

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

ehem. Direktor: Herr Prof. Dr. med. H.-J. Möller
komm. Direktor: Herr Prof. Dr. med. N. Müller

**Assoziationsuntersuchung von Polymorphismen im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen mit
Aspekten präfrontaler Kognition und Schizophrenie**

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

vorgelegt von
Stefan Markus Schertl

aus
Ingolstadt

2012

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. D. Rujescu

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. O. Steinlein

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. rer. biol. hum. I. Giegling

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

Tag der mündlichen Prüfung: 12.07.2012

"Du siehst, mein Sohn, zum Raum wird hier die Zeit"

Gurnemanz

Inhaltsverzeichnis

1 Zusammenfassung	1
2 Einleitung	3
2.1 Die Schizophrenie	3
2.1.1 Definition	3
2.1.2 Epidemiologie	3
2.1.3 Symptomatik und Verlauf	4
2.1.4 Ätiopathogenese	5
2.2 Genetische Aspekte der Schizophrenie	8
2.3 Das Konzept der Endophänotypen	15
2.4 Exekutivfunktionen und der WCST bei Schizophrenie	17
2.5 Das Arbeitsgedächtnis und der n-back-Test bei Schizophrenie	21
2.6 Das serotonerge System	30
2.6.1 Serotonininsynthese	30
2.6.2 Serotoninabbau	30
2.6.3 Serotonerge Neurone im ZNS	31
2.6.4 Serotoninrezeptoren	31
2.6.4.1 Einteilung und vermittelte Wirkung der Serotoninrezeptoren	31
2.6.4.2 Der 5-HT _{2A} -Rezeptor	34
2.6.4.2.1 Signaltransduktionsmechanismus und Verteilung	34
2.6.4.2.2 Der 5-HT _{2A} -Rezeptor und Schizophrenie	36
2.6.4.2.3 Der 5-HT _{2A} -Rezeptor und präfrontale Kognition	37
2.7 Das 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen	40
2.7.1 Genstruktur	40
2.7.2 Assoziation des 5-HT _{2A} -Rezeptor-Gens mit Schizophrenie	41
2.7.3 Assoziation des 5-HT _{2A} -Rezeptor-Gens mit kognitiven Domänen	49
3 Fragestellung	56
4 Material und Methoden	57
4.1 Vorbedingungen der Studiendurchführung	57
4.2 Zusammensetzung der Studienteilnehmer	57
4.2.1 Verteilung nach Geschlecht	57
4.2.2 Verteilung nach Alter	58
4.2.3 Verteilung nach Schulbildung	58
4.3 Rekrutierung der Studienteilnehmer	59
4.3.1 Kontrollen	59
4.3.2 Patienten	60

4.4 Neuropsychologische Testverfahren	62
4.4.1 Wisconsin-Card-Sorting-Test	62
4.4.1.1 Messinstrument der Exekutivfunktionen	62
4.4.1.2 Testaufbau	63
4.4.1.3 Testdurchführung	64
4.4.1.4 Testauswertung	65
4.4.1.5 Gütekriterien	68
4.4.2 n-back	69
4.4.2.1 Messinstrument des Arbeitsgedächtnisses	69
4.4.2.2 Testaufbau	69
4.4.2.3 Testdurchführung	71
4.4.2.4 Testauswertung	72
4.4.2.5 Gütekriterien	72
4.5 Genotypisierung	73
4.5.1 DNA-Extraktion	73
4.5.2 Bestimmung der DNA-Konzentration	74
4.5.3 Massenspektrometrie	76
4.6 Statistische Auswertung	79
5 Ergebnisse	80
5.1 Fall-Kontroll-Assoziationsstudie	80
5.1.1 Analyse des Polymorphismus rs2296972	81
5.1.1.1 Verteilung der Genotypen von rs2296972	81
5.1.1.2 Verteilung der Allele von rs2296972	82
5.1.2 Analyse des Polymorphismus rs2770296	83
5.1.2.1 Verteilung der Genotypen von rs2770296	83
5.1.2.2 Verteilung der Allele von rs2770296	84
5.2 Endophänotypenstudie zu präfrontaler Kognition	85
5.2.1 Analyse der Testleistungen im WCST	85
5.2.1.1 Analyse von rs2296972 im WCST	85
5.2.1.2 Analyse von rs2770296 im WCST	88
5.2.2 Analyse der Testleistungen im n-back	91
5.2.2.1 Analyse von rs2296972 im n-back	91
5.2.2.2 Analyse von rs2770296 im n-back	93
5.3 Zusammenfassung der Ergebnisse	95
5.3.1 Fall-Kontroll-Assoziationsstudie	95
5.3.2 Endophänotypenstudie	96

6 Diskussion	98
6.1 Interpretation der Ergebnisse der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie	98
6.2 Interpretation der Ergebnisse der Endophänotypenstudie	114
6.3 Ausblick auf weitere Untersuchungen	125
7 Abkürzungsverzeichnis	127
8 Literaturverzeichnis	131
9 Danksagung	164
10 Erklärung	165
11 Lebenslauf	166

1 Zusammenfassung

Hintergrund: Die Schizophrenie ist eine schwerwiegende psychische Erkrankung, deren vielschichtige genetische Basis ungeklärt ist. Die Ergebnisse von molekulargenetischen Studien zur Identifikation risikosteigernder DNA-Varianten sind inkonsistent, was größtenteils der genetischen Heterogenität der Erkrankung zugeschrieben wird. Dem versucht das Konzept der Endophänotypen Rechnung zu tragen. Dieser alternative Ansatz verfolgt die Unterteilung der Erkrankung auf neurobiologischer Ebene und verspricht sich somit weniger komplex genetisch determinierte Einheiten. Beispiele hierfür sind höhere kognitive Leistungen wie exekutive Funktionen oder das Arbeitsgedächtnis im engeren Sinn, deren Defizite Kernsymptome der Schizophrenie darstellen.

Aufgrund funktioneller Überlegungen wird das für den 5-HT_{2A}-Rezeptor kodierende Gen als Kandidatengen ausgewiesen. Einerseits induziert die Stimulation des Rezeptors ein psychotisches Bild, andererseits beruhen antipsychotische Effekte, insbesondere der atypischen Neuroleptika, auf seiner Blockade.

Ferner implizieren Befunde die Bedeutung des 5-HT_{2A}-Rezeptors bei der Modulation von exekutiven Funktionen und Arbeitsgedächtnisleistungen. So zeigen 5-HT_{2A}-affine Atypika bei an Schizophrenie erkrankten Individuen positive Effekte in Bezug auf diese beeinträchtigten kognitiven Domänen. Auch die morphologische Repräsentation dieser höheren kognitiven Funktionen im dorsolateralen präfrontalen Kortex, die einhergeht mit einer hohen 5-HT_{2A}-Rezeptor-Dichte, unterstreicht diesen Zusammenhang.

Die vorliegende Arbeit untersucht zum einen in einem Fall-Kontroll-Design die potentielle Assoziation der intronischen Einzelnukleotidpolymorphismen rs2296972 und rs2770296 im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen mit der Krankheitsentität Schizophrenie und zum anderen deren Einfluss auf Leistungen in jeweils einem Test der Exekutivfunktionen und des Arbeitsgedächtnisses.

Methodik: Nach Genotypisierung der beiden Polymorphismen mit Hilfe des iPLEX-Verfahrens wurde die Allel- und Genotypverteilung zwischen einer Patienten- und Kontrollgruppe kauasischer Ethnizität verglichen. In einem zweiten Schritt wurden Arbeitsgedächtnisleistungen mit einem n-back-Test und exekutive Funktionen mit dem Wisconsin-Card-Sorting-Test erfasst und in Abhängigkeit der Allele und Genotypen evaluiert.

Ergebnisse: Für keinen der beiden Marker konnte eine signifikante Assoziation mit der Diagnose Schizophrenie festgestellt werden. Im Rahmen der Untersuchung der Polymorphismen auf Assoziation mit den kognitiven Domänen zeigte sich in vier Fällen ein Effekt des Genotyps bzw. der Allele mit einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$ auf die abhängigen Testvariablen. In dreien der vier Fälle stellte sich ein Zusammenhang zwischen dem prozentualen Anteil perseverativer Fehler im WCST und rs2770296 dar. Die vierte signifikante Assoziation bestand zwischen der Anzahl erfolgreich abgeschlossener Kategorien im WCST und rs2296972. Zwischen rs2770296 und den Leistungen im n-back wurde hinsichtlich der mittleren Reaktionszeit im 1-back-Modus ein nichtsignifikanter Trend beobachtet.

Schlussfolgerung: Zwar konnte in der vorliegenden Arbeit keine Assoziation der untersuchten Marker mit der Diagnose Schizophrenie detektiert werden, die positiven Befunde der Endophänotypenstudie lassen jedoch den Rückschluss zu, dass DNA-Varianten im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen exekutive Funktionen modulieren und damit auch aufgrund der hohen Relevanz dieser kognitiven Domäne beim Erkrankungsbild zu dessen klinischer Ausprägung beitragen könnten. Die hier vorgestellten Polymorphismen waren nach synoptischer Betrachtung der Literatur bisher weder Gegenstand einer Untersuchung in Bezug auf die Schizophrenie, noch auf präfrontale kognitive Prozesse. Weitere Studien sind daher erforderlich, um diese Zusammenhänge zu erhellen.

2 Einleitung

2.1 Die Schizophrenie

2.1.1 Definition

Die Schizophrenie stellt eine der schwerwiegendsten psychischen Erkrankungen dar und wird der Gruppe der endogenen Psychosen zugeordnet. Die dem Griechischen entlehnte Bezeichnung "Schizophrenie" wurde 1911 von Egon Bleuler eingeführt und trägt dem psychopathologischen Querschnittsbild Rechnung, im Besonderen einer eigenartigen Spaltung des psychischen Erlebens. Die in Erscheinungsbild und Verlauf ausgesprochen heterogene Erkrankung ist durch Wahn, Halluzinationen, formale Denkstörungen, Ich-Störungen, Affektstörungen und psychomotorische Störungen charakterisiert.

Eine multifaktorielle Genese wird angenommen, wobei der genetischen Disposition eine zentrale Bedeutung zugeschrieben wird (Möller, 2001).

2.1.2 Epidemiologie

Die Schizophrenie weist eine Prävalenz von 0,5-1% und eine jährliche Inzidenzrate von 0,05% auf. Das Risiko für die Allgemeinbevölkerung im Verlauf des Lebens zu erkranken beträgt 0,6-1%. Die Prävalenzzahlen sind in verschiedenen Ländern mit unterschiedlichem soziokulturellen Hintergrund vergleichbar (Möller und Deister, 2005).

In annähernd 80% der Fälle kommt es zum Ausbruch der Erkrankung vor dem 30. Lebensjahr, in etwa 40% der Fälle vor dem 20. Lebensjahr (an der Heiden und Häfner, 2000). Frauen erkranken im Durchschnitt drei bis vier Jahre später als Männer. Das mittlere Alter beim Auftreten des ersten Krankheitszeichens beträgt bei Männern ca. 22 Jahre und bei Frauen ca. 25 Jahre. Das Erkrankungsrisiko steigt für Männer zwischen dem 15. und 25. Lebensjahr auf ein Maximum und fällt anschließend kontinuierlich auf ein sehr niedriges Niveau. Für Frauen ergibt sich ein weniger prägnanter Anstieg mit einem niedrigeren und breiteren Gipfel zwischen dem 15. und 30. Lebensjahr. Nach Absinken der Erkrankungsfälle ab dem 30. Lebensjahr zeigt sich jedoch ein zweiter Gipfel im Alter von 45 bis 50 Jahren (Häfner, 2003).

2.1.3 Symptomatik und Verlauf

Die Schizophrenie äußert sich in einer symptomatologischen Vielfalt, die im historischen Rückblick in Abhängigkeit von unterschiedlichen Krankheits- und Diagnosekonzepten zu zahlreichen Einteilungsmodellen führte. Emil Kraepelin beschreibt 1898 die verschiedenen Erscheinungsbilder der Erkrankung in Hinblick auf den schwerwiegenden Verlauf im Sinne einer gravierenden Persönlichkeitsveränderung als "Dementia praecox" (Möller, 2001). Auf Kraepelin geht auch die Einteilung nach klinischen Gesichtspunkten in einen paranoiden, hebephrenen und katatonen Subtyp zurück. Eugen Bleuler unterscheidet Grundsymptome (Assoziationsstörungen, Affektstörungen, Autismus und Ambivalenz) und akzessorische Symptome (Halluzinationen, Wahn und katatone Symptome) (Ebert, 2005), Kurt Schneider nimmt eine Kategorisierung in Symptome ersten (akustische Halluzinationen in Form von kommentierenden und dialogisierenden Stimmen, leibliche Beeinflussungserlebnisse, Gedankenlautwerden, Ich-Störungen wie Gedankeneingebung, Gedankenentzug oder Gedankenausbreitung und Wahnwahrnehmung) und zweiten Ranges (Wahneinfall, sonstige akustische, optische, olfaktorische und gustatorische Halluzinationen sowie Zöñästhesien) unter dem Gesichtspunkt der diagnostischen Wertigkeit vor (Möller und Deister, 2005).

Darüber hinaus ist eine dichotome Einteilung der Schizophrenie in positive (Halluzinationen, Wahnphänomene, positive formale Denkstörungen wie Inkohärenz oder Umständlichkeit und bizarres oder desorganisiertes Verhalten) und negative Symptome (Alogie, Affektverarmung, Apathie, Anhedonie und Aufmerksamkeitsstörungen) möglich (Andreasen und Olsen, 1982; Marneros und Andreasen, 1992).

Heute existieren zwei Klassifikationssysteme (Tabelle 1, Seite 5), die formale Kriterien zur Diagnostik der Schizophrenie aufstellen und Kraepelins Unterteilung der Erkrankung in verschiedene Subtypen aufgreifen. Beide Systeme, einerseits publiziert von der Weltgesundheitsorganisation (Weltgesundheitsorganisation, 2006), andererseits von der amerikanischen Psychiatrievereinigung (Saß, et al., 1999), fordern neben der Existenz charakteristischer Krankheitszeichen, die in unterschiedlicher Gewichtung in die Beurteilung eingehen, die Erfüllung bestimmter Zeitkriterien.

Die Schizophrenie zeigt als Erkrankung mit einem breit gefächerten Symptomenspektrum keinen einheitlichen Verlauf. Erste präepisodische Alterationen im Sinne eines Prodromalsyndroms werden häufig bereits mehrere Monate bis Jahre vor Ausbruch des

Vollbildes beobachtet. Die erste Episode manifestiert sich in annähernd der Hälfte der Fälle mit einer paranoid-halluzinatorischen Symptomatik. In der Regel kommt es zu rezidivierenden Krankheitsepisoden mit variierender Ausprägung residualer Beschwerden (Marneros et al., 1991). Eine Vorhersage des Krankheitsverlaufs ist im Einzelfall kaum zuverlässig möglich. Bestimmte Parameter, wie familiäre Belastung, schleichender Erkrankungsbeginn, schlechtes prämorbid Funktionsniveau und lange Dauer der unbehandelten Psychose lassen in Kombination jedoch eine grobe Abschätzung der Prognose zu (Bromet et al., 2005). Eine dauerhafte Vollremission mit Erreichen eines prämorbid Funktionsniveaus ist selten (Lauronen et al., 2005).

Tab. 1: Heute gebräuchliche Systematik der Klassifikation der Schizophrenie

Internationale Klassifikation psychischer Störungen (ICD-10) (Weltgesundheitsorganisation, 2006)	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV) (Saß, et al., 1999)
Paranoide Schizophrenie (F20.0)	Paranoider Typus (295.30)
Hebephrene Schizophrenie (F20.1)	Desorganisierter Typus (295.10)
Katatone Schizophrenie (F20.2)	Katatoner Typus (295.20)
Undifferenzierte Schizophrenie (F20.3)	Undifferenzierter Typus (295.90)
Postschizophrene Depression (F20.4)	
Schizophrenes Residuum (F20.5)	Residualer Typus (295.60)
Schizophrenia simplex (F20.6)	
Sonstige Schizophrenieformen (F20.8)	

2.1.4 Ätiopathogenese

Der Ätiopathogenese der Schizophrenie liegt ein komplexes Zusammenspiel von genetischer Disposition, biologischen und psychosozialen Faktoren zugrunde, die in variierendem Ausmaß zur Ausbildung einer erhöhten Vulnerabilität beitragen. Das allgemein anerkannte Vulnerabilitätsmodell (Abbildung 1, Seite 6) fasst die für die Entstehung der Erkrankung relevanten pathogenen Ebenen zusammen.

Die Modellvorstellung beruht darauf, dass genetische Faktoren und exogene Einflüsse hirnstrukturelle Alterationen sowie neurophysiologische und biochemische Veränderungen bedingen, die zur Manifestation der Erkrankung prädisponieren. Bei vulnerablen Individuen können psychosoziale Stressoren den Ausbruch akuter Symptomatik bzw. die Rezidivneigung begünstigen. Im Gegensatz dazu weisen zur Verfügung stehende Copingstrategien eine protektive Wirkung auf (Möller und Deister, 2005). Die erhöhte

Vulnerabilität wird dabei als Schwellensenkung des Individuums gegenüber Reizen definiert (Stamm und Bühler, 2001).

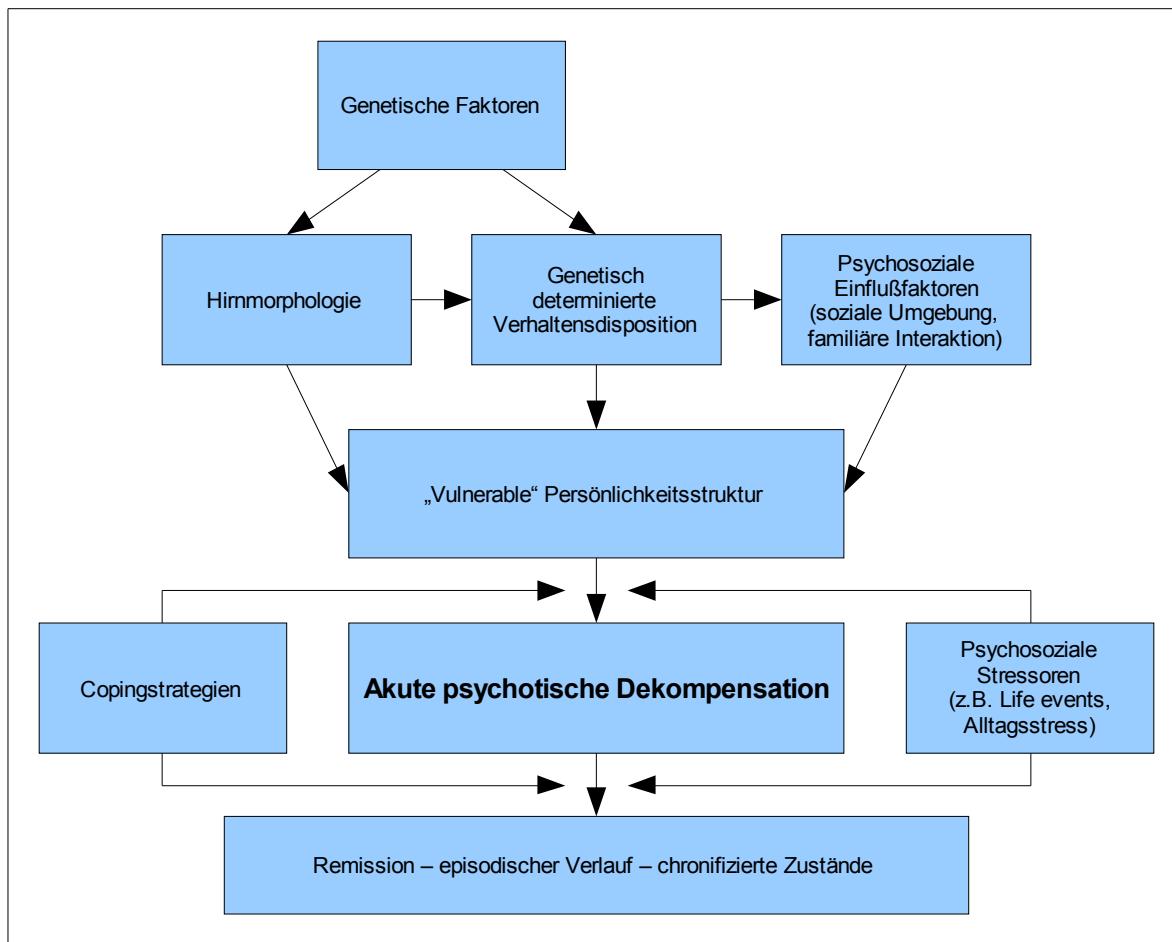


Abb. 1: Vulnerabilitätskonzept: Interaktion relevanter Faktoren (nach Möller und Deister, 2005)

Die Implikation der genetischen Prädisposition ist hinreichend belegt (McGuffin et al., 1995), so dass der familiären Belastung eine besondere Bedeutung als Risikofaktor für die Erkrankung zukommt (Mortensen et al., 1999; Isohanni et al., 2006). Welche neurobiologischen Prozesse letztlich die Vulnerabilität für Schizophrenie bedingen ist derzeit nur unzureichend entschlüsselt. Diskutiert werden in dieser Hinsicht Störungen der neuronalen Entwicklung, der neuronalen Plastizität und der Signalübertragung (Ross et al., 2006).

Befunde, die für die Bedeutung einer Hirnentwicklungsstörung in der Pathogenese der Erkrankung sprechen, liefern bildgebende Untersuchungen. So lassen sich strukturelle Abnormitäten, wie eine Erweiterung der Seitenventrikel und des dritten Ventrikels oder

eine Volumenreduktion des linken medialen Temporallappens, des Präfrontallappens und des linken superioren temporalen Gyrus bei Schizophrenen nachweisen (Harrison, 1999; Honea et al., 2005). Die Ergebnisse der strukturellen Bildgebung des ZNS unterstützen die These, dass verschiedene pathologische Prozesse in unterschiedlichen Phasen der neuronalen Entwicklung auftreten. Es gibt Hinweise darauf, dass frühe prä- oder perinatale Läsionen das Gehirn vulnerabel für späte, im besonderen postpubertale abnormale Entwicklungsprozesse machen. Für diesen Zeitpunkt, der im Zusammenhang mit dem Ausbruch der Erkrankung zu stehen scheint, weisen Studien den Verlust grauer Substanz und eine aberrierende Konnektivität in präfrontalen Regionen nach. Diese abnormalen Entwicklungsprozesse könnten mit Umweltfaktoren wie Stress oder Drogengebrauch, die mit der Manifestation einer Psychose assoziiert sind, interagieren und unter Umständen neurodegenerative Veränderungen unter Einbezug medial temporaler und orbital präfrontaler Regionen bewirken (Pantelis et al., 2005).

Die Hypothese einer gestörten zentralnervösen dopaminergen Signalübertragung bei Schizophrenie beruht auf der Beobachtung, dass antipsychotisch wirkende Neuroleptika zu einer Blockade von Dopaminrezeptoren führen und dass durch Dopaminagonisten, wie Amphetamine, eine schizophreneähnliche Psychose ausgelöst werden kann. Nach neueren Vorstellungen scheint ein mesolimbisch-mesokortikales Ungleichgewicht mit frontaler dopaminerger Hypoaktivität und mesolimbisch dopaminerger Hyperaktivität vorzuliegen. Exzessive dopaminerige Transmission in mesolimbisch dopaminergen Neuronen wird als Ursache positiver Symptomatik und eine verminderte mesokortikale Dopaminaktivität als Ursache negativer Symptomatik bewertet (Davis et al., 1991; Möller und Deister, 2005).

Negative Symptome und kognitive Störungen werden darüber hinaus in Zusammenhang mit einer Dysfunktion des glutamatergen Systems gebracht. Es wurde nachgewiesen, dass die gering dosierte, konstante Verabreichung von Ketamin, einem NMDA-Rezeptor-Antagonist, bei gesunden Individuen der Schizophrenie ähnliche, negative Symptome, kognitive Beeinträchtigungen und zum Teil auch psychotische Symptome hervorrufen kann (Krystal et al., 1994). Patienten mit remittierter Schizophrenie zeigten sich besonders empfänglich für die psychotomimetischen Wirkungen des Ketamins (Lahti et al., 2001).

Im Gegenzug weisen Placebo kontrollierte Studien eine Verbesserung negativer Symptomatik und kognitiver Funktion durch Agonisten der GMS (*glycine modulatory site*)

des NMDA-Rezeptors, wie Glyzin (Leiderman et al., 1996; Javitt, et al., 2001), D-Serine (Tsai et al., 1998; Heresco-Levy et al., 2002) und Sarkosin (Tsai et al., 2004) nach.

Diese Befunde sprechen dafür, dass eine Unterfunktion des NMDA-Rezeptors zur Pathophysiologie der Schizophrenie beiträgt. Darüber hinaus wird diese These durch die Identifikation von Suszeptibilitätsgenen, die auf die NMDA-Rezeptorfunktion oder die glutamaterge Neurotransmission einwirken, bestärkt (Coyle, 2006).

Der Fokus auf das serotonerge System resultiert gleichermaßen aus pharmakologischen Beobachtungen. Zum einen beruht die Wirkung atypischer Neuroleptika neben einer Dopamin-D₂-Rezeptor-Blockade auf einem Serotonin-5HT_{2A}-Rezeptor-Antagonismus (Meltzer und Deutch, 1999) und zum anderen entfaltet Lysergsäurediethylamid (LSD) über eine partiell-agonistische Wirkung am 5HT_{2A}-Rezeptor seine halluzinogenen Effekte (Aghajanian und Marek, 1999). Die beschriebenen Störungen der Neurotransmission stehen zwar mit Symptomen der Schizophrenie in Zusammenhang, ihre genaue pathophysiologische Bedeutung ist derzeit jedoch noch ungeklärt.

2.2 Genetische Aspekte der Schizophrenie

Die Schizophrenie scheint als polygene Erkrankung einem komplexen Erbgang zu folgen und ist durch die Übertragung eines intrafamiliär heterogenen und quantitativ variierenden Phänotyps gekennzeichnet. Dabei wird angenommen, dass der Beitrag einzelner Gene zum Erkrankungsrisiko gering ist, diese aber zusammen mit nichtfamiliären Faktoren auf die Krankheitsmanifestation einwirken (Maier et al., 1999). Allerdings sind die Anzahl der beteiligten Suszeptibilitätsloci, das von jedem Locus beigesteuerte Erkrankungsrisiko und der Grad der Interaktion zwischen den Loci unbekannt. Nachgewiesen wurde der genetische Einfluss auf die Schizophrenie mit Hilfe von Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien (Owen, 2000).

Familienstudien belegen, dass das Risiko zu erkranken mit abnehmendem Verwandtschaftsgrad zum Patienten sinkt. Für Verwandte dritten Grades wird das relative Risiko mit 2% und für Verwandte zweiten Grades mit 6% angegeben (Tsuang et al., 2001). Im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung besitzen Erstgradangehörige von Betroffenen ein um 5- bis 15fach erhöhtes Erkrankungsrisiko (Kendler und Gardner, 1997).

Zwillingsstudien vergleichen die Konkordanzraten von monozygoten und dizygoten Zwillingen. Monozygote Zwillinge weisen im Gegenzug zu dizygoten Zwillingen eine nahezu identische genetische Ausstattung auf. Wenn man davon ausgeht, dass beide Zwillingssarten gemeinsame Umwelteinflüsse teilen, indiziert eine höhere Konkordanz für eine Störung bei monozygoten Zwillingen eine genetische Ätiologie. Die Konkordanzraten bei Schizophrenie werden für monozogene Zwillinge mit 41-65% und für dizygote Zwillinge mit 0-28% angegeben. Aus dem Verhältnis der Konkordanzraten kann der Anteil der durch genetische Faktoren erklärbaren ätiologischen Varianz, also die Heritabilität, auf 85% geschätzt werden (Cardno und Gottesman, 2000). Da die Konkordanzraten monozygoter Zwillinge im Mittel etwa 50% betragen und die Schätzung der Heritabilität unter 100% liegt, wird deutlich, dass das Erkrankungsrisiko nicht allein auf genetische Einflüsse zurückgeführt werden kann und Umweltfaktoren eine Bedeutung zukommt (Kirov et al., 2005).

Adoptionsstudien stellen die geeignetste Methode zur Entflechtung von Anlage- und Umwelteinflüssen dar und weisen darauf hin, dass familiäre Häufung bei Schizophrenie überwiegend auf genetische Faktoren zurückzuführen ist. Frühzeitig in gesunde Familien adoptierte Kinder mit einem an Schizophrenie erkrankten leiblichen Elternteil weisen selbst ein erhöhtes Erkrankungsrisiko auf. Im Gegensatz dazu besitzen Kinder gesunder Eltern, die in einer Adoptivfamilie mit schizophrenem Elternteil aufgewachsen, kein erhöhtes Risiko zu erkranken (Kendler et al., 1994; Kety et al., 1994).

Zur Eingrenzung chromosomaler Regionen, in denen sich für die Schizophrenie relevante DNA-Varianten befinden und zur weiteren Identifikation von Suszeptibilitätsgenen werden molekulargenetische Studien durchgeführt. Die bis zum Beginn des dritten Jahrtausends erfolgversprechendsten Strategien zur Entdeckung der verantwortlichen Gene verfolgen Kopplungs- und Assoziationsstudien, die eine Abweichung vom Mendelschen Gesetz der unabhängigen Vererbung in differierender Weise messen. Im Rahmen dieser molekulargenetischen Untersuchungen sind Marker erforderlich, die auf der Variabilität im menschlichen Genom basieren (Cichon et al., 2002).

Drei Millionen der rund drei Milliarden Nukleotidbasen, aus denen sich die DNA-Sequenz des haploiden Genoms zusammensetzt, unterscheiden sich zwischen einzelnen Individuen. Ein Teil dieser Sequenzvarianten ist für den genetischen Beitrag der

phänotypischen Variabilität und Krankheitsdisposition verantwortlich. Darüber hinaus spielen derartige Polymorphismen eine bedeutende Rolle als Marker und ermöglichen so die Orientierung im Genom. Der mit 90% größte Anteil an der genetischen Variabilität geht auf SNPs (*single nucleotide polymorphism*) zurück, wobei als SNPs Mutationen einer einzelnen Base bezeichnet werden, deren minores Allel mindestens bei einem Prozent der Weltbevölkerung vorkommt (Cichon et al., 2002).

Die Untersuchung dieser Vielzahl an Einzelbasenpolymorphismen auf ihre Krankheitsbeteiligung wird durch die Haplotyp-Blockstruktur des humanen Genoms erleichtert. Je näher Gene auf einem Chromosom zusammen liegen, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit, dass sie nicht durch Rekombination getrennt werden, also auf Grund eines Kopplungsungleichgewichts kosegregieren. In Folge treten die einzelnen Allele abhängig voneinander auf. Dies bedeutet, dass bei Vorliegen einer DNA-Variante mit hoher Wahrscheinlichkeit auch auf das Vorliegen der zweiten Variante geschlossen werden kann. Die innerhalb eines Blocks mit bestehendem Kopplungsungleichgewicht beobachteten Allelkombinationen bilden einen Haplotyp. Die häufigen Haplotypen der resultierenden Blöcke können nun durch die Allele einzelner ausgewählter Polymorphismen gekennzeichnet werden. Die Allele der übrigen SNPs stehen mit diesen ausgewählten DNA-Varianten im Kopplungsungleichgewicht und können daher abgeleitet werden (Freudenberg et al., 2002).

Kopplungsstudien untersuchen innerhalb von Familien mit zwei oder mehr betroffenen Mitgliedern, ob ein genetischer Marker und der Krankheitsphänotyp über zufällig häufig gemeinsam vererbt werden. Eine dem Phänotyp zugrunde liegende DNA-Sequenz und ein genetischer Marker werden mit um so geringerer Wahrscheinlichkeit während der gametischen Zellteilung voneinander getrennt und kosegregieren, je näher sie auf einem Chromosom zusammen liegen. Daher lässt sich über die bekannte Lage des Markers auf die chromosomale Region schliessen, in der mit hoher Wahrscheinlichkeit verantwortliche Krankheitsgene liegen (Ziegler, 2002). Mit dem Einsatz von nur wenigen Hundert gleichmäßig verteilten Markern ist es im Rahmen von Kopplungsstudien möglich das gesamte Genom zu detektieren und dadurch Krankheitsgene auch ohne Wissen über die Ätiologie der Erkrankung zu lokalisieren (Owen et al., 2004).

In einer 2003 veröffentlichten Meta-Analyse wurden die Ergebnisse von 20 systematischen Kopplungsstudien auf ihre Übereinstimmung geprüft. Dabei zeigte sich eine größere Konsistenz als bisher angenommen. Für die zytogenetische Lokalisation 2p12-q22.1 wurde eine signifikante genomweite Kopplung angegeben. Als bedeutende Kandidatenregionen werden die chromosomalen Loci 1p13.3-q23.3, 2q22.1-q23.3, 3p25.3-p22.1, 5q23.2-q34, 6pter-p22.3, 6p22.3-p21.1, 8p22-p21.1, 11q22.3-q24.1, 14pter-q13.1, 20p12.3-p11 und 22pter-q12.3 aufgeführt (Lewis et al., 2003).

In einer weiteren Meta-Analyse genomweiter Kopplungsuntersuchungen von 7413 betroffenen Individuen mit 3255 Stammbäumen erfüllte eine Gruppe von 10 jeweils 30cM weiten chromosomalen Kartierungseinheiten nominell die empirischen Kriterien einer signifikanten Kopplung ($P_{SR} < 0.05$). 5 dieser Abschnitte schienen sich mit den von Lewis et al. (2003) angegebenen Kandidatenregionen zu decken. Durch Adaption der Weite der Kartierungseinheit konnte ein genomweiter Kopplungsbefund auf Chromosom 2q (119-152 Mb), der das entsprechende Ergebnis von Lewis et al. (2003) replizierte, gezeigt werden. Die separate Untersuchung der europäischen Stichproben ergab deutliche Kopplungshinweise für einen Abschnitt auf Chromosom 8p (16-33 Mb). Für zwei singuläre genetische Abschnitte auf Chromosom 5q (142-168 Mb) und 2q (103-134 Mb) gaben die Autoren ferner für alle Studien deutliche Kopplungshinweise an (Ng et al., 2009).

Mit Kopplungsstudien ist es somit gelungen, chromosomale Regionen einzugrenzen, in denen vermutlich relevante Krankheitsgene lokalisiert sind. Allerdings gibt es keine Region, die konsistent in allen Studien nachgewiesen werden konnte. Dem scheint die große Zahl beteiligter Gene mit jeweils geringer phänotypischer Penetranz und die Variabilität der einzelnen Studien in Bezug auf Phänotypdefinition, Stichprobengröße und Dichte und Art der verwendeten Marker zugrunde zu liegen (Nöthen et al., 2004). Die Gesamtzahl der Gene, die sich in durch Kopplungsuntersuchungen identifizierten chromosomalen Regionen befinden, nähert sich 4000, etwa einem Viertel aller bekannten Gene, was für eine geringe Präzision der Methode spricht. Mit Hilfe von Kopplungsstudien gelingt es also nicht die eigentlichen Suszeptibilitätsgene selbst zu detektieren (Tandon et al., 2008).

Im Gegensatz zu Kopplungsanalysen stellen Assoziationsuntersuchungen ein sensitives Verfahren zum Nachweis von Risikogenen mit geringem Beitrag zur Krankheitsentstehung

dar. Dabei wird verglichen, ob eine bestimmte DNA-Sequenzvariante häufiger in einem Patientenkollektiv als in der Kontrollgruppe zu finden ist. Ist dies der Fall besteht eine Assoziation zwischen dem untersuchten Polymorphismus und der Erkrankung. Die Ursache kann entweder sein, dass der Polymorphismus selbst zum Krankheitsgeschehen beiträgt oder dass sich dieser in unmittelbarer räumlicher Nähe zu einem direkt am Krankheitsgeschehen beteiligten Gen befindet und die Assoziation über ein Kopplungsungleichgewicht hergestellt wird (Propping et al., 1994).

Um mit Assoziationsanalysen das gesamte Genom systematisch zu detektieren, sind im Gegensatz zu Kopplungsuntersuchungen viele Tausend Marker zur vollständigen Abdeckung erforderlich. Aus diesem Grund wurde bislang eine Auswahl an Kandidatengenen auf Assoziation zur Erkrankung überprüft. Dabei handelt es sich einerseits um funktionelle Kandidaten, also um Gene, die für ein Protein kodieren, dem eine Rolle in der Pathogenese der Erkrankung zugeschrieben wird, andererseits um positionelle Kandidaten, also Gene, die in einer Region liegen, deren Beitrag zur Suszeptibilität über Kopplungsstudien ermittelt wurde (Owen et al., 2004).

Tabelle 2 (Seite 13) listet eine Auswahl von Genen auf, für die positive Assoziationsbefunde detektiert wurden und die in der Diskussion stehen, zur Vulnerabilität für Schizophrenie beizutragen. Diese Befunde können allerdings nur einen kleinen Teil des genetischen Erkrankungsrisikos erklären und es bleibt weiterhin unklar, wie genetische Variationen die Vulnerabilität beeinflussen (Owen et al., 2004). Es gelang auch häufig nicht, die positiven Resultate zu replizieren.

Hierzu nahmen Sanders et al. (2008) eine Assoziationsuntersuchung in Bezug auf 14 Kandidatengene (RGS4, DISC1, DTNBP1, STX7, TAAR6, PPP3CC, NRG1, DRD2, HTR2A, DAOA, AKT1, CHRNA7, COMT und ARVCF) in einer Stichprobe europäischer Abstammung vor. Insgesamt wurden 648 SNPs, darunter SNPs, für die eine Assoziation mit der Erkrankung berichtet wurde und SNPs, die in funktionellen Domänen der Gene lokalisiert sind, sowie Haplotypen analysiert. 30 Marker erreichten punktuell ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$, darunter rs4941573, rs6313 und rs6311 im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen. Für rs6313 (T102C) und rs6311 (A-1438G), die sich in einem Kopplungsungleichgewicht befinden, wurde eine nominelle Assoziation, im Gegensatz zu vorhergehenden Befunden jedoch mit dem T-Allel von rs6313, berichtet. Keiner der 30

Marker erreichte, auch unter Ausschluss der Fälle mit schizoaffektiver Störung, eine Gen- oder Experiment-weite ($p < 0,00008$) Signifikanz.

Tab. 2: Auswahl von Studien mit positiven Assoziationsbefunden

Gen	Beschreibung	Zytogenetische Lokalisation	Studien
AKT1	V-AKT murine thymoma viral oncogene homolog 1	14q32.32	Emamian et al., 2004 Schwab et al., 2005
COMT	Catechol-O-methyltransferase	22q11.21	Shifman et al., 2002 Sanders et al., 2005
DAAO	D-amino acid oxidase	12q24	Chumakov et al., 2002 Schumacher et al., 2004
DISC1	Disrupted in schizophrenia 1	1q42.1	Cannon et al., 2005 Zhang et al., 2006
DRD3	Dopamine receptor D3	3q13.3	Williams et al., 1998
DTNBP1	Dystrobrevin binding protein 1	6p22.3	Straub et al., 2002 Williams et al., 2004a Kirov et al., 2004 Numakawa et al., 2004
G30		13q34	Chumakov et al., 2002
G72	D-amino acid oxidase activator (DAOA)	13q34	Chumakov et al., 2002 Schumacher et al., 2004
HTR2A	Serotonin receptor 2A	13q14-q21	Williams et al., 1997 Abdolmaleky et al., 2004 Baritaki et al., 2004 Vaquero-Lorenzo et al., 2006
NRG1	Neuregulin 1	8p21-p12	Stefansson et al., 2002 Stefansson et al., 2003 Williams et al., 2003
PRODH	Proline dehydrogenase 1	22q11.21	Liu et al., 2002 Li et al., 2004
RGS4	Regulator of G-protein signaling 4	1q23.3	Chowdari et al., 2002 Williams et al., 2004b Chen et al., 2004 Morris et al., 2004

Im Zuge technischer Entwicklungen stehen in jüngerer Zeit Genchips zur Verfügung, die es in ökonomischer Weise möglich machen, eine weitaus höhere Zahl von Einzelnukleotidpolymorphismen in einem Fall-Kontroll-Studiendesign auf Assoziation zum Phänotyp zu untersuchen. Mit diesem Ansatz können über 80% der im *Haplotype-Map*-(*HapMap*)-Projekt (International HapMap Consortium, 2005) kartierten SNPs in einer Stichprobe evaluiert werden, was eine genomweite Assoziationsuntersuchung (GWAS) ermöglicht und gleichzeitig ein hypothesenfreies Vorgehen darstellt (Psychiatric GWAS

Consortium Coordinating Committee et al., 2009). Erste Publikationen berichten robuste Assoziationen von Polymorphismen in den Genloci des Zinkfingers ZNF804A (O'Donovan et al., 2008) sowie von TCF4 (Transkriptionsfaktor 4), MHC (HLA-Region) und Neurogranin (Stefansson et al., 2009).

Bis Mitte des Jahres 2011 wurden ein gutes Dutzend genomweite Assoziationsuntersuchungen zur Schizophrenie veröffentlicht. Deren Autoren weisen teilweise neben den oben genannten eine Vielzahl an Lokalisationen mit genomweiter Signifikanz aus: DOCK4 und CEACAM21 (Alkelai et al., 2011); MSRA (Ma et al., 2011); PLAA, ACSM1 und ANK3 (Athanasius et al., 2010); MHC, TCF4, FXR1 und PTBP2 (International Schizophrenia Consortium et al., 2009); die erweiterte MHC-Region bei 6p22.1 (Shi et al., 2009); CCDC60 (Kirov et al., 2009); RELN ausschließlich unter Frauen (Shifman et al., 2008) und CSF2RA (Lencz et al., 2007). Yamada et al. (2011), Ikeda et al. (2011), Schanze et al. (2010), Need et al. (2009) und Sullivan et al. (2009) stellten in ihren Stichproben keine signifikante genomweite Assoziation eines Polymorphismus mit der Erkrankung fest.

Die intensiven Bemühungen mit molekulargenetischen Methoden DNA-Sequenzvarianten, die zum Erkrankungsrisiko für Schizophrenie beitragen, auszumachen, resultieren aus der unbestritten hohen Heritabilität der Erkrankung. Die Ergebnisse der Kopplungs- und Assoziationsuntersuchungen von Kandidatengenen sind jedoch inkonsistent. Für annähernd alle auf Assoziation untersuchten Genorte wurden auch negative Ergebnisse berichtet. Bestätigende Replikationen stehen häufig aus. Auch funktionelle Risikovarianten mit eindeutiger Implikation in die Pathogenese wurden bisher nicht entdeckt (Alaerts und Del-Favero, 2009). Die Schwierigkeiten, die bei der Kartierung von relevanten chromosomal Regionen durch Kopplungsanalysen und bei der Identifizierung von DNA-Varianten mittels Assoziationsuntersuchungen auftreten, lassen sich unter der Annahme der genetisch komplexen Architektur der Erkrankung bestehend aus multiplen Genwirkungen mit jeweils nur geringem Beitrag zur Suszeptibilität und deren Interaktion sowohl untereinander, als auch mit Umweltfaktoren, erklären (Riley und Kendler, 2006). Einige Autoren schlagen daher vor, dass nicht DNA-Varianten, sondern vererbbarer Alterationen der Genexpression, also epigenetische Faktoren, die genetischen Wurzeln der Erkrankung darstellen könnten (Crow, 2007). Über deren Rolle in der Ätiopathogenese der Schizophrenie gibt es jedoch kaum Erkenntnisse. Ferner wird postuliert, dass

insbesondere die genetische Heterogenität der Störung für die Schwierigkeiten bei der Aufschlüsselung der genetischen Basis verantwortlich ist und dass die einzelnen Risikogenvarianten lediglich klinische Teilespekte bedingen (Tandon et al., 2008). Diese These verfolgt das in Kapitel 2.3 dargestellte Konzept der Endophänotypen (Zobel und Maier, 2004).

2.3 Das Konzept der Endophänotypen

Das Konzept der Endophänotypen versucht der ätiologischen Heterogenität psychischer Störungen bei der Erforschung der genetischen Ursachen Rechnung zu tragen. Da durch die Differenzierung der Schizophrenie in an der Psychopathologie orientierte Subtypen keine ätiologische Homogenisierung erreicht werden konnte, verfolgt dieser alternative Ansatz die Unterteilung der Erkrankung auf neurobiologischer Ebene. Auf der Suche nach Vulnerabilitätsgenen wird dabei der breit definierte Krankheitsphänotyp durch neurobiologische Korrelate, von denen angenommen wird, dass sie die Störung mitbedingen, ersetzt (Zobel und Maier, 2004).

Während die Symptomatik im Verlauf der Erkrankung und Behandlung variierend ausgeprägt ist, stellen zugrunde liegende Dysfunktionen des Gehirns stabilere Marker dar, deren genetische Basis untersucht werden kann (Gur et al., 2007). Diese neurobiologischen Korrelate werden als Indikatoren der genetischen Vulnerabilität postuliert (Gur et al., 2007) und treten damit nicht nur bei Erkrankten, sondern auch vor Krankheitsbeginn und bei vulnerablen Personen auf. Sie wurden erstmals von Gottesman et al. als Endophänotypen diskutiert (Zobel und Maier, 2004).

Das Konzept basiert auf der Annahme, dass Endophänotypen unmittelbarer als die diagnostische Entität durch genetische Einflüsse geprägt werden und dass die genetische Determination der dem Endophänotyp zugrunde liegenden neurobiologischen Mechanismen im Vergleich zum Krankheitsphänotyp eine geringere Komplexität aufweist. Sie sollten demnach gegenüber der Störung eine stärkere Assoziation zu ursächlichen DNA-Varianten zeigen. Die Untersuchung von Endophänotypen in molekularbiologischen Studien könnte folglich die Identifikation von Suszeptibilitätsgenen erleichtern (Gottesman und Gould, 2003; Braff et al., 2007; Gur et al., 2007).

Als Endophänotypen können in dieser Hinsicht neurokognitive, neurophysiologische, biochemische, endokrinologische oder neuroanatomische Variablen und Alterationen der neuronalen Entwicklung unter der Voraussetzung quantitativer Messbarkeit dienen. Die Identifikation dieser Parameter erfolgt in erster Linie durch Studien, die mit Schizophrenie assoziierte Funktionsdefizite untersuchen (Braff et al., 2007). Gottesman und Gould fordern für die Eignung als Endophänotyp die Erfüllung folgender Kriterien (Gottesman und Gould, 2003):

1. Der Endophänotyp muss mit der Erkrankung assoziiert sein.
2. Der Endophänotyp wird vererbt.
3. Der Endophänotyp ist vornehmlich stabil, d. h. er manifestiert sich unabhängig von der Krankheitsaktivität.
4. Der Endophänotyp cosegregiert innerhalb von Familien mit der Erkrankung.
5. Der bei betroffenen Familienmitgliedern vorliegende Endophänotyp tritt bei gesunden Angehörigen häufiger als in der Allgemeinbevölkerung auf.

Besonders mit Schizophrenie assoziierte kognitive Defizite erfüllen die meisten Kriterien (Jablensky, 2006) und stehen im Mittelpunkt der Aufmerksamkeit um potentielle Endophänotypen (Heydebrand, 2006). Sie lassen sich bereits bei Erkrankungsbeginn nachweisen (Bilder et al., 2000), zeigen keinen signifikanten Zusammenhang mit psychotischen Symptomen (O'Leary et al., 2000), sind zeitlich stabil (Hoff et al., 2005) und können auf einen relativ schlechten Verlauf verweisen (Bilder et al., 2000). Beeinträchtigungen der kognitiven Leistung konnten sowohl bei Patienten, als auch in geringerem Ausmaß bei Angehörigen nachgewiesen werden. In erster Linie sind das Gedächtnis und die Exekutivfunktionen betroffen (Sitskoorn et al., 2004). In einer Meta-Analyse kognitiver Defizite von Erstgradangehörigen schizophrener Patienten kommen die Autoren zu dem Ergebnis, dass sich besonders die Exekutivfunktionen und das Arbeitsgedächtnis als wertvoll bei der Suche nach Risikogenen erweisen könnten (Snitz et al., 2006).

Neben neurokognitiven Defiziten werden auch neurophysiologische Normabweichungen als Kandidaten für Endophänotypen angesehen. In dieser Hinsicht kommt einer gestörten Informationsverarbeitung besondere Bedeutung zu, die mit verschiedenen Techniken erfasst werden kann. Die erfolgreiche Verarbeitung sensorischer Reize erfordert die

Fähigkeit intrinsische Antworten auf sich wiederholende oder irrelevante Stimuli zu unterdrücken und umgekehrt Antworten auf weniger häufige, abweichende oder neuartige Stimuli zu ermöglichen bzw. zu fördern (Turetsky et al., 2007). Vieles weist darauf hin, dass bei Schizophrenen eine Beeinträchtigung dieser Prozesse vorliegt. Am häufigsten wurde im Rahmen von Messungen einer gestörten Inhibition bei Schizophrenie die Schreckreaktion (*prepulse inhibition of the startle reflex*), die Unterdrückung der P50-Welle bei akustisch-evozierten Potentialen und antisakkadische Augenbewegungen untersucht. Für diese drei Kandidatenendophänotypen konnten abnorme Veränderungen bei Patienten nachgewiesen werden und es bestehen eindeutige Hinweise darauf, dass die Veränderungen erblich sind und auch bei nicht erkrankten biologischen Angehörigen auftreten (Turetsky et al., 2007).

