rezeptor (Kuroki et al., 2008).

Wegen diverser anderer Wirkungen finden Neuroleptika auch außerhalb der Psychiatrie Anwendung, so als Neuroleptanalgesie in der Anästhesie, bei hyperkinetischen Syndromen in der Neurologie und als Antiemetikum oder Anticholinergikum in der Inneren Medizin. In der Gerontopsychiatrie werden Neuroleptika bei Demenzen zur Behandlung von Unruhe und Ängsten verwendet (Adler, 2003).

1.2.3 Haloperidol

1.2.3.1 Indikation und Wirkung

Haloperidol ist ein typisches Antipsychotikum der Stoffgruppe Butyrophenon mit einem etwa 50-fach stärkeren antipsychotischen Effekt als Chlorpromazin. Es wurde 1959 als das erste hochpotente Neuroleptikum in Belgien zugelassen, nachdem es ursprünglich für den Einsatz in der Anästhesie von Paul Janssen entwickelt wurde (Bangen, 1992).

Haloperidol besteht chemisch aus einer Propyl-Kette mit einem basischen Stickstoff und ein 4-Fluorbenzoyl sowie einer Bis-(4-fluorphenyl)-methyl-Gruppe (Möller, 2000). Die Anwendungsgebiete von Haloperidol sind Basisbehandlung und Behandlung von Krankheitsschüben der Psychosen aus dem schizophrenen Formenkreis, wie Behandlung akuter Verschlechterungen chronisch therapieresistenter Schizophrenien sowie psychomotorischer Erregungszustände psychotischer Genese (Gelbe Liste, 2010). Haloperidol verringert Symptome wie Halluzinationen, Aggressivität, Impulsivität und Erregungszustände (Joy, 2006). Das Medikament ist in verschiedenen Darreichungsformen verfügbar (Tabletten, Tropfen, Depot und Spritzen), die Dosis sollte individuell eingestellt werden. Eine Dosis von 15mg zeigt in der Regel ein ebenso gutes Resultat wie eine höhere Dosis (Müller et al., 2000).

Haloperidol hat eine hohe Affinität zu Dopamin 2 Rezeptoren, eine etwas verminderte zu Dopamin 1, 3 und 4 Rezeptoren, eine nur geringe zu 5-HT1A und 5-HT2, zu sigma Opioid- und alpha Adrenorezeptoren. Erst bei hohen Dosen hat Haloperidol eine Affinität zu H1 Histamin- und zu cholinergen Rezeptoren (Gelbe Liste, 2010). In PET-Studien wurde eine 70 bis 89%ige Blockade der Dopamin 2 Rezeptoren unter Haloperidol gezeigt, bei beispielsweise Clozapin waren es hingegen nur 38-63% (Farde et al., 1992). Clozapin hat eine starke Affinität zu Dopamin 4 Rezeptoren, 5-HT2A, muskarinergen und cholinergen Rezeptoren, weshalb hier vermehrt vegetative Nebenwirkungen auftreten (Burgis, 2008).

Gründer zeigte durch markiertes L-DOPA und PET Aufnahmen, dass nach einer 5-

wöchigen Behandlung zusätzlich zur akuten DRD2 Blockade eine um 25% verminderte Synthese von Dopamin im Caudatum und im Putamen erfolgte (Gründer et al., 2003). Dies erklärt, warum die antipsychotische Wirkung oft erst Wochen später einsetzt, obwohl der dopaminblockierende Effekt wesentlich schneller eintritt.

Der hepatische Abbau von Haloperidol erfolgt zum größten Teil durch Glukoronidierung, es wird aber auch durch CYP3A4 verstoffwechselt (Kudo et al., 1999). Durch die hohe therapeutische Breite von Haloperidol kommen Vergiftungserscheinungen nur selten vor.

1.2.3.2 Vergleich von Haloperidol mit anderen Antipsychotika

In den Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Psychiatrie, Psychotherapie und Nervenheilkunde (DGPPN) wird in fast allen Situationen die Gabe atypischer Neuroleptika empfohlen:

Empfehlungsgrad B:

Bei schizophrenen Ersterkrankungen sollten aufgrund der gegenüber den typischen Antipsychotika zumindest vergleichbaren Wirkung auf die Positivsymptomatik, Hinweisen auf eine überlegene Wirksamkeit bezüglich der Negativsymptomatik und geringerer dosisabhängiger extrapyramidal-motorischer Nebenwirkungen in erster Linie Atypika eingesetzt werden, allerdings müssen hierbei die substanzspezifischen Nebenwirkungen berücksichtigt werden (DGPPN Leitlinien Kurzversion).

In einem Informationsblatt der Kassenärztlichen Vereinigung Bayerns (01.07.2009) zur Verschreibung von Neuroleptika wurde beschrieben, dass die Verschreibungszahlen der klassischen Neuroleptika in Bayern von 2005 - 2008 sanken, und die der atypischen anstiegen. Es wurde aus einem Verhältnis von 63% klassische zu 37% Atypika im Jahre 2005, 4 Jahre später bereits 51,8% klassische zu 48,2% Atypika (Kassenärztliche Vereinigung Bayern, 2009).

In den USA waren 90% aller verabreichten Neuroleptika Atypika (Burgis, 2008).

Davis et al. konnten zeigen, dass einige Atypika wie Clozapin, Olanzapin, Amisulprid oder Risperidon eine bessere antipsychotische Wirkung besitzen als typische

Neuroleptika (Davis et al., 2003). Insbesondere Clozapin scheint im Vergleich mit typischen Neuroleptika eine verbesserte Effektivität hinsichtlich Symptomreduzierung zu erreichen (Chakos et al., 2001). Es gilt aber zu bedenken, dass die Atypika eine sehr heterogene Substanzklasse darstellen. Es ist nicht korrekt, von den Atypika bzw. Zweitgenerations - Antipsychotika wie von einer Entität zu sprechen. Schulz et al. (2003) konnten keine signifikanten Unterschiede in der Verbesserung der Symptome zwischen Quetiapin und Haloperidol bei Messung der BPRS (*Brief Psychiatric Rating Scale*) erkennen, aber ein besseres Ansprechen auf Quetiapin im Hinblick auf Symptomverbesserung, gemessen an fallkontrollierten Studien.

Beasley et al. zeigten eine erhöhte Effektivität von Olanzapin im Vergleich zu Haloperidol nur bei der Negativsymptomatik (Beasley et al., 1996). Burton et al. untersuchten in einer Review den Vorteil der Atypika und bestätigten den höheren Grad an Verbesserung der Negativsymptomatik und der kognitiven Funktion (Burton et al., 2006).

Leucht et al. zeigten in einer Metaanalyse auch für Haloperidol eine Verbesserung der Negativsymptomatik. Es konnte auch eine Verbesserung der allgemeinen Symptomatik für Risperidon und Olanzapin im Vergleich zu Haloperidol nachgewiesen werden (Leucht et al., 1999). In einer Metaanalyse (Leucht et al., 2009) konnten keine signifikanten Unterschiede bei der Verbesserung der Negativsymptomatik zwischen atypischen und typischen Neuroleptika festgestellt werden. Auch hier wurde festgestellt, dass die Atypika eine heterogene Gruppe darstellen und in der Hälfte der Fälle nicht effektiver waren als typische Neuroleptika.

Kasper et al. sahen in einer randomisierten Langzeitstudie mit 1294 Patienten Vorteile von Aripiprazol gegenüber Haloperidol in der Langzeitbehandlung bezüglich Effektivität (PANSS) und Compliance (Kasper et al., 2003).

In einer weiteren Metaanalyse untersuchten Geddes et al. (2000) 12649 Patienten in 52 Studien, wobei sie atypische (Amisulprid, Olanzapin, Quetiapin, Risperidon und Sertindol) mit herkömmlichen Neuroleptika (Haloperidol und Chlorpromazin) verglichen. Es zeigte sich zwar ein Vorteil der Atypika, was Effektivität und Auftreten extrapyramidalmotorischer Nebenwirkungen angeht, die Vorteile verringerten sich

aber bei einer Dosis von Haloperidol weniger als 12 mg/Tag. Es wurde vermutet, dass typische Neuroleptika bei höherer Dosierung zwar mehr Nebenwirkungen haben, wiewohl höhere Dosen die antipsychotische Potenz nicht erhöhen. Die vermeintlichen Vorteile der Atypika verringern sich angesichts deren typischer Nebenwirkungen (Gewichtszunahme, Blutbildveränderungen). Dass durch adäquate Dosierung auch konventionelle Neuroleptika weniger EPMS zeigen, konnten Leucht et al. bekräftigen (Leucht et al., 2003(2)).

Liebermann et al. (2003) konnten bei Patienten, welche mit Olanzapin behandelt wurden, eine höhere Therapie-Abbruchrate feststellen als bei mit Haloperidol behandelten Patienten (Liebermann et al., 2003). Auch Burton et al. beschrieben trotz verbesserter antipsychotischer Effekte eine verminderte Compliance bei Patienten, welche atypische Neuroleptika einnahmen, was vermutlich auf die Gewichtszunahme zurückzuführen war (Burton et al., 2006).

In der CATIE-Studie („Clinical Antipsychotic Trials of Intervention Effectiveness“) wurden 1493 Patienten in verschiedenen US-amerikanischen Städten hinsichtlich einer unterschiedlichen Effektivität zwischen dem typischen Neuroleptikum Perphenazin und den atypischen Olanzapin, Risperidon, Quetiapin und Ziprasidon untersucht. Lediglich bei Olanzapin war die Abbruchrate geringer, allerdings musste hierbei stärkere Gewichtszunahme, Blutzuckeranstieg und Cholesterinanstieg hingenommen werden. Die übrigen atypischen Neuroleptika konnten weder eine erhöhte Effektivität im Vergleich zu Perphenazin aufweisen noch eine spätere Abbruchrate wegen Nebenwirkungen (Liebermann et al., 2005).

Einen aktuellen Überblick zeigt das Informationsblatt der Kassenärztlichen Vereinigung Bayerns (01.07.2009), in welchem 150 Studien mit insgesamt 21533 Patienten untersucht wurden. Bei der Gesamtwirksamkeit sind nur vier (Amisulprid, Clozapin, Olanzapin, Risperidon) der neun untersuchten Atypika wirksamer als die klassischen Neuroleptika. Dies trifft ebenfalls auf die für die Atypika bekannte Reduzierung der Negativsymptomatik zu.

Im Vergleich zu Haloperidol zeigen alle atypischen Antipsychotika weniger EPMS. Bei der Gabe niedrigpotenter klassischer Neuroleptika wie Chlorpromazin zeigen hier nur

Clozapin, Olanzapin und Risperidon weniger EPMS (Kassenärztliche Vereinigung Bayern, 2009).

1.2.3.3 Nebenwirkungen

Als hochpotentes Neuroleptikum weist Haloperidol im Vergleich zu Atypika und auch zu vielen typischen Neuroleptika eine höhere Rate an extrapyramidalmotorischen Störungen auf (Liebermann et al., 2003; Kasper et al., 2003). Zu den EPMS zählen Früh dyskinesien, Akathisie, Parkinsonoid sowie Spätdyskinesien. Ursächlich für EPMS ist die Tatsache, dass die Affinität der Neuroleptika zu D2-Rezeptoren nicht spezifisch für das limbische System ist. D2-Rezeptoren werden auch im Striatum blockiert, was die EPMS auslösen kann.

Früh dyskinesien treten bei 10-30% der Patienten bereits in der ersten Therapiewoche auf, können aber mit dem Anticholinergikum Biperiden gut behandelt werden. Bei langfristiger Einnahme wächst die Gefahr von Spätdyskinesien, sogenannter stereotyper Hyperkinesien. Diese treten überwiegend im hohen Lebensalter, beim weiblichen Geschlecht sowie zerebraler Vorschädigung auf (Karow, 2009) und sind in 1% der Fälle irreversibel (Gleixner, 2005).

Haloperidol hat eine geringe anticholinerge Wirkung und führt deshalb selten zu Obstipation, Mundtrockenheit, Tachykardie und Harnverhalt (Burgis, 2008). Im Vergleich zu Atypika wie Olanzapin führt Haloperidol kaum zu Gewichtszunahme (Liebermann et al., 2003), welche bei den Atypika vermutlich auf der Blockade der Serotoninrezeptoren beruht (Nyberg et al., 1996).

Hormonelle Effekte können sich durch Zyklusstörungen, Libidoverminderung, Galaktorrhoe oder Gynäkomastie bemerkbar machen, wobei für die letzteren ein Prolaktinanstieg ursächlich ist. Diese Hyperprolaktinämie ist bei längerfristiger Anwendung häufig (Männer: 42,4%, prämenopausale Frauen: 65,6% (Kinon et al., 2003)) und vermutlich auf die Blockade der D2-Rezeptoren an Zellen der Adenohypophyse zurückzuführen (Möller, 2000). Das Vorkommen von Dopamin in der Area postrema erklärt den antiemetischen Effekt der Neuroleptika.

Selten kommt es bei der Therapie mit Haloperidol zu Leukopenie, Thrombopenie, Granulozytopenie, Eosinophilie oder zum AV-Block bzw. Schenkelblock auf Grund von QT-Verlängerungen. Die Ursache hierfür wird in der Blockade des HERG- (Human

Ether-a-go-go Related Gene) Kanals vermutet, ein für den verzögerten K^+ -Gleichrichterstrom verantwortlicher Kanal (Möller, 2000).

Selten ist das maligne neuroleptische Syndrom, welches sich durch Fieber über 40°C, Muskelstarre, vegetative Entgleisung mit Herzjagen und Bewusstseinstörung bis hin zum Koma auszeichnet (Gelbe Liste, 2010).

Das Wärmezentrum im Hypothalamus wird behindert, was zu Beginn der Behandlung zum Temperaturabfall führen kann. Weiterhin kann es zu Müdigkeit (histaminerge Blockade), orthostatischer Dysregulation (anti-alpha1-adrenerge Wirkung), depressiver Verstimmung, Kopfschmerzen, Schwindel, Kornea- und Linsentrübungen und asymptomatischer Transaminasenerhöhung kommen (Gelbe Liste, 2010).

Als Kontraindikation gilt Bewusstlosigkeit, Parkinson und Kreislaufschock. Nur unter strenger Kontrolle darf Haloperidol bei schweren Vorerkrankungen des Herzens, der Nieren, der Leber und bei Krampfanfällen in der Anamnese gegeben werden.

1.2.3.4 Zusammenhang zwischen Ansprechverhalten auf Neuroleptika und genetischen Variationen

Trotz der hohen Potenz ist bei Haloperidol, wie bei allen anderen Neuroleptika auch mit einer hohen Rate von Nonrespondern zu rechnen.

Das Nicht-Ansprechen auf ein Neuroleptikum ist je nach Studie anders definiert, daher gibt es eine große Bandbreite an Prozentzahlen für Nonresponder. So werden 5 -25% Therapieresistenz von Meltzer et al. (1992), 5% von May et al. (1988) und bis zu 30% von Meltzer (1997) beschrieben. Ursächlich hierfür sind laut Möller (2000) Patientenfaktoren (Verhaltensstörung, Doppeldiagnosen, familiäre Belastungen), schizophrenebezogene Faktoren (Genetik, starke Negativsymptomatik, früher Krankheitsbeginn), weitere Behandlungsfaktoren (Therapieverweigerung, Fehldosierungen) und nichtmedikamentöse Behandlungsformen (unzureichende Therapiemöglichkeiten, negative Effekte, etc.). Auch bestehen Unterschiede des Ansprechens bei verschiedenen Ethnien, was an unterschiedlicher Pharmakodynamik liegen könnte (Emsley et al., 2002).

Es wurden bereits zahlreiche Polymorphismen auf verschiedenen Genen mit der Ansprechrate auf Neuroleptika in Zusammenhang gebracht. Zu diesen Genen zählen einerseits die metabolisch regulierenden Gene und andererseits die Gene der Neurotransmitter. Zu den metabolisch beeinflussenden Genen zählen unter anderem jene, welche für CYP1A2 und CYP2D6 kodieren. Auf Transmitterebene sind insbesondere die verschiedenen Dopaminrezeptoren und Serotoninrezeptoren Gegenstand aktueller Forschungen. Auf dem Dopamin 2 Rezeptor Gen wurden zahlreiche Polymorphismen auf ihren Zusammenhang mit dem Ansprechverhalten mit häufig uneinheitlichen Ergebnissen untersucht (Schäfer et al., 2001; Malhotra et al., 1999; Shen et al., 2008; Thomas et al., 2008; Lane et al., 2004; Lencz et al., 2006; Xing et al., 2007; Hwang et al., 2006; Yamanouchi et al., 2003; Suzuki et al., 2000 und 2001; Sakumoto et al., 2007; Wu et al., 2005; Arranz et al., 1998; Dahmen et al., 2001; Reynolds et al., 2005 (2)).

Eine Studie belegte den Zusammenhang zwischen Ansprechen auf Clozapin und dem Marker -141C Ins/Del des DRD2 Gens.

Malhotra et al. behandelten 72 Patienten, welche entweder an Schizophrenie oder an schizoaffektiver Störung litten, 10 Wochen mit Clozapin. Die Genotypisierung erfolgte als Restriktions-Fragmentlängen- Polymorphismus (RFLP). Als positives Ansprechen wurde eine Verbesserung der BPRS um mindestens 20% gewertet. Hier konnte gezeigt werden, dass Patienten mit dem Del- Allel eine 5-fach stärkere Verminderung der psychotischen Symptome aufwiesen als Patienten mit dem Ins Allel (Malhotra et al., 1999).

Hwang et al. untersuchten 12 Genvarianten auf DRD2 auf das Ansprechen von Clozapin bei 97 kaukasischen und 35 afroamerikanischen Patienten. Die Genotypisierung erfolgte durch einen 5'Exonuklease Fluoreszenz Assay. Hier wurde wieder BPRS zur Objektivierung genutzt, wobei nur bei afroamerikanischen Patienten signifikante Unterschiede bei TaqIB und rs1125394 gezeigt werden konnten (Hwang et al., 2006).

Den Zusammenhang zwischen dem Marker -141C Del/Ins und Ansprechen auf

Clozapin konnten Arranz et al. nicht bestätigen. Es wurden 151 Patienten britischer Herkunft mit Clozapin und zusätzlich 149 Patienten han-chinesischen Ursprungs mit verschiedenen Neuroleptika (Clozapin und andere) behandelt. Das Ansprechen wurde bei den britischen Probanden durch die GAS (Global Assessment Scale) und bei den chinesischen Probanden durch klinische Interviews festgestellt. Bei der GAS wurde eine Verbesserung ab 20 Punkten als Ansprechen gewertet, beim klinischen Interview wurde eine Remission oder moderate Besserung als Ansprechen gewertet. Trotz der unterschiedlichen Herkunft der Probanden und verschiedenen Methodik konnte in keiner der beiden Studien eine Assoziation gezeigt werden (Arranz et al., 1998).

Thomas et al. untersuchten das Ansprechen auf Olanzapin im Zusammenhang mit 10 Markern auf 6 verschiedenen Genen, unter anderem auch DRD2. Auf dem Gen DRD2 wurden die Polymorphismen Ser311Cys und ein Marker, welcher 10kb stromaufwärts von Exon 8 liegt (C > T), untersucht. Es handelte sich um 122 Probanden, welche an Schizophrenie oder an schizoaffektiver Störung litten. Die durchschnittliche Dosis lag bei 16,5 mg Olanzapin pro Tag. Es wurde wöchentlich über einen Zeitraum von 6 Wochen sowohl die PANSS als auch die CGI (*Clinical Global Impressions*) für die Objektivierung des Ansprechens gewählt. Es konnte kein signifikanter Zusammenhang gezeigt werden (Thomas et al., 2008).

Die Studie von Lencz et al. bot den Vorteil, dass es sich um Patienten mit der ersten Episode einer Schizophrenie, schizoaffektiven Störung oder schizophrenen Störung handelte, wodurch eine eventuelle Hochregulation der Dopaminrezeptoren durch vorherige Gaben eines Neuroleptikums ausgeschlossen war. Es wurden 61 Patienten nach Randomisierung mit Olanzapin (N = 28) oder Risperidon (N = 33) behandelt. Die Genotypisierung erfolgte durch 5'Exonuklease Fluoreszenz Assay für die Polymorphismen A-241G und -141C Ins/Del auf dem DRD2 Gen. Das Ansprechen wurde durch Verminderung der typischen Symptome und zusätzlich durch die CGI-Skala gewertet. Die Ergebnisse zeigten ein signifikant schnelleres Ansprechen der -241G Allelträger und der -141C Ins/Ins Genotypträger (Lencz et al., 2006).

Lane et al. untersuchten den Polymorphismus Ser311Cys des Dopaminrezeptor Gens

auf einen Zusammenhang mit Ansprechen auf Risperidon an einem Kollektiv von 123 Chinesen. Diese wurden 6 Wochen mit Risperidon behandelt. Zweiwöchentlich wurde das Ansprechen mit Hilfe der PANSS gemessen. Es konnte ein verminderter PANSS Wert für Patienten mit Ser311Cys im Vergleich zu Patienten mit Ser311Ser gezeigt werden (Lane et al., 2004).

Yamanouchi et al. untersuchten sechs Marker auf den HTR2-A Gen, dem DRD2 Gen und dem COMT Gen hinsichtlich des Ansprechens auf Risperidon nach einer Gabe über acht Wochen an 73 japanischen Patienten, wovon 61 an Schizophrenie und 12 an einer schizophrenen Störung erkrankt waren. Die ersten beiden Gene liegen auf einem Haplotypblock und beeinflussen sich daher gegenseitig. Die Genotypisierung erfolgte als RFLP, das Ansprechen wurde durch die PANSS verglichen. Bei den Markern des DRD2 Gens zeigte die Genotypverteilung InsA2/DelA1 eine 40% höhere Verbesserung der Positivsymptomatik im Vergleich zu InsA2/InsA2 (Yamanouchi et al., 2003).

Xing et al. untersuchten sechs Polymorphismen des Dopamin 2 Rezeptor Gens auf Ansprechverhalten auf Risperidon an 125 Patienten chinesischer Herkunft, welche an Schizophrenie litten. Als positives Ansprechen wurde eine 40%-ige Verbesserung der BPRS gewertet. Der Marker A-241G zeigte ein signifikant besseres Ansprechen für Patienten mit dem Allel A, die anderen Marker (TaqIA, TaqIB, 141C Ins/Del, rs1076562 und T939C) wiesen keine Assoziation auf (Xing et al., 2007).

Der *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) TaqIA wurde von Grandy auf DRD2 entdeckt und liegt am 3'-Ende des Gens DRD2 (Grandy, 1993).

Reynolds et al. konnten keinen Zusammenhang zwischen Ansprechrates und Polymorphismen im TaqIA Marker zeigen. In dieser Studie wurden noch weitere Gene an 117 Patienten untersucht. Es handelte sich um Han-Chinesen, welche ihre erste Episode an Schizophrenie erlitten und daher ohne neuroleptische Vorbehandlung waren. Das Ansprechen wurde zweiwöchentlich durch die PANSS dargelegt. Zehn Wochen lang erhielten die meisten Patienten Chlorpromazin oder Risperidon, acht Patienten bekamen andere Neuroleptika (Reynolds et al., 2005 (2)).

Auch Wu et al. untersuchten diese beiden Marker auf dem DRD2 Gen. In der Studie wurden 135 Patienten mit akuter Schizophrenie über einen Zeitraum von 8 Wochen mit 300-600 mg Chlorpromazin pro Tag behandelt. Die Genotypisierung erfolgte per RFLP, das Ansprechen wurde durch BPRS gezeigt. Verbesserung der Symptomatik wurde ab einer prozentualen Veränderung der BPRS von 50% gewertet. Die Patienten mit dem Ins Allel zeigten eine signifikant deutlichere Verbesserung der Symptomatik im Vergleich zu solchen mit dem Del Allel. Der Marker TaqIA zeigte keinen Zusammenhang (Wu et al., 2005).

Kwon et al. untersuchten den SNP TaqIA auf dem DRD2 Gen auf eine Assoziation zum Ansprechen auf Aripiprazol. Es wurden 90 Patienten mit Schizophrenie, schizoaffektiver Störung oder schizophreniformer Störung über 26 Wochen in einer Doppel-Blind Studie mit Hilfe der PANSS, CGI, SAS, AIMS und BAS auf die Verbesserung des Ansprechens ausgewertet. Es zeigten sich signifikante Ergebnisse bei der PANSS für Patienten mit A1A1 Genotyp, bei den anderen Skalen konnte keine Assoziation gezeigt werden (Kwon et al., 2008).

Shen et al. untersuchten bei 128 chinesischen Patienten mit akut exazerbierter Schizophrenie 4 Polymorphismen auf dem DRD2/ANKK1 Gen auf eine Assoziation zum Ansprechen von Aripiprazol, womit sie 4 Wochen behandelt wurden. Das Ansprechen wurde mit der PANSS objektiviert. Der Marker TaqIA zeigte eine deutliche Verbesserung der A1 Allelträger in der Positivsymptomatik, der Marker C957T (rs6277) konnte besseres Ansprechen bei TT Genotypen zeigen, die Marker -141C Ins/Del (rs1799732) und Ser311Cys (rs1800496) erbrachten keine signifikanten Ergebnisse (Shen et al., 2008).

Suzuki et al. untersuchten den TaqIA auf das Ansprechverhalten von Bromperidol (einem Neuroleptikum aus der Gruppe der Butyrophenone), einem selektiven Dopaminantagonisten, an 30 akut exazerbierten schizophreniekranken Patienten. Sie erhielten 3 Wochen 6-18mg/Tag, das Ansprechen wurde durch BPRS objektiviert. Hier konnte kein Zusammenhang festgestellt werden. Suzuki stellte selbst zur Diskussion, ob

durch zu hohe Konzentrationen des Antagonisten der Einfluss der Genotypen zunichte gemacht wurde und daher keine Assoziation erkennbar war. Außerdem gab es zu Bedenken, dass die antagonistische Wirkung von Bromperidol nicht selektiv genug sei (Suzuki et al., 2001 (1)).

Zusätzlich untersuchten Suzuki et al. den SNP -141 Del/Ins auf der Promoterregion des DRD2 Gens, da bei diesem Polymorphismus Probanden mit dem Ins Allel eine geringere Dichte an Dopaminrezeptoren aufweisen als mit dem Del Allel (Jönsson et al., 1999). Das Kollektiv bestand aus 49 akut exazerbierten schizophreniekranken Patienten. Sie erhielten drei Wochen Bromperidol, genotypisiert wurde mittels PCR, das Ansprechen wurde durch BPRS dargestellt. Die Verbesserung der Symptome konnte nur bei einer Subgruppe der BPRS (Ängstlichkeit/ Depression) signifikant bei Patienten mit Ins Allel bestätigt werden, die gesamte BPRS war nicht signifikant (Suzuki et al., 2001 (2)).

Sakumoto et al. untersuchten ebenfalls diese beiden Polymorphismen auf dem DRD2 Gen (TaqIA und -141C Del/Ins). Von den 49 Patienten mit akut exazerbierter Schizophrenie bekamen 30 Bromperidol und 19 Nemonapride (konventionelles Neuroleptikum), die Genotypisierung erfolgte durch PCR, das Ansprechen wurde durch BPRS und UKU bestätigt, wobei eine Verbesserung der BPRS um 50% als Ansprechen gewertet wurde. Die beiden SNPs liegen nicht auf einem Haplotypblock. Auch hier konnte ein besseres Ansprechen auf die Neuroleptika bei Patienten mit dem A1 Allel des TaqIA und mit dem Ins Allel gezeigt werden (Sakumoto et al., 2007).

Ebenfalls hatten Suzuki et al. ein Jahr zuvor TaqIA auf das Ansprechen von Nemonapride untersucht. Es wurden 25 Patienten mit exazerbierter Schizophrenie mit 18mg/Tag Nemonapride über einen Zeitraum von 3 Wochen behandelt. Das Ansprechen wurde wieder durch BPRS objektiviert. Es wurde eine signifikante Verbesserung der Symptomatik bei heterozygoten und homozygoten Patienten mit A1 Allelen gezeigt (Suzuki et al., 2000).

Dahmen et al. konnten ein signifikant verbessertes Ansprechen auf Neuroleptika für

Patienten mit dem A1 Allel auf dem Marker TaqIA auf dem Gen DRD2 zeigen. Das Kollektiv bestand aus 18 Patienten mit Schizophrenie, welche sechs Wochen entweder mit Amisulprid oder mit Flupentixol behandelt wurden. Die Genotypisierung erfolgte als RFLP, das Ansprechen wurde durch BPRS objektiviert (Dahmen et al., 2001).

1.2.3.5 Zusammenhang zwischen Ansprechverhalten auf Haloperidol und genetischen Variationen

In Vorarbeiten unserer Arbeitsgruppe wurde der Marker TaqIA auf Assoziation mit Ansprechverhalten auf Haloperidol untersucht (Schäfer et al., 2001). In dieser Studie wurden 57 kaukasische Patienten mit psychotischen Erkrankungen 28 Tage mit Haloperidol behandelt und wöchentlich mit Hilfe der PANSS auf das Ansprechen der Medikation getestet. Das Ergebnis zeigte eine signifikante Verbesserung der Positivsymptomatik bei Patienten mit heterozygotem im Vergleich zu solchen mit homozygotem Genotyp.

Anttila et al. untersuchten drei Kandidatengene (5-HT_{2A}, TPH1 und GNB3), welche mit serotonergen Rezeptoren zusammenhängen. Das Kollektiv bestand aus 94 finnischen Patienten, welche die DSM IV Kriterien für Schizophrenie erfüllten. Dazu gab es 294 Kontrollprobanden. Zunächst wurden die Symptome, später deren Abflachen durch CGI kontrolliert, ergänzt durch klinische Interviews. Es wurden verschiedene konventionelle Neuroleptika gegeben, meist Chlorpromazin, nur drei Probanden bekamen Haloperidol. Es zeigte sich bei zwei Genen (5-HT_{2A} und TPH1) ein signifikanter Zusammenhang zwischen verbessertem Ansprechen und Genvariante, bei einem Gen (GNB3) konnte ein Trend gezeigt werden (Anttila et al., 2007).

Dolzan et al. untersuchten ein Kollektiv von 56 Patienten, welche entweder mit durchschnittlich 15,2 mg Haloperidol oder mit 4 mg Risperidon pro Tag behandelt wurden. Es wurde der *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) 5-HTTLPR auf der Promoterregion des Serotonintransporters untersucht. Hier wurde das Ansprechen zwischen dem 8. und 12. Tag und nach 4 Wochen mit BPRS und CGI beurteilt. Es wurde eine Assoziation zwischen dem Ansprechen und dem S Allel des 5-HTTLPR-

Gens festgestellt (Dolzan et al., 2008).

Cordeiro et al. untersuchten den Polymorphismus Ser9Gly auf dem DRD3 Gen. Es wurden 112 Patienten mit Chlorpromazin, Thioridazin oder Haloperidol behandelt. Als Ansprechen wurde die Abwesenheit typischer Symptome gewertet, ohne eine allgemein anerkannte Skala zu nutzen. Die Genotypisierung erfolgte als RFLP. Diese Studie konnte keinen Zusammenhang zwischen dem Ansprechen auf typische Neuroleptika und dem SNP auf dem DRD3 Gen zeigen (Cordeiro et al., 2006).

Panagiotidis et al. untersuchten Polymorphismen auf CYP2D6 auf eine Assoziation zum Plasmaspiegel und Ansprechen auf Haloperidol. Dieses Gen reguliert die Metabolisierung von Haloperidol. Es wurden 26 Patienten mit Schizophrenie mit einer Haloperidol-Depottherapie genotypisiert. Das Ansprechen wurde durch PANSS dargelegt. Es konnte ein deutlicher Zusammenhang zwischen dem Plasmaspiegel und der Anzahl funktioneller Allele des Gens CYP2D6 gezeigt werden, keine Assoziation war zwischen Plasmaspiegel und Ansprechrate zu erkennen (Panagiotidis et al., 2007).

Johannes Schröder untersuchte 1998 an *post-mortem* Hirnen die Hochregulation von Dopaminrezeptoren nach Neuroleptikatherapie in den Basalganglien. Es war auffällig, dass vor allem bei schlechtem Ansprechen und ausgeprägten EPMS eine stärkere Hochregulation der Rezeptoren stattgefunden hatte (Schröder et al., 1998).

Schäfer et al. fanden anhand der Untersuchung des SNPs TaqIA einen signifikanten Zusammenhang mit dem Ansprechverhalten auf Haloperidol. In dieser Studie wurden 57 kaukasische Patienten mit bestimmten psychotischen Erkrankungen 28 Tage mit Haloperidol behandelt und wöchentlich mit Hilfe der PANSS auf das Ansprechen der Medikation getestet. Allerdings konnte nur ein Effekt auf die Positivsymptome gezeigt werden. So erreichten heterozygote Patienten eine mindestens 50%ige Verbesserung der Positivsymptomatik, homozygote mit Genotyp Allel 2 nur eine 28,9%ige Verbesserung (Schäfer et al., 2001).