2.4 Exekutivfunktionen und der WCST bei Schizophrenie

Exekutivfunktionen sind mentale Prozesse höherer Ordnung, die ein komplexes Nervennetzwerk benötigen, das sowohl kortikale als auch subkortikale Komponenten umfasst. Zu den Exekutivfunktionen werden in der Literatur Prozesse wie Antizipation, Planung, Handlungsinitiierung, kognitive Flexibilität bzw. Umstellfähigkeit ("switching"), Koordinierung von Informationen, Sequenzierung und Zielüberwachung gerechnet (Matthes-von Cramon und von Cramon, 2000). Sie werden zur Planung von Handlungen und Verfolgung bestimmter Ziele über mehrere Schritte hinweg benötigt. Darüber hinaus scheinen Exekutivfunktionen mit der Zuteilung von Aufmerksamkeitsressourcen befasst zu sein und der Anpassung an neuartige Situationen in einer veränderlichen Umwelt zu dienen (Matthes-von Cramon und von Cramon, 2000). Smith und Jonides (1999) nehmen eine Einteilung der Exekutivfunktionen in fünf Komponenten vor:

1. Aufmerksamkeit und Inhibition (*"Attention and Inhibition"*):
Die Fokussierung der Aufmerksamkeit auf handlungsrelevante Informationen und Prozesse sowie die Hemmung irrelevanter Informationen und Prozesse.
2. Ablauforganisation (*"Task Management"*):
Das Erstellen eines Ablaufprotokolls für eine komplexe Handlung, die rasche Wechsel zwischen den beteiligten Komponenten erfordert.

3. Planen ("Planning"):
Planung der Abfolge von Handlungsschritten, um ein Ziel zu erreichen.
4. Überwachung ("Monitoring"):
Die fortlaufende Prüfung und Aktualisierung der Inhalte im Arbeitsgedächtnis zur Bestimmung des jeweils nächsten Schritts in einer Handlungsfolge.
5. Kodierung ("Coding"):
Die Kodierung von Repräsentationen im Arbeitsgedächtnis nach der Zeit und dem Ort ihres Auftretens.

Aus dieser Einteilung wird ersichtlich, dass das Arbeitsgedächtnis eine bedeutende Komponente der exekutiven Funktionen darstellt. Neuropsychologische Befunde weisen daraufhin, dass exekutive Prozesse eng mit einer intakten Funktion der Frontallappen verknüpft sind (Elliott, 2003). Abbildung 2 (Seite 19) gibt eine Lateralansicht des Gehirns mit dem linken Frontallappen wieder. Patienten mit Schädigungen des präfrontalen Kortex zeigen Beeinträchtigungen von Urteilskraft und Organisationsfähigkeit, sowie Schwierigkeiten beim Planen und Treffen von Entscheidungen (Stuss und Benson, 1984). In verschiedenen Studien wurde der dorsolaterale frontale Kortex, der in erster Linie auf den dorsolateralen Kopf des Nucleus caudatus projiziert, mit exekutiven Funktionen, wie Wortflüssigkeit, kognitive Umstellfähigkeit, Planung, Inhibition des Antwortverhaltens, organisatorische Fähigkeiten, Problemlösung oder abstraktes Denken in Verbindung gebracht (Alvarez und Emory, 2006). Die Bedeutung des frontalen Kortex für exekutive Prozesse kann einerseits durch den Vergleich der Leistung von Individuen mit Frontalhirnschädigungen und gesunden Personen in Tests der Exekutivfunktionen ermittelt werden und andererseits durch die funktionelle bildgebende Messung der Aktivierung bestimmter Regionen des Frontalhirns während dieser Tests (Alvarez und Emory, 2006). So wurde nachgewiesen, dass Patienten mit Schädigungen des präfrontalen Kortex in komplexen neuropsychologischen Tests zur Untersuchung exekutiver Funktionen im Vergleich zu gesunden Kontrollen schlechtere Ergebnisse erzielen (Miyake et al., 2000).

In einer Meta-Analyse berichten die Autoren, dass Probanden mit Frontalhirnläsionen im *Wisconsin-Card-Sorting-Test* (WCST), einem sensitiven Messinstrument exekutiver Funktionen, im Vergleich zu Kontrollen eine verminderte Leistung zeigen und dass es während des Testablaufs bei gesunden Individuen zu einer erhöhten Aktivierung des

dorsolateralen präfrontalen Kortex kommt. Darüber hinaus konnte eine Aktivierung weiterer frontaler Regionen, inklusive des ventromedialen und orbitofrontalen Kortex festgestellt werden. Die Autoren schlussfolgern, dass für eine normale Leistung im WCST ein bilateral intakter präfrontaler Kortex, im Besonderen der dorsolaterale präfrontale Kortex, erforderlich ist (Alvarez und Emory, 2006).

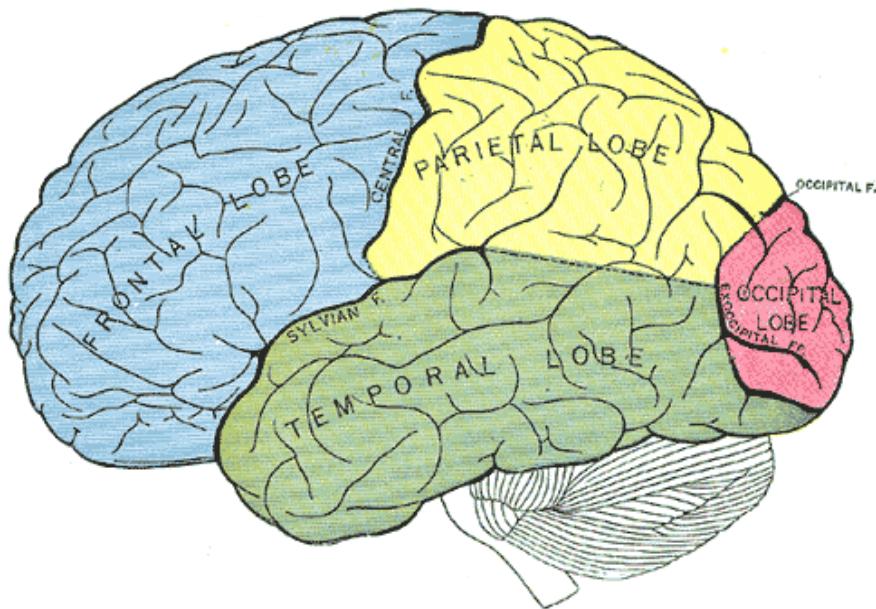


Abb. 2: Die Frontallappen (Gray, 1918):

Die Frontallappen werden durch den Sulcus centralis von den Parietallappen und den Sulcus lateralis von den Temporallappen abgegrenzt. Im Laufe der Evolution haben sich die Frontallappen parallel zur Entwicklung kognitiver Fähigkeiten stark vergrößert und nehmen nun in etwa ein Drittel des menschlichen Kortex ein (Gazzaniga et al, 1998). Die Frontallappen setzen sich aus zwei Teilen zusammen. Der hintere Anteil umfasst den motorischen, den prämotorischen und den supplementärmotorischen Kortex einschließlich der Repräsentation für Sprache in der Broca-Area. Die nach rostral anschließenden Teile werden präfrontaler Kortex genannt (Thier, 2003). 60% der frontalen Rinde fallen auf den dorsolateralen präfrontalen Kortex, 22% auf den ventromedianen Kortex und 12% auf den orbitalen präfrontalen Kortex (Matthes-von Cramon und von Cramon, 2000).

Die Beteiligung des präfrontalen Kortex an der Ausführung des WCST konnte in weiteren Untersuchungen mit funktioneller Bildgebung bestätigt werden (Nagahama et al., 1996; Monchi, et al., 2001). Allerdings führt der WCST darüber hinaus zu einer Aktivierung nicht frontaler kortikaler und subkortikaler Gehirnregionen, was für die Rolle eines komplexen neuronalen Netzwerks spricht. Alvarez und Emory (2006) leiten daraus ab, dass sich

exe kutive Funktionen aus einer Vielzahl funktioneller Fähigkeiten, die in Teilen von den Frontallappen gesteuert werden, zusammensetzen und dass höhergradige kognitive Tests, wie der WCST, auch die Beteiligung subkortikaler und kortikaler Regionen erfordern, von denen viele in Verbindung mit den Frontallappen stehen.

Die Exekutivfunktionen stellen neben dem verbalen Gedächtnis und der Aufmerksamkeit eine der kognitiven Domänen dar, die bei Schizophrenie eine bedeutende Beeinträchtigung aufweisen (Sitskoorn et al., 2004). Im WCST wurde konsistent eine verminderte Leistung bei Patienten beobachtet und diese als Hinweis auf eine Dysfunktion im Bereich der Frontallappen als Kernbestandteil der Störung interpretiert (Bearden und Freimer, 2006).

Beim WCST handelt es sich um den wahrscheinlich am häufigsten zur Untersuchung exekutiver Funktionen eingesetzten Test (Miyake et al., 2000). Die Aufgabe des Probanden besteht darin, ein korrektes Zuordnungsprinzip von Karten, die sich in verschiedenen Parametern unterscheiden, durch Fehlerrückmeldungen zu erkennen und anzuwenden. Nach zehn konsekutiv korrekten Zuordnungen erfolgt schließlich ein Wechsel des Zuordnungsprinzips ohne diesbezügliche Information an den Probanden (Heaton et al., 1993).

Der WCST erfordert die flexible Anwendung von Problemlösungsstrategien im Hinblick auf Fehlerrückmeldungen (Wolf et al., 2002), wird als Indikator der individuellen Leistungsfähigkeit bei der Entwicklung logischer Kategorien angesehen (Abbruzzese et al., 1996) und misst die Fähigkeit zur kognitiven Umstellung (Miyake et al., 2000). Kennzeichen einer beeinträchtigten Testleistung sind das Unvermögen, eine korrekte Teststrategie zu entwickeln, sie aufrecht zu halten und an wechselnde Bedingungen anzupassen (Wolf et al., 2002). Perseverative Antworten entsprechen der Unfähigkeit zum Wechsel zu einer neuen Zuordnungsstrategie bzw. dem Unvermögen, die Tendenz zu einer bestimmten Zuordnung zu inhibieren, und stellen eine der stabilsten Messungen bei schizophrenen Erwachsenen dar. Sie treten auf, wenn der Proband seine Zuordnungen nach dem bisher korrekten Prinzip trotz negativer Fehlerrückmeldungen fortsetzt, die richtige Strategie aus den Augen verliert oder lediglich falsch rät (Wolf et al., 2002).

Zahlreiche Studien berichten im Vergleich zu gesunden Personen eine erhöhte Anzahl perseverativer Antworten und perseverativer Fehler bei an Schizophrenie erkrankten Individuen (Franke et al., 1992; Abbruzzese et al., 1996; Dieci et al., 1997; Koren et al.,

1998). Franke et al. (1992) schildern, dass Patienten in allen untersuchten Variablen des Tests signifikant schlechtere Ergebnisse erzielten und dass darüber hinaus nicht erkrankte Geschwister eine signifikant höhere Rate perseverativer Zuordnungen aufwiesen. Aus diesem Ergebnis folgern die Autoren, dass die differierende Frequenz perseverativer Antworten, die eine Beeinträchtigung der kognitiven Flexibilität widerspiegelt, als Indiz für die potentielle Rolle des WCST als Vulnerabilitätsmarker gewertet werden könne. Auch in einer 2004 veröffentlichten Meta-Analyse kognitiver Defizite von biologischen Angehörigen schizophrener Patienten wurden signifikante Unterschiede u. a. in der WCST-Leistung zwischen Angehörigen und Kontrollen festgestellt (Sitskoorn et al., 2004). Ferner unterschieden sich die Nachkommen schizophrener Patienten signifikant von Gesunden in diversen Testvariablen, insbesondere wiederum in der Anzahl perseverativer Zuordnungen und perseverativer Fehler. Allerdings wurden keine Unterschiede zwischen Nachkommen, die zu einem späteren Zeitpunkt selbst erkrankten, und solchen die gesund blieben festgestellt. Der Vergleich mit den WCST-Leistungen von Kindern, die von Elternteilen mit affektiven Störungen abstammten, zeigte ein signifikant schlechteres Abschneiden der Probanden mit Schizophrenierisiko (Wolf et al., 2002).

Wolf et al. (2002) konkludieren, dass die vorliegenden Befunde auf die Rolle des WCST als Marker der Vulnerabilität für Schizophrenie verweisen und die Hypothese unterstützen, dass auch Personen mit Schizophrenierisiko durch Defizite exekutiver Funktionen charakterisiert sind.

2.5 Das Arbeitsgedächtnis und der n-back-Test bei Schizophrenie

Das Arbeitsgedächtnis wird allgemein als Speichersystem mit limitierter Kapazität zur temporären Aufrechterhaltung und Manipulation von Informationen angesehen und ist bei komplexen kognitiven Fähigkeiten, wie der Auffassungsgabe, Lernvorgängen und logischem Denken erforderlich. Baddeley und Hitch schlagen 1974 ein aus drei Komponenten bestehendes Modell des Arbeitsgedächtnisses vor. In dessen Mittelpunkt steht die zentrale Exekutive, ein Kontrollsysteem der Aufmerksamkeit mit limitierter Kapazität, dem zwei Subsysteme, die phonologische Schleife und der visuell-räumliche Notizblock, untergeordnet sind (Baddeley, 2001). Die phonologische Schleife dient der Aufrechterhaltung verbaler und akustischer Informationen und setzt sich aus zwei Subkomponenten zusammen. Dabei handelt es sich zum einen um den phonologischen

Speicher und zum anderen um das "*articulatory rehearsal system*", einem artikulatorischen Kontrollprozess (Baddeley, 2000). Im phonologischen Speicher werden akustische Informationen für eine Zeitspanne von zwei Sekunden aufrecht erhalten, bevor sie verblasen. Durch Reartikulation ("*rehearsal*"), analog dem Vorsprechen mit einer inneren Stimme, können im Speicher befindliche Informationen wieder aufgefrischt werden. Die sofortige Erinnerung ist jedoch limitiert, da die Artikulation durch die innere Stimme in Realzeit erfolgt und bei steigender Wortanzahl ein Punkt erreicht wird, an dem das erste Wort verblasst, bevor es wiederholt werden kann (Baddeley, 2003). Subvokaler Artikulation kommt darüber hinaus Bedeutung bei der Speicherung von visuell präsentiertem Material in der phonologischen Schleife zu (Baddeley, 2001).

Der visuell-räumliche Notizblock stellt eine Nahtstelle visueller und räumlicher Informationen dar, die entweder über die Sinnesorgane oder das Langzeitgedächtnis Zugang finden. Seine Aufgabe besteht in der temporären Aufrechterhaltung und Manipulation dieser Informationen, die eine wichtige Rolle bei der räumlichen Orientierung und der Lösung visuell-räumlicher Probleme spielen (Baddeley, 2001).

Die zentrale Exekutive steuert und koordiniert die Verarbeitung der Informationen in den beiden Subsystemen. Zu einem späteren Zeitpunkt erweiterte Baddeley das Modell um den episodischen Puffer, einem multimodalen, temporären Zwischenspeicher von limitierter Kapazität, in dem Informationen aus beiden Subsystemen und dem Langzeitgedächtnis zu einer kohärenten Episode verbunden werden (Baddeley, 2000). Abbildung 3 (Seite 23) gibt das Zusammenspiel der einzelnen Komponenten im Arbeitsgedächtnismodell von Baddeley wieder.

Neurophysiologische Befunde von nicht humanen Primaten verweisen auf den präfrontalen Kortex als bedeutende Komponente des neuronalen Korrelats für das Arbeitsgedächtnis (Braver et al., 1997). So konnten Neurone im dorsolateralen präfrontalen Kortex (DLPFC) identifiziert werden, die eine persistierende Aktivität während zeitlich verzögerter Antworten in bestimmten Tests zeigten. Diese Tests erforderten die aktive Aufrechterhaltung der inneren Repräsentation eines Zielstimulus (Fuster 1989; Goldman-Rakic, 1987; Goldman-Rakic, 1999).

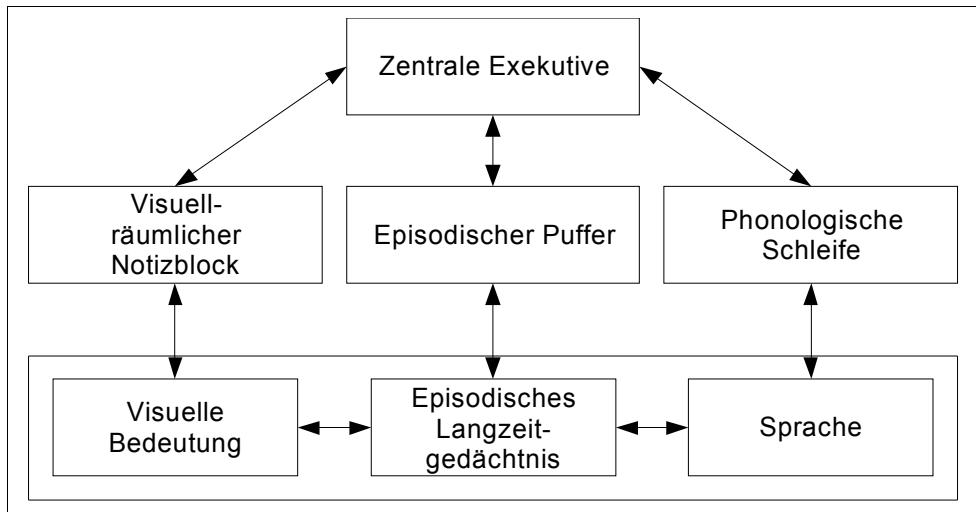


Abb. 3: Darstellung des Arbeitsgedächtnismodells (nach Baddeley, 2000):

Das ursprüngliche Drei-Komponenten-Modell geht von der zentralen Exekutive als Kontrollinstanz der Aufmerksamkeit, die von zwei Subsystemen, der phonologischen Schleife und dem visuell-räumlichen Notizblock unterstützt wird, aus. Beide Subsysteme bilden aktive Speicher, die in der Lage sind, Informationen aus sensorischen Eingängen und der zentralen Exekutive zu verknüpfen. Informationen im phonologischen Speicher können entweder direkt aus auditorischen Eingängen stammen oder durch subvokale Artikulation visuell präsentierter Objekte, wie beispielsweise Buchstaben entstehen (Baddeley, 2000). Darüber hinaus besteht eine Verbindung zwischen den Subsystemen und dem verbalen und visuellen Langzeitgedächtnis. Ein bidirekionaler Informationsfluss wird angenommen. Informationen aus den Subsystemen finden Eingang ins Langzeitgedächtnis und umgekehrt werden beide Subsysteme durch bestehendes sprachliches und visuell-räumliches Wissen unterstützt. Gesteuert durch die zentrale Exekutive werden schließlich Informationen aus den Subsystemen und dem Langzeitgedächtnis im episodischen Puffer verknüpft (Baddeley, 2001).

Die Beteiligung des DLPFC an Aufgaben des Arbeitsgedächtnisses wird durch Studien belegt, die mittels funktioneller Bildgebung die Aktivierung von Gehirnregionen während der Durchführung von Arbeitsgedächtnistests messen. Für das aktive Aufrechterhalten von Informationen (Cohen et al., 1997) und die Manipulation dieser Informationen (Smith et al., 1998) wurde dessen Aktivierung nachgewiesen. Braver et al. (1997) demonstrierten eine lineare Beziehung zwischen der Aktivierung des DLPFC und einer zunehmenden Belastung des Arbeitsgedächtnisses. Callicott et al. (1999) untersuchten den gleichen Zusammenhang in Hinblick auf die Kapazitätsgrenzen des Arbeitsgedächtnisses und konnten zeigen, dass bei zunehmender Belastung ein Punkt erreicht wird, an dem die Leistung, einhergehend mit einer signifikanten Abnahme der Testleistung, zurückgeht. Bis zum Erreichen der Kapazitätsgrenzen wurde eine eindeutige Korrelation zwischen der Aktivierung im DLPFC und der Testleistung gemessen. Demzufolge fällt die Aktivität des

DLPFC ab, wenn die Arbeitsgedächtnisbelastung die individuelle Kapazität zur Verarbeitung des gebotenen Materials überschreitet. Manoach (2003) führt dieses Phänomen darauf zurück, dass sich bei Überschreiten der Anforderungen an das Arbeitsgedächtnis kognitive oder affektive Prozesse einstellen könnten, die in keiner Beziehung zum Arbeitsgedächtnis oder dem DLPFC stehen. Diese Prozesse könnten aus dem Überwachen von Fehlern ("error-monitoring"), Kompensationsversuchen, Interesseverlust, dem Gefühl der Überforderung oder alleinigem Raten bestehen.

Zur Untersuchung des Arbeitsgedächtnisses wird am häufigsten der sogenannte n-back-Test eingesetzt. Komplexe neuropsychologische Tests wie der WCST erfassen zwar die Arbeitsgedächtnisfunktionen, nehmen jedoch darüber hinaus weitere kognitive Prozesse in Anspruch, so dass eine isolierte Beurteilung des Arbeitsgedächtnisses kaum möglich ist (Perlstein et al., 2001). Der n-back stellt ein parametrisches Testverfahren dar, bei dem der Proband eine serielle Präsentation von Stimuli überwacht und für jeden Stimulus beurteilen muss, ob dieser mit einem n-Positionen zuvor präsentierten Stimulus übereinstimmt (D'Esposito und Postle, 2002). Der n-back erfordert neben der Aufrechterhaltung auch die Manipulation von Informationen. Diese Manipulation beinhaltet die Aktualisierung, Überwachung, Neuordnung und zeitliche Kodierung der Inhalte im Arbeitsgedächtnis (Manoach, 2003). Nach Postle et al. (2000) sind folgende kognitive Prozesse für die Ausführung des Tests erforderlich:

1. Die Speicherung des Stimulus.
2. Die Aufrechterhaltung der Repräsentation des Stimulus trotz nachfolgender Präsentation weiterer interferierender Stimuli.
3. Die Lenkung der Aufmerksamkeit auf die gespeicherte Information, wenn dies im Test erforderlich wird.
4. Der Vergleich zwischen der gespeicherten Repräsentation und dem aktuell auf dem Bildschirm präsentierten Stimulus.
5. Die Handlungsausführung in Abhängigkeit vom Ergebnis des Vergleichs.
6. Die aktive Aussortierung dieser Repräsentation, um Interferenzen mit weiteren Repräsentationen zu vermeiden.

Die Belastung des Arbeitsgedächtnisses kann durch eine Erhöhung des n-back-Loads gesteigert werden (Callicott et al., 1999). Eine Zunahme des Loads (0-3) wirkt sich direkt

auf die Anzahl der Objekte, die im Gedächtnis gespeichert werden müssen, und die erforderliche Zeitspanne aus. Ferner wird angenommen, dass manipulative Prozesse wie vergleichende Operationen, die Aktualisierung der Informationen und deren Ordnung in einer bestimmten Reihenfolge von einem höheren Load in größerem Ausmaß beansprucht werden (Braver et al., 1997; Manoach, 2003). Folglich nehmen die Anforderungen an die Aufrechterhaltung und Manipulation bei zunehmenden Informationsmengen zu (Perlstein et al., 2001). Sowohl die Fehlerrate als auch die Reaktionszeit steigen durch Erhöhung des Loads an (Braver et al., 1997; Carter et al., 1998; Callicott et al., 1999; Perlstein et al., 2003; Callicott, et al., 2003a). Die Reaktionszeit kann als unabhängige und empirisch definierte Variable der individuellen Auswirkung des Loads angesehen werden (Braver et al., 1997).

In einer von Callicott et al. (1999) modifizierten Version des n-back-Tests werden die Stimuli in Form von Ziffern innerhalb einer Raute auf einem Monitor präsentiert. Die Ziffern "1" bis "4" erscheinen dabei sequenziell in einer festgelegten Ecke der Raute und müssen in Abhängigkeit vom n-back-Load in eine spezielle Tastatur eingegeben werden. Die Aufgabe des Probanden besteht hier nicht in der Beurteilung, ob eine Übereinstimmung des aktuellen Stimulus mit den n-Positionen zuvor präsentierten Reiz vorliegt ("*Continuous matching task*", "CMT"), sondern in der direkten Eingabe der n-Stellen zurückliegenden Ziffer ("*Continuous delayed response task*", "CDRT"). Callicott et al. (1999) gehen davon aus, dass für ihre n-back Version vergleichbare Prozesse, wie im weiter oben beschriebenen Testaufbau beansprucht werden. Die verschiedenen Varianten erfordern alle die Aufrechterhaltung von Informationen im Arbeitsgedächtnis, unterscheiden sich wahrscheinlich aber im relativen Ausmaß der Beanspruchung weiterer beteiligter Prozesse. Callicott et al. (1999) führen in dieser Hinsicht die Speicherung, das Wiedererkennen, die Manipulation, die Inhibition oder das Auslöschen von Informationen als Beispiele auf. Sie nehmen an, dass ihre Testversion insbesondere das Abspeichern von Informationen, den aktiven Abruf von gespeicherten Informationen, das Auslöschen von nicht mehr benötigten Informationen sowie die Abwehr von Interferenzen erfordert und so im Vergleich zur CMT-Aufgabe, bei der der Schwerpunkt auf dem Wiedererkennen bestimmter Stimuli liegt, eine größere kognitive Arbeitsleistung beansprucht.

Dysfunktionen des Arbeitsgedächtnisses werden als kognitives Kernsymptom der Schizophrenie beschrieben (Goldman-Rakic, 2001) und stellen ein persistierendes,

einschränkendes und behandlungsresistente Merkmal der Erkrankung dar (Manoach, 2003). Zahlreiche Studien weisen eine verminderte Leistung schizophrener Patienten in Tests nach, die das Arbeitsgedächtnis beanspruchen (Keefe, 2000). Es wird angenommen, dass diverse kognitive Defizite und Aspekte der Symptomatik auf einer Störung von Prozessen im Arbeitsgedächtnis basieren, die zu einem Verhalten, das weniger durch einen bestimmten Kontext als durch einzelne Stimuli sowie Stereotypien und Perseverationen geprägt ist, führt (Manoach, 2003). In diesem Zusammenhang wird die Bedeutung von Arbeitsgedächtnisstörungen insbesondere für negative Symptomatik und formale Denkstörungen, aber auch für positive Symptome diskutiert (Keefe, 2000).

In verschiedenen Studien wurde bei an Schizophrenie erkrankten Individuen eine im Vergleich zu Kontrollprobanden reduzierte Leistung in n-back-Tests, sowohl für CMT-Aufgaben (Carter et al., 1998; Perlstein et al., 2001; Perlstein et al., 2003; Barch et al., 2003; Krieger et al., 2005), als auch für CDRT-Aufgaben (Callicott et al., 2000; Callicott et al., 2003b; Krieger et al., 2005) nachgewiesen. Konsistent wurde dabei eine signifikant erhöhte Fehlerrate bei zunehmendem n-back-Load beobachtet. Die stärkere Abnahme der Testleistung schizophrener Individuen bei steigenden Anforderungen impliziert eine im Vergleich zu gesunden Personen reduzierte Kapazität des Arbeitsgedächtnisses (Callicott et al., 2000).

Unter gleichzeitiger Anwendung von funktionellen bildgebenden Verfahren wurde darüber hinaus eine Assoziation der dieser Testleistung zu Grunde liegenden Arbeitsgedächtnisdefizite mit Dysfunktionen des präfrontalen Kortex, insbesondere des DLPFC, bestätigt. Ein häufig replizierter Befund stellt die relativ verminderte Aktivierung des DLPFC bei zunehmender Arbeitsgedächtnisbelastung dar (Carter et al., 1998; Perlstein et al., 2001; Perlstein et al., 2003; Barch et al., 2003). Manche Studien berichten in diesem Zusammenhang jedoch auch von einer relativ erhöhten Aktivierung des DLPFC (Manoach et al., 1999; Manoach et al., 2000; Callicott et al., 2000). Callicott et al. (2003b) nahmen eine Unterteilung ihres Patientenkollektivs in eine Subgruppe mit beeinträchtigter Testleistung sowie in eine Subgruppe mit einer der Kontrollgruppe annähernd vergleichbaren Leistung vor und wiesen in Relation zu den Kontrollprobanden für erstere primär eine resultierende "Hypofrontalität" und für letztere eine "Hyperfrontalität" nach. Diese Ergebnisse sprechen den Autoren zu Folge dafür, dass sich Patienten und gesunde Individuen in erster Linie durch die Art und Weise, in der die neuronale Aktivität gesteuert

wird und durch die Instandhaltung eines angemessenen Aktivitätsniveaus im Arbeitsgedächtnisnetzwerk unterscheiden. Um eine annähernd normale Testleistung zu erzielen wird das Arbeitsgedächtnis bei einem Teil der Patienten übermäßig aber ineffizient beansprucht. Bei schwacher Testleistung wird es unzureichend aktiviert. Demzufolge widersprechen sich die Befunde "Hypofrontalität" und "Hyperfrontalität" nicht, sondern spiegeln beide Dysfunktionen des DLPFC bei Schizophrenie wider (Callicott et al., 2003b).

Manoach (2003) bewertet die vorliegenden Befunde ebenso als Indikatoren einer präfrontalen Dysfunktion bei Schizophrenie, führt jedoch methodologische und krankheitsimmanente Faktoren, die für die differierenden Ergebnisse mitverantwortlich sein könnten, auf. Methodologische Faktoren können die Auswahl der Testparameter im Hinblick auf die im Arbeitsgedächtnis repräsentierten Informationsdomänen sowie die erforderlichen Prozesse, Anreize durch Belohnung oder der eingesetzte Arbeitsgedächtnis-Load sein. Krankheitsimmanente Faktoren stellen beispielsweise das Ausmaß der Beeinträchtigung der Arbeitsgedächtniskapazität und die Heterogenität und Variabilität der kognitiven Manifestationen der Schizophrenie dar (Manoach, 2003).

Weitere Hinweise auf eine Störung der präfrontalen Funktion bei Schizophrenie liefern Untersuchungen der zellulären Architektur des DLPFC. In Postmortem-Studien konnte ein reduziertes Volumen neuronaler Soma und des Neuropils, sowie Abnormalitäten der synaptischen Organisation nachgewiesen werden (Lewis 1997; Selemon und Goldman-Rakic, 1999).

Beeinträchtigungen des Arbeitsgedächtnisses bei Schizophrenie lassen sich sowohl zu Beginn der Erkrankung (Krieger et al., 2005) als auch im weiteren Verlauf unabhängig von Fluktuationen im klinischen Zustandsbild nachweisen (Heaton et al., 2001). Sie bestehen bei neuroleptisch nicht vorbehandelten (Barch et al., 2001; Krieger et al., 2005) und unbehandelten Patienten (Carter et al., 1996) und stellen somit keine Nebenwirkung neuroleptischer Medikation dar. Auch bei gesunden biologischen Angehörigen von Patienten werden Defizite der Arbeitsgedächtnisfunktion beobachtet. Conklin et al. (2005) konnten unter Anwendung einer Testbatterie zur Erfassung unterschiedlicher Aspekte der Arbeitsgedächtnisleistung zeigen, dass Erstgradangehörige schlechtere Ergebnisse als Kontrollprobanden erzielen, wenn Anforderungen an manipulative und exekutive Prozesse gestellt werden. Callicott et al. (2003a) stellten auch bei nicht erkrankten Geschwistern

schizophrener Patienten eine im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden gesteigerte Aktivität im DLPFC während einer n-back Aufgabe fest, die in etwa der von Patienten entsprach.

Cannon et al. (2000) nahmen eine Untersuchung der Heritabilität einer Vielzahl neurokognitiver Defizite bei für Schizophrenie diskordanten monozygoten und dizygoten Zwillingen vor. Für das räumliche Arbeitsgedächtnis konnten sie eine lineare Abnahme der Leistung mit zunehmendem genetischen Risiko und damit die Relevanz genetischer Faktoren für Arbeitsgedächtnisdefizite demonstrieren. Die von der Erkrankung nicht betroffenen Zwillingsgeschwister der monozygoten Zwillingspaare wiesen eine signifikant größere Beeinträchtigung als die entsprechenden Zwillinge der dizygoten Paare auf. Letztere waren wiederum signifikant stärker beeinträchtigt als gesunde Kontrollprobanden. In Rahmen einer japanischen Zwillingsstudie zur Identifikation genetischer Einflüsse auf das Arbeitsgedächtnis beliefen sich die Schätzungen der Heritabilität auf 43-49% (Ando et al., 2001).

Die Bedeutung von genetischen Faktoren für die Arbeitsgedächtnisfunktion sowie die Abhängigkeit der Arbeitsgedächtnisleistung von neurobiologischen Substraten, die bei Schizophrenie Abnormitäten aufweisen, implizieren, dass Suszeptibilitätsgene der Schizophrenie die dem Arbeitsgedächtnis und exekutiven Prozessen zu Grunde liegenden biologischen Prozesse beeinflussen (Weinberger et al., 2001; Callicott et al., 2003a; Gur et al., 2007). In verschiedenen Studien wurde ein Zusammenhang von Genen und chromosomal Regionen mit Funktionen des Arbeitsgedächtnisses hergestellt.

Gasperoni et al. (2003) gelang es in einer finnischen Stichprobe aus diskordanten dizygoten Zwillingen die genetische Kopplung zwischen dem Marker D1S2833 auf Chromosom 1 und der räumlichen Arbeitsgedächtnisleistung nachzuweisen. Darüber hinaus konnte die Assoziation von Allelen der genetischen Variante mit Variationen in der Leistung dieser Arbeitsgedächtnisfunktion in einer Stichprobe aus diskordanten mono- und dizygoten Zwillingen sowie nicht erkrankten Kontrollzwillingspaaren bestätigt werden. Egan et al. (2001) wiesen eine Assoziation zwischen einem funktionellen Polymorphismus (Val¹⁰⁸/158Met) im COMT-Gen und präfrontalen Funktionen nach. Der Fokus auf das COMT-Gen resultiert primär aus pathophysiologischen Überlegungen. Elektrophysiologische Befunde bei Primaten und Nager sowie funktionelle bildgebende Untersuchungen beim

Menschen belegen die Rolle von Dopamin in der Modulation der Aktivität des präfrontalen Kortex bei Arbeitsgedächtnisaufgaben (Egan et al., 2001). Das COMT-Gen kodiert für die Catechol-O-Methyltransferase, ein postsynaptisches Enzym, das Dopamin im Rahmen des Abbauwegs zu Homovanillinmandelsäure methyliert. Der untersuchte Polymorphismus führt zu einer Substitution von Guanin durch Adenin, was wiederum im Protein zu einem Aminosäureaustausch von Valin zu Methionin führt. Durch das Met-Allel ist die Enzymaktivität im Vergleich zum Val-Allel auf ein Viertel herabgesetzt, so dass es bei Val/Val-Träger vermutlich zu einer wesentlich schnelleren Inaktivierung von Dopamin im präfrontalen Kortex kommt (Lachman et al., 1996; Lotta et al., 1995; Weinberger et al., 2001).

Egan et al. (2001) wiesen nach, dass der COMT-Genotyp signifikant mit dem Grad der Leistung im WCST, also mit exekutiven Funktionen assoziiert ist. Homozygote Val/Val-Träger zeigten eine signifikant schlechtere Testleistung als heterozygote Val/Met-Träger sowie homozygote Met/Met-Träger. Die Anzahl der Met-Allele stand in parametrischer Relation zur Häufigkeit perseverativer Fehler. Darüber hinaus untersuchten die Autoren die physiologische Aktivierung des präfrontalen Kortex mittels fMRT während der 2-back Kondition des n-back-Tests. Val/Val-Träger zeigten eine ausgeprägtere Aktivierung des DLPFC und eine damit verbundene ineffektivere Informationsverarbeitung als Val/Met-Träger und diese wiederum eine stärkere Aktivierung als Met/Met-Träger. Der Val-Allel-Load stand also in Beziehung zu reduzierter Effizienz der physiologischen Antwort im DLPFC. Ferner berichten die Autoren von einer signifikant erhöhten Transmission des Val-Allels bei Nachkommen schizophrener Individuen in ihrer Stichprobe. Goldberg, et al. (2003) konnten die Assoziation des Val^{108/158}Met-Polymorphismus mit Arbeitsgedächtnisfunktionen unter Anwendung des n-back-Tests replizieren.

Weinberger et al. (2001) schlussfolgern aus dem Einfluss des COMT-Genotyps auf die Informationsverarbeitung im präfrontalen Kortex und aus der Assoziation gestörter präfrontaler Funktion mit Schizophrenie sowie dem genetischen Risiko für Schizophrenie, dass der COMT-Genotyp wahrscheinlich einen Beitrag zum Manifestationsrisiko der Erkrankung leistet. Egan et al. (2001) gelang es also, durch die Untersuchung der genetischen Basis von Exekutivfunktionen und Arbeitsgedächtnisdefiziten einen möglicherweise pathophysiologischen Mechanismus der Erkrankung aufzuzeigen und gleichzeitig den Nutzen des Endophänotypenkonzepts bei der Identifikation von Suszeptibilitätsgenen der Schizophrenie zu demonstrieren.

Genetische Effekte innerhalb des serotonergen Systems und insbesondere des 5HT_{2A}-Rezeptor-Gens auf diese präfrontalen kognitiven Domänen waren bisher kaum Gegenstand publizierter wissenschaftlicher Arbeiten, obwohl Serotonin, wie in den folgenden Kapiteln dargestellt, eine elementare Bedeutung in der zentralen Neurotransmission und in der Modulation von kognitiven Prozessen zukommt. Lediglich sechs Arbeiten, die ihren Fokus auf diese potentiellen Zusammenhänge richten, fanden sich im Literaturüberblick. Diese werden in Kapitel 2.7.3 vorgestellt.

2.6 Das serotonerge System

2.6.1 Serotonin synthese

Serotonin gehört zur Gruppe der Monamintransmitter und wird als Indolamin den Katecholaminen Dopamin, Noradrenalin und Adrenalin gegenübergestellt (Köhler, 2001). Ausgangspunkt der Serotonin synthese ist die essentielle Aminosäure L-Tryptophan. In das Gehirn gelangt Tryptophan über ein Transportsystem, das es sich mit den verzweigtkettigen Aminosäuren (Valin, Leucin und Isoleucin) sowie Phenylalanin und Tyrosin teilt. Im ersten Schritt der Synthese erfolgt eine Hydroxylierung am Indolring durch die mischfunktionelle Oxygenase L-Tryptophanhydroxylase unter Bildung von 5-Hydroxytryptophan. Im zweiten Reaktionsschritt wird 5-Hydroxytryptophan in einer Pyridoxalphosphat-abhängigen Reaktion durch die 5-Hydroxytryptophan-decarboxylase zu 5-Hydroxytryptamin, dem Serotonin, decarboxyliert. Im Gehirn findet die Serotonin synthese im Perykaryon der Nervenzelle statt. Serotonin wird über das Axoplasma den Nervenendigungen zugeführt und in Vesikeln gespeichert. Bei Stimulierung der Nervenzelle erfolgt die Freisetzung in den synaptischen Spalt (Petrides, 1997).

2.6.2 Serotoninabbau

Die Inaktivierung von Serotonin wird im Wesentlichen durch Wiederaufnahme in die präsynaptische Zelle mittels spezifischer Transporterproteine (SERT) und erneutem

Einbau in Speichervesikel umgesetzt. Bei zu hoher Konzentration geschieht eine weitergehende Inaktivierung in Form eines Abbaus in der präsynaptischen Zelle (Köhler, 2001). Dieser Serotoninabbau wird durch die mitochondriale Monoaminoxidase katalysiert. Dabei entsteht 5-Hydroxyindolacetaldehyd, dessen Dehydrierung durch die Aldehyddehydrogenase zu 5-Hydroxyindolacetat führt (Petrides, 1997).

2.6.3 Serotonerge Neurone im ZNS

Die Perikaryen serotonerger Neurone gruppieren sich im zentralen Nervensystem (ZNS) unmittelbar paramedian im Hirnstamm und bilden als Aggregate überwiegend die sogenannten Raphé-Kerne. Eine Einteilung erfolgt in B-Clustern nach Dahlström und Fuxe (1964). Ihre Axone innervieren annähernd jede Region des ZNS. Aszendierende Projektionen zu Strukturen des Vorderhirns sind in topographischer Weise organisiert. Der mediane Raphé-Kern projiziert auf Hippocampus, Septum und Hypothalamus, wohingehend der dorsale Raphé-Kern überwiegend das Striatum innerviert. Beide Kerne projizieren überlappend auf den Neokortex, wobei der frontale Kortex in großem Ausmaß von rostralen und lateralen Subregionen des dorsalen Raphé-Kerns innerviert wird (Frazer und Hensler, 1999).

2.6.4 Serotoninrezeptoren

2.6.4.1 Einteilung und vermittelte Wirkung der Serotoninrezeptoren

Serotonin und seine Rezeptoren findet man sowohl im zentralen und peripheren Nervensystem, als auch in verschiedenen nicht-neuronalen Geweben im Gastrointestinaltrakt, kardiovaskulären System und Blut (Hoyer et al., 2002). Zu den durch Serotonin über seine Rezeptoren vermittelten biologischen Effekten gehören die Relaxation der glatten Muskulatur in Gefäßen und im Gastrointestinaltrakt ($5HT_1$), die selektive Kontraktion kranialer Blutgefäße ($5HT_1$), die Kontraktion glatter Muskulatur ($5HT_2$), die Thrombozytenaggregation ($5HT_2$) sowie die Entstehung von Übelkeit und Erbrechen ($5HT_3$) (Petrides, 1997). Ferner ist Serotonin an der hypothalamischen

Kontrolle hypophysärer Sekretion beteiligt, insbesondere an der Regulation der ACTH-, Prolaktin- und Wachstumshormonsekretion und scheint auch direkt auf die ACTH-Freisetzung im Hypophysenvorderlappen und die Regulation der Freisetzung von Corticosteron und Cortisol aus der Nebennierenrinde einzuwirken (Frazer und Hensler, 1999). Die 5HT₁-, 5HT₂-, 5HT₃- und 5HT₄-Rezeptoren werden als Vermittler der serotonergen Effekte auf die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse diskutiert (Dinan, 1996). Serotonin wird auch eine Beteiligung an der Regulation zirkadianer Rhythmik zugeschrieben. Es besteht eine dichte Innervation des Nucleus suprachiasmaticus, dem Schrittmacher zirkadianer Rhythmik, durch serotonerge Neurone aus Raphé-Kernen des Mittelhirns (Frazer und Hensler, 1999). Pharmakologische Studien zeigen eine weitere funktionelle Rolle von Serotonin beim Essverhalten auf. Durch direkte oder indirekte Aktivierung postsynaptischer Serotoninrezeptoren nimmt die Nahrungsaufnahme ab, wohingegen die Inhibition serotonerer Transmission einen gegenteiligen Effekt bewirkt. Diese Wirkung wird über eine Zunahme des Sättigungsgefühls durch gesteigerte serotonerge Aktivität erklärt (Simansky, 1996).

Eine Vielzahl psychischer und somatischer Erkrankungen steht in Zusammenhang mit dem serotoneren System. Bei Depressionen, Angst-, Zwangs- und Panikstörungen, sozialer Phobie und Schizophrenie sowie Migräne, Bluthochdruck, pulmonaler Hypertension, Essstörungen und dem Colon irritabile wird die Bedeutung einer Störung serotonerer Funktion für die Ätiopathogenese diskutiert (Hoyer et al., 2002).

Die Wirkung von Serotonin wird über 14 metabotrope Rezeptoren und einen ligandengesteuerten Ionenkanal (5-HT₃-Rezeptor) vermittelt, die auf Grund ihrer strukturellen und funktionellen Eigenschaften in 7 unterschiedliche Klassen eingeteilt werden. Mit Ausnahme des 5-HT₃-Rezeptors gehören alle 5-HT-Rezeptoren zur Gruppe der G-Protein gekoppelten Rezeptoren, die langsam eine modulierende Zellantwort über eine Aktivierung oder Hemmung der Adenylatcyclase bzw. Stimulierung der Phospholipase C bewirken (Petrides, 1997; Hoyer et al., 2002, Pytliak et al., 2011).

Die Struktur dieses Rezeptortyps ist durch 7 Transmembrandomänen mit einem intrazellulären Carboxy-Terminus und einem extrazellulären Amino-Terminus charakterisiert. Der 5-HT₃-Rezeptor unterscheidet sich von allen anderen bekannten Subtypen der Serotoninrezeptoren dadurch, dass er Mitglied der Liganden-gesteuerten

Ionenkanal-Familie ist und aus 5 Proteinuntereinheiten mit je 4 Transmembransegmenten und einer großen extrazellulären N-terminalen Region besteht (Frazer und Hensler, 1999). Tabelle 3 fasst die Einteilung der Serotoninrezeptoren mit ihrer Verteilung im ZNS sowie ihren Wirkmechanismus und ihnen zugeschriebene Effekte zusammen.

Tab. 3: Serotoninrezeptoren im ZNS (nach Frazer und Hensler, 1999; Hoyer et al., 2002; Pytliak et al., 2011)

Rezeptor	Verteilung	Wirkmechanismus	Effekte und Funktionen
5-HT _{1A}	Hippocampus, Septum, Amygdala, Hypothalamus, Neokortex, somatodendritische Autorezeptoren: dorsaler und madianer Raphé-Kern	Inhibition der Adenylylatcyclase Öffnung von Kalium-Kanälen	Aggression, Angst, Abhängigkeit, Appetit, Übelkeit, Erbrechen, Impulsivität, Gedächtnis, Stimmung, Schlaf, Sexuelles Verhalten, Thermoregulation
5-HT _{1B}	Basalganglien, Striatum, frontaler Kortex	Inhibition der Adenylylatcyclase	Aggression, Angst, Lernen, Abhängigkeit, Gedächtnis, Stimmung, Sexuelles Verhalten, Lokomotion
5-HT _{1D}	Basalganglien, insbesondere Globus pallidus und Substantia nigra	Inhibition der Adenylylatcyclase	Angst, Lokomotion
5-HT _{1E}	im frontalen Kortex identifiziert, weitere Verteilung unbekannt	Inhibition der Adenylylatcyclase	Gedächtnis
5-HT _{1F}	zerebraler Kortex, Striatum, Hippocampus, Bulbus olfactorius	Inhibition der Adenylylatcyclase	Angst (?), Gedächtnis (?)
5-HT _{2A}	Clastrum, Striatum, Nucleus accumbens, Tuberculum olfactorium, zerebraler Kortex (hohe Dichte insbesondere frontal)	Stimulation der Phospholipase C	Angst, Appetit, Abhängigkeit, Kognition, Imagination, Lernen, Gedächtnis, Stimmung, Perzeption, Sexuelles Verhalten, Schlaf, Thermoregulation
5-HT _{2B}	Zerebellum, Laterales Septum, Hypothalamus, Amygdala	Stimulation der Phospholipase C	Angst, Appetit, Schlaf
5-HT _{2C}	höchste Dichte im Plexus choroideus, auch zerebraler Kortex, Globus pallidus, Hypothalamus, Septum, Substantia nigra, Rückenmark	Stimulation der Phospholipase C	Angst, Appetit, Schlaf, Abhängigkeit, Lokomotion, Stimmung, Sexuelles Verhalten
5-HT ₃	höchste Dichte in der Area postrema, im Kortex und Hippocampus v.a. auf GABAergen Neuronen, Amygdala, Nucleus accumbens, hohe Dichte in peripheren Ganglien und Nerven (u.a. Ganglion cervicale superius, N. vagus, N. trigeminus) sowie Substantia gelatinosa des Rückenmarks	Liganden-regulierter Ionenkanal (triggert schnelle Depolarisation durch Öffnung nicht-selektiver Kationenkanäle)	Angst, Abhängigkeit, Übelkeit, Erbrechen, Lernen, Gedächtnis, Neuronale Exzitation
5-HT ₄	Hippocampus, Striatum, Tuberculum olfactorium, Substantia nigra	Stimulation der Adenylylatcyclase	Angst, Appetit, Lernen, Gedächtnis, Stimmung
5-HT _{5A}	unklar	Inhibition der Adenylylatcyclase	Lokomotion, Schlaf
5-HT _{5B}	nur bei Nagern identifiziert		

Rezeptor	Verteilung	Wirkmechanismus	Effekte und Funktionen
5-HT ₆	Striatum, Amygdala, Nucleus accumbens, Hippocampus, Cortex, Tuberulum olfactorium	Stimulation der Adenylylatcyclase	Angst, Kognition, Lernen, Gedächtnis, Stimmung
5-HT ₇	zerebraler Kortex, Septum, Thalamus, Hypothalamus, Amygdala, Colliculus superior	Stimulation der Adenylylatcyclase	Angst, Gedächtnis, Stimmung, Schlaf, Thermoregulation

2.6.4.2 Der 5-HT_{2A}-Rezeptor

2.6.4.2.1 Signaltransduktionsmechanismus und Verteilung

Der zerebrale 5-HT_{2A}-Rezeptor wurde initial in kortikalen Membranen bei Ratten als Bindungsstelle mit hoher Affinität zum Radioliganden [³H]-Spiperon entdeckt (Abi-Dargham et al., 1997). Die Aminosäuresequenz des humanen 5-HT_{2A}-Rezeptors weist eine 45-prozentige Homologie mit dem 5-HT_{2B}-Rezeptor und eine 51-prozentige Homologie mit dem 5-HT_{2C}-Rezeptor auf. Alle Rezeptoren der 5-HT₂-Familie ähneln sich in ihrer molekularen Struktur, in ihren pharmakologischen Eigenschaften und ihrem Signaltransduktionsmechanismus (Barnes und Sharp, 1999). Der 5-HT_{2A}-Rezeptor ist positiv über ein G-Protein mit der Phospholipase C gekoppelt. Die Bindung von Serotonin am Rezeptor führt über das heterotrimere G-Protein nach Austausch von GDP mit GTP zur Aktivierung der Phospholipase Cβ. Unter Katalyse der spezifischen Phospholipase C erfolgt die Spaltung des Membranphospholipids Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphats (PIP₂), das durch zweimalige ATP-abhängige Phosphorylierung aus Phosphatidylinositol (PI) gebildet wird. Als Reaktionsprodukte entstehen Inositol-(1,4,5)-trisphosphat (InsP₃) und Diacylglycerin (DAG). InsP₃ erhöht die cytoplasmatische Kalziumkonzentration durch Mobilisierung von Kalzium aus intrazellulären Speichern, die im endoplasmatischen Reticulum lokalisiert sind (Petrides, 1997; Hoyer et al., 2002). Abbildung 4 (Seite 35) zeigt den beschriebenen Signaltransduktionsmechanismus des 5-HT_{2A}-Rezeptors.

5-HT_{2A}-Rezeptoren findet man sowohl in peripheren Geweben als auch im ZNS. Sie vermitteln eine Kontraktion glatter Muskulatur sowie die Thrombozytenaggregation und eine Erhöhung der Kapillarpermeabilität. Im ZNS sind 5-HT_{2A}-Rezeptoren vornehmlich im Kortex und den Basalganglien lokalisiert (Hoyer et al., 2002). Sie befinden sich auf

glutamatergen pyramidalen Nervenzellen im Hippocampus und Kortex, auf Zellkörpern dopaminerger Nervenzellen im ventralen Tegmentum und der Substantia nigra sowie auf GABAerden Interneuronen im Hippocampus und Kortex (Meltzer et al., 2003). Die Aktivierung der 5-HT_{2A}-Rezeptoren stimuliert die Sekretion zahlreicher Hormone wie ACTH, Corticosterin, Oxytocin und Prolaktin (van de Kar et al., 2001). Eine weitere Rolle wird den 5-HT_{2A}-Rezeptoren bei der Regulation noradrenerger Neurone im Locus coeruleus zugeschrieben, ferner vermitteln 5-HT_{2A}-Rezeptoren im Neokortex, insbesondere im präfrontalen Kortex, wo die Rezeptordichte im Vergleich zu posterioren Regionen besonders hoch ist, exzitatorische postsynaptische Potentiale (Aghajanian und Marek, 1999).

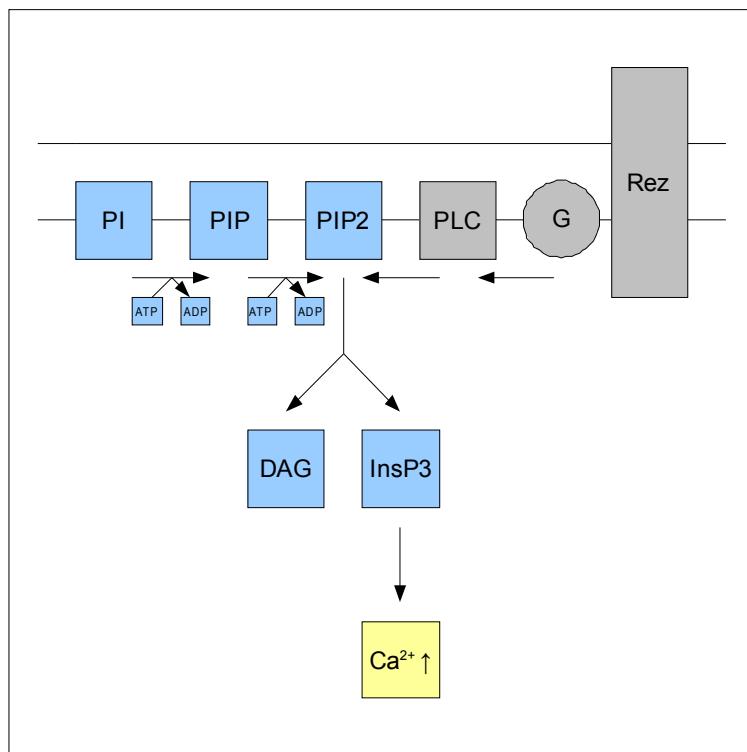


Abb. 4: Signaltransduktionsmechanismus des 5-HT_{2A}-Rezeptors (nach Petrides, 1997)

Die Rezeptorbindung führt über G-Protein (G) gekoppelte Aktivierung der spezifischen Phospholipase C (PLC) zur Spaltung von Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphat (PIP2) in Diacylglycerin (DAG) und Inositol-(1,4,5)-Trisphosphat (InsP3). InsP3 bewirkt eine Kalziummobilisation aus Speichern des endoplasmatischen Reticulum. PIP2 entsteht durch zweimalige ATP-abhängige Phosphorylierung aus Phosphatidylinositol (PI) über Phosphatidylinositolphosphat (PIP).

2.6.4.2.2 Der 5-HT_{2A}-Rezeptor und Schizophrenie

Die Hypothese einer Beteiligung des serotonergen Systems an der Ätiologie der Schizophrenie resultierte aus der Beobachtung der psychotomimetischen Wirkung von LSD, einem dem Serotonin strukturell verwandten Halluzinogen, dessen Effekte über eine partiell agonistische Wirkung am 5-HT_{2A}-Rezeptor vermittelt werden und zu einer Modulation der glutamatergen Transmission im Locus coeruleus und zerebralen Kortex führen (Aghajanian und Marek, 2000).

Durch das Indolamin Psilocybin wird ein klinisches Syndrom hervorgerufen, das in bestimmten Aspekten der Erstmanifestation einer schizophrenen Dekompensation gleicht. So kommt es typischerweise zu Derealisations- und Depersonalisationserleben, affektiven Veränderungen, formalen Denkstörungen, Bedeutungsideen und visuellen Halluzinationen (Vollenweider et al., 1998). Diese Effekte werden über die Dopamin-unabhängige Stimulierung von 5-HT_{2A}-Rezeptoren induziert. Die psychotomimetische Wirkung von Psilocybin konnte durch den 5-HT_{2A}-Antagonisten Ketanserin und das atypische Neuroleptikum Risperidon geblockt werden, jedoch nicht durch den Dopaminantagonisten Haloperidol (Vollenweider et al., 1998)

Für eine Störung der 5-HT_{2A}-Rezeptor-abhängigen Neurotransmission bei Schizophrenie spricht in besonderem Maße der Wirkmechanismus atypischer Neuroleptika, die im Vergleich zu klassischen Vertretern keine oder weniger extrapyramidalmotorische Nebenwirkungen hervorrufen und in unterschiedlichem Ausmaß Vorteile bei der Behandlung kognitiver Störungen sowie positiver und negativer Symptomatik bieten. Atypische Neuroleptika wie Clozapin, Olanzapin und Risperidon weisen neben einem relativ schwach ausgeprägten antagonistischen Effekt am Dopamin D₂-Rezeptor eine potente antagonistische Wirkung am 5-HT_{2A}-Rezeptor auf (Meltzer und Deutch, 1999). Unter Anwendung der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) konnte gezeigt werden, dass die alleinige Blockade von D₂-Rezeptoren die therapeutische Wirkung von Clozapin nicht erklären kann. D₂-Rezeptoren waren unter Clozapin zu 20-67% belegt, wohingegen bereits eine niedrige Clozapindosis (125-172 mg/d) zu einer Besetzung von mehr als 80% der 5-HT_{2A}-Rezeptoren führte (Farde et al., 1995).

Ferner wurde bei an Schizophrenie erkrankten Individuen eine verminderte Dichte an 5-HT_{2A}-Rezeptoren in für die Störung kritischen zerebralen Regionen detektiert. Burnet et al. (1996) fanden bei Schizophrenen postmortem eine im Vergleich zu Kontrollen um 27% verminderte Dichte an 5-HT_{2A}-Rezeptoren im DLPFC, einhergehend mit einer um 49% reduzierten 5-HT_{2A}-Rezeptor mRNA-Menge.

Auch Kouzmenko et al. (1997) berichten von einer signifikant geringeren Rezeptordichte im DLPFC bei Patienten im Vergleich zu Kontrollen, wobei das postmortem entnommene Hirngewebe unter Einsatz von (³H)Ketanserin quantitativ autoradiographisch detektiert wurde.

Hernandez und Sokolov (2000) beobachteten, dass die 5-HT_{2A}-mRNA-Menge bei schizophrenen Patienten invers mit der Länge eines Neuroleptika-freien Intervalls vor dem Tod korrelierte. Patienten die bis kurz vor dem Tod eine antipsychotische Behandlung erhielten wiesen ein der Kontrollgruppe entsprechendes mRNA-Niveau auf. Patienten mit in den letzten 6 Monaten vor dem Tod ausbleibender Behandlung zeigten ein signifikant reduziertes mRNA-Niveau. Ngan et al. (2000) berichten eine im Vergleich zu Gesunden herabgesetzte 5-HT_{2A}-Rezeptor-Dichte im frontalen Kortex bei Neuroleptika-naiven Patienten, die in vivo mittels Positronen-Emissions-Tomographie unter dem Einsatz des Tracers (¹⁸F)Setoperon erfasst wurde. Okubo et al. (2000) konnten diesen Befund in einer Stichprobe ebenfalls unbehandelter Patienten in einer PET-Studie mit (¹¹C)N-methylspiperon allerdings nicht replizieren.

Die Zusammenschau der pharmakologischen und strukturellen Befunde legt somit eine pathophysiologische Rolle des 5-HT_{2A}-Rezeptor bei der Krankheitsentwicklung der Schizophrenie nahe.

2.6.4.2.3 Der 5-HT_{2A}-Rezeptor und präfrontale Kognition

Der DLPFC spielt eine essentielle Rolle bei kognitiven Prozessen des Arbeitsgedächtnisses und seine Dysfunktion wird als bedeutende Störung bei Schizophrenie angesehen. Er wird im wesentlichen durch serotonerge Neurone aus dem dorsalen Raphé-Kern innerviert und weist ein hohe Dichte an 5-HT_{2A}-Rezeptoren auf

(Williams et al., 2002). Die Lokalisation dieses Rezeptortyps impliziert eine Bedeutung für das Arbeitsgedächtnis und exekutive Funktionen.

Für verschiedene atypische Neuroleptika, denen eine hohe Affinität zum 5-HT_{2A}-Rezeptor gemein ist, wurde eine Verbesserung kognitiver Funktionen bei Schizophrenie gezeigt. So konnten für Clozapin und Olanzapin positive Effekte auf exekutive Funktionen nachgewiesen werden und auch Risperidon bewirkt relativ konsistent eine Verbesserung von Arbeitsgedächtnisfunktion, exekutiver Funktion und Aufmerksamkeit (Meltzer und McGurk, 1999). Als Ursache der Wirkung atypischer Neuroleptika auf die Kognition und negative Symptomatik wird eine Steigerung der Dopaminfreisetzung im präfrontalen Kortex über eine 5-HT_{2A}-Rezeptor-Blockade in Kombination mit einer schwachen antagonistischen Wirkung am Dopamin D₂-Rezeptor angenommen (Meltzer et al., 2003).

Die dopaminerige Aktivität im präfrontalen Kortex moduliert die Fähigkeit räumliche Arbeitsgedächtnisaufgaben bei nichthumanen Primaten und Menschen zu bewältigen (Luciana et al., 1998). Serotonin scheint einen allgemein inhibitorischen Effekt auf die dopaminerige Neurotransmission im präfrontalen Kortex und in den Basalganglien zu haben. Seine potente Wirkung auf die dopaminerige und auch glutamaterge Neurotransmission wird über 5-HT_{1A}-, 5-HT_{2A}- und 5-HT_{3A}-Rezeptoren vermittelt. Diese Interaktionen finden auf der Ebene dopaminerger Neurone im ventralen Tegmentum und der Substantia nigra sowie auf der Ebene serotonerger Neurone im medialen und dorsalen Raphé-Kern, wie auch in verschiedenen Projektionsfeldern dieser Kerne statt (Meltzer und Deutch, 1999).

Ferner führt die pharmakologische Manipulation des 5-HT_{2A}-Rezeptors zu einer Beeinflussung der Leistung in Tests präfrontaler Kognition, insbesondere bei Arbeitsgedächtnisaufgaben. Williams et al. (2002) untersuchten die Wirkung selektiver Rezeptorliganden auf präfrontale Neurone mit räumlich abgestimmter verzögerter Aktivität bei Primaten, die einen Arbeitsgedächtnistest absolvierten. Im Mittelpunkt des Interesses stand das Profil neuronaler Aktivierung in Abhängigkeit von Antwortprozessen bei einem okulomotorischen Test mit verzögter Antwort ("oculomotor delayed-response task"). 5-HT_{2A}-Rezeptor-Antagonisten führten hierbei in erster Linie zu einem Rückgang der verzögerten Aktivität für bevorzugte Zielorte. Im Gegensatz dazu zeigte die Stimulation des Rezeptors eine Betonung der Feinabstimmung dieser Neurone durch einen mäßigen

Anstieg der Aktivität in bevorzugten Zielorten und/oder eine Abnahme der Aktivität für nicht-bevorzugte Zielorte. Die Autoren schreiben in Folge dessen dem 5-HT_{2A}-Rezeptor eine Bedeutung für die Arbeitsgedächtnisfunktion zu.

Vollenweider et al. (1998) demonstrierten einen Einfluss des 5-HT_{2A}-Rezeptor-Agonisten Psilocybin auf das Arbeitsgedächtnis. Psilocybin führte bei gesunden Probanden in einem Arbeitsgedächtnistest ("visual-manual delayed response task") zu einer Zunahme der Reaktionszeit. Dieser Effekt wurde durch Ketanserin und Risperidon, aber nicht durch Haloperidol unterbunden.

Luciana et al. (1998) untersuchten die Wirkung von Fenfluramin, einem Rezeptor-unspezifischen Serotoninagonist auf das Arbeitsgedächtnis. Fenfluramin bewirkt eine generalisierte sowie spezifische Erhöhung der serotonergen Neurotransmission im ZNS. In einem visuell-räumlichen Arbeitsgedächtnistest führte die Gabe von Fenfluramin zu einer Beeinträchtigung der Testleistung.

Poyurovsky et al. (2003) nahmen eine Untersuchung der Wirkung von Mianserin, einem tetrazyklischen Antidepressivum mit prädominanter antagonistischer Wirkung am 5-HT_{2A}-Rezeptor, auf die kognitive Leistungsfähigkeit bei Patienten mit chronischer Schizophrenie, die mit typischen Neuroleptika stabilisiert waren, vor. Im Vergleich zur Placebogruppe wies die Mianseringruppe nach 4 Wochen eine Verbesserung der Leistung in verschiedenen Lern-, Gedächtnis- und Aufmerksamkeitstests auf. Beim WCST zeigten sich jedoch keine Gruppenunterschiede für perseverative Fehler oder die Anzahl erfolgreich abgeschlossener Kategorien.

Chaudhry et al. (2002) untersuchten den Effekt des nicht-selektiven 5-HT_{2A}-Rezeptor-Antagonisten Cyproheptadin (Poyurovsky et al., 2003) auf die frontale Kognition bei an chronischer Schizophrenie erkrankten Individuen. In der Cyproheptadin-Gruppe wurde im Vergleich zur Kontrollgruppe eine signifikante Verbesserung im Stroop-Test ("Stroop colour word test"), einem Test exekutiver Funktionen, der Wortflüssigkeit und dem "Trail Making Test" (Verbindung einer Zahlensequenz bzw. einer Sequenz von Zahlen und Buchstaben) beobachtet. Cyproheptadin hatte keinen Einfluss auf die Anzahl perseverativer Fehler oder erfolgreich abgeschlossener Kategorien im WCST.

Die Ergebnisse dieser überwiegend klinischen, zum Teil auch tierexperimentellen Studien, in deren Rahmen der 5-HT_{2A}-Rezeptor Ziel pharmakologischer Manipulation war, lassen somit Rückschlüsse auf eine potentielle Rolle des Rezeptors hinsichtlich der Regulation präfrontaler kognitiver Prozesse zu.

2.7 Das 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen

2.7.1 Genstruktur

Das für den 5-HT_{2A}-Rezeptor kodierende Gen (HTR2A) ist auf dem langen Arm von Chromosom 13 in Position 13q14-q21 lokalisiert (Sparkes et al., 1991). Das Gen setzt sich aus drei Exons zusammen, die von zwei Introns getrennt werden. Die Exons kodieren für jeweils 138, 67 und 266 Aminosäuren. Der Rezeptor besteht als Genprodukt aus insgesamt 471 Aminosäuren (Chen et al., 1992). Es wurden 4 Initiationsstellen der Transkription beschrieben. Am 5'-Ende des Gens wurden 2 alternative Promotoren sowie im Anschluss in 3'-Richtung ein Silencer-Element nachgewiesen (Zhu et al., 1995). Abbildung 5 (Seite 41) zeigt eine schematische Darstellung des Gens sowie die Position relevanter Einzelnukleotidpolymorphismen.

Der 5-HT_{2A}-Rezeptor wird posttranskriptionell durch RNA-Spleißen modifiziert. Die Produkte aus alternativem RNA-Spleißen resultieren ausschließlich in pharmakologisch inaktiven Varianten des Rezeptormoleküls (Sanders-Bush et al., 2003). Guest et al. (2000) identifizierten eine durch alternatives Spleißen hervorgerufene Variante des Rezeptors, die im Gehirn mit dem nativen Rezeptor koexprimiert wird. Die Verteilung entspricht in etwa der des nativen Rezeptors, wobei für letzteren eine 10fach größere mRNA-Menge nachgewiesen wurde. Die Variante enthält eine 118bp-umfassende Insertion an der Grenze zwischen Exon II und III, die zu einer Verschiebung des Leserahmens der kodierenden Sequenz und einem vorzeitigen Stoppcodon nach 171bp führt. Das resultierende Transkript führt zu einem nicht-funktionellen verkürzten 5-HT_{2A}-Rezeptor-Protein, das im Bereich der vierten Transmembranregion endet.

In Fibroblasten wurde funktionelles Imprinting des humanen 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gens nachgewiesen. Für diesen Zelltyp wurde gezeigt, dass die Transkription ausschließlich

vom maternalen Allel erfolgt (Kato et al., 1996). Für das Gehirn bestehen Hinweise auf polymorphes Imprinting. Es konnte sowohl die monoallelische als auch biallelische Expression des Gens nachgewiesen werden (Bunzel et al., 1998). In zerebralen Strukturen wird das 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen primär im frontalen Kortex und Hippocampus exprimiert (Sigmund et al., 2008).

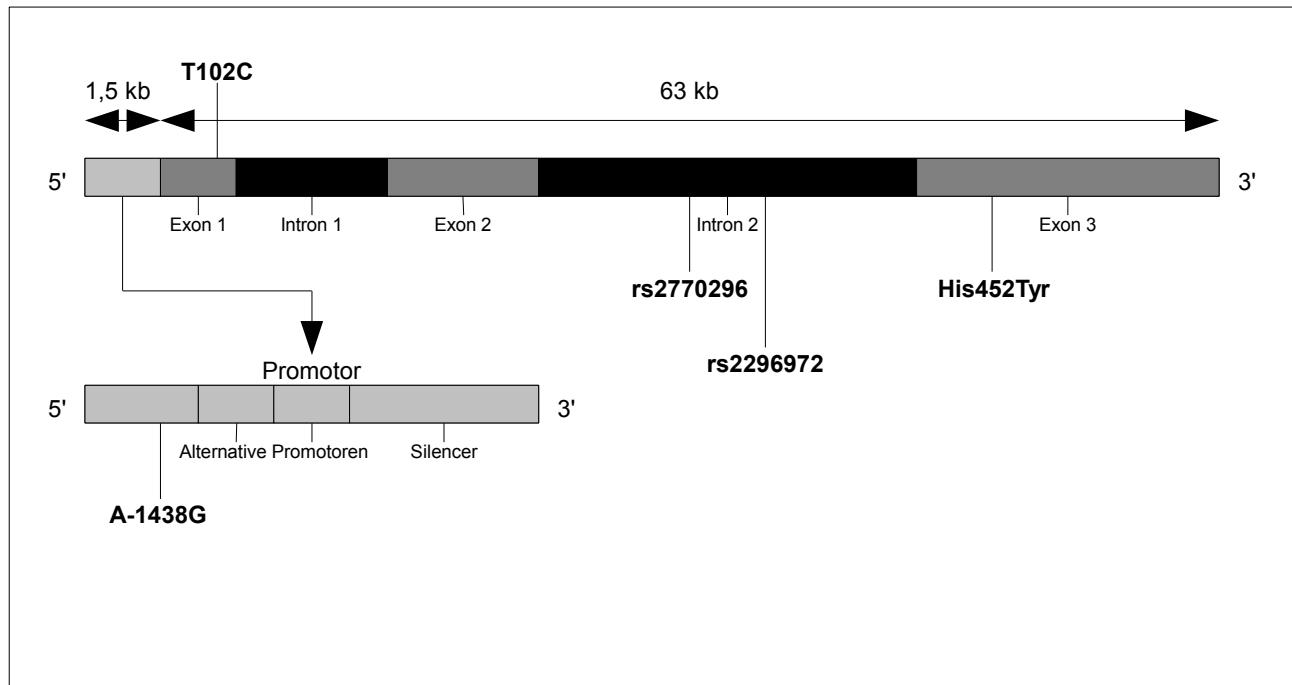


Abb. 5: Schematische Darstellung des 5-HT_{2A}-Rezeptorgens mit Position der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Einzelnukleotidpolymorphismen rs2770296 und rs2296972 sowie derjenigen, die am häufigsten Gegenstand von Assoziationsuntersuchungen mit Schizophrenie und kognitiven Funktionen sind (A-1438G, T102C und His452Tyr) - in Anlehnung an Fig. (3) aus Serretti et al. (2007).

2.7.2 Assoziation des 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gens mit Schizophrenie

Aufgrund der funktionellen Befunde, die eine Beteiligung des 5-HT_{2A}-Rezeptors an der Pathophysiologie der Schizophrenie indizieren, wird für das kodierende Gen ein potentieller Beitrag zum genetischen Krankheitsrisiko angenommen. In einer Meta-Analyse genomweiter Kopplungsuntersuchungen wurde eine Kopplung zwischen Schizophrenie und Markern auf dem langen Arm von Chromosom 13 bestätigt (Badner und Gershon, 2002). Dabei handelt es sich um eine Region, in der auch das 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen lokalisiert ist (Abdolmaleky et al., 2004).

Um für die Erkrankung potentiell relevante DNA-Varianten zu detektieren wurden bis heute eine Vielzahl an Assoziationsuntersuchungen in unterschiedlichen Populationen durchgeführt. Bei der am häufigsten untersuchten Sequenzvariante handelt es sich um einen SNP an Position 102. Dieser Polymorphismus befindet sich im Exon 1 in der Nähe des Promotors (Williams et al., 1997). Am Locus kann Thymin oder Cytosin vorliegen, was die Genotypen T/T, T/C und C/C ermöglicht. Zu einer Veränderung der Aminosäuresequenz kommt es nicht. Beide Allele kodieren für Serin im Codon 34 (Warren et al., 1993). Der T102C Polymorphismus befindet sich im Kopplungsungleichgewicht mit einem weiteren Polymorphismus (A-1438G), der innerhalb der Promotorregion liegt (Spurlock et al., 1998). Von den bis heute publizierten Assoziationsuntersuchungen von polymorphen Varianten im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen in Bezug auf Schizophrenie, richtete der überwiegende Teil den Fokus auf die Sequenzvariante T102C. In weitaus geringerer Zahl existieren in diesem Zusammenhang Untersuchungen der Polymorphismen A-1438G, Thr25Asn, His452Tyr und C516T.

Erstmals wurde in einer japanischen Stichprobe für einen polymorphen Locus an Position 102 mittels variierenden Restriktionsfragmentmustern von Inayama et al. (1996) eine Assoziation mit Schizophrenie detektiert. Die Frequenz des Genotyps A2A2 ($p < 0,05$) sowie des Allels A2 ($p < 0,05$) war in der Patientengruppe signifikant höher, wobei A2 der Präsenz der Mspl-Restriktionsstelle, respektive dem C-Allel, entsprach. Das für homozygote Träger verbundenen relative Risiko wurde mit 2,86 angegeben.

In Rahmen einer internationalen, europäischen Multicenter-Studie zeigte sich in einer kaukasischen Stichprobe eine signifikante Assoziation des T102C-Polymorphismus mit der Erkrankung. Die Autoren geben ein mit dem C-Allel assoziiertes relatives Risiko (OR) von 1,3 an. In der Patientenkohorte waren die Genotypen C/C und C/T signifikant überrepräsentiert (Williams et al., 1996).

Dieses Resultat wurde in einer deutschen Stichprobe von Erdmann et al. (1996) repliziert. Der Vergleich der Allelfrequenzen im Marker T102C führte den Autoren zu Folge allerdings lediglich zu einem geringen dem C-Allel zu attribuierendem Risiko (OR 1,28). Erdmann et al. (1996) identifizierten die DNA-Varianten Thr25Asn und His452Tyr im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen, die eine Alteration der Aminosäuresequenz bedingen und im N- bzw. C-terminalen Bereich des Rezeptormoleküls lokalisiert sind. In der oben beschriebenen deutschen

Stichprobe zeigte sich für beide Varianten keine Assoziation mit Schizophrenie. Beide Aminosäuresubstitutionen traten in der Fall- und Kontrollgruppe jeweils in vergleichbarer Frequenz auf.

Williams et al. (1997) unternahmen eine Meta-Analyse aller bis zum Jahr 1997 publizierten Assoziationsuntersuchungen von T102C mit Schizophrenie und berichten hierbei eine signifikant erhöhte Frequenz des C-Allels bei Patienten (OR 1,18). Die Gesamtstichprobe bestand aus 1533 Patienten und 1771 Kontrollen. Bei 7 der insgesamt 15 integrierten Studien handelte es sich um die Kohorten der an der oben angegebenen Multicenter-Studie von Williams et al. (1996) partizipierenden Arbeitsgruppen.

Spurlock et al. (1998) integrierten in ihre Assoziationsuntersuchung 63 von der Erkrankung betroffene Familientrios aus Großbritannien. Diese setzten sich aus vier Familien mit jeweils einem betroffenen Familienmitglied, 25 Familien mit jeweils zwei betroffenen Geschwistern und drei Familien mit jeweils drei betroffenen Geschwistern zusammen. Es wurde untersucht, ob bei den erkrankten Nachkommen eines der beiden Allele überzufällig häufig von den Eltern übertragen wird. Unter Einbeziehung aller betroffenen Nachkommen ergab sich eine signifikante Prävalenz des C-Allels, unter Einbeziehung eines betroffenen Nachkommens pro Familie nach zufälliger Auswahl ebenso.

In einer kanadischen Stichprobe zeigte sich zwar zwischen Patienten und Kontrollen kein signifikanter Unterschied in der Allelverteilung von T102C, jedoch ein statistischer Trend in Bezug auf eine Überrepräsentation des C/C-Genotyps in der Patientengruppe. In einem zweiten Schritt wurde die Patientenkohorte nach Ansprechen auf typische Neuroleptika in Responder und Non-Responder unterteilt. Für die Non-Responder-Subgruppe konnte im Vergleich zu den Kontrollen ein nichtsignifikanter Trend in Richtung des C-Allels beobachtet werden. Der C/C-Genotyp war unter den Non-Respondern gegenüber Kontrollen auf Signifikanzniveau überrepräsentiert. Signifikante Frequenzdifferenzen zwischen der Responder- und Kontrollgruppe ergaben sich nicht. Die nachfolgende differenzierte Analyse nach Geschlechtern zeigte hierbei ausschließlich unter Männern (Responder vs. Kontrollen) eine Assoziation mit dem C-Allel und dem C/C-Genotyp (Joober et al., 1999).

Weitere positive Assoziationen berichten Tan et al. (2001) für die T-assoziierten Genotypen T/T und T/C in einer chinesischen, Golimbet et al. (2007) für das C-Allel und die C-assoziierten Genotypen C/C und C/T in einer russischen, Vaquero Lorenzo et al. (2006) für das C-Allel in einer spanischen und Baritaki et al. (2004) für das T-Allel in einer griechischen Stichprobe.

Abdolmaleky et al. (2004) nahmen eine Meta-Analyse von 31 Fall-Kontroll-Assoziationsstudien des Markers T102C, die sich insgesamt aus 4632 Patienten und 4410 Kontrollprobanden zusammensetzen, vor. Sie fanden eine signifikante Assoziation für das C-Allel ($OR = 1,1$; $p = 0,015$), tendenziell zeigte sich auch eine Überrepräsentation des homozygoten C/C-Genotyps ($OR = 1,3$; $p = 0,056$). Gleichzeitig war eine signifikante Heterogenität in den Allel- und homozygoten Genotypfrequenzen zu beobachten. Diese war den Autoren zu Folge zumindest teilweise durch genetische Stratifikation bedingt. Eine daraufhin folgende getrennte Analyse resultierte innerhalb der europäischen Stichprobe in einer Zunahme des relativen Risikos für das C-Allel ($OR = 1,2$; $p < 0,001$) und für den C/C-Genotyp ($OR = 1,5$; $p = 0,006$). Die zunächst integrierten und nun isoliert betrachteten ostasiatischen Kohorten wiesen keine signifikante Assoziation zum C-Allel respektive C/C-Genotyp auf. Auffällig war eine im Vergleich zu europäischen Patienten (40,0%) und Kontrollen (43,5%) deutlich höhere Frequenz des T-Allels unter ostasiatischen Patienten (59,5%) und Kontrollen (57,5%). In einer Meta-Analyse von 5 Familienstudien konnten die gleichen Autoren keine Assoziation des C-Allels mit Schizophrenie demonstrieren. Das aus 473 Eltern-Nachkommen-Trios berechnete relative Risiko wurde hierfür mit $OR = 1,3$ ((CI: 0,9-1,8), $z = 1,47$; $p = 0,14$) angegeben, den Ergebnissen der Fall-Kontroll-Studien in etwa entsprechend.

Insbesondere in verschiedenen kaukasischen Stichproben konnte eine Assoziation des C-Allels bzw. des C/C-Genotyps in der T102C-Variante mit Schizophrenie demonstriert werden (Williams et al., 1996; Erdmann et al., 1996; Williams et al., 1997; Spurlock et al., 1998; Joober et al., 1999; Golimbet et al., 2007; Vaquero Lorenzo et al., 2006; Abdolmaleky et al., 2004). In einer griechischen Untersuchung war das gegensätzliche T-Allel bzw. der T/T-Genotyp in der Patientenkohorte signifikant überrepräsentiert (Baritaki et al., 2004).

Zahlreiche weitere Arbeitsgruppen berichten jedoch von fehlender Korrelation mit T102C bzw. ausbleibender Replikation: Nimgaonkar et al. (1996) in einer amerikanischen Untersuchung gemischter Ethnizität, Hawi et al. (1997) in einer irischen, Verga et al. (1997) in einer italienischen, Shinkai et al. (1998) in einer japanischen, Chen et al. (2001) und Zhang et al. (2004) jeweils in einer chinesischen, Mata et al. (2004) in einer spanischen und Sanders et al. (2008) in einer gemischt kaukasischen Stichprobe.

Auch für die weiteren polymorphen Varianten finden sich negative Befunde. So bestätigten Mata et al. (2004) und Sanders et al. (2008) sowie Ohara et al. (1999) in einer japanischen und Kim und Yoon (2011) in einer koreanischen Stichprobe keine Assoziation von A-1438G mit Schizophrenie. Erdmann et al. (1996) und Mata et al. (2004) berichten negative Befunde für His452Tyr. In einer brasilianischen Untersuchung von Bertola et al. (2007) zeigte sich ebenfalls keine Assoziation mit der Variante C516T.

Auch eine Meta-Analyse aus dem Jahr 2006, die alle bis Juli 2005 veröffentlichten englischen und chinesischen Assoziationsuntersuchungen zur Variante T102C berücksichtigte, bestätigte die positiven Assoziationsbefunde nicht. Die Analyse der Allelverteilung von 48 Studien mit 7363 Patienten und 7311 Kontrollen ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Die signifikante Heterogenität der Populationen wurde hierbei statistisch berücksichtigt. Vergleichbare negative Ergebnisse lieferte auch die Auswertung von insgesamt 42 Studien in Bezug auf die Genotypen des T102C-Polymorphismus. Für die Marker A-1438G und His452Tyr wurden unter Zusammenschau von jeweils 3 Studien ebenfalls keine signifikanten Effekte berichtet (Li et al., 2006)

Sämtliche bis Mitte des Jahres 2011 publizierten genomweiten Assoziationsuntersuchungen, die in Kapitel 2.2 vorgestellt wurden, berichteten für die genomische Repräsentation des 5-HT_{2A}-Rezeptors keine statistische Signifikanz hinsichtlich einer Assoziation mit Schizophrenie (Lencz et al., 2007; O'Donovan et al., 2008; Shifman et al., 2008; International Schizophrenia Consortium et al., 2009; Kirov et al., 2009; Need et al., 2009; Shi et al., 2009; Stefansson et al., 2009; Sullivan et al., 2009, Athanasiu et al., 2010; Schanze et al., 2010; Alkelai et al., 2011; Ikeda et al., 2011; Ma et al., 2011 und Yamada et al., 2011).

In verschiedenen oben dargestellten Studien wurden jedoch positive Assoziationen zwischen der polymorphen Variante T102C, respektive A-1438G, und Schizophrenie gezeigt. Die dieser Assoziation möglicherweise zu Grunde liegenden biologischen Mechanismen sind derzeit ungeklärt. Obwohl der Basenaustausch jeweils zu keiner Alteration der Aminoäuresequenz führt, gibt es jedoch Befunde, die für funktionelle Effekte sprechen (Golimbet et al., 2007).

Hierzu zählen signifikante von T102C-abhängige Unterschiede in der mRNA-Expression in heterozygoten Individuen (Polesskaya und Sokolov, 2002), die in Abhängigkeit von T102C bzw. A-1428G variierende 5-HT_{2A}-Rezeptor-Dichte im präfrontalen Kortex (Turecki et al., 1999) oder Effekte der polymorphen Varianten auf die Promotoraktivität. Die Arbeitsgruppe um Parsons demonstrierte in diesem Zusammenhang in Zelllinien, die den 5-HT_{2A}-Rezeptor endogen exprimieren, einen signifikanten, allelabhängigen Effekt (HeLa-Zellen: p = 0,003; SH-SY5Y-Zellen: p = 0,006) von A-1438G auf die Promotoraktivität, wobei das A-Allel mit einer stärkeren Promotoraktivität assoziiert war (Parsons et al., 2004).

In Bezug auf potentielle funktionelle Effekte wurde postuliert, dass differierende DNA-Methylierung zur abweichenden Aktivität der C- und T-Allele beitragen kann und so die genetische Assoziation des T102C Polymorphismus im 5-HT_{2A}-Gen mit psychiatrischen Störungen mitbedingt. Die Methylierung von Cytosin in CpG-Dinukleotiden stellt ein Schlüsselement epigenetischer Mechanismen zur Regulation der Genexpression dar, wobei der Grad der DNA-Methylierung interindividuell, beeinflusst durch genetische, physiologische und umweltbedingte Faktoren, variieren kann (Polesskaya et al., 2006).

Konsistent mit dieser Hypothese zeigt die Studie von Polesskaya et al. (2006) an postmortem von 10 Individuen entnommenem Hirngewebe des Brodmann-Areals 21, dass die C-allelische Variante im Gegensatz zur T-allelischen zwei zusätzliche CpG-Dinukleotide, an Position 102/103 im ersten Exon sowie an Position -1437/8 im Promotor, aufweist. Die Majorität dieser Allel-C-spezifischen CpG-Dinukleotide lagen im humanen temporalen Kortex in methylierter Form vor. Der Grad der Methylierung variierte interindividuell, wobei zwischen dem ersten Exon und dem Promotor diesbezüglich eine signifikante Korrelation vorlag. Die prozentuale Methylierung der Allel-C-spezifischen CpG-Dinukleotide im ersten Exon korrelierte signifikant mit dem Grad der Expression des Gens

für DNA-Methylase (DNMT1). Für das entsprechende Dinukleotid im Promotor wurde ein dem entsprechender nichtsignifikanter Trend berichtet.

Darüber hinaus zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen dem prozentualen Anteil der Methylierung des Allel-C-spezifischen CpG im Promotor und dem Grad der 5-HT_{2A}-Rezeptor-mRNA-Expression. Ein nicht signifikanter Trend ergab sich in dieser Hinsicht auch für das Dinukleotid im ersten Exon. Diese Befunde unterstützen den Autoren zu Folge die Hypothese, dass die Allel-spezifische DNA-Methylierung an der Regulation der 5-HT_{2A}-Rezeptor-Expression beteiligt ist, indem sie die Expression der einzelnen C- und T-Allele abweichend beeinflusst (Polesskaya et al., 2006).

Um mögliche funktionelle Zusammenhänge zwischen dem 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen und Schizophrenie zu erfassen, richteten weitere Untersuchungen ihr Augenmerk auf pharmakogenetische und klinische Aspekte. Insbesondere das Atypikum Clozapin steht hierbei aufgrund seiner hohen Affinität zum Rezeptor im Fokus. Ferner wurden von verschiedenen Arbeitsgruppen auch Zusammenhänge von Markern im Gen mit unerwünschten Arzneimittelwirkungen wie Spätdyskinesien erhoben.

Bereits 1995 berichteten Arranz et al. von einer Assoziation des Genotyps bei T102C mit dem Ansprechen auf Clozapin. Unter Non-Respondern fanden sich signifikant häufiger Träger des C/C-Genotyps (53%) als unter Respondern (25%). Auch die Prävalenz des C-Allels war unter Non-Respondern mit 68% im Vergleich zu Respondern mit 54% signifikant höher (Arranz et al., 1995).

In einem deutschen Kollektiv konnte die positive Assoziation von T102C mit dem klinischen Effekt von Clozapin nicht repliziert werden. Auch für die DNA-Varianten Thr25Asn und His452Tyr wurde kein signifikanter Zusammenhang mit dem Ansprechen auf Clozapin beobachtet (Nöthen et al., 1995).

Masellis et al. (1998) untersuchten neben der T102C-Variante auch A-1438G sowie den His452Tyr-Polymorphismus im 5HT_{2A}-Rezeptor-Gen auf Assoziation mit Ansprechen auf Clozapin in einer amerikanischen Stichprobe. Nur bei His452Tyr zeigten sich relevante Frequenzunterschiede zwischen Respondern und Non-Respondern. Unter Non-Respondern waren das Tyr-Allel und die Genotypen Tyr/Tyr sowie His/Tyr im Vergleich zu

Responden überrepräsentiert, die jeweiligen Anteile entsprachen 15% vs. 7% bzw. 4% und 23% vs. 0% und 14%.

Ellingrod et al. (2003) berichten für das Antipsychotikum Olanzapin einen Genotyp-abhängigen Effekt der klinischen Antwort in Bezug auf A-1438G. A/A-Träger zeigten im Mittel nach 6-wöchiger Behandlung mit 45% eine deutlichere Besserung einer Negativsymptomatik als die weiteren Genotypen (19%). Die Kriterien der statistischen Signifikanz erfüllte dieser Befund jedoch nicht ($p = 0,0542$), er wurde aber von den Autoren als eindeutiger Trend gewertet.

Tan et al. (2001) wiesen in einem chinesischen Kollektiv aus Singapur einen signifikanten Unterschied in der Allelfrequenz des T102C-Polymorphismus zwischen Patienten mit und ohne Entwicklung von tardiven Dyskinesien nach. Unter Berücksichtigung der Covariablen Alter und Antipsychotika-Dosierung in Chlorpromazin-Einheiten bezifferten die Autoren das relative Risiko für Träger des Risiko-steigernden C-Allels mit 1,64.

Auch Segman et al. (2001) bestätigten die Überrepräsentation des C-Allels von T102C unter Patienten mit Spätdyskinesien (62,7%) im Vergleich zu Patienten ohne Spätdyskinesien (41,1%) und gesunden Kontrollen (45,9%). Für den isolierten Vergleich der beiden Patientengruppen ergab sich für Träger des C-Allels ein signifikant erhöhtes Risiko für tardive Dyskinesien ($p = 0,0008$). Entsprechendes galt für die Verteilung der Genotypen mit einem erhöhten Risiko für C/C-Träger ($p = 0,01$). Die Analyse der A-1438G-Variante ergab, wie aufgrund des Kopplungsungleichgewichtes mit T102C erwartet, ein redundantes Resultat. Ein Zusammenhang zwischen der Entwicklung von tardiven Dyskinesien und den Allel- und Genotypfrequenzen von His452Tyr konnte nicht beobachtet werden.

Unter Zusammenschau der Befunde lässt sich feststellen, dass nur ein Teil der Studien eine Assoziation von Polymorphismen im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen mit der Erkrankung Schizophrenie demonstrieren konnte. Auch Untersuchungen von Geneffekten in Hinblick auf funktionelle Aspekte wie Rezeptorexpression und -dichte, mRNA-Niveau, Promotoraktivität sowie klinische Phänomene wie Antipsychotika-Response oder tardive Dyskinesien ergaben zum Teil inkonsistente Resultate. Die Tatsache jedoch, dass die

positiven Befunde in erheblicher Weise ineinander greifen, lässt die Vermutung einer risikosteigernden Bedeutung des Gens zu.

2.7.3 Assoziation des 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gens mit kognitiven Domänen

Die Bedeutung des serotonergen Systems sowie des 5-HT_{2A}-Rezeptors für die Modulation präfrontaler Kognition wird durch die in Kapitel 2.6.4.3.3 dargestellten Befunde deutlich. Arbeitsgedächtnisprozesse unterliegen einer genetischen Determination (Cannon et al., 2000; Ando et al., 2001). Der potentielle Einfluss von DNA-Varianten im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen auf diese und weitere kognitive Domänen ist daher Gegenstand verschiedener Studien. Auch in diesem Zusammenhang stellt der SNP T102C die am häufigsten untersuchte Sequenzvariante dar.

Ücok et al. (2007) nahmen eine Untersuchung exekutiver Funktionen und visueller Daueraufmerksamkeit in einer türkischen Stichprobe von 82 schizophrenen Patienten auf Assoziation zum T102C Polymorphismus vor. Das T-Allel korrelierte mit einer herabgesetzten Trefferrate sowie einer erhöhten Fehlerzahl in einem *Continuous Performance Test* (CPT), der zur Messung der Aufmerksamkeit eingesetzt wurde. Im Vergleich zu den Genotypen C/C und T/T wies hierbei auch der heterozygote Genotyp C/T eine signifikant größere Fehlerzahl sowie eine geringere Trefferrate auf. Im WCST zeigte der C/T Genotyp eine signifikant niedrigere Anzahl korrekter Zuordnungen als die homozygoten Genotypen.

Eine polnische Arbeitsgruppe untersuchte in einer Stichprobe aus 200 gesunden Individuen, jeweils 100 Frauen und Männer, den Einfluss von Polymorphismen im Serotonin-Transporter-, 5-HT_{2A}-Rezeptor- und 5-HT_{2C}-Rezeptor-Gen auf einzelne Kategorien im WCST. Für den T102C-Polymorphismus im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen und den C68G-Polymorphismus im 5-HT_{2C}-Rezeptor-Gen konnten keine Assoziationen zu Testleistungen gefunden werden. Die Analyse des ins/del-Polymorphismus des Serotonin-Transporter-Gens zeigte jedoch, dass Probanden, die den homozygoten I/I Genotyp aufwiesen im Vergleich zu den weiteren Genotypen s/s und s/I signifikant mehr Versuche benötigten ($p < 0,05$), um die erste Testkategorie abzuschließen (Wilkosc et al., 2010).

In einer chinesischen Stichprobe bestehend aus 216 gesunden Probanden beeinflusste der T102C-Polymorphismus des 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gens signifikant perseverative Fehler im WCST. So wies der Genotyp C/T eine um 25% erhöhte Fehlerhäufigkeit als der T/T Genotyp in dieser Testkategorie auf. Auch im untersuchten T267C Polymorphismus des 5-HT₆-Rezeptor-Gens zeigte sich eine Assoziation. Hierbei korrelierte der T/T-Genotyp signifikant mit einer höheren Zahl perseverativer Fehler im Vergleich zu T/C und C/C. Zwischen der Anzahl erfolgreich abgeschlossener Kategorien und beiden DNA-Varianten zeigten sich keine signifikanten Assoziationen (Lane et al., 2008).

Chen et al. (2001) berichten bei einem semantischen Wortflüssigkeitstest einen Trend in Richtung besserer Leistung bei Patienten mit dem Genotyp T/C an Position 102 im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen ($F = 5,381$; $p = 0,005$). Im darüber hinaus durchgeföhrten Stroop-Test ergaben sich keine Leistungsunterschiede in Abhängigkeit von Allelen oder Genotypen. Untersucht wurden 471 nach DSM-IV-Kriterien an Schizophrenie erkrankte Han-Chinesen.

In einer weiteren chinesischen Stichprobe bestehend aus 642 gesunden Individuen wurde der Effekt der Polymorphismen T102C (rs6313) und rs4941573 auf kognitive Variablen untersucht. Hierzu wurde in einem Test des visuospatialen Arbeitsgedächtnisses die Reaktionszeit und die Gedächtnisspanne erfasst sowie in einem Test räumlich-kognitiver Fähigkeiten die Zielvariablen "*localization*", "*mental rotation-3D*", "*touching blocks*" und "*Gestalt picture*". Zunächst zeigten sich signifikante Leistungsunterschiede zwischen den Geschlechtern in den Variablen Arbeitsgedächtnisspanne, "*touching blocks*" und in der Fehlerrate bei der "*mental rotation-3D*". Nach erfolgter Korrektur für multiples Testen nach Benjamini und Hochberg ergab sich in der männlichen Subgruppe eine signifikante Assoziation von T102C mit den Variablen "*touching blocks*" und der Fehlerrate für "*mental rotation-3D*". Individuen mit dem T/T-Genotyp wiesen im Vergleich zum C/C-Genotyp jeweils eine bessere Leistung auf. Auch für rs4941573 bestand in der männlichen Subgruppe eine Assoziation mit der Fehlerrate für "*mental rotation-3D*" sowie in der gesamten Kohorte mit der Reaktionszeit im visuospatialen Arbeitsgedächtnistest. Hierbei zeigten die Individuen mit dem homozygoten Genotyp A/A im Vergleich zum Genotyp G/G eine schnellere Reaktionszeit im Arbeitsgedächtnistest, jedoch eine höhere Fehlerrate bei "*mental rotation-3D*", der Zielvariable der räumlichen Kognition (Gong et al., 2011).

Für den mit einer minoren Allelfrequenz von 9% auftretenden Polymorphismus His452Tyr, der an Position 452 zu einer Substitution von Histidin durch Tyrosin führt, wurde an einer schweizer Stichprobe aus 439 gesunden Individuen ein signifikanter Einfluss auf das episodische Gedächtnis nachgewiesen. Im Vergleich zu Probanden mit dem Genotyp His/His zeigten Probanden mit His/Tyr eine um 21% schlechtere Leistung in der 5 Minuten nach Einprägung unerwartet erfolgten Wiedergabe einer semantischen Wortliste ($p = 0,002$). Dieser Effekt wurde sowohl in der Subgruppe aus 230 Akademikern ($p = 0,03$), als auch unter den 119 Nicht-Akademikern ($p = 0,03$) beobachtet. Die Probanden die mit schlechterer Gedächtnisleistung unterhalb des Medians lagen, wiesen als Gruppe einen signifikant höheren Anteil des His/Tyr Genotyps auf ($p < 0,001$).

Die erneute Abfrage der Wortliste nach 24 Stunden erbrachte einen vergleichbaren Genotyp-abhängigen Einfluss auf die Leistung. Die unmittelbar an die Lernphase anschließende freie Wiedergabe unterlag keiner Assoziation mit dem Genotyp ($p = 0,73$). In einem figuralen Gedächtnistest mit unerwarteter Wiedergabe der Objekte nach 5 Minuten und 24 Stunden im Anschluss an die Präsentation bestand eine signifikante Assoziation des His/Tyr Genotyps mit schlechterer Leistung in der männlichen Subgruppe. Die sofortige Wiedergabe sowie die Leistung der weiblichen Subgruppe wurde durch den Genotyp nicht beeinflusst. Darüber hinaus zeigte der Genotyp keinen Effekt auf das sofortige Wiedererkennen von komplexen Kimura-Figuren (de Quervain et al., 2003).

Papassotiropoulos et al. (2005) zeigten in einer Stichprobe aus 622 gesunden Individuen zwischen 18 und 90 Jahren, dass der von de Quervain (2003) entdeckte Effekt des His452Tyr Genotyps auf das episodische Gedächtnis in einem analogen Versuchsaufbau altersabhängig und nur in jüngeren Subgruppen zu beobachten war. Die altersabhängige Auswirkung des Genotyps resultierte ferner in einer sich signifikant unterscheidenden Korrelation zwischen Alter und verbalem bzw. figuralem verzögerten Wiederaufruf. His/His Probanden wiesen im Gegensatz zu His/Tyr-Probanden eine signifikante negative Korrelation auf. Im Gegensatz zu His-Tyr-Trägern ergab sich somit bei His/His-Trägern mit zunehmendem Alter eine graduelle Leistungsabnahme.