Saito et al. berichteten von erhöhten Plasmaspiegeln von Haloperidol bei Patienten mit

einem mutierten Allel des CYP2D6 Gens. Laut Saito et al. haben 40% der asiatischen Probanden eine Mutation in diesem Allel. *Poor metabolizer* gibt es unter kaukasischen Probanden 7% und bei Asiaten nur 1% (Saito et al., 2005).

Bradford et al. zeigten, dass die 40 genetischen Varianten auf CYP2D6 je nach Herkunft starke Frequenzunterschiede aufweisen. So haben Kaukasier 71% funktionelle Allele, bei Asiaten und Afrikanern machen die funktionellen Allele einen Teil von etwa 50% aus, Asiaten zeigen einen hohen Anteil an Allelen mit reduzierter Funktion (41%) (Bradford et al., 2002).

Usall et al. zeigten in einer Studie in 10 europäischen Ländern mit 10000 Patienten, dass besonders bei Behandlung mit Clozapin oder typischen Neuroleptika Frauen ein besseres Ansprechen zeigten als Männer (Usall et al., 2007).

Zhang-Wong et al. zeigten in einer Studie, dass kaukasische männliche Patienten eine geringere Plasmakonzentration von Haloperidol hatten als asiatische männliche Probanden. Bei den weiblichen Probanden dieser Studie konnte aber kein interethnischer Unterschied gezeigt werden (Zhang-Wong et al., 1998).

Pohjalainen et al. zeigten in einer *in-vivo* Studie eine verminderte DRD2 Rezeptordichte bei Patienten, welche am Polymorphismus TaqIA das Allel A1 aufwiesen. Dies wurde als mögliche Ursache für das erhöhte Ansprechen auf Neuroleptika bei Patienten dieses Genotyps gedeutet (Pohjalainen et al., 1998).

Für den Marker TaqIA konnte eine Assoziation mit Drogenabhängigkeit (Comings et al., 1991), Dopaminrezeptordichte (Thompson et al., 1997; Pohjalainen et al., 1998) und dem Ansprechen auf Neuroleptika nachgewiesen werden (Suzuki et al., 2000; Hwang et al., 2006; Schäfer et al., 2001).

In weiteren Studien wurde die genetische Assoziation zwischen dem -141C Ins/Del und dem TaqIA Marker auf Neuroleptikaansprechen mit verschiedenen Ergebnissen untersucht (Yu-Chi et al., 2008; Lencz et al., 2006; Yamanouchi et al., 2003; Suzuki et

al., 2001; Sakumoto et al., 2007; Wu et al., 2005; Arranz et al., 1998; Reynolds et al., 2005 (2); Dahmen et al., 2001; Malhotra et al., 1999).

Es bleibt zu erwähnen, dass nicht nur die hier diskutierten genetischen Ausgangsdaten Einfluss auf das Ansprechverhalten von Neuroleptika haben, sondern auch persönliche Einflüsse wie Bildungsniveau oder die jeweilige soziale Situation (Wieselgren and Lindström, 1996) von Bedeutung sind.

1.3 Dopamin und das Dopaminrezeptor 2 Gen (DRD2)

1.3.1 Bedeutung des Dopamins

Dopamin gehört zur Gruppe der biogenen Amine bzw. zu den Katecholaminen. Es wird aus der Aminosäure Tyrosin über die Tyrosin-Hydroxylase synthetisiert, wobei zunächst L-Dopa entsteht, welches wiederum durch die Dopa-Decarboxylase zu Dopamin decarboxyliert wird. Selbst als Neurotransmitter wirkend stellt es ein Zwischenprodukt in der Adrenalinsynthese dar (Laurie, 2005).

Es werden derzeit viele Gene auf verschiedenen Chromosomen (Dysbindin, Chromosom 6 (Straub et al., 2002(2)); Neuregulin 1, Chromosom 8 (Stefansson et al., 2003); G72, Chromosom 13 (Chumakov et al., 2002); COMT, Chromosom 22 (Shifman et al., 2002)) als Kandidatengene für die Schizophrenie gehandelt. Ein besonders relevantes Gen ist das Dopamin 2 Rezeptor Gen auf Chromosom 11 (Dubertret et al., 2004). Auch wenn viele Studien (Weinberger et al., 2005; Norton et al., 2006; Kirow et al., 2005; Owen et al., 2005; Harrison et al., 2005; Shirts et al., 2004) Gene anderer Neurotransmitter mit der Pathologie der Schizophrenie in Verbindung bringen, ist Dopamin dennoch der am häufigsten mit dieser Krankheit assoziierte Neurotransmitter. Zusätzlich scheint Dopamin Einfluss auf eine Vielzahl anderer pathologischer Zustände zu haben. So wurden Studien mit negativen als auch positiven Ergebnissen zur tardiven Dyskinesie (Zhang et al., 2003), Alkoholismus (Limosin et al., 2002), Aufmerksamkeitsdefizit - Hyperaktivitätssyndrom (ADHS) (Auerbach et al., 2001),

Parkinson, bipolare Störung, Intelligenz, Nikotinabhängigkeit (Huang et al., 2009), Kokainabusus und Heroinabhängigkeit (Perez de los Cobos et al., 2007) veröffentlicht.

1.3.2 Aufbau und Vorkommen von DRD2

Das DRD2 Gen, welches für den Dopaminrezeptor kodiert, liegt auf dem langen Arm des Chromosom 11 (11q22.3-q23.1) (Abb.1). Es beinhaltet acht Exons und hat eine Größe von 270 kb, wobei zwischen Exon 1 und 2 ein 250 kb langes Intron liegt (Luo et al., 2005).

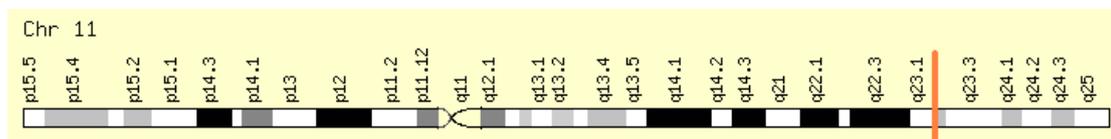


Abbildung 1: Lage des DRD2 Rezeptors auf Chromosom 11

DRD2

Der humane Dopaminrezeptor D2 ist ein G-Protein gekoppelter Rezeptor mit sieben transmembranen Domänen, welcher vornehmlich im Gehirn vorkommt. So wie viele G-Protein gekoppelte Rezeptoren kann D2 sowohl präsynaptisch die Freisetzung von Dopamin regulieren als auch postsynaptisch verschiedene Funktionen ausüben. D2 kommt im Gehirn vor allem in der Substantia nigra, im ventralen Tegmentum, im Corpus Striatum, im Hypophysenvorderlappen (Missale et al., 1998) und in der Area postrema vor (Trepel, 1999).

Anhand des Mechanismus der Signalübertragung können die Dopaminrezeptoren in zwei Familien eingeteilt werden (Missale et al., 1998). Der Übertragungsweg des D2-Rezeptors ist derselbe wie der des D3- und des D4-Rezeptors, nämlich durch ein inhibitorisches G-Protein, welches die Adenylatzyklase hemmt und in Folge die zyklische Adenosinmonophosphat (cAMP)-Produktion vermindert.

Zusätzlich gibt es D1 und D5-Rezeptoren, welche mit einer stimulatorischen Signalübertragung, also durch Hyperpolarisation G-Protein gekoppelt die Adenylatzyklase steigern und die cAMP Produktion erhöhen (Missale et al., 1998). Diese Rezeptoren sind vermehrt in der Niere und im Splachnikusgebiet vorzufinden

(Küttler, 2002).

An der Regulierung der DRD2 Expression ist der Faktor NF- κ B beteiligt. Diese Art der Regulierung ist aber vermutlich nur auf den Bereich der Hypophyse beschränkt (Bontempi et al., 2007).

1.3.3 Funktion des Dopamins

Dopamin ist ein wichtiger Neurotransmitter im Gehirn und wirkt außerdem durch eine periphere Stimulation der alpha1, beta1 und 2 Rezeptoren bei niedriger Dosierung als direktes Sympathomimetikum. Dopamin wirkt hypertensiv durch Beeinflussung des Renin-Angiotensin Systems und des sympathischen Nervensystems (Zeng et al., 2007). Durch dopaminergen Einfluss auf das vegetative Nervensystem werden die Splachnikus- und Nierengefäße weitgestellt, was einen Anstieg der Nierendurchblutung und des Harnvolumens zur Folge hat. Bei pharmakologischer Anwendung von Dopamin wird bei höherer Dosierung die Wirkung indirekt durch Noradrenalinfreisetzung erreicht. Durch die Vasokonstriktion der peripheren Organe wird eine zusätzliche Blutdrucksteigerung erreicht. Wegen dieser pharmakologischen Wirkungen wird Dopamin in der Notfallmedizin bei Schock oder schweren Hypotoniezuständen verabreicht. Allerdings wird das Herzminutenvolumen und der myokardiale Sauerstoffbedarf durch die beta1 Wirkung gesteigert (Küttler, 2002). Dopamin steigert vermutlich die Kreativität (Rybakowski et al., 2006) und ist für die Hemmung der Ausschüttung von Prolaktin zuständig. McAllister et al. (2008) zeigten einen Einfluß der genetischen Polymorphismen in der Genregion auf die Rehabilitation nach Schädel-Hirn-Trauma.

Insbesondere aber ist der hemmende Einfluss auf das extrapyramidalmotorische System von Bedeutung. Im Gehirn wirkt Dopamin als Neurotransmitter vor allem im Bereich der Basalganglien. Dopamin wirkt vorwiegend über Fasern von der Substantia nigra zum Striatum. Über diese nigrostriatalen Fasern wird das Striatum gehemmt, womit inhibitorische Effekte auf motorische Impulse des Großhirns erzeugt werden. Durch diese doppelte Hemmung erklärt sich der Einfluß dieser Fasern zum Bewegungsantrieb. Damit erklären sich auch die extrapyramidalmotorischen Nebenwirkungen bei gehemmter Hemmung des Bewegungsantriebs (Trepel, 1999).

Weitere dopaminerge Systeme ziehen vom Mittelhirn ins limbische System im Großhirn (mesolimbische Projektionen). Die Überaktivität dieser Fasern scheint eine wichtige Pathologie für die Schizophrenie darzustellen. Auch das Brechzentrum, die Area postrema, wird teils durch neuronale Afferenzen aus dem Gastrointestinaltrakt, zentral aus den Vestibulariskernen oder anderen sensorischen Zentren vor allem dopaminerg innerviert (Trepel, 1999).

Von Thompson wurde entdeckt, dass die A1 Allelträger des TaqIA-SNPs eine geringere DRD2 Rezeptordichte und auch einen verringerten Glukosemetabolismus in verschiedenen Gehirnregionen aufweisen als homozygote A2 Allelträger (Thompson et al., 1997).

1.4 Das benachbarte Gen ANKK1

1.4.1 Aufbau und Vorkommen von ANKK1

Der Polymorphismus TaqIA liegt am 3'-Ende des DRD2 Gens, ca. 10 kb stromabwärts des Stop Codons. Da das gegenläufige Gen *Ankyrin repeat and kinase domain containing 1* (ANKK1) das 3'-Ende an dieser Stelle hat, liegt TaqIA auf diesem Gen (Abb.2). Es wurde zeitgleich von zwei verschiedenen Arbeitsgruppen entdeckt und auch als X-Kinase Gen bezeichnet (Neville et al., 2004; Dubertret et al., 2004).

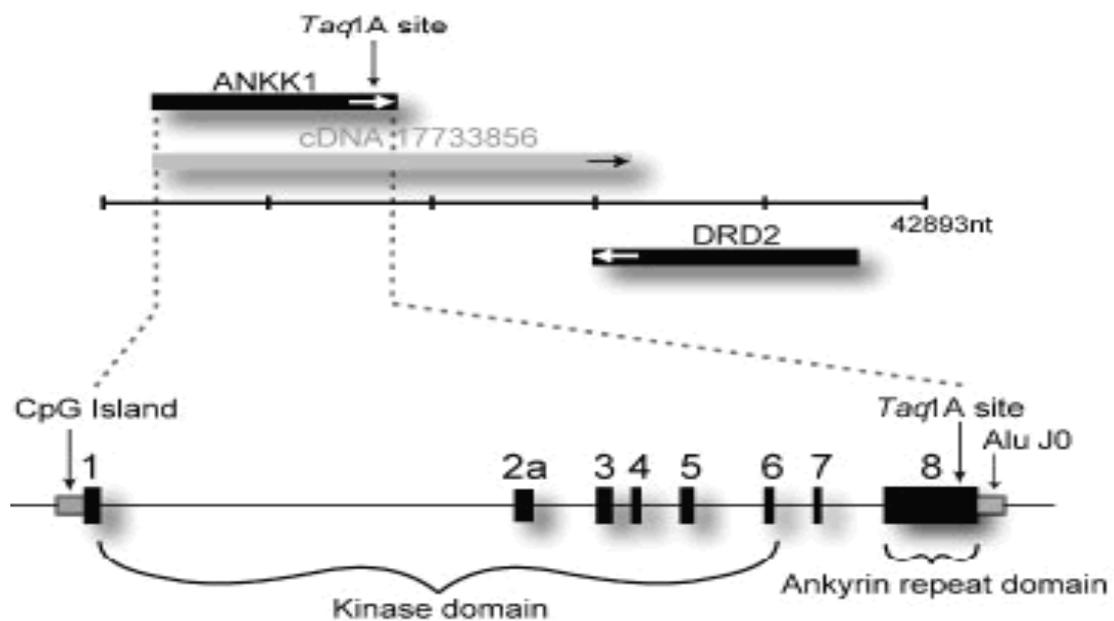


Abbildung 2: Position von ANKK1, aus Neville et al., 2004

Das Gen ANKK1 liegt also ebenfalls auf Chromosom 11q23.1, durch 9,4 kb von DRD2 getrennt in gegenläufiger Orientierung. Das Gen erstreckt sich über 84,5 kb und enthält 8 Exons. Das Transkriptionsprodukt besteht aus 765 Aminosäuren (Dubertret et al., 2004).

Es wird eine Zugehörigkeit zur Familie der Phosphotransferase Genfamilie mit Serin-Threonine Kinase vermutet, da ein Lysin Rest auf Aminosäure 147 gefunden wurde, welcher durch eine freie Aminogruppe basisch reagieren kann. Die Aminosäuresequenz zeigte große Ähnlichkeit mit dem *Ankyrin Repeat Domain Protein 3* (ANKRD3). Es gibt zwei weitere Gene mit ähnlicher Domänenstruktur: *Death Associated Proteine Kinase 1* (DAPK1) und *Integrin linked Kinase* (ILK) (OMIM, 2009).

Der Aufbau des Gens zeichnet sich durch 11 Ankyrin Repeats aus. Die Ankyrin Repeats bestehen aus paarigen antiparallelen alpha-Helices verbunden mit beta-Haarnadelstrukturen (Abb.3).

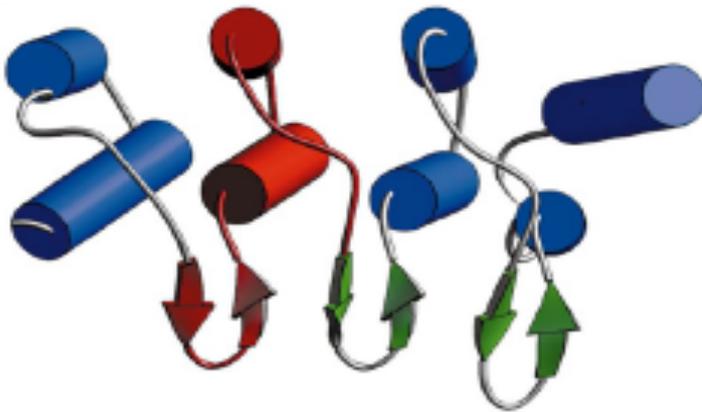


Abbildung 3: Ankyrin Repeat Domäne (Sedgwick and Smerdon, 1999)

Der TaqIA SNP führt zu einem Aminosäureaustausch der Aminosäure Glutamat zu Lysin an Position 713 auf Exon 8. Da dies einen Wechsel einer negativ geladenen Aminosäure (Glutamat) auf eine positiv geladene Aminosäure (Lysin) bedeutet, ist eine Einflussnahme auf die Funktion des Proteins vorstellbar.

Bei Entdeckung dieses Gens wurde zunächst die mRNA Expression untersucht. Neville et al. konnten diese in der Plazenta und im Spinalkanal nachweisen (Neville et al., 2004). Dubertret fand zusätzliche Expression im gesamten fetalen und erwachsenen Gehirn, im Cerebellum und in der Leber. Die Expression im reifen Gehirn ist jedoch umstritten (Dubertret et al., 2004). Fosella et al. konnte im Rahmen von Aufmerksamkeitsstudien keine Expression im Gehirn feststellen (Fosella et al., 2006).

1.4.2 Funktion des ANKK1 Gens

Über die Funktion des ANKK1 Gens ist bisher wenig bekannt. Hinweise lassen sich aus Proteinen mit ähnlicher Domänenstruktur wie DAPK1, ILK und ANKRD3 ableiten.

Das Gen DAPK1 ist in der Regulation von Apoptose in Neuronen bei Epilepsie involviert. ILK ist ein essentieller Regulator der Aktivierung von AKT, einer Proteinkinase, welche als Onkogen wirkt (Troussard, 2003). Die Hauptfunktion beider besteht offenbar in der Regulation der neuronalen Transmission. Die Ankyrin Repeat Domäne ist ein sehr häufiges Sequenzmotiv und ist üblicherweise an Protein-Protein Interaktion bzw. Signaltransduktion beteiligt (Dubertret et al., 2004). Sie findet sich sowohl in Eukaryoten als auch in Prokaryoten.

Dick et al. konnten eine Assoziation zwischen ANKK1 und Alkoholabhängigkeit zeigen. Hier wurde der Einfluss von ANKK1 auf die Signaltransduktion bekräftigt (Dick et al., 2007).

Trotz des vermutlich fehlenden direkten Einflusses des ANKK1 Gens auf die Struktur des Dopaminrezeptors scheint ein Zusammenhang mit dem Ansprechverhalten auf Haloperidol zu bestehen (Schäfer et al., 2001). Eine mögliche Erklärung könnte in der Neuroentwicklung oder in der veränderten Signalübermittlung liegen.

1.5 Haplotypblockstruktur der Genregion DRD2/ANKK1

1.5.1 Allgemeines zum Haplotyp

Etwa 90% der interindividuellen Variabilität entstehen durch SNPs und könnten vermutlich der Schlüssel zu Krankheiten wie Diabetes mellitus oder auch Schizophrenie sein. Die Mehrzahl der SNPs sind allerdings auf Introns und in Intergenregionen lokalisiert, so dass möglicherweise keine direkten Auswirkungen auf den Phänotyp erkennbar sind.

Das Organisationsprinzip des menschlichen Genoms in Form einer Blockstruktur zeigt Abhängigkeiten zwischen verschiedenen SNPs, die nahe beieinander liegen. Zur genaueren Analyse der Blockstruktur wurde 2002 das „International HapMap Project“ initiiert mit dem Ziel, das inzwischen sequenzierte Genom auf diese Blöcke hin zu untersuchen. Voraussetzung für die Haplotyp-Blockstruktur ist die Kenntnis des Kopplungsungleichgewichts. Verschiedene Allele, welche in engem räumlichen Zusammenhang stehen, sind voneinander abhängig. Wenn zwei Variationen überzufällig oft auf dem gleichen Chromosom einer Population vorkommen, stehen sie im Kopplungsungleichgewicht (Freudenberg et al., 2002). Haplotypblöcke sind Abschnitte des Genoms, auf denen ein starkes Kopplungsungleichgewicht herrscht. Diese werden durch sogenannte Hot-Spots, Regionen, auf denen sich fast alle Rekombinationen der Populationsgeschichte ereignen, unterbrochen (Freudenberg et al., 2002). Die Entdeckung der Blockstruktur stellt eine große Vereinfachung der Suche

nach verantwortlichen Genvarianten für spezielle Krankheiten dar.

Zur Untersuchung einer Genregion auf ihre Haplotypblöcke wurde auf die Datenbanken des internationalen HAPMAP Projekts zurückgegriffen. Das HAPMAP Projekt stützt sich nach dem Release im November 2008 (NCBI Build 36) auf 171 SNPs. Es handelt sich um ein internationales Projekt zur Identifizierung und Katalogisierung von humanen genetischen Unterschieden und Ähnlichkeiten.

Die Haplotypblockstruktur innerhalb der Genregion DRD2/ANKK1 weist drei deutlich voneinander trennbare Blöcke auf (Abb.4).

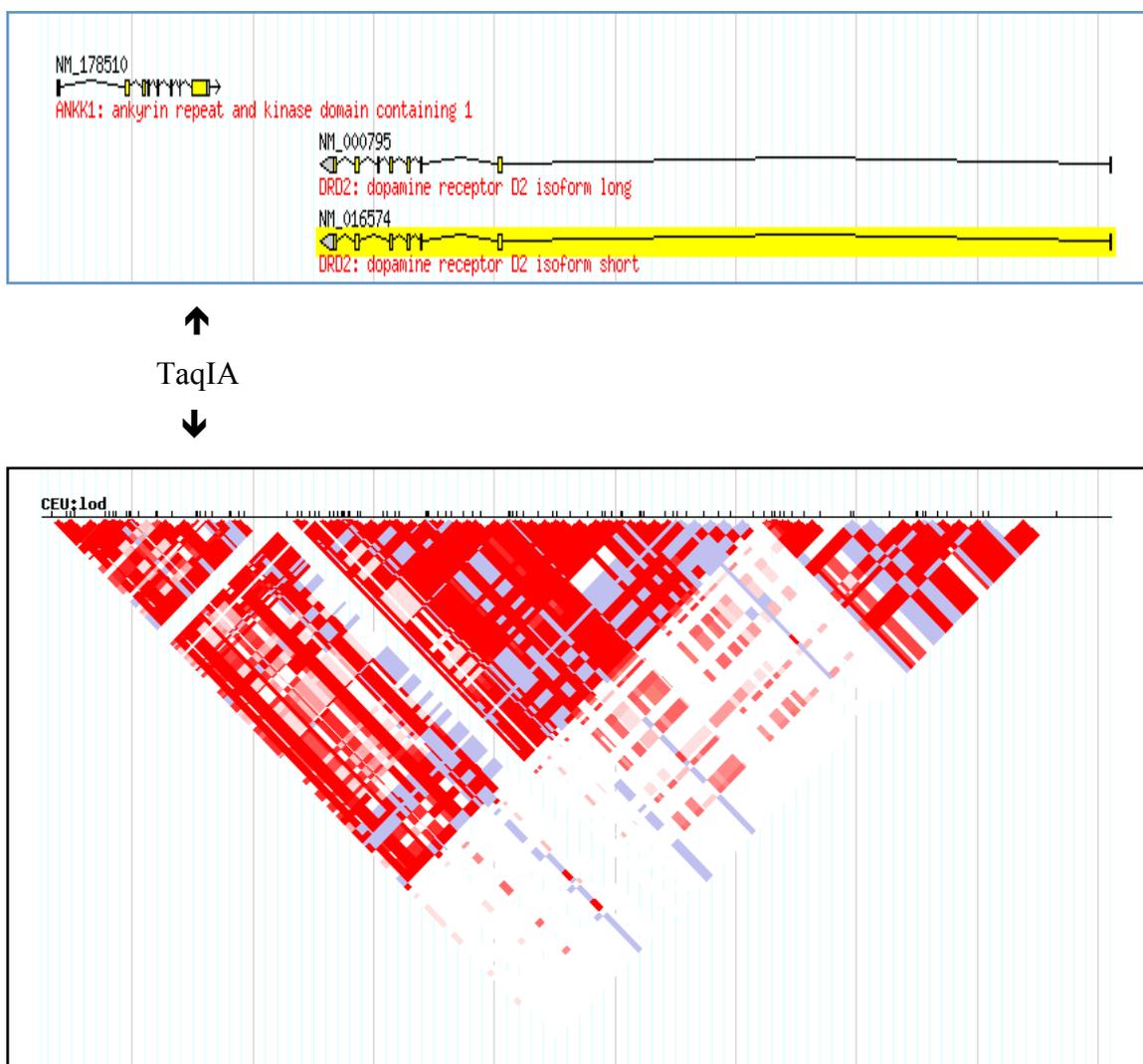


Abbildung 4: Haplotypblock der Genregion DRD2/ANKK1

Dabei liegt der häufig mit Response in Zusammenhang gebrachte Polymorphismus TaqIA im Bereich eines Blocks, welcher primär das Gen ANKK1 überspannt, während die kodierende Region des DRD2 Gens auf den beiden anderen Blöcken liegt.

2 Fragestellung

Das Ansprechverhalten auf bestimmte Medikamente ist besonders in der Psychiatrie wegen starker Nebenwirkungen, aber auch wegen der Folgen bei schlechtem Therapieergebnis von herausragender Bedeutung.

Da die genetische Disposition bei Psychosen eine große Rolle spielt (Gottesmann et al. 1987), dürfte die Genetik auch in Bezug auf das Ansprechverhalten der Neuroleptika einen entscheidenden Einfluss haben.

Der Zusammenhang zwischen Variationen auf dem Dopamin 2 Rezeptor (DRD2) Gen auf Chromosom 11 mit Psychosen wurde zunächst wegen der Wirkung der Antipsychotika vermutet und dann in einigen Studien nachgewiesen (Arinami et al., 1997; Jönsson et al., 1999). Das Ansprechverhalten auf Haloperidol wurde bereits unter anderem von Schäfer et al. in Zusammenhang mit dem TaqIA Polymorphismus (Schäfer et al., 2001; Dubertret et al., 2004) gebracht. Dies ist ein Marker, welcher am 3'-Ende des DRD2 Gens bzw. am 3'-Ende des gegenläufigen ANKK1 Gens liegt, einem bisher wenig untersuchten Gen, welches durch seine räumliche Nähe zum DRD2 Gen von Bedeutung sein könnte. Der Zusammenhang des DRD2 Gens mit Nebenwirkungen der Neuroleptikatherapie scheint gesichert zu sein (Kaiser et al., 2002; Wu et al., 2005; Hwang et al., 2006).

Ziel dieser Studie ist es, Zusammenhänge zwischen dem Ansprechverhalten auf Haloperidol und Polymorphismen in dieser Genregion (Dopamin 2 Rezeptor und ANKK1) zu finden und reproduzierbar darzustellen.

Auf Grund der Haplotypstruktur in dieser Region stellt sich die Frage, ob ein Haplotypblock vom DRD2 Gen bis ins ANKK1 Gen hinüberreicht und vielleicht das ANKK1 Gen als das entscheidende Gen im Zusammenhang mit der Response anzusehen ist.

Zur Klärung dieser Fragen wurden in dieser Studie 3 Polymorphismen des ANKK1

Gens und 4 Polymorphismen des DRD2 Gens unabhängig voneinander auf ihre Assoziation zum Ansprechverhalten auf Haloperidol untersucht.

Die Stichprobe bestand aus 118 Patienten mit verschiedenen akuten psychotischen Erkrankungen (Schizophrenie, akute Psychose, Substanzen induzierte Psychose, schizoaffektive Störung), die mit einer Haloperidolmonotherapie behandelt wurden. Anschließend wurde über einen Zeitraum von 4 Wochen mit Hilfe der PANSS eine Verbesserung der Symptomatik zur Genotyp- bzw. Allelverteilung der 7 Marker in Bezug gesetzt.

3 Material und Methoden

3.1 Vorbedingungen der Studie

Die Teilnahme an der Studie war freiwillig und wurde nach ausführlicher Aufklärung über das Ziel und über den erfolgenden Datenschutz mit einer unterschriebenen Einverständniserklärung der Probanden bewilligt.

3.2 Studiendesign

3.2.1 Studienteilnehmer

Als Studienteilnehmer wurden 118 Patienten kaukasischen Ursprungs mit einer akuten psychotischen Störung ausgewählt. Zur Sedierung war die Gabe von Levomepromazin als einziges Antipsychotikum außer Haloperidol zugelassen.

Die Dosis des verabreichten Haloperidols lag bei 11,0 +/-6,2 mg. 45,6% der Teilnehmer hatten eine Schizophrenie, 31,6% eine akute Psychose, 14,0% eine durch Substanzen induzierte Psychose und 8,8% eine schizoaffektive Störung. Das Durchschnittsalter lag bei 33,8 Jahren (SD=10,3), das durchschnittliche Erkrankungsalter bei 28,5 Jahren mit einer Variation von 9,2 Jahren. Die Anzahl der bisherigen Hospitalisierungen belief sich auf 2,2 (SD=1,9) mit einer durchschnittlichen Verweildauer von 2,2 (SD=3,0) Monaten. Die genetischen Gruppen wiesen zu Beginn der Studie keinen Unterschied bezüglich der PANSS-Werte (Positive and Negative Symptome Scale) auf, auch unterschieden sie sich während des Verlaufs nicht im Plasmaspiegel an Haloperidol und der durchschnittlichen Dosis. Auch bezüglich Alter, Geschlecht, Diagnosen, Alter bei Krankheitsauftreten, Krankenhausaufenthalte und Aufenthaltsdauer zeigten sich keine Unterschiede zwischen den Genotypen.

Verschiedenste physiologische Parameter wurden zu Beginn und an den Tagen 7, 14, 21 und 28 gemessen. Anhand von venösen Blutproben wurde zu Beginn und anschließend wöchentlich der Plasmaspiegel von Haloperidol gemessen.

3.2.2 Studienablauf

3.2.2.1 Soziodemographische Parameter

Es wurden detaillierte soziodemographische Parameter sowie eine Basisdokumentation (Bado) und Family History Assessment Module (FHAM) erhoben. Das FHAM ist ein Interview, mit welchem das Auftreten und der Grad familiärer Belastung durch psychiatrische Erkrankung standardisiert erhoben werden kann (Rice et al., 1995).

3.2.2.2 Diagnosestellung

Darüber hinaus wurden die Probanden mit Structural Clinical Interview for DSM IV (SCID) I und II befragt. Das SCID ist ein semistrukturiertes Interview zur Diagnostik psychischer Störungen, welches von einem Arzt oder Psychotherapeuten durchgeführt werden sollte. Mit dem SCID I werden psychische Störungen der Achse I (psychotische Störungen, affektive Störungen, Angststörungen, somatoforme Störungen, Essstörungen u.a.) diagnostiziert, das SCID II ist zur Diagnostik von Krankheiten der Achse II wie beispielsweise Persönlichkeitsstörungen hilfreich.

Eine ausführliche medizinische Anamnese wurde ebenfalls durchgeführt.

3.2.2.3 Erfassung der Nebenwirkungen

Unerwünschte Arzneiwirkungen wie Parkinsonismus, Dyskinesien und Akathasien wurden mit Hilfe der Skalen *Extrapyramidal Symptoms Rating Scale* (ESRS) und *Barnes Akathisia Scale* (BAS) objektiviert. Die *Extrapyramidal Symptoms Rating Scale* wurde 1979 von Chouinard et al. entwickelt, um vier verschiedene durch Medikamente induzierte Bewegungsstörungen zu untersuchen: Parkinsonismus, Akathasie, Dystonie und Spätdyskinesie. Ihre hohe Sensitivität und Validität wurde durch verschiedene Studien gezeigt (Chouinard et al., 1979; 1982; 1989; De Montigny et al., 1979). Sie besteht aus vier Unterskalen auf der Basis spezieller Anamnese mit körperlicher Untersuchung und aus vier *Clinical Global Impressions* (CGI)-Skalen.

Mit der BAS (Barnes Akathisia Scale) wurde eine weitere Methode zur Objektivierung

einer Akathisie angewandt. Es handelt sich um die am häufigsten durchgeführte Methode zur Beurteilung einer insbesondere Medikamenten-induzierter Akathisie. Es werden dabei sowohl objektive als auch subjektive Parameter aufgenommen (Barnes, 1989).

Weitere Nebenwirkungen wurden mit der skandinavischen Nebenwirkungsskala *Udvalg for Kliniske Undersogelser* (UKU) (Lingjaerde et al., 1987) dargestellt. Dabei handelt es sich um eine ärztliche systematische Befragung in Bezug auf verschiedene Organsysteme. Die angewandte Skalierung reicht von 0 für „fehlend“ bis 3 für „schwer“.

3.2.2.4 Erfassung der Response

Die entscheidende Messung für die hier vorliegende Studie war die Messung des Ansprechens auf das verwendete Neuroleptikum Haloperidol. Hierfür bediente man sich verschiedener standardisierter Skalen wie *Positive and Negative Syndrome Scale* (PANSS), *Brief Psychiatric Rating Scale* (BPRS), *Clinical Global Impressions* (CGI) und Standard der psychopathologischen Untersuchung der Arbeitsgemeinschaft für Methodik und Dokumentation in der Psychiatrie (AMDP).