Aufgrund der Ergebnisse von de Quervain et al. (2003) und Papassotiropoulos et al. (2005) erfolgte eine Feinkartierung des 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gens in einem Teil der schweizer Stichprobe von de Quervain, die zeigte, dass weitere Loci unabhängig vom His452Tyr-Polymorphismus signifikant mit Leistungen des episodischen Gedächtnisses assoziiert

sind. Initial wurden 10 SNPs auf eine entsprechende Korrelation getestet, von denen rs9526240 eine signifikante Assoziation aufwies. Dieser Polymorphismus befindet sich nicht in einem Kopplungsungleichgewicht mit His452Tyr. G/G-Träger zeigten hierbei im Vergleich zu A/G- und A/A-Trägern eine signifikant bessere Leistung bei der Wiedergabe einer memorisierten Wortliste sowohl 5 Minuten ($p = 0,009$) als auch 24 Stunden ($p = 0,006$) nach deren Präsentation. Ferner erfolgte eine Imputation von zur Verfügung stehenden HapMap-basierten SNPs für das 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen. In Folge wurden die so geschätzten, möglicherweise relevanten Genotypen auf Assoziation zum untersuchten Phänotyp getestet und diejenigen mit der höchsten Signifikanz auch in der von den Autoren untersuchten Population genotypisiert. G/G-Träger von rs9534496 zeigten hierbei eine signifikant bessere Leistung als C/C- und C/G-Träger in der Wiedergabe der Wortliste nach 5 Minuten ($p = 0,003$) und 24 Stunden ($p = 0,001$). Ein signifikantes Kopplungsungleichgewicht zur His452Tyr-Variante wurde aufgrund der zugrunde liegenden Haplotypstruktur ausgeschlossen, allerdings bestand zu rs9526240 eine enge Kopplung (Sigmund et al., 2008).

In einer russischen Stichprobe untersuchten Alfimova et al. (2010) die Loci T102C und A-1438G, letzterer befindet sich in einem Kopplungsungleichgewicht zu T102C, im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen auf Assoziation zum verbalen Kurzzeitgedächtnis. Hierfür wurden 405 Patienten, 347 mit der Diagnose Schizophrenie (F20), 46 mit der Diagnose schizoaffektive Störung (F25) und 12 mit der Diagnose schizotype Störung (F21), jeweils nach ICD-10-Kriterien sowie 290 gesunde Individuen genotypisiert. Die Studienteilnehmer wurden gebeten, unmittelbar zwei aus jeweils 10 Nomen bestehende Wortlisten wiederzugeben, wobei das Vorlesen der zweiten Liste nach Abfrage der ersten erfolgte. Erfasst wurden die Gesamtzahl der aus beiden Listen korrekt repitierten Wörter ("*overall productivity*"), die Anzahl der aus der ersten Liste korrekt repitierten Wörter ("*immediate reproduction*") sowie der Quotient der Anzahl korrekter Wiedergaben aus den nun getrennt bewerteten Listen ("*effect interference*"). Dieser Quotient, die Reproduktionsleistung der zweiten Liste in Relation zu derer der ersten, reflektiert den Autoren zu Folge proaktive Interferenz, also den negativen Effekt zuvor gelernter Informationen auf die Erinnerungsfähigkeit neuer Informationen. Statistische Signifikanz erreichte in der Gesamtkohorte die Differenz der Gesamtzahl der korrekt wiedergegebenen Wörter in Abhängigkeit vom Genotyp in beiden polymorphen Varianten. Dabei stellte sich der Genotyp C/C von T102C im Vergleich zum Genotyp C/T durch eine signifikant geringere "*overall productivity*" dar ($p < 0,04$). Dies galt

ebenso für den G/G-Genotyp von A-1438G ($p < 0,03$) im Vergleich zu A/G und A/A (Alfimova et al., 2010).

Reynolds et al. (2006) nahmen in einem schwedischen Zwillings-Kollektiv bestehend aus 498 nicht an einer Demenz erkrankten, gesunden Individuen eine longitudinale Untersuchung verschiedener Gedächtnisleistungen in Abhängigkeit des A-1438G-Polymorphismus vor. Hierzu überprüften die Autoren an 4 verschiedenen Zeitpunkten im Verlauf von 13 Jahren die Leistungen der Probanden in einem Test der Zahlenspanne, der nach Hester et al. (2004) insbesondere bei der rückwärtigen Wiedergabe der Zahlenfolge Arbeitsgedächtnisfunktionen involviert sowie die sofortige und verzögerte Wiedergabe von fotografierten Gesichtern in Kombination mit Namen und den *Thurstone's Picture Memory Test*, der sich aus Zeichnungen von Alltagsgegenständen zusammen setzt. Zunächst erfolgte am Ausgangszeitpunkt eine Analyse, ob sich die Testleistungen innerhalb der dizygoten Zwillingspaare im Falle am Locus differierender Genotypen und zwischen allen 94 monozygoten und 105 dizygoten Paaren Genotyp-abhängig unterscheiden. Hierbei ergaben sich keine signifikanten allelischen Effekte für die Zahlenspanne und den Namen-Gesichter-Test, lediglich im figuralen Gedächtnistest erzielten Träger des G/G-Genotyps unter Betrachtung der Gesamtstichprobe bessere Resultate als Träger des A/G- oder A/A-Genotyps, deckungsgleich mit einer besseren Leistung der für A-1438G G/G-aufweisenden, dizygoten Zwillingsgeschwister im Vergleich zu ihren Co-Zwillingen. Ausschließlich im figuralen Gedächtnistest zeigte sich eine Assoziation der Variante im Alter von 65 Jahren sowie mit der nichtlinearen Veränderung dieser Leistung im Altersverlauf, wobei die bessere Testleistung mit dem Genotyp G/G assoziiert war.

Tabelle 4 (Seite 54) fasst die positiven Assoziationsbefunde von Markern im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen mit Leistungen in Tests verschiedener kognitiver Domänen zusammen.

Die Durchsicht der Literatur zeigte, dass für polymorphe Varianten im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen in verschiedenen Studien einerseits eine Assoziation mit Schizophrenie sowie andererseits mit kognitiven Funktionen nachgewiesen werden konnte. Insbesondere Beeinträchtigungen der präfrontalen Kognition, also von Arbeitsgedächtnisleistungen und Exekutivfunktionen, stellen ein Kernsymptom der Erkrankung dar. Die Zahl der Veröffentlichungen, die einen Zusammenhang zwischen Polymorphismen im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen und diesen kognitiven Prozessen untersucht, ist jedoch gering. Hierauf

richtet sich daher, einhergehend mit einer Assoziationsuntersuchung zur Krankheitsentität Schizophrenie, der Fokus der vorliegenden Arbeit.

Tab. 4: Positive Assoziationen von Polymorphismen im 5-HT_{2A}-Rezeptor in Tests kognitiver Domänen

Polymorphismus	Genotyp/Allel	Assoziation	Stichprobe	Studie	
rs6313 (T102C)	T-Allel	<u>CPT</u> : herabgesetzte Trefferrate, erhöhte Fehlerzahl	82 schizophrene Patienten, Türkei	Ücok et al., 2007	
	Genotyp C/T	<u>CPT</u> : niedrigere Trefferrate, höhere Fehlerzahl als C/C und T/T			
	Genotyp C/T	<u>WCST</u> : geringere Anzahl korrekter Zuordnungen als C/C und T/T	216 gesunde Individuen, China		
	Genotyp C/T	<u>WCST</u> : höhere Anzahl perseverativer Fehler als T/T			
	Genotyp T/T	<u>Wortflüssigkeitstest</u> : tendenziell bessere Leistung	471 schizophrene Patienten, China	Chen et al., 2001	
	Genotyp C/C	<u>räumlich-kognitive Fähigkeit</u> : bessere Leistung als C/C in einzelnen Testkategorien bei männlicher Subgruppe	642 gesunde Individuen, China		
rs6311 (A-1438G)	Genotyp G/G	<u>Verbales Kurzzeitgedächtnis</u> : geringere gesamte Reproduktionsleistung im Vergleich zu A/T	Gemischte Kohorte, 405 Patienten (F20, F21, F25), 290 gesunde Individuen, Russland	Alfimova et al., 2010	
	Genotyp G/G	<u>Figurales episodisches Gedächtnis</u> : bessere Leistung an Baseline, mit 65 Jahren und assoziiert mit besserem longitudinalalem Verlauf	498 gesunde Individuen aus Schweden, davon 94 monozygote und 105 dizygote Zwillingspärchen	Reynolds et al., 2006	

Polymorphismus	Genotyp/Allel	Assoziation	Stichprobe	Studie
rs4941573	Genotyp A/A	<u>räumlich-kognitive Fähigkeit:</u> höhere Fehlerrate als G/G in einzelner Testkategorie bei männlicher Subpopulation	642 gesunde Individuen, China	Gong et al., 2011
	Genotyp A/A	<u>Visuospatiales Arbeitsgedächtnis:</u> schnellere Reaktionszeit als G/G in gesamter Kohorte		
rs6314 (C1354T bzw. His452Tyr)	Genotyp His/Tyr	<u>episodisches Gedächtnis:</u> verminderte Leistung bei Wiedergabe einer Wortliste als His/His	349 gesunde Individuen, Schweiz	de Quervain et al., 2003
rs9526240	Genotyp G/G	<u>episodisches Gedächtnis:</u> bessere Leistung bei Wiedergabe einer Wortliste als A/A und A/G	357 gesunde Individuen, Schweiz	Sigmund et al., 2008
rs9534496	Genotyp G/G	<u>episodisches Gedächtnis:</u> bessere Leistung bei der Wiedergabe einer Wortliste als C/C und C/G	357 gesunde Individuen, Schweiz	Sigmund et al., 2008

3 Fragestellung

Assoziationsstudien sind eine sensitive Methode, um auf molekulargenetischer Ebene nach Suszeptibilitätsgenen mit kleinen Effekten bei genetisch heterogenen Erkrankungen wie der Schizophrenie sowie komplexen Leistungen wie dem Arbeitsgedächtnis oder exekutiven Funktionen zu suchen. Zahlreiche Befunde belegen eine genetische Komponente beim Arbeitsgedächtnis, das einen wesentlichen Faktor exekutiver Funktionen darstellt. Die Untersuchung der genetischen Basis dieser präfrontalen Kognitionen könnte somit auch die Identifikation von Suszeptibilitätsgenen der Schizophrenie erleichtern.

Das 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen wurde im Literaturüberblick als interessantes Kandidatengen für Schizophrenie ausgewiesen. Darüber hinaus besteht ein Zusammenhang zwischen dem 5-HT_{2A}-Rezeptor und präfrontalen Funktionen. Einige Studien konnten die Assoziation von DNA-Varianten in diesem Gen mit Aspekten präfrontaler Kognition aufzeigen. Für die Polymorphismen rs2296972 und rs2770296 existieren in diesem Zusammenhang bisher jedoch keine veröffentlichten Untersuchungen.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, Assoziationen zwischen den beiden Polymorphismen des 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gens und einerseits der Schizophrenie im Rahmen einer Fall-Kontroll-Studie sowie andererseits mit Leistungen in einem Test der exekutiven Funktionen (WCST) und einem Arbeitsgedächtnistest (n-back) an einer deutschen Population zu erfassen. Hierzu wurden Allel- und Genotypfrequenzen der zwei Polymorphismen mittels einer MALDI-TOF-basierten Methode bestimmt. Die untersuchte Stichprobe setzte sich aus 142 an Schizophrenie erkrankten Personen und 338 gesunden Individuen zusammen.

4 Material und Methoden

4.1 Vorbedingungen der Studiendurchführung

Die Durchführung der Studie erfolgte mit Zustimmung der lokalen Ethikkommission. Alle Probanden erklärten sich freiwillig zur Studienteilnahme bereit. Nach Aufklärung über die Zielsetzung der Studie und die anonymisierte Verwendung der erhobenen Daten und gewonnenen Blutproben wurde eine unterschriebene Einverständniserklärung eingeholt.

4.2 Zusammensetzung der Studienteilnehmer

Die Gesamtstichprobe setzte sich aus insgesamt 480 Individuen zusammen, darunter 338 gesunde Kontrollprobanden und 142 an Schizophrenie erkrankte Patienten. Die Kontrollgruppe bestand aus nichtverwandten, gesunden und deutschstämmigen Personen aus der allgemeinen Bevölkerung Münchens. Ins Patientenkollektiv gingen Personen kaukasischer Ethnizität mit der nach DSM-IV-Kriterien gesicherten Diagnose Schizophrenie ein.

4.2.1 Verteilung nach Geschlecht

In der Kontrollgruppe fanden sich 160 Männer (47,3%) und 178 Frauen (52,7%), in der Patientengruppe 90 Männer (63,4%) und 52 Frauen (36,6%). Beide Gruppen unterschieden sich in ihrer Geschlechterverteilung signifikant ($\chi^2 = 10,312$; OR = 0,519 (CI = 0,347 - 0,777); df = 1, p = 0,001). Während das Verhältnis der Geschlechter unter den Kontrollprobanden weitestgehend ausgeglichen war, wurde das Patientenkollektiv vom männlichen Geschlecht mit 63,4% dominiert. Tabelle 5 (Seite 58) gibt die Geschlechterverteilung der Kontroll- und Patientengruppe wieder.

Tab. 5: Geschlechterverteilung des Kontroll- und Patientenkollektivs

Gruppe	Geschlecht n (%)		Gesamt n (%)
	männlich	weiblich	
Kontrollen	160 (47,3)	178 (52,7)	338 (100)
Patienten	90 (63,4)	52 (36,6)	142 (100)
Gesamt n (%)	250 (52,1)	230 (47,9)	480 (100)

4.2.2 Verteilung nach Alter

Der Altersdurchschnitt der Kontrollprobanden betrug 48,11 Jahre ($SD = 14,930$). Die Altersverteilung der Patienten ergab ein mittleres Alter von 39,02 Jahren ($SD = 10,280$). Beide Gruppen unterschieden sich hinsichtlich der Altersverteilung signifikant ($T = 6,618$; $df = 473$; $p = 0,000$). Das Durchschnittsalter in der Patientengruppe war annähernd 9 Jahre jünger als in der Kontrollgruppe. Tabelle 6 fasst die Altersverteilung zusammen.

Tab. 6: Altersverteilung des Kontroll- und Patientenkollektivs

Gruppe	Alter M (SD)	Gesamt n (%)
Kontrollen	48,11 (14,930)	333 (70,1)
Patienten	39,02 (10,280)	142 (29,9)
Gesamt n (%)		475 (100)

M = Mittelwert, SD = Standardabweichung

4.2.3 Verteilung nach Schulbildung

Bei jedem Studienteilnehmer wurde der Grad der Schulbildung mit dem höchsten erreichten Schulabschluss erfragt und eine graduelle Einteilung in niedrig (maximal Volks- oder Hauptschule mit Abschluss bzw. Realschule ohne Abschluss), mittel (maximal Realschule mit Abschluss bzw. gymnasiale Oberstufe ohne Abschluss) und hoch (Abitur) vorgenommen, siehe Tabelle 7 (Seite 59). Die Gruppen unterschieden sich hierbei tendenziell ($\chi^2 = 4,732$; $df = 2$; $p = 0,094$). Es fiel ein Trend in der Patientengruppe zu einem niedrigeren Grad der Schulbildung auf. Die Repräsentation der Patienten im niedrigsten Bildungsgrad war mit 31,0% höher als die der Kontrollen.

Tab. 7: Verteilung des Bildungsgrades

	Bildungsgrad			Gesamt n (%)
	niedrig	mittel	hoch	
Kontrollen	74 (21,9)	135 (39,9)	129 (38,2)	338 (100)
Patienten	44 (31,0)	47 (33,1)	51 (35,9)	142 (100)
Gesamt n (%)	118 (24,6)	182 (37,9)	180 (37,5)	480 (100)

4.3 Rekrutierung der Studienteilnehmer

4.3.1 Kontrollen

Die Rekrutierung der Kontrollprobanden beruhte auf einem mehrstufigen Verfahren. Im ersten Schritt erfolgte eine dem Zufallsprinzip unterlegene Vorauswahl über das Zentralverwaltungsreferat der Stadt München. Ausgewählte Personen erhielten ein Einladungsschreiben mit Aufklärung über die Studienziele. Bei Interesse an einer Studienteilnahme wurde im nächsten Schritt ein Telefoninterview zur ersten Feststellung der Eingangsvoraussetzungen durchgeführt. Gefordert wurden hierbei eine deutsche Abstammung, das Fehlen von psychiatrischen, neurologischen und hirnorganischen Erkrankungen sowie von Alkohol-, Medikamenten-, und Drogenmissbrauch, Suizidalität und Selbsttötung bzw. Selbsttötungsversuchen in der Eigen- und Familienanamnese. Bestanden hierzu keine Hinweise folgte die Erhebung einer umfassenden schriftlichen somatischen und psychiatrischen Krankengeschichte des Studienteilnehmers und seiner Verwandten bis dritten Grades. Dabei bestand der Schwerpunkt aus Fragen zu affektiven Störungen, Angst- und Panikstörungen, Zwangserkrankungen, psychotischen Störungen, Essstörungen, Alkohol- und Drogenkonsum sowie suizidalen Phasen bzw. Selbsttötungen bei Verwandten. Psychiatrisch-neurologische ambulante Interventionen und stationäre Klinikaufenthalte wurden aufgenommen.

Es schloss sich die Erfassung einer ausführlichen biographischen Anamnese an. In diese fanden die genetische Abstammung, Komplikationen während der Schwangerschaft der Mutter und bei Geburt, die Schul- und Berufslaufbahn, Familienstand und Lebenszufriedenheit Eingang. Außerdem wurden klinische und globale Persönlichkeitseigenschaften mit Hilfe spezieller Fragebögen erfasst.

Bei Vorliegen der Eingangsvoraussetzungen wurden die potentiellen Probanden zu einem persönlichen Termin eingeladen, der die Durchführung des Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene (HAWIE-R) (Tewes, 1991), des Leipziger Ereignis- und Belastungsinventars (Richter und Guthke, 1996) und der deutschen Version des Strukturierten Klinischen Interviews zur Exploration gemäß der Klassifikation des *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (DSM-IV) der *American Psychiatric Association* (SKID) in seiner vierten Revision (Wittchen et al., 1996; Wittchen et al., 1997) vorsah.

Dabei diente SKID I der Erfassung und Diagnostik der Psychopathologie, die im DSM-IV unter Achse I subsumiert wird. Persönlichkeitsstörungen (Achse II) wurden mittels SKID II exploriert. Psychosoziale Beeinträchtigungen und situative Auslöser, sogenannte "life events" (Achse IV) wurden erfasst und eine globale Beurteilung der Leistungsfähigkeit (Achse V) durchgeführt.

Um individuelle Informationen über die Belastung des Probanden durch kritische Lebensereignisse zu gewinnen, wurde das Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar als strukturelles Interview eingesetzt. Belastende Ereignisse wurden in den Bereichen allgemeine soziale Situationen, berufliche Situationen, Partnersituationen, Familiensituationen und traumatische Erlebnisse erfasst. Darüber hinaus wurde der Zusammenhang zwischen dem Belastungsgrad kritischer Ereignisse und persönlich wichtiger Lebensziele betrachtet. Die Anwendung des HAWIE-R diente der Beurteilung der kognitiven Fähigkeiten der Studienteilnehmer. Mit Hilfe des *Family History Assessment Modules* (Rice et al., 1995) wurden psychiatrische Diagnosen unter Erstgradverwandten ermittelt. Nur unter der Voraussetzung fehlender psychiatrischer und somatischer Erkrankungen und Achse I/II Störungen (*lifetime*), sowie einer negativen psychiatrischen Familienanamnese waren die Eingangskriterien erfüllt und ein Studieneinschluss erfolgte.

4.3.2 Patienten

Die Rekrutierung der Patientengruppe basierte auf einem Patientenpool zusammengesetzt aus an Schizophrenie erkrankten Personen, die in verschiedenen psychiatrischen Kliniken Münchens stationär behandelt wurden. Aus dieser Gruppe

wurden telefonisch Studienteilnehmer gewonnen. Dazu diente ein Telefongespräch, in dem die Studienziele erläutert sowie der Ablauf der Untersuchungen vorgestellt wurden. Eine Aufnahme in die Studie erfolgte ausschließlich bei Patienten, die im Untersuchungszeitraum nicht in stationärer Behandlung waren. Bei Einwilligung wurde ein Termin vereinbart.

Zum Untersuchungstermin wurde im Gespräch eine ausführliche psychiatrische und somatische Anamnese erhoben. Diese umfasste Krankheitsverlauf, Zeitpunkt der Erstmanifestation, Auftreten von Prodromalsymptomatik, Anzahl und Dauer der Krankheitsphasen sowie der stationären Klinikaufenthalte, aktuelle und frühere Medikation, Suizidversuche, Alkohol- und Drogenkonsum, psychosoziale Auslösefaktoren und Erkrankungsfälle in der Familie. Begleiterkrankungen wie Angststörungen, Zwangsstörungen, Essstörungen, somatoforme Störungen und Anpassungsstörungen wurden eruiert. Darüber hinaus wurde die biographische Anamnese mit Fragen zu Komplikationen während der Schwangerschaft der Mutter und bei Geburt, Schul- und Berufsausbildung, beruflicher Werdegang sowie Wohn- und Familiensituation ermittelt. Die *Positive and Negative Syndrome Scale* (PANSS) (Kay et al., 1987) wurde für den aktuellen Zeitpunkt und die am stärksten ausgeprägteste Krankheitsphase erhoben. Anschließend erfolgte das SKID-I in der klinischen Version zur Verifizierung der Diagnose und deren Einordnung in die Subtypen der Schizophrenie nach DSM-IV Kriterien (Wittchen et al., 1996; Wittchen et al., 1997). In Abhängigkeit von der Symptomatik erfolgt hierbei eine Differenzierung in einen paranoiden, desorganisierten, katatonen, undifferenzierten und residualen Typus.

Nach DSM-IV wird für die Diagnose Schizophrenie gefordert, dass mindestens zwei der fünf Symptome Wahn, Halluzinationen, desorganisierte Sprache, massiv desorganisiertes Verhalten oder katatone Symptome und negative Symptome wie Affektverflachung, Apathie, Antriebshemmung oder Alogie über einen erheblichen Zeitraum eines Monats bestehen. Bei Vorliegen von Wahn bizarer Ausprägung oder Halluzinationen in Form von kommentierenden oder dialogisierenden Stimmen genügt ein Symptom.

Darüber hinaus müssen allgemeine Funktionsbereiche wie die Leistungsfähigkeit im Berufsleben oder die soziale Kompetenz für einen umfassenden Zeitraum unter das Ausgangsniveau sinken. Außerdem wird für die Diagnose gefordert, dass anhaltende Zeichen der Erkrankung für eine Dauer von mindestens sechs Monaten vorliegen, wobei

Symptome einer akuten Episode mindestens einen Monat bestehen müssen (Wittchen et al., 1996).

Differentialdiagnostisch erfolgte der Ausschluß von schizoaffektiven Störungen, affektiven Störungen, insbesondere depressiven und manischen Episoden mit psychotischen Symptomen, schizophreniformen Störungen, wahnhaften Störungen, reaktiven und organischen Psychosen. Organische Erkrankungen können Symptome der Schizophrenie hervorrufen. Daher musste sicher gestellt sein, dass die Symptomatik keine Folge entzündlicher, endokriner und neoplastischer Erkrankungen oder Stoffwechselstörungen, die direkt oder indirekt das Gehirn betreffen können, darstellt. Bedingung war ebenso, dass es sich bei der Symptomatik um keine direkte Folge von Alkohol- oder Drogenmissbrauch handelt. Patienten, bei denen eine aktive Hepatitis B oder C, eine HIV-Erkrankung oder Hinweise auf intravenöse Heroinabhängigkeit vorlagen, wurden nicht in die Studie aufgenommen.

4.4 Neuropsychologische Testverfahren

Erfolge der Studieneinschluß wurde ein weiterer Untersuchungstermin vereinbart. Die Durchführung des *Wisconsin-Card-Sorting-Test* (WCST) und n-back-Tests fand an diesem im Rahmen einer neuropsychologischen Testbatterie statt. Darüber hinaus erfolgte eine Blutentnahme und eine EEG-Untersuchung. Der Untersuchungstermin wurde in drei Blöcke gegliedert und erforderte einen Zeitaufwand von etwa sieben Stunden. Die Studienteilnehmer erhielten eine finanzielle Aufwandsentschädigung.

4.4.1 Wisconsin-Card-Sorting-Test

4.4.1.1 Messinstrument der Exekutivfunktionen

Der *Wisconsin-Card-Sorting-Test* wurde 1948 von D. A. Grant und E. A. Berg als Messinstrument für abstraktes und flexibles Denken entwickelt (Berg, 1948; Grant und Berg, 1948) und erfasst die exekutiven Funktionen (Alvarez und Emory, 2006). Er misst

die Fähigkeit, kognitive Strategien als Antwort auf wechselnde Bedingungen zu entwickeln und erfordert dazu flexibles, planendes und organisiertes Denken, die Verarbeitung von Fehlerrückmeldungen, sowie die Entwicklung und Aufrechterhaltung von Problemlösungsstrategien (Wolf et al., 2002; Grewe et al., 2002; Heaton et al., 2003).

4.4.1.2 Testaufbau

Der WCST wurde in seiner Computerversion 4 (WCST CV:4) durchgeführt. Er besteht aus vier Schlüsselkarten und 128 Grundkarten. Die Schlüsselkarten unterscheiden sich durch vier verschiedene Motive. Sie sind während der gesamten Testdauer am oberen Bildschirmrand sichtbar und zeigen, horizontal von links nach rechts angeordnet, ein rotes Dreieck, zwei grüne Sterne, drei gelbe Kreuze und vier blaue Punkte.

Die Grundkarten erscheinen konsekutiv am unteren Bildschirmrand und zeigen Figuren, die in Form (Dreieck, Stern, Kreuz, Punkt), Farbe (rot, grün, gelb, blau) und Anzahl (eins, zwei, drei, vier) variieren.

Die Aufgabe des Probanden besteht darin, jede Grundkarte mit Hilfe der Computermaus einer der vier Schlüsselkarten zuzuordnen. Das korrekte Zuordnungsprinzip ist dem Probanden nicht bekannt. Er erhält jedoch nach jeder Zuordnung eine visuelle Fehlerrückmeldung.

Erfolgen konsekutiv zehn richtige Zuordnungen nach dem initialen Prinzip, wechselt das Prinzip ohne diesbezügliche Information an den Testteilnehmer. Dieser muss nun mit Hilfe der Fehlerrückmeldungen das neue Zuordnungsprinzip erkennen. Eine Zuordnungskategorie gilt nach zehn in Folge korrekt getätigten Zuordnungen als abgeschlossen und das Zuordnungsprinzip wechselt. Der Test ist nach erfolgreichem Abschluss aller sechs Zuordnungskategorien oder nach Zuordnung der 128 zur Verfügung stehenden Grundkarten beendet. Eine zeitliche Begrenzung gibt es nicht (Heaton et al., 2003). Abbildung 6 (Seite 64) zeigt das Monitorbild des WCST mit der Anordnung der Schlüsselkarten und der Grundkarte.

4.4.1.3 Testdurchführung

Die Durchführung des WCST erfolgte in standardisierter Form. Die Anwendung der Computerversion 4 (WCST: CV4) erlaubte die automatisierte Administration und Auswertung des Tests mit Hilfe eines Computers. Dazu wurde ein Notebook mit einem 15 Zoll Monitor eingesetzt. Für jeden Testteilnehmer wurde eine Datei unter der anonymisierten Probandennummer, die zur Speicherung der demographischen Information, der Antwortliste und Testergebnisse diente, angelegt. Vor Testbeginn wurde ausreichendes Sehvermögen und das Farbendiskriminationsvermögen überprüft. Die demographischen Daten Geschlecht, Geburtsdatum und Dauer der Schul- und Berufsausbildung wurden in das Testprotokoll aufgenommen und der Proband in Augenhöhe vor dem Bildschirm platziert. Daraufhin fand die Erläuterung der Aufgabenstellung statt.

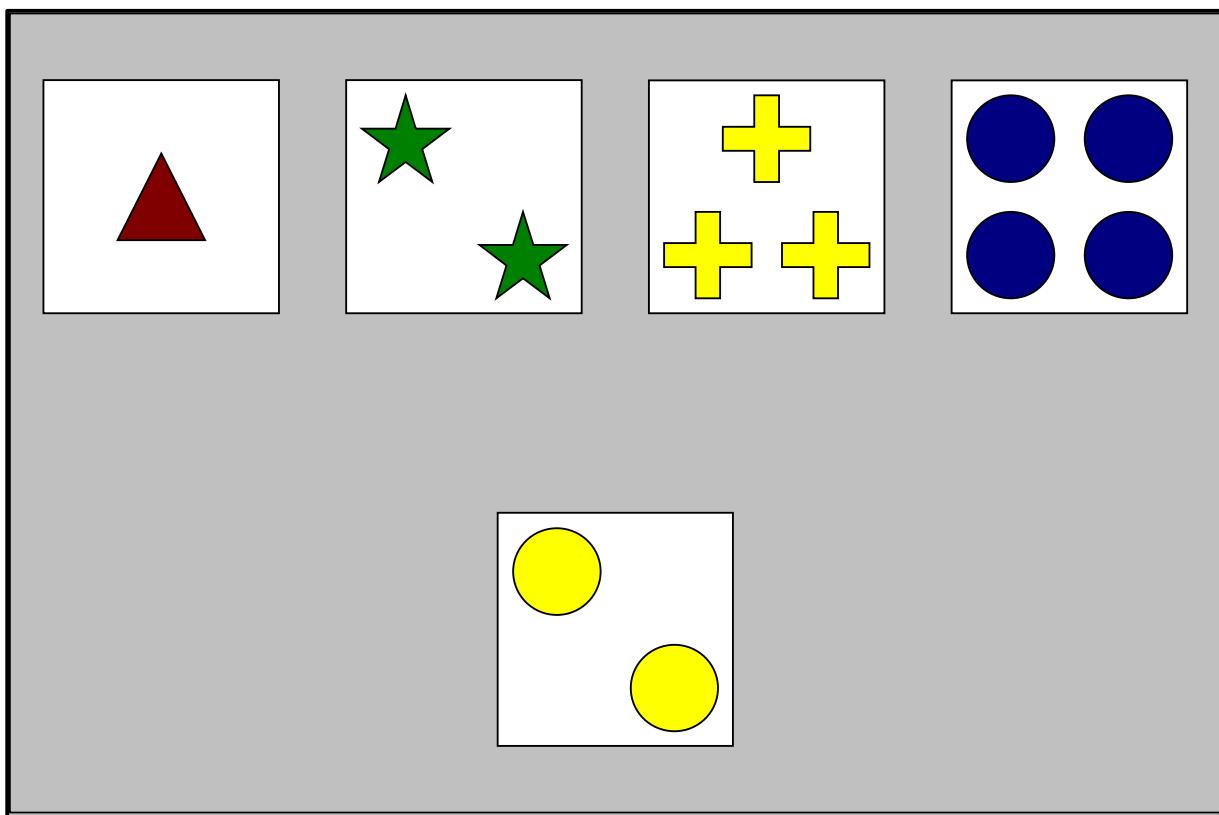


Abb. 6: Die Schlüsselkarten des WCST sind am oberen Bildschirmrand horizontal angeordnet. Die variierenden Grundkarten erscheinen konsekutiv mittig am unteren Bildschirmrand.

4.4.1.4 Testauswertung

Bei der hier angewandten Computer Version 4 des WCST erfolgt die Testauswertung automatisiert durch das Programm, dem Testmanual entsprechend nach Heaton et al. (1993) und somit nach folgenden Gesichtspunkten:

Jede einzelne Zuordnung einer Grundkarte wird zunächst in drei voneinander unabhängigen Dimensionen beurteilt. In erster Dimension wird festgestellt, ob die Zuordnung dem richtigen Zuordnungsprinzip entspricht, also richtig oder falsch ist.

In zweiter Dimension wird unterschieden, ob es sich um eine eindeutige oder uneindeutige Zuordnung handelt. Wenn die Grundkarte mit der ihr zugeordneten Schlüsselkarte in nur einem Parameter, also entweder in Farbe, Form oder Anzahl übereinstimmt, ist die Zuordnung eindeutig. Grundkarten können mit Schlüsselkarten jedoch in mehr als einem Parameter übereinstimmen. Wenn der Schlüsselkarte mit einem roten Dreieck eine Grundkarte mit drei roten Dreiecken zugeordnet wird, ist die Zuordnung uneindeutig, da nicht entschieden werden kann, ob die Zuordnung auf Basis der Farbe oder der Figur vorgenommen wurde. Dies ist von Bedeutung für die dritte Auswertungsdimension.

In dritter Dimension wird beurteilt, ob die Zuordnung der Grundkarte einem perseverativen Prinzip folgt. Es wird zwischen perseverativer und nicht perseverativer Zuordnung in Bezug auf Farbe, Form und Anzahl unterschieden. Wenn sich ein perseveratives Prinzip etabliert, werden alle nachfolgenden Zuordnungen, die mit ihm übereinstimmen als perseverativ gewertet. Dies erfolgt unabhängig davon, ob sie korrekt oder inkorrekt sind. Zuordnungen, die dem nicht entsprechen, werden als nicht perseverativ gewertet.

Ein perseveratives Prinzip kann sich zu Beginn des Tests nach einer eindeutig falschen Antwort etablieren. Jede nachfolgende eindeutig falsche Antwort, die nach dem gleichen Prinzip erfolgt, galt als perseverativ, auch wenn Zuordnungen, die nicht diesem Prinzip entsprechen, intervenieren. Ein Beispiel für eine entsprechende Situation ist, wenn bei aktuell korrektem Zuordnungsprinzip Farbe eine Grundkarte mit vier roten Kreuzen der Schlüsselkarte mit drei gelben Kreuzen zugeordnet wird. Es wird ein eindeutiger Fehler begangen (Zuordnung nach Form) und dieser als Perseverationsprinzip etabliert. Nun wird jeder nachfolgende eindeutige Fehler, also jede eindeutige Zuordnung nach Form, als perseverativ gewertet bis das Perseverationsprinzip wechselt.

Die häufigste Situation, in der perseverative Zuordnungen erfolgen, stellt der Wechsel des Zuordnungsprinzips nach Abschluss einer Kategorie, also nach zehn konsekutiv korrekten Antworten dar. In diesem Fall wird die Zuordnung häufig nach dem bis zu diesem Zeitpunkt geltenden, aber nun nicht mehr korrektem Prinzip, fortgesetzt. Das vorhergehende richtige Zuordnungsprinzip wird zum neuen perseverativen Prinzip. Die erste eindeutige Antwort, die dem neuen perseverativen Prinzip entspricht, ist ein eindeutiger perseverativer Fehler.

Uneindeutige Zuordnungen, unabhängig davon ob richtig oder falsch, werden als perseverativ gewertet, wenn sie einem konsistenten Muster folgen. Dafür ist Voraussetzung, dass die uneindeutige Zuordnung zum aktuell vorherrschenden Perseverationsprinzip passt und die vorausgehend, sowie nachfolgend am nächsten liegende eindeutige Zuordnung perseverativ ist. Mehrere uneindeutige Antworten in Folge zählen als perseverativ, wenn es zu keiner Unterbrechung der Kontinuität des Perseverationsprinzips kommt.

Zu einem Wechsel des Perseverationsprinzips innerhalb einer Kategorie kommt es, wenn der Proband drei eindeutige Fehler nach einem Prinzip begeht, das weder dem korrekten, noch dem aktuell perseverativen entspricht. Hierfür ist wiederum Voraussetzung, dass alle Zuordnungen zwischen dem ersten und dritten eindeutigen Fehler diesem Prinzip folgen.

Nachdem jede Zuordnung im Testablauf nach den Dimensionen richtig-falsch, eindeutig-uneindeutig und perseverativ-nonperseverativ beurteilt wurde, erfolgt die Auswertung des WCST anhand unterschiedlicher Testvariablen, für die jeweils Rohwerte berechnet werden, hierzu siehe auch Tabelle 8 (Seite 67):

- Die Gesamtleistung im Test spiegelt *Total Number Correct* und *Total Number of Errors* wider.
- *Perseverative Responses* fasst die Gesamtzahl perseverativer Antworten, richtige und falsche, zusammen.
- *Perseverative Errors* entspricht der Gesamtzahl perseverativer Fehler.
- *Nonperseverative Errors* entspricht der Anzahl nichtperseverativer Fehler.
- Die Variable *Conceptual Level Responses* gibt die Anzahl korrekter Zuordnungen, die in direkter Folge von mindestens drei Stück erfolgt sind, wider. Dazu wird ein gewisser Einblick ins Zuordnungsprinzip angenommen, da eine korrekte Folge in

dieser Länge unwahrscheinlich per Zufall zustande kommt.

- Die initiale Fähigkeit zur Konzepterstellung entspricht der Anzahl der Zuordnungen, die benötigt wird um die erste Kategorie erfolgreich abzuschließen. Dies wird durch *Trials to Complete First Category* wider gegeben.
- Von *Failure to Maintain* spricht man, wenn nach mindestens fünf konsekutiv richtigen Zuordnungen ein Fehler vor Abschluss der entsprechenden Kategorie begangen wird. In diesem Fall wird das richtig erkannte Prinzip nicht fortgesetzt. Diese Variable kann einen Hinweis auf kognitive Instabilität geben.
- *Learning to Learn* beschreibt den Lerneffekt, also die Fähigkeit von im Test gemachten Erfahrungen zu profitieren. Ein "Learning to Learn" Wert kann nur bestimmt werden, wenn mindestens drei Kategorien abgeschlossen werden oder wenn im Falle von zwei abgeschlossenen Kategorien in einer dritten mindestens zehn Zuordnungen erfolgt sind. Zunächst wird ein Fehlerprozentwert innerhalb jeder abgeschlossenen Kategorie bestimmt und dieser vom Fehlerprozentwert der nachfolgenden Kategorie subtrahiert. Schließlich wird der Mittelwert aus allen Fehlerprozentdifferenzen gebildet, der dem Rohwert für "Learning to Learn" entspricht. Ein positiver Rohwert zeigt eine verbesserte Effizienz in der Bearbeitung nachfolgender Kategorien an.

Tab. 8: Variablen im WCST

Testvariable	Bedeutung
<i>Number of Trials Administered</i>	Gesamtzahl der Zuordnungen
<i>Total Number Correct</i>	Anzahl der richtigen Zuordnungen
<i>Total Number of Errors</i>	Anzahl der falschen Zuordnungen
<i>Percent Errors</i>	Prozentualer Anteil der falschen Zuordnungen an der Gesamtzahl der Zuordnungen
<i>Perseverative Responses</i>	Anzahl der perseverativen Zuordnungen
<i>Percent Perseverative Responses</i>	Prozentualer Anteil der perseverativen Zuordnungen an der Gesamtzahl der Zuordnungen
<i>Perseverative Errors</i>	Anzahl der perseverativen Fehler
<i>Percent Perseverative Errors</i>	Prozentualer Anteil der perseverativen Fehler an der Gesamtzahl der Zuordnungen
<i>Nonperseverative Errors</i>	Anzahl der nichtperseverativen Fehler
<i>Percent Nonperseverative Errors</i>	Prozentualer Anteil der nichtperseverativen Fehler an der Gesamtzahl der Zuordnungen
<i>Conceptual Level Responses</i>	Anzahl der korrekten Zuordnungen in direkter Folge von mindestens drei Stück

Testvariable	Bedeutung
<i>Percent Conceptual Level Responses</i>	Prozentualer Anteil der korrekten Zuordnungen in direkter Folge von mindestens drei Stück an der Gesamtzahl der Zuordnungen
<i>Number of Categories Completed</i>	Anzahl erfolgreich abgeschlossener Kategorien (0-6)
<i>Trials to Complete First Category</i>	Anzahl der Zuordnungen, die benötigt wurde, um die erste Kategorie abzuschließen
<i>Failure to Maintain Set</i>	Häufigkeit der Situation, in der nach fünf konsekutiv korrekten Zuordnungen ein Fehler vor Abschluss einer Kategorie begangen wird
<i>Learning to Learn</i>	Lerneffekt (Verbesserung zwischen aufeinanderfolgenden Kategorien)

Bei der Auswertung der Ergebnisse wurde in der vorliegenden Arbeit eine Auswahl der Testvariablen vorgenommen und diese auf die perseverative Fehlerquote, die nonperseverative Fehlerquote und die Anzahl der erfolgreich abgeschlossenen Kategorien eingegrenzt. Nach Polgar et al. (2010) repräsentieren die perseverative Fehlerquote und die Anzahl der erfolgreich abgeschlossenen Kategorien die Fähigkeit Konzepte zu entwickeln, flexibel zu denken, ein korrektes Zuordnungsprinzip zu identifizieren, sich von diesem zu lösen sowie ein neues zu erkennen. Diese Variablen beschreiben somit das allgemeine exekutive Funktionsniveau. Die nonperseverative Fehlerquote spiegelt dagegen mangelnde Problemlösestrategien wider. Nonperseverative Fehler treten auf, wenn ein Proband versucht flexibel verschiedene Hypothesen zu testen und hierzu kontinuierlich sein Antwortverhalten verändert. Diese Auswahl erfolgte, da insbesondere perseverative Fehler nach Egan et al. (2001) Defizite der kognitiven Flexibilität und der präfrontalen Funktion abbilden.

4.4.1.5 Gütekriterien

Durch die standardisierte Anwendung der Testinstruktionen konnte Durchführungsobjektivität angenommen werden. Die Auswertung erfolgte automatisiert durch die Software des Programms nach genauen Beurteilungskriterien entsprechend dem Testmanual von Heaton et al. (1993), so dass auch diese als objektiv angesehen werden konnte.

Ingram et al. (1999) geben die Retest-Reliabilität des WCST bei einer Stichprobe aus 29 unbehandelten Patienten mit Schlafapnoe-Syndrom im Mittel mit 0,64 an. Die Reliabilitätskoeffizienten der einzelnen Variablen ("scores") variierten von 0,34 bis 0,83.

Der WCST wurde umfassend im klinischen und wissenschaftlichen Umfeld als Messinstrument exekutiver Funktionen eingesetzt. Es liegen zahlreiche Ergebnisse von neurologischen (u.a. mit M. Parkinson, Multipler Sklerose, strukturellen Läsionen des Gehirns) und psychiatrischen (u.a. mit Schizophrenie) Patienten vor. Der Vergleich der Testleistungen dieser Patientengruppen mit gesunden Kontrollprobanden zeigt spezifische und signifikante Unterschiede auf und demonstriert die Validität des Tests (Heaton et al., 1993).

4.4.2 n-back

4.4.2.1 Messinstrument des Arbeitsgedächtnisses

Der sogenannte n-back-Task oder *Working-Memory-Test* stellt ein häufig angewandtes Verfahren zur Untersuchung des Arbeitsgedächtnisses dar. Er erfordert simultan die Aufnahme neuer und das Abrufen bestehender Informationen sowie deren Aufrechterhaltung und kontinuierliche Aktualisierung im Arbeitsgedächtnis (Callicott et al., 1999; Manoach, 2003).

4.4.2.2 Testaufbau

Zur Anwendung kam der Working-Memory-Test V1.06.1 (Coppola R., 1999). Die Aufgabe des Probanden besteht hierbei darin, eine auf einem Computerbildschirm präsentierte Ziffernfolge fortwährend in eine spezielle Tastatur einzugeben. Dazu erscheinen die Ziffern "2", "4", "6" und "8" sequenziell innerhalb einer Raute an einem festgelegten Platz, die "4" links, die "6" rechts, die "8" oben und die "2" unten. Die Eingabetastatur weist eine entsprechende Anordnung auf. Die Präsentation der Ziffern erfolgt in zeitlicher Abfolge von 1,8 s, wobei jede Ziffer für eine Zeitdauer von 0,4 s erscheint.

Im Test variieren die Anforderungen an die Leistung des Arbeitsgedächtnisses in Abhängigkeit vom sogenannten n-back-Load oder -Modus. Es werden 4 verschiedene Konditionen unterschieden. Der 0-back-Load stellt eine Wahlreaktionsaufgabe dar und

dient der Kontrolle der Aufmerksamkeit. Dabei soll die aktuell auf dem Bildschirm erscheinende Ziffer so schnell wie möglich an entsprechender Stelle in die Tastatur eingegeben werden. Beim 1-back-Load soll diejenige Ziffer, die eine Stelle vor der aktuellen Ziffer erschien, schnellstmöglich per Knopfdruck eingegeben werden. Entsprechendes gilt für den 2-back- und 3-back-Load. Abbildung 7 gibt eine Darstellung von Bildschirm und Tastatur wieder, Abbildung 8 (Seite 71) zeigt ein Beispiel für die korrekte Zifferneingabe im 2-back-Modus.

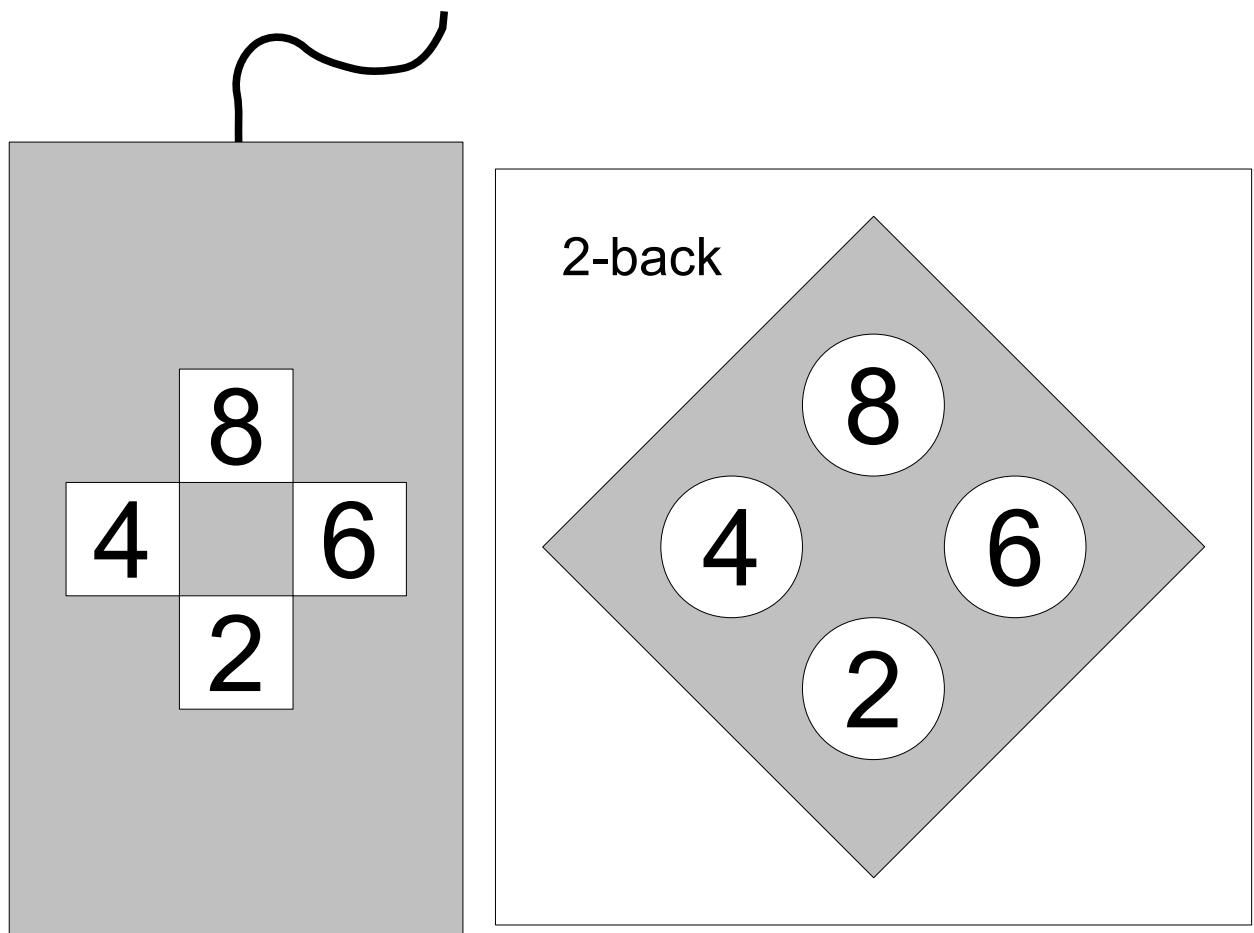


Abb. 7: Tastatur und Bildschirm im n-back-Test

Je nach n-back-Load (0-, 1-, 2-, oder 3-back) soll die Eingabe der erscheinenden Ziffer also keine, eine, zwei oder drei Stellen verzögert erfolgen. Die Schwierigkeitsgrade wechseln sich ab, wobei am oberen Bildschirmrand der aktuell zu bearbeitende n-back-Load eingeblendet wird. Kommt es zu einem Wechsel des n-back-Loads, erfolgt dieser nach einer kurzen Pause. Insgesamt finden 19 Durchgänge, jeweils bestehend aus einer Folge

von 14 Ziffern, in der Reihenfolge 0-,1-,2-,0-,1-,2-,1-,1-,0-,2-,0-,2-,1-,2-,0-,0-,3-,2-,1-back statt.

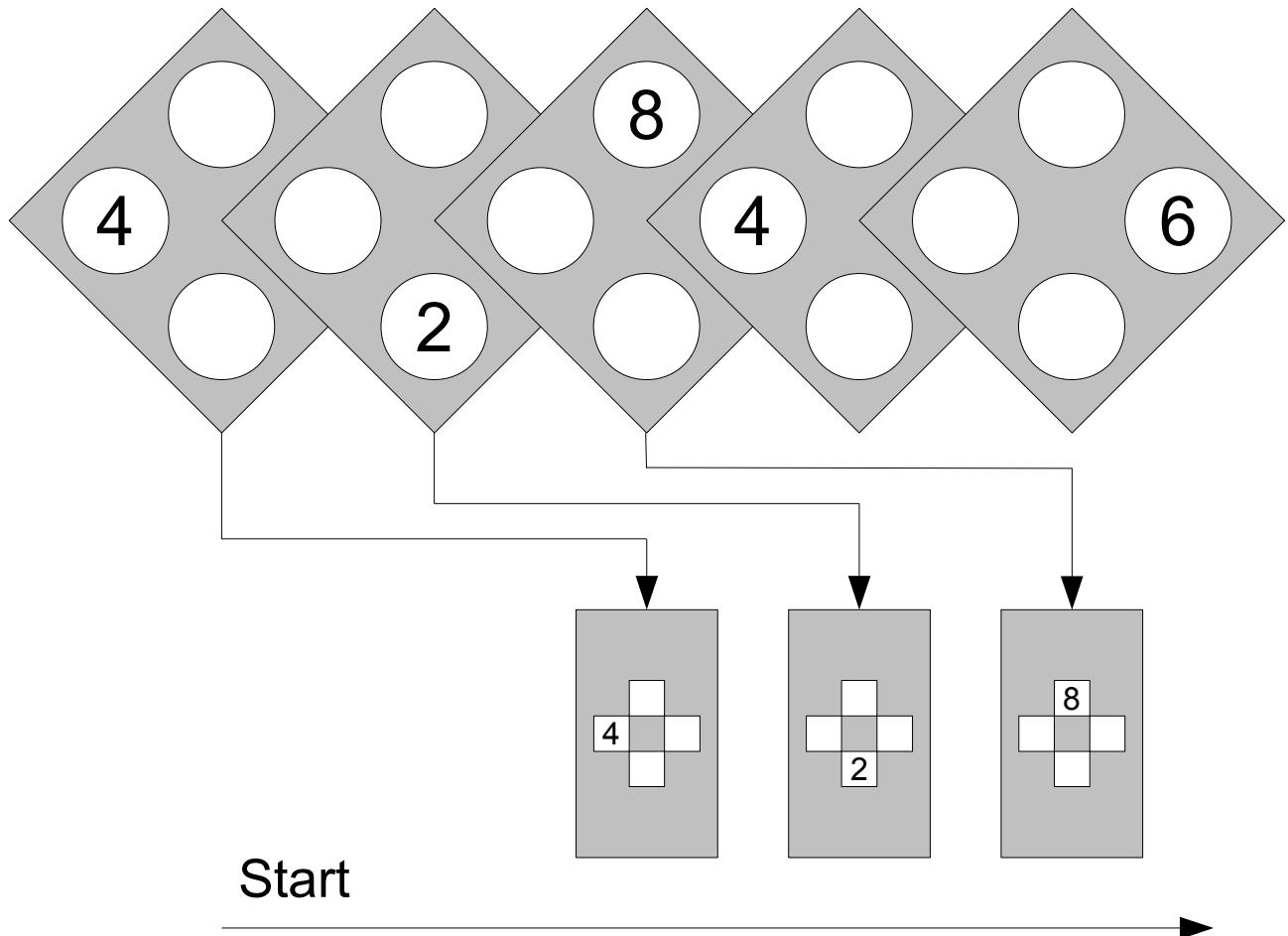


Abb. 8: 2-back

Im 2-back Modus ist es Aufgabe des Probanden diejenige Ziffer in die Tastatur einzugeben, die zwei Stellen vor der aktuell erscheinenden Ziffer zu sehen war. In diesem Beispiel sollte beim Erscheinen der "8" auf dem Monitor die Ziffer "4", beim Erscheinen der "4" die Ziffer "2" und beim Erscheinen der "6" die Ziffer "8" eingegeben werden.

4.4.2.3 Testdurchführung

Zur standardisierten Durchführung des n-back wurde ein Notebook mit einem 15 Zoll Monitor und eine spezielle Tastatur eingesetzt. Diese enthielt ausschließlich die Tasten

"2", "4", "6" und "8", die dem Bildschirm entsprechend angeordnet waren. Für jeden Testteilnehmer wurde eine Datei unter der anonymisierten Probandennummer zur Speicherung der Testergebnisse angelegt. Nach der Testinstruktion erfolgte für jeden n-back-Load ein Übungsdurchgang um den Probanden die Gelegenheit zu geben, sich mit dem Testablauf vertraut zu machen.

4.4.2.4 Testauswertung

Die Auswertung des Tests erfolgte mit Hilfe des Computerprogramms. Jede Zifferneingabe wurde hinsichtlich Korrektheit und zeitlicher Verzögerung beurteilt, so dass für jeden n-back-Load die mittlere Reaktionszeit im Millisekunden und die Anzahl der richtigen Tastendrücke bestimmt werden konnte. Die Reaktionszeit wurde ausschließlich für korrekte Eingaben mit in die Auswertung aufgenommen. Im Rahmen der vorliegenden Studie wurden die Resultate im 1-back- und 2-back-Modus ausgewertet.

4.4.2.5 Gütekriterien

Auch beim n-back konnte durch die standardisierte Testinstruktion und die automatisierte Auswertung Durchführungs- und Auswertungsobjektivität angenommen werden.

Die Retest-Reliabilität der in der vorliegenden Arbeit durchgeführten NIMH-Version des n-back-Tests wird durch das MATRICS-Komitee (*"measurement and treatment research to improve cognition in schizophrenia"*) für den 2-back-Modus auf einer Punktskala von 1 bis 9 mit 4,5 bewertet, wobei 1 für keine, 9 für eine sehr starke und 5 für eine moderate Retest-Reliabilität steht. Angaben zur Retest-Reliabilität für den 1-back-Modus finden sich bei MATRICS nicht (Nuechterlein et al., 2008). MATRICS führt ferner unter www.matrics.ucla.edu/meetings/september-2003/RAND_Panel_WorkingMem-8-31-03.pdf auf Seite 5 eine unpublizierte Studie an 18 gesunden Erwachsenen auf, in deren Rahmen die Retest-Reliabilität des n-back im 2-back-Modus in der NIMH-Version mit $r = 0,6$ angegeben wird. Jaeggi et al. (2010) berichten, dass die Reliabilitätskoeffizienten in verschiedenen visuellen und verbalen 0- bis 3-back-Tests zwischen 0,2 und 0,91 variieren und im Allgemeinen nur ein höherer n-back-Load (2- oder 3-back) zu einer Reliabilität von über 0,8 führt. Aufgrund der bedingten Reliabilität empfehlen die Autoren den n-back zwar

nicht zur Detektion individueller Unterschiede im Arbeitsgedächtnis, bescheinigen ihm jedoch Validität im Rahmen der experimentellen Untersuchung von Arbeitsgedächtnisprozessen.

4.5 Genotypisierung

4.5.1 DNA-Extraktion

Bei jedem Studienteilnehmer erfolgte eine venöse Blutabnahme. Um die Blutgerinnung zu unterbinden, wurden EDTA-Monovetten eingesetzt. Nach Kodierung zur Wahrung der Anonymität wurden die Blutproben bei -80°C konserviert. Die DNA-Extraktion wurde mit Hilfe des QiaAmp DNA Blood Maxi Kit (Fa. Qiagen) durchgeführt und der Anleitung entsprechend verfahren (Qiagen, 2005).

Nach Auftauen des EDTA-Blutes bei Raumtemperatur wurde im ersten Schritt eine Lyse der Leukozyten zur Freisetzung der Nukleinsäuren herbeigeführt. Dazu wurde jede Blutprobe à 10 ml mit 500 µl Proteinase K versetzt. Proteinase K bewirkt eine Verdauung und Degradierung von Proteinen mit störendem Einfluss auf die später folgende PCR. Es kommt zur Fragmentierung denaturierter Proteine, so dass diese einfacher von der DNA abgetrennt werden können. Durch Zugabe von 12 ml Guanidin-HCl-haltigem AL-Puffer wurden optimale Reaktionsbedingungen für das Enzym geschaffen. Der AL-Puffer enthält chaotrope Salze, die die Lyse begünstigen. Schließlich wurde die Lösung zwei Minuten auf dem Vortexer durchmischt. Zur Maximierung des DNA-Ertrags erfolgte anschließend eine mindestens 30-minütige Inkubation im Wasserbad bei 70°C unter begleitendem Schütteln.

Um die Hydrathülle zu entfernen und die DNA auf das Säulenmaterial zu fällen, wurde die Probe mit 10 ml Ethanol (96-100%) versetzt und für eine Dauer von 2 min auf dem Vortexer vermischt. Nach Aufbringen der DNA-Lösung auf das Säulenmaterial erfolgte eine 3-minütige Zentrifugation bei 3000 Umdrehungen pro Minute (rpm). Salz- und pH-Bedingungen sorgten dafür, dass Nukleinsäure bindende Proteine ungebunden bleiben.

Verunreinigungen durch Proteine und RNA wurden durch Zugabe von 5 ml Guanidin-HCl-haltigem Waschpuffer (AW 1) und erneuter Zentrifugation für eine Minute bei 5000 rpm eliminiert. Die Guanidinsalze wurden mit 5 ml ethanolhaltigem Waschpuffer (AW 2) abgewaschen und das Ethanol unter 15-minütiger Zentrifugation bei 5000 rpm vollständig entfernt.

Anschließend erfolgte die Elution der DNA von der Silikamembran. Dazu wurde die DNA-haltige Membran mit 1 ml eines AE-Puffers (TRIS-Puffer, pH > 9) für 5 min bei Raumtemperatur inkubiert und erneut bei 5000 rpm für 5 min zentrifugiert. Der basische Puffer bewirkte die Elution der zuvor unter sauren Bedingungen gebundenen DNA.

4.5.2 Bestimmung der DNA-Konzentration

Die Bestimmung der DNA-Konzentration erfolgte mit der PicoGreen Methode. Bei PicoGreen handelt es sich um einen für doppelsträngige DNA hochselektiven Farbstoff, der nur im DNA-gebundenen Zustand fluoresziert. Die Intensität der Fluoreszenz des resultierenden Komplexes hängt direkt von der in der Probe enthaltenen Menge des Trägermoleküls ab (Invitrogen, 2008). Nach Verdünnung der DNA-Proben mit PicoGreen Lösung (5 µl/ml TE) im Verhältnis 1:50 wurde die Fluoreszenz mit dem Tecan GENios Fluoreszenzreader bestimmt. Die Berechnung der Konzentration erfolgte mit Hilfe einer Eichkurve aus genomischer DNA. Dabei wurde für die qualitativen SNP-Genotypisierungen eine Genauigkeit der DNA-Konzentration von ca. +/- 10% als hinreichend angesehen.

Die Konzentrationsbestimmung wurde in 96 well Platten mit flachem Boden durchgeführt. Auf jeder zu messenden well Platte wurde eine Standardkurve ermittelt. Zur Vorbereitung der gDNA Standards wurden in jedes well der ersten zwei Reihen von Säule B bis H 100 µl von 1x Tris-EDTA-Puffer (TE) pipettiert. Daraufhin wurden 200 µl der humanen genomischen DNA in einer Konzentration von 100 ng/µl in die ersten zwei Reihen der Säule A pipettiert. Im folgenden wurde eine Verdünnungsreihe hergestellt.

Tab. 9: Materialien für die Bestimmung der DNA-Konzentration

Material	Hersteller
Verbrauchsmaterialien	
96 well Platte	Greiner
Selbstklebende Aluminiumfolie	Eppendorf
50 ml konische PP-Rörchen	Sarstedt
Reagenzien	
PicoGreen dsDNA quantitation reagent	PicoGreen Molecular Probes (Cat# P - 7581)
1x TE, pH 7,4, Tris Base, EDTA	Roth
Clontech Human Genomic DNA 100 ng/µl	Clontech
Geräte	
Tecan GENios Workstation 150	Applied Biosystems
Vortexer Reax	Heidolph

Dazu wurde der Säule A 100 µl entnommen und in Säule B pipettiert. Der Inhalt der Vertiefung wurde durch fünfmaliges Umrühren mit der Pipettenspitze vermischt. Nun wurden 100 µl aus Säule B in Säule C übertragen und erneut umgerührt. Mit den Säulen D - G wurde entsprechend verfahren. Säule H diente zur Bestimmung des Referenzwertes und enthielt keine gDNA. Die Platte wurde nach Versiegelung und Beschriftung als Standard DNA bei 4°C gelagert.

Im nächsten Schritt erfolgte die Vorbereitung der Messplatte. Dazu wurden je 5 µl der gDNA-Standard-Verdünnungsreihe in eine Messplatte (Q-Standard) und je 5 µl der zu bestimmenden DNA-Proben in eine zweite Platte pipettiert.

Nach ca. 60-minütigem Auftauen der gefrorenen PicoGreen Reagenzien bei Raumtemperatur und unter Lichtschutz wurde in einem mit Aluminiumfolie umhüllten 50 ml Röhrchen eine Verdünnung von PicoGreen mit 1x TE in einem Verhältnis von 1:200 hergestellt und auf dem Vortexer vermischt.

Daraufhin wurden 195 µl der PicoGreen Verdünnung mit einer Dispenser-Pipette in Reihe 1 und 2 der Säulen A-H der Q-Standard-DNA-Platte transferiert und diese mit Hilfe von selbstklebender Aluminiumfolie versiegelt. Bei der Proben-QDNA-Platte wurde analog vorgegangen.

Da es bereits nach 15 min zu einem deutlichen Abfall der Fluoreszenz kommt, wurde diese unmittelbar nach Ablauf einer Reaktionszeit von 5 - 10 min im Fluoreszenzreader gemessen. Dazu wurde eine Anregungswellenlänge von 485 nm verwendet und die

Emission bei 540 nm gemessen. Weitere Einstellungen des verwendeten Tecan Genios Gerätes waren die Messung von 10 Lichtblitzen bei einer optimalen Steigerung und Verzögerung mit einer Integrationszeit von 40 µs.

Es folgte eine 8-Punkt-Kalibrierung der ermittelten Werte in Bezug auf die Standardkurve. Bei der Überprüfung der Qualität der Standardkurve wird ein Pearsonscher Korrelationskoeffizient von mindestens 0,98 gefordert. Der optimale Messbereich dieser Methode, in dem ein lineares Fluoreszenzsignal besteht, liegt bei Konzentrationen zwischen 20 und 200 ng/µl. Bei Über- oder Unterschreiten dieses Bereichs wird eine neue Messung in anderer Verdünnung verlangt.

4.5.3 Massenspektrometrie

Die Genotypisierung der SNPs des 5-HT_{2A}-Rezeptorgens wurde mit Hilfe des iPLEX-Verfahrens (Fa. Sequenom) vorgenommen. Das Verfahren beruht auf der Bestimmung molekularer Massen von allelspezifischen Primerextensionsprodukten und ermöglicht eine Genotypisierung im Hochdurchsatz bei hoher Sensitivität und Genauigkeit (Sequenom, 2012). Der Massendetektion im *MassARRAY Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight* Massenspektrometer (MassARRAY MALDI-TOF MS) geht neben einer konventionellen, eine modifizierte PCR, die sogenannte iPLEX-Reaktion voraus. Die für die PCR und Extensionsreaktion in Abhängigkeit der Polymorphismen (siehe Tabelle 10, Seite 77) benötigten Primer (siehe Tabelle 11, Seite 77) wurden mit der MassARRAY Assay Design Software 3.0.0 (Fa. Sequenom) konzipiert.

Im Rahmen der initialen PCR erfolgte die Amplifikation der DNA-Sequenz, die den zu genotypisierenden Marker enthielt. In jede *well* einer 384 *well* Platte (Fa. ABgene) wurden hierzu 1,85 µl Reinstwasser (Purelab ultra, Fa. ELGA), 0,625 µl PCR-Puffer 10× (Fa. Qiagen), 0,325 µl Hotstar Taq Puffer 25 mM MgCl₂ (Fa. Qiagen), 0,1 µl dNTP Set 25 mM (Fa. ABgene), 1 µl Primermix 500 nM, 2,5 µl genomische DNA in einer Konzentration von 5 ng/µl und 0,1 µl Hotstar Taq Polymerase 5 U/µl (Fa. Qiagen) vorgelegt. Dazu wurde mit Hilfe eines Pipettierroboters (Microlab 4000, Fa. Hamilton) die DNA aus 4 96 *well* Platten transferiert.

Tab. 10: Polymorphismen

ID/Accession No.	Contig Position	Chromosom 13 Position	Position im Gen	Allel	Funktion
rs2296972	28408472	46326472	Intron 2	G/T	unbekannt
rs2770296	28420561	46338561	Intron 2	C/T	unbekannt

Tab. 11: Primer

ID/Accession No.	Primer 1	Primer 2	Extend-Primer	Fragmentlänge
rs2296972	5'-ACGTTGGATGCTGA GGAACACCTAAGCT TG-3'	5'-ACGTTGGATGCTGG AGTTGACAGGAGGA TC-3'	5'-GGTGACAGGAGGAT CAGCGATGT-3'	95 bp
rs2770296	5'-ACGTTGGATGTCTG CAGAGCTATCCTGTA C-3'	5'-ACGTTGGATGCACC ATTTACATTCCCTCAG C-3'	5'-AGCTGCTCTCTCCC CT-3'	106 bp

Nach Zentrifugation für 1 min bei 2000 rpm (Centrifuge 5810R, Fa. Eppendorf) wurde die PCR in einem Thermocycler (GeneAmp PCR System 9700, Fa. Applied Biosystems) durchgeführt. Initial erfolgte Denaturierung der DNA durch Erwärmung auf 95°C für 5 min, für die einzelnen Zyklen reduzierte sich die Dauer auf 20 s. Die 30-sekündige Abkühlung auf 56°C bewirkte die Anlagerung der Primer an die Einzelstrände der DNA. Eine erneute einminütige Temperaturerhöhung auf 72°C entsprechend dem Temperaturoptimum der Taq-Polymerase führte zur Elongation. In diesem Schritt erfolgte die Zweitstrangsynthese durch Anlagerung der Desoxynukleotide unter katalysierender Wirkung des Enzyms. Nach insgesamt 45 Zyklen und einer abschließenden 3-minütigen Extension bei 72°C stand ausreichend Material für das weitere Vorgehen zur Verfügung. Überschüssige Desoxynukleotidtriphosphate wurden durch Zugabe von *Shrimp Alkaline Phosphatase* (Fa. Sequenom) dephosphoryliert, so dass diese im nächsten Schritt die Reaktion nicht stören konnten. Dazu wurden mit einer Multimek 96 Kanal Autopipette (Fa. Beckman Coulter) 1,53 µl Reinstwasser, 0,17 µl SAP-Puffer 10× und 0,3 µl *Shrimp Alkaline Phosphatase* in einer Konzentration von 1 U/µl (Fa. Sequenom) in jedes well transferiert. Der Ansatz wurde für 30 min bei 37°C erneut im Cycler erwärmt. Zur anschließenden Inaktivierung der SAP diente eine 10-minütige Inkubation bei 85°C. Die nun folgende iPLEX-Reaktion erzeugt für jedes Allel eines SNPs massenspezifische Primerextensionsprodukte. Die eingesetzten Primer werden derart design, dass sie

unmittelbar neben dem zu untersuchenden SNP binden. Der Gebrauch von Didesoxynukleotidtriphosphaten führt zu einer Extension um lediglich eine Base.

Es wurde jedem *well* der sogenannte iPLEX Cocktail Mix bestehend aus 0,755 µl Reinstwasser, 0,2 µl iPLEX Puffer 10× (Fa. Sequenom), 0,2 µl iPLEX Termination Mix (Fa. Sequenom), 0,804 µl Primer Mix (Fa. Sequenom) und 0,041 µl iPlex Enzym (Fa. Sequenom) zugegeben und anschließend die Reaktion im Thermocycler durchgeführt. Die dafür notwendigen Konditionen waren (1) 94°C für 30 s, (2) 94°C für 5 s, (3) 52°C für 5 s, (4) 80°C für 5 s und (5) 72°C für 3 min, wobei 40 Zyklen von Kondition (2), (3) und (4) durchlaufen wurden. Innerhalb jedes derartigen Zyklus erfolgt eine fünfmalige Wiederholung von Kondition (3) und (4), siehe hierzu Abbildung 9.

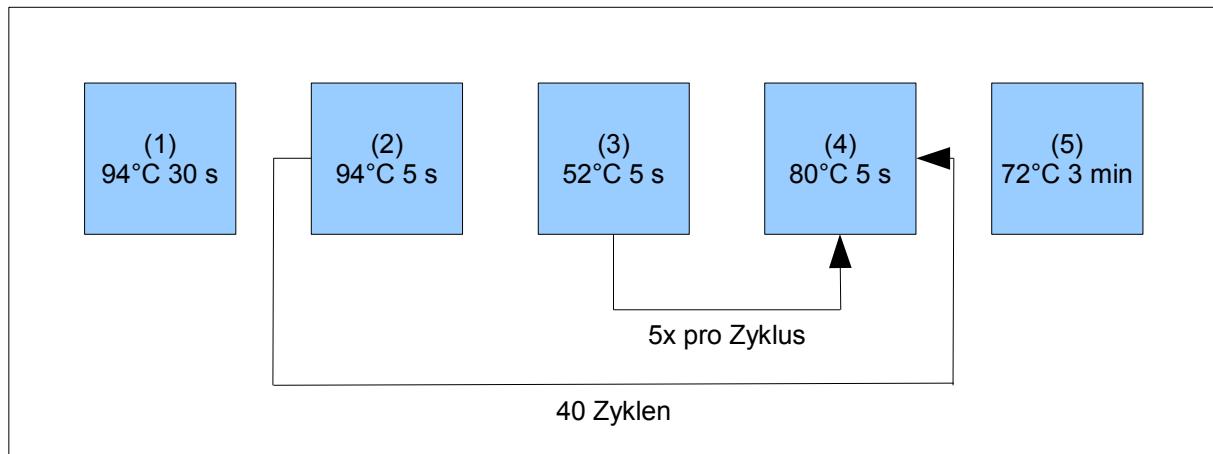


Abb. 9: Schematische Darstellung der iPLEX-Reaktion im Thermocycler. Innerhalb jedes einzelnen der 40 Zyklen findet eine fünfmalige Wiederholung von Kondition (3) und (4) statt.

Um Störungen durch Ionen bei der Messung im Massenspektrometer zu vermeiden, wurden die Proben anschließend mittels Clean Resin unter Verwendung von *dimple plates* entsalzt.

Im nächsten Schritt erfolgte die Übertragung der Reaktionslösung auf einen SpectroCHIP (Fa. Sequenom) unter Einsatz des MassARRAY Nanodispenser (Fa. Sequenom). Dabei wurden die Primerextensionsprodukte in eine Matrix aus 2-Hydroxypicolinsäure eingebracht. Entsprechend der *well*-Anzahl stehen auf jedem Spectro Chip 384 Spots zur Verfügung. Zehn weitere Spots dienen der Kalibrierung des Massenspektrometers. Mit Hilfe eines Chipschlitten wurde der SpectroCHIP ins MassARRAY MALDI-TOF Massenspektrometer (Fa. Sequenom) eingeführt.

Im Massenspektrometer wird das Probenmaterial durch Beschuss mit einem gepulsten Laser verdampft und zugleich ionisiert. Diese Ionen werden in einem elektromagnetischen Feld beschleunigt. Durch Messung der Flugdauer einer genau definierten Driftstrecke zwischen der Beschleunigungselektrode und einem Detektor lässt sich die molekulare Masse exakt bestimmen. Für jeden SNP können sich in Abhängigkeit vom Genotyp zwei diskrete Massen ergeben. Die Identifikation des mit der vorliegenden Masse korrelierenden Genotyps erfolgte mit der TYPER Analyzer 3.3.0 Software (Fa. Sequenom).

4.6 Statistische Auswertung

Zur statistischen Auswertung diente die Software *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS 14.0; Inc Chicago, 2005). Die Verteilung der Genotypen wurde in Bezug auf das Hardy-Weinberg-Equilibrium getestet. Die Unterschiede zwischen Patienten- und Kontrollgruppe bezüglich der Allel- und Genotypfrequenzen wurden mit dem zweiseitigen χ^2 -Test überprüft. Um Zusammenhänge zwischen den einzelnen Polymorphismen und den Testleistungen zu erfassen wurde eine multivariate Varianzanalyse (MANOVA) mit den Genotypen oder Allelen als unabhängige Variablen und den Rohwerten des WCST sowie der Summe korrekter Tastendrücke bzw. der Reaktionszeit im n-back als abhängige Variablen durchgeführt. Als Covariate wurden der Gesundheitszustand (gesund, an Schizophrenie erkrankt), das Geschlecht, das Alter und der Grad der Schulbildung mit einbezogen. Der statistischen Analyse wurde ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ zu Grunde gelegt. Als nichtsignifikanter Trend wurde $p < 0,1$ gewertet.

5 Ergebnisse

Die vorliegende Arbeit untersucht die Assoziation von zwei polymorphen Varianten im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen, rs2296972 und rs2770296, zum einen mit dem Phänotyp Schizophrenie, zum anderen mit Leistungen in einem Test des Arbeitsgedächtnisses sowie einem Test der Exekutivfunktionen. Hierzu erfolgte bei allen Studienteilnehmern die Genotypisierung der beiden Einzelnukleotidpolymorphismen.

Die Assoziationsuntersuchung in Bezug auf Schizophrenie stellt eine Fall-Kontroll-Studie dar, bei der das Patienten- und Kontrollkollektiv auf Unterschiede hinsichtlich der Allel- und Genotypverteilung überprüft wurden.

Die Untersuchung des Einflusses der DNA-Varianten auf Aspekte der präfrontalen Kognition folgt dem Konzept der Endophänotypen. Hierbei wurde mit allen Studienteilnehmern der sogenannte n-back-Test als Messinstrument von Arbeitsgedächtnisleistungen sowie der WCST als Messinstrument exekutiver Funktionen durchgeführt. Die Ergebnisse der beiden Testverfahren wurden in Relation zu den Allelen und Genotypen beider Polymorphismen evaluiert. Als Kovariablen wurden in die Auswertung der Gesundheitszustand (gesund, an Schizophrenie erkrankt), das Geschlecht, das Alter und die Schulbildung integriert.

In beiden Studien wurden in der Analyse die Genotypen auch zusammengefasst, also gruppiert betrachtet. Dies erfolgte, um zu überprüfen, ob für die Präsenz eines Allels, also sowohl in homozygoter als auch in heterozygoter Konstellation, ein Zusammenhang mit der Erkrankung bzw. ein Effekt auf die abhängigen Testvariablen besteht.

5.1 Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

Im Rahmen der Fall-Kontroll-Studie wurde untersucht, ob eine Assoziation zwischen den beiden Polymorphismen im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen (rs2296972 und rs2770296) und der Krankheitsentität Schizophrenie besteht. Im Folgenden werden die Allel- und Genotypverteilungen der Kontroll- und Patientengruppe dargestellt.

5.1.1 Analyse des Polymorphismus rs2296972

In die Analyse des Markers rs2296972 wurden 476 Probanden eingeschlossen. Diese Stichprobe setzte sich aus 335 gesunden Individuen und 141 schizophrenen Patienten zusammen. Der Anteil der gesunden Probanden betrug somit 70,4%, der Anteil der Patienten 29,6%. Die Genotypverteilung für die Gesamtstichprobe ($F = 0,029$; $df = 1$; $p = 0,524$) befand sich im Hardy-Weinberg-Equilibrium.

5.1.1.1 Verteilung der Genotypen von rs2296972

Zunächst wurden die Genotypfrequenzen für rs2296972 zwischen der Patienten- und Kontrollgruppe verglichen (Tabelle 12).

Tab. 12: Darstellung der Genotypverteilung von rs2296972

	Genotyp n (%)			Gesamt n
	G/G	G/T	T/T	
Kontrollen	168 (50,1)	144 (43,0)	23 (6,9)	335
Patienten	67 (47,5)	59 (41,8)	15 (10,6)	141
Gesamt	235 (49,4)	203 (42,6)	38 (8,0)	476

In der Verteilung der Genotypen zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen der Patienten- und Kontrollgruppe ($\chi^2 = 1,939$; $df = 2$; $p = 0,379$) für rs2296972.

Darüber hinaus wurden zur weiteren Differenzierung jeweils ein homozygoter Genotyp den beiden nun zusammengefassten Genotypen gegenübergestellt (Tabelle 13).

Tab. 13: Darstellung der Genotypverteilung gruppiert (G/G + G/T vs. T/T) von rs2296972

	Genotyp n (%)		Gesamt n
	G/G + G/T	T/T	
Kontrollen	312 (93,1)	23 (6,9)	335
Patienten	126 (89,4)	15 (10,6)	141
Gesamt	438 (92,0)	38 (8,0)	476

In der Verteilung der Genotypen (G/G + G/T vs. T/T) bestand kein signifikanter Unterschied zwischen der Patienten- und Kontrollgruppe ($\chi^2 = 1,923$; OR = 1,615 (CI = 0,816 - 3,196); df = 1; p = 0,166).

Analog erfolgte die reziproke Gruppierung der Genotypen, also G/G vs. G/T in Kombination mit T/T (Tabelle 14).

Tab. 14: Darstellung der Genotypverteilung gruppiert (G/G vs. G/T + T/T) von rs2296972

	Genotyp n (%)		Gesamt n
	G/G	G/T + T/T	
Kontrollen	168 (50,1)	167 (49,9)	335
Patienten	67 (47,5)	74 (52,5)	141
Gesamt	235 (49,4)	241 (50,6)	476

Auch hierbei zeigte sich zwischen der Patienten- und Kontrollgruppe ($\chi^2 = 0,275$; OR = 1,111 (CI = 0,749 - 1,647); df = 1; p = 0,600) in der Verteilung der Genotypen (G/G vs. G/T + T/T) kein signifikanter Unterschied.

5.1.1.2 Verteilung der Allele von rs2296972

Tabelle 15 gibt die Häufigkeitsverteilung der beiden möglichen Allele T und G in der Kontroll- und Patientenkohorte wieder.

Tab. 15: Darstellung der Allelverteilung von rs2296972

	Allel n (%)		Gesamt n
	G	T	
Kontrollen	480 (71,6)	190 (28,4)	670
Patienten	193 (68,4)	89 (31,6)	282
Gesamt	673 (70,7)	279 (29,3)	952

In der Verteilung der Allele bestand kein signifikanter Unterschied zwischen der Patienten- und Kontrollgruppe ($\chi^2 = 0,982$; OR = 1,165 (CI = 0,861 - 1,576); df = 1; p = 0,322).

5.1.2 Analyse des Polymorphismus rs2770296

In die Analyse des Markers rs2770296 wurden 461 Probanden eingeschlossen. Diese Stichprobe setzte sich aus 323 Kontrollprobanden und 138 schizophrenen Patienten zusammen. Der Anteil der gesunden Probanden betrug somit 70,1%, der Anteil der Patienten 29,9%. Die Genotypverteilung der Gesamtstichprobe ($F = 0,044$; $df = 1$; $p = 0,349$) befand sich im Hardy-Weinberg-Equilibrium.

5.1.2.1 Verteilung der Genotypen von rs2770296

Auch für rs2770296 wurde überprüft, ob die Genotypfrequenzen zwischen der Patienten- und Kontrollgruppe differieren (Tabelle 16).

Tab. 16: Darstellung der Genotypverteilung von rs2770296

	Genotyp n (%)			Gesamt n
	C/C	C/T	T/T	
Kontrollen	27 (8,4)	119 (36,8)	177 (54,8)	323
Patienten	12 (8,7)	57 (41,3)	69 (50,0)	138
Gesamt	39 (8,5)	176 (38,2)	246 (53,4)	461

In der Verteilung der Genotypen lag kein signifikanter Unterschied zwischen der Patienten- und Kontrollgruppe ($\chi^2 = 0,934$; $df = 2$; $p = 0,627$) vor.

Im Folgenden wurden wiederum jeweils ein homozygoter Genotyp den weiteren beiden, nun zusammengefassten, Genotypen gegenübergestellt (Tabelle 17).

Tab. 17: Darstellung der Genotypverteilung gruppiert (C/C + C/T vs. T/T) von rs2770296

	Genotyp n (%)		Gesamt n
	C/C + C/T	T/T	
Kontrollen	146 (45,2)	177 (54,8)	323
Patienten	69 (50,0)	69 (50,0)	138
Gesamt	215 (46,6)	246 (53,4)	461

In der Verteilung der Genotypen (C/C + C/T vs. T/T) zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen der Patienten- und Kontrollgruppe ($\chi^2 = 0,895$; OR = 0,825 (CI = 0,553 - 1,230); df = 1; p = 0,344).

Auch bei rs2770296 erfolgte die Evaluation nach reziproker Gruppierung, dargestellt in Tabelle 18.

Tab. 18: Darstellung der Genotypverteilung gruppiert (C/C vs. C/T + T/T) von rs2770296

	Genotyp n (%)		Gesamt n
	C/C	C/T + T/T	
Kontrollen	27 (8,4)	296 (91,6)	323
Patienten	12 (8,7)	126 (91,3)	138
Gesamt	39 (8,5)	422 (91,5)	461

In der Verteilung der Genotypen (C/C vs. C/T + T/T) bestand kein signifikanter Unterschied zwischen der Patienten- und Kontrollgruppe ($\chi^2 = 0,014$; OR = 0,958 (CI = 0,470 - 1,951); df = 1; p = 0,905).

5.1.2.2 Verteilung der Allele von rs2770296

Tabelle 19 gibt die Häufigkeitsverteilung der beiden möglichen Allele T und C in der Kontroll- und Patientenkohorte wieder.

Tabelle 19: Darstellung der Allelverteilung von rs2770296

	Allel n (%)		Gesamt n
	C	T	
Kontrollen	173 (26,8)	473 (73,2)	646
Patienten	81 (29,3)	195 (70,7)	276
Gesamt	254 (27,5)	668 (72,5)	922

In der Verteilung der Allele zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen der Patienten- und Kontrollgruppe ($\chi^2 = 0,639$; OR = 0,881 (CI = 0,644 - 1,203); df = 1; p = 0,424).

5.2. Endophänotypenstudie zu präfrontaler Kognition

Im Rahmen der Assoziationsuntersuchung basierend auf dem Konzept der Endophänotypen wurde untersucht, ob in der vorliegenden Stichprobe Zusammenhänge zwischen den Genotypen und Allelen der beiden SNPs und Leistungen im WCST sowie im n-back bestehen. Hierzu wurde erfasst, ob die Testleistungen in Abhängigkeit von Genotypen oder Allelen differieren.

5.2.1 Analyse der Testleistungen im WCST

Die Genotyp- und Allelvarianten in den beiden Einzelnukleotidpolymorphismen wurden auf Assoziation zu den Testvariablen "*Percent Perseverative Errors*" (PPE), dem prozentualen Anteil der perseverativen Fehler an der Gesamtzahl der Zuordnungen, "*Percent Nonperseverative Errors*" (PNE), dem prozentualen Anteil der nichtperseverativen Fehler an der Gesamtzahl der Zuordnungen und "*Number of Categories Completed*" (NCC), der Anzahl der erfolgreich abgeschlossenen Kategorien, untersucht.

5.2.1.1 Analyse von rs2296972 im WCST

In die Analyse von rs2296972 von Testleitungen im WCST wurden 438 Individuen integriert, davon waren 309 (70,5%) Kontrollprobanden und 129 (29,5%) an Schizophrenie erkrankte Patienten. 233 (53,2%) Personen der Stichprobe waren männlich und 205 (46,8%) weiblich. Tabelle 20 (Seite 86) stellt die Ergebnisse in Abhängigkeit vom Genotyp dar.

Tab. 20: Ergebnisse von rs2296972 im WCST nach Genotyp

	Genotyp M (SD)			F (df = 2/424)	p
	G/G (n = 219)	G/T (n = 183)	T/T (n = 36)		
PPE	13,02 (6,670)	11,99 (6,047)	13,36 (6,887)	2,380	0,094
PNE	13,26 (7,367)	12,26 (6,468)	13,33 (7,022)	1,683	0,187
NCC	5,11 (1,562)	5,37 (1,368)	5,14 (1,376)	2,701	0,068

PPE = Percent Perseverative Errors, PNE = Percent Nonperseverative Errors, NCC = Number of Categories Completed, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung

Signifikante Unterschiede konnten in der Testleistung zwischen den einzelnen Genotypen nicht beobachtet werden, jedoch zeigte sich ein nichtsignifikanter Trend beim prozentualen Anteil perseverativer Fehler (PPE) sowie bei der Anzahl der erfolgreich abgeschlossenen Kategorien (NCC). Bei PPE erzielten die Träger der homozygoten Genotypen mit einer höheren Fehlerquote tendenziell die schlechteren Resultate ($F = 2,380$; $df = 2/424$; $p = 0,094$), auch bei NCC waren die Träger von G/G und T/T im Vergleich zu G/T mit einer geringeren Anzahl abgeschlossener Kategorien weniger erfolgreich ($F = 2,701$; $df = 2/424$; $p = 0,068$).

Im Folgenden wurde der homozygote Genotyp G/G den weiteren beiden, nun zusammengefassten, Genotypen (G/T + T/T) gegenübergestellt (Tabelle 21).

Tab. 21: Ergebnisse von rs2296972 im WCST nach Genotyp gruppiert (G/G vs. G/T + T/T)

	Genotyp M (SD)		F (df = 1/428)	p
	G/G (n = 219)	G/T + T/T (n = 219)		
PPE	13,02 (6,670)	12,22 (6,197)	2,967	0,086
PNE	13,26 (7,367)	12,43 (6,557)	2,436	0,119
NCC	5,11 (1,562)	5,33 (1,369)	5,070	0,025

PPE = Percent Perseverative Errors, PNE = Percent Nonperseverative Errors, NCC = Number of Categories Completed, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung

Betrachtet man die Genotypen G/T und T/T zusammengefasst gegenüber dem Genotyp G/G ergaben sich signifikante Effekte des Genotyps auf die Testvariable NCC ($F = 5,070$, $df = 1/428$; $p = 0,025$). Hierbei schloss G/G im Vergleich zu G/T + T/T signifikant eine

geringere Anzahl an Testkategorien erfolgreich ab (siehe Abbildung 10). Auch zeigte sich für G/G ein nichtsignifikanter Trend ($F = 2,967$; $df = 1/428$; $p = 0,086$) zu einem höheren Prozentsatz perseverativer Fehler im Vergleich zu G/T + T/T.

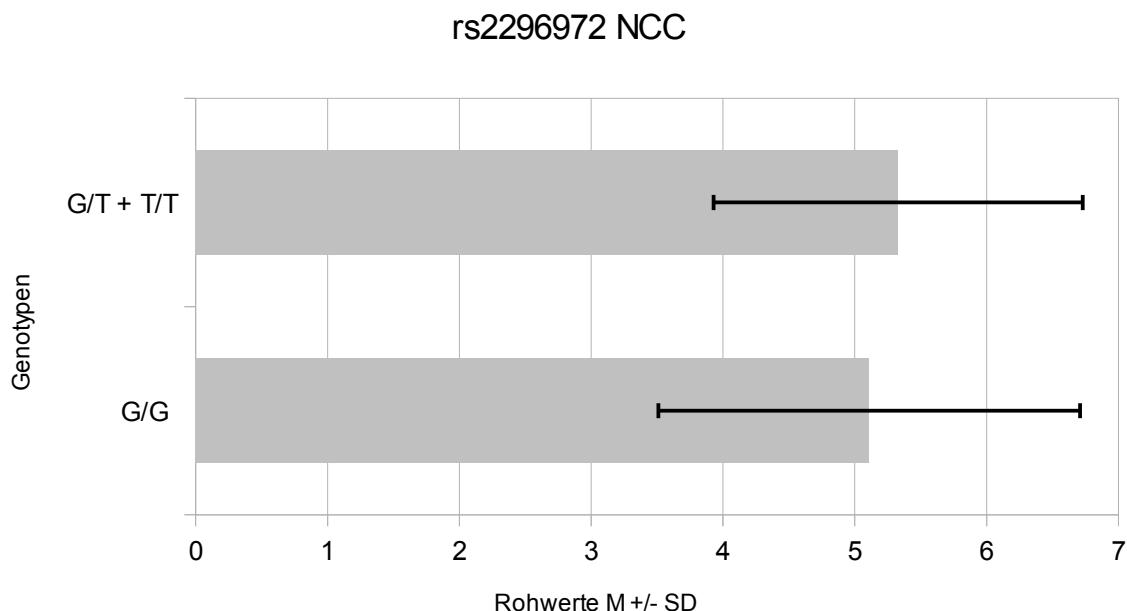


Abb. 10: Graphische Darstellung des signifikanten Effekts des Genotyps von rs2296972 auf die Rohwerte der Testvariable NCC (*Number of Categories Completed*) im WCST (M = Mittelwert, SD = Standardabweichung). Die T-assoziierten Genotypen gruppiert zeigten eine signifikant bessere Leistung.

Tabelle 22 gibt die Analyse der beiden Allelvarianten in rs2296972 in Bezug auf die Testvariablen im WCST wieder.

Tab. 22: Ergebnisse von rs2296972 im WCST nach Allelen

	Allel M (SD)		F (df = 1/866)	p
	G (n = 621)	T (n = 255)		
PPE	12,72 (6,499)	12,38 (6,297)	0,881	0,348
PNE	12,97 (7,117)	12,56 (6,618)	0,891	0,346
NCC	5,19 (1,510)	5,31 (1,369)	3,267	0,071

PPE = *Percent Perseverative Errors*, PNE = *Percent Nonperseverative Errors*, NCC = *Number of Categories Completed*, M = *Mittelwert*, SD = *Standardabweichung*

Signifikante Unterschiede waren zwischen den beiden Allelen in Bezug auf die Testvariablen nicht festzustellen. Bezuglich der Anzahl der erfolgreich abgeschlossenen Kategorien (NCC) zeigte sich ein nichtsignifikanter Trend ($F = 3,267$; $df = 1/866$; $p = 0,071$) zu einem inferioren Resultat der Träger von G.

5.2.1.2 Analyse von rs2770296 im WCST

In die Analyse von rs2770296 von Testleitungen im WCST wurden 425 Individuen aufgenommen, 299 (70,4%) Kontrollprobanden und 126 (29,6%) an Schizophrenie erkrankte Patienten. 225 (52,9%) Personen der Stichprobe waren männlichen und 200 (47,1%) weiblichen Geschlechts. Tabelle 23 stellt die Ergebnisse in Abhängigkeit vom Genotyp dar.

Tab. 23: Ergebnisse von rs2770296 im WCST nach Genotyp

	Genotyp M (SD)			F (df = 2/411)	p
	C/C (n = 36)	C/T (n = 162)	T/T (n = 227)		
PPE	13,00 (5,652)	13,27 (7,083)	12,08 (5,988)	3,851	0,022
PNE	12,69 (7,406)	13,60 (7,149)	12,36 (6,927)	1,791	0,168
NCC	5,25 (1,538)	5,12 (1,509)	5,26 (1,436)	0,454	0,635

PPE = Percent Perseverative Errors, PNE = Percent Nonperseverative Errors, NCC = Number of Categories Completed, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung

In der Analyse von rs2770296 im WCST konnte ein signifikanter Effekt ($F = 3,851$; $df = 2/411$; $p = 0,022$) des Genotyps auf den Prozentsatz der perseverativen Fehler (PPE) festgestellt werden. Die Träger von C/C und C/T generierten hierbei eine deutlich höhere Zahl entsprechender Fehler als diejenigen von T/T (Abbildung 11, Seite 89).

rs2770296 PPE

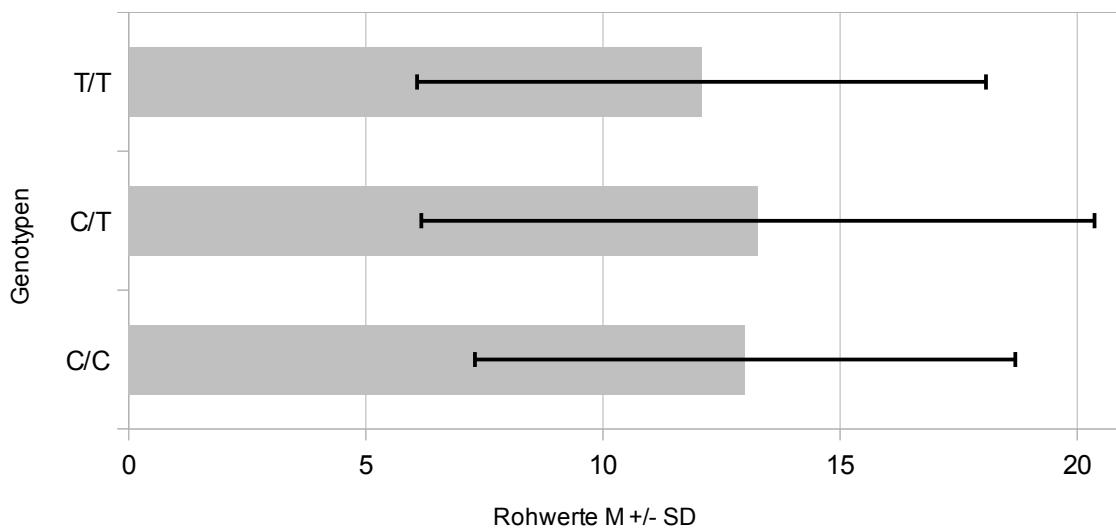


Abb. 11: Graphische Darstellung des signifikanten Effekts des Genotyps von rs2770296 auf die Rohwerte der Testvariable PPE (*Percent Perseverative Errors*) im WCST (M = Mittelwert, SD = Standardabweichung). Die C-assozierten Genotypen unternahmen signifikant mehr perseverative Fehler, T/T erbrachte somit eine bessere Leistung.

Nun wurde der homozygote Genotyp T/T den weiteren beiden, nun zusammengefassten, Genotypen (C/T + C/C) gegenübergestellt (Tabelle 24).

Tab. 24: Ergebnisse von rs2770296 im WCST nach Genotyp gruppiert (C/C + C/T vs. TT)

	Genotyp M (SD)		F (df = 1/415)	p
	C/C + C/T (n = 198)	T/T (n = 227)		
PPE	13,22 (6,833)	12,08 (5,988)	7,272	0,007
PNE	13,44 (7,186)	12,36 (6,927)	3,687	0,056
NCC	5,14 (1,511)	5,26 (1,436)	0,998	0,318

PPE = *Percent Perseverative Errors*, PNE = *Percent Nonperseverative Errors*, NCC = *Number of Categories Completed*, M = *Mittelwert*, SD = *Standardabweichung*

Dabei zeigte sich ein signifikanter Effekt ($F = 7,272$; $df = 1/415$); $p = 0,007$) des Genotyps auf den Prozentsatz perseverativer Fehler (PPE). Auch in dieser Gegenüberstellung verursachten die als Gruppe zusammengefassten Träger von C/C und C/T deutlich mehr perseverative Fehler als die Träger von T/T (Abbildung 12, Seite 90). Beim prozentualen

Anteil der nichtperseverativen Fehler (PNE) bestand ein in die gleiche Richtung zielender nichtsignifikanter Trend ($F = 3,687$; $df = 1/415$; $p = 0,056$). Die kombiniert betrachteten C/C- und C/T-Träger zeigten eine höhere Quote nichtperseverativer Fehler.

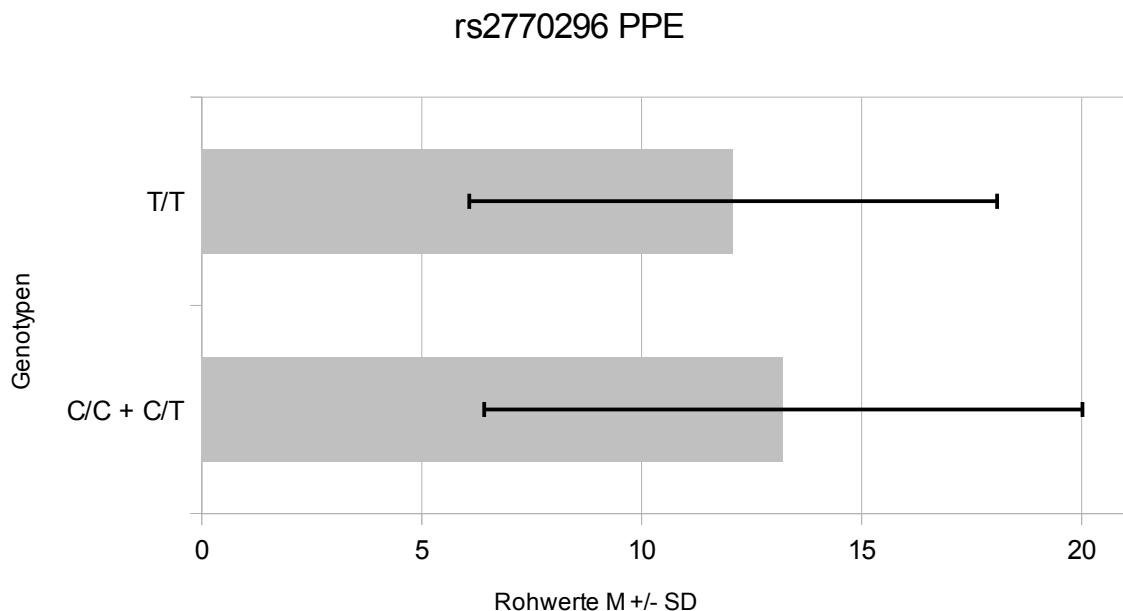


Abb. 12: Graphische Darstellung des signifikanten Effekts des Genotyps von rs2770296 auf die Rohwerte der Testvariable PPE (*Percent Perseverative Errors*) im WCST (M = Mittelwert, SD = Standardabweichung). Die C-assoziierten Genotypen gruppieren unternahmen signifikant mehr perseverative Fehler, T/T war mit einer superioren Leistung assoziiert.