Bei der BPRS verteilen sich 18 Items auf 10 für Positivsymptome, 4 für Negativsymptome und 4 für depressive Symptome, womit auf die begleitende Depression bei Schizophrenie eingegangen wird. Diese Skala findet insbesondere bei erwachsenen hospitalisierten Patienten Anwendung. Mit einer Dauer von nur 20 Minuten handelt es sich um eine verkürzte Skala.

Der CGI ist eine standardisierte Skala mit fraglicher Reliabilität, aber hoher Validität. Sie stützt sich auf die drei Items Schweregrad, Veränderung und therapeutischer Effekt und wird durch Fremdanamnese erhoben. Wegen der nur 2-minütigen Untersuchungsdauer ist diese Skala praktikabel und wird international gängig eingesetzt.

Eine weitere standardisierte Skala ist das 1965 gegründete AMDP-System welches zum

Ziel hat, ein System zur Befunderhebung und Dokumentation zu etablieren. Mittels Fremd- und Selbstbeurteilung von 140 psychopathologischen Parametern kann eine diagnoseunabhängige Validität erreicht werden.

Die zur Auswertung dieser Studie verwendete Skala ist eine auf der BPRS basierende Methode mit 30 Items, die PANSS. Mit dieser Skala ist es möglich, das Vorhandensein/Nichtvorhandensein und die Schwere positiver, negativer und allgemeiner Psychopathologie der Schizophrenie zu dokumentieren.

Es gibt je 7 Items für die Positiv- und Negativsymptomatik und 16 weitere für die allgemeine Psychopathologie. Eingeteilt werden sie in einer Skala von 1 (nicht vorhanden) bis 7 (extrem schwer). Dadurch reichen die Werte von 7 als Minimum bis 49 als Maximum bei den positiven bzw. negativen Items und von 16 bis 112 bei der allgemeinen Psychopathologie. Zu den positiven Items (P) zählen Wahnideen, formale Denkstörungen, Halluzinationen, Erregung, Größenidee, Verfolgungsidee und Feindseligkeit. Zu den negativen Items (N) Affektverflachung, emotionaler Rückzug, mangelnder affektiver Rapport, apathischer sozialer Rückzug, Schwierigkeiten im abstrakten Denken, Mangel an Spontaneität und Flüssigkeit des Gesprächsflusses und stereotype Gedanken. Die Skala der generellen Psychopathologie (G) bezieht sich auf Sorge um die körperliche Gesundheit, Angst, Schuldgefühle, Anspannung, Manierismen und unnatürliche Körperhaltung, Depression, motorische Verlangsamung, unkooperatives Verhalten, ungewöhnliche Denkinhalte, Desorientiertheit, mangelnde Aufmerksamkeit, Mangel an Urteilsfähigkeit und Einsicht, Willensschwäche, mangelnde Impulskontrolle, Selbstversunkenheit und aktives soziales Vermeidungsverhalten.

Alle Items werden durch das klinische Interview erlangt, welchem zwei oder mehrere geschulte Beurteiler beiwohnen und von diesen einzeln bewertet werden. Zusätzlich fließen noch Informationen aus Berichten des Krankenhauspersonals oder von Familienmitgliedern ein.

In der ersten von vier Phasen des halbstrukturierten psychiatrischen Interviews sollte der Patient über seine Lebensgeschichte und -situation frei sprechen ohne dominantes Eingreifen des Interviewers. Dabei sollte auf die Art des Gedankengangs, die Urteilsfähigkeit und Krankheitseinsicht geachtet werden.

Auf hierbei auftretende Auffälligkeiten sollte in der zweiten Phase durch nur wenig herausfordernde Fragen eingegangen werden mit dem Ziel, produktive Symptome genauer zu erfassen.

In der dritten Phase werden durch spezielle Fragen Informationen über Stimmung, Angst, Orientierung (zeitlich, örtlich, situativ) und die Fähigkeit zum abstrakten Denken gesammelt.

In der vierten Phase wird der Patient hohem Stress ausgesetzt, indem der Interviewer durch direkte Art Problembereiche beleuchtet, welchen der Patient zuvor eher abwehrend gegenüber stand.

Der Nachteil der ungenauen Zuordnung der allgemeinen Psychopathologie wird durch die hohe Objektivität, Validität und Reliabilität ausgeglichen (Norman et al., 1996).

In dieser Studie wurde das Ansprechen durch die PANSS zu Beginn, am 7., 14., 21. und 28. Tag gemessen und ausgewertet.

3.3 Material

3.3.1 Geräte

Tabelle 2: Geräte

Gerät	Typ	Hersteller
Eagle Eye	Eagle Eye II Photosystem	Stratagene, La Jolla, USA
Fluorometer	Tecan Genios	Tecan Deutschland GmbH, Crailsheim, DE
Gelkammer	Wide Mini Sub Cell GT, Agarose Gel Electrophoresis Systems	Bio Rad Laboratories GmbH, München, DE
Inkubator	SE 300	Memmert, Heinrich Rhode GmbH Kirchheim b. München, DE
Kühlschrank	Economic cooler (4°C)	Bosch, München, DE
Mikrowelle	Privileg 9024 E	Privileg, Quelle AG, DE
Mikrozentrifuge	Centrifuge 5415 C	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Hamburg, DE
Pipetten		Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Hamburg, DE
RotorGene 2000	Real-Time-Cycler	Corbett Research, Australia
Spannungsquelle	Power Pac 300	Bio Rad Laboratories GmbH, München, DE
Thermocycler	Mastercycler Gradient	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Hamburg, DE
Tiefkühlschrank	Economic (- 20 °C)	Bosch, München, DE
Ultra-Tiefkühlschrank	Ultra Low Temperature Freezer (- 80 °C)	New Brunswick, Edison, USA
Vortexer	Vortex-Genie 2	Scientific Industries Inc. Bohemia, N.Y., 11716 USA
Waage	PRECISIA 1620 C	PRECISIA Instruments AG, Dietikon, CH
Wasserbad	WB 14	Memmert GmbH und Co KG, Schwabhausen, DE
Zentrifuge	Centrifuge 5804	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Hamburg, DE

3.3.2 Reagenzien und Verbrauchsmaterialien

Tabelle 3: Reagenzien und Verbrauchsmaterialien

Reagenz/Material	Typ	Hersteller
0,2 ml 8-strips tubes und 8-strip caps	Natur	Alpha-laboratories , Eastleigh, United Kingdom
5 x TBE Puffer	Puffer	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, DE
6 x Loading Dye	Gel - Elektrophorese	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, DE
96-V-Mikrotiterplatte		Biozym Scientific GmbH, Ohlendorf, DE
Agarose NEEO Ultra-Qualität	Gel – Elektrophorese	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, DE
Borsäure	Gel - Elektrophorese	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, DE
Bromphenolblau	Gel - Elektrophorese	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, DE
Cap Strips	Eppendorf	Eppendorf Vertrieb, Hamburg, DE
Clontech human genomic DNA		Clontech, Palo Alto, USA
Combitips plus	0,5 ml	Eppendorf Vertrieb, Hamburg, DE
dNTP Set, 100 mM (10 mM ready-to-use)	PCR	MBI Fermentas GmbH, St.Leon-Rot, DE
EDTA-Dinatriumsalzdihydrat		Carl Roth GmbH, Karlsruhe, DE
Ethanol p.a.		Carl Roth GmbH, Karlsruhe, DE
Ethanol 70 %		[65,90 g Ethanol p.a. + 34,10 g H ₂ O]
Ethidiumbromid Solution 10 mg/ml	Gel – Elektrophorese	Bio Rad Laboratories GmbH, München, DE
Gene Ruler™ 100 bp DNA-Leiter 0,5µg/µl	Gel – Elektrophorese	MBI Fermentas GmbH, St.Leon-Rot, DE
Glycerol 30		Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, DE
Mikro-Schraubröhre	2 ml, PP	Sarstedt, Nümbrecht, DE
Pipettenspitzen		Sarstedt, Nümbrecht, DE
PP Rörchen	15 ml, 120 x 17 mm, PP	Sarstedt, Nümbrecht, DE
Primer (FRET)		TIBMOLBIOL,Syntheselabor GmbH Eresburgstraße 22-23,12103 Berlin,DE
Primer (RFLP)		Fa. Life Technologies, Karlsruhe, DE
Quant-iT™ PicoGreen® dsDNA Reagent		Invitrogen, San Diego, USA
QIAamp DNA Blood Maxi Kit		QIAGEN GmbH, Hilden, DE
Reaktionsgefäß mit Deckel	1,5 ml, autoklavierbar, PP	Josef Peske, Laborbedarf, Aindling, DE
Reaktionsgefäß mit Deckel	2,0 ml, autoklavierbar, PP	Josef Peske, Laborbedarf, Aindling, DE
Restriktionsenzym BpmI	Restriktionsenzym	New England BioLabs, USA
Restriktionsenzym BsmAI	Restriktionsenzym	New England BioLabs, USA
Restriktionsenzym MboII , 1500U	Restriktionsenzym	MBI Fermentas GmbH, St.Leon-Rot, DE
Restriktionsenzym NlaIII	Restriktionsenzym	New England BioLabs, USA
Strip Tubes	RotorGene, 0,1 ml	Corbett Research, Australia
Taq-DNA-Polymerase (rekombinant) 1 units/µl		MBI Fermentas GmbH, St.Leon-Rot, DE
Tris-hydroxymethyl-aminomethan		Carl Roth GmbH, Karlsruhe, DE

Tabelle 4: Polymorphismen, Lokalisation auf Chromosom 11

SNP_ID	Allel	chrom. Position	Gene	Distanz zu Startcodon	Lokalisation
rs17600713	A/G	112765157	ANKK1	1340	Intron1
rs2734849	C/T	112775370	ANKK1	11553	Exon8
rs2587550	C/T	112778135	DRD2/ANKK1	14318	3'-Genregion
rs1003641	A/G	112778846	DRD2	21737	3'-Genregion
rs1124492	A/C	112787485	DRD2	13098	Intron7
rs2002453	T/C	112794508	DRD2	6075	Intron2
rs7117915	A/G	112838635	DRD2	-38052	Intron1

3.3.3 Software

Tabelle 5: Software

Anwendung	Software	Adresse
Haplotypenanalyse	R	http://www.R-project.org (2009)
Primerdesign	Primer 3	http://frodo.wi.mit.edu/primer3/ (2009)
RFLP Analyse	Webcutter 2.0	http://rna.lundberg.gu.se/cutter2 (2009)
Statistische Auswertung	SPSS 15.0	Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., version 15,0, Chicago, 2006
Primerspezifität	Blast	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/seq/HsBlast.html (2007)

3.4 Methoden

3.4.1 DNA-Extraktion

Allen Studienteilnehmern wurde venös Blut abgenommen. Mithilfe des Kits der Firma Qiagen (Qiagen 2001) wurde die genomische DNA extrahiert.

Je 5-10 ml Blut wurden mit 500µl Proteinkinase K versetzt und mit einem Vortexer kurz vermischt. Mit diesem Schritt wurde die Lyse der Leukozyten und die Freisetzung der Nukleinsäuren erreicht, woraus eine leichtere Abtrennung der DNA resultierte.

Dazu wurde ein Guanidin-HCl-haltiger Puffer (AL-Puffer) gegeben, um der DNA die Hydrathülle zu entziehen und ihr somit die Bindung an die Silikagel-Säule zu ermöglichen. Um die Zellyse zu vervollständigen, wurde die Lösung noch einmal auf dem Vortexer gemischt und, um den DNA Ertrag zu maximieren, anschließend noch in einem Wasserbad bei 70°C mindestens 30 Minuten inkubiert.

Um die DNA auf das Säulenmaterial zu fällen wurde sie nach der Zugabe von 10 ml Ethanol zur Probe wiederum 2 min auf dem Vortexer gemischt, auf die Silikamembran gegeben und für 3 min bei Raumtemperatur zentrifugiert (3000rpm).

Die DNA band an die Membran, RNA und Nukleinsäurebindende Proteine wurden in den darauffolgenden Waschschritten entfernt. Zunächst wurde die Säule mit 5ml Guanidin-HCl-haltigem Puffer gewaschen mit dem Ziel, RNA- und Protein-Verunreinigungen zu entfernen. Die Guanidiniumsalze wiederum wurden mit 5ml ethanolhaltigem Waschpuffer ausgewaschen.

Für die Elution von der Silikamembran wurde die DNA-haltige Membran in sterile 50 ml PP-Röhrchen überführt und 1 ml eines Tris-haltigen Puffers (pH > 9.0) hinzugegeben. Nach einer Inkubation von 5 min bei Raumtemperatur wurde für 5 min zentrifugiert (5000 rpm). Da die Bindung der DNA an die Säulenmatrix von dem zuvor noch sauren Milieu abhängig war, löst sie sich mittels des basischen Puffers von der Membran.

3.4.2 DNA-Konzentrationsbestimmung

Zur Bestimmung der DNA-Konzentration wurde die PicoGreen Methode angewandt, bei welcher sich der hochsensitive Fluoreszenzfarbstoff PicoGreen als Interkalans in die Doppelhelix der DNA einlagert. Nach Anregung durch Licht der Wellenlänge 480 nm wird die Emission der Wellenlänge 520 nm gemessen. Die gemessene Fluoreszenzemission verhält sich proportional zur Menge der DNA.

Gemessen wurde in schwarzen 96 well Platten mit flachem Boden, wobei auf jeder Platte sowohl zusätzlich eine Doppelbestimmung einer Standardkurve mit genomischer DNA (Clontech human genomic DNA, 100 ng/μl) als auch die Proben doppelt gemessen wurden. Die Standardkurve wurde aus acht Punktmessungen zu 0/ 1,5625/

3,125/ 6,25/ 12,5/ 25/ 50/ 100 ng/µl berechnet.

Die Verdünnung von 1:40 wurde durch die Zugabe von 195 µl der PicoGreen Verdünnung (1:200 in 1x TE) zu je 5 µl der DNA erreicht.

Nach einer Reaktionszeit von 10 min wurde die Fluoreszenz nach Schütteln der Platte für 30 sec in einem Photometer von Tecan Genios gemessen.

Nachdem zur Anregung eine Wellenlänge von 480 nm gewählt wurde, konnte mit dem Tecan Genios Fluoreszenzreader die Emission bei 520 nm gemessen werden. Mit einer Integrationszeit von 40 µs wurden 10 Lichtblitze bei optimaler Steigerung und Verzögerung gemessen.

Eine 8-Punkt Kalibrierung wurde mit Hilfe der Standardkurve erreicht, welche mindestens einen Pearsonschen Korrelationskoeffizienten von 0,99 aufweisen sollte.

Für die qualitative SNP-Genotypisierung wurde eine Genauigkeit der DNA Konzentration von +/- 10% als ausreichend akzeptiert.

3.4.3 Genotypisierungsmethoden

Fünf der SNPs wurden mittels Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus-Analyse (RFLP) genotypisiert. Ausnahmen bildeten die Polymorphismen rs17600713 und rs2587550, welche zusätzlich bzw. ausschließlich durch Fluorescence Resonanz Energy Transfer (FRET) genotypisiert wurden und rs2002453, welcher von der Firma Ingenetix analysiert wurde. Ingenetix benutzte hierfür das ABI Prism 7900-System. Dies ermöglichte ein Hochdurchsatzverfahren auf der Grundlage der Real-Time-PCR. In der folgenden Tabelle sind die Methoden zur Bestimmung der einzelnen Polymorphismen aufgelistet (Tab. 6).

Tabelle 6: Polymorphismen, Bestimmungsmethode

SNP_ID	Flankierende Sequenz	Bestimmungsmethode
rs17600713	AGATGGCAGTGACATGATTACACTGT[A/G] AGACATTGATGCTAACTCCTGCCAC	RFLP / FRET
rs2734849	GGAGGGGGGTCTTGCCCTCAGCCTCA[C/T] GCAGGTTGGGGTCAGCCTGACGGGA	RFLP
rs2587550	GATTTTAACGTGCAGGCTCGGTTTA[C/T]AA CCATGGCTCTAGGACACACTCCA	FRET
rs1003641	GCTGAGAAGTGGAGAAAAGGCCTTGAA[A/G] AAAAGAGTTAGAAAAAGTAGATGAA	RFLP
rs1124492	TCAGGTGCACTTTTTCCAGGACCTC[A/C]TG CACAGGTGTGATATTTAGCCTGG	RFLP
rs2002453	CTCACAGACCCAGAGAGAGACTTAC[C/T]G TCCCAGAGCTAGTTAATTCCTGAA	Ingenetix
rs7117915	TCTCCACCTTCCCTCTCCCTCTGGA[A/G]A CTTTCTGGATGCCCTGGGTCTCAG	RFLP

3.4.3.1 Genotypisierung

RFLP beruht auf der Amplifizierung der flankierenden Sequenz um den Basenaustausch und dem anschließenden allelspezifischen enzymatischen Verdau der Polymerase Kettenreaktion (PCR)-Produkte. Die Mitte der 1980er Jahre von Kary B. Mullis entwickelte Polymerase-Kettenreaktion (engl. polymerase chain reaction) hat sich zu einer unentbehrlichen Methode in der Molekularbiologie entwickelt, mit der sich geringste Mengen spezifischer DNA bekannter Sequenz nachweisen und amplifizieren lassen. Nach der Auftrennung der DNA in die Einzelstränge werden vorher hergestellte Primer (Oligonucleotide, welche sich komplementär zu je einem Ende der Zielsequenz verhalten) an die Matrize angelegt und mit Hilfe einer hitzebeständigen DNA-Polymerase (Taq Polymerase) (Chien et al., 1976) und Desoxynucleotidtriphosphaten

(dNTPs) verlängert (Tab. 7).

Tabelle 7: Primersequenzen

SNP_ID	Orientierung	Primersequenz (5' - 3')	PCR-Produkt
rs17600713	Sense	CAGGTGCCACACACTCAGTT	243bp
	Antisense	AAGGGAAAGTGCCAGGAGTT	
rs2734849	Sense	TCTTCAGCAGGTGTTGGATG	250bp
	Antisense	CACCTGGCTGCACAGAATAA	
rs2587550	Sense	TTGCCCAGGAGATTTTAAACG	189bp
	Antisense	AGCAGCTTTGTGTCCTCCAT	
rs1003641	Sense	AGAGAAGGCTCTGGGGCTAC	220bp
	Antisense	TGTCCACATCTCCACAGCAT	
rs1124492	Sense	CCTACCTGCTCTGCTCACCT	227bp
	Antisense	TCATGGGACTGGGATATGGT	
rs2002453	Sense	ATACGGAGGGCCTCAACTTT	250bp
	Antisense	AGAGGCATCCTTCCAAGTCA	
rs7117915	Sense	TTAAGGCATGTGGCTGTGAG	233bp
	Antisense	TAGCACATGCGTGGGAAGTA	

Je nach Marker wurden die Temperatur, die restlichen Reagenzien und der passende Puffer abgestimmt, um eine große, aber dennoch spezifische Ausbeute zu erreichen.

So variierten die Puffer bezüglich des pHs als auch der MgCl₂ Konzentration (Tab. 8).

Tabelle 8: Pufferzusammensetzung

Puffer	MT 7,5	MT10	Puffer E
MgCl ₂ (25mM)	300µl	400µl	300µl
pH	8,8	8,8	9,0 (500µl Invitro9)
H ₂ O	200µl	100µl	200µl
BuffTaq (NH ₄)SO ₄	500µl	500µl	

Es wurden je 1µl DNA Probe (25ng/µl) mit Hilfe einer Transferpipette in die Mikrotiterplatten transferiert und mit PCR Mastermix polymorphismspezifischer Zusammensetzung versehen (Tab. 9).

Tabelle 9: PCR – Ansätze (Alle Angaben in µl; Primer 10pmol/µl; Polymerase 1U/µl; DNA 25ng/µl)

SNP_ID	DNA	H ₂ O	Puffer 5x	Reverse-Primer	Forward-Primer	dNTP	Taq Polymerase
rs17600713	1,0	6,5	MT 7,5: 2,0	0,25	0,25	0,25	0,5
rs2734849	1,0	17,0	Puffer E: 5,0	0,5	0,5	0,5	0,5
rs1003641	1,0	17,0	MT10: 5,0	0,5	0,5	0,5	0,5
rs1124492	1,0	17,0	MT10: 5,0	0,5	0,5	0,5	0,5
rs7117915	1,0	17,0	MT10: 5,0	0,5	0,5	0,5	0,5

Die DNA Amplifikation lief in einem Thermocycler („Mastercycler“ der Firma Eppendorf) mit einem vorher eingestellten Programm ab. Dieses Programm musste je nach SNP variiert werden, da sowohl die Temperatur als auch die Zeit eine wichtige Rolle für die Qualität der DNA-Fragmente spielen (Tab. 10).

Tabelle 10: PCR - Programme

SNP_ID	Initiale Denaturierung	Denaturierung	Annealing	Extension	Final Extension
rs17600713	94°C, 5 min	94°C, 30 sec	56,4°C, 1 min	72°C, 30 sec	72°C, 10 min
rs2734849	94°C, 5 min	94°C, 30 sec	56°C, 1 min	72°C, 30 sec	72°C, 10 min
rs1003641	94°C, 5 min	94°C, 30 sec	56°C, 1 min	72°C, 30 sec	72°C, 10 min
rs1124492	94°C, 5 min	94°C, 30 sec	56°C, 1 min	72°C, 30 sec	72°C, 10 min
rs7117915	94°C, 5 min	94°C, 30 sec	56°C, 1 min	72°C, 30 sec	72°C, 10 min

Die drei Teilschritte, aus welchen sich die PCR zusammensetzt, werden in 30 – 35

Zyklen wiederholt:

1. Denaturierung

Mit einer Temperatur von 94°C wird die DNA in Einzelstränge aufgetrennt, zu Beginn für eine Dauer von 5 min, in jedem Zyklus für 30 weitere sec.

2. Annealing

Mit einer niedrigeren Temperatur (50 – 70°C) wird die Bindung der Primer an den komplementären Strang ermöglicht.

3. Elongation

In jedem Zyklus wird für 30 sec die Temperatur auf 72°C erhöht, wodurch ein neuer DNA Strang mit dem Primer als Startermolekül mit Hilfe der hitzestabilen DNA Polymerase synthetisiert wird. Abschließend wird jeweils eine einmalige 10-minütige Elongation vorgenommen.

3.4.3.2 Restriktionsverdau

Zur Identifizierung der probandenspezifischen Allele wurden die amplifizierten Zielsequenzen durch restriktionsenzymatische Spaltung weiter behandelt.

Restriktionsendonukleasen sind Enzyme, welche je nach Sequenz an einer spezifischen Stelle die DNA schneiden, sofern auch die entsprechende allelspezifische Nukleotidbase vorhanden ist.

Diese Enzyme wurden mit dem Computerprogramm Webcutter 2.0 so ausgewählt, dass die Erkennungssequenz des Enzyms für eines der beiden Allele spezifisch war, folglich auch nur das dieses Allel enthaltende Fragment geschnitten wurde (Tab.11).

Tabelle 11: Fragmentlängen

SNP_ID	Allel ungeschnitten	Fragmentlänge	Allel geschnitten	Fragmentlänge
rs17600713	A	243bp	G	214bp
rs2734849	C	130bp 151bp	T	130bp 151bp 178bp
rs1003641	A	89bp	G	89bp 143bp
rs1124492	C	90bp 226bp	A	51bp 90bp 226bp
rs7117915	A	233bp	G	59bp

So entstanden geschnittene, ungeschnittene oder bei Heterozygoten sowohl geschnittene als auch ungeschnittene Sequenzfragmente entsprechend der Nukleotidbase an der spezifischen Stelle des Enzyms, welche durch die Fragmentlänge leicht zu unterscheiden waren. Der spezifische Ansatz wurde zu dem 25 µl PCR-Produkt pipettiert (Tab. 12). Dieser Ansatz wurde je nach Enzym bei einer von der Bezugsfirma angegebenen Temperatur und Dauer inkubiert.

Tabelle 12: RFLP - Ansätze

SNP_ID	Restriktions- enzym	Erken- nungs- sequenz	Enzympuffer 10x (µl)	H ₂ O (µl)	Tem- peratur	Inku - bation
rs17600713	BsmAI: 0,5µl	GTCTCN^	NEB3: 3	16,5µl	37°C	ÜN
rs2734849	NlaIII: 1,0µl	CATG^	NEB4: 3,0	16,5µl	37°C	6h
rs1003641	MboII: 1,0µl	GAAGA	Puffer B: 4,0	10,0 µl	37°C	3h
rs1124492	NlaIII: 1,0 µl	GATNN^N NATC	NEB4: 4,0	10,0 µl	37°C	6h
rs7117915	BpmI: 1,0µl	CTGGAG	NEB3: 4,0	10,0 µl	37°C	3h

3.4.3.3 Gelelektrophorese

Um die unterschiedlich langen Sequenzabschnitte zu visualisieren wurde eine Gelelektrophorese durchgeführt. Das Prinzip dieser Methode beruht auf der Migration geladener Partikel in einem elektrischen Feld. Als Matrix diente in Elektrophoresepuffern erhitzte und anschließend wieder erkaltete Agarose. Da DNA-Moleküle negativ geladen sind, wandern sie von der Kathode zur Anode. Da kleinere Fragmente schneller wandern als größere, ist dies der Unterscheidungsfaktor zwischen geschnittenen und ungeschnittenen Sequenzen. Auch die Stromstärke, die Pufferbedingungen und die Agarosekonzentration haben Einfluß auf die Geschwindigkeit der DNA-Moleküle im elektrischen Feld. Diese Bedingungen wurden daher immer konstant gehalten. So wurde eine 2%ige Agarose-Lösung mit 0,5 x TBE-Puffer angerührt und in der Mikrowelle erhitzt, bis eine klare Lösung erkennbar war. Nach Abkühlung auf dem Magnetrührer auf 40°C wurde 2 µl/100 ml Ethidiumbromid-Lösung hinzugegeben und das Gel in die zuvor mit Kämmen (10 bis 20 Taschen) und Seitenabdichtungen vorbereitete Kammer gegossen. Die Kammer wurde nach Erhärten des Gels mit 0,5 x TBE-Puffer aufgefüllt und von den mit 5 µl Ladepuffer aufgefüllten DNA-Proben je 20 µl in die Geltaschen pipettiert. Zusätzlich wurde zur Abmessung der Sequenzlängen eine Standard DNA-Leiter (DNA GeneRuler Ladder) mit Fragmenten definierter Länge verwendet. Mit einer Gleichspannung von 100 mV wandern die negativ geladenen Fragmente 60 min, während das Ethidiumbromid in die DNA-Helix interkaliert.

Bei allen durch RFLP genotypisierte SNPs mit Ausnahme von rs1003641 war dies das Standardvorgehen. Bei letzterem bedurfte es einer 3%igen Agarose-Lösung, da nach dem Verdau kleinere Fragmente (Fragmentlänge: 89 bp) aufgetrennt werden mussten. Die entsprechenden Fragmente konnten unter UV-Licht visualisiert werden (Eagle Eye; Stratagene). Die Gelfotografien wurden anschließend ausgewertet (z.B. Abb. 5, Abb. 6).

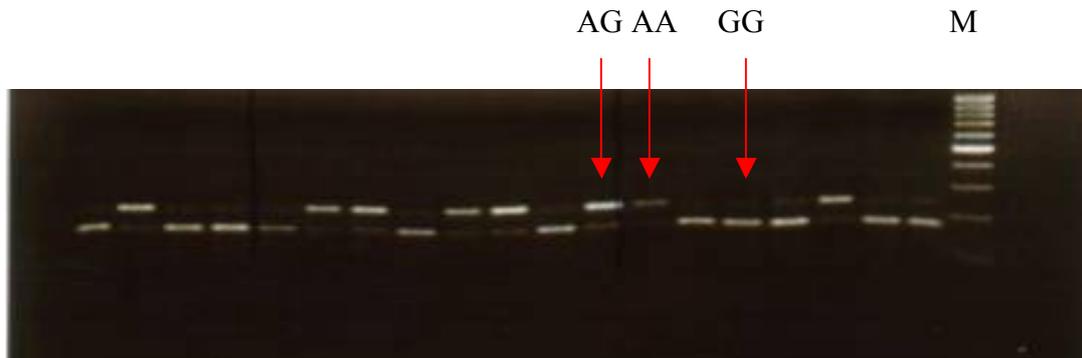


Abbildung 5: Gelelektrophorese rs17600713 nach Verdau mit BsmAI. M: Standard DNA Leiter, A: ungeschnittenes Allel, G: geschnittenes Allel

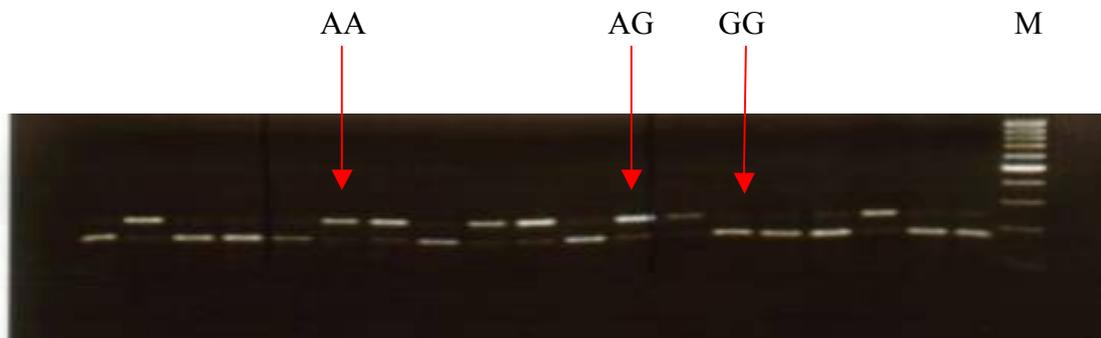


Abbildung 6: Gelelektrophorese rs7117915 nach Verdau mit BpmI. M: Standard DNA Leiter, A: ungeschnittenes Allel, G: geschnittenes Allel.

3.4.3.4 Fluoreszenz Resonanz Energie Transfer (FRET)

Mit dem *Fluorescence Resonanz Energy Transfer* (FRET) wurde bei zwei SNPs eine Methode angewandt, deren Prinzip 1946 von Theodor Förster entdeckt wurde (Elder et al., 2009).

Bei der konventionellen FRET wird das Prinzip des Energietransfers genutzt, in dem ein Fluorchrom (Donor) seine Energie auf ein anderes Fluorchrom (Akzeptor) unter bestimmten Voraussetzungen überträgt. Dafür darf eine Entfernung dieser Moleküle von ca. 10 Å nicht überschritten werden

Diese Fluorochrome bestehen bei der hier verwendeten Methode der Hybridisierungssonden aus einer Anker- und einer Sensorsonde, respektive Akzeptor- und Donorsonde. Das sind jeweils mit Fluoreszenzfarbstoffen markierte

Oligonukleotide.

In einem ersten Schritt wurde ein den Polymorphismus enthaltener Sequenzabschnitt mittels PCR amplifiziert. Die eigentliche Detektion der spezifischen Allele einer DNA erfolgte in einem zweiten Schritt über eine Schmelzpunktanalyse. Die hierbei verwendeten Hybridisierungs sonden bestehen aus einer am 3'-Ende mit Fluorescein markierten Sensorsonde, sowie aus einer am 5'-Ende mit LCRed640 markierten und am 3'-Ende mit Phosphat blockierten Ankersonde, die in einer „Kopf zu Fuß“ Anordnung an die amplifizierte Sequenz binden. Die Sensorsonde, die am 3'-Ende mit Fluorescein markiert ist, absorbiert eingestrahktes Licht einer bestimmten Wellenlänge und emittiert infolge der Anregung. Dieses emittierte Licht wird dann von einem kompatiblen Fluorophor (LCRed640) am 5'-Ende der Ankersonde absorbiert, wenn beide Sonden an die amplifizierte Targetsequenz gebunden sind. Die dadurch angeregte Ankersonde emittiert Fluoreszenz einer differierenden Wellenlänge. Die Sensorsonde ist über dem zu bestimmenden SNP lokalisiert, die Ankersonde hybridisiert unmittelbar daneben.

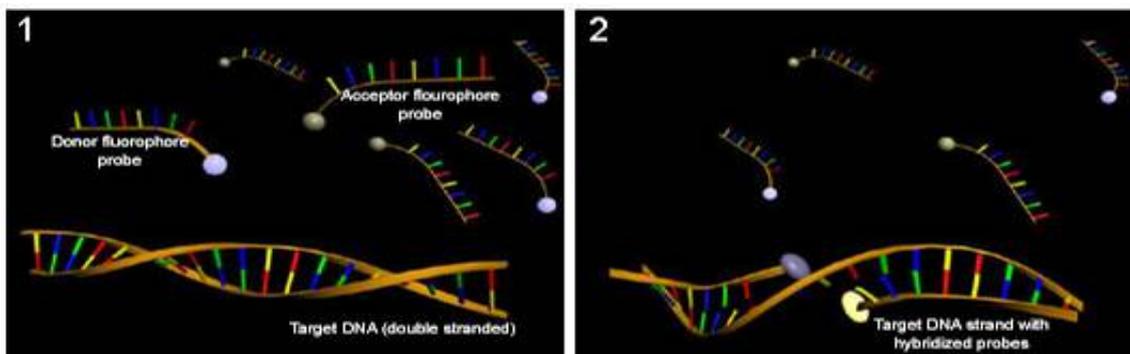


Abbildung 7: Quantifizierung von Nukleinsäuren mit Hilfe der Real time PCR und fluoreszenz-markieren Sonden. (1) Einsatz von Sonden, die mit 2 verschiedenen FRET-Fluorophoren markiert wurden. (2) Während eines PCR-Zyklus hybridisieren die Sonden mit dem komplementären DNA-Strang und ermöglichen somit eine Fluoreszenz des Ankers (Förster, 2006).

Dazu wird kontinuierlich die Temperatur erhöht, wodurch nach und nach die für die jeweiligen allelspezifischen Sonden charakteristischen Schmelzpunkte erreicht werden. Durch die Ablösung der Sonden wird auch das Fluoreszenzsignal abgebrochen. Bei einem Nukleotidaustausch erfolgt eine frühere Ablösung, bedingt durch einen niedrigeren Schmelzpunkt. Werden nun zwei Schmelzpunkte gemessen, zeigt das eine

heterozygote Probe. Um das Ablesen zu erleichtern wird die erste negative Ableitung der Fluoreszenz gegen die Temperatur aufgetragen (Roche, 1998).

Die Primersequenzen und Schmelzpunkte wurden von der Firma TIB MOLBIOL (TIB MOLBIOL, Berlin) entworfen (Abb. 8), die PCR im RotorGene (Corbett Research, Doncaster, Australia) durchgeführt.

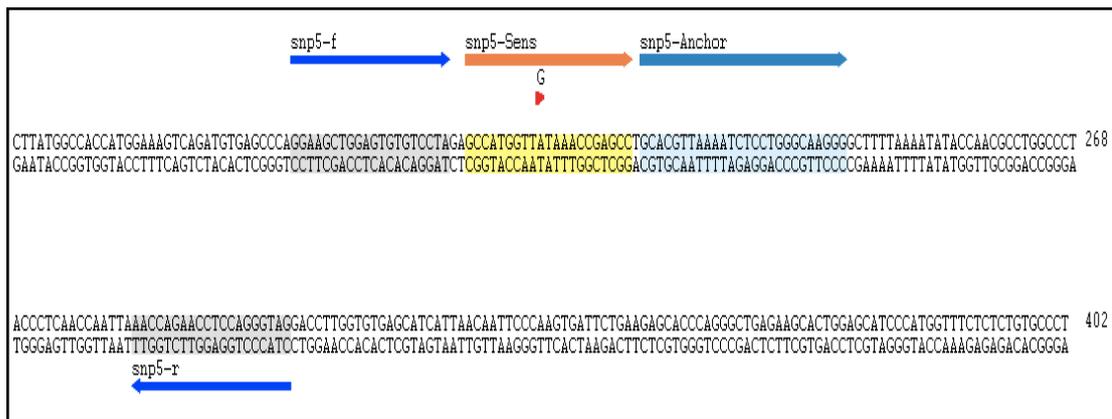


Abbildung 8: FRET-Primersequenzen rs2587550

Die Polymorphismen rs17600713 und rs2587550 wurden mit dieser Methode genotypisiert. Die Ansätze wurden spezifisch etabliert (Tab. 13).

Tabelle 13: FRET-Ansätze

SNP_ID	rs17600713	rs2587550
H2O	3,63 µl	5,5 µl
Puffer MT 17,5	5,0 µl	/
Puffer MT 7,5	/	2,0 µl
Primer for	0,12 µl	0,5 µl
Primer rev	0,25 µl	0,5 µl
FRET for	1,0 µl	1,0 µl
FRET rev	1,0 µl	1,0 µl
dNTP	0,25 µl	0,25 µl
Taq-Polymerase	0,5 µl	0,5 µl

Das benutzte PCR-Programm stimmte für die beiden Polymorphismen weitgehend überein, lediglich die Annealingtemperatur von 1 min lag für rs17600713 bei 56,4°C und für rs2587550 bei 55,1°C. Die initiale Denaturierung war zunächst 5 Minuten bei 94°C. Anschließend wurden 32 Zyklen mit Denaturierung (30sec, 94°C), Annealing (1min, 56,4°C bzw. 55,1°C) und Elongation (30sec, 72°C) durchgeführt. Die finale Elongation fand bei 72°C für 10 min statt.

Die Ergebnisse der Schmelzkurvenanalyse wurde vom RotorGene in einem Melt Report zusammengestellt und graphisch dargestellt.

Je nach Genotyp werden ein oder zwei Peaks erkannt. So steigt beispielsweise bei rs17600713 die Fluoreszenz bei Homozygoten mit dem Genotyp GG nur bei 60°C an und bei Homozygoten mit dem Genotyp AA bei 64-65°C. Liegt ein heterozygote Allelverteilung vor, so lassen sich zwei Peaks erkennen (Abb. 9, Abb. 10).

Melt Report rs17600713;

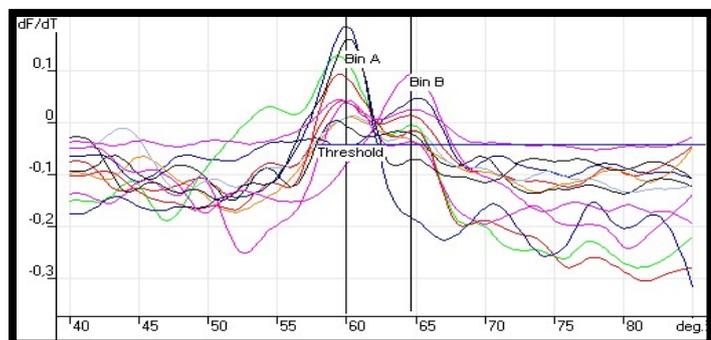
Experiment Information

Name	rs17600713
Start	31.03.05 17:04:48
Finish	31.03.05 17:13:47
Notes	1a1-12row9-12
Digital Filter	Light
Threshold	-0,04195
Temp. Threshold	58°

1	Kin85	None	Ag	59,9 (Bin A), 64,6 (Bin B)
2	Kin86	None	Aa	65,3 (Bin B)
3	Kin87	None	Ag	59,4 (Bin A), 64,8 (Bin B)
4	Kin88	None	Gg	60,3 (Bin A)
5	Kin89	None	Ag	60,3 (Bin A), 64,6 (Bin B)
6	Kin91	None	Ag	59,3 (Bin A), 63,9 (Bin B)

Abbildung 9: FRET- Ergebnisse

rs17600713



Melt Report rs2587550;

Experiment Information

Experiment Name	rs2587550
Experiment Start	04.04.05 12:28:33
Experiment Finish	04.04.05 12:37:21
Notes	snp5_1-12row5-8
Digital Filter	Light
Threshold	0,03218
Temp. Threshold	54°

16	Kin65	None	tt	64,6 (Bin B)
18	Kin67	None	tt	64,9 (Bin B)
19	Kin68	None	tt	64,8 (Bin B)
20	Kin69	None	tt	65,1 (Bin B)
22	Kin73	None	cc	58,4 (Bin A)
24	Kin75	None	tt	64,8 (Bin B)
25	Kin76	None	cc	58,6 (Bin A)

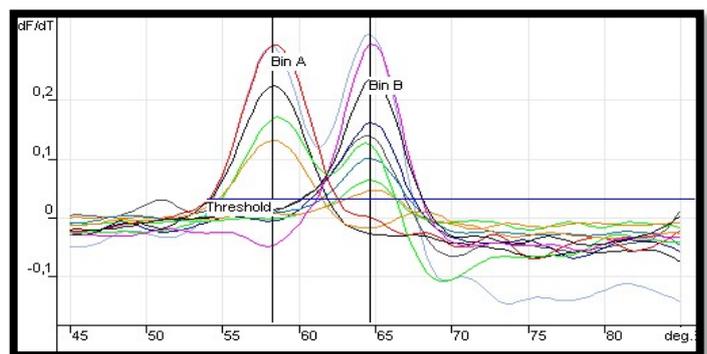


Abbildung 10: FRET- Ergebnisse

rs2587550

3.4.3.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung zu Allel- und Genotypfrequenzen der sechs SNPs erfolgte mithilfe der Software Statistical Package for Social Sciences. Mit Hilfe des Programms „Haploview“ sowie der statistischen Software “R” wurden Haplotypblöcke ermittelt (Tab. 5).

Zur Darstellung der Assoziation der genetischen Variationen mit den PANSS-Verlaufswerten wurden Varianzanalysen mit Meßwertwiederholungen berechnet.

Für alle statistischen Berechnungen wurde ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ festgelegt, während $p < 0,1$ als Trend gewertet wurde.

4 Ergebnisse

In dieser Studie wurden 7 Polymorphismen (SNPs) auf dem DRD2 Gen und dem benachbarten ANKK1 Gen bezüglich ihrer Assoziation zum Ansprechverhalten auf Haloperidol untersucht. Es wurden zur Beurteilung des Ansprechens die positiven, negativen und die gesamten PANSS-Werte herangezogen.

4.1 Analyse der Polymorphismen des ANKK1 Gens

4.1.1 Analyse des Markers rs17600713

4.1.1.1 Genotypverteilung

Das Kollektiv bestand aus 99 Patienten. Die Genotypenverteilung (18 AA, 56 AG und 25 GG) befand sich im Hardy-Weinberg-Equilibrium ($F = -0,140$; $df = 1$; $p = 0,173$).

Die statistische Auswertung zur Genotypverteilung des Markers rs17600713 zeigt die in der Tabelle 14 und in Abbildung 11 dargestellten Zusammenhänge zur PANSS.

Tabelle 14: Ergebnisse rs17600713, Genotypverteilung (alle Angaben in Prozent (+/-SD))

PANSS	Genotyp	Improvement			
		Tag 7	Tag 14	Tag 21	Tag 28
Positiv	AA	36,15 (24,72)	48,85 (20,54)	50,65 (24,53)	50,57 (26,39)
	AG	35,14 (20,44)	44,94 (21,42)	48,51 (21,36)	50,01 (21,42)
	GG	29,56 (21,78)	44,67 (24,39)	51,34 (23,89)	50,15 (24,56)
Negativ	AA	18,21 (21,22)	27,58 (27,83)	29,14 (29,38)	27,24 (32,52)
	AG	16,74 (25,76)	26,42 (25,40)	29,07 (26,03)	29,04 (26,41)
	GG	13,21 (24,65)	20,82 (28,71)	24,51 (29,42)	23,78 (29,54)
Gesamt	AA	27,18 (21,56)	38,22 (20,49)	39,90 (23,59)	38,91 (26,62)
	AG	25,94 (20,25)	35,68 (21,09)	38,79 (20,87)	39,53 (21,45)
	GG	21,38 (19,76)	32,75 (24,16)	37,93 (24,35)	36,97 (24,60)

Die unterschiedlichen Genotypen (AA, AG, GG) des Polymorphismus zeigen keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Verbesserung der positiven, negativen oder gesamten Symptomatik.

Varianzanalyse:

PANSS positiv: $F = 2,107$, $df = 6/190$, $p = 0,054$

PANSS negativ: $F = 0,300$, $df = 6/190$, $p = 0,937$

PANSS gesamt: $F = 0,888$, $df = 6/190$, $p = 0,505$

Haupteffekt:

PANSS positiv: $F = 0,084$, $df = 2/96$, $p = 0,919$

PANSS negativ: $F = 0,331$, $df = 2/96$, $p = 0,719$

PANSS gesamt: $F = 0,208$, $df = 2/96$, $p = 0,812$

Die Ergebnisse zeigen keinen signifikanten Unterschied.

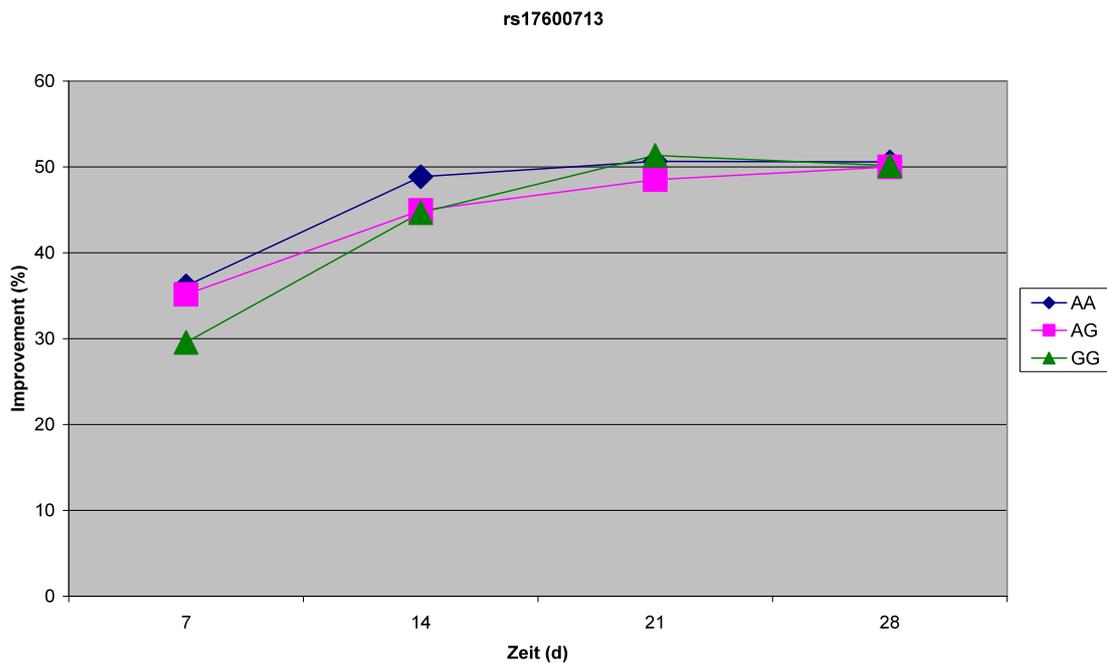


Abbildung 11: Prozentuale Verbesserung der PANSS positiv in Abhängigkeit von der Zeit, aufgeschlüsselt nach den Genotypen, rs17600713

Es bestand kein signifikanter Unterschied der prozentualen Verbesserung zwischen den unterschiedlichen Genotypen. Der erste p-Wert zeigte mit 0,054 knappe Signifikanz mit Unterschieden in der Verbesserung von Baseline zu Tag 7. Am 28. Tag nach Beginn der Studie zeigten die verschiedenen Genotypen in etwa ähnliche Verbesserungen der positiven Symptomatik nach PANSS.

4.1.1.2 Allelverteilung

Das Kollektiv bestand aus 99 Patienten, entsprechend 198 Allelen. Die Allele verteilten sich auf 92 Allele A und 106 Allele G.

Die statistische Auswertung zur Allelverteilung des Markers rs17600713 zeigte die in der Tab. 15 dargestellten Zusammenhänge zur PANSS.

Tabelle 15: Ergebnisse rs1760071, Allelverteilung (Alle Angaben in Prozent (+/-SD))

PANSS	Allel	Improvement	Improvement	Improvement	Improvement
		Tag 7	Tag 14	Tag 21	Tag 28
Positiv	A	35,54 (21,93)	46,47 (20,94)	49,35 (22,39)	50,23 (23,18)
	G	32,51 (21,06)	44,81 (22,63)	49,85 (22,40)	50,08 (22,71)
Negativ	A	17,32 (23,87)	26,87 (26,07)	29,10 (27,06)	28,33 (28,59)
	G	15,08 (25,07)	23,78 (26,88)	26,92 (27,49)	26,56 (27,77)
Gesamt	A	26,43 (20,53)	36,67 (20,66)	39,22 (21,71)	39,28 (23,29)
	G	23,79 (19,96)	34,29 (22,40)	38,39 (22,34)	38,32 (22,78)

Varianzanalyse:

PANSS positiv: $F = 1,402$, $df = 3/194$, $p = 0,243$

PANSS negativ: $F = 0,249$, $df = 3/194$, $p = 0,862$

PANSS gesamt: $F = 0,645$, $df = 3/194$, $p = 0,587$

Haupteffekt:

PANSS positiv: $F = 0,131$, $df = 1/196$, $p = 0,717$

PANSS negativ: $F = 0,416$, $df = 1/196$, $p = 0,520$

PANSS gesamt: $F = 0,333$, $df = 1/196$, $p = 0,565$

Es zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Allelverteilung des Markers rs17600713 und der PANSS.

4.1.2 Analyse des Markers rs2734849

4.1.2.1 Genotypverteilung

Das Kollektiv bestand aus 102 Patienten. Die Genotypenverteilung (18 CC, 58 CT und 26 TT) befand sich im Hardy-Weinberg-Equilibrium ($F = -0,140$; $df = 1$; $p = 0,150$).

Die Auswertung der Genotypen des Polymorphismus rs2734849 zeigte folgende Ergebnisse (Tab. 16):

Tabelle 16: Ergebnisse rs2734849, Genotypverteilung (Alle Angaben in Prozent (+/-SD))

PANSS	Genotyp	Improvement	Improvement	Improvement	Improvement
		Tag 7	Tag 14	Tag 21	Tag 28
Positiv	CC	36,38 (25,32)	46,86 (22,81)	47,76 (26,57)	47,42 (28,26)
	CT	36,41 (19,38)	47,07 (19,90)	51,11 (20,27)	52,60 (20,38)
	TT	27,92 (22,06)	43,31 (25,54)	49,69 (24,32)	48,85 (24,67)
Negativ	CC	19,69(21,48)	28,91 (27,23)	29,29 (29,71)	27,05 (32,83)
	CT	17,35 (25,43)	27,02 (25,11)	30,16 (25,53)	30,01 (26,34)
	TT	13,48 (25,90)	19,81 (28,72)	22,88 (29,29)	23,16 (29,07)
Gesamt	CC	28,04 (21,95)	37,89 (21,53)	38,53 (24,83)	37,23 (27,66)
	CT	26,88 (19,62)	37,04 (20,17)	40,64 (20,15)	41,31 (20,96)
	TT	20,70 (20,68)	31,56 (24,70)	36,29 (24,35)	36,01 (24,39)

Die unterschiedlichen Genotypen (CC, CT, TT) von rs2734849 zeigten keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Verbesserung der positiven, negativen oder gesamten Symptomatik.

Varianzanalyse:

PANSS positiv: $F = 2,200$, $df = 6/196$, **$p = 0,045$**

PANSS negativ: $F = 0,617$, $df = 6/196$, $p = 0,717$

PANSS gesamt: $F = 0,917$, $df = 6/196$, $p = 0,483$

Haupteffekt:

PANSS positiv: $F = 0,396$, $df = 2/99$, $p = 0,674$

PANSS negativ: $F = 0,601$, $df = 2/99$, $p = 0,550$

PANSS gesamt: $F = 0,595$, $df = 2/99$, $p = 0,554$

Die Ergebnisse zeigten allerdings Signifikanz bezüglich der Verbesserung von Baseline zu Tag 7 bei PANSS positiv bei Genotyp CC.

4.1.2.2 Allelverteilung

Das Kollektiv bestand aus 102 Patienten, entsprechend 204 Allelen. Die Allele verteilten sich auf 94 Allele C und 110 Allele T.

Die statistische Auswertung zur Allelverteilung des Markers rs17600713 zeigte die in der Tabelle 17 dargestellten Zusammenhänge zur PANSS.

Tabelle 17: Ergebnisse rs2734849, Allelverteilung (Alle Angaben in Prozent (+/-SD))

PANSS	Allel	Improvement	Improvement	Improvement	Improvement
		Tag 7	Tag 14	Tag 21	Tag 28
Positiv	C	36,40 (21,55)	46,99 (20,80)	49,83 (22,64)	50,62 (23,51)
	T	32,39 (20,92)	45,29 (22,57)	50,44 (22,05)	50,82 (22,35)
Negativ	C	18,24 (23,80)	27,74 (25,65)	29,83 (26,88)	28,88 (28,66)
	T	15,52 (25,48)	23,61 (26,85)	26,72 (27,35)	26,77 (27,61)
Gesamt	C	27,32 (20,31)	37,37 (20,47)	39,83 (21,81)	39,75 (23,52)
	T	23,96 (20,18)	34,45 (22,37)	38,58 (22,12)	38,80 (22,58)

Varianzanalyse:

PANSS positiv: $F = 1,851$, $df = 3/200$, $p = 0,139$

PANSS negativ: $F = 0,636$, $df = 3/200$, $p = 0,593$

PANSS gesamt: $F = 0,873$, $df = 3/200$, $p = 0,456$

Haupteffekt:

PANSS positiv: $F = 0,172$, $df = 1/202$, $p = 0,679$

PANSS negativ: $F = 0,724$, $df = 1/202$, $p = 0,396$

PANSS gesamt: $F = 0,531$, $df = 1/202$, $p = 0,467$

Es wurde kein Zusammenhang zwischen PANSS Werten und Allelverteilung des Polymorphismus rs2734849 deutlich.

4.1.3 Analyse des Markers rs2587550

4.1.3.1 Genotypverteilung

Das Kollektiv bestand aus 97 Patienten. Die Genotypverteilung (15 CC, 41 CT und 41 TT) befand sich im Hardy-Weinberg-Equilibrium ($F = 0,090$; $df = 1$; $p = 0,379$). Die Auswertung der Genotypen des Markers rs2587550 zeigte folgende Ergebnisse (Tab. 18):

Tabelle 18: Ergebnisse rs2587550, Genotypverteilung (Alle Angaben in Prozent (+/-SD))

PANSS	Genotyp	Improvement	Improvement	Improvement	Improvement
		Tag 7	Tag 14	Tag 21	Tag 28
Positiv	CC	31,37 (27,96)	45,75 (27,60)	51,48 (26,44)	50,31 (27,66)
	CT	33,16 (19,34)	45,16 (22,60)	48,82 (23,32)	49,13 (23,30)
	TT	35,90 (20,16)	47,08 (18,48)	50,53 (20,29)	52,16 (21,46)
Negativ	CC	18,02 (32,89)	31,82 (30,17)	32,98 (29,23)	31,15 (30,09)
	CT	12,38 (23,75)	18,82 (25,98)	21,35 (27,38)	21,71 (28,52)
	TT	19,02 (21,83)	29,31 (24,28)	32,39 (25,68)	31,60 (27,49)
Gesamt	CC	24,69 (28,44)	38,79 (27,11)	42,23 (26,04)	40,73 (26,73)
	CT	22,77 (17,99)	31,99 (21,75)	35,09 (22,49)	35,42 (23,24)
	TT	27,46 (18,36)	38,20 (18,39)	41,68 (19,87)	41,88 (21,88)

Die unterschiedlichen Genotypen (CC, CT, TT) des Markers rs2587550 zeigten keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Verbesserung der PANSS.

Varianzanalyse:

PANSS positiv: $F = 0,979$, $df = 6/186$, $p = 0,441$

PANSS negativ: $F = 0,770$, $df = 6/186$, $p = 0,594$

PANSS gesamt: $F = 0,548$, $df = 6/186$, $p = 0,771$

Haupteffekt:

PANSS positiv: $F = 0,132$, $df = 2/94$, $p = 0,877$

PANSS negativ: $F = 1,772$, $df = 2/94$, $p = 0,176$

PANSS gesamt: $F = 0,944$, $df = 2/94$, $p = 0,393$

Die Ergebnisse zeigten keinen signifikanten Unterschied der prozentualen Verbesserung zwischen den unterschiedlichen Genotypen.

4.1.3.2 Allelverteilung

Das Kollektiv bestand aus 97 Patienten, entsprechend 194 Allelen. Die Allele verteilten sich auf 71 Allele C und 123 Allele T.

Die statistische Auswertung zur Allelverteilung des Markers rs2587550 zeigte die in der Tabelle 19 dargestellten Zusammenhänge zur PANSS.

Tabelle 19: Ergebnisse rs2587550, Allelverteilung (Alle Angaben in Prozent (+/-SD))

PANSS	Allel	Improvement	Improvement	Improvement	Improvement
		Tag 7	Tag 14	Tag 21	Tag 28
Positiv	C	32,40 (22,96)	45,41 (24,43)	49,94 (24,33)	49,63 (24,83)
	T	34,98 (19,77)	46,44 (19,80)	49,96 (21,19)	51,15 (21,95)
Negativ	C	14,76 (27,62)	24,31 (28,14)	26,26 (28,35)	25,70 (29,14)
	T	16,81 (22,52)	25,81 (25,15)	29,00 (26,61)	28,30 (28,01)
Gesamt	C	23,58 (22,57)	34,86 (24,00)	38,10 (23,94)	37,67 (24,52)
	T	25,89 (18,22)	36,13 (19,64)	39,48 (20,85)	39,73 (22,37)

Varianzanalyse:

PANSS positiv: $F = 2,056$, $df = 3/190$, $p = 0,107$

PANSS negativ: $F = 0,236$, $df = 3/190$, $p = 0,871$

PANSS gesamt: $F = 0,375$, $df = 3/190$, $p = 0,771$

Haupteffekt:

PANSS positiv: $F = 0,172$, $df = 1/192$, $p = 0,679$

PANSS negativ: $F = 0,348$, $df = 1/192$, $p = 0,556$

PANSS gesamt: $F = 0,327$, $df = 1/192$, $p = 0,568$

Bei der Allelverteilung ist keine signifikante Assoziation zu erkennen.

4.2 Analyse der Polymorphismen des DRD2 Gens

4.2.1 Analyse des Markers rs1003641

4.2.1.1 Genotypverteilung

Das Kollektiv bestand aus 101 Patienten. Die Genotypverteilung (14 AA, 43 AG und 44 GG) befand sich im Hardy-Weinberg-Equilibrium ($F = 0,070$; $df = 1$; $p = 0,506$).

Die Auswertung der Genotypen des Polymorphismus rs1003641 zeigte folgende Resultate (Tab. 20):

Tabelle 20: Ergebnisse rs1003641, Genotypverteilung (Alle Angaben in Prozent (+/-SD))

PANSS	Genotyp	Improvement Tag 7	Improvement Tag 14	Improvement Tag 21	Improvement Tag 28
Positiv	AA	29,09 (27,58)	43,95 (28,62)	48,51 (30,04)	48,05 (29,89)
	AG	35,22 (19,16)	47,00 (20,17)	51,97 (19,73)	52,18 (20,39)
	GG	36,71 (19,91)	47,59 (19,38)	50,62 (20,95)	51,85 (21,91)
Negativ	AA	14,85 (30,46)	29,03 (29,22)	30,27 (28,30)	28,31 (29,07)
	AG	14,60 (23,41)	20,79 (25,28)	23,34 (26,42)	24,62 (27,44)
	GG	21,27 (22,62)	31,51 (24,12)	34,48 (25,53)	33,05 (27,41)
Gesamt	AA	21,97 (26,80)	36,49 (27,11)	39,39 (27,05)	38,18 (27,20)
	AG	24,91 (17,99)	33,90 (20,27)	37,66 (20,34)	38,40 (21,37)
	GG	28,99 (18,67)	39,55 (18,70)	42,55 (20,29)	42,45 (22,10)

Die unterschiedlichen Genotypen (AA, AG, GG) des SNPs rs1003641 zeigten keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Verbesserung der positiven, negativen oder gesamten Symptomatik.

Varianzanalyse:

PANSS positiv: $F = 0,612$, $df = 6/194$, $p = 0,720$

PANSS negativ: $F = 1,094$, $df = 6/194$, $p = 0,367$

PANSS gesamt: $F = 0,716$, $df = 6/194$, $p = 0,637$

Haupteffekt:

PANSS positiv: $F = 0,262$, $df = 2/98$, $p = 0,770$

PANSS negativ: $F = 1,546$, $df = 2/98$, $p = 0,218$

PANSS gesamt: $F = 0,656$, $df = 2/98$, $p = 0,521$

Die Ergebnisse zeigten keinen signifikanten Unterschied der prozentualen Verbesserung zwischen den unterschiedlichen Genotypen.

4.2.1.2 Allelverteilung

Das Kollektiv bestand aus 101 Patienten, entsprechend 202 Allelen. Die Allele verteilten sich auf 71 Allele A und 131 Allele G.

Die statistische Auswertung zur Allelverteilung des Markers rs1003641 zeigte die in der Tabelle 21 dargestellten Zusammenhänge zur PANSS.

Tabelle 21: Ergebnisse rs1003641, Allelverteilung (Alle Angaben in Prozent (+/-SD))

PANSS	Allel	Improvement	Improvement	Improvement	Improvement
		Tag 7	Tag 14	Tag 21	Tag 28
Positiv	A	32,80 (22,63)	45,80 (23,46)	50,60 (23,91)	50,55 (24,20)
	G	36,22 (19,53)	47,40 (19,49)	51,06 (20,41)	51,96 (21,26)
negativ	A	14,70 (25,95)	24,04 (26,78)	26,07 (26,98)	26,08 (27,73)
	G	19,08 (22,92)	27,99 (24,84)	30,82 (26,16)	30,29 (27,50)
Gesamt	A	23,75 (21,52)	34,92 (22,83)	38,34 (22,82)	38,31 (23,43)
	G	27,65 (18,41)	37,70 (19,27)	40,94 (20,28)	41,12 (21,78)

Varianzanalyse:

PANSS positiv: $F = 1,128$, $df = 3/198$, $p = 0,339$

PANSS negativ: $F = 0,161$, $df = 3/198$, $p = 0,923$

PANSS gesamt: $F = 0,178$, $df = 3/198$, $p = 0,911$

Haupteffekt:

PANSS positiv: $F = 0,334$, $df = 1/200$, $p = 0,564$

PANSS negativ: $F = 1,428$, $df = 1/200$, $p = 0,233$

PANSS gesamt: $F = 1,061$, $df = 1/200$, $p = 0,304$

Die Allelverteilung zeigte ebenfalls keinen signifikanten Zusammenhang mit der Ansprechrate auf Haloperidol.

4.2.2 Analyse des Markers rs1124492

4.2.2.1 Genotypverteilung

Das Kollektiv bestand aus 87 Patienten. Die Genotypverteilung (1 AA, 17 AC und 69 CC) befand sich im Hardy-Weinberg-Equilibrium ($F = -0,040$; $df = 1$; $p = 0,967$).

Die Auswertung der Genotypen zeigte folgende Ergebnisse (Tab. 22 und Abb. 12, 13 und 14):

Tabelle 22: Ergebnisse rs1124492, Genotypverteilung (Alle Angaben in Prozent (+/-SD))

PANSS	Genotyp	Improvement			
		Tag 7	Tag 14	Tag 21	Tag 28
Positiv	AA	75,0 (0)	71,88 (0)	75,0 (0)	78,13 (0)
	AC	24,23 (19,80)	38,14 (23,60)	41,33 (23,00)	41,46 (24,73)
	CC	37,39 (20,35)	47,91 (20,17)	52,83 (20,54)	53,44 (21,27)
Negativ	AA	53,13 (0)	62,50 (0)	50,00 (0)	46,88 (0)
	AC	5,98 (19,61)	11,80 (18,71)	15,47 (19,58)	16,65 (20,97)
	CC	19,39 (25,80)	29,21 (25,96)	32,65 (26,98)	31,39 (28,74)
Gesamt	AA	64,06 (0)	67,19 (0)	62,50 (0)	62,50 (0)
	AC	15,10 (15,41)	24,97 (18,33)	28,40 (18,25)	29,06 (19,84)
	CC	28,39 (20,36)	38,56 (20,50)	42,74 (21,12)	42,41 (22,63)

Die Genotypen AA zeigten hier ein deutlich schnelleres Ansprechen, als auch insgesamt eine erhöhte Verbesserung der positiven, negativen und der gesamten Symptomatik.

Insbesondere bei der positiven Symptomatik wird bei den Genotypen AA eine weitaus höhere prozentuale Verbesserungen erreicht.