Tabelle 25 fasst die Analyse der beiden Allelvarianten in rs2770296 in Bezug auf die Testvariablen im WCST zusammen.

Tab. 25: Ergebnisse von rs2770296 im WCST nach Allelen

	Allel M (SD)		F (df = 1/840)	p
	C (n = 234)	T (n = 616)		
PPE	13,18 (6,654)	12,39 (6,305)	5,063	0,025
PNE	13,32 (7,209)	12,69 (6,996)	2,985	0,084
NCC	5,16 (1,513)	5,23 (1,455)	1,089	0,297

PPE = *Percent Perseverative Errors*, PNE = *Percent Nonperseverative Errors*, NCC = *Number of Categories Completed*, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung

Eine signifikante Assoziation ($F = 5,063$; $df = 1/840$; $p = 0,025$) bestand zwischen den Allelen und dem prozentualen Anteil perseverativer Fehler (PPE) bei höherer Fehlerquote

des C-Allels (Abbildung 13). Für den prozentualen Anteil nichtperseverativer Fehler (PNE) zeigte sich ein nichtsignifikanter Trend ($F = 2,985$; $df = 1/840$; $p = 0,084$). Auch hierbei verursachten Träger des C-Allels tendenziell mehr Fehler.

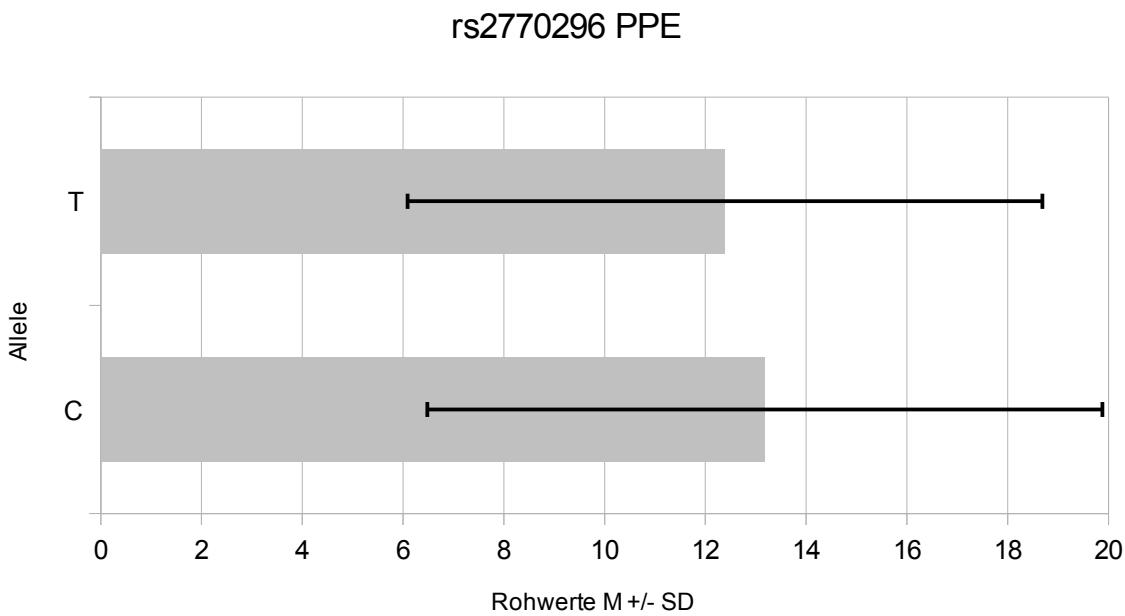


Abb. 13: Graphische Darstellung des signifikanten Effekts der Allele von rs2770296 auf die Rohwerte der Testvariable PPE (*Percent Perseverative Errors*) im WCST (M = Mittelwert, SD = Standardabweichung). Träger des C-Allels wiesen einen höheren Prozentsatz perseverativer Fehler auf, das T-Allel war somit mit einer besseren Leistung assoziiert.

5.2.2 Analyse der Testleistungen im n-back

Die Genotyp- und Allelvarianten in den beiden Polymorphismen wurden auf Assoziation zur Summe der korrekten Tastendrücke (SKT) und der mittleren Reaktionszeit (MRZ) in Millisekunden, jeweils im 1-back und 2-back Modus, untersucht.

5.2.2.1 Analyse von rs2296972 im n-back

In die Analyse von rs2296972 In Bezug auf Testleistungen im n-back wurden 441 Individuen integriert, 314 (71,2%) Kontrollprobanden und 127 (28,8%) an Schizophrenie erkrankte Patienten. 231 (52,4%) Personen der Stichprobe waren männlich und 210 (47,6%) weiblich. Tabelle 26 (Seite 92) zeigt die Ergebnisse in Abhängigkeit vom Genotyp.

Tab. 26: Ergebnisse von rs2296972 nach Genotyp im n-back

	Genotyp M (SD)			F (df = 2/427)	p
	G/G (n = 220)	G/T (n = 184)	T/T (n = 37)		
SKT 1-back	62,34 (16,760)	63,38 (16,564)	63,03 (13,413)	1,412	0,245
SKT 2-back	49,39 (17,253)	48,92 (17,763)	45,16 (12,471)	0,112	0,894
MRZ 1-back	731,67 (247,938)	693,33 (240,805)	765,30 (246,758)	1,053	0,350
MRZ 2-back	730,07 (234,651)	738,52 (232,121)	747,92 (188,935)	0,619	0,539

SKT = Summe korrekter Tastendrücke, MRZ = Mittlere Reaktionszeit, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung

Bei der Analyse der Genotypen im rs2296972 fand sich keine signifikante Assoziation zu den untersuchten Testvariablen im n-back. Effekte des Genotyps auf die erfasste Testleistung ergaben sich somit nicht.

Im Folgenden wurde der homozygote Genotyp G/G den weiteren beiden, nun zusammengefassten, Genotypen (G/T + T/T) gegenübergestellt (Tabelle 27).

Tab. 27: Ergebnisse von rs2296972 im n-back nach Genotyp gruppiert (G/G vs. G/T + T/T)

	Genotyp M (SD)		F (df = 1/431)	p
	G/G (n = 220)	G/T + T/T (n = 221)		
SKT 1-back	62,34 (16,760)	63,32 (16,052)	1,179	0,278
SKT 2-back	49,39 (17,253)	48,29 (17,026)	0,091	0,763
MRZ 1-back	731,67 (247,938)	705,38 (242,741)	2,106	0,147
MRZ 2-back	730,07 (234,651)	740,09 (225,105)	0,002	0,961

SKT = Summe korrekter Tastendrücke, MRZ = Mittlere Reaktionszeit, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung

Auch unter kombinierter Betrachtung der Genotypen G/T und T/T im Gegensatz zum homozygoten Genotyp G/G konnte kein signifikanter Zusammenhang mit rs2296972 zur Testleistung festgestellt werden.

Tabelle 28 stellt die Analyse der beiden möglichen Allel G und T im rs2296972 hinsichtlich einer Assoziation mit den Testvariablen im n-back dar.

Tabelle 28: Ergebnisse von rs2296972 im n-back nach Allelen

	Allel M (SD)		F (df = 1/872)	p
	G (n = 624)	T (n = 258)		
SKT 1-back	62,65 (16,682)	63,28 (15,678)	2,519	0,113
SKT 2-back	49,25 (17,378)	47,84 (16,467)	0,011	0,917
MRZ 1-back	720,37 (246,085)	713,98 (243,746)	1,615	0,204
MRZ 2-back	732,56 (233,564)	741,21 (219,965)	0,357	0,550

SKT = Summe korrekter Tastendrücke, MRZ = Mittlere Reaktionszeit, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung

Eine signifikante Assoziation zwischen den Allelen und den Testvariablen lag für rs2296972 im n-back nicht vor.

5.2.2.2 Analyse von rs2770296 im n-back

In die Analyse von rs2770296 in Bezug auf Testleistungen im n-back wurden 426 Individuen aufgenommen, 302 (70,9%) Kontrollprobanden und 124 (29,1%) an Schizophrenie erkrankte Patienten. 223 (52,3%) Personen der Stichprobe waren männlichen und 203 (47,7%) weiblichen Geschlechts. Tabelle 29 (Seite 94) gibt die Ergebnisse in Abhängigkeit vom Genotyp wieder.

Tab. 29: Ergebnisse von rs2770296 nach Genotyp im n-back

	Genotyp M (SD)			F (df = 2/412)	p
	C/C (n = 38)	C/T (n = 161)	T/T (n = 227)		
SKT 1-back	63,45 (17,551)	63,15 (16,063)	61,98 (16,762)	1,096	0,335
SKT 2-back	52,79 (19,417)	48,81 (16,019)	47,77 (17,517)	0,996	0,370
MRZ 1-back	682,73 (272,861)	703,50 (236,953)	738,36 (249,079)	1,488	0,227
MRZ 2-back	681,81 (259,521)	735,97 (218,472)	746,84 (234,448)	0,499	0,607

SKT = Summe korrekter Tastendrücke, MRZ = Mittlere Reaktionszeit, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung

Bei der Analyse der Genotypen im rs2770296 zeigte sich keine signifikante Assoziation mit den untersuchten Testvariablen im n-back. Auch im rs2770296 erfolgte eine gruppierte Betrachtung der Genotypen. Es wurde C/C in Kombination mit C/T gegenüber T/T evaluiert (Tabelle 30).

Tab. 30: Ergebnisse von rs2770296 im n-back nach Genotyp gruppiert (C/C + C/T vs. T/T)

	Genotyp M (SD)		F (df = 1/416)	p
	C/C + C/T (n = 199)	T/T (n = 227)		
SKT 1-back	63,21 (16,312)	61,98 (16,762)	1,998	0,158
SKT 2-back	49,57 (16,742)	47,77 (17,517)	2,030	0,155
MRZ 1-back	699,53 (243,620)	738,36 (249,079)	3,034	0,082
MRZ 2-back	725,63 (227,180)	746,84 (234,448)	0,716	0,398

SKT = Summe korrekter Tastendrücke, MRZ = Mittlere Reaktionszeit, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung

Eine signifikante Assoziation bei der Gegenüberstellung der Genotypen (C/C + C/T vs. T/T) zu Leistungen im n-back ergab sich nicht. Allerdings konnte ein nichtsignifikanter Trend ($F = 3,034$; $df = 1/416$; $p = 0,082$) bei der mittleren Reaktionszeit im 1-back Modus

(MRZ 1-back) festgestellt werden. Die homozygote T/T-Gruppe schnitt in dieser Testvariable mit einer längeren Reaktionszeit tendenziell schlechter ab.

Abschließend erfolgte noch die in Tabelle 31 dargestellte Analyse der Allele von rs2770296 in Bezug auf den n-back.

Tabelle 31: Ergebnisse von rs2770296 im n-back nach Allelen

	Allel M (SD)		F (df = 1/842)	p
	C (n = 237)	T (n = 615)		
SKT 1-back	63,24 (16,478)	62,28 (16,563)	1,566	0,211
SKT 2-back	50,08 (17,195)	48,04 (17,117)	2,143	0,144
MRZ 1-back	696,84 (248,003)	729,23 (246,044)	2,888	0,090
MRZ 2-back	718,60 (232,636)	743,99 (230,052)	1,188	0,276

SKT = Summe korrekter Tastendrücke, MRZ = Mittlere Reaktionszeit, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung

Eine signifikante Assoziation zwischen Allelen und Testvariablen ergab sich nicht, es konnte jedoch ein nichtsignifikanter Trend ($F = 2,888$; $df = 1/842$; $p = 0,090$) bei der mittleren Reaktionszeit im 1-back Modus (MRZ 1-back) beobachtet werden, wobei das T-Allel im Vergleich zum C-Allel mit einer längeren Reaktionszeit einherging.

5.3 Zusammenfassung der Ergebnisse

5.3.1 Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

In der vorliegenden Fall-Kontroll-Assoziationsstudie konnte kein Zusammenhang zwischen den beiden Einzelnukleotidpolymorphismen rs2296972 und rs2770296 im 5-HT_{2A}-Rezeptorgen und der Krankheitsentität Schizophrenie beobachtet werden. Es zeigten sich zwischen der Kontroll- und Patientenkollekte keine signifikanten Frequenzunterschiede der Genotypen und Allele dieser SNPs. Weder für die Genotypen,

noch für die Allele war somit eine Assoziation mit der Erkrankung in unserer Stichprobe festzustellen.

5.3.2 Endophänotypenstudie

Im Rahmen der Untersuchung beider Polymorphismen auf Assoziation mit Leistungen im WCST und n-back bestätigte sich in vier Fällen ein Effekt des Genotyps bzw. der Allele mit einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$ auf die abhängigen Testvariablen.

In drei der vier Fälle stellte sich ein Zusammenhang zwischen dem prozentualen Anteil perseverativer Fehler (PPE) im WCST und der polymorphen Variante rs2770296 im 5-HT_{2A}-Rezeptorgen dar. Hierbei zeigten die Träger der Genotypen C/C und C/T sowohl isoliert als auch kombiniert betrachtet im Vergleich zu den T/T-Trägern eine signifikant höhere Fehlerquote, was sich auch für die Träger des C-Allels im Vergleich zu den Trägern des T-Allels manifestierte. Das T-Allel bzw. der T/T-Genotyp waren somit mit einer besseren Leistung assoziiert.

Ein in diese Richtung abzielender nichtsignifikanter Trend stellte sich auch für rs2770296 und den prozentualen Anteil nichtperseverativer Fehler (PNE) im WCST dar. So lag die Fehlerquote in dieser Testvariable sowohl bei den im Vergleich zu den homozygoten T/T-Trägern gruppiert betrachteten C/C- und C/T-Trägern als auch bei den Trägern des C-Allels im Vergleich zu denjenigen des T-Allels deutlich höher. Auch hier scheint das T-Allel tendenziell mit einer besseren Leistung verknüpft.

Die vierte signifikante Assoziation bestand zwischen der Anzahl der erfolgreich abgeschlossenen Kategorien im WCST und den Trägern des G/G-Genotyps mit einer inferioren Leistung im Vergleich zu den kombiniert betrachteten Trägern von G/T und T/T bei rs2296972. Eine entsprechende Tendenz zeigte hierbei auch das G-Allel im Vergleich zum T-Allel. Bei diesem SNP wiesen ferner T/T- und G/G-Träger im Vergleich zu G/T-Träger sowie G/G-Träger im Vergleich zu G/T- und T/T-Träger gruppiert einen tendenziell höheren Prozentsatz perseverativer Fehler auf. Auch lieferten T/T- und G/G-Träger im Vergleich zu G/T-Träger eine tendenziell schlechtere Leistung in Bezug auf die Anzahl erfolgreich abgeschlossener Kategorien.

Bei der Evaluation des n-back ergaben sich keine signifikanten Assoziationen mit den untersuchten Polymorphismen. Ein nichtsignifikanter Trend zu einem Effekt der Allele und gruppiert betrachteten Genotypen (T/T vs. C/T + C/C) auf die mittlere Reaktionszeit im 1-

back-Modus zeichnete sich jedoch bei rs2770296 ab. Träger des T-Allels wiesen hierbei ebenso wie Träger des T/T-Genotyps im Vergleich zum C-Allel bzw. der C/T- und T/T-Genotypen gruppiert eine längere mittlere Reaktionszeit auf.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass in der untersuchten Stichprobe ein genetischer Effekt der Polymorphismen rs2770296 und rs2296972 im 5-HT_{2A}-Rezeptorgen auf Testleistungen im WCST bestand, in Bezug auf den n-back konnte dies nicht bestätigt werden. Eine signifikante Assoziation der beiden DNA-Varianten mit Schizophrenie zeigte sich nicht.

6 Diskussion

6.1 Interpretation der Ergebnisse der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

Der genetische Beitrag an der Ätiopathogenese der Schizophrenie ist unbestritten hoch. Die Heritabilität wird auf bis zu 85% geschätzt (Cardno und Gottesman, 2000). Die Hypothese einer Rolle des 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gens als potentielles Suszeptibilitätsgen bei Schizophrenie beruht zunächst auf zweierlei pharmakologischen Beobachtungen. Einerseits kann durch Stimulation des Genprodukts, also des Rezeptors, ein psychotisches Bild vergleichbar der akuten Exazerbation einer Schizophrenie induziert werden (Aghajanian und Marek, 2000; Vollenweider et al., 1998), andererseits werden die antipsychotischen Effekte insbesondere der modernen atypischen Neuroleptika über den 5-HT_{2A}-Rezeptor vermittelt (Farde et al., 1995; Meltzer und Deutch, 1999).

5-HT_{2A}-Rezeptoren sind im präfrontalen Kortex und dem Hippocampus weit verbreitet. Diesen zerebralen Regionen wird eine Beteiligung an der klinischen Ausprägung von Kernsymptomen der Erkrankung zugeschrieben (Golimbet et al., 2007). Eine herabgesetzte Dichte dieses Rezeptor-Typs wurde bei Patienten in den hierfür kritischen zerebralen Strukturen sowohl in pathologischen Untersuchungen (Burnet et al., 1996; Hernandez und Sokolov, 2000) als auch in vivo mittels PET-Analysen (Ngan et al., 2000) nachgewiesen.

Das 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen ist auf dem langen Arm von Chromosom 13 in Position 13q14-q21 lokalisiert (Sparkes et al., 1991). Für diese Region liegt ein Kopplungsbefund mit der Diagnose Schizophrenie vor (Badner und Gershon, 2002). Insbesondere jedoch aufgrund von funktionellen Implikationen ist das Gen Gegenstand zahlreicher Assoziationsanalysen. Am häufigsten wurde hierbei die Sequenzvariante T102C untersucht, die im Exon 1 in der Nähe des Promoters lokalisiert ist (Williams et al., 1997) und sich mit A-1438G in der Promotorregion in einem Kopplungsungleichgewicht befindet. Beide Varianten führen zu keiner Alteration der Aminosäuresequenz, sind also stumm. Weitere bedeutende Polymorphismen in kodierenden Regionen des Gens sind Thr25Asn an der Nukleotidposition 74, wo der Basenaustausch von Cytosin zu Adenin die Aminosäuresubstitution von Threonin zu Asparagin bedingt und His452Tyr an der

Nukleotidposition 1354, wo der Basenaustausch von Cytosin zu Thymin zur Substitution von Histidin mit Tyrosin führt (Erdmann et al., 1996).

Gegenstand der vorliegenden Arbeit ist die Assoziationsuntersuchung von zwei Polymorphismen im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen mit Schizophrenie, für die es keine entsprechenden Vorbefunde gibt. Dabei handelt es sich um rs2296972 (T → G) und rs2770296 (T → C), die beide keinen Aminosäureaustausch zur Folge haben und im Intron 2, einer nichtkodierenden Region, liegen. Diese Marker wurden aufgrund der mangelhaften Befundlage für diese Genregion ausgewählt. Ein positiver Assoziationsbefund könnte hierbei entweder durch eine unmittelbar risikosteigernde Relevanz der Varianten oder einen indirekten Effekt, vermittelt über eine im Kopplungsungleichgewicht liegende weitere Variante, erklärt werden.

Für die Assoziationsuntersuchung von rs2296972 und rs2770296 mit Schizophrenie wurde die Verteilung der Allele und Genotypen beider SNPs zwischen der Patienten- und Kontrollgruppe verglichen. Beide Varianten zeigten keine signifikanten Frequenzunterschiede der Allele und Genotypen zwischen den Gruppen (Tabelle 32). Eine Assoziation mit der Erkrankung, und damit ein genetischer Beitrag dieser SNPs zum Erkrankungsrisiko, kann somit zunächst für die untersuchte Stichprobe nicht angenommen werden.

Tab. 32: Ergebnis der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

Allel- und Genotypkonstellation		Assoziation bzw. Frequenzunterschiede zwischen Gruppen
rs2296972	Genotypen (G/G; G/T; T/T)	$\chi^2 = 1,939$; df = 2; p = 0,379
	Genotypen gruppiert (G/G + G/T; T/T)	$\chi^2 = 1,923$; df = 1; p = 0,166
	Genotypen gruppiert (G/G; G/T + T/T)	$\chi^2 = 0,275$; df = 1; p = 0,600
	Allele (G; T)	$\chi^2 = 0,082$; df = 1; p = 0,322
rs2770296	Genotypen (C/C; C/T; T/T)	$\chi^2 = 0,934$; df = 2; p = 0,627
	Genotypen gruppiert (C/C + C/T; T/T)	$\chi^2 = 0,895$; df = 1; p = 0,344
	Genotypen gruppiert (C/C; C/T + T/T)	$\chi^2 = 0,014$; df = 1; p = 0,905
	Allele (C; T)	$\chi^2 = 0,639$; df = 1; p = 0,424

Dieses Ergebnis entspricht den negativen Befunden zahlreicher Assoziationsuntersuchungen von Markern im Gen mit Schizophrenie (Nimagaonkar et al., 1996; Hawi et al., 1997; Verga et al., 1997; Shinkai et al., 1998; Ohara et al., 1999; Chen et al., 2001;

Zhang et al., 2004; Mata et al., 2004; Li et al., 2006; Bertola et al., 2007; Sanders et al., 2008; Kim und Yoon, 2011), wobei keine der publizierten Arbeiten in einem klassischen Fall-Kontroll-Design explizit die Varianten rs2296972 und rs2770296 überprüft hat. Auch in genomweiten Assoziationsuntersuchungen konnte für keine DNA-Variante in der chromosomal Region, in der das 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen lokalisiert ist, eine statistisch signifikante Assoziation festgestellt werden (Lencz et al., 2007; O'Donovan et al., 2008; Shifman et al., 2008; International Schizophrenia Consortium et al., 2009; Kirov et al., 2009; Need et al., 2009; Shi et al., 2009; Stefansson et al., 2009; Sullivan et al., 2009, Athanasiu et al., 2010; Schanze et al., 2010; Alkelai et al., 2011; Ikeda et al., 2011; Ma et al., 2011 und Yamada et al., 2011).

Zunächst könnte angenommen werden, dass sich das negative Resultat der vorliegenden Studie in fehlenden unmittelbar funktionellen Auswirkungen der beiden Polymorphismen begründet. Sowohl rs2296972 als auch rs2770296 sind stumm, sie bewirken trotz einer Basensubstitution keine Alteration der Aminosäuresequenz und stellen intronische Varianten dar. Bei Introns handelt es sich um nichtkodierende Genabschnitte, die zwar transkribiert, aber im Rahmen der RNA-Prozessierung durch Spleißen entfernt werden. Auch der am häufigsten im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen untersuchte Polymorphismus, die Variante T102C, ist stumm. Seine Allele Cytosin und Thymin kodieren beide für die Aminosäure Serin (Warren et al., 1993) und dennoch liegen replizierte positive Assoziationsbefunde vor. T102C befindet sich jedoch im Gegensatz zu rs2296972 und rs2770296 in einem Abschnitt exonaler DNA. Allerdings enthalten auch Introns sehr wohl Sequenzen, die für die Genfunktion von Bedeutung sind. Diese befinden sich beispielsweise an den Spleißverknüpfungsstellen oder repräsentieren Spleiß-Enhancer und -Silencer. Introns lassen beispielsweise die Insertion von flexiblen DNA-Elementen zu und ermöglichen so die Verschiebung von Exons (Strachan und Read, 2005). Effekte von intronischen DNA-Varianten wie von rs2296972 und rs2770296 auf die Rezeptorfunktion sind somit denkbar.

In verschiedenen internationalen Kollektiven konnte für T102C eine Assoziation mit Schizophrenie nachgewiesen werden (Inayama et al., 1996, Williams et al., 1996; Erdmann et al., 1996; Spurlock et al., 1998; Tan et al., 2001; Baritaki et al., 2004; Vaquero Lorenzo et al., 2006; Golimbert et al., 2007). Zwei Meta-Analysen bestätigten diese Assoziation (Williams et al., 1997; Abdolmaleky et al., 2004). Bis auf die griechische

Untersuchung von Baritaki et al. (2004) weisen alle weiteren das C-Allel als risikosteigernd aus. Williams et al. (1997) beziffern das Risiko (OR) für das C-Allel in ihrer Meta-Analyse mit 1,18 ((CI: 1,07 - 1,31); $p = 0,0009$), Abdolmaleky et al. (2004) mit OR = 1,1 ((CI: 1,0 - 1,2); $p = 0,015$) und nach isolierter Betrachtung der europäischen Studien mit OR = 1,2 ((CI: 1,1 - 1,3); $p < 0,001$).

In Bezug auf die Zusammensetzung der Studienteilnehmer gleicht die Untersuchung von Erdmann et al. (1996) der vorliegenden am meisten. In beiden Fällen handelte es sich um ein deutsches Kollektiv. Die Stichprobe von Erdmann et al. setzte sich jedoch mit 323 nach DSM-III-Kriterien an Schizophrenie erkrankten Individuen und 252 gesunden Kontrollen aus einer höheren Patientenfallzahl zusammen. Die hier untersuchte Stichprobe beinhaltete 142 nach DSM-IV-Kriterien diagnostizierte schizophrene Patienten und 338 gesunde Personen. Erdmann et al. detektierten eine Assoziation der T102C-Variante mit der Erkrankung bei einer überproportionalen Prävalenz des C-Allels unter Patienten ($OR = 1,28$; (CI: 1,012 - 1,623); $p = 0,041$). Für die beiden sequenzverändernden Varianten Thr25Asn und His452Tyr sowie den stummen Polymorphismus C516T konnte diese Arbeitsgruppe keine signifikante Assoziation feststellen.

Als mögliche Erklärung für die Risikoattribuierung der stummen T102C-Variante in diesen Untersuchungen kommt allerdings die potentielle Existenz einer weiteren funktionellen Variante in unmittelbar chromosomaler Nähe in Betracht. Bei dieser könnte es sich, unter der Voraussetzung eines bestehenden Kopplungsungleichgewichts, um das eigentliche risikosteigernde Allel handeln.

Argumente für Allel-abhängige intrinsische Unterschiede in der funktionellen Aktivität von stummen Polymorphismen liefert die Untersuchung von Polesskaya und Sokolov (2009). Hierbei konnten die Autoren demonstrieren, dass die Expression der Allele von T102C, gemessen anhand der mRNA-Menge im temporalen Kortex, differierte. Unter heterozygoten Gesunden betrug das mRNA-Verhältnis zwischen Trägern des C- und T-Allels etwa 0,8 ($t = -14,79$; $df = 14$; $p < 0,0001$). Auch das gesamte Rezeptor-mRNA und -proteinniveau zeigte sich signifikant abhängig vom Genotyp ($t = 2,41$; $df = 13$; $p < 0,015$), wobei der C/C-Genotyp mit einer verminderten Ausprägung assoziiert war.

Festzustellen ist, dass im Falle von positiven Befunden, den mit der Erkrankung

assoziierten Allelen oder Genotypen nur ein geringer bis moderater risikosteigernder Effekt zuzuschreiben ist. Williams et al. (2006) geben diesen für das C-Allel von T102C mit einer OR von 1,3 ((CI: 1,1 - 1,53); p = 0,0016) und für die Genotypen C/C und C/T mit einer OR von 1,7 ((CI: 1,22 - 2,36); p = 0,008) an. Spurlock et al. (1998) berichten im Rahmen einer familienbasierten Untersuchung von 63 Trios unter Einbeziehung aller betroffenen Nachkommen von einer OR für das C-Allel in Höhe von 1,84 ($\chi^2 = 6,21$; (CI: 1,14 - 3,04); df = 1; p = 0,006) und unter Einbeziehung eines betroffenen Nachkommens pro Familie nach zufälliger Auswahl in Höhe von 3,00 ($\chi^2 = 9$; (CI: 1,47 - 6,76); df = 1; p = 0,001), Golimbet et al. (2007) beziffern die OR für das C-Allel in einem russischen Kollektiv mit 1,2 ($\chi^2 = 5,1$; (CI: 1,0 - 1,4); df = 1; p = 0,02) sowie für die Gruppierung der Genotypen C/C und C/T mit 1,4 ($\chi^2 = 5,4$; (CI: 1,1 - 1,8); df = 1; p = 0,02). Vaquero Lorenzo et al. (2006) geben in einer spanischen Stichprobe für das C-Allel eine OR von 1,28 an ($\chi^2 = 4,1$; (CI: 1,01 - 1,63); df = 1; p = 0,043, Baritaki et al. (2004), für das in einem griechischen Kollektiv assoziierte T-Allel, eine OR von 2,11 (χ^2 nicht angegeben; (CI: 1,48 - 3,02); p < 0,001).

Diese somit nur schwach ausgeprägten Effekte decken sich mit der Annahme einer der Schizophrenie zu Grunde liegenden genetisch komplexen Architektur, die sich aus multiplen Genwirkungen mit jeweils nur einer geringen Risikoattribuierung zusammensetzt.

Die Bedeutung des 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gens als Suszeptibilitätsgen bei Schizophrenie wird allerdings trotz der inkonsistenten Ergebnislage erheblich durch Allel-abhängige funktionelle Veränderungen seiner Aktivität untermauert. Neben der oben bereits als Beispiel für funktionelle Effekte stummer Varianten erwähnten Untersuchung von Polesskaya und Sokolov (2000) zeigte sich beispielsweise eine mit dem C-Allel von T102C und dem G-Allel von A-1428G assoziierte reduzierte Ligandenbindung eines Tracers für das HT_{2A}-Rezeptor-Gen im präfrontalen Kortex ($F = 3,77$; df = 1; p = 0,05), was für einen Zusammenhang zwischen dem Marker und der Rezeptorprävalenz spricht (Turecki et al., 1999). Auch Kouzmenko et al. (1997) stellten bei Patienten durch ein quantitativ autoradiographisches Verfahren eine signifikant verminderte Rezeptordichte im DLPFC fest ($p < 0,00001$). Ferner wird ein Einfluss des T102C-Polymorphismus auf epigenetische Mechanismen angenommen. Polesskaya et al. (2006) wiesen nach, dass die C-allelische Variante im Gegensatz zur T-allelischen mit zwei zusätzlichen CpG-

Dinukleotiden an Position 102/103 in Exon 1 und an Position -1437/8 im Promotor einhergeht. Der Grad der Methylierung dieses Dinukleotids im ersten Exon korrelierte signifikant mit der Expression des DNA-Methylase-Gens ($r = 0,649$; $p = 0,021$), gleiches galt für die prozentuale Methylierung des Allel-C-spezifischen Dinukleotids im Promotor und dem Ausmaß der Rezeptor-mRNA-Expression ($r = 0,680$; $p = 0,031$). Parsons et al. (2004) demonstrierten in HeLa- und SH-SY5Y-Zellen einen signifikanten Effekt des Markers A-1438G auf die Promotoraktivität ($p = 0,003$ bzw. $0 = 0,006$), wobei das A-Allel mit einer entsprechenden Akzeleration assoziiert war.

Bei den sequenzverändernden Polymorphismen Thr25Asn und His452Tyr kann angenommen werden, dass die Aminosäuresubstitution unter Umständen zu einer Veränderung der Tertiärstruktur führt und hierüber die Proteinfunktion beeinflusst. Für den His452Tyr-Polymorphismus wurde von Ozaki et al. (1997) ferner ein Genotyp-abhängiger Einfluss auf die Signaltransduktion und somit die Rezeptorfunktion identifiziert. Hierbei wurde die 5-HT-induzierte intrazelluläre Kalziummobilisation in Thrombozyten von 8 His/His-Trägern mit derjenigen von 8 His/Tyr-Trägern verglichen. Die heterozygoten Träger zeigten eine signifikant kleinere Amplitude nach Stimulation mit 10 oder 25 µg 5-HT, auch zeigten sie im Gegensatz zu den homozygoten Trägern keinen dosisabhängigen Effekt sowie eine längere Latenz bis zum Erreichen der maximalen Kalziumemission.

Trotz Vorliegen dieser funktionellen Auswirkungen konnte in den wenigen zu den Markern Thr25Asn und His452Tyr existierenden Assoziationsstudien keine Korrelation mit der Erkrankung gefunden bzw. keine risikosteigernden Allele oder Genotypen ausgewiesen werden (Erdmann et al., 1996; Mata et al., 2004; Li et al., 2006).

Die Befunde in Bezug auf die geschilderten funktionellen Auswirkungen der Einzelnukleotidpolymorphismen weisen jedoch auf möglicherweise einer Assoziation des 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gens mit Schizophrenie zu Grunde liegende biologische Mechanismen, deren Zusammenhänge jedoch derzeit ungeklärt sind, hin. Auch Untersuchungen zur Allel-abhängigen Abschwächung der Wirkung antipsychotischer Pharmaka liefern in dieser Hinsicht Hinweise. Arranz et al. (1995) fanden in Bezug auf T102C eine Assoziation des C-Allels sowie des C/C-Genotyps mit mangelhaftem Antwortverhalten auf Clozapin ($p = 0,016$ bzw. $p = 0,001$). In einer Stichprobe von Masellis et al. (1998) zeigte sich eine Assoziation der Clozapin-Non-Response im His452Tyr-Polymorphismus. Unter Non-

Responden lag eine Prävalenz des Tyr-Allels ($\chi^2 = 6,43$; df = 1; p = 0,01) sowie der Genotypen Tyr/Tyr und Tyr/His ($\chi^2 = 6,54$; df = 2; p = 0,04) vor. Eine Assoziation zu T102C respektive A-1438G bestand nicht. In einem deutschen Kollektiv konnte für T102C, Thr25Asn und His452Tyr kein signifikanter Zusammenhang mit dem Ansprechen auf Clozapin entdeckt werden (Nöthen et al., 1995).

Die widersprüchlichen Ergebnisse dieser pharmakogenetischen Studien sind sicherlich aufgrund ihrer methodischen Einschränkungen kritisch zu bewerten. Aufzuführen ist hier einerseits die ethnische Diversifikation zwischen und bei Masellis et al. (1998) auch innerhalb des Kollektivs (kaukasisch, afro-amerikanisch, asiatisch) sowie der Einsatz von sich unterscheidenden Messinstrumenten zur Erfassung der klinischen Effekte (BPRS, GAS), als auch Unterschiede im Beobachtungszeitraum und der Clozapindosierung. Ferner wurden interindividuelle pharmakodynamische Effekte, beispielsweise Einflüsse auf die Metabolisierung von Clozapin, wie durch Tabakkonsum, soweit in allen Fällen aus der Beschreibung des Studiendesigns ersichtlich, nicht berücksichtigt. Falsch positive Befunde sind daher in Betracht zu ziehen. Allerdings stehen der von Ozaki et al. (1997) entdeckte Einfluss der His452Tyr-Variante auf die intrazelluläre Kalziummobilisation und die identifizierte positive Assoziation des Tyr-Allels mit Clozapin-Non-Response möglicherweise in einem Zusammenhang.

Die synoptische Betrachtung der funktionellen Befunde impliziert einen Beitrag des 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gens zum genetischen Risiko der Schizophrenie. Ein Teil der Fall-Kontroll-Untersuchungen bestätigt insbesondere in Bezug auf den T102C-Polymorphismus risikosteigernde Allel- und Genotypkonstellationen. Somit stellt sich die Frage, worauf die ausbleibende Detektion von Risikovarianten im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen in verschiedenen Studien, in die sich auch die vorliegende einreihrt, und die inkonsistente Ergebnislage im Gesamten basiert. Erklärungsmodelle bieten die ethnische Stratifikation sowie differierende Stichprobengrößen, Einschlusskriterien und phänotypische Modelle zwischen den einzelnen Untersuchungen.

Allel- und Genotypfrequenzen können sich in Populationen unterschiedlicher Ethnizität deutlich unterscheiden. Dies kann positive Assoziationsbefunde bedingen, ohne dass diesen ein kausaler biologischer Zusammenhang zu Grund liegen muss, beispielsweise wenn sich eine Stichprobe aus Probanden gemischter Ethnizität zusammensetzt. Genetische Stratifikationseffekte können aber möglicherweise dazu beitragen, die teils

widersprüchlichen und teils populationsspezifischen Resultate verschiedener internationaler Untersuchungen zu erklären.

Ein Großteil der publizierten Fall-Kontroll-Assoziationsuntersuchungen von Polymorphismen im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen mit Schizophrenie unterscheiden sich erheblich in der geographischen Herkunft ihrer Probanden (Tabelle 33). Von den in dieser Arbeit vorgestellten Studien bestätigen 5 Untersuchungen mit Individuen kaukasischer Ethnizität auf Ebene der Allele oder Genotypen eine signifikante Assoziation von T102C mit Schizophrenie. Im Einzelnen sind das die europäische Multicenter-Studie von Williams et al. (1996), Erdmann et al. (1996) in einem deutschen, Baritaki et al. (2004) in einem griechischen, Vaquero Lorenzo et al. (2006) in einem spanischen und Golimbet et al. (2007) in einem russischen Kollektiv. Joober et al. (1999) weisen in einer kanadischen Stichprobe einen nicht signifikanten Trend für die Prävalenz des C/C-Genotyps unter Patienten aus.

Tabelle 33: Fall-Kontroll-Assoziationsstudien von Markern im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen nach Ethnizität

Ethnizität	Polymorphismus	Assoziation	Studie
Japan	T102C	C-Allel C/C	Inayama et al., 1996
Frankreich, Deutschland, Großbritannien, Österreich, Italien, Irland, Schweden (kaukasisch)	T102C	C-Allel C/C + C/T	Williams et al., 1996
Deutschland (kaukasisch)	T102C Thr25Asn und His452Tyr	C-Allel negativ	Erdmann et al., 1996
Kanada (kaukasisch)	T102C	nicht signifikanter Trend für C/C-Genotyp	Joober et al., 1999
Singapur (chinesisch)	T102C	T/C + T/T	Tan et al., 2001
Griechenland (nicht weiter spezifiziert)	T102C	T-Allel T/T	Baritaki et al., 2004
Spanien (kaukasisch)	T102C	C-Allel C/C	Vaquero Lorenzo et al., 2006
Russisch (nicht weiter spezifiziert)	T102C	C-Allel C/C + C/T	Golimbet et al., 2007
USA (kaukasisch und afro-amerikanisch gemischt)	T102C	negativ	Nimgaonkar et al., 1996
Irland (nicht weiter spezifiziert)	T102C	negativ	Hawi et al., 1997

Ethnizität	Polymorphismus	Assoziation	Studie
Italien (nicht weiter spezifiziert)	T102C	negativ	Verga et al., 1997
Japan	T102C	negativ	Shinkai et al., 1998
Japan	A-1438G	negativ	Ohara et al. 1999
China (Han-Chinesen)	T102C	negativ	Chen et al., 2001
China (Han-Chinesen)	T102C	negativ	Zhang et al., 2004
Spanien (Subpopulation Navarra)	T102C A-1438G His452Tyr	negativ negativ negativ	Mata et al., 2004
Brasilien	C516T	negativ	Bertola et al., 2007
europäische Abstammung (kaukasisch)	T102C A-1438G rs4941573	negativ negativ negativ	Sanders et al. 2008
Korea	A-1438G	negativ	Kim und Yoon, 2011

Bis auf die Untersuchung von Baritaki et al. (2004), in der das T-Allel und der T/T-Genotyp mit der Erkrankung assoziiert waren, stellen in allen weiteren kaukasischen Studien das C-Allel bzw. die auf das C-Allel bezogenen Genotypen die risikosteigernden Varianten dar. Inayama et al. (1996) und Tan et al. (2001) berichten als einzige Untersuchungen basierend auf einer asiatischen Stichprobe mit japanischen bzw. chinesischen Studienteilnehmern aus Singapur von einem positiven Assoziationsbefund. In der japanischen Untersuchung von Inayama et al. (1996) waren das C-Allel sowie der C/C-Genotyp und in der chinesischen Untersuchung von Tan et al. (2001) die kombiniert betrachteten Genotypen T/C und T/T unter Patienten signifikant überrepräsentiert.

In den kaukasischen Kollektiven von Hawi et al. (1997) aus Irland, Verga et al. (1997) aus Italien, Mata et al. (2004) aus Spanien sowie in der amerikanischen Kandidatengenstudie von Sanders et al. (2008) wurden keine signifikanten Assoziationen von Markern im Gen mit Schizophrenie detektiert. Das Kollektiv von Sanders et al. (2008) setzte sich aus Probanden von drei verschiedenen Studien (*Molecular Genetics of Schizophrenia Part 1 and Part 2* sowie *NIMH Schizophrenia Genetics Initiative*) zusammen und wurde an mehreren US-amerikanischen Standorten sowie in Australien rekrutiert. Den Autoren zu Folge wiesen alle Teilnehmer eine europäische Abstammung auf, die mittels Selbstauskunft erhoben wurde. Aufgrund der großen geographischen Verteilung der Studienteilnehmer ist trotz deren kaukasischer Ethnizität eine gewisse genetische Stratifikation innerhalb der Stichprobe anzunehmen. Auch Nimgaonkar et al. (1996)

berichten von negativen Resultaten, wobei sich deren amerikanische Stichprobe aus Probanden kaukasischer und afro-amerikanischer Ethnizität zusammensetzte und die Kontrollgruppe im Vergleich zur Patientengruppe überproportional aus Kaukasiern bestand ($\chi^2 = 7,2$; df = 1; p < 0,01). Den Autoren zu Folge zeigten sich jedoch keine Unterschiede in der Genotypverteilung zwischen beiden ethnischen Gruppen. Die asiatischen Fall-Kontroll-Studien von Shinkai et al. (1998) und Ohara et al. (1999), jeweils in Japan, sowie von Chen et al. (2001) und Zhang et al. (2004), jeweils mit Han-Chinesen, und Kim und Yoon (2011) in Korea fanden keine positiven Assoziationen, gleiches galt für die brasilianische Untersuchung der C516T-Variante von Bertola et al. (2007). Die vorliegende Fall-Kontroll-Untersuchung der SNPs rs2296972 und rs2770296 mit Schizophrenie konnte in einer Stichprobe deutscher Ethnizität ebenfalls keine signifikante Assoziation mit Schizophrenie bestätigen.

Unter Betrachtung der positiven Befunde lässt sich feststellen, dass diese bis auf die Studien von Inayama et al. (1996) und Tan et al. (2001) von kaukasischen Kollektiven stammen und die inkonsistente Ergebnislage möglicherweise tatsächlich eine Folge der genetischen Stratifikation darstellt. Diese Schlussfolgerung unterstützt auch die von Abdolmaleky et al. (2004) durchgeführte Meta-Analyse von 31 weltweiten Fall-Kontroll-Assoziationsstudien in Bezug auf den Marker T102C. Abdolmaleky et al. (2004) berichten in deren Rahmen eine Assoziation der Erkrankung mit dem C-Allel (OR = 1,1 (CI: 1,0 - 1,2); z = 2,42; p = 0,01) sowie tendenziell eine Prävalenz des C/C-Genotyps (OR = 1,3 (CI: 1,0 - 1,6); p = 0,056) unter Patienten, was mit der überwiegenden Zahl der oben dargestellten positiven Befunde einhergeht. Die Autoren berichten jedoch auch von signifikanter genetischer Heterogenität in Bezug auf die Verteilung der Allele ($\chi_{(30)}^2 = 72,57$; p < 0,001) und die Verteilung der Genotypen ($\chi_{(28)}^2 = 78,15$; p < 0,001), die sie zumindest teilweise auf große Unterschiede zwischen den europäischen und asiatischen Kollektiven (Allele: z = 3,19; p = 0,001; Genotypen: z = 2,82; p = 0,005) zurückführen. Um diesem Störfaktor Rechnung zu tragen erfolgte die isolierte Analyse aller kaukasischen Studien, die in einer Zunahme der Risikoattribuierung für das C-Allels (OR = 1,2 (CI: 1,1 - 1,3); z = 3,72; p = 0,001) und für den C/C-Genotyp (OR = 1,5 (CI: 1,1 - 2,0); z = 2,73; p = 0,006) resultierte. Die isolierte Betrachtung der asiatischen Studien zeigte weder eine signifikante Assoziation zum C-Allel, noch zum C/C-Genotyp, allerdings zeigte das T-Allel sowohl in der asiatischen Patienten- (59,5%), als auch in der Kontrollgruppe (57,5%) eine höhere Frequenz als unter europäischen Patienten (40,0%) und Kontrollen (43,5%). Diese

Beobachtung erscheint auch übereinstimmend mit der Detektion einer Assoziation der Genotypen T/C und T/T in der Stichprobe aus Singapur (Tan et al., 2001).

Letztlich schwächt die ausbleibende Replikation der Assoziation von T102C in verschiedenen europäischen Untersuchungen die Relevanz populationsabhängiger genetischer Stratifikation als Erklärungsmodell für die inkonsistente Ergebnislage wiederum ab. Allerdings bestehen auch zwischen kaukasischen Kollektiven derartige Effekte, wie die griechische Studie von Baritaki et al. (2004) mit einer im Gegensatz zu den weiteren positiven europäischen Befunden konträren Assoziation des T-Allels und des T/T-Genotyps zeigt.

Hinweise auf genetische Heterogenität zwischen kaukasischen Stichproben liefert auch der Vergleich der Allelfrequenzen gesunder Kontrollprobanden, die innerhalb Europas geographisch abzuweichen scheinen. Baritaki et al. (2004) beziffern die Frequenz des C-Allels unter gesunden Individuen in ihrer griechischen Stichprobe mit 0,505, vergleichbar mit der italienischen Subpopulation (0,505) in der Studie von Williams et al. (1996). In nördlicher gelegenen europäischen Staaten nimmt die Allel-C-Frequenz unter Gesunden in den Subpopulationen von Williams et al. (1996) deutlich zu: Deutschland (0,530), Frankreich (0,549), Großbritannien (0,590), Irland (0,607) und Schweden (0,662).

Um genetische Stratifikationseffekte innerhalb der untersuchten Stichprobe zu minimieren, rekrutierten Mata et al. (2004) in ihrer spanischen Fall-Kontroll-Untersuchung einen großen Teil der Probanden, 162 von 257 Patienten und 180 von 334 Kontrollen, aus einer relativ isoliert lebenden und somit genetisch weniger heterogenen Population im Norden Navarras. Eine statistisch signifikante Assoziation der Polymorphismen T102C, A-1438G und His452Tyr ergab sich jedoch weder für das gesamte Kollektiv, noch für die genetisch homogenere Subgruppe.

Die genetische Stratifikation innerhalb einer Stichprobe kann sowohl falsch-positive als auch falsch-negative Befunde nach sich ziehen. Aus diesem Grund sind die Ergebnisse von Studien mit Probanden unterschiedlicher ethnischer Herkunft besonders kritisch zu bewerten. Von den hier vorgestellten Fall-Kontroll-Assoziationsuntersuchungen setzt sich lediglich die amerikanische Studie von Nimgaonkar et al. (1996) sowohl aus kaukasischen als auch afro-amerikanischen Teilnehmern zusammen. Ein positiver Assoziationsbefund

mit T102C wird nicht berichtet. Diese stratifikationsbedingten Einschränkungen gelten ebenso für pharmakogenetische Studien, wie oben im Falle der Clozapin-Responder-Studie von Masellis et al. (1998) aufgeführt.

Den unerwünschten Stratifikationseffekten tragen im Besonderen familienbasierte Analysen Rechnung. Sie sind gegenüber genetischer Heterogenität robust und untersuchen die bevorzugte Vererbung eines bestimmten elterlichen Allels auf erkrankte Kinder. Spurlock et al. (1998) bestätigten mit diesem Ansatz in einer Stichprobe aus 63 Eltern-Nachkommen-Trios die Prävalenz des C-Allels von T102C.

Eine abschließende Erklärung für die inkonsistente Befundlage in Bezug auf den genetischen Beitrag des 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gens zur Schizophrenie liefert die Betrachtung der ethnischen Zusammensetzung der einzelnen Studien nur in Teilen. Eine mögliche Schlussfolgerung ist, dass sich die potentiellen Risikovarianten in verschiedenen ethnischen Gruppen unterscheiden und somit bestimmte DNA-Varianten in diesem Gen lediglich in einzelnen Populationen einen risikosteigernden Effekt ausüben. Ausgeschlossen ist jedoch auch nicht, dass einzelne Untersuchungen bedingt durch Populationsstratifikation falsch-positive, aber auch durch insuffizienten Stichprobenumfang falsch-negative Befunde publiziert haben.

Unter Betrachtung der Stichprobengrößen der Fall-Kontroll-Assoziationsstudien (Tabelle 34, Seite 110) fällt auf, dass sich bis auf die Ausnahme von Sanders et al. (2008), die überwiegende Zahl der kaukasischen Kollektive mit positivem Assoziationsbefund zum C-Allel respektive zu den C-Allel-abhängigen Genotypen in der T102C-Variante in Relation durch hohe Fallzahlen auszeichnen. Diese belaufen sich in der europäischen Multicenter-Studie von Williams et al. (1996) auf 571 Patienten und 639 Kontrollen, im deutschen Kollektiv von Erdmann et al. (1996) auf 323 Patienten und 252 Kontrollen, im spanischen Kollektiv von Vaquero Lorenzo et al. (2006) auf 188 Patienten und 440 Kontrollen und im russischen Kollektiv von Golimbet et al. (2007) auf 919 Patienten und 500 Kontrollen.

Die europäischen Studien mit negativem Befund variieren von 100 Patienten und 103 Kontrollen im italienischen Kollektiv von Verga et al. (1997) bis 257 Patienten und 334 Kontrollen im spanischen Kollektiv von Mata et al. (2004). Einschränkend muss zur Untersuchung von Mata et al. (2004) erwähnt werden, dass bei dieser die diagnostischen

Einschlusskriterien weit gefasst waren und die Fallgruppe Patienten mit psychotischen Störungen jeglicher Entität umfasste. Die vorliegende Analyse der Marker rs2296972 und rs2770296 besteht aus 142 Patienten und 338 Kontrollprobanden. Die Fallzahl bewegt sich dabei im Bereich derjenigen von europäischen Studien mit negativem Assoziationsbefund. Somit muss in Betracht gezogen werden, dass hierbei möglicherweise die Stichprobengröße nicht ausreichte, um eine potentielle Assoziation zu detektieren.