Varianzanalyse:

PANSS positiv: $F = 0,521$, $df = 6/166$, $p = 0,792$

PANSS negativ: $F = 0,761$, $df = 6/166$, $p = 0,601$

PANSS gesamt: $F = 0,341$, $df = 6/166$, $p = 0,914$

Haupteffekt:

PANSS positiv: $F = 3,436$, $df = 2/84$, **$p = 0,037$**

PANSS negativ: $F = 3,534$, $df = 2/84$, **$p = 0,034$**

PANSS gesamt: $F = 4,419$, $df = 2/84$, **$p = 0,015$**

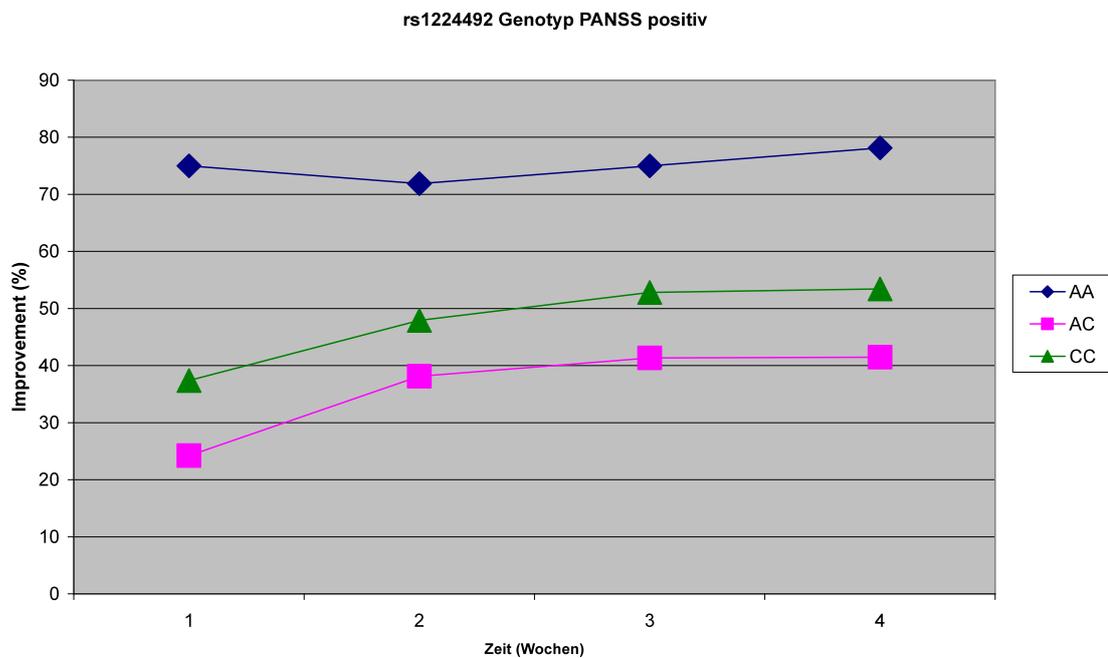


Abbildung 12: Prozentuale Verbesserung der Genotypen des Markers rs1224492 auf der Skala von PANSS positiv. Signifikante Verbesserung der Genotypen AA.

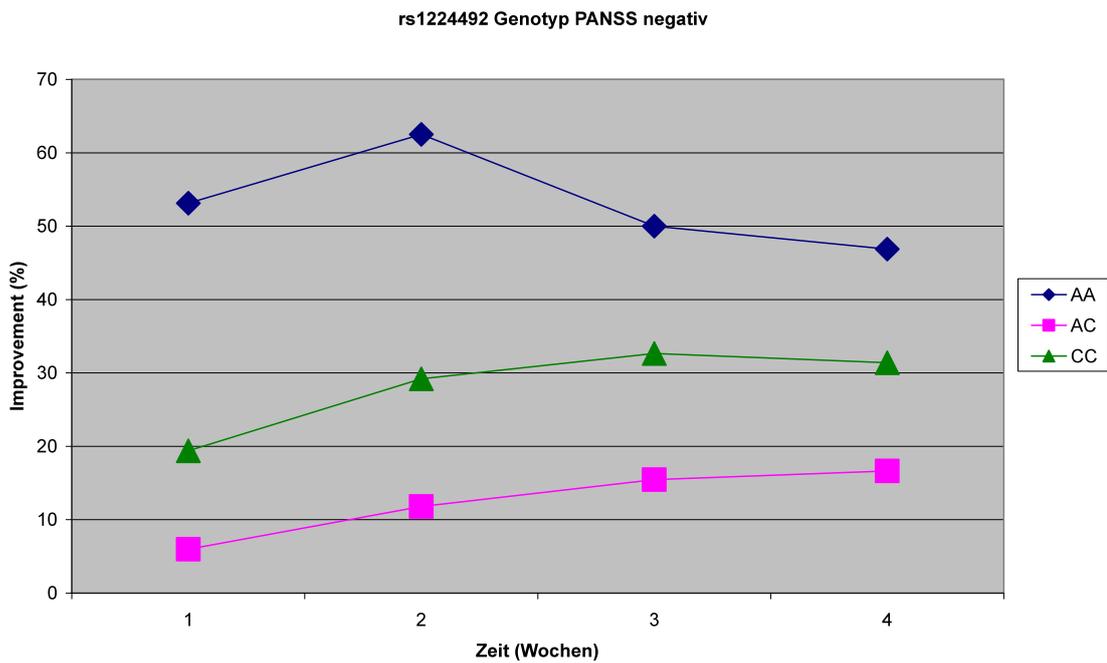


Abbildung 13: Prozentuale Verbesserung der Genotypen des Markers rs1224492 auf der Skala von PANSS negativ. Signifikant höhere Verbesserung der Genotypen AA.

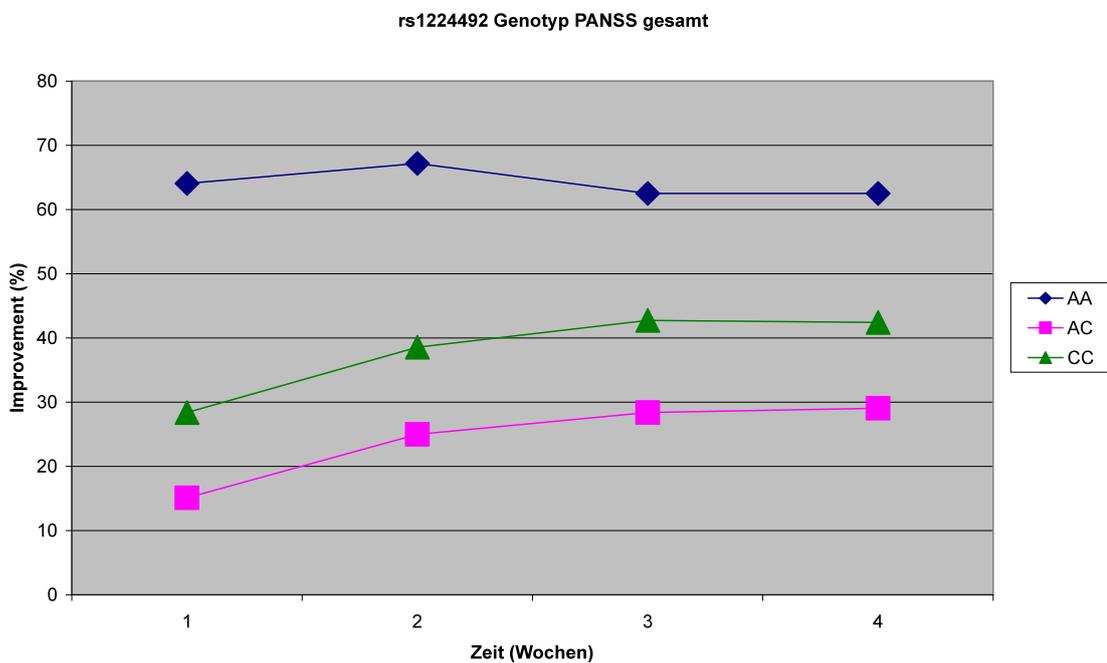


Abbildung 14: Prozentuale Verbesserung der Genotypen des Markers rs1224492 auf der Skala von PANSS gesamt. Signifikant höhere Verbesserung der Genotypen AA.

Die Ergebnisse zeigten sowohl bei der positiven, der negativen als auch bei der gesamten Symptomatik der Patienten mit dem Genotyp AA im Vergleich zu Probanden mit Genotyp AC oder CC gemessen mit der PANSS eine signifikant erhöhte Verbesserung auf.

4.2.2.2 Allelverteilung

Das Kollektiv bestand aus 87 Patienten, entsprechend 174 Allelen. Die Allele verteilten sich auf 19 Allele A und 155 Allele C.

Die statistische Auswertung zur Allelverteilung des Markers rs1224492 zeigt die in der Tabelle 23 dargestellten Zusammenhänge zur PANSS.

Tabelle 23: Ergebnisse rs1224492, Allelverteilung (Alle Angaben in Prozent (+/-SD))

PANSS	Allel	Improvement	Improvement	Improvement	Improvement
		Tag 7	Tag 14	Tag 21	Tag 28
Positiv	A	29,57 (24,59)	41,69 (24,66)	44,87 (24,15)	45,32 (26,03)
	C	35,95 (20,58)	46,84 (20,65)	51,57 (20,99)	52,12 (21,84)
Negativ	A	10,94 (23,72)	17,14 (23,80)	19,10 (21,43)	19,84 (21,95)
	C	17,92 (25,41)	27,30 (25,72)	30,76 (26,68)	29,77 (28,22)
Gesamt	A	20,26 (21,20)	29,42 (21,81)	31,99 (20,29)	32,58 (21,47)
	C	26,93 (20,20)	37,07 (20,59)	41,17 (21,18)	40,95 (22,60)

Varianzanalyse:

PANSS positiv: $F = 0,248$, $df = 3/170$, $p = 0,863$

PANSS negativ: $F = 0,510$, $df = 3/170$, $p = 0,676$

PANSS gesamt: $F = 0,357$, $df = 3/170$, $p = 0,784$

Haupteffekt:

PANSS positiv: $F = 1,616$, $df = 1/172$, $p = 0,205$

PANSS negativ: $F = 2,602$, $df = 1/172$, $p = 0,109$

PANSS gesamt: $F = 2,664$, $df = 1/172$, $p = 0,104$

Bei der Allelverteilung konnte das signifikante Ergebnis der Genotypverteilung nicht bestätigt werden. Bei PANSS negativ und PANSS gesamt konnte annähernd ein Trend bezüglich des besseren Ansprechens bei Allel A gezeigt werden.

4.2.3 Analyse des Markers rs2002453

4.2.3.1 Genotypverteilung

Das Kollektiv bestand aus 87 Patienten. Die Genotypverteilung (44 CC, 31 CT und 12 TT) befand sich im Hardy-Weinberg-Equilibrium ($F = 0,180$; $df = 1$; $p = 0,101$).

Die Auswertung der Genotypen zeigte folgende Ergebnisse (Tab. 24, Abb. 15 und 16):

Tabelle 24: Ergebnisse rs2002453, Genotypverteilung (Alle Angaben in Prozent (+/-SD))

PANSS	Genotyp	Improvement Tag 7	Improvement Tag 14	Improvement Tag 21	Improvement Tag 28
Positiv	CC	40,79 (20,37)	49,99 (19,04)	53,18 (20,38)	54,29 (21,19)
	CT	31,78 (20,66)	43,07 (22,32)	48,15 (21,71)	48,61 (22,89)
	TT	23,91 (20,22)	40,88 (24,76)	49,18 (25,32)	47,89 (26,01)
Negativ	CC	22,88 (23,82)	32,92 (24,63)	36,39 (25,70)	34,97 (27,67)
	CT	15,97 (23,54)	20,48 (24,79)	23,14 (25,79)	24,01 (27,36)
	TT	-0,77 (28,34)	16,28 (27,30)	20,61 (26,02)	17,73 (25,70)
Gesamt	CC	31,83 (19,51)	41,46 (19,09)	44,78 (20,20)	44,63 (22,04)
	CT	23,88 (18,80)	31,78 (21,07)	35,64 (21,09)	36,31 (22,55)
	TT	11,57 (20,76)	28,58 (23,22)	34,89 (23,66)	32,81 (23,24)

Varianzanalyse:

PANSS positiv: $F = 1,544$, $df = 6/166$, $p = 0,167$

PANSS negativ: $F = 1,399$, $df = 6/166$, $p = 0,218$

PANSS gesamt: $F = 1,457$, $df = 6/166$, $p = 0,196$

Haupteffekt:

PANSS positiv: $F = 1,496$, $df = 2/84$, $p = 0,230$

PANSS negativ: $F = 3,534$, $df = 2/84$, **$p = 0,034$**

PANSS gesamt: $F = 3,142$, $df = 2/84$, **$p = 0,048$**

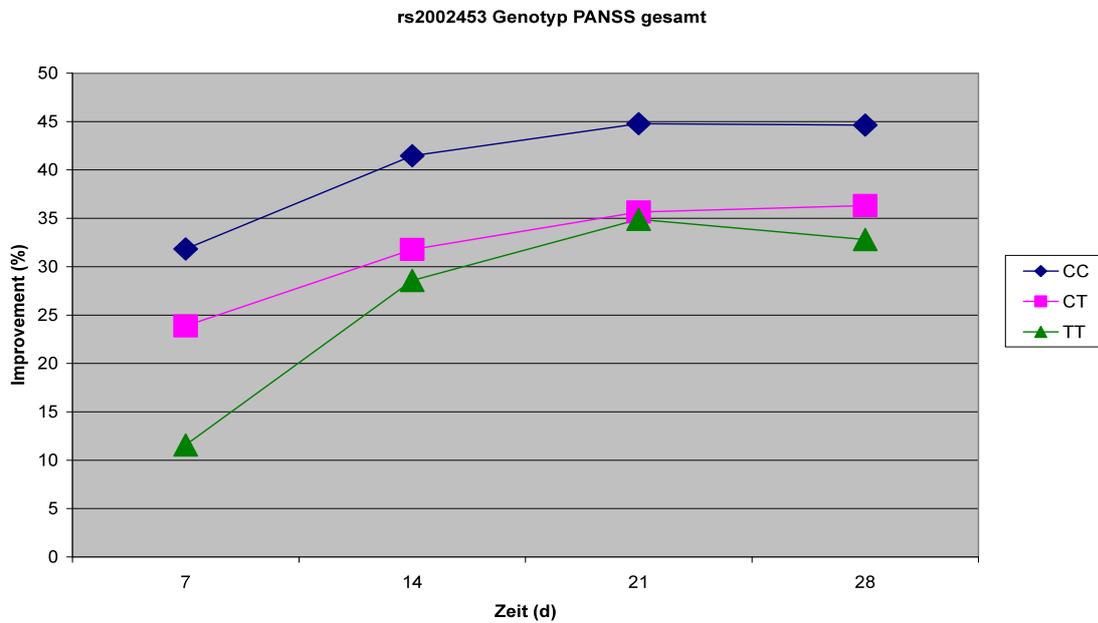


Abbildung 15: Genotypverteilung PANSS negativ des Markers rs2002453

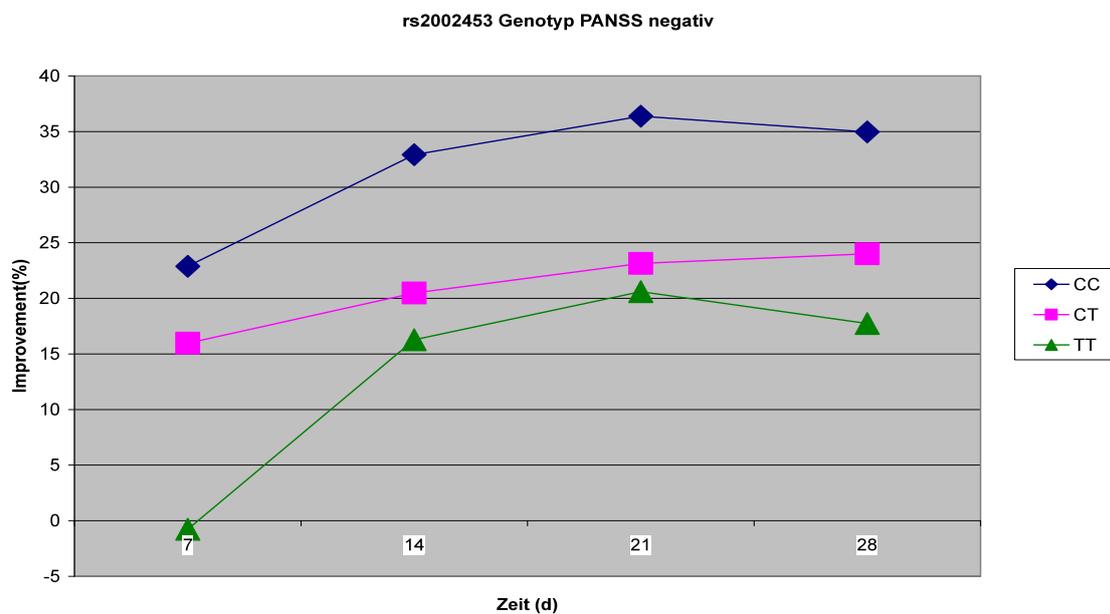


Abbildung 16: Genotypverteilung, PANSS gesamt des Markers rs2002453

Bei der Genotypverteilung zeigte sich eine signifikant erhöhte Abnahme der negativen und der gesamten Symptomatik auf PANSS, nicht aber der positiven Symptomatik. Der Genotyp CC zeigte dabei die stärkste Verbesserung im Vergleich zu CT und TT (Abb. 12 und 13).

4.2.3.2 Allelverteilung

Das Kollektiv bestand aus 87 Patienten, entsprechend 174 Allelen. Die Allele verteilten sich auf 119 Allele C und 55 Allele T.

Die statistische Auswertung zur Allelverteilung des Markers rs2002453 zeigte die in der Tab. 25 und Abb. 17, 18 und 19 dargestellten Zusammenhänge zur PANSS.

Tabelle 25: Ergebnisse rs2002453, Allelverteilung (Alle Angaben in Prozent (+/-SD))

PANSS	Allel	Improvement Tag 7	Improvement Tag 14	Improvement Tag 21	Improvement Tag 28
Positiv	C	38,44 (20,65)	48,19 (20,00)	51,87 (20,68)	52,81 (21,60)
	T	28,35 (20,47)	42,12 (22,97)	48,60 (22,87)	48,29 (23,81)
Negativ	C	21,08 (23,74)	29,68 (25,07)	32,94 (26,17)	32,11 (27,78)
	T	8,67 (26,55)	18,65 (25,49)	22,04 (25,43)	21,27 (26,36)
Gesamt	C	29,76 (19,48)	38,94 (19,91)	42,40 (20,66)	42,46 (22,29)
	T	18,51 (20,24)	30,38 (21,65)	35,32 (21,80)	34,78 (22,48)

Varianzanalyse:

PANSS positiv: $F = 3,477$, $df = 3/170$, $p = \mathbf{0,017}$

PANSS negativ: $F = 0,122$, $df = 3/170$, $p = 0,947$

PANSS gesamt: $F = 1,185$, $df = 3/170$, $p = 0,317$

Haupteffekt:

PANSS positiv: $F = 3,326$, $df = 1/172$, $p = \mathbf{0,070}$

PANSS negativ: $F = 8,117$, $df = 1/172$, $p = \mathbf{0,005}$

PANSS gesamt: $F = 7,143$, $df = 1/172$, $p = \mathbf{0,008}$

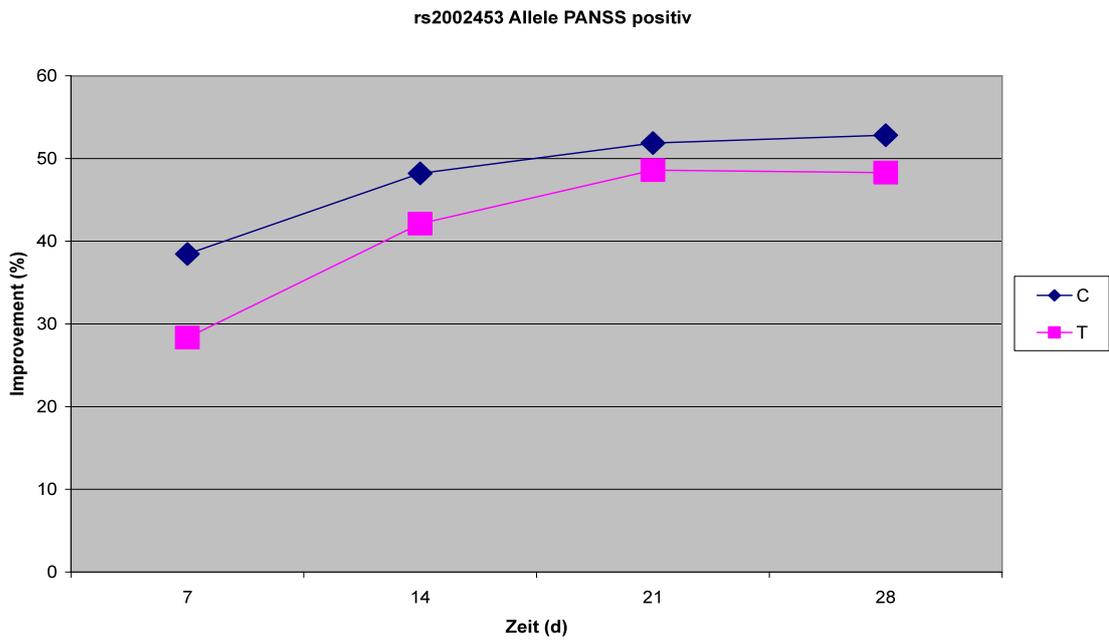


Abbildung 17: Allelverteilung des Markers rs2002453 bei PANSS positiv.

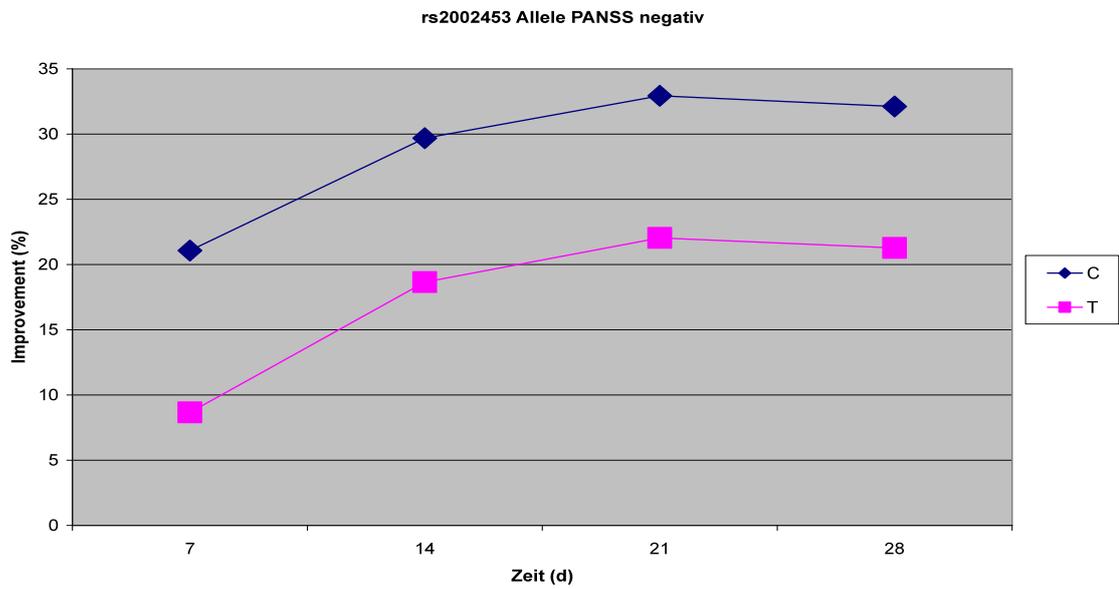


Abbildung 18: Allelverteilung des Markers rs2002453 bei PANSS negativ.

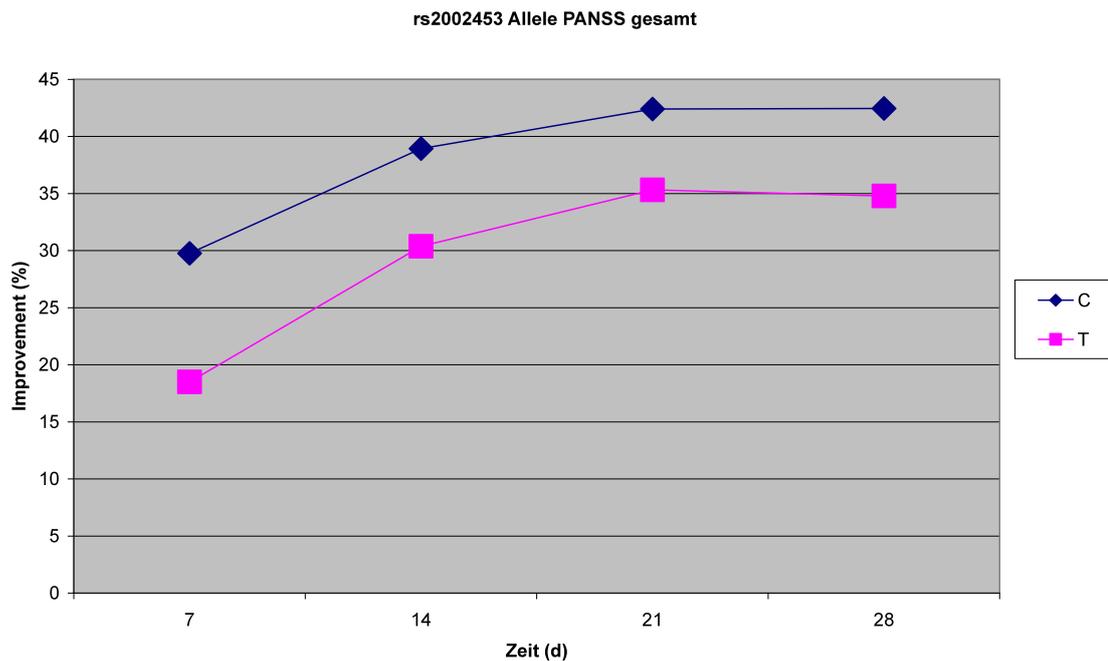


Abbildung 19: Allelverteilung des Markers rs2002453 im Bezug auf die Gesamtsymptomatik nach PANSS. Es kann eine signifikant erhöhte Verbesserung der Symptomatik bei Patienten mit Allel C gezeigt werden.

Bei der Allelverteilung konnte ein signifikanter Zusammenhang für eine Verbesserung der negativen und der gesamten Symptomatik bei Allel C gezeigt werden. Die positive Symptomatik zeigte einen Trend ebenso bei Allel C (Abb. 17). Außerdem konnte eine Signifikanz bezüglich der Verbesserung von Baseline zu Tag 7 bei Allel C gezeigt werden.

4.2.4 Analyse des Markers rs7117915

4.2.4.1 Genotypverteilung

Das Kollektiv bestand aus 102 Patienten. Die Genotypverteilung (7 AA, 23 AG und 72 GG) befand sich leicht außerhalb des Hardy-Weinberg-Equilibriums ($F = 0,240$; $df = 1$; $p = 0,015$).

Die Auswertung des Markers rs7117915 zeigte für die Genotypen folgende Resultate (Tab. 26):

Tabelle 26: Ergebnisse rs7117915, Genotypverteilung (Alle Angaben in Prozent (+/-SD))

PANSS	Genotyp	Improvement	Improvement	Improvement	Improvement
		Tag 7	Tag 14	Tag 21	Tag 28
Positiv	AA	41,14 (21,46)	51,42 (23,64)	57,42 (17,26)	56,38 (20,33)
	AG	30,73 (19,19)	43,99 (22,69)	48,96 (22,79)	50,58 (23,40)
	GG	35,13 (21,67)	46,57 (21,03)	50,73 (21,52)	51,02 (22,29)
negativ	AA	14,36 (31,08)	25,51 (32,99)	25,87 (27,60)	25,42 (27,16)
	AG	16,53 (27,02)	25,17 (28,19)	27,32 (28,94)	29,39 (31,69)
	GG	17,16 (23,66)	26,31 (24,87)	29,40 (26,26)	28,37 (26,88)
Gesamt	AA	27,75 (24,30)	38,47 (27,31)	41,64 (22,04)	40,90 (23,25)
	AG	23,63 (19,35)	34,58 (22,34)	38,14 (22,97)	39,99 (24,81)
	GG	26,14 (20,27)	36,44 (20,34)	40,06 (21,02)	39,69 (21,99)

Die unterschiedlichen Genotypen (AA, AG, GG) zeigten keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Verbesserung der positiven, negativen oder gesamten Symptomatik.

Varianzanalyse:

PANSS positiv: $F = 0,632$, $df = 6/196$, $p = 0,704$

PANSS negativ: $F = 0,524$, $df = 6/196$, $p = 0,789$

PANSS gesamt: $F = 0,647$, $df = 6/196$, $p = 0,692$

Haupteffekt:

PANSS positiv: $F = 0,415$, $df = 2/99$, $p = 0,661$

PANSS negativ: $F = 0,035$, $df = 2/99$, $p = 0,965$

PANSS gesamt: $F = 0,077$, $df = 2/99$, $p = 0,926$

Es bestand kein signifikanter Unterschied der prozentualen Verbesserung zwischen den unterschiedlichen Genotypen.

4.2.4.2 Allelverteilung

Das Kollektiv bestand aus 102 Patienten, entsprechen 204 Allelen. Die Allele verteilten sich auf 37 Allele A und 167 Allele G.

Die statistische Auswertung zur Allelverteilung des Markers rs7117915 zeigt die in der Tabelle 27 dargestellten Zusammenhänge zur PANSS.

Tabelle 27: Ergebnisse rs7117915, Allelverteilung (Alle Angaben in Prozent (+/-SD))

PANSS	Allel	Improvement	Improvement	Improvement	Improvement
		Tag 7	Tag 14	Tag 21	Tag 28
Positiv	A	34,67 (20,11)	46,80 (22,67)	52,16 (20,83)	52,78 (21,92)
	G	34,52 (21,28)	46,22 (21,15)	50,48 (21,57)	50,96 (22,30)
negativ	A	15,71 (27,73)	25,30 (29,13)	26,77 (27,68)	27,89 (29,39)
	G	17,07 (23,99)	26,15 (25,19)	29,12 (26,49)	28,51 (27,41)
Gesamt	A	25,19 (20,73)	36,05 (23,61)	39,47 (22,07)	40,33 (23,59)
	G	25,80 (20,05)	36,18 (20,50)	39,80 (21,17)	39,73 (22,26)

Varianzanalyse:

PANSS positiv: $F = 0,218$, $df = 3/200$, $p = 0,884$

PANSS negativ: $F = 0,637$, $df = 3/200$, $p = 0,592$

PANSS gesamt: $F = 0,410$, $df = 3/200$, $p = 0,746$

Haupteffekt:

PANSS positiv: $F = 0,082$, $df = 1/202$, $p = 0,775$

PANSS negativ: $F = 0,082$, $df = 1/202$, $p = 0,775$

PANSS gesamt: $F = 0,001$, $df = 1/202$, $p = 0,975$

Die Allelverteilung zeigte keinen Zusammenhang zwischen den Allelen des Markers und dem Ansprechen auf Haloperidol.

4.3 Zusammenfassung der Ergebnisse

Statistisch signifikante Ergebnisse im Hinblick auf eine Assoziation zur Verbesserung der Symptomatik nach Haloperidoltherapie ließen sich für zwei Polymorphismen im Bereich des DRD2 Gens feststellen. Für die Polymorphismen im ANKK1 Gen konnte lediglich bei vereinzelter Parametern bei bestimmten Genotypen eine Verbesserung der Werte von Baseline zu Tag 7 gezeigt werden (Tab. 27, Abb. 21 und 22).

Im DRD2 Gen konnte für den Marker rs1124492 bei der Genotypverteilung eine signifikant höhere Verbesserung der PANSS Skalen positiv, negativ und gesamt bei Genotyp AA festgestellt und bei der Allelverteilung für PANSS negativ und gesamt ein Trend für das Allel A gezeigt werden.

Auf dem Marker rs2002453 konnte bei den genannten Allelen und Genotypen eine signifikant höhere Verbesserung des Ansprechens auf Haloperidol gezeigt werden.

Auf dem ANKK1 Gen zeigte der Marker rs17600713 bei der Genotypverteilung bei PANSS positiv eine knappe Signifikanz bezüglich der Verbesserung von Baseline zu Tag 7. Auch bei dem Marker rs2734849 konnte bei der Verbesserung von Baseline zu Tag 7 eine signifikante Verbesserung bei der Genotypverteilung bei PANSS positiv gezeigt werden.

Tabelle 28: Zusammenstellung der p-Werte für die Assoziation PANSS mit 7 SNPs

Haupteffekt	rs17600713	rs2734849	rs2587550	rs1003641	rs1124492	rs2002453	rs7117915
Genotyp:							
PANSS positiv:	0,919	0,674	0,877	0,770	0,037	0,230	0,661
PANSS negativ:	0,719	0,550	0,176	0,218	0,034	0,034	0,965
PANSS gesamt:	0,812	0,554	0,393	0,521	0,015	0,048	0,926
Allel:							
PANSS positiv:	0,717	0,679	0,679	0,564	0,205	0,070	0,775
PANSS negativ:	0,520	0,396	0,556	0,233	0,109	0,005	0,775
PANSS gesamt:	0,565	0,467	0,568	0,304	0,104	0,008	0,975

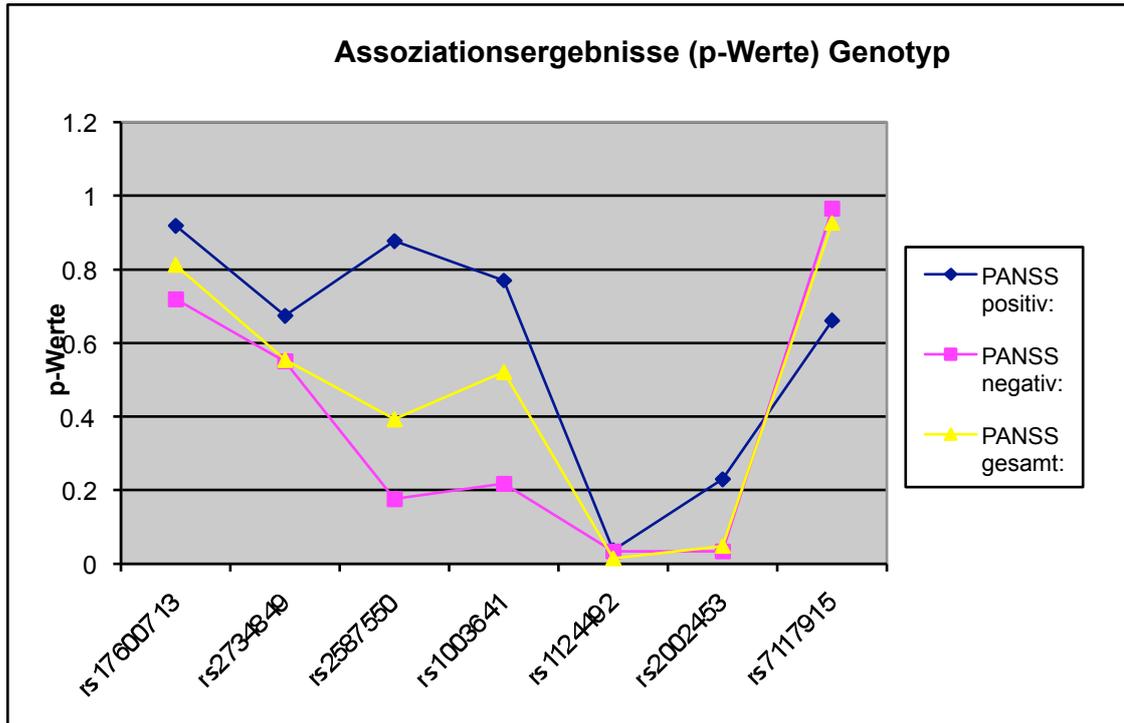


Abbildung 20: Darstellung der Assoziationsergebnisse (p-Werte) der 7 Marker mit den PANSS (Genotypen). Die SNPs sind in Reihenfolge ihres Auftretens auf dem Chromosom sortiert.

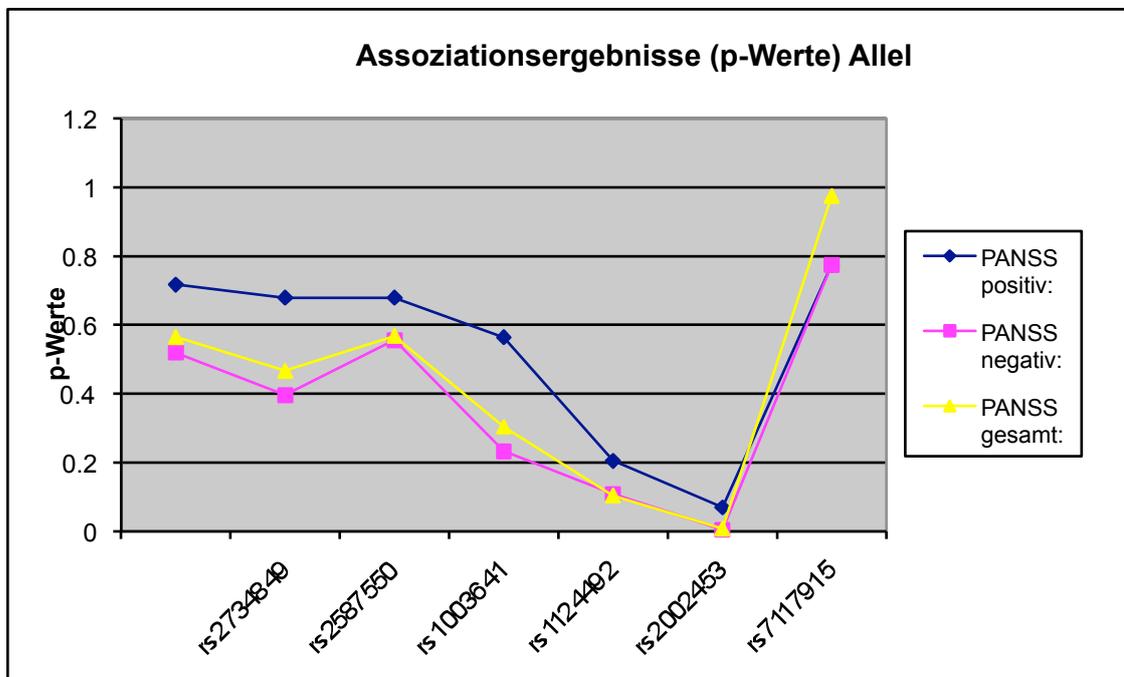


Abbildung 21: Darstellung der Assoziationsergebnisse (p-Werte) der 7 Marker mit den PANSS (Allele). Die SNPs sind in Reihenfolge ihre Auftretens auf dem Chromosom sortiert.

4.4 LD-Blockstruktur

Zur Berechnung der LD-Blockstruktur wurden neben den für diese Arbeit genotypisierten 7 SNPs weitere 171 SNPs miteinbezogen.

Mit dem Programm Haploview wurden die LD Blöcke bestimmt und lieferten folgendes Ergebnis:

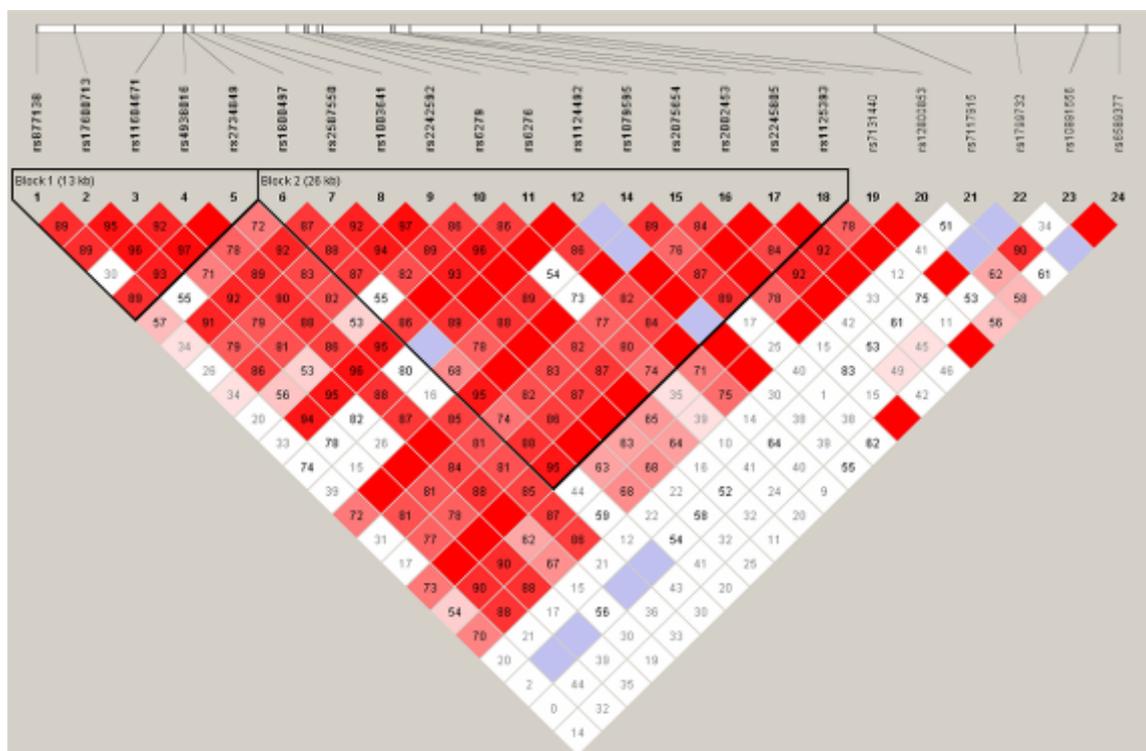


Abbildung 22: Mit Haploview ausgewertete LD-Blöcke auf DRD2 Genregion auf Chromosom 11

Es können 2 LD Blöcke identifiziert werden.

Der erste Block erstreckt sich vom 5'-Ende des ANKK1 Gens bis in das Exon 8, der zweite beginnt mit dem TaqIA Polymorphismus in Exon 8 etwas weiter downstream und endet im Intron 1 des DRD2 Gens, relativ dicht an der 5'-Spleißstelle des Exons 2. Weitere Haplotypblöcke ließen sich in der hier untersuchten Stichprobe nicht identifizieren.

5 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden 7 Polymorphismen des Dopamin 2 Rezeptor Gens und des benachbarten Gens ANKK1 auf eine Assoziation mit dem Ansprechen auf Haloperidol, einem spezifischen Antagonisten des Dopamin 2 Rezeptors, untersucht.

Hierfür wurden 118 Patienten mit verschiedenen psychotischen Erkrankungen über einen Zeitraum von 4 Wochen mit Haloperidol als Monotherapie behandelt. Die Symptomatikverbesserung wurde wöchentlich durch die PANSS überprüft. Die 3 Polymorphismen des ANKK1 Gens (rs17600713, rs2734849, rs2587550) und die 4 Polymorphismen des DRD2 Gens (rs1003641, rs1124492, rs2002453 und rs7117915) wurden mittels RFLP-Analyse bzw. FRET genotypisiert.

Die Hypothese, dass bestimmte Marker auf den Genen DRD2 und ANKK1 Einfluss auf das Ansprechverhalten auf Haloperidol bei psychotischen Patienten haben, konnte bei den SNPs rs1124492 und rs2002453 (beide DRD2) bestätigt werden, bei den restlichen fünf Markern musste die Hypothese verworfen werden.

Auf ANKK1 konnte bei dem Marker rs17600713 bei PANSS positiv (Genotypverteilung) zumindest bei der Verbesserung von Baseline zu Tag 7 eine signifikante Assoziation gezeigt werden. Ebenso konnte dies bei PANSS positiv bei der Genotypverteilung des Markers rs2734849 gezeigt werden.

Die DRD2 Genregion gilt als einer der wichtigsten Genorte im Zusammenhang mit Schizophrenie. Assoziationsstudien zum Ansprechverhalten auf Neuroleptika zeigen allerdings sehr divergierende Ergebnisse (Schäfer et al., 2001; Malhotra et al., 1999; Shen et al., 2008; Thomas et al., 2008; Lane et al., 2004; Lencz et al., 2006; Xing et al., 2007; Hwang et al., 2006; Yamanouchi et al., 2003; Suzuki et al., 2000 und 2001; Sakumoto et al., 2007; Wu et al., 2005; Arranz et al., 1998; Dahmen et al., 2001; Reynolds et al., 2005 (2)), was einerseits an unterschiedlicher Methodik bezüglich der Rate des Ansprechens liegen könnte, andererseits aber auch an der großen Zahl bekannter Polymorphismen in dieser relativ großen Genregion.

Bei den Studien zur genetischen Assoziation und dem pharmakologischen Ansprechverhalten variierte besonders die Methodik bezüglich der Objektivierung der Rate des Ansprechens.

Die Methodik der Darstellung des Ansprechens ist meist mit BPRS oder PANSS definiert. In dieser Studie wurde PANSS benutzt, wobei es vermutlich keinen Einfluss hat, mit welcher standardisierten Skala das Ansprechen dargestellt wird. Zunächst ist kein Zusammenhang erkennbar zwischen signifikanten Ergebnissen und den Studien, welche PANSS den Vorzug gaben. Im übrigen ist die PANSS eine auf der BPRS basierende Methode (Kay, 1987).

Das Ansprechen auf Neuroleptika kann durch prozentuale Verbesserung oder durch Einteilen in zwei Gruppen (Ansprecher vs. Nicht-Ansprecher) gemessen werden. Wegen der von Studie zu Studie variierenden Grenzen für die Zugehörigkeit zu einer Gruppe besteht bei letztgenanntem Verfahren ein Mangel an Vergleichbarkeit.

So zählen Wu et al. einen Patienten zur Gruppe der Ansprecher ab einer Verbesserung der BPRS von 50%, wohingegen Malhotra et al. bereits eine verbesserte BPRS von 20% als Ansprechen werteten (Wu et al., 2005; Malhotra et al., 1999).

In dieser Studie wurde daher wegen der besseren Vergleichbarkeit die prozentuale Verbesserung gemessen.

Der Einfluss verschiedener Polymorphismen im Bereich der DRD2 Genregion auf das Ansprechen von Neuroleptika beruht vermutlich auf einer genetisch bedingten geringeren DRD2 Dichte und daraus folgendem relativ stärkerem Antagonismus der Medikation. Thompson et al. wiesen in einer Studie eine verminderte Dopamin 2 Rezeptor Expression nach für Probanden mit einem oder zwei A1 Allelen am TaqIA Marker des DRD2 Gens gegenüber solchen Probanden, welche hier homozygot für den A2 Genotyp waren. Die verminderte Expression ließ sich vor allem im Striatum, Caudatum und Putamen detektieren (Thompson et al., 1997).

Die Mehrheit der publizierten Studien zur Assoziation des Ansprechens auf verschiedene Neuroleptikagabe bestehen für die Polymorphismen -141C Ins/Del und

TaqIA auf dem DRD2 Gen.

Bei Betrachtung der Studien zu -141C Ins/Del lässt sich erkennen, dass von 9 Studien drei keine signifikante Assoziation zeigten. Die Patienten dieser nicht signifikanten Studien (Shen et al., 2008; Xing et al., 2007; Arranz et al., 1998) wurden mit atypischen Neuroleptika behandelt. Bei den sechs signifikanten Studien (Lencz et al., 2006; Sakumoto et al., 2007; Yamanouchi et al., 2003; Suzuki et al., 2000; Wu et al., 2005; Malhotra et al., 1999) wurden in den Studien von Wu et al., Suzuki et al. und Sakumoto et al. die Patienten mit typischen Neuroleptika behandelt, allerdings wurde kein Haloperidol verwendet. Es ist vorstellbar, dass typische Neuroleptika für Assoziationsstudien mit Dopamin 2 Rezeptor Polymorphismen und Ansprechraten besser geeignet sind, da diese meist einen spezifischen Antagonismus an DRD2 aufweisen.

Bei den zehn Studien zu TaqIA wurde bei den vier nicht signifikanten Ergebnissen zweimal ein typisches (Wu et al., 2005; Suzuki et al., 2001), einmal ein atypisches (Xing et al., 2007) und einmal entweder ein typisches oder ein atypisches (Reynolds et al., 2004) Neuroleptikum gegeben. Bei den sechs Studien mit signifikanter Assoziation wurde dreimal ein atypisches (Kwon et al., 2008; Shen et al., 2008; Dahmen et al., 2001) und dreimal ein typisches (Suzuki et al., 2000; Sakumoto et al., 2007; Schäfer et al., 2001) Neuroleptikum gegeben. Bei diesem Marker wurde nur in der Studie von Schäfer et al. Haloperidol gegeben. Hier ist kein Zusammenhang zwischen Ergebnis und gegebenem konventionellen Neuroleptikum zu erkennen.

Da es in der Literatur nur wenige Studien zur genetischen Assoziation des DRD2 Gens zum Ansprechen auf Haloperidol gibt werden hier Assoziationsstudien herangezogen, welche mit anderen typischen Neuroleptika wie Bromperidol, einem Butyrophenon mit ähnlichem Rezeptorbindungsverhalten, durchgeführt wurden. Sakumoto et al. untersuchten den SNP -141C Ins/Del und TaqIA auf Ansprechverhalten auf Bromperidol und Nemonaprid (typisches Neuroleptikum). Es konnte bei TaqIA ein signifikanter Zusammenhang zum Ansprechen auf Bromperidol bei Patienten mit Allel AI gezeigt werden (Sakumoto et al., 2007).

Die Vermutung liegt nahe, dass die genetische Assoziation vor allem durch ein stark

DRD2 blockierendes Neuroleptikum beeinflusst wird. Dabei fällt auf, dass Aripiprazol, welches bei TaqIA zweimal eine signifikante Assoziation ergab, am Dopamin 2 Rezeptor eine partialagonistische Wirkung hat (Kwon et al., 2008; Shen et al., 2008). Hier wäre weitere Grundlagenforschung angebracht.

Auch die in Studien unterschiedlich verabreichten Dosen sind von Bedeutung. Suzuki et al. stellte zur Diskussion, ob durch zu hohe Konzentrationen des Antagonisten und dadurch zu starke Blockade des Dopamin 2 Rezeptors der Einfluss der Polymorphismen zunichte gemacht werden würde und somit keine Assoziation zu den genetischen Variationen erkennbar wäre (Suzuki et al., 2001).

In dieser vorliegenden Studie wurde die empfohlene Dosis von 3-15 mg/d eingehalten. Konkret waren es 11,0 +/- 6,2 mg/d, so dass hier von keiner Verzerrung der Ergebnisse durch eine zu starke Blockade der DRD2 Rezeptoren auszugehen ist.

Die ethnische Herkunft der Patienten spielt in der Assoziation zwischen genetischen Polymorphismen und Ansprechverhalten auf Neuroleptika eine große Rolle. Dies wird in zahlreichen Studien deutlich:

Hwang et al. untersuchten kaukasische und afroamerikanische Patienten hinsichtlich ihres Ansprechens auf Clozapin, signifikante Assoziation der Marker TaqIB und rs1125394 konnten dabei nur bei afroamerikanischen Patienten gezeigt werden (Hwang et al., 2006).

Vier Studien zum TaqIA Marker wurden mit japanischen, vier weitere mit Han-chinesischen und zwei mit kaukasischen Patienten durchgeführt. Die Studien mit kaukasischen Patienten zeigten eine signifikante Assoziation (Dahmen et al., 2001; Schäfer et al., 2001).

Die verwendeten Neuroleptika bei Studien zu TaqIA waren Risperidon, Chlorpromazin, Flupentixol, Amisulprid, Nemonaprid, Bromperidol und Aripiprazol. Nur in einer Studie wurde Haloperidol verwendet (Schäfer et al., 2001).

Hinsichtlich des Markers -141C Ins/Del wurden in drei Studien han-chinesische Probanden untersucht (Shen et al., 2008; Arranz et al., 1998; Xing et al., (2007)), welche alle keinen Zusammenhang zu verbessertem Ansprechen auf Neuroleptika

nachweisen konnten.

Die Studie von Arranz et al. untersuchte das Ansprechen auf Clozapin im Zusammenhang mit dem Marker -141C Ins/Del. Als Probanden standen eine Gruppe mit 146 Han-Chinesen und eine Gruppe mit 153 Probanden britischer Herkunft zur Verfügung. Da in dieser Studie bei beiden Gruppen keine Assoziation zum Ansprechen auf Clozapin gezeigt werden konnte, läßt sich auch kein ethnischer Einfluß erkennen (Arranz et al., 1998).

Drei Studien mit japanischen Patienten zeigten eine signifikante Assoziation auf das Ansprechverhalten auf Bromperidol/Nemonaprid, Risperidon bzw. Nemonaprid, aber ohne weitere Unterteilung zwischen Ethnien (Sakumoto et al., 2007; Yamanouchi et al., 2003; Suzuki et al., 2000).

Die Studie von Lencz et al. zeigt gute Vergleichsmöglichkeiten der verschiedenen Ethnien. Es wurde das Ansprechverhalten von Clozapin im Zusammenhang mit dem Marker -141C Ins/Del untersucht. Das Kollektiv von 61 Patienten war eine sehr heterogene Gruppe, bestehend aus 41% Afroamerikanern, 28% Kaukasiern, 18% Hispanoamerikanern, 5% Asiaten und 8 % sonstigen Ethnien. Sie untersuchten die Gruppe auf Unterschiede untereinander und Unterschiede der Afroamerikaner zu anderen Ethnien. Dabei konnte zwar eine Assoziation zwischen -141C Ins/Del und Ansprechen auf Clozapin insgesamt gezeigt werden, aber kein unterschiedliches Ansprechverhalten bezüglich der ethnischen Herkunft (Lencz et al., 2006).

In der Studie von Zhang-Wong et al. (1998) hatten kaukasische männliche Probanden eine geringere Plasmakonzentration an Haloperidol als asiatische männliche Probanden. Dies könnte enzymatische Ursachen haben und eine Erklärung für die signifikanten Ergebnisse bei Studien mit asiatischen Patienten sein (Yamanouchi et al., 2003; Suzuki et al., 2000; Wu et al., 2005; Sakumoto et al., 2007; Shen et al., 2008; Kwon et al., 2008).

Nicht zuletzt wegen unterschiedlicher Verstoffwechslung einzelner Neuroleptika ist die Frage der Unterteilung in verschiedene Ethnien von Bedeutung. Die Unterschiede der Gene auf metabolischer Ebene sind vermutlich ebenso von Wichtigkeit wie die Gene der Neurotransmitter, welche hier untersucht wurden. So müssten auch

Polymorphismen der metabolischen Gene statistisch erfasst werden. Saito et al. berichteten von Einflüssen des CYP2D6 Gens, welches vor allem für die Metabolisierung antidepressiver und neuroleptischer Medikation zuständig ist. So sind bei Probanden mit mutiertem CYP2D6 Allel höhere Plasmaspiegel an Haloperidol nachzuweisen als bei Patienten ohne Mutation (Saito et al., 2005). Auch Bradford berichtete von der unterschiedlichen Mutation des Allels je nach Herkunft mit vermehrten funktionsfähigen Allelen bei Kaukasiern (Bradford, 2002).

Da Haloperidol und andere Neuroleptika durch dieses Enzym abgebaut werden (Karow, 2009), welches offenbar große interethnische Varianz aufweist, ist davon auszugehen, dass das Ansprechen auf Haloperidol immer auch mit diesem Enzym assoziiert ist. Unabhängig von ethnischen Unterschieden bei diesem Enzym sind auch in derselben ethnischen Gruppe verschiedene Allele dieses Gens vorhanden und haben Einfluss auf die Wirkung eines Medikamentes.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass in künftigen Untersuchungen zum einen weitere Ethnien einbezogen werden sollten, und zum anderen die Ergebnisse mit dem Gen für CYP2D6 korreliert werden sollten.

In dieser Studie wurden Patienten mit vier verschiedenen psychotischen Erkrankungen aufgenommen: Der Anteil der Patienten mit Schizophrenie betrug 45,6%, mit akuter Psychose 31,6%, mit durch Substanzen induzierte Psychose 14,0% und mit schizoaffektiver Störung 8,8%. Die Verteilung dieser Psychosen hat vermutlich großen Einfluss auf das Ergebnis der Studie, da davon auszugehen ist, dass das Ansprechen auf ein Neuroleptikum bei unterschiedlichen Störungen variabel ausfällt. So ist es wahrscheinlich, dass Patienten mit durch Substanzen induzierter Psychose ein schlechteres Ansprechen aufweisen, da bei diesen Patienten oft bereits durch Induktion verschiedener Enzyme der Plasmaspiegel vieler Medikamente niedriger ist als bei Patienten ohne jegliche Medikamenteneinnahme.

Es untersuchten beispielsweise Sakumoto et al. nur Patienten, welche an einer akut exazerbierten Schizophrenie litten (Sakumoto et al., 2007). Shen et al. beschränkten sich in ihren Studien ebenfalls nur auf Patienten mit akuter Schizophrenie (Shen et al., 2008). Yamanouchi et al. untersuchten ein Kollektiv, welches aus Patienten mit

Schizophrenie und mit schizophrener Störung bestand. Durch verschiedene Verteilung dieser Psychosen bzw. Aufnahmekriterien für eine Studie ist nicht zwingend eine allgemeingültigen Aussage zu erwarten (Yamanouchi et al., 2003).

Das Alter und die Geschlechterverteilung spielen ebenfalls eine Rolle bei genetischen Assoziationsstudien. In dieser Studie lag das Alter im Durchschnitt bei 33,8 Jahren, die Geschlechter waren gleichmäßig auf die Genotypen verteilt. Usall et al. zeigten das unterschiedliche Ansprechen zwischen den Geschlechtern, mit schlechterem Ansprechen bei Männern (Usall et al., 2007). Eine gleichmäßige Geschlechterverteilung könnte bei besserem Ansprechen von Frauen das Ergebnis verzerren, eine reine Frauen- bzw. Männerstudie dürfte ein genaueres Resultat zeigen.

Das Durchschnittsalter der Studien zu Response auf den Markern -141C Ins/Del und TaqIA lag zwischen 24 und 42,5 Jahren.

Nach aktuellem Wissensstand ist die Schizophrenie polygen vererbt, wobei es nicht möglich ist ein einzelnes verantwortliches Gen zu benennen. Daher ist auch bei exakt standardisiert durchgeführten Studien zu erwarten, dass bestimmte SNPs teilweise signifikant sind und teilweise nicht. So sind vermutlich je nach Patient verschiedene Gene für die Pathogenese entscheidend, was sich auf die Signifikanz der SNPs in einem Kollektiv auswirkt.

Es gilt festzustellen, dass es bereits zahlreiche Untersuchungen zur Assoziation zwischen dem Ansprechverhalten auf Neuroleptika und Polymorphismen auf dem Dopamin 2 Rezeptor Gen gibt, welche sich vor allem auf folgende Marker beziehen: TaqIA, TaqIB, C957T, -141C Ins/Del, A-241G und Ser311Cys (rs1800496) (Monakhov et al., 2008; Dubertret et al., 2004; Jönsson et al., 1999; Lafuente et al., 2008). Hervorzuheben sind wegen der Häufigkeit der Studien TaqIA und -141C Ins/Del. Speziell TaqIA ist auch deshalb erwähnenswert, weil dieser im Falle einer Mutation einen Aminosäureaustausch von Glutamin zu Lysin auf Exon 8 im ANKK1 Gen zur Folge hat.

Zusammenfassend konnten für Polymorphismen im DRD2 Gen und dem Ansprechen

auf Neuroleptika eine Reihe von signifikanten Assoziationen gefunden werden. So konnte für die atypischen Neuroleptika Aripiprazol (Asiaten), Risperidon, Olanzapin und Clozapin (heterogene Ethnien), Flupentixol und Amisulprid (Kaukasier), eine Assoziation zu SNPs im DRD2 Gen nachgewiesen werden und für die typischen Neuroleptika Nemonaprid und Bromperidol (Japaner), Chlorpromazin (Chinesen) und Haloperidol (Kaukasier) eine signifikante Assoziation zu SNPs im DRD2 Gen (Tab. 29 und 30).

Tabelle 29: Studien zu TaqIA

Studie	Allel mit besserer Response	Neuroleptikum	Herkunft
Kwon et al. (2008)	A1	Aripiprazol	Asiaten
Shen et al. (2008)	A1	Aripiprazol	Han Chinesen
Suzuki et al. (2000)	A1	Nemonaprid 18mg/d	Japaner
Suzuki et al. (2001)	Keine Assoziation	Bromperidol 6-18mg/d	Japaner
Sakumoto et al. (2007)	A1	Bromperidol (6-18mg/d) und Nemonaprid(18mg/d)	Japaner
Wu et al. (2005)	Keine Assoziation	Chlorpromazin(300-600mg/d)	Chinesen
Dahmen et al. (2001)	A1	Amisulprid oder Flupentixol	Kaukasier
Reynolds et al. (2004)	Keine Assoziation	Chlorpromazin oder Risperidon	Han Chinesen
Schäfer et al. (2001)	A1	Haloperidol	Kaukasier
Xing et al. (2007)	Keine Assoziation	Risperidon	Chinesen

Tabelle 30: Studien zu -141C Ins/Del (5' near gene)

Studie	Allel mit besserer Response	Neuroleptikum	Herkunft
Shen et al. (2008)	Keine Assoziation	Aripiprazol (19,5mg/d)	Han Chinesen
Sakumoto et al. (2007)	-141 C Ins/Ins	Bromperidol (6-18mg/d) und Nemonaprid (18mg/d)	Japaner
Lencz et al. (2006)	-141 C Ins/Ins	Olanzapin oder Risperidon	Heterogene Gruppe
Yamanouchi et al. (2003)	-141 C Ins/Del	Risperidon	Japaner
Suzuki et al. (2000)	-141 C Ins/Ins	Nemonaprid 18mg/d	Japaner
Wu et al. (2005)	-141 C Ins/Ins	Chlorpromazin (300-600mg/d)	Chinesen
Arranz et al. (1998)	Keine Assoziation	Clozapin	Briten und Han Chinesen
Malhotra et al. (1999)	-141 C Ins/Ins	Clozapin	Kaukasier
Xing et al. (2007)	Keine Assoziation	Risperidon	Han Chinesen

Für viele dieser Marker konnte bereits in Assoziationsstudien ein Zusammenhang zur Schizophrenie gezeigt werden (Dubertret et al., 2004), insbesondere für TaqIA, TaqIB, 141C Ins/Del und Ser311Cys.

Neville et al. entdeckten ein Gen, welches in direkter Nachbarschaft zum Dopamin 2 Rezeptor Gen liegt, das ANKK1 Gen. Dieser Marker liegt am 3'-Ende des DRD2 Gens (Neville et al., 2004). In diesem Bereich des DRD2 Gens liegen zahlreiche SNPs, sodass die Frage aufkommt, welche Bedeutung dieses Gen im Bezug auf Schizophrenie und letzten Endes auch auf das Ansprechen von Neuroleptika haben könnte.

Da der TaqIA Marker aber auf ANKK1 liegt, könnten die Assoziationsstudien über TaqIA hinsichtlich der Relevanz des ANKK1 Gens uminterpretiert werden (Shen et al., 2008; Sakumoto et al., 2007; Xing et al., 2004; Schäfer et al., 2001; Suzuki et al., 2000; Suzuki et al., 2001; Wu et al., 2005).

Der SNP TaqIA wurde auf die Assoziation zur Suchtmittelabhängigkeit (Li et al., 2004), Schizophrenie (Dubertret et al., 2004) und dem Ansprechverhalten auf Haloperidol (Schäfer et al., 2001) untersucht. Diese Assoziationen wurden teilweise bestätigt. Dies führte zur Annahme, dass dieser SNP Einfluss auf zerebrale Störungen haben könnte. TaqIA befindet sich auf dem Gen ANKK1, dessen Funktion bislang nicht bekannt ist.

Das Gen ANKK1 hat 8 Exons, misst 13 kb und kodiert 765 Aminosäuren. Es ist gegenläufig zum DRD2 Gen, von welchem es durch 9,4 kb getrennt wird. Der TaqIA Marker verursacht durch einen Wechsel von Cytosin zu Thymin einen Aminosäureaustausch von Glutamat zu Lysin. Der Wechsel von einer negativ auf eine positiv geladene Aminosäure könnte, wenn auch keinen direkten, so doch einen indirekten Einfluss auf das Ansprechen über z.B. Einfluß auf eine Signaltransduktion verursachen.

Neben Neville beschrieben auch Dubertret et al. dieses Gen bei einer Untersuchung des TaqIA Polymorphismus auf Assoziation zur Schizophrenie. Sie untersuchten 83 französische Probanden und 103 französische Patienten, welche nach DSM IV an Schizophrenie litten. Sie untersuchten zusätzlich zu TaqIA noch vier weitere Marker, welche allesamt auf DRD2 liegen (-141C Ins/Del, TaqIB, TaqID, Ser311Cys). In dieser Studie konnten signifikante Zusammenhänge mit Schizophrenie für TaqIA und TaqIB nachgewiesen werden (Dubertret et al., 2004).

PET Untersuchungen von Pohjalainen et al. zeigten durch Markierung mit C Racloprid eine verminderte D2 Rezeptordichte bei Probanden mit A1 Allel bei TaqIA im Striatum (Pohjalainen et al., 1998).

Fosella et al. untersuchten im Rahmen von Aufmerksamkeitsstudien das ANKK1 Gen. Dabei konnte kein Nachweis von ANKK1 im adulten Gehirn erbracht werden, obwohl

Dubertret et al. diesen Nachweis sowohl im fetalen als auch im adulten Gehirn führen konnten (Fosella et al., 2006; Dubertret et al., 2004).

McAllister et al. führten weitere Studien zum ANKK1 Gen. Es konnten Zusammenhänge zwischen dem TaqIA Marker und dem Lernerfolg und der kognitiven Verbesserung nach Hirnverletzungen nachgewiesen werden (McAllister et al., 2008).

Sequenzanalysen zeigten, dass ANKK1 den *Nuclear Factor* NF- κ B aktivierenden *receptor-interacting serine/threonine kinase* (RIPKs) zwar ähnelt, aber wahrscheinlich eine andere biologische Funktion hat. Eine Überexpression von ANKK1 führte aber zu einer Suppression des Transkriptionsfaktors NF- κ B. Da die DRD2 Expression durch NF- κ B induziert wird, ist es möglich, dass ANKK1 einen Einfluss auf die Dopamin 2 Rezeptor Expression hat (Huang et al., 2009; Bontempi et al., 2007).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Funktion von ANKK1 sowie der Zusammenhang zu DRD2 bislang unklar ist und künftig durch weitere Studien untersucht werden sollte.