Tabelle 34: Fall-Kontroll-Assoziationsstudien von Markern im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen nach Stichprobengröße und Phänotypdefinition

Stichprobengröße	Phänotypdefinition	Polymorphismus	Assoziation	Studie
62 Patienten 96 Kontrollen	Schizophrenie nach DSM-III-R	T102C	C-Allel C/C	Inayama et al., 1996
571 Patienten 639 Kontrollen	Schizophrenie und schizoaffektive Störung nach DSM-III-R	T102C	C-Allel C/C + C/T	Williams et al., 1996
323 Patienten 252 Kontrollen	Schizophrenie nach DSM-III-R	T102C Thr25Asn und His452Tyr	C-Allel negativ	Erdmann et al., 1996
102 Patienten 90 Kontrollen	63 Non-Responder und 39 Responder auf Typika mit Schizophrenie nach DSM-IV	T102C	nicht signifikanter Trend für C/C-Genotyp	Joober et al., 1999
221 Patienten 97 Kontrollen	Schizophrenie nach DSM-IV	T102C	T/C + T/T	Tan et al., 2001
114 Patienten 192 Kontrollen	Schizophrenie nach DSM-IV	T102C	T-Allel T/T	Baritaki et al., 2004
188 Patienten 440 Kontrollen	Schizophrenie nach DSM-IV	T102C	C-Allel C/C	Vaquero Lorenzo et al., 2006
919 Patienten 500 Kontrollen	777 Fälle Schizophrenie und 142 schizoaffektive Störung nach ICD-10	T102C	C-Allel C/C + C/T	Golimbet et al., 2007
174 Patienten 239 Kontrollen	Schizophrenie nach DSM-IV	T102C	negativ	Nimgaonkar et al., 1996
247 Patienten 249 Kontrollen	Schizophrenie nach DSM-III-R	T102C	negativ	Hawi et al., 1997
100 Patienten 103 Kontrollen	Schizophrenie nach DSM- III-R	T102C	negativ	Verga et al., 1997
106 Patienten 109 Kontrollen	Schizophrenie nach DSM-IV	T102C	negativ	Shinkai et al., 1998
119 Patienten 106 Kontrollen	Schizophrenie nach DSM-IV	A-1438G	negativ	Ohara et al. 1999

Stichprobengröße	Phänotypdefinition	Polymorphismus	Assoziation	Studie
471 Patienten 523 Kontrollen	Schizophrenie nach DSM-IV	T102C	negativ	Chen et al., 2001
291 Patienten 307 Kontrollen	Schizophrenie nach DSM-IV	T102C	negativ	Zhang et al., 2004
257 Patienten 334 Kontrollen	182 Fälle Schizophrenie, 18 schizoaffektive Störung, 28 bipolare Störung, 15 Majordepression, 7 wahnhafte Störung, 7 kurz anhaltende psychotische Störung, jeweils nach DSM-IV	T102C A-1438G His452Tyr	negativ negativ negativ	Mata et al., 2004
246 Patienten 315 Kontrollen	Schizophrenie nach DSM-IV	C516T	negativ	Bertola et al., 2007
1870 Patienten 2002 Kontrollen	Schizophrenie und schizoaffektive Störung nach DSM-IV	T102C A-1438G rs4941573	negativ negativ negativ	Sanders et al., 2008
202 Patienten 165 Kontrollen	Schizophrenie nach DSM-IV	A-1438G	negativ	Kim und Yoon, 2011

Zu berücksichtigen ist ferner die Definition des Phänotyps im Rahmen der Einschlusskriterien (Tabelle 34, Seite 110). Diese variiert zwischen den einzelnen Fall-Kontroll-Assoziationsstudien zum Teil deutlich und kann sich auf die jeweiligen Ergebnisse auswirken und auch möglicherweise divergierende Ergebnisse erklären. Da die ohnehin ausgeprägte genetische Heterogenität der Schizophrenie die problematische Befundlage mit verantwortet, ist es bedingt sinnvoll bei der Suche nach Risikogenen den fokussierten Phänotyp zu erweitern und neben Patienten mit einer eng definierten Schizophrenie auch Patienten beispielsweise mit Psychosen aus dem affektiven Spektrum zu integrieren. Trotz partieller Überschneidungen der klinischen Ausprägung dieser unterschiedlichen diagnostischen Einheiten, kann nicht *a priori* angenommen werden, dass sie sich die gleichen risikosteigernden DNA-Varianten teilen. Die Aussagekraft von Studien mit gemischem Zielphänotyp ist daher eingeschränkt.

Von den hier berücksichtigten Arbeiten weist insbesondere die Untersuchung von Mata et al. (2004) ausgesprochen weit gefasste Einschlusskriterien auf. Es wurden dabei neben Patienten mit einer schizophrenen Psychose auch Patienten mit einer schizoaffektiven Störung, bipolaren Störung, Majordepression, wahnhaften Störung und kurz anhaltenden

psychotischen Störung in die Fallgruppe mit aufgenommen. Dies steht im Widerspruch zu den Bemühungen der Autoren um eine möglichst genetisch homogene Gruppe, die sie durch Rekrutierung aus einer geographisch relativ isoliert lebenden Population im Norden Spaniens zu gewinnen versuchten. Bei den Untersuchungen von Williams et al. (1996), Golimbet et al. (2007) und Sanders et al. (2008) setzte sich das Patientenkollektiv aus Individuen mit Schizophrenie und schizoaffektiver Störung zusammen. Alle weiteren Studien beinhalteten ausschließlich Patienten mit der Diagnose Schizophrenie (Inayama et al., 1996; Erdmann et al., 1996; Joober et al., 1999; Tan et al., 2001; Baritaki et al., 2004; Vaquero Lorenzo et al., 2006; Nimgaonkar et al., 1996; Hawi et al., 1997; Verga et al., 1997; Shinkai et al., 1998; Ohara et al., 1999; Chen et al., 2001; Zhang et al., 2004; Bertola et al., 2007; Kim und Yoon, 2011), ebenso wie die vorliegende der beiden Polymorphismen rs2296972 und rs2770296.

Erfasst wurde die Erfüllung der diagnostischen Kriterien in allen Untersuchungen mit Manualen die sich auf die beiden anerkannten Klassifikationssysteme DSM-IV und ICD-10 beziehen, bei älteren Untersuchungen auch auf die dem DSM-IV vorangehende Version DSM-III-R. Die diagnostischen Kriterien der beiden Klassifikationssysteme decken sich weitestgehend, so dass in dieser Hinsicht eine Vergleichbarkeit der Studien gegeben ist. Anzumerken ist, dass die Qualität des Screenings durch die Studiendurchführenden in Abhängigkeit von deren Erfahrung mit dem Diagnosewerkzeug einen Einflussfaktor auf die korrekte Diagnostik des Störungsbildes darstellt.

Neben der Rekrutierung von Patienten unter Beachtung einer möglichst engen diagnostischen Abgrenzung des Phänotyps ist auch die Zusammenstellung der Kontrollgruppe von Relevanz. Um genetische Interferenzen und eine Verfälschung der Resultate zu vermeiden, ist hierbei der Ausschluss von Individuen von Bedeutung, die entweder selbst an einer schizophrenen Psychose leiden oder in einem nahen Verwandtschaftsverhältnis zu entsprechenden Patienten stehen, denn derartige Personen weisen unter Umständen selbst risikosteigernde oder assoziierte 5-HT_{2A}-Rezeptor-DNA-Varianten auf.

In der vorliegenden Arbeit erfolgte die Rekrutierung der Kontrollprobanden in einem mehrstufigen Verfahren zum Ausschluss von psychiatrischen Achse I und II Störungen nach DSM-IV-Kriterien. Im Zentrum stand dabei ein persönlicher Termin zur Durchführung eines strukturierten klinischen Interviews (SKID I und II). Ein Studieneinschluss erfolgte

nur bei fehlenden psychiatrischen Erkrankungen und bis zum 3. Verwandtschaftsgrad negativer psychiatrischer Familienanamnese. Sämtliche in Tabelle 33 aufgeführten Untersuchungen wiesen weitaus weniger strenge Einschlusskriterien für die Kontrollgruppe auf. Ein beträchtlicher Teil bezog die untersuchte DNA vollständig oder überwiegend aus Blutbanken oder von potentiellen Blutspendern ohne Informationen über die psychiatrische Vorgeschichte oder Familienanamnese der Spender. Es lagen lediglich demographische Daten wie Geschlecht oder Alter vor (Irisches Kollektiv der Multicenter-Studie von Williams et al., 1996; Erdmann et al., 1996; Baritaki et al., 2004; Mata et al., 2004; Bertola et al., 2007). Ein spezifisches psychiatrisches Screening der Kontrollen blieb auch bei Hawi et al. (1997) und Verga et al. (1997) aus. Zhang et al. (2004) machen hierzu keine Angaben. In einigen Studien wurden ausschließlich eine mögliche psychiatrische Vorgeschichte der Probanden erhoben und keine weiteren Informationen über Familienangehörige erfasst (Nimgaonkar et al., 1996; Tan et al., 2001; Golimbet et al., 2006; Sanders et al., 2008). Inayama et al. (1996) und Vaquero Lorenzo et al. (2006) schlossen Kontrollen mit positiver Familien- und Eigenanamnese aus. Kim und Yoon (2011) sowie Shinkai et al. (1998) führten klinische Interviews mit den potentiellen Probanden durch und erhoben die Familienanamnese bis zum 2. Grad. Insbesondere bei den Studien, die keinerlei Informationen über die genetische Disposition von Kontrollprobanden erhalten haben, ist eine Auswirkung durch die mögliche Präsenz relevanter DNA-Varianten in dieser Gruppe auf die Ergebnisse denkbar. Allerdings ist hier weder ein Zusammenhang mit Studien die positive, noch die negative Assoziationsbefunde von Markern im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen publizierten zu erkennen.

Die methodischen Unterschiede der einzelnen Fall-Kontroll-Assoziationsstudien von Polymorphismen im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen mit Schizophrenie können deren zum Teil widersprüchliche Resultate nur in Ansätzen erklären. Ein beträchtlicher Teil der kaukasischen Untersuchungen attribuiert dem C-Allel bzw. den C-Allel-abhängigen Genotypen der T102C-Variante Relevanz als genetischem Risikofaktor. Falsch-positive Resultate sind hierbei aufgrund methodischer Einschränkungen indessen nicht ausgeschlossen. Auch die vorliegende Arbeit konnte keine Assoziation mit den SNPs rs2296972 und rs2770296 und Schizophrenie in einer deutschen Stichprobe feststellen. Vergleicht man die Ergebnisse europäischer und asiatischer Studien lässt sich der Schluss ziehen, dass möglicherweise differierende DNA-Varianten in unterschiedlichen Populationen zum Tragen kommen, was die These einer genetisch ausgesprochen

heterogen determinierten Störung untermauert. Die vorgestellten Fall-Kontroll-Assoziationsuntersuchungen basierten auf einer breiten diagnostischen Klassifikation der Störung. Diese weist jedoch zahlreiche Subtypen mit variierender klinischer Ausprägung auf, deren genetische Risikofaktoren sich möglicherweise wiederum unterscheiden. Die genetische Heterogenität könnte somit der Hauptgrund für die Schwierigkeiten bei der Identifikation von Risikovarianten sein. Eine alternative Herangehensweise ist daher der Weg über die Identifikation von genetischen Risikovarianten neurobiologischer Korrelate der Schizophrenie. Ein derartiger Ansatz wurde in der Endophänotypenstudie der vorliegenden Arbeit verfolgt.

6.2. Interpretation der Ergebnisse der Endophänotypenstudie

Arbeitsgedächtnisprozesse und Exekutivfunktionen stellen wesentliche kognitive Domänen dar, die bei an Schizophrenie erkrankten Individuen einer erheblichen Beeinträchtigung unterliegen (Goldman-Rakic, 2001; Sitskoorn et al., 2004). Defizite in diesen kognitiven Domänen lassen sich auch bei phänotypisch gesunden Angehörigen nachweisen, was sie als Indikatoren einer genetischen Vulnerabilität ausweist (Cannon et al., 2000; Wolf et al., 2002; Sitskoorn et al., 2004; Conklin et al., 2005). Ando et al. (2001) schätzen die Heritabilität der Arbeitsgedächtnisfunktionen auf annähernd 45%. Die morphologische Repräsentation dieser kognitiven Funktionen findet sich im DLPFC, der durch eine hohe Dichte an 5-HT_{2A}-Rezeptoren gekennzeichnet ist (Williams et al., 2002). Darüber hinaus zeigen 5-HT_{2A}-affine Atypika bei schizophrenen Patienten positive Effekte auf Exekutivfunktionen und Arbeitsgedächtnisleistungen (Meltzer und McGurk, 1999). Diese Befunde lassen den Schluss zu, dass Risikovarianten im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen potentiell auch diese Domänen der präfrontalen Kognition modulieren. In der vorliegenden Arbeit wurde diese These in einer deutschen Population untersucht. Hierzu wurde erfasst, ob sich Unterschiede in den Testleistungen des WCST und n-back in Abhängigkeit der Allele und Genotypen der Polymorphismen rs2296972 und rs2770296 im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen darstellen.

Signifikant positive Assoziationen ergaben sich in Bezug auf den WCST zwischen dem prozentualen Anteil perseverativer Fehler (PPE) und rs2770296. Die perseverative Fehlerquote spiegelt das Unvermögen korrekt auf einen relevanten Stimulus zu reagieren

sowie nach Egan et al. (2001) die kognitive Flexibilität wider und erfasst damit am sensitivsten die präfrontale Funktion. Die Träger des C-Allels sowie die der C-Allel-abhängigen Genotypen, isoliert als auch gruppiert betrachtet, generierten bei dieser Testvariable eine signifikant höhere Fehlerquote als die Träger des T-Allels bzw. des T/T-Genotyps. Für den SNP rs2296972 zeigte sich ein nicht signifikanter Trend in Richtung einer Assoziation mit dem prozentualen Anteil perseverativer Fehler, wobei hier die homozygoten T/T- und G/G-Träger im Vergleich zu den G/T-Trägern tendenziell eine höhere Fehlerquote aufwiesen, gleiches galt für homozygote G/G-Träger unter Gegenüberstellung der zusammengefassten G/T- und T/T-Träger (Tabelle 35). Somit lässt sich ein Effekt der DNA-Variante rs2770296 auf die kognitive Flexibilität als einen Aspekt exekutiver Funktionen feststellen.

Tab. 35: Darstellung der signifikanten Assoziationen und statistischen Trends der Endophänotypenstudie

SNP	WCST	Assoziation (Genotypen isoliert, gruppiert und Allele)	p
rs2296972	PPE	T/T und G/G im Vergleich zu G/T <i>tendenziell</i> höhere Fehlerquote	0,094
	NCC	T/T und G/G im Vergleich zu G/T <i>tendenziell</i> inferiore Leistung	0,068
	PPE	G/G im Vergleich zu G/T + T/T gruppiert <i>tendenziell</i> höhere Fehlerquote	0,086
	NCC	G/G im Vergleich zu G/T + T/T gruppiert inferiore Leistung <i>signifikant</i>	0,025
	NCC	G im Vergleich zu T <i>tendenziell</i> inferiore Leistung	0,071
rs2770296	PPE	C/C und C/T im Vergleich zu T/T höhere Fehlerquote <i>signifikant</i>	0,022
	PPE	C/C + C/T gruppiert im Vergleich zu T/T höhere Fehlerquote <i>signifikant</i>	0,007
	PNE	C/C + C/T gruppiert im Vergleich zu T/T <i>tendenziell</i> höhere Fehlerquote	0,056
	PPE	C im Vergleich zu T höhere Fehlerquote <i>signifikant</i>	0,025
	PNE	C im Vergleich zu T <i>tendenziell</i> höhere Fehlerquote	0,084
SNP	n-back	Assoziation (Genotypen isoliert, gruppiert und Allele)	p
rs2770296	MRZ 1-back	T/T im Vergleich zu C/T + C/C <i>tendenziell</i> längere Reaktionszeit	0,082
	MRZ 1-back	T im Vergleich zu C <i>tendenziell</i> längere Reaktionszeit	0,090

PPE = Percent Perseverative Errors, PNE = Percent Nonperseverative Errors, NCC = Number of Categories

Completed, MRZ = Mittlere Reaktionszeit

Die zweite WCST-Variable, mit der eine signifikante Assoziation detektiert wurde, stellt die Anzahl der erfolgreich abgeschlossenen Kategorien (NCC) dar, wobei homozygote G/G-Träger in rs2296972 im Vergleich zu den T-Allel-abhängigen Genotypen gruppiert ein signifikant schlechteres Ergebnis erzielten. Einen nicht signifikanten Trend in diese Richtung zeigten auch die Träger des G-Allels sowie bei isolierten Gegenüberstellung der Genotypen die Träger von G/G und T/T (Tabelle 35, Seite 115). Diese Ergebnisse sprechen konsistent für eine mit dem G-Allel bzw. den G-Allel-abhängigen Genotypen in Zusammenhang stehende inferiore Leistung und somit eine Auswirkung auf die in dieser Variable erfasste Effizienz exekutiver Funktionen (Wilkosc et al., 2010) und decken sich mit den statistischen Trends von rs2296972 in Bezug auf den prozentualen Anteil perseverativer Fehler. Ein Zusammenhang zwischen der DNA-Variante rs2296972, respektive einer weiteren, die mit dieser in einem Kopplungsungleichgewicht steht, und exekutiver Leistung kann daher angenommen werden.

In Bezug auf die dritte in dieser Arbeit erfasste Testvariable im WCST, dem prozentualen Anteil nichtperseverativer Fehler, konnten keine signifikanten Zusammenhänge mit den beiden Polymorphismen festgestellt werden. In der Variante rs2770296 wiesen jedoch die C-Allel-Träger sowie die Träger der C-allel-abhängigen Genotypen unter zusammengefasster Betrachtung tendenziell eine höhere Fehlerquote auf (Tabelle 35, Seite 115), was den oben dargestellten Effekt dieser Variante auf exekutive Funktionen untermauert. Die Variable PNE repräsentiert hierbei Einschränkungen der Aufmerksamkeit um Ablenkungen zu vermeiden (Wilkosc et al., 2010).

Signifikante Zusammenhänge zwischen rs2296972 und rs2770296 und den Ergebnissen im n-back waren nicht zu beobachten. Ein nicht signifikanter Trend zeigte sich zwischen rs2770296 und der mittleren Reaktionszeit im 1-back-Modus, wobei Träger des T-Allels und der T/T-Genotypen eine tendenziell längere Reaktionszeit benötigten (Tabelle 35, Seite 115). Dieser statistische Trend scheint zunächst mit den positiven Assoziationen des reziproken Allels bzw. der von diesem abhängigen Genotypen mit Leistungen im WCST im Widerspruch zu stehen. Der WCST erfasst jedoch ein komplexeres Konglomerat von kognitiven Prozessen als der n-back, von denen Arbeitsgedächtnisfunktionen nur einen Teil darstellen (Smith und Jonides, 1999). Somit ist es denkbar, dass differierende Risikoallele Arbeitsgedächtnisleistungen und weitere exekutive Prozesse determinieren. Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass sich im 2-back-Modus keine Allel- oder Genotyp-

abhängigen Unterschieden in der mittleren Reaktionszeit ergaben. Dies wäre im Falle eines genetischen Effektes zu erwarten gewesen, da bei zunehmendem n-back-Load die Belastung des Arbeitsgedächtnisses und sowohl die Fehlerrate als auch die Reaktionszeit ansteigen (Braver et al., 1997; Carter et al., 1998; Callicott et al., 1999; Perlstein et al., 2003; Callicott et al., 2003a). Ferner zeigten sich keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Summe korrekter Tastendrücke zwischen den einzelnen Gruppen. Ein Rückschluss auf mögliche Auswirkungen des Markers ist basierend auf diesem statistischen Trend daher nicht möglich.

Im Literaturüberblick fanden sich nur eine geringe Zahl an Assoziationsuntersuchungen von DNA-Varianten im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen mit kognitiven Domänen. Lediglich sechs Arbeiten richten ihren Fokus auf Arbeitsgedächtnis- und Exekutivfunktionen: Ücok et al. (2007), Lane et al. (2008) und Wilkosc et al. (2010) setzten hierbei den WCST ein, Chen et al. (2001) den Stroop Test und einen Wortflüssigkeitstest, Reynolds et al. (2006) die antero- und retrograde Zahlspanne sowie Gong et al. (2011) eine Testbatterie zur Erfassung visuell-räumlicher Arbeitsgedächtnisleistungen.

Weitere Untersuchungen existieren von de Quervain et al. (2003), Papassotiropoulos et al. (2005) und Sigmund et al. (2008) zum episodischen Gedächtnis sowie von Alfimova et al. (2010) zum verbalen Kurzzeitgedächtnis.

Bei den untersuchten Polymorphismen handelt es sich um T102C (Chen et al., 2001; Ücok et al., 2007; Lane et al., 2008; Wilkosc et al., 2010; Alfimova et al., 2010; Gong et al., 2011), A-1438G (Reynolds et al., 2006; Alfimova et al., 2010), His452Tyr (de Quervain et al., 2003; Papassotiropoulos et al., 2005), rs4941573 (Gong et al., 2011), rs9526240 (Sigmund et al., 2008) und rs9534496 (Sigmund et al., 2008). Publizierte Untersuchungen zu den DNA-Varianten rs2296972 und rs2770296 in Zusammenhang mit kognitiven Domänen liegen nicht vor.

Neben der vorliegenden Arbeit detektierten 2 weitere Studien positive Assoziationen im Gen mit Testvariablen im WCST, Ücok et al. (2007) in einem türkischen und Lane et al. (2008) in einem chinesischen Kollektiv.

Die türkische Stichprobe von Ücok et al. (2007) setzte sich aus 82 in Remission befindlichen Patienten mit Schizophrenie zusammen, 47 Männern und 35 Frauen. Die Diagnose wurde mit Hilfe des SKID-I nach DSM-IV-Kriterien gesichert. Die Altersverteilung

belief sich auf 18 bis 45 Jahre mit einem mittleren Alter von 27,9 Jahren ($SD = 6,9$). Die mittlere Krankheitsdauer betrug 6,7 Jahre ($SD = 4,7$), die mittlere Dauer der Edukation 11,9 Jahre ($SD = 2,1$). Alle Patienten standen unter antipsychotischer Behandlung, wobei die mittlere Neuroleptika-Dosis 335mg ($SD = 124,3$ mg) in Chlorpromazinäquivalenten betrug. Eingangsvoraussetzung waren ferner das Fehlen von neurologischen Erkrankungen und Schädel-Hirn-Traumata in der Anamnese. Zur Erfassung exekutiver Funktionen wurde wie in der vorliegenden Arbeit die Computerversion des WCST nach dem Testprotokoll von Heaton eingesetzt. Im Rahmen der statistischen Auswertung wurden die Variablen Alter und Edukation ebenfalls wie in der vorliegenden Arbeit als Covariate in die Varianzanalyse aufgenommen. Eine signifikante Assoziation von T102C zeigte sich bei Ücok et al. (2007) mit der Anzahl korrekter Antworten im WCST. Träger des C/T-Genotyps erzielten in dieser Testvariable eine schlechtere Leistung als Träger der homozygoten Genotypen ($F = 3,42$; $p = 0,03$). Ein Effekt des Genotyps oder der Allele, insbesondere des in verschiedenen Studien mit Schizophrenie assoziierten C-Allels, auf die Variablen NCC oder PPE konnte nicht beobachtet werden.

Diese Resultate befinden sich bedingt im Einklang mit denjenigen der vorliegenden Arbeit. In beiden Fällen wurde zwar eine Assoziation der untersuchten Marker auf einzelne Testvariablen im WCST festgestellt, diese unterscheiden sich jedoch. Die Anzahl korrekter Antworten wurde in die Analyse von rs2296972 und rs2770296 nicht mitaufgenommen. Im Gegensatz zur Untersuchung von T102C bei Ücok et al. (2007) ergaben sich bei rs2770296 eine signifikante Assoziation des C-Allels und der C-Alell-abhängigen Genotypen mit PPE und bei rs2296972 des G/G-Genotyps mit NCC.

Beide Untersuchungen unterscheiden sich allerdings auch in wesentlichen Punkten in ihrem Aufbau. Zunächst besteht die türkische Stichprobe ausschließlich aus Patienten. Der Patientenanteil im deutschen Kollektiv beträgt 29,5% bei der Analyse von rs2296972 und 29,6% bei rs2770296. Auch ist das deutsche Kollektiv mit 438 bzw. 425 Studienteilnehmern um ein Vielfaches größer. Somit ist es denkbar, dass einerseits aufgrund einer zu geringen Stichprobengröße im türkischen Kollektiv keine Effekte von T102C auf die Variablen PPE und NCC festzustellen waren und andererseits bei differierender Ethnizität genetische Stratifikationseffekte zum Tragen kamen. Auch ist es nicht ausgeschlossen, dass die verschiedenen DNA-Varianten unterschiedliche Subprozesse exekutiver Funktionen modulieren, die durch die variierenden Testvariablen erfasst werden. Unberücksichtigt blieb in der türkischen Untersuchung ein möglicher

Effekt der Medikation auf die Testleistung, denkbar durch differenzierende erwünschte und unerwünschte Arzneimittelwirkungen zwischen den einzelnen Gruppen. 76,1% der Patienten erhielten Atypika, 15,8% Typika und 7,9% eine Kombination aus beiden Neuroleptika-Klassen, 16% darüber hinaus Biperiden als Anticholinergikum, das gegen extrapyramidal-motorische Nebenwirkungen eingesetzt wird. Verwandt wurden Olanzapin (mittlere Dosis 13,4 mg), Clozapin (mittlere Dosis 355 mg), Risperidon (mittlere Dosis 4,7 mg), Quetiapin (mittlere Dosis 600 mg) und Amisulprid (mittlere Dosis 600 mg), die unterschiedliche Rezeptorprofile und eine variierende Potenz hinsichtlich Positiv- und Negativsymptomen aufweisen und auch präfrontale kognitive Funktionen beeinflussen können (Meltzer und McGurk, 1999). So ist es denkbar, dass beispielsweise die Träger eines Genotyps oder Allels überproportional häufig Clozapin erhielten und hierdurch Effekte der DNA-Variante überdeckt wurden. Da der Anteil der Patienten in der deutschen Untersuchung unter 30% lag, ist davon auszugehen, dass in dieser Stichprobe pharmakologische Faktoren weniger von Bedeutung sind.

Im Gegensatz zur türkischen Untersuchung wurde in der chinesischen Stichprobe von Lane et al. (2008) ein signifikanter Effekt der T102C-Variante auf die Anzahl der perseverativen Fehler im WCST, konsistent mit der positiven Assoziation von rs2770296, beobachtet. T/C-Träger generierten hierbei eine signifikant höhere Fehlerquote als T/T und C/C-Träger ($p = 0,04$). In Bezug auf die Anzahl der korrekt abgeschlossenen Kategorien zeigte sich kein Zusammenhang.

Es wurde allerdings hierbei nicht die Computer-, sondern die manuelle Kartenversion eingesetzt, so dass es möglicherweise ein höheres Risiko für Fehler in der Testdurchführung und -auswertung zu berücksichtigen gilt, was variierende Ergebnisse zu den Computeranalysen erklären könnte. Das chinesische Kollektiv setzte sich zusammen aus 216 gesunden Individuen zwischen 20 und 65 Jahren, darunter 81 Männer und 135 Frauen, und war damit annähernd halb so groß wie das vorliegende deutsche und knapp dreimal so groß wie das türkische. Die mittlere Ausbildungsdauer betrug 10,9 Jahre ($SD = 3,7$), das mittlere Alter 48,6 Jahre ($SD = 9,4$), vergleichbar mit dem mittleren Alter von 48,11 Jahren ($SD = 14,9$) der Subgruppe gesunder Individuen in der deutschen Stichprobe. Die Patientengruppe von letzterer wies ein mittleres Alter von 39,02 Jahren ($SD = 10,3$) auf und war somit jünger. Der Bildungsgrad war zwischen den verschiedenen Untersuchungen nur indirekt zu vergleichen, da in der vorliegenden Arbeit nicht die Anzahl der Ausbildungsjahre erfasst, sondern eine graduelle Einteilung in Abhängigkeit des

höchsten erreichten Schulabschluss vorgenommen wurde. 24,6% aller Studienteilnehmer wiesen hierbei einen niedrigen, 37,9% einen mittleren und 37,5% einen hohen Bildungsgrad auf. Die demographischen Parameter Alter, Geschlecht und Bildungsgrad wurden jedoch in allen Studien in der statistischen Auswertung berücksichtigt, so dass eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse unabhängig von diesen Variablen gegeben ist.

In der Studie von Wilkosc et al. (2010) konnten die positiven Assoziationsbefunde im T102C-Polymorphismus mit Variablen des WCST nicht repliziert werden, jedoch zeigte sich ein Effekt des Markers ins/del im Serotonin-Transporter-Gen, was den Zusammenhang zwischen Exekutivfunktionen und dem serotonergen System unterstützt. Homozygote I/I-Träger benötigten im Vergleich zu den Genotypen s/s und s/I signifikant mehr Versuche um die erste Testkategorie erfolgreich abzuschließen ($p < 0,05$) und unter Frauen war der s/s-Genotyp mit einer höheren nonperseverativen Fehlerquote assoziiert ($p < 0,05$). Der WCST wurde in der Computerversion von Heaton absolviert. Diese polnische Stichprobe war mit 200 gesunden Individuen, jeweils 100 Frauen und Männern, von 18 bis 60 Jahren und einem mittleren Alter von 34,4 Jahren ($SD = 11,7$) in etwa so groß wie diejenige von Lane et al. (2008) und halb so groß wie das deutsche Kollektiv, was möglicherweise die differierenden Ergebnisse mitbedingt. Aufgrund der geographischen Nähe von Polen zu Deutschland ist die ethnische Zusammensetzung der Stichprobe mit derjenigen der vorliegenden Arbeit vergleichbar und somit als entsprechendes Erklärungsmodell zu vernachlässigen.

Im chinesischen Kollektiv von Chen et al. (2001) wurde der Stroop-Test zur Untersuchung Genotyp- und Allel-abhängiger Effekte des T102C-Polymorphismus auf kognitive Funktionen eingesetzt. Ein signifikanter Zusammenhang konnte in der Stichprobe aus 471 Patienten und 523 Kontrollen jedoch nicht festgestellt werden, was wiederum in der zur vorliegenden Untersuchung differierenden Ethnizität, aber auch durch Anwendung eines sich vom WCST unterscheidenden Testverfahrens begründet sein kann. Beim Stroop-Test handelt es sich um einen Farb-Wort-Interferenz-Test, der selektive Aufmerksamkeit und Interferenzprozesse abbildet. Er erlaubt die Beurteilung der Grundgeschwindigkeit von Informationsprozessen im optisch-verbalen Bereich (Hilger und Kasper, 2002) und wird als Messinstrument der Inhibitionskontrolle angesehen (Gallagher et al., 2003). Nach Smith und Jonides (1999) stellt die Fokussierung der Aufmerksamkeit auf handlungsrelevante Informationen und Prozesse sowie die Hemmung irrelevanter Informationen und Prozesse

zwar eine Komponente exekutiver Funktionen dar, diese unterscheidet sich jedoch von den primär im WCST erfassten kognitiven Strategien wie flexibles, planendes und organisiertes Denken zur Entwicklung und Aufrechterhaltung von Problemlösestrategien (Wolf et al., 2002; Grewe et al., 2002; Heaton et al., 2003). Im neben dem Stroop Test angewandten semantischen Wortflüssigkeitstest zeigte sich ein nicht signifikanter Trend mit einer tendenziell besseren Leistung der Träger des Genotyps C/T. C/T-Träger benannten im Mittel eine höhere Zahl korrekter Items ($F = 5,381$; $p = 0,005$), wogegen in den Untersuchungen von Ücok et al. (2007) und Lane et al. (2008) die Gruppe der heterozygoten inferiore Ergebnisse, eine geringere Anzahl korrekter Zuordnungen respektive eine höhere perseverative Fehlerquote, im WCST erzielte. Die komplexen exekutiven Kernprozesse wie Konzeptbildung oder Planungsfähigkeit werden durch diesen einfachen Wortflüssigkeitstest jedoch ebenfalls nicht erfasst.

Referenzstudien zur vorliegenden Arbeit, die einen Zusammenhang zwischen DNA-Varianten im 5-HT_{2A}-Rezeptorgen und Arbeitsgedächtnisleistungen in einem klassischen n-back-Paradigma untersuchen, liegen nicht vor. Ein Vergleich ist jedoch mit der Arbeit von Gong et al. (2011) möglich, die neben dem T102C-Polymorphismus im Gen eine Analyse von rs4941573 in Bezug auf visuell-räumliche Arbeitsgedächtnisleistungen vornahmen. Die Stichprobe von Gong et al. (2011) setzte sich aus 642 gesunden Han-Chinesen zusammen, 295 Frauen und 347 Männer, die alle Studenten der Northwest University of China mit einer durchschnittlichen Schulausbildungsdauer von 12,5 Jahren waren. Der Altersdurchschnitt betrug 22 Jahre. Alle Probanden absolvierten eine neuropsychologische Testbatterie, die in einer Computerversion erhoben wurde und einen visuell-räumlichen Arbeitsgedächtnistest sowie einen Test räumlich-kognitiver Fähigkeiten beinhaltete. Im Arbeitsgedächtnistest bestand die Aufgabe darin, die Position eines Punktes in einer 9-Felder-Tafel rückwirkend korrekt zu bestimmen. Der Punkt erschien dabei fortlaufend und zufällig in einem der 9 möglichen Felder. Parallel zum Erscheinen des Punktes wurde eine Rechenaufgabe eingeblendet und im Testverlauf dem Probanden die Antwort mitgeteilt. Mit der Antwort musste der Proband die Position des Punktes im Schachbrett zum Zeitpunkt der passenden Fragestellung bestimmen. Die überprüfte Arbeitsgedächtnisspanne variierte hierbei von 2 bis 7 Positionen. Im Test räumlich-kognitiver Fähigkeiten wurden die Zielvariablen "*localization*", "*mental-rotation-3D*", "*touching blocks*" und "*Gestalt picture*" evaluiert, dabei musste nach kurzer Präsentation eines Stimulus in einem Rechteck, dessen Position auf einem Antwortbogen markiert

("*localization*") oder die Position von zwei dreidimensional dargestellten Graphen zueinander bestimmt werden ("*mental rotation-3D*"). Nach Korrektur für multiples Testen ergab sich eine positive Assoziation in der männlichen Subgruppe zwischen T102C und der Fehlerrate in den Variablen "*touching blocks*" ($\chi^2 = 9,59$; $p = 0,008$) und "*mental rotation-3D*" ($\chi^2 = 9,53$; $p = 0,009$). Individuen mit dem Genotyp T/T wiesen jeweils eine geringere Fehlerquote auf als C/C-Träger. Rs4941573 war ebenfalls assoziiert mit der Fehlerrate bei "*mental-rotation-3D*" unter Männern ($\chi^2 = 16,63$; $p = 0,0003$) und der Reaktionszeit im Arbeitsgedächtnistest beim gesamten Kollektiv ($\chi^2 = 9,56$; $p = 0,008$). Der A/A-Genotyp dieses SNPs ging einher mit einer besseren Leistung im Arbeitsgedächtnistest und einer schlechteren bei "*mental-rotation-3D*" im Vergleich zum G/G-Genotyp. Im Gegensatz zum Ergebnis der vorliegenden Analyse der Polymorphismen rs2296972 und rs2770296 konnten somit Gong et al. (2011) einen signifikanten Effekt eines Markers im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen auf einen Arbeitsgedächtnistest detektieren, wobei es sich bei rs4941573 ebenso wie bei rs2296972 und rs2770296 um eine Variante handelt, die in einem Intron des Gens lokalisiert ist und die Assoziation möglicherweise durch einen weiteren funktionellen SNP, der mit rs4941573 gekoppelt ist, hervorgerufen wird. Die direkte Vergleichsmöglichkeit der beiden Studien wird jedoch neben der Auswahl der Marker, differierenden Ethnizität und Zusammensetzung der Stichprobe durch Abweichungen in der Testausführung eingeschränkt. Bei Gong et al. (2011) wies der eingesetzte Arbeitsgedächtnistest die zusätzliche Komponente des Erkennens eines mathematischen Prinzips und eine höhere kognitive Belastung durch den erforderlichen Einsatz einer höheren Arbeitsgedächtnisspanne auf. Letztere betrug in der chinesischen Untersuchung bis zu 7 Positionen im Vergleich zu einem Load von 2 beim vorliegenden n-back-Test. Es ist denkbar, dass in der vorliegenden Studie bei einer Steigerung der Belastung über einen Load von 2 hinaus allel- oder genotypabhängige Effekte der Polymorphismen auf die Ergebnisse zu verzeichnen gewesen wären.

Im Rahmen der schwedischen Untersuchung von Reynolds et al. (2006) wurden 498 gesunde Individuen, darunter 94 monozygote und 105 dizygote Zwillingspaare, für die ein vollständiger demographischer Datensatz und für jedes Zwillingsgeschwister Testergebnisse vorlagen, in Bezug auf A-1438G und einem Test der Zahlenspanne evaluiert. Insbesondere durch die retrograde Rekapitulation einer Zahlenreihe werden nach Hester et al. (2004) auch Arbeitsgedächtnisfunktionen beansprucht. Es zeigten sich

jedoch wie in der vorliegenden Analyse von rs2296972 und rs2770296 keine signifikanten allel- oder genotypabhängigen Auswirkungen. Zu bemerken ist hierbei, dass im Vergleich zum vorliegenden Fall-Kontroll-Assoziationsansatz bei der Analyse von Zwillingspaaren auf die Resultate einwirkende genetische Stratifikationseffekte minimiert werden bzw. unmittelbar berücksichtigt werden können.

Die von de Quervain et al. (2003), Papassotiropoulos et al. (2005) und Sigmund et al. (2008) durchgeführten Assoziationsuntersuchungen von Markern im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen überprüfen zwar nicht die komplexe Funktion des Arbeitsgedächtnisses sondern Zusammenhänge mit Leistungen des episodischen Gedächtnisses, dieses stellt jedoch in der Modellvorstellung von Baddeley eine Komponente der Arbeitsgedächtnisfunktion dar. Zwischen dem episodischen Langzeitgedächtnis und weiteren Subsystemen zur aktiven Informationsspeicherung nimmt Baddeley einen bidirektionalen Informationsfluss an, wobei die Informationen gesteuert durch die zentrale Exekutive im sogenannten episodischen Puffer gebündelt werden (Baddeley, 2001). Es ist daher vorstellbar, dass genetische Einflüsse auf das episodische Gedächtnis auch Auswirkungen auf die funktionelle Integrität des Arbeitsgedächtnisses haben.

In der schweizerischen Untersuchung von de Quervain et al. (2003) war die Leistung beim Abruf einer semantischen Wortliste sowohl 5 Minuten als auch 24 Stunden nach Memorisierung assoziiert mit dem His452Tyr-Polymorphismus im 5-HT_{2A}-Gen ($F = 9,3$; $df = 1$; $p = 0,02$). Heterozygote His/Tyr-Träger erzielten sowohl in einer Subgruppe aus 230 Akademikern ($F = 4,9$; $df = 1$; $p = 0,03$), als auch in der Subgruppe aus 119 Nicht-Akademikern ($F = 9,3$; $df = 1$; $p = 0,03$) im Abruf nach 5 Minuten signifikant schlechtere Resultate, gleiches galt für den Abruf nach 24 Stunden ($F = 8,0$; $df = 1$; $p = 0,005$). In einem analogen Versuchsaufbau detektierten Sigmund et al. (2008) für die beiden von His452Tyr-unabhängigen, jedoch untereinander gekoppelten SNPs rs9534496 und rs9526240 einen entsprechenden signifikanten Effekt. Papassotiropoulos et al. (2005) beobachteten, dass die Auswirkung der His452Tyr-Variante auf das episodische Gedächtnis altersabhängig ist und sich vor allem innerhalb jüngerer Altersgruppen darstellt. In diesen drei Studien konnten somit Auswirkungen der Polymorphismen His452Tyr sowie rs9534496 und rs9526240 im 5-HT_{2A}-Rezeptorgen auf das episodische Gedächtnis nachgewiesen werden, das eine funktionelle Komponente des Arbeitsgedächtnisses darstellt.

Nachdem in der vorliegenden und weiteren Untersuchungen genetische Effekte von DNA-Varianten im 5-HT_{2A}-Rezeptorgen-Gen auf exekutive Prozesse und Arbeitsgedächtnisleistungen beobachtet werden konnten, stellt sich die Frage in welcher Form diese Varianten die Funktion des Rezeptors modulieren und über welche Verknüpfungen der neuronalen Signalkette diese Effekte vermittelt werden. Funktionelle Auswirkungen der Polymorphismen im Gen wurden bereits in Kapitel 6.1 dargestellt und beinhalteten Einflüsse der T102C-Variante auf die mRNA-Expression in temporalen Strukturen (Polesskaya und Sokolov, 2009), auf die 5-HT_{2A}-Rezeptor-Dichte im präfrontalen Kortex (Kouzmenko et al., 1997; Turecki et al., 1999) sowie auf epigenetische Mechanismen. So scheint die vom C-Allel-abhängige Methylierung von CpG-Dinukleotiden in direktem Zusammenhang mit der Expression des DNA-Methylase-Gens und dem Ausmaß der Rezeptor-mRNA-Expression zu stehen (Polesskaya et al., 2006). Für den Polymorphismus A-1438G konnte darüber hinaus eine Auswirkung auf die Promotoraktivität (Parsons et al., 2004) sowie für den Polymorphismus His452Tyr auf die Kalziummobilisation und damit unmittelbar auf die Signaltransduktion (Ozaki et al., 1997) nachgewiesen werden. Auf Ebene der Neurotransmitter-Signalwege spricht in Bezug auf die Modulation der präfrontalen Kognition die Befundlage für ein komplexes Zusammenspiel des serotonergen und dopaminergen Systems, wobei beiden Systemen möglicherweise gegensätzliche Rollen zukommen. Diese These basiert auf der Beobachtung, dass eine Aktivierung der serotonergen Neurotransmission durch Fenfluramin in einer Beeinträchtigung der Arbeitsgedächtnisleistung resultiert, wohingegen die agonistische Wirkung von Bromocriptin im dopaminergen System eine verbesserte Arbeitsgedächtnisfunktion bedingt (Luciana et al., 1998). Dopamin scheint eine kritische Rolle bei der Modulation von präfrontalen Kreisläufen während der Aktivität des Arbeitsgedächtnisses zu spielen (Egan et al., 2001). Serotonin wird dabei ein inhibitorischer Effekt auf die dopaminerige Neurotransmission zugeschrieben, der u.a. über 5-HT_{2A}-Rezeptoren vermittelt wird (Meltzer und Deutch, 1999).

Trotz Berücksichtigung des variierenden Studiendesigns und der in Stichprobengröße, Ethnizität und Gesundheitszustand zum Teil differierenden Kollektive der einzelnen Untersuchungen kann festgehalten werden, dass Einzelnukleotidpolymorphismen im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen mit Leistungen in Tests der Exekutivfunktionen und des Arbeitsgedächtnisses assoziiert sind und somit möglicherweise einen Effekt auf diese kognitiven Prozesse ausüben. Dies konnte in der vorliegenden Arbeit und in den Studien

von Ücok et al. (2007) und Lane et al. (2008) in Bezug auf exekutive Funktionen sowie in der Studie von Gong et al. (2011) in Bezug auf das Arbeitsgedächtnis gezeigt werden. Problematisch ist hierbei sicherlich die Abgrenzung der abhängigen Variable, also des untersuchten Phänotyps, denn sowohl Exekutivfunktionen als auch Arbeitsgedächtnisleistungen basieren auf komplexen kognitiven Prozessen, die sich partiell überschneiden und aus zahlreichen Komponenten bestehen. Inkonsistente Ergebnisse sind daher mutmaßlich auch unterschiedlichen Genwirkungen auf diese kognitiven Subprozesse anzulasten, wobei diese Genwirkungen wiederum in verschiedenen Populationen ungleich zu Tragen kommen. Auch bilden die zur Detektion von Risikovarianten zur Verfügung stehenden neuropsychologischen Messinstrumente jeweils nur einzelne Aspekte dieser kognitiven Domänen ab und schränken somit die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ein. Die bestehenden positiven Assoziationsbefunde indes stützen aufgrund der enormen Bedeutung von Beeinträchtigungen der präfrontalen Kognition bei an Schizophrenie erkrankten Menschen die dem 5-HT_{2A}-Rezeptorgen-Gen zugeschriebene Rolle in der Ätiopathogenese der Erkrankung.

6.3 Ausblick auf weitere Untersuchungen

Auf der Suche nach genetischen Risikofaktoren der Schizophrenie wurden und werden verschiedene molekularbiologische Strategien verfolgt. Sowohl im Rahmen von Kopplungsstudien, als auch im Rahmen von Fall-Kontroll-Assoziationsuntersuchungen, die in jüngerer Vergangenheit aufgrund neuerer technischer Entwicklungen ein genomweites Screening ermöglichen, konnten bis heute keine eindeutigen und konsistent replizierten positiven Befunde ausgewiesen werden, was auch für Polymorphismen im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen gilt. Hierbei reiht sich die vorliegende Arbeit ein, bei der in einem deutschen Kollektiv keine Assoziation zwischen den Varianten rs2296972 und rs2770296 und der Diagnose Schizophrenie festgestellt wurde.

Der genetische Beitrag zur Vulnerabilität für die Erkrankung ist unbestritten hoch. Die durch Risikogene bedingten funktionellen Auswirkungen und pathophysiologischen Zusammenhänge sind jedoch weitestgehend unbekannt. Ziel der molekularbiologischen Forschung muss es sein, diese Zusammenhänge zu erhellen, um die Grundlage für kausale Therapieoptionen, die derzeit nicht zur Verfügung stehen, zu schaffen.

Der erste Schritt besteht in der Identifizierung von Risikogenen. Die Schwierigkeiten, die dabei auftreten, werden vor allem der genetischen Heterogenität der Erkrankung angelastet. Ein Ansatz dieser zu begegnen stellt die Substitution des Krankheitsphänotyps durch genetisch weniger komplex determinierte Endophänotypen in Assoziationsuntersuchungen dar. Risikovarianten, die derartige biologische Korrelate der Erkrankung modulieren, sollten sich schließlich als Risikovarianten des Krankheitsphänotyps und gleichzeitig als Marker der Vulnerabilität erweisen.

Untersuchungen, die diesen Ansatz verfolgen, sind bisher nur in geringer Zahl publiziert worden. Die vorliegende Studie konnte in dieser Hinsicht eine Assoziation zwischen zwei Varianten im HT_{2A}-Rezeptor-Gen und Aspekten der exekutiven Funktion feststellen. Um diesen Zusammenhang zu erhärten, ist jedoch die Replikation erforderlich, idealerweise zum Ausschluss falsch-positiver Befunde in einer in Bezug auf die ethnische Zusammensetzung vergleichbaren Stichprobe. Darüber hinaus ist es wünschenswert, Polymorphismen im HT_{2A}-Rezeptor-Gen, für die positive Assoziationsbefunde mit Schizophrenie vorliegen, sowie weitere Suszeptibilitätsgene auf Zusammenhänge mit exekutiven Funktionen sowie Arbeitsgedächtnisleistungen zu überprüfen. Um diesen Ansatz konsequent fortzuführen, ist ferner die allel- und genotypabhängige Analyse weiterer neurokognitiver und neurophysiologischer Endophänotypen erforderlich.

Im Falle einer eindeutigen Identifikation von Risikogenen kommt der Untersuchung ihrer funktionellen Auswirkungen große Bedeutung zu. Für das HT_{2A}-Rezeptor-Gen liegen hierbei zwar einzelne Befunde vor, diese lassen jedoch zum momentanen Zeitpunkt den Schluss einer Kausalkette bei weitem nicht zu. Insbesondere die Einflüsse von DNA-Varianten im Gen auf epigenetische Mechanismen und die Signaltransduktion stellen möglicherweise kausale Faktoren dar und sollten daher in weiteren Studien detaillierter analysiert werden.

Die Kenntnis der Risikovarianten, ihrer funktionellen Konsequenzen und pathophysiologischen Verknüpfungen würde es ermöglichen, Individuen mit hohem Erkrankungsrisiko zu erkennen und Interventionsstrategien zu entwickeln. Dabei scheint insbesondere eine an individuelle Risikovarianten angepasste und somit im Vergleich zu den heute zur Verfügung stehenden Möglichkeiten spezifischere Pharmakotherapie vielversprechend.