In der vorliegenden Studie wurden die Marker rs17600713, rs2734849, rs2587550, rs1003641, rs1124492, rs2002453 und rs7117915 erstmals auf ihre Assoziation mit Ansprechverhalten auf Neuroleptika untersucht.

Der Polymorphismus rs2734849 auf Exon 8 des ANKK1 Gens zeigte keine Assoziation auf das Ansprechverhalten auf Haloperidol. Es konnte aber eine signifikante Verbesserung der Symptomatik zwischen Baseline und Tag 7 bei PANSS positiv der Genotypverteilung gezeigt werden. Bei diesem Polymorphismus ist es wichtig zu erwähnen, dass durch den Tausch von Cytosin zu Thymin ein Aminosäureaustausch von Arginin zu Histidin zustande kommt.

Dieser SNP wurde von Dick et al. auf seine Assoziation zu Alkoholabhängigkeit untersucht. Es wurden 10 SNPs auf ANKK1 und 16 auf DRD2 untersucht, signifikante Assoziationen zu Alkoholabhängigkeit mit Persönlichkeitsstörung fanden sich auf ANKK1, unter anderem auf rs2734849. Hierbei wurde ein signifikanter Zusammenhang zu Alkoholabhängigkeit und medizinischen Komplikationen (Summe: $p = 0,02$, Durchschnitt: $p = 0,03$) sowie eine Assoziation zu Alkoholabhängigkeit mit komorbiden Persönlichkeitsstörungen (Summe: $p = 0,04$) beobachtet (Dick et al., 2007).

Auch von Huang et al. wurde der Marker rs2734849 untersucht. In der Studie wurde die genetische Assoziation von Polymorphismen zu Nikotinabhängigkeit gezeigt. Auch hier wurden zahlreiche SNPs auf der Genregion (16 DRD2 und 7 ANKK1) untersucht, wobei wiederum rs2734849 signifikante Ergebnisse zeigte. Diese waren vor allem in der afroamerikanischen und in der gepoolten Gruppe signifikant, nicht aber in der europäischen Gruppe (Huang et al., 2007).

Auch der Marker rs17600713 zeigte bei der Genotypverteilung bei PANSS positiv eine knappe Signifikanz bezüglich der Verbesserung von Baseline zu Tag 7. Dieser Marker liegt auf ANKK1 Gen, was eine Bedeutung dieses Gens für das Ansprechen auf Haloperidol zeigen könnte.

Der Marker rs1003641 in der 3'-Genregion des DRD2 Gens zeigte keine Assoziation zum Ansprechverhalten auf Haloperidol. Hier war das Allel A seltener als das Allel G. Dieser SNP liegt zwischen den Genen DRD2 und ANKK1, weshalb hier keine direkte funktionelle Auswirkung zu erwarten ist.

Der Polymorphismus rs1124492 auf Intron 7 des DRD2 Gens zeigte bei der Genotypverteilung in allen drei Skalen der PANSS eine signifikante Verbesserung der Symptomatik als auch ein schnelleres Ansprechen auf die Behandlung mit Haloperidol bei Patienten mit den Genotypen AA und GG, während die heterozygoten AG-Träger sowohl am langsamsten als auch insgesamt am wenigsten auf Haloperidol ansprachen.

Der Marker rs2002453 des Dopamin2 Rezeptor Gens zeigte bei PANSS negativ und PANSS gesamt in der Genotypverteilung ein signifikant besseres Ansprechen für Patienten mit Genotyp CC. Bei der Allelverteilung konnte dieses Ergebnis bestätigt werden durch Signifikanz für negative und gesamte PANSS bei Allel C. Bei der positiven PANSS konnte ein Trend für das Allel C gezeigt werden. Dieser SNP liegt auf Intron 2.

Das Kollektiv bestand aus 87 Patienten, eine größere Anzahl wäre wünschenswert.

Die Haplotyporganisation stellt eine weitere Möglichkeit dar, genetische

Untersuchungen für Assoziation mit Schizophrenie oder Ansprechverhalten auf Neuroleptika durchzuführen. Dubertret et al. untersuchten fünf Polymorphismen auf dieser Genregion und entdeckten 37 Haplotypen. Bei einem Haplotypen (Ins-B2-CA2-S311-A2) konnten sie einen Zusammenhang mit besserem Ansprechen auf das Neuroleptikum Haloperidol zeigen (Dubertret et al., 2004). Es ist allerdings auch denkbar, dass viele der in Studien gezeigten Marker nicht die entscheidende genetische Prädisposition für Schizophrenie bzw. besseres Ansprechen darstellen, sondern dass diese lediglich auf dem entscheidenden Haplotypblock der Genregion liegen.

Um zu klären, ob es einen Haplotypblock gibt, der das DRD2 Gen mit dem ANKK1 Gen verbindet und so einen Hinweis auf funktionelle Relevanz des ANKK1 Gens liefern könnte, wurde auf 2 Datenbanken zurückgegriffen, mit deren Hilfe sich LD-Blockstrukturen anzeigen lassen.

Zum einen wurden die Region auf der Grundlage des HAPMAP Projekts analysiert. Verwendet wurde dazu das Release vom November 2008 (NCBI Build 36). Die Grundlage für die Berechnung des Haplotyps bilden hier 171 an 30 Trios validierte SNPs.

Eine zweite Datenbank, die SNPlex Genotyping Systems (Applied Biosystems, Foster City, USA) beinhaltet in dieser Region 19 SNPs.

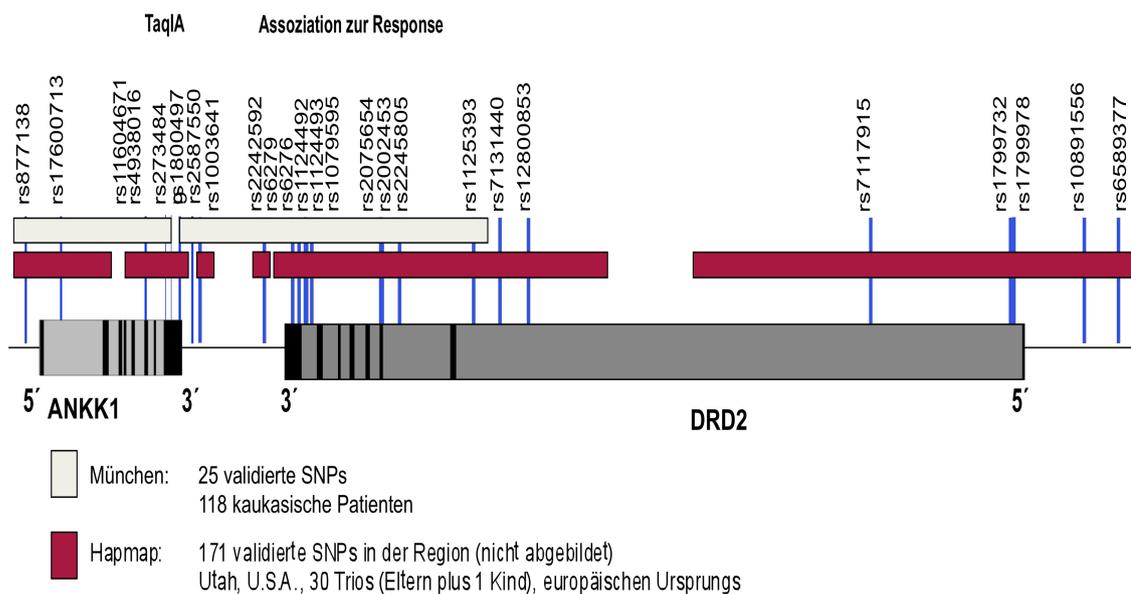


Abbildung 23: verschiedene Haplotypblöcke auf DRD2 Genregion

Bei einer graphischen Zusammenstellung der LD-Blöcke aus den beiden Quellen (Abb. 23) lässt sich ablesen, dass die LD-Blockstruktur um den TaqIA-SNP nicht eindeutig ist. Innerhalb der hier untersuchten Stichprobe zeigte der SNP eher eine Zugehörigkeit zum DRD2 Gen, während unter Berücksichtigung der Daten aus Hapmap eine Überlappung der Blöcke nicht ausgeschlossen werden kann.

Die Frage, ob Assoziationen zwischen Ansprechverhalten von Haloperidol und dem TaqIA Polymorphismus auf das ANKK1, das DRD2 oder beide Gene zurückzuführen sind, lässt sich bei der aktuellen Datenlage nicht eindeutig beantworten.

In dieser Studie konnte neben rs1124492 bei einem weiteren Polymorphismus eine Signifikanz aufgezeigt werden. Der Marker rs2002453 liegt auf dem Intron 2 des DRD2 Gens. Es ist unklar, wie dieser SNP auf das Ansprechen von Haloperidol eingreift. Offenbar existiert ein noch unbekannter Mechanismus, der entweder das Dopamin Gen direkt oder auch nur indirekt beeinflusst. Über diesen Polymorphismus ist in der Literatur nichts bekannt. Hier könnten weitere Forschungen zur Evaluierung der genetischen Assoziation von Schizophrenie und der Ansprechrate von Neuroleptika ansetzen.

Da es nach wie vor unklar ist, welche Rolle die Variationen in Introns für das Ansprechen auf Haloperidol spielen bzw. wie sie ihren Einfluß ausüben, bedürften auch diese ersten Resultate weiterer Untersuchungen.

Zusätzlich sollten verschiedene Ethnien in die Studie miteinbezogen werden und eine Beschränkung auf die Erkrankung Schizophrenie erfolgen, um eine höhere Sicherheit der Aussagen zu erreichen.

In der Psychiatrie gibt es bei der Beurteilung der Effektivität der Medikation erhebliche Defizite, gerade auch bei Haloperidol. Es ist ein hochpotentes Neuroleptikum mit häufig starken Nebenwirkungen, deren Auftreten sich aber nicht vorhersagen lässt. Mit der Erstellung eines genetischen Profils, welches Hinweise auf die Wahrscheinlichkeit des Auftretens dieser Nebenwirkungen sowie die Wahrscheinlichkeit einer Response auf das Neuroleptikum liefern könnte, ließe sich die Einstellung der Medikation wesentlich erleichtern

6 Zusammenfassung

Haloperidol ist ein in der Psychiatrie häufig verwendetes Neuroleptikum mit einem ausgeprägtem Nebenwirkungsprofil.

In zahlreichen Arbeiten konnte gezeigt werden, dass nicht nur Schizophrenie eine genetische Prädisposition aufweist, sondern dass auch das Ansprechverhalten auf Neuroleptika genetisch mitbedingt ist.

Die auf den hierin vermutlich involvierten Genen DRD2 und ANKK1 liegenden 7 Polymorphismen (rs17600713, rs2734849, rs2587550, rs1003641, rs1124492, rs2002453 und rs7117915) wurden in der vorliegenden Arbeit auf ihre Assoziation zum Ansprechen auf Haloperidol bei psychotischen Patienten untersucht. Das Ansprechen wurde durch die PANSS objektiviert.

Für die beiden Polymorphismen rs2002453 (Intron 2 des DRD2-Gens) und rs1124492 (Intron 7 des DRD2-Gens) konnte ein signifikanter Zusammenhang mit der Response auf Haloperidol detektiert werden.

Bei dem Polymorphismus auf rs2002453 konnte auf der negativen und auf der gesamten Skala der PANSS für den Genotypen CC eine signifikante Verbesserung der Symptomatik gezeigt werden. Bei diesem Marker konnte auch bei der Allelverteilung auf der negativen und der gesamten Skala von PANSS eine signifikante Verbesserung der Symptomatik der Patienten mit dem Allel C nachgewiesen werden. Auf der positiven Skala konnte ein Trend für stärkeres Ansprechen der Patienten mit Allel C gezeigt werden.

Der Marker rs1124492 zeigte in allen 3 Kategorien der PANSS bei der Genotypverteilung signifikant deutliche Verbesserung der Symptomatik bei Patienten mit Genotyp AA und GG. Die Patienten mit Genotyp AG zeigten die langsamste und die schlechteste Verbesserung der Symptomatik.

Die Hypothese, dass Polymorphismen in dem Gen des Dopamin 2 Rezeptors eine Assoziation zum Ansprechen von Haloperidol bei psychotischen Patienten aufweisen,

kann in Bezug auf die Polymorphismen rs2002453 und rs1124492 bestätigt werden. Alle weiteren SNPs zeigten in keiner der untersuchten Skalen eine Assoziation auf das Ansprechverhalten auf Haloperidol. Damit konnten lediglich eine signifikante Assoziationen mit Polymorphismen des DRD2 Gens gezeigt werden. Allerdings konnte bei zwei Markern auf dem ANKK1 Gen (rs17600713 und rs2734849) eine signifikante Verbesserung der Symptomatik bei PANSS positiv der Genotypverteilung von der Baseline zu Tag 7 gezeigt werden. Auch wenn bei beiden Markern lediglich die Verbesserung von Baseline zu Tag 7 Signifikanz zeigte sind dies durchaus Hinweise darauf, dass das ANKK1 Gen ebenfalls Einfluß auf das Ansprechen auf Haloperidol hat. Gegen einen Einfluss des ANKK1 Gens spricht allerdings die in dieser Stichprobe vorhandene Haplotypstruktur die auf eine Trennung zwischen dem DRD2 Gen und den funktionell relevanten Bereichen des ANKK1 Gens hinweist. Um diese Ergebnisse weiter zu bekräftigen sollten weitere Studien angefügt werden.

7 Abkürzungsverzeichnis

AIMS = Assessment of Involuntary Movement Scale
AV-Block = Atrioventrikulärer Block
BAS = Barat Akathisie Scale
BPRS = Brief Psychiatric Rating Scale
cAMP = zyklisches Adenosinmonophosphat
CGI = Clinical Global Impressions
CYP3A4 = Cytochrom P450 3A4
DGPPN= Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie, Psychotherapie und Nervenheilkunde
EPMS = Extrapiramidalmotorische Störungen
FRET = Fluorescence Resonance Energy Transfer
HERG-Kanal = Human Ether-a-go-go Related Gene-Kanal
ICD = International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems
LSD = Lsyergsäurediethylamid
Min = Minuten
MEDLINE = Medizinische Literaturdatenbank
MRI = Magnet Resonance Imaging
NF- κ B = Nuclear Factor κ B
NMDA = N-Methyl-D-Aspartat
PANSS = Positive and Negative Symptome Scale
PET = Positronen-Emissions-Tomographie
PsychLIT = Psychologische Literaturdatenbank
RFLP = Restriktions Fragment Längen Polymorphismus
RIPK = receptor-interacting serine/threonine kinase
SAS = Simpson Angus Scale
Sec = Sekunden
SNP = Single Nucleotide Polymorphism
UKU = Udvalg for Kliniske Undersogelser (Side Effect Rating Scale)
VNTR = Variable number tandem repeats

8 Literaturverzeichnis

Abi-Dargham A, Gil R, Krystal J, Baldwin R, Seibyl J, Bowers M, Van Dyck C, Charney D, Innis R and Laruelle M, (1998), Increased Striatal Dopamine Transmission in Schizophrenia: Confirmation in a Second Cohort. *Am J Psychiatry* 155: 761–767.

Adler CM, Malhotra AK, Elman I, Goldberg T, Egan M, Pickar D, Breier A, (1999), Comparison of ketamine-induced thought disorder in healthy volunteers and thought disorder in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 156(10):1646-9.

Adler G., (2003), Psychopharmakotherapie im höheren Lebensalter. *Der Internist* 44(8): 936-942.

Aleman A, Kahn R and Selten J, (2003), Sex differences in the risk of schizophrenia: evidence from meta-analysis. *Archives of General Psychiatry* 60: 565-571.

Anttila S, Kampman O, Illi A, Rontu R, Lehtimäki T and Leinonen E, (2007), Association between 5-HT_{2A}, TPH1 and GNB3 genotypes and response to typical neuroleptics: a serotonergic approach. *BMC Psychiatry* 7:22.

Arinami T, Gao M, Hamaguchi H and Toru M, (1997), A functional polymorphism in the promoter region of the dopamine D2 receptor gene is associated with schizophrenia. *Hum Mol Genet* 6(4): 577-582.

Arranz M, Li T, Munro J, Liu X, Murray R, Collier D and Kerwin R, (1998), Lack of association between a polymorphism in the promoter region of the dopamine-2 receptor gene and clozapine response. *Pharmacogenetics* 8: 481-484.

Auerbach JG, Benjamin J, Faroy M, Geller V and Ebstein R, (2001), DRD4 related to infant attention and information processing: a developmental link to ADHD? *Psychiatr Genet* 11(1): 31-5.

Baaré W, Hulshoff H, Hijman R, Mali W, Viergever M, and Kahn R, (1999), Volumetric Analysis of Frontal Lobe Regions in Schizophrenia: Relation to Cognitive Function and Symptomatology. *Biol Psychiatry* 45: 1597–1605.

Baaré W, Van Oel C, Hulshoff H, Schnack H, Durston S, Sitskoorn M, Kahn R, (2001), Volumes of Brain Structures in Twins Discordant for Schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 58: 33-40.

Bangen H, (1992), *Geschichte der medikamentösen Therapie der Schizophrenie*. Verlag für Wissenschaft und Bildung Berlin, ISBN 3-927408-82-4.

Barnes T, (1989), A rating scale for drug-induced akathisia. *Br J Psychiatry* 154: 672-676.

Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ, (2005), Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics* 21(2): 263-265.

Beaulieu JM, Sotnikova T, Yao WD, Kockeritz L, Woodgett JR, Gainetdinov R and Caron M, (2004), Lithium antagonizes dopamine-dependent behaviors mediated by an AKT/glycogen synthase kinase 3 signaling cascade. *PNAS* 101: 5099-5104.

Beasley CM, Tollefson G, Tran P, Satterlee W, Sanger T and Hamilton S, (1996), Olanzapine versus placebo and haloperidol: acute phase results of the North American double-blind olanzapine trial. *Neuropsychopharmacology* 14(2): 111-23.

Benes FM, Berretta S, (2000), Amygdalo-entorhinal inputs to the hippocampal formation in relation to schizophrenia. *Ann N Y Acad Sci* 911: 293-304.

Blum K, Noble EP, Sheridan PJ, Montgemery A, Ritchie T, Jagadeeswaran P, Nogami H, Briggs AH and Cohn JB, (1990), Allelic association of human dopamine D2 receptor gene in alcoholism. *Jama* 263: 2055.

Bontempi S, Fiorentini C, Busi C, Guerra N, Spano PF and Missale C, (2007), Identification and Characterization of Two Nuclear Factor- κ B Sites in the Regulatory Region of the Dopamine D2 Receptor. *Endocrinology* 148(5): 2563–2570.

Bogerts B, (1999), The neuropathology of schizophrenic diseases: historical aspects and present knowledge. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 249 : Suppl. 4 IV/2–IV/13.

Bradford LD, (2002), CYP2D6 allele frequency in European Caucasians, Asians, Africans and their descendants. *Pharmacogenomics* 3(2): 229-243.

Brämer GR, (1988), International statistical classification of diseases and related health problems. Tenth revision. *World Health Statistics Quarterly. Rapport Trimestriel de Statistiques Sanitaires Mondiales*, 41(1): 32-36.

Braus, DF, (2005), In Braus DF, (eds.) *Schizophrenie*. Schattauer Verlag GmbH, Stuttgart ISBN-10: 3-7945-2316-4.

Brown AS, Susser ES, Butler PD, Andrews RR, Kaufmann CA and Gorman JM, (1996), Neurobiological plausibility of prenatal nutritional deprivation as a risk factor for schizophrenia. *J Nerv Ment Dis* 184(2): 71-85.

Brown AS, Schaefer CA, Wyatt RJ, Goetz R, Begg MD, Gorman JM, Susser ES, (2000), Maternal exposure to respiratory infections and adult schizophrenia spectrum disorders: a prospective birth cohort study. *Schizophr Bull* 26(2): 287-295.

Burgis E, (2008), *Intensivkurs Allgemeine und Spezielle Pharmakologie*, 4. Auflage, Elsevier Verlag, Urban & Fischer, München, Jena p. 319-329, ISBN 978-3-437-42613-1.

Burton S, (2006), Symptom domains of schizophrenia: the role of atypical antipsychotic agents *Journal of Psychopharmacology*, 20(6) Supplement 6–19.

Cannon M, Jones PB and Murray RM, (2002), Obstetric complications and schizophrenia: historical and meta-analytic review. *Am J Psychiatry* 159(7): 1080-1092.

Cantor-Graae E and Selten JP, (2005), Schizophrenia and migration: a meta-analysis and review. *Am J Psychiatry* 162(1):12-24.

Cardno AG, Marshall EJ, Coid B, Macdonald AM, Ribchester TR et al., (1999), Heritability estimates for psychotic disorders: the Maudsley twin psychosis series. *Archives of General Psychiatry* 56, 162-168.

Carlsson A and Lindqvist M, (1963), Effect of chlorpromazine or haloperidol on formation of 3-methoxytyramine and normetanephrine in mouse brain. *Acta Pharmacol Toxicol* 20:140-144.

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

Carlsson M and A, (1990), Schizophrenia: A Subcortical Neurotransmitter Imbalance Syndrome? *Schizophrenia Bulletin* 16(3): 425-432.

Chakos M, Lieberman J, Hoffman E, Bradford D and Sheitman B, (2001) Effectiveness of Second-Generation Antipsychotics in Patients With Treatment-Resistant Schizophrenia: A Review and Meta-Analysis of Randomized Trials. *Am J Psychiatry* 158: 518–526.

Chouinard G and Ross-Chouinard A, (1979), Manual: Extrapyramidal Symptom Rating Scale (ESRS). Montreal: Department of Psychiatry, McGill University.

Chumakov I, Blumenfeld M, Guerassimenko O, Cavarec L, Palicio M, Abderrahim H, Bougueleret L, Barry C, Tanaka H, La Rosa P, Puech A, Tahri N, Cohen-Akenine A, Delabrosse S, Lissarrague S, Picard FP, Maurice K, Essioux L, Millasseau P, Grel P,

Debailleul V, Simon AM, Caterina D, Dufaure I, Malekzadeh K, Belova M, Luan JJ, Bouillot M, Sambucy JL, Primas G, Saumier M, Boubkiri N, Martin-Saumier S, Nasroune M, Peixoto H, Delaye A, Pinchot V, Bastucci M, Guillou S, Chevillon M, Sainz-Fuertes R, Meguenni S, Aurich-Costa J, Cherif D, Gimalac A, Van Duijn C, Gauvreau D, Ouellette G, Fortier I, Raelson J, Sherbatich T, Riazanskaia N, Rogaev E, Raeymaekers P, Aerssens J, Konings F, Luyten W, Macciardi F, Sham PC, Straub RE, Weinberger DR, Cohen N and Cohen D, (2002), Genetic and physiological data implicating the new human gene G72 and the gene for D-amino acid oxidase in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99(21): 13675-13680.

Comings DE, Comings BG, Muhleman D, Dietz G, Shahbahrani B, Tast D, Knell E, Kocsis P, Baumgarten R and Kovacs BW, (1991), The dopamine D2 receptor locus as a modifying gene in neuropsychiatric disorders. *JAMA* 266(13): 1793-1800.

Cordeiro Q, Miguita K, Miracca E, Elkis H and Vallada H, (2006), Investigation of possible association between Ser9Gly polymorphism of the D3 dopaminergic receptor gene and response to typical antipsychotics in patients with schizophrenia. *Sao Paulo Med J* 124(3):165-7.

Dahmen N, Muller MJ, Germeyer S et al., (2001), Genetic polymorphisms of the dopamine D2 and D3 receptor and neuroleptic drug effects in schizophrenic patients. *Schizophr Res* 49: 223–225.

Dalman C, Allebeck P, Cullberg J, Grunewald C and Köster M, (1999), Obstetric complications and the risk of schizophrenia: a longitudinal study of a national birth cohort. *Arch Gen Psychiatry* 56(3): 234-40.

Davis JM, Chen N, Glick ID, (2003), A Meta-analysis of the Efficacy of Second-Generation Antipsychotics. *Arch Gen Psychiatry* 60: 553-564.

Davis KL, Kahn RS, Ko G and Davidson M, (1991), Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *Am J Psychiatry* 148: 1474–1486.

Degenhardt L, Hall W, (2006), Is cannabis use a contributory cause of psychosis? Canadian Journal of Psychiatry 51(9): 556-565.

Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie, Psychotherapie und Nervenheilkunde (DGPPN) (Hrsg.) 2006, Behandlungsleitlinie Schizophrenie Reihe: S3 Praxisleitlinien in Psychiatrie und Psychotherapie, Band 1, XVI, 288 S. 14, ISBN: 978-3-7985-1493-5.

Dick D, Wang JC, Plunkett J, Aliev F, Hinrichs A, Bertelsen S, Budde JP, Goldstein EL, Kaplan D, Edenberg HJ, Nurnberger J, Hesselbrock V, Schuckit M, Kuperman S, Tischfield J, Porjesz B, Begleiter H, Bierut LJ and Goate A, (2007), Family-Based Association Analyses of Alcohol Dependence Phenotypes Across DRD2 and Neighboring Gene ANKK1. Alcoholism: Clinical and Experimental Research 10(31).

Dolžan V, Serretti A, Mandelli L, Koprivšek J, Kastelic M and Plesničar BK, (2008), Acute antipsychotic efficacy and side effects in schizophrenia: Association with serotonin transporter promoter genotypes. Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry 32: 1562–1566.

Dubertret C, Gouya L, Hanoun N, Deybach JC, Adès J, Hamon M, Gorwood P, (2004), The 3' region of the DRD2 gene is involved in genetic susceptibility to schizophrenia. Schizophr Res 67(1): 75-85.

Eaton WW, (1974), Residence, social class and schizophrenia. Journal of Health and Social Behavior 15: 289-299.

Eaton WW, Mortensen PB and Frydenberg M, (2000), Obstetric factors, urbanization and psychosis. Schizophrenia Research 43: 117-123.

Egan MF, Weinberger DR, (1997), Neurobiology of schizophrenia. Curr Opin Neurobiol 7(5): 701-7.

Elder AD, Domin A, Kaminski Schierle GS, Lindon C, Pines J, Esposito A and Kaminski CF, (2009), A quantitative protocol for dynamic measurements of protein interactions by Förster resonance energy transfer-sensitized fluorescence emission. *J. R. Soc. Interface* 6: 59–81.

Emsley RA, Roberts MC, Rataemane S, Pretorius J, Oosthuizen PP, Turner J, Niehaus DJ, Keyter N and Stein DJ, (2002), Ethnicity and treatment response in schizophrenia: a comparison of 3 ethnic groups. *J Clin Psychiatry* 63(1): 9-14.

Estler CJ and Schmidt H (eds), (2006), *Pharmakologie und Toxikologie, Für Studium und Praxis*, 6. Auflage, ISBN: 978-3-7945-2295-8.

Farde L, Nordström AL, Wiesel FA, Pauli S, Halldin C and Sedvall G, (1992), Positron emission tomographic analysis of central D1 and D2 dopamine receptor occupancy in patients treated with classical neuroleptics and clozapine. Relation to extrapyramidal side effects. *Arch Gen Psychiatry* 49(7): 538-544.

Fenton W, (2000), Evolving Perspectives on Individual Psychotherapy for Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 26(1): 47-72.

Fenton WS and McGlashan TH, (1991), Natural history of schizophrenia subtypes. II. Positive and negative symptoms and long-term course. *Arch Gen Psychiatry* 48(11): 978-986.

Fosella J, Green AE and Fan J, (2006), Evaluation of a structural polymorphism in the ankyrin repeat and kinase domain containing 1 (ANKK1) gene and the activation of executive attention networks. *Cogn Affect Behav Neurosci* 6(1): 71-78.

Förster T, (2006) Zwischenmolekulare Energiewanderung und Fluoreszenz. *Annalen der Physik* 437(1-2): 55-75.

Freudenberg J, Cichon S, Nöthen MM, Propping P, (2002), Blockstruktur des

menschlichen Genoms: Ein Organisationsprinzip der genetischen Variabilität. Dtsch Arztebl 99(47): 3190-3195.

Friedrich O, (2006), Der Dopamin D2 Rezeptorgen in der Schizophrenie. Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades der Humanmedizin an der Medizinischen Fakultät der Ludwigs-Maximilians-Universität München.

Geddes J, Freemantle N, Harrison P and Bebbington P, (2000), Atypical antipsychotics in the treatment of schizophrenia: systematic overview and meta-regression analysis. BMJ 321(7273): 1371-1376.

Gelbe Liste, (2010), Mmi Pharmindex, Gelbe Liste (3), Medizinische Medien Informations GmbH, Neu-Isenburg.

Gelernter J, Yu Y, Weiss R, Brady K, Panhuysen C, Yang BZ, Kranzler HR and Farrer L, (2006), Haplotype spanning TTC12 and ANKK1, flanked by the DRD2 and NCAM1 loci, is strongly associated to nicotine dependence in two distinct American populations. Human Molecular Genetics 15 (24): 3498–3507.

Gilvarry CM, Sham PC, Jones PB, Cannon M, Wright P, Lewis SW, Bebbington P, Toone BK and Murray RM, (1996), Family history of autoimmune diseases in psychosis. Schizophr Res 19(1): 33-40.

Gleixner, Müller and Wirth, (2005), Neurologie und Psychiatrie, Für Studium und Praxis, 5.Auflage, Medizinische Verlags- und Informationsdienste, Breisach, ISBN 3-929851-54-7, Seite 300-326.

Gottesman II, McGuffin P and Farmer AE, (1987), Clinical genetics as clues to the "real" genetics of schizophrenia (a decade of modest gains while playing for time). Schizophrenia Bulletin 13: 23-47.

Gourion D, Gourevitch R, Leprovost JB, Olié H, lôo JP and Krebs MO, (2004),

Neurodevelopmental hypothesis in schizophrenia. *Encephale* 30(2): 109-118.

Grandy DK, Zhang Y and Civelli O, (1993), PCR detection of the TaqA RFLP at the DRD2 locus. *Hum Mol Genet* 2: 2197.

Gründer G, Carlsson A, Wong DF, (2003), Mechanism of new antipsychotic medications: occupancy is not just antagonism. *Arch Gen Psychiatry* 60(10): 974-977.

Gründer G, Vernaleken I, Benkert O, (2001), Welche Eigenschaften machen ein Neuroleptikum „atypisch“? *Nervenarzt* 72: 833–843.

Gründer G, Vernaleken I, Müller MJ, Davids E, Heydari N, Buchholz HG, Bartenstein P, Munk OL, Stoeter P, Wong DF, Gjedde A and Cumming P, (2003), Subchronic haloperidol downregulates dopamine synthesis capacity in the brain of schizophrenic patients in vivo. *Neuropsychopharmacology* 28(4): 787-794.

Haleem DJ, Batool F, Khan NH, Kamil N, Ali O, Saify ZS and Haleem MA, (2002), Differences in the effects of haloperidol and clozapine on brain serotonin and dopamine metabolism and on tests related to extrapyramidal functions in rats. *Medical Science Monitor* 8(9): 354-361.

Häfner H, an der Heiden W, (1997), Epidemiology of schizophrenia. *Canadian Journal of Psychiatry* 42(2): 131-132.

Häfner H, Maurer K, Loffler W, an der Heiden W, Munk-Jorgensen P et al., (1998), The ABC Schizophrenia Study: a preliminary overview of the results. *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology* 33: 380-386.

Häfner A, Riecher A, Maurer K, Munk-Jörgensen P, Strömngren E, (1991), Geschlechtsunterschiede bei schizophrenen Erkrankungen. *Fortschr Neurol Psychiatr* 59: 343-360.

Hambrecht M, Maurer K, Häfner H, (1992), Gender differences in schizophrenia in three cultures. Results of the WHO collaborative study on psychiatric disability. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol* 27(3): 117-121.

Harrison PJ, (1997), Schizophrenia: a disorder of neurodevelopment? *Curr Opin Neurobiol* 7(2): 285-289.

Harrison PJ, Weinberger DR, (2005), Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Mol Psychiatry* 10(1): 40-68.

Hettema JM, Walsh D, Kendler KS, (1996), Testing the effect of season of birth on familial risk for schizophrenia and related disorders. *Br J Psychiatry* 168(2) :205-209.

Hilleke EHP, Schnack HG, Bertens M, van Haren N, van der Tweel I, Staal WG, Baaré W and Kahn RS, (2002), Volume Changes in Gray Matter in Patients With Schizophrenia. *Am J Psychiatry* 159: 244 - 250.

Hilleke EHP, Hoek HW, Susser E, Brown AS, Dingemans A, Schnack HG, van Haren N, Pereira Ramos LM, Gispén-de Wied CC and Kahn RS, (2000), Prenatal Exposure to Famine and Brain Morphology in Schizophrenia. *Am J Psychiatry* 157: 1170 - 1172.

Huang W, Payne T, Ma JZ, Beuten J, Dupont RT, Inohara N and Li MD, (2009), Significant Association of ANKK1 and Detection of a Functional Polymorphism with Nicotine Dependence in an African-American Sample. *Neuropsychopharmacology* 34: 319–330.

Huber G, (2005), *Psychiatrie: Lehrbuch für Studium und Weiterbildung*. Veröffentlicht von Schattauer Verlag, Stuttgart, 7.Auflage, ISBN 3794522141.

Hultman CM, Ohman A, Cnattingius S, Wieselgren IM and Lindstrom LH, (1997), Prenatal and neonatal risk factors for schizophrenia. *British Journal of Psychiatry* 170:

128-133.

Hwang R, Shinkai T, Deluca V, Macciardi F, Potkin S, Meltzer HY and Kennedy JL, (2006), Dopamine D2 receptor gene variants and quantitative measures of positive and negative symptom response following clozapine treatment. *Eur Neuropsychopharmacol* 16(4): 248-259.

Inayama Y, Yoneda H, Sakai T, Ishida T, Nonomura Y, Kono Y, Takahata R, Koh J, Sakai J, Takai A, Inada Y and Asaba H, (1996), Positive association between a DNA sequence variant in the serotonin 2A receptor gene and schizophrenia. *Am J Med Genet* 67(1): 103-105.

Iqbal N, Asnis GM, Wetzler S, Kay SR and van Praag HM, (1991), The role of serotonin in schizophrenia. New findings. *Schizophr Res* 5(2): 181-182.

Iqbal N, van Praag HM, (1995), The role of serotonin in schizophrenia. *Eur Neuropsychopharmacol* 5 Suppl.11-23.

Iwata Y, Matsumoto H, Minabe Y, Osada N, Nakamura K, Sekizawa T, Suzuki K, Sekine Y, Takei N and Mori N, (2003), Early-onset schizophrenia and dopamine-related gene polymorphism. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 116B(1): 23-26.

Javitt DC, Zukin SR, (1991), Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *Am J Psychiatry* 148(10): 1301-1308.

Jönsson EG, Nöthen MM, Neidt H, Forslund K, Rylander G, Mattila-Evenden M, Asberg M and Propping P, (1999), Association between a promoter polymorphism in the dopamine D2 receptor gene and schizophrenia. *Schizophrenia Research* 40: 31–36.

Jönsson EG, Nöthen MM, Grünhage F, Farde L, Nakashima Y, Propping P and Sedvall GC, (1999), Polymorphisms in the dopamine D2 receptor gene and their relationships to striatal dopamine receptor density of healthy volunteers. *Mol Psychiatry* 4(3): 290-296.

Joy CB, Adams CE and Lawrie SM, (2006), Haloperidol versus placebo for schizophrenia. *Cochrane Database Syst Rev* (4): CD003082.

Kaiser S, Foltz LA, George CA, Kirkwood SC, Bemis KG, Lin X, Gelbert LM and Nisenbaum LK, (2004), Phencyclidine-induced changes in rat cortical gene expression identified by microarray analysis: implications for schizophrenia. *Neurobiol Dis* 16(1): 220-235.

Kaiser R, Tremblay PB, Klufmüller F, Roots I and Brockmüller J, (2002), Relationship between adverse effects of antipsychotic treatment and dopamine D2 receptor polymorphisms in patients with schizophrenia. *Molecular Psychiatry* 7: 695-705.

Kane JM, Malhotra A, (2003), The future of pharmacotherapy for schizophrenia. *World Psychiatry* 2:2.

Karow T, Lang-Roth R, (Hrsg.), (2009), *Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. Köln.

Kassenärztliche Vereinigung Bayern, *Arzneimittel im Blickpunkt Nr. 24/2009, Eine Information der Kassenärztlichen Vereinigung Bayerns, Unterschiede zwischen klassischen und atypischen Neuroleptika: Schein und Wirklichkeit*. Stand 01.Juli 2009.

Kasper S, Lerman MN, McQuade RD, Saha A, Carson WH, Ali M, Archibald D, Ingenito G, Marcus R and Pigott T, (2003), Efficacy and safety of aripiprazole vs. haloperidol for long-term maintenance treatment following acute relapse of schizophrenia. *The International Journal of Neuropsychopharmacology* 6: 325-337.

Kay SR, Fiszbein A and Opler LA, (1987), The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 13: 261-276.

Kegeles LS, Abi-Dargham A, Zea-Ponce Y, Rodenhiser-Hill J, Mann JJ, Van Heertum RL, Cooper TB, Carlsson A and Laruelle M, (2000), Modulation of Amphetamine-

Induced Striatal Dopamine Release by Ketamine in Humans: Implications for Schizophrenia. *Biol Psychiatry* 48: 627–640.

Kendler KS, (2003), The Genetics of Schizophrenia: Chromosomal Deletions, Attentional Disturbances, and Spectrum Boundaries. *Am J Psychiatry* 160(9): 1549-53.

Kinon BJ, Gilmore JA, Hong Liu H and Halbreich UM, (2003), Prevalence of hyperprolactinemia in schizophrenic patients treated with conventional antipsychotic medications or risperidone. *Psychoneuroendocrinology* 28: 55–68.

Kirov G, O'Donovan MC, Owen MJ, (2005), Finding Schizophrenia Genes. *J. Clin. Invest* 115(6): 1440–1448.

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

Kudo S, Ishizaki T, (1999), Pharmacokinetics of haloperidol: an update. *Clin Pharmacokinet* 37(6): 435-456.

Küttler T, (2002), *Kurzlehrbuch, Allgemeine Pharmakologie und Toxikologie*. 18.Auflage. Urban & Fischer Verlag München, Jena.

Kunugi H, Takei N, Murray RM, Saito K and Nanko S, (1996), Small head circumference at birth in schizophrenia. *Schizophr Res* 20(1-2):165-170.

Kunugi H, Nanko S, Murray RM, (2001), Obstetric complications and schizophrenia: prenatal underdevelopment and subsequent neurodevelopmental impairment. *Br J Psychiatry Suppl.* 40: 25-29.

Kuroki T, Nagao N, Nakahara T, (2008), Neuropharmacology of second-generation antipsychotic drugs: a validity of the serotonin-dopamine hypothesis. *Prog Brain Res* 172:199-212.

Kwon JS, Kim E, Kang DH, Choi JS, Yu KS, Jang IJ and Shin SG (APLUS study group), (2008), Taq1A polymorphism in the dopamine D2 receptor gene as a predictor of clinical response to aripiprazole. *Eur Neuropsychopharmacol* 18(12): 897-907.

Lafuente A, Bernardo M, Mas S, Crescenti A, Aparici M, Gasso P, Goti J, Sanchez V, Catalan R and Carne X, (2008), 141C Ins/Del polymorphism of the dopamine D2 receptor gene is associated with schizophrenia in a Spanish population. *Psychiatric Genetics* 18(3):122-127.

Lahti AC, Koffel B, LaPorte D and Tamminga CA, (1995), Subanesthetic doses of ketamine stimulate psychosis in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* (1): 9-19.

Lane HY, Lee CC, Chang YC, Lu CT, Huang CH and Chang WH, (2004), Effects of dopamine D2 receptor Ser311Cys polymorphism and clinical factors on risperidone efficacy for positive and negative symptoms and social function. *Int J Neuropsychopharmacol* 7: 461–470.

Laruelle M, Kegeles LS, Abi-Dargham A, (2003), Glutamate, dopamine, and schizophrenia: from pathophysiology to treatment. *Annals New York Academy of Science* 1003: 138-158.

Lencz T, Robinson DG, Xu K, Ekholm J, Sevy S, Gunduz-Bruce H, Woerner MG, Kane JM, Goldman D and Malhotra AK, (2006), DRD2 Promoter Region Variation as a Predictor of Sustained Response to Antipsychotic Medication in First-Episode Schizophrenia Patients. *Am J Psychiatry* 163: 529–531.

Leonard S, Adams C, Breese CR, Adler LE, Bickford P, Byerley W, Coon H, Griffith JM, Miller C, Myles-Worsley M, Nagamoto HT, Rollins Y, Stevens KE, Waldo M and Freedman R, (1996), Nicotinic receptor function in schizophrenia. *Schizophr Bull* 22(3): 431-445.

Leucht S, Barnes TRE, Kissling W, Engel RR, Correll C, Kane JM, (2003 (1)), Relapse Prevention in Schizophrenia With New-Generation Antipsychotics: A Systematic Review and Exploratory Meta-Analysis of Randomized, Controlled Trials. *Am J Psychiatry* 160: 1209–1222.

Leucht S, Corves C, Arbter D, Engel RR, Li C and Davis JM, (2009), Second-generation versus first-generation antipsychotic drugs for schizophrenia: a meta-analysis. *Lancet* 373: 31–41.

Leucht S, Pitschel-Walz G, Abraham D and Kissling W, (1999), Efficacy and extrapyramidal side-effects of the new antipsychotics olanzapine, quetiapine, risperidone, and sertindole compared to conventional antipsychotics and placebo. A meta-analysis of randomized controlled trials. *Schizophr Res* 35(1): 51-68.

Leucht S, Wahlbeck K, Hamann J and Kissling W, (2003 (2)), New generation antipsychotics versus low-potency conventional antipsychotics: a systematic review and meta-analysis. *Lancet* 361(9369): 1581-1589.

Lewis G, David A, Andréasson S and Allebeck P, (1992), Schizophrenia and city life. *Lancet* 340(8812): 137-140.

Li MD, Ma JZ and Beuten J, (2004), Progress in searching for susceptibility loci and genes for smoking-related behaviour. *Clinical Genetics* 66(5): 382–392.

Lieberman JA, Tollefson G, Tohen M, Green AI, Gur RE, Kahn R, McEvoy J, Perkins D, Sharma T, Zipursky R, Wei H, Hamer RM, HGDH Study Group, (2003), Comparative Efficacy and Safety of Atypical and Conventional Antipsychotic Drugs in First-Episode Psychosis: A Randomized, Double-Blind Trial of Olanzapine Versus Haloperidol. *Am J Psychiatry* 160:1396–1404.

Lieberman JA, Stroup TS, McEvoy J, Swartz MS, Rosenheck RA, Perkins D, Keefe RSE, Davis SM, Davis CE, Lebowitz BD, Severe J and Hsiao JK, (CATIE-Studie),

(2005), Effectiveness of Antipsychotic Drugs in Patients with Chronic Schizophrenia. *N Engl J Med* 353: 1209-1223.

Limosin F, Gorwood P, Loze JY, Dubertret C, Gouya L, Deybach JC, Adès J, (2002), Male limited association of the dopamine receptor D2 gene TaqI a polymorphism and alcohol dependence. *Am J Med Genet* 112(4): 343-346.

Lingjaerde O, Ahlfors UG, Bech P, Dencker SJ, Elgen K, (1987), The UKU side effect rating scale. A new comprehensive rating scale for psychotropic drugs and a cross-sectional study of side effects in neuroleptic-treated patients. *Acta Psychiatr Scand Suppl* 334:1-100.

Loranger AW, (1984), Sex difference in age at onset of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 41(2): 157-161.

Luo HR, Hou ZF, Wu J, Zhang YP, Wan YJ, (2005), Evolution of the DRD2 gene haplotype and its association with alcoholism in Mexican Americans. *Alcohol* 36(2): 117-125.

Malhotra AK, Buchanan RW, Kim S, Kestler L, Breier A, Pickar D, Goldman D, (1999), Allelic variation in the promoter region of the dopamine D2 receptor gene and clozapine response. *Schizophr Res* 36: 92–93.

Marbas LL, Case E, (2005), *Memotricks Biochemie*, Urban und Fischer, Elsevier, München, ISBN 3437410334.

Mata-Pastor I, Arranz-Calderón MJ, Beperet-Urmeneta M, Pérez-Nievas F, Sham P, Kerwin R, (2002), Influence of serotonergic transmission on response to olanzapine. *Actas Esp Psiquiatr* 30(5): 265-271.

Matthews SM, Roper MT, Mosher LR and Menn AZ, (1979), A Non-Neuroleptic Treatment for Schizophrenia: Analysis of the Two-Year Postdischarge Risk of Relapse.

Schizophrenia Bulletin 5(2): 322-333.

May P, Dencker S, Hubbard J, Midha K, Liberman R, (1988), A systematic approach to treatment resistance in schizophrenic disorders. In: Dencker S, Kulhanek F (Eds.). Treatment Resistance in Schizophrenia. Vieweg, Braunschweig/Weisbaden, pp. 22-33.

McAllister TW, Flashman LA, Harker Rhodes C, Tyler AL, Moore JH, Saykin AJ, McDonald BC, Tosteson TD and Tsongalis GJ, (2008), Single nucleotide polymorphisms in ANKK1 and the dopamine D2 receptor gene affect cognitive outcome shortly after traumatic brain injury: a replication and extension study. Brain Inj 22(9): 705-714.

McGrath J, Welham J and Pemberton M, (1995), Month of birth, hemisphere of birth and schizophrenia. Br J Psychiatry 167(6): 783-785.

McGuffin and Owen MJ, (1996), Molecular genetic studies of schizophrenia. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology 61: 815-822.

McKetin R, McLaren J, Lubman DI and Hides L, (2006), The prevalence of psychotic symptoms among methamphetamine users. Addiction 101(10): 1473-1478.

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

Missale C, Nash SR, Robinson SW, Jaber M, Caron MG, (1998), Dopamine receptors: from structure to function. Physiol Rev 78(1): 189-225.

Möller HJ, Ahrens B, (2000), Therapie psychiatrischer Erkrankungen. 2. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York.

Möller HJ, Deister A, (2003), Schizophrenie. In Möller HJ, Laux G, Kapfhammer HP, (eds.), Psychiatrie und Psychotherapie. Springer Verlag, Berlin-Heidelberg.

Möller HJ, Laux G, Deister A, (2009), Schizophrenie. In Bob A, Bob K, (Gründungsherausgeber), Psychiatrie und Psychotherapie, Duale Reihe, 4.Auflage, Georg-Thieme Verlag, Stuttgart.

Moises HW, Gelernter J, Giuffra LA, Zarcone V, Wetterberg L, Civelli O, Kidd KK, Cavalli-Sforza LL, Grandy DK, Kennedy JL, et al., (1991), No linkage between D2 dopamine receptor gene region and schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 48(7): 643-647.

Monakhov M, Golimbet V, Abramova L, Kaleda V and Karpov V, (2008), Association study of three polymorphisms in the dopamine D2 receptor gene and schizophrenia in the Russian population. *Schizophrenia Research* 100: 302–307.

Müller DJ, Kennedy JL, (2006), Genetics of antipsychotic treatment emergent weight gain in schizophrenia. *Pharmacogenomics* 7(6): 863-887.

Müller R, Kissling W and Kockott G, (2000), "More is less": a retrospective study of haloperidol dosages in acute schizophrenia. *Psychiatr Prax* 27(2): 69-73.

Murray RM, (1994), Neurodevelopmental schizophrenia: the rediscovery of dementia praecox. *Br J Psychiatry Suppl* (25): 6-12.

Neville MJ, Johnstone EC and Walton RT, (2004), Identification and Characterization of ANKK1: A Novel Kinase Gene Closely Linked to DRD2 on Chromosome Band 11q23.1. *Human Mutation* 23: 540-545.

Nieratschker V, Nöthen MM, Rietschel M, (2010), New genetic findings in schizophrenia: is there still room for the dopamine hypothesis of schizophrenia? *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 4: 23.

Norton N, Williams HJ, Owen MJ, (2006), An update on the genetics of schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry* 19(2): 158-164.

Nyberg S, Nakashima Y, Nordström AL, Halldin C, Farde L, (1996), Positron emission tomography of in-vivo binding characteristics of atypical antipsychotic drugs. Review of D2 and 5-HT2 receptor occupancy studies and clinical response. *Br J Psychiatry Suppl* (29): 40-44.

Osmond H, Smythies J, (1952), Schizophrenia: New Approach. *J. Ment. Sci* 98: 309-322.

Owen MJ, (2005), Genomic approaches to schizophrenia. *Clin Ther* 27 Suppl A: 2-7.

Panagiotidis G, Arthur HW, Lindh JD, Dahl ML and Sjöqvist F, (2007), Depot haloperidol treatment in outpatients with schizophrenia on monotherapy: impact of CYP2D6 polymorphism on pharmacokinetics and treatment outcome. *Ther Drug Monit* 29(4): 417-422.

Park SK, Nguyen MD, Fischer A, Luke MPS, Affar EB, Dieffenbach PB, Tseng HC, Shi Y and Tsai LH, (2005), Par-4 Links Dopamine Signaling and Depression. *Cell* 122: 275–287.

Perez de los Cobos J, Baiget M, Trujols J, Sinol N, Volpini V, Banuls E, Calafell F, Luquero E, del Rio E and Alvarez E, (2007), Allelic and genotypic associations of DRD2 TaqI A polymorphism with heroin dependence in Spanish subjects: a case control study. *Behav Brain Funct* 3: 25.

Pohjalainen T, Rinne JO, Någren K, Lehtikainen P, Anttila K, Syvälahti EK and Hietala J, (1998), The A1 allele of the human D2 dopamine receptor gene predicts low D2 receptor availability in healthy volunteers. *Mol Psychiatry* 3(3): 256-260.

Pschyrembel, Psychiatrie, klinische Psychologie, Psychotherapie. Margraf und Müller-Spahn (Hrsg.) (2009) Walter de Gruyter Verlag, Berlin, New York, S. 649.

Reynolds GP, Templeman LA, Zhang ZJ, (2005 (1)), The role of 5-HT_{2C} receptor polymorphisms in the pharmacogenetics of antipsychotic drug treatment. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 29: 1021–1028.

Reynolds GP, Yao ZJ, Zhang XB, Sun J, Zhang ZJ, (2005(2)), Pharmacogenetics of treatment in first-episode schizophrenia: D₃ and 5-HT_{2C} receptor polymorphisms separately associate with positive and negative symptom response. *Eur. Neuropsychopharmacol* 15: 143-151.

Rice JP, Reich T, Buchholz KK, Neuman RJ, Fishman R, Rochberg N, Hesselbrock VM, Nurnberger JI, Schuckit MA, Begleiter H, (1995), Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res* 19(4): 1018-1023.

Rybakowski J, Klonowska P, Patrzala A, Jaracz J, (2006), Psychopathology and creativity. *Psychiatr Pol* 40(6): 1033-1049.

Saito M, Yasui-Furukori N, Kaneko S, (2005), Clinical pharmacogenetics in the treatment of schizophrenia. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi* 25(3): 129-135.

Sakumoto N, Kondo T, Mihara K, Suzuki A, Yasui-Furukori N, (2007), Dopamine D₂ receptor gene polymorphisms predict well the response to dopamine antagonists at therapeutic dosages in patients with schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci* 61(2): 174-80.

Sanfilippo M, Lafargue T, Rusinek H, Arena L, Loneragan C, Lautin A, Feiner D, Rotrosen J, Wolkin A, (2000), Volumetric Measure of the Frontal and Temporal Lobe Regions in Schizophrenia Relationship to Negative Symptoms. *Arch Gen Psychiatry* 57: 471-480.

Sanger TM, Lieberman JA, Tohen M, Grundy S, Beasley C and Tollefson GD, (1999), Olanzapine Versus Haloperidol Treatment in First-Episode Psychosis. *Am J Psychiatry*

156: 79–87.

Schäfer M, Rujescu D, Giegling I, Guntermann A, Erfurth A, Bondy B, Möller HJ, (2001), Association of Short-Term Response to Haloperidol Treatment With a Polymorphism in the Dopamine D2 Receptor Gene. *Am J Psychiatry* 158: 802–804.

Schröder J, Silvestri S, Bubeck B, Karr M, Demisch S, Scherrer S, Geider FJ, Sauer H, (1998), D2 dopamine receptor up-regulation, treatment response, neurological soft signs, and extrapyramidal side effects in schizophrenia: a follow-up study with 123I-iodobenzamide single photon emission computed tomography in the drug-naive state and after neuroleptic treatment. *Biol Psychiatry* 43(9): 660-665.

Schulz SC, Thomson R, Brecher M, (2003), The efficacy of quetiapine vs. haloperidol and placebo: a meta-analytic study of efficacy. *Schizophrenia Research* 62: 1–12.

Schwab SG, Knapp M, Mondabon S, Hallmayer J, Borrmann-Hassenbach M, Albus M, Lerer B, Rietschel M, Trixler M, Maier W and Wildenauer DB, (2002), Support for Association of Schizophrenia with Genetic Variation in the 6p22.3 Gene, Dysbindin, in Sib-Pair Families with Linkage and in an Additional Sample of Triad Families. *Am. J. Hum. Genet* 72: 185–190.

Sedgwick SG, Smerdon SJ, (1999), The ankyrin repeat: a diversity of interactions on a common structural framework. *Trends Biochem Sci* 24(8): 311-316.

Sernyak MJ, Leslie DL, Alarcon RD, Losonczy MF, Rosenheck R, (2002), Association of diabetes mellitus with use of atypical neuroleptics in the treatment of schizophrenia. *Am J Psychiatry* 159(4): 561-566.

Shen YC, Chen SF, Chen CH, Lin CCH, Chen SJ, Chen YJ, Luu SU, (2008), Effects of DRD2/ANKK1 gene variations and clinical factors on aripiprazole efficacy in schizophrenic patients. *Journal of Psychiatric Research*, doi:10.1016/j.jpsychires.2008.09.005.

Shenton ME, Dickey CC, Frumin M, McCarley RW, (2001), A review of MRI findings in schizophrenia. *Schizophrenia Research* 49: 1-52.

Shifman S, Bronstein M, Sternfeld M, Pisanté-Shalom A, Lev-Lehman E, Weizman A, Reznik I, Spivak B, Grisaru N, Karp L, Schiffer R, Kotler M, Strous RD, Swartz-Vanetik M, Knobler HY, Shinar E, Beckmann JS, Yakir B, Risch N, Zak NB and Darvasi A, (2002), A highly significant association between a COMT haplotype and schizophrenia. *Am J Hum Genet* 71(6): 1296-1302.

Shinkai T, Ohmori O, Suzuki T, Kojima H, Hori H, Terao T and Nakamura J, (2000), Polymorphisms of tryptophan hydroxylase gene and the symptomatology of schizophrenia: an association study. *Psychiatr Genet* 10(4): 165-171.

Shirts BH, Nimgaonkar V, (2004), The genes for schizophrenia: finally a breakthrough? *Curr Psychiatry Rep* 6(4): 303-312.

Sodhi MS, Arranz MJ, Curtis D, Ball DM, Sham P, Roberts GW, Price J, Collier DA and Kerwin RW, (1995), Association between clozapine response and allelic variation in the 5-HT_{2C} receptor gene. *Neuroreport* 7(1): 169-172.

Stefansson H, Sarginson J, Kong A, Yates P, Steinthorsdottir V, Gudfinnsson E, Gunnarsdottir S, Walker N, Petursson H, Crombie C, Ingason A, Gulcher JR, Stefansson K and St Clair D, (2003), Association of neuregulin 1 with schizophrenia confirmed in a Scottish population. *Am J Hum Genet* 72(1): 83-87.

Straub RE, MacLean CJ, Ma Y, Webb BT, Myakishev MV, Harris-Kerr C, Wormley B, Sadek H, Kadambi B, O'Neill FA, Walsh D and Kendler KS, (2002(1)), Genome-wide scans of three independent sets of 90 Irish multiplex schizophrenia families and follow-up of selected regions in all families provides evidence for multiple susceptibility genes. *Molecular Psychiatry* 7: 542-559.

Straub RE, Jiang Y, MacLean CJ, Ma Y, Webb BT, Myakishev MV, Harris-Kerr C, Wormley B, Sadek H, Kadambi B, Cesare AJ, Gibberman A, Wang X, O'Neill FA, Walsh D and Kendler KS, (2002(2)), Genetic variation in the 6p22.3 gene DTNBP1, the human ortholog of the mouse dysbindin gene, is associated with schizophrenia. *Am J Hum Genet* 71(2): 337-348.

Sullivan PF, Kendler KS, Neale MC, (2003), Schizophrenia as a Complex Trait, Evidence From a Meta-analysis of Twin Studies. *Archives of General Psychiatry* 60: 1187-1192.

Suzuki A, Mihara K, Kondo T, Tanaka O, Nagashima U, Otani K, Kaneko S, (2000), The relationship between dopamine D2 receptor polymorphism at the Taq1 A locus and therapeutic response to nemonapride, a selective dopamine antagonist, in schizophrenic patients. *Pharmacogenetics* 10(4): 335-341.

Suzuki A, Kondo T, Mihara K, Yasui-Furukori N, Otani K, Furukori H, Kaneko S, and Inoue Y, (2001 (1)), Association between TaqI A dopamine D2 receptor polymorphism and therapeutic response to bromperidol: a preliminary report. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 251: 57-59.

Suzuki A, Kondo T, Mihara K, Yasui-Furukori N, Ishida M, Furukori H, Kaneko S, Inoue Y and Otani K, (2001 (2)), The -141C Ins/Del polymorphism in the dopamine D2 receptor gene promoter region is associated with anxiolytic and antidepressive effects during treatment with dopamine antagonists in schizophrenic patients. *Pharmacogenetics* 11: 545-550.

Talbot PS, Laruelle M, (2002), The role of in vivo molecular imaging with PET and SPECT in the elucidation of psychiatric drug action and new drug development. *Eur Neuropsychopharmacol* 12: 503-511.

Tandon R, Greden JF, (1989), Cholinergic hyperactivity and negative schizophrenic symptoms. A model of cholinergic/dopaminergic interactions in schizophrenia. *Arch*

Gen Psychiatry 46(8): 745-753.

Tauscher J, Kapur S, Verhoeff NP, Hussey DF, Daskalakis ZJ, Tauscher-Wisniewski S, Wilson AA, Houle S, Kasper S and 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.

Thomas P, Srivastava V, Singh A, Mathur P, Nimgaonkar VL, Lerer B, Thelma BK, Deshpande SN, (2008), Correlates of response to Olanzapine in a North Indian Schizophrenia sample. Psychiatry Res 161: 275–283.

Thompson J, Thomas N, Singleton A, Piggott M, Lloyd S, Perry EK, Morris CM, Perry RH, Ferrier IN and Court JA, (1997), D2 dopamine receptor gene (DRD2) Taq1 A polymorphism: reduced dopamine D2 receptor binding in the human striatum associated with the A1 allele. Pharmacogenetics 7(6): 479-484.

Tollefson GD, Beasley CM, Tran PV, Street JS, Krueger JA, Tamura RN, Graffeo KA, Thieme ME, (1997 (2)), Olanzapine Versus Haloperidol in the Treatment of Schizophrenia and Schizoaffective and Schizophreniform Disorders: Results of an International Collaborative Trial. Am J Psychiatry 154: 457–465.

Tollefson GD, Sanger TM, (1997 (1)), Negative symptoms: a path analytic approach to a double-blind, placebo- and haloperidol-controlled clinical trial with olanzapine. Am J Psychiatry 154(4): 466-474.

Torrey EF, Miller J, Rawlings R, Yolken RH, (1997), Seasonality of births in schizophrenia and bipolar disorder: a review of the literature. Schizophr Res 28(1): 1-38.

Trepel M, (1999), Neuroanatomie, Struktur und Funktion. 2.Auflage, Urban und Fischer Verlag, München.

Troussard AA, Mawji NM, Ong C, Mui A, St.-Arnaud R and Dedhar S, (2003), Conditional Knock-out of Integrin-linked Kinase Demonstrates an Essential Role in Protein Kinase B/Akt Activation. *The Journal of Biological Chemistry* 278(25): 22374–22378.

Tsai SJ, Ouyang WC, Hong CJ, (2002), Association for Serotonin Transporter Gene Variable Number Tandem Repeat Polymorphism and Schizophrenic Disorders. *Neuropsychobiology* 45: 131–133.

Tsuang, MT, Stone WS and Faraone SV, (2001), Genes, environment and schizophrenia. *British Journal of Psychiatry Suppl* 40: 18-24.

Tsuang MT, Tohen M and Zahner G, (1995), *Textbook in Psychiatry epidemiology*. Wiley-Liss, New York.

Usall J, Suarez D, Haro JM, SOHO Study Group, (2007), Gender differences in response to antipsychotic treatment in outpatients with schizophrenia. *Psychiatry Res* 153(3): 225-231.

Van Rossum JM, (1966), The significance of dopamine receptor blockade for the mechanism of action of neuroleptic drugs. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 160: 492–494.

Veenstra-VanderWeele J, Anderson GM, Cook EH, (2000), Pharmacogenetics and the serotonin system: initial studies and future directions. *European Journal of Pharmacology* 410: 165–181.

Volk DW, Austin MC, Pierri JN, Sampson AR, Lewis DA, (2001), GABA transporter-1 mRNA in the prefrontal cortex in schizophrenia: decreased expression in a subset of neurons. *Am J Psychiatry* 158(2): 256-265.

Weinberger DR, (2005), Genetic mechanisms of psychosis: in vivo and postmortem genomics. *Clin Ther* 27 Suppl A: 8-15.

Wetterling T, (2003), Diabetes mellitus Typ II- induziert durch „atypische“ Neuroleptika? Fortschr Neurol Psychiat 71: 312-322.

Wieselgren IM, Lindstrom LH, (1996), A prospective 1-5 year outcome study in first-admitted and readmitted schizophrenic patients; relationship to heredity, premorbid adjustment, duration of disease and education level at index admission and neuroleptic treatment. Acta Psychiatr Scand 93(1): 9-19.

Williams J, McGuffin P, Nöthen M, Owen MJ, EMASS Collaborative Group (European Multicentre Association Study of Schizophrenia), (1997), Meta-analysis of association between the 5-HT_{2a} receptor T102C polymorphism and schizophrenia.. Lancet 349(9060): 1221.

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

Wu S, Xing Q, Gao R, (2005), Response to chlorpromazine treatment may be associated with polymorphisms of the DRD2 gene in Chinese schizophrenic patients. Neurosci Lett 376: 1–4.

Xing Q, Gao R, Li H, Feng G, Xu M, Duan S, Meng J, Zhang A, Qin S, He L, (2006), Polymorphisms of the ABCB1 gene are associated with the therapeutic response to risperidone in Chinese schizophrenia patients. Pharmacogenomics 7(7): 987-993.

Yamanouchi Y, Iwata N, Suzuki T, Kitajima T, Ikeda M, Ozaki N, (2003), Effect of DRD2, 5-HT_{2A}, and COMT genes on antipsychotic response to risperidone. The Pharmacogenomics Journal 3: 356–361.

Zeng C, Zhang M, Asico LD, Eisner GM, Jose PA, (2007), The dopaminergic system in hypertension. Clin Sci (Lond) 112(12): 583-597.

Zhang-Wong J, Beiser M, Zipursky RB, Bean G, (1998), An investigation of ethnic and gender differences in the pharmacodynamics of haloperidol. *Psychiatry Res* 81(3): 333-339.

Zhang ZJ, Zhang XB, Hou G, Yao H, Reynolds GP, (2003), Interaction between polymorphisms of the dopamine D3 receptor and manganese superoxide dismutase genes in susceptibility to tardive dyskinesia. *Psychiatr Genet* 13(3): 187-192.

Zornberg GW, Buka SL and Tsuang MT, (2000), Hypoxic-Ischemia-Related Fetal/Neonatal Complications and Risk of Schizophrenia and Other Nonaffective Psychoses: A 19-Year Longitudinal Study. *Am J Psychiatry* 157: 196–202.

9 Danksagung

Ich möchte Herrn Prof. Dr. med. Möller für die Möglichkeit danken in der von Ihm geleiteten Psychiatrischen Universitätsklinik diese Arbeit durchzuführen.

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Dan Rujescu für die kompetente Betreuung und Begleitung bei diesem Thema, welches ich in seiner Forschungsgruppe bearbeiten konnte. Bedanken möchte ich mich auch bei Frau Diplompsychologin Ina Giegling, deren Vorschläge und Hilfestellung bei der statistischen Auswertung der Studienergebnisse und beim Korrekturlesen unerlässlich waren.

Außerordentlich hervorheben möchte ich Frau Dr. humanbiol. Annette Hartmann, deren konsequente und freundschaftliche Unterstützung bei der Überarbeitung des Manuskriptes in verschiedenen Fassungen, sowie deren intensive Betreuung maßgeblich zur Fertigstellung dieser Arbeit war.

Zu Dank verpflichtet bin ich auch den übrigen Teamkollegen in der Arbeitsgemeinschaft molekulare und klinische Neurobiologie, die mir ihre Aufmerksamkeit geschenkt und ihre Ansichten mitgeteilt haben. Dank konstruktiver Gespräche und Rat in Zweifelsfällen erhielt ich Anregungen bei der Korrektur und Ausfertigung der graphischen Darstellungen. Diesen Kollegen bin ich für ihre kooperative Mitarbeit verbunden, ebenso allen Probanden, die sich für diese Studie als Teilnehmer zur Verfügung gestellt haben.

Der herzlichste Dank gilt nicht zuletzt meiner Familie und meinen Freunden, die mich durch ihre immerwährende Förderung und beständigen Ermutigungen über das Studium hinaus bis zur Fertigstellung der Arbeit verlässlich begleitet haben.

Hervorheben möchte ich meine Eltern Norbert und Maria Luisa, meine Geschwister Julia und Thomas, meine Freunde Julia, Jan, Raphael und Florian.