7 Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Erläuterung
A	Adenin
Abb.	Abbildung
ACSM1	Acyl-CoA synthetase medium-chain family member 1
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
AKT1	V-AKT murine thymoma viral oncogene homolog 1
ANK3	Ankyrin 3
ARVCF	Armadillo repeat gene deleted in velocardiofacial syndrome
Asn	Asparagin
ATP	Adenosintriphosphat
bp	Basenpaar
BPRS	Brief psychiatric rating scale
C	Cytosin
Ca ²⁺	Kalzium-Ion
CCDC60	Coiled-coil domain containing 60
CDRT	Continuous delayed response task
CDSS	Calgary depression scale for schizophrenia
CEACAM21	Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 21
CHRNA7	Cholinergic receptor, nicotinic, alpha 7
cM	Centimorgan
CMT	Continuous matching task
COMT	Catechol-O-methyltransferase
CpG	Cytosin-Phosphat-Guanin-Dinukleotid
CSF2RA	Colony stimulating factor 2 receptor, alpha, low-affinity (granulocyte-macrophage)
d	Tag
DAAO	D-amino acid oxidase
DAG	Diacylglycerin
DAOA	D-amino acid oxidase activator
DISC1	Disrupted in schizophrenia 1
DLPFC	Dorsolateraler präfrontaler Kortex
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DNMT1	DNA(cytosine-5-)-methyltransferase 1
dNTP	Desoxynukleotidtriphosphat
DOCK4	Dedicator of cytokinesis 4
DRD2	Dopamin receptor 2
DRD3	Dopamin receptor 3
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders IV
DTNBP1	Dystrobrevin binding protein 1

D1S2833	Marker im Ribosomal protein S24 pseudogene 4
EDTA	Ethyldiamintetraacetat
EEG	Elektroenzephalografie
Fa.	Firma
Fig.	Figure/Abbildung
fMRT	Funktionelle Magnetresonanztomographie
FXR1	Fragile X mental retardation, autosomal homolog 1
G	Guanin
GABA	γ -Aminobuttersäure
GAS	Global Assessment Scale
gDNA	Genomische Desoxyribonukleinsäure
GDP	Guanosindiphosphat
GMS	Glycine modulatory side
GTP	Guanosintriphosphat
GWAS	Genomweite Assoziationsstudien
HAWIE-R	Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, revidierte Version
HCl	Hydrogenchlorid
His	Histidin
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
HLA	Humanes Leukozyten-Antigen
HT	Hydroxytryptamin
HTR2A	Serotonin receptor 2A
ICD-10	International Statistical Classification of Diseases, Version 10
InsP ₃	Inositol-(1,4,5)-trisphosphat
ISC	International Schizophrenia Consortium
LSD	Lysergsäurediethylamid
MALDI-TOF MS	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight Massenspektrometer
MANOVA	Multivariate Analyse der Varianz
Met	Methionin
mg	Milligramm
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
MGS	Molecular Genetics of Schizophrenia Consortium
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimol pro Liter
mRNA	messenger-Ribonukleinsäure
MRZ	Mittlere Reaktionszeit
MSRA	Methionine sulfoxide reductase A
n	Anzahl
NCC	Number of categories completed

ng	Nanogramm
NIMH	National Institute of Mental Health
nm	Nanometer
nM	Nanomol pro Liter
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
No.	Nummer
NRG1	Neuregulin 1
NRGN	Neurogranin
PANSS	Positive and negative syndrome scale
PCR	Polymerasekettenreaktion
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
pH	Negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration
PI	Phosphatyldinositol
PIP ₂	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat
PLAA	Phospholipase A2-activating protein
PLC	Phospholipase C
PNE	Percent nonperseverative errors
PPE	Percent perseverative errors
PPP3CC	Protein phosphatase 3, catalytic subunit, gamma isozyme
PRODH	Prolin dehydrogenase 1
PTBP2	Polypyrimidine tract binding protein 2
RELN	Reelin
Rez.	Rezeptor
RGS4	Regulator of G-protein signaling 4
RNA	Ribonukleinsäure
rpm	Umdrehungen pro Minute
s	Sekunde
SANS	Scale for assessment of negative symptoms
SAP	Shrimp Alkaline Phosphatase
SERT	Serotonintransporter
SKID I	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV, Achse I Störungen
SKID II	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV, Achse II Störungen
SKT	Summe korrekter Tastendrücke
SNP	Einzelnukleotidpolymorphismus
STX7	Syntaxin 7
T	Thymin
TAAR6	Trace amine associated receptor 6
Tab.	Tabelle
TCF4	Transkriptionsfaktor 4
TE	Tris-EDTA-Puffer
Thr	Threonin

TRIS	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
Tyr	Tyrosin
U	Unit
Val	Valin
WCST	Wisconsin Card Sorting Test
WHO	Weltgesundheitsorganisation
ZNF804A	Zinc finger protein 804A
ZNS	Zentrales Nervensystem
μl	Mikroliter
μs	Mikrosekunde
5-HT	5-Hydroxytryptamin
$^{\circ}\text{C}$	Grad Celsius

8 Literaturverzeichnis

- Abbruzzese, M., Ferri, S., Scarone, S. (1996) Performance on the Wisconsin Card Sorting Test in schizophrenia: perseveration in clinical subtypes. *Psychiatry Res*, 64(1), 27-33.
- Abdolmaleky, H.M., Faraone, S.V., Glatt, S.J., Tsuang, M.T. (2004) Meta-analysis of association between the T102C polymorphism of the 5HT2a receptor gene and schizophrenia. *Schizophr Res*, 67(1), 53-62.
- Abi-Dargham, A., Laruelle, M., Aghajanian, G.K., Charney, D., Krystal, J. (1997) The role of serotonin in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 9(1), 1-17.
- Aghajanian, G.K. und Marek, G.J. (1999) Serotonin and hallucinogens. *Neuropsychopharmacology*, 21(2 Suppl), 16s-23s.
- Aghajanian, G.K. und Marek, G.J. (2000) Serotonin model of schizophrenia: emerging role of glutamate mechanisms. *Brain Res Brain Res Rev*, 31(2-3), 302-312.
- Alaerts, M. und Del-Favero, J. (2009) Searching genetic risk factors for schizophrenia and bipolar disorder: learn from the past and back to the future. *Hum Mutat*, 30(8), 1139-1152.
- Alfimova, M.V., Monakhov, M.V., Abramova, L.I., Golubev, S.A., Golimbet, V.E. (2010) Polymorphism of serotonin receptor genes (5-HTR2A) and Dysbindin (DTNBP1) and individual components of short-term verbal memory processes in Schizophrenia. *Neurosci Behav Physiol*, 40(8), 934-940.
- Alkelai, A., Lupoli, S., Greenbaum, L., Kohn, Y., Kanyas-Sarner, K., et al. (2011) DOCK4 and CEACAM21 as novel schizophrenia candidate genes in the Jewish population. *Int J Neuropsychopharmacol*, Jun 20, 1-11, (Epub ahead of print).

Alvarez, J.A. und Emory, E. (2006) Executive function and the frontal lobes: a meta-analytic review. *Neuropsychol Rev*, 16(1), 17-42.

An der Heiden, W. und Häfner, H. (2000) The epidemiology of onset and course of schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 250(6), 292-303.

Ando, J., Ono, Y., Wright, M.J. (2001) Genetic structure of spatial and verbal working memory. *Behav Genet*, 31(6), 615-624.

Andreasen, N.C. und Olsen, S. (1982) Negative v positive schizophrenia. Definition and validation. *Arch Gen Psychiatry*, 39(7), 789-794.

Arranz, M., Collier, D., Sodhi, M., Ball, D., Roberts, G., et al. (1995) Association between clozapine response and allelic variation in 5-HT_{2A} receptor gene. *Lancet*, 346(8970), 281-282.

Athanasiu, L., Mattingsdal, M., Kähler, A.K., Brown, A., Gustafsson, O., et al. (2010) Gene variants associated with schizophrenia in a Norwegian genome-wide study are replicated in a large European cohort. *J Psychiatr Res*, 44(12), 748-753.

Baddeley, A. (1992) Working memory. *Science*, 255(5044), 556-559.

Baddeley, A. (2000) The episodic buffer: a new component of working memory? *Trends Cogn Sci*, 4(11), 417-423.

Baddeley, A. (2003) Working memory: looking back and looking forward. *Nat Rev Neurosci*, 4(10), 829-839.

Baddeley, A.D. (2001) Is working memory still working? *Am Psychol*, 56(11), 849-864.

Badner, J.A. und Gershon, E.S. (2002) Meta-analysis of whole-genome linkage scans of bipolar disorder and schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 7(4), 405-411.

Barch, D.M., Carter, C.S., Braver, T.S., Sabb, F.W., MacDonald, A. 3rd, et al. (2001) Selective deficits in prefrontal cortex function in medication-naïve patients with schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 58(3), 280-288.

Barch, D.M., Sheline, Y.I., Csernansky, J.G., Snyder, A.Z. (2003) Working memory and prefrontal cortex dysfunction: specificity to schizophrenia compared with major depression. *Biol Psychiatry*, 53(5), 376-384.

Baritaki, S., Rizos, E., Zafiroopoulos, A., Soufla, G., Katsafouros, K., et al. (2004) Association between schizophrenia and DRD3 or HTR2 receptor gene variants. *Eur J Hum Genet*, 12(7), 535-541.

Barnes, N.M. und Sharp, T. (1999) A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology*, 38(8), 1083-1152.

Bearden, C.E. und Freimer, N.B. (2006) Endophenotypes for psychiatric disorders: ready for primetime? *Trends Genet*, 22(6), 306-313.

Berg, E.A. (1948) A simple objective technique for measuring flexibility in thinking. *J Gen Psychology*, 39, 15-22.

Bertola, V., Cordeiro, Q., Zung, S., Miracca, E.C., Vallada, H. (2007) Association analysis between the C516T polymorphism in the 5-HT2A receptor gene and schizophrenia. *Arg Neuropsiquiatr*, 65(1), 11-14.

Bilder, R.M., Goldman, R.S., Robinson, D., Reiter, G., Bell, L., et al. (2000) Neuropsychology of first-episode schizophrenia: initial characterization and clinical correlates. *Am J Psychiatry*, 157(4), 549-559.

Braff, D.L., Freedman, R., Schork, N.J., Gottesman, I.I. (2007) Deconstructing schizophrenia: an overview of the use of endophenotypes in order to understand a complex disorder. *Schizophr Bull*, 33(1), 21-32.

Braver, T.S., Cohen, J.D., Nystrom, L.E., Jonides, J., Smith, E.E., et al. (1997) A parametric study of prefrontal cortex involvement in human working memory. *Neuroimage*, 5(1), 49-62.

Bray, N.J., Buckland, P.R., Hall, H., Owen, M.J., O'Donovan, M.C. (2004) The serotonin-2A receptor gene locus does not contain common polymorphism affecting mRNA levels in adult brain. *Mol Psychiatry*, 9(1), 109-114.

Bromet, E.J., Naz, B., Fochtmann, L.J., Carlson, G.A., Tanenberg-Karant, M. (2005) Long-term diagnostic stability and outcome in recent first-episode cohort studies of schizophrenia. *Schizophr Bull*, 31(3), 639-649.

Bunzel, R., Blümcke, I., Cichon, S., Normann, S., Schramm, J., et al. (1998) Polymorphic imprinting of the serotonin-2A (5-HT_{2A}) receptor gene in human adult brain. *Brain Res Mol Brain Res*, 59(1), 90-92.

Burnet, P.W., Eastwood, S.L., Harrison, P.J. (1996) 5-HT1A and 5-HT2A receptor mRNAs and binding site densities are differentially altered in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 15(5), 442-455.

Callicott, J.H., Bertolino, A., Mattay, V.S., Langheim, F.J., Duyn, J., et al. (2000) Physiological dysfunction of the dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia revisited. *Cereb Cortex*, 10(11), 1078-1092.

Callicott, J.H., Egan, M.F., Mattay, V.S., Bertolino, A., Bone, A.D., et al. (2003a) Abnormal fMRI response of the dorsolateral prefrontal cortex in cognitively intact siblings of patients with schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 160(4), 709-719.

Callicott, J.H., Mattay, V.S., Bertolino, A., Finn, K., Coppola, R., et al. (1999) Physiological characteristics of capacity constraints in working memory as revealed by functional MRI. *Cereb Cortex*, 9(1), 20-26.

Callicott, J.H., Mattay, V.S., Verchinski, B.A., Marenco, S., Egan, M.F., et al. (2003b) Complexity of prefrontal cortical dysfunction in schizophrenia: more than up and down. *Am J Psychiatry*, 160(12), 2209-2215.

Cannon, T.D. (2005) The inheritance of intermediate phenotypes for schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry*, 18(2), 135-140.

Cannon, T.D., Hennah, W., van Erp, T.G., Thompson, P.M., Lonnqvist, J., et al. (2005) Association of DISC1/TRAX haplotypes with schizophrenia, reduced prefrontal gray matter, and impaired short- and long-term memory. *Arch Gen Psychiatry*, 62(11), 1205-1213.

Cannon, T.D., Huttunen, M.O., Lonnqvist, J., Tuulio-Henriksson, A., Pirkola, T., et al. (2000) The inheritance of neuropsychological dysfunction in twins discordant for schizophrenia. *Am J Hum Genet*, 67, 369-382.

Cardno, A.G. und Gottesman, I.I. (2000) Twin studies of schizophrenia: from bow-and-arrow concordances to star wars Mx and functional genomics. *Am J Med Genet*, 97(1), 12-17.

Carpenter, P.A., Just, M.A., Reichle, E.D. (2000) Working memory and executive function: evidence from neuroimaging. *Curr Opin Neurobiol*, 10(2), 195-199.

Carter, C., Robertson, L., Nordahl, T., Chaderjian, M., Kraft, L., et al. (1996) Spatial working memory deficits and their relationship to negative symptoms in unmedicated schizophrenia patients. *Biol Psychiatry*, 40(9), 930-932.

Carter, C.S., Perlstein, W., Ganguli, R., Brar, J., Mintun, M., et al. (1998) Functional hypofrontality and working memory dysfunction in schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 155(9), 1285-1287.

Chaudhry, I.B., Soni, S.D., Hellewell, J.S., Deakin, J.F. (2002) Effects of the 5HT antagonist cyproheptadine on neuropsychological function in chronic schizophrenia. *Schizophr Res*, 53(1-2), 17-24.

Chen, K., Yang, W., Grimsby, J., Shih, J.C. (1992) The human 5-HT₂ receptor is encoded by a multiple intron-exon gene. *Brain Res Mol Brain Res*, 14(1-2), 20-26.

Chen, R.Y., Sham, P., Chen, E.Y., Li, T., Cheung, E.F., et al. (2001) No association between T102C polymorphism of serotonin-2A receptor gene and clinical phenotypes of Chinese schizophrenic patients. *Psychiatry Res*, 105(3), 175-185.

Chen, X., Dunham, C., Kendler, S., Wang, X., O'Neill, F.A., et al. (2004) Regulator of G-protein signaling 4 (RGS4) gene is associated with schizophrenia in Irish high density families. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 129B(1), 23-26.

Chowdari, K.V., Mernics, K., Semwal, P., Wood, J., Lawrence, E., et al. (2002) Association and linkage analyses of RGS4 polymorphisms in schizophrenia. *Hum Mol Genet*, 11(12), 1373-1380.

Chumakov, I., Blumenfeld, M., Guerassimenko, O., Cavarec, L., Palicio, M., et al. (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.

Cichon, S., Freudenberg, J., Propping, P., Nöthen, M.M. (2002) Variabilität im menschlichen Genom. *Dtsch Arztebl*, 99(46), 3091-3101.

Cohen, J.D., Perlstein, W.M., Braver, T.S., Nystrom, L.E., Noll, D.C., et al. (1997) Temporal dynamics of brain activation during a working memory task. *Nature*, 386(6625), 604-608.

Colhoun, H.M., McKeigue, P.M., Davey Smith, G. (2003) Problems of reporting genetic associations with complex outcomes. *Lancet*, 361(9360), 865-872.

Conklin, H.M., Curtis, C.E., Calkins, M.E., Iacono, W.G. (2005) Working memory functioning in schizophrenia patients and their first-degree relatives: cognitive functioning shedding light on etiology. *Neuropsychologia*, 43(6), 930-942.

Coppola, R. (1999) Working Memory Test V1.06.1. Clinical Brain Disorder Branch, NIMH, Bethesda.

Coyle, J.T. (2006) Glutamate and schizophrenia: beyond the dopamine hypothesis. *Cell Mol Neurobiol*, 26(4-6), 363-382.

Crow, T.J. (2007) How and why genetic linkage has not solved the problem of psychosis: review and hypothesis. *Am J Psychiatry*, 164(1), 13-21.

Cuesta, M.J., Peralta, V., Caro, F., de Leon, J. (1995) Schizophrenic syndrome and Wisconsin Card Sorting Test dimensions. *Psychiatry Res*, 58(1), 45-51.

Dahlström, A. und Fuxe K. (1964) Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in cell bodies of brain stem neurons. *Acta Physiol Scand Suppl*, 232, 1-55.

Davis, K.L., Kahn, R.S., Ko, G., Davidson, M. (1991) Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *Am J Psychiatry*, 148(11), 1474-1486.

Dean, B. und Hayes, W. (1996) Decreased frontal cortical serotonin2A receptors in schizophrenia. *Schizophr Res*, 21(3), 133-139.

Dean, B., Hayes, W., Hill, C., Copolov, D. (1998) Decreased serotonin2A receptors in Brodmann's area 9 from schizophrenic subjects. A pathological or pharmacological phenomenon? *Mol Chem Neuropathol*, 34(2-3), 133-145.

De Quervain, D.J.-F., Henke, K., Aerni, A., Coluccia, D., Wollmer, M.A., et al. (2003) A functional genetic variation of the 5-HT2a receptor affects human memory. *Nat Neurosci*, 6(11), 1141-1142.

D'Esposito, M. und Postle, B.R. (2002) The organization of working memory function in lateral prefrontal cortex: evidence from event-related functional MRI. In Stuss, D.T., Knight, R.T. (eds.), *Principles of frontal lobe function*. Oxford University Press, Oxford.

Dieci, M., Vita, A., Silenzi, C., Caputo, A., Comazzi, M., et al. (1997) Non-selective impairment of Wisconsin Card Sorting Test performance in patients with schizophrenia. *Schizophr Res*, 25(1), 33-42.

Dinan, T.G. (1996) Serotonin and the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function. *Life Sci*, 58(20), 1683-1694.

Dollfus, S., Lombardo, C., Bénali, K., Halbecq, I., Abadie, P., et al. (2002) Executive/attentional cognitive functions in schizophrenic patients and their parents: a preliminary study. *Schizophr Res*, 53(1-2), 93-99.

Ebert, D. (2005) Die Schizophrenien. In *Psychiatrie systematisch*. 6. Auflage, UNI-MED, Bremen.

Egan, M.F., Goldberg, T.E., Kolachana, B.S., Callicott, J.H., Mazzanti, C.M., et al. (2001) Effect of COMT Val^{108/158} Met genotype on frontal lobe function and risk for schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98(12), 6917-6922.

Ellingrod, V.L., Lund, B.C., Perry, P.J., Bever-Stille, K., Fleming, F., et al. (2003) 5-HT_{2A} receptor promoter polymorphism, -1438G/A and negative symptom response to olanzapine in schizophrenia. *Psychopharmacol Bull*, 37(2), 109-112.

Elliott, R. (2003) Executive functions and their disorders. *Br Med Bull*, 65, 49-59.

Emamian, E.S., Hall, D., Birnbaum, M.J., Karayiorgou, M., Gogos, J.A. (2004) Convergent evidence for impaired AKT1-GSK3beta signaling in schizophrenia. *Nat Genet*, 36(2), 131-137.

Erdmann, J., Shimron-Abarbanell, D., Rietschel, M., Albus, M., Maier, W., et al. (1996) Systematic screening for mutations in the human serotonin-2A (5-HT_{2A}) receptor gene: identification of two naturally occurring receptor variants and association analysis in schizophrenia. *Hum Genet*, 97(5), 614-619.

Fanous, A.H., Neale, M.C., Straub, R.E., Webb, B.T., O'Neill, A.F., et al. (2004) Clinical features of psychotic disorders and polymorphisms in HT2A, DRD2, DRD4, SLC6A3 (DAT1), and BDNF: a family based association study. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 125B(1), 69-78.

Farde, L., Nyberg, S., Oxenstierna, G., Nakashima, Y., Halldin, C., et al. (1995) Positron emission tomography studies on D₂ and 5-HT₂ receptor binding in risperidone-treated schizophrenic patients. *J Clin Psychopharmacol*, 15(1 Suppl 1), 19s-23s.

Franke, P., Maier, W., Hain, C., Klingler, T. (1992) Wisconsin Card Sorting Test: an indicator of vulnerability to schizophrenia? *Schizophr Res*, 6(3), 243-249.

Frazer, A. und Hensler, J.G. (1999) Serotonin. In Siegel, G.J., Agranoff, B.W., Albers, R.W., Fisher, S.K., Uhler, M.D. (eds.), *Basic Neurochemistry, Molecular, Cellular and Medical Aspects*. 6th ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.

Freudenberg, J., Cichon, S., Nöthen, M.M., Propping, P. (2002) Blockstruktur des menschlichen Genoms. *Dtsch Arztebl*, 99(47), 3190-3195.

Funahashi, S. (2001) Neuronal mechanisms of executive control by the prefrontal cortex. *Neurosci Res*, 39(2), 147-165.

Fuster, J.M. (1989) The Prefrontal Cortex: Anatomy, Physiology and Neuropsychology of the Frontal Lobe. 2nd ed. Raven Press, New York.

Gabriel, S.B., Schaffner, S.F., Nguyen, H., Moore, J.M., Blumenstiel, R.J., et al. (2002) The structure of haplotype blocks in the human genome. *Science*, 296(5576), 2225-2229.

Gallagher, P., Massey, A.E., Young, A.H., McAllister-Williams, R.H. (2003) Effects of acute tryptophan depletion on executive function in healthy male volunteers. *BMC Psychiatry*, 3(10), Epub 2003 Aug 4.

Gasperoni, T.L., Ekelund, J., Huttunen, M., Palmer, C.G., Tuulio-Henriksson, A., et al. (2003) Genetic linkage and association between chromosome 1q and working memory function in schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 116B(1), 8-16.

Gazzaniga, M.S., Ivry, R.B., Mangun, G.R. (1998) Executive Functions and Frontal Lobes. In *Cognitive Neuroscience. The Biology Of The Mind*. W.W. Norton&Company, New York, London.

Goldberg, T.E., Egan, M.F., Gscheidle, T., Coppola, R., Weickert, T., et al. (2003) Executive subprocesses in working memory: relationship to catechol-O-methyltransferase Val158Met genotype and schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 60(9), 889-896.

Goldberg, T.E., Hyde, T.M., Kleinman, J.E., Weinberger, D.R. (1993) Course of schizophrenia: neuropsychological evidence for a static encephalopathy. *Schizophr Bull*, 19(4), 797-804.

Goldman-Rakic, P.S. (1987) Circuitry of primate prefrontal cortex and regulation of behavior by representational memory. In Plum, F., Mountcastle, V. (eds.), *Handbook of Physiology - The Nervous System, Vol.5*. American Physiological Society, Bethesda.

Goldman-Rakic, P.S. (1995) Architecture of the prefrontal cortex and the central executive. *Ann N Y Acad Sci*, 769, 71-83.

Goldman-Rakic, P.S. (1999) The physiological approach: functional architecture of working memory and disordered cognition in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 46(5), 650-661.

Goldman-Rakic, P.S. (2001) Working memory dysfunction in schizophrenia. In Salloway, S.P., Malloy, P.F., Duffy, J.D., (eds.), *The frontal lobes and neuropsychiatric illness*. American Psychiatric Publishing, Inc, Washington DC.

Golimbet, V.E., Lavrushina, O.M., Kaleda, V.G., Abramova, L.I., Lezheiko, T.V. (2007) Supportive evidence for the association between the T102C 5-HT2A gene polymorphism and schizophrenia: A large-scale case-control and family-based study. *Eur Psychiatry*, 22(3), 167-170.

Gong, P., Li, J., Wang, J., Lei, X., Chen, D., et al. (2011) Variations in 5-HT2A influence spatial cognitive abilities and working memory. *Can J Neurol Sci*, 38(2), 303-308.

Gottesman, I.I. und Erlenmeyer-Kimling, L. (2001) Family and twin strategies as a head start in defining prodromes and endophenotypes for hypothetical early-interventions in schizophrenia. *Schizophrenia Res*, 51(1), 93-102.

Gottesman, I.I. und Gould, T. D. (2003) The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *Am J Psychiatry*, 160(4), 636-645.

Grant, D.A. und Berg, E.A. (1948) A behavioral analysis of degree of reinforcement and ease of shifting to new responses in a Weigl-type card sorting problem. *J Exp Psychol*, 38(4), 404-411.

Gray, H. (1918) Anatomy of the human body. <http://www.bartleby.com/107/illus728.html>.

Green, M.F. (1996) What are the functional consequences of neurocognitive deficits in schizophrenia? *Am J Psychiatry*, 153(3), 321-330.

Green, M.F., Kern, R.S., Braff, D.L., Mintz, J. (2000) Neurocognitive deficits and functional outcome in schizophrenia: are we measuring the "right stuff"? *Schizophr Bull*, 26(1), 119-136.

Grewe, K.W., Love, J.M., Sherwin, E., Mathias, C.W., Ramzinski, P., et al. (2002) Wisconsin Card Sorting Test in chronic severe traumatic brain injury: factor structure and performance subgroups. *Brain Inj*, 16(1), 29-40.

Guest, P.C., Salim, K., Skynner, H.A., George, S.E., Bresnick, J.N., et al. (2000) Identification and characterization of a truncated variant of the 5-hydroxytryptamine(2A) receptor produced by alternative splicing. *Brain Res*, 876(1-2), 238-244.

Gur, R.E., Calkins, M.E., Gur, R.C., Horan, W.P., Nuechterlein, K.H., et al. (2007) The consortium on the genetics of schizophrenia: neurocognitive endophenotypes. *Schizophr Bull*, 33(1), 49-68.

Häfner, H. (2003) Gender differences in schizophrenia. *Psychoneuroendocrinology*, 28 (Suppl 2), 17-54.

Häfner, H., Maurer, K., Löffler, W., an der Heiden, W., Munk-Jørgensen, P., et al. (1998) The ABC schizophrenia study: a preliminary overview of the results. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*, 33(8), 380-386.

Harrison, P.J. (1999) The neuropathology of schizophrenia. A critical review of the data and their interpretation. *Brain*, 122(4), 593-624.

Hawi, Z., Myakishev, M.V., Straub, R.E., O'Neill, A., Kendler, K.S., et al. (1997) No association or linkage between the 5-HT_{2a}/T102C polymorphism and schizophrenia in Irish families. *Am J Med Genet*, 74(4), 370-373.

Heaton, R.K., Chelune, G.J., Talley J.L., Kay, G.G., Curtiss G. (1993) Wisconsin Card Sorting Test Manual: Revised and Expanded. Psychological Assessment Resources, Odessa FL.

Heaton, R.K., Gladsto, J.A., Palmer, B.W., Kuck, J., Marcotte, T.D., et al. (2001) Stability and course of neuropsychological deficits in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 58(1), 24-32.

Heaton, R.K., and PAR Staff, Goldin, J.N. (2003) Wisconsin Card Sorting Test: Computer Version 4 Research Edition (WCST:CV4) User's Manual. Psychological Assessment Resources, Odessa FL.

Heresco-Levy, U., Ermilov, M., Shimoni, J., Shapira, B., Silipo, G., et al. (2002) Placebo-controlled trial of D-cycloserine added to conventional neuroleptics, olanzapine, or risperidone in schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 159(3), 480-482.

Hernandez, I. und Sokolov, B.P. (2000) Abnormalities in 5-HT2A receptor mRNA expression in frontal cortex of chronic elderly schizophrenics with varying histories of neuroleptic treatment. *J Neurosci Res*, 59(2), 218-225.

Hester, R.L., Kinsella, G.J., Ong, B. (2004) Effect of age on forward and backward span tasks. *J Int Neuropsychol Soc*, 10(4), 475-481.

Heydebrand, G. (2006) Cognitive deficits in the families of patients with schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry*, 19(3), 277-281.

Hilger, E. und Kasper S. (2002) Kognitive Symptomatik bei schizophrener Erkrankung: Diagnostik und Pharmakotherapie. *JNeurolNeurochirPsychiatr*, 3(4), 17-22.

Hirschhorn, J.N. und Daly, M.J. (2005) Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. *Nat Rev Genet*, 6(2), 95-108.

Hoefgen, B., Rietschel, M., Ackenheil, M., Maier, W. (2004) Genetische Grundlagen der Schizophrenie. *Psychoneuro*, 30(11), 603-605.

Hoff, A.L., Svetina, C., Shields, G., Stewart, J., DeLisi, L.E. (2005) Ten year longitudinal study of neuropsychological functioning subsequent to a first episode of schizophrenia. *Schizophr Res*, 78(1), 27-34.

Honea, R., Crow, T.J., Passingham, D., Mackay, C.E. (2005) Regional deficits in brain volume in schizophrenia: a meta-analysis of voxel-based morphometry studies. *Am J Psychiatry*, 162(12), 2233-2245.

Hoyer, D., Hannon, J.P., Martin, G.R. (2002) Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacol Biochem Behav*, 71(4), 533-554.

Hultman, C.M., Sparén, P., Takei, N., Murray, R.M., Cnattingius, S. (1999) Prenatal and perinatal risk factors for schizophrenia, affective psychosis and reactive psychosis of early onset: case control study. *BMJ*, 318(7181), 421-426.

Ikeda, M., Aleksic, B., Kinoshita, Y., Okochi, T., Kawashima, K., et al. (2011) Genome-wide association study of schizophrenia in a Japanese population. *Biol Psychiatry*, 69(5), 472-478.

Inayama, Y., Yoneda, H., Sakai, T., Ishida, T., Nonomura, Y., et al. (1996) Positive association between DNA sequence variant in the serotonin 2A receptor gene and schizophrenia. *Am J Med Genet*, 67(1), 103-105.

Ingram, F., Greve, K.W., Ingram, P.T., Soukup, V.M. (1999) Temporal stability of the Wisconsin Card Sorting Test in an untreated patient sample. *Br J Clin Psychol*, 38, 209-211.

International HapMap Consortium (2005) A haplotype map of the human genome. *Nature*, 437(7063), 1299-1320.

Invitrogen (2008) Quant-iT™ PicoGreen® dsDNA Reagent and Kits.
<http://probes.invitrogen.com/media/pis/mp07581.pdf>.

International Schizophrenia Consortium, Purcell, S.M., Wray, N.R., Stone, J.L., Visscher, P.M., et al. (2009) Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Nature*, 460(7256), 748-752.

Isohanni, M., Miettunen, J., Mäki, P., Murray, G.K., Ridder, K., et al. (2006) Risk factors for schizophrenia. Follow-up data from the Northern Finland 1966 Birth Cohort Study. *World Psychiatry*, 5(3), 168-171.

Jablensky, A. (2006) Subtyping schizophrenia: implications for genetic research. *Mol Psychiatry*, 11(9), 815-836.

Jaeggi, S.M., Buschkuhl, M., Perrig, W.J., Meier, B. (2010) The concurrent validity of the N-back task as a working memory measure. *Memory*, 18(4), 394-412.

Javitt, D.C., Silipo, G., Cienfuegos, A., Shelley, A.M., Bark, N., et al. (2001) Adjunctive high-dose glycine in the treatment of schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol*, 4(4), 385-391.

Jones, P.B., Rantakallio, P., Hartikainen A.L., Isohanni, M., Sipila, P. (1998) Schizophrenia as a long-term outcome of pregnancy, delivery, and perinatal complications: a 28-year follow-up of the 1966 north Finland general population birth cohort. *Am J Psychiatry*, 155(3), 355-364.

Joober, R., Benkelfat, C., Brisebois, K., Toulouse, A., Turecki, G., et al. (1999) T102C polymorphism in the 5HT_{2A} gene and schizophrenia: relation to phenotype and drug response variability. *J Psychiatry Neurosci*, 24(2), 141-146.

Kato, M.V., Shimizu, T., Nagayoshi, M., Kaneko, A., Sasaki, M.S., et al. (1996) Genomic imprinting of the human serotonin-receptor (HTR2) gene involved in development of retinoblastoma. *Am J Hum Genet*, 59(5), 1084-1090.

Kay, S.R., Fiszbein, A., Opler, L.A. (1987) The positive and negative syndrome scale (PANNS) for schizophrenia. *Schizophr Bull*, 13(2), 261-276.

Keefe, R.S. (2000) Working memory dysfunction and its relevance to schizophrenia. In Sharma, T., Harvey, P. (eds.), *Cognition in Schizophrenia. Impairments, Importance and Treatment Strategies*. Oxford University Press, Oxford.

Kendler, K.S. und Diehl, S.R. (1993) The genetics of schizophrenia: a current, genetic-epidemiologic perspective. *Schizophr Bull*, 19(2), 261-285.

Kendler, K.S. und Gardner, C.O. (1997) The risk for psychiatric disorders in relatives of schizophrenic and control probands: a comparison of three independent studies. *Psychol Med*, 27(2), 411-419.

Kendler, K.S., Gruenberg, A.M., Kinney, D.K. (1994) Independent diagnoses of adoptees and relatives as defined by DSM-III in the provincial and national samples of the Danish Adoption Study of Schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 51(6), 456-468.

Kendler, K.S., McGuire, M., Gruenberg, A.M., Walsh, D. (1995) Schizotypal symptoms and signs in the Roscommon family study. Their factor structure and familial relationship with psychotic and affective disorders. *Arch Gen Psychiatry*, 52(4), 296-303.

Kety, S.S., Wender, P.H., Jacobsen, B., Ingraham, L.J., Jansson, L., et al. (1994) Mental illness in the biological and adoptive relatives of schizophrenic adoptees. Replication on the Copenhagen Study in the rest of Denmark. *Arch Gen Psychiatry*, 51(6), 442-455.

Kim Y.K. und Yoon H.K. (2011) Effect of serotonin-related gene polymorphisms on pathogenesis and treatment response in korean schizophrenic patients. *Behav Genet*, Mar 12, Epub ahead of print.

Kirov, G., Ivanov, D., Williams, N.M., Preece, A., Nikolov, I. (2004) Strong evidence for association between the dystrobrevin binding protein 1 gene (DTNBP1) and schizophrenia in 488 parent-offspring trios from Bulgaria. *Biol Psychiatry*, 55(10), 971-975.

Kirov, G., O'Donovan, M.C., Owen, M.J. (2005) Finding schizophrenia genes. *J Clin Invest*, 115(6), 1440-1448.

Kirov, G., Zaharieva, I., Georgieva, L., Moskvina, V., Nikolov, I., et al. (2009) A genome-wide association study in 574 schizophrenia trios using DNA pooling. *Mol Psychiatry*, 14(8), 796-803.

Köhler, T. (2001) Biopsychologie: Ein Lehrbuch. Kohlhammer Verlag, Stuttgart, Berlin, Köln.

Koren, D., Seidman, L.J., Harrison, R.H., Lyons, M.J., Kremen, W.S., et al. (1998) Factor structure of the Wisconsin Card Sorting Test: dimensions of deficit in schizophrenia. *Neuropsychology*, 12(2), 289-302.

Kouzmenko, A.P., Hayes, W.L., Pereira, A.M., Dean, B., Burnet, P.W., et al. (1997) 5-HT2A receptor polymorphism and steady state receptor expression in schizophrenia. *Lancet*, 349(9068), 1815.

Krieger, S., Lis, S., Cetin, T., Gallhofer, B., Meyer-Lindenberg, A. (2005) Executive function and cognitive subprocesses in first-episode, drug-naive schizophrenia: an analysis of n-back performance. *Am J Psychiatry*, 162(6), 1206-1208.

Krystal, J.H., Karper, L.P., Seibyl, J.P., Freeman, G.K., Delaney, R., et al. (1994) Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. *Arch Gen Psychiatry*, 51(3), 199-214.

Lachmann, H.M., Papolos, D.F., Saito, T., Yu, Y.M., Szumlanski, C.L., et al. (1996) Human catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics: description of a functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders. *Pharmacogenetics*, 6(3), 243-250.

Lahti, A.C., Weiler, M.A., Tamara Michaelidis, B.A., Parwani, A., Tamminga, C.A. (2001) Effects of ketamine in normal and schizophrenic volunteers. *Neuropsychopharmacology*, 25(4), 455-467.

Lane, H.-Y., Liu, Y.-C., Huang, C.-L., Hsieh, C.-L., Chang, Y.-L., et al. (2008) Prefrontal executive function and D₁, D₃, 5-HT_{2A} and 5-HT₆ receptor gene variations in healthy adults. *J Psychiatry Neurosci*, 33(1), 47-53.

Lauronen, E., Koskinen, J., Veijola, J., Miettunen, J., Jones, P.B., et al. (2005) Recovery from schizophrenic psychoses in the northern Finland 1966 Birth Cohort. *J Clin Psychiatry*, 66(3), 375-383.

Leiderman, E., Zylberman, I., Zukin, S.R., Cooper, T.B., Javitt, D.C. (1996) Preliminary investigation of high-dose oral glycine on serum levels and negative symptoms in schizophrenia: an open-label trial. *Biol Psychiatry*, 39(3), 213-215.

Lencz, T., Morgan, T.V., Athanasiou, M., Dain, B., Reed, C.R., et al. (2007) Converging evidence for a pseudoautosomal cytokine receptor gene locus in schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 12(6), 572-580.

Lewis, C.M., Levinson, D.F., Wise, L.H., DeLisi, L.E., Straub, R.E., et al. (2003) Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia. *Am J Hum Genet*, 73(1), 34-48.

Lewis, D.A. (1997) Development of the prefrontal cortex during adolescence: insights into vulnerable neural circuits in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 16(6), 385-398.

Lewis, M.S. (1989) Age incidence and schizophrenia: Part I. The season of birth controversy. *Schizophr Bull*, 15(1), 59-73.

Li, D., Duan, Y., He, L. (2006) Association study of serotonin 2A receptor (5-HT2A) gene with schizophrenia and suicidal behavior using systematic meta-analysis. *Biochem Biophys Res Commun*, 340(3), 1006-1015.

Li, T., Ma, X., Sham, P.C., Sun, X., Hu, X., et al. (2004) Evidence for association between novel polymorphisms in the PRODH gene and schizophrenia in a Chinese population. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 129B(1), 13-15.

Liu, H., Heath, S.C., Sabin, C., Roos, J.L., Galke, B.L., et al. (2002) Genetic variation in the 22q11 PRODH2/DGCR6 locus presents an unusual pattern and increases susceptibility to schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99(6), 3717-3722.

Lotta, T., Vidgren, J., Tilgmann, C., Ulmanen, I., Melen, K., et al. (1995) Kinetics of human soluble and membrane-bound catechol O-methyltransferase: a revised mechanism and description of the thermolabile variant of the enzyme. *Biochemistry*, 34(13), 4202-4210.

Luciana, M., Collins, P.F., Depue, R.A. (1998) Opposing roles for dopamine and serotonin in the modulation of human spatial working memory functions. *Cereb Cortex*, 8(3), 218-226.

Ma, X., Deng, W., Liu, X., Li, M., Chen, Z., et al. (2011) A genome-wide association study for quantitative traits in schizophrenia in China. *Genes Brain Behav*, Jun 16 (Epub ahead of print).

Maier, W., Lichermand, D., Rietschel, M., Held, T., Falkai, P., et al. (1999) Genetik schizophrener Störungen. Neuere Konzepte und Befunde. *Nervenarzt*, 70(11), 955-969.

Manoach, D.S. (2003) Prefrontal cortex dysfunction during working memory performance in schizophrenia: reconciling discrepant findings. *Schizophr Res*, 60(2-3), 285-298.

Manoach, D.S., Gollub, R.L., Benson, E.S., Searl, M.M., Goff, D.C., et al. (2000) Schizophrenic subjects show aberrant fMRI activation of dorsolateral prefrontal cortex and basal ganglia during working memory performance. *Biol Psychiatry*, 48(2), 99-109.

Manoach, D.S., Press, D.Z., Thangaraj, V., Searl, M.M., Goff, D.C., et al. (1999) Schizophrenic subjects activate dorsolateral prefrontal cortex during a working memory task, as measured by fMRI. *Biol Psychiatry*, 45(9), 1128-1137.

Marneros, A. und Andreasen, N.C. (1992) Positive und Negative Symptomatik der Schizophrenie. *Nervenarzt*, 63(5), 262-270.

Marneros, A., Deister, A., Rohde, A. (1991) Affektive, schizoaffektive und schizophrene Psychosen. Eine vergleichende Langzeitstudie. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo.

Masellis, M., Basile, V., Meltzer, H.Y., Lieberman, J.A., Sevy, S., et al. (1998) Serotonin subtype 2 receptor genes and clinical response to clozapine in schizophrenia patients. *Neuropsychopharmacology*, 19(2), 123-132.

Matthes-von Cramon, G. und von Cramon, D.Y. (2000) Störungen exekutiver Funktionen. In Sturm, W., Herrmann, M., Wallesch, C.W. (eds.), *Lehrbuch der Klinischen Neuropsychologie. Grundlagen. Methoden. Diagnostik. Therapie*. Swets & Zeitlinger Publishers, Lisse.

McGuffin, P. und Gottesman, I.I. (1999) Risk factors for schizophrenia. *N Engl J Med*, 341(5), 370-371.

McGuffin, P., Owen, M.J., Farmer, A.E. (1995) Genetic basis of schizophrenia. *Lancet*, 346(8976), 678-82.

Meltzer, H.Y. und Deutch, A.Y. (1999) Neurochemistry of schizophrenia. In Siegel, G.J., Agranoff, B.W., Albers, R.W., Fisher, S.K., Uhler, M.D. (eds.), *Basic Neurochemistry, Molecular, Cellular and Medical Aspects*. 6th ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.

Meltzer, H.Y., Li, Z., Kaneda, Y., Ichikawa, J. (2003) Serotonin receptors: their key role in drugs to treat schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 27(7), 1159-1172.

Meltzer, H.Y. und McGurk, S.R. (1999) The effects of clozapine, risperidone, and olanzapine on cognitive function in schizophrenia. *Schizophr Bull*, 25(2), 233-255.

Miyake, A., Friedman, N.P., Emerson, M.J., Witzki, A.H., Howerter, A. (2000) The unity and diversity of executive functions and their contribution to complex "Frontal Lobe" tasks: a latent variable analysis. *Cognit Psychol*, 41(1), 49-100.

Möller, H.J. und Deister, A. (2005) Schizophrenie. In Möller, H.-J., Laux, G., und Kapfhammer, H.-P. (eds.), *Psychiatrie und Psychotherapie*. 2. Auflage, Springer Medizin Verlag, Heidelberg.

Möller, H.J., Laux, G., Deister, A. (2001) Schizophrenie. In Bob, A. und Bob, K. (eds.), *Psychiatrie und Psychotherapie, Duale Reihe*. 2. Auflage, Georg-Thieme Verlag, Stuttgart.

Monchi, O., Petrides, M., Petre, V., Worsley, K., Dagher, A. (2001) Wisconsin Card Sorting revisited: distinct neural circuits participating in different stages of the task identified by event-related functional magnet resonance imaging. *J Neurosci*, 21(19), 7733-7741.

Morris, D.W., Rodgers, A., McGhee, K.A., Schwaiger, S., Scully, P., et al. (2004) Confirming RGS4 as a susceptibility gene for schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 125B(1), 50-53.

Mortensen, P.B., Pedersen, C.B., Westergaard, T., Wohlfahrt, J., Ewald, H., et al. (1999) Effects of family history and place and season of birth on the risk of schizophrenia. *N Engl J Med*, 340(8), 603-608.

Nagahama, Y., Fukuyama, H., Yamauchi, H., Matsuzaki, S., Konishi, J., et al. (1996) Cerebral activating during performance of a card sorting test. *Brain*, 119, 1667-1675.

Need, A.C., Dongliang, G., Weale, M.E., Maia, J., Feng, S., et al. (2009) A genome-wide investigation of SNPs and CNVs in schizophrenia. *PLoS Genet*, 5(2), e1000373.

Ng M.Y.M., Levinson, D.F., Faraone S.V., Suarez, B.K., DeLisi, L.E., et al. (2009) Meta-analysis of 32 genome-wide linkage studies of schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 14(8), 774-785.

Ngan, E.T., Yatham, L.N., Ruth, T.J., Liddle, P.F. (2000) Decreased serotonin 2A receptor densities in neuroleptic-naive patients with schizophrenia: a PET study using ((18)F)setoperone. *Am J Psychiatry*, 157(6), 1016-1018.

Nimgaonkar, V.L., Zhang, X.R., Brar, J.S., DeLeo, M., Ganguli, R. (1996) 5-HT₂ receptor gene locus: association with schizophrenia or treatment response not detected. *Psychiatr Genet*, 6(1), 23-27.

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

Nöthen, M.M., Rietschel, M., Erdmann, J., Oberländer, H., Möller, H.J., et al. (1995) Genetic variation of the 5-HT_{2A} receptor and response to clozapine. *Lancet*, 346(8979), 908-909.

Nöthen, M.M., Rietschel, M., Propping, P., Maier, W. (2004) Fortschritte in der Ursachenforschung affektiver und schizophrener Störungen. *Dtsch Arztebl*, 101(49), 3343-3347.

Nuechterlein, K.H., Green, M.F., Kern, R.S., Baade, L.E., Barch, D.M., et al. (2008) The MATRICS consensus cognitive battery, part 1: Test selection, reliability, and validity. *Am J Psychiatry*, 165(2), 203-213.

Numakawa, T., Yagasaki, Y., Ishimoto, T., Okada, T., Suzuki, T., et al. (2004) Evidence of novel neuronal functions of dysbindin, a susceptibility gene for schizophrenia. *Hum Mol Genet*, 13(21), 2699-2708.

O'Donovan, M.C., Craddock, N., Norton, N., Williams, H., Peirce, T., et al. (2008) Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up. *Nat Genet*, 40(9), 1053-1055.

Ohara, K., Nagai, M., Tani, K., Tsukamoto, T., Ohara, K. (1999) Schizophrenia and the serotonin-2A receptor promoter polymorphism. *Psychiatry Res*, 85(2), 221-224.

Okubo, Y., Suhara, T., Suzuki, K., Kobayashi, K., Inoue, O., et al. (2000) Serotonin 5-HT_{2A} receptors in schizophrenic patients studied by positron emission tomography. *Life Sci*, 66(25), 2455-2464.

O'Leary, D.S., Flaum, M., Kesler, M.L., Flashman, L.A., Arndt, S., et al. (2000) Cognitive correlates of the negative, disorganized, and psychotic symptom dimensions of schizophrenia. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 12(1), 4-15.

Owen, M.J. (2000) Molecular genetic studies of schizophrenia. *Brain Res Brain Res Rev*, 31(2-3), 179-186.

Owen, M.J., Cardno, A.G., O'Donovan, M.C. (2000) Psychiatric genetics: back to the future. *Mol Psychiatry*, 5(1), 22-31.

Owen, M.J., Williams, N.M., O'Donovan, M.C. (2004) The molecular genetics of schizophrenia: new findings promise new insights. *Mol Psychiatry*, 9(1), 14-27.

Ozaki, N., Manji, H., Lubierman, V., Lu, S.J., Lappalainen, J., et al. (1997) A naturally occurring amino acid substitution of the human serotonin 5-HT_{2A} receptor influences amplitude and timing of intracellular calcium mobilization. *J Neurochem*, 68(5), 2186-2193.

Pantelis, C., Yücel, M., Wood, S.J., Velakoulis, D., Sun, D., et al. (2005) Structural brain imaging evidence for multiple pathological processes at different stages of brain development in schizophrenia. *Schizophr Bull*, 31(3), 672-696.

Papassotiropoulos, A., Henke, K., Aerni, A., Coluccia, D., Garcia, E., et al. (2005) Age-dependent effects of the 5-hydroxytryptamine-2a-receptor polymorphism (His452Tyr) on human memory. *Neuroreport*, 16(8), 839-842.

Parsons, M.J., D'Souza, U.M., Arranz, M.J., Kerwin, R.W., Makoff, A.J. (2004) The -1438A/G polymorphism in the 5-hydroxytryptamine type 2A receptor gene affects promoter activity. *Biol Psychiatry*, 56(6), 406-410.

Perlstein, W.M., Carter, C.S., Noll, D.C., Cohen, J.D. (2001) Relation of prefrontal cortex dysfunction to working memory and symptoms in schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 158(7), 1105-1113.

Perlstein, W.M., Dixit, N.K., Carter, C.S., Noll, D.C., Cohen, J.D. (2003) Prefrontal cortex dysfunction mediates deficits in working memory and prepotent responding in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 53(1), 25-38.

Petrides, M (1995) Functional organization of the human frontal cortex for mnemonic processing. Evidence from neuroimaging studies. *Ann N Y Acad Sci*, 769, 85-96.

Petrides, P.E. (1997) Nervengewebe. In Löffler, G., Petrides, P.E. (eds.), *Biochemie und Pathobiochemie*. 5. ed. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.

Polesskaya, O.O., Aston, C., Sokolov, B.P. (2006) Allele C-specific methylation of the 5-HT2A receptor gene: evidence for correlation with its expression and expression of DNA methylase DNMT1. *J Neurosci Res*, 83(3), 362-373.

Polesskaya, O.O. und Sokolov, B.P. (2002) Differential expression of the "C" and "T" alleles of the 5-HT2A receptor gene in the temporal cortex of normal individuals and schizophrenics. *J Neurosci Res*, 67(6), 812-822.

Polgar, P., Rethelyi, J.M., Balint, S., Komlosi, S., Czobor, P., et al. (2010) Executive function in deficit schizophrenia: what do the dimensions of the Wisconsin Card Sorting Test tell us? *Schizophr Res*, 122(1-3), 85-93.

Postle, B.R., Stern, C.E., Rosen, B.E., Corkin, S. (2000) An fMRI investigation of cortical contributions to spatial and nonspatial visual working memory. *Neuroimage*, 11(5), 409-423.

Poyurovsky, M., Koren, D., Gonopolsky, I., Schneidman, M., Fuchs, C., et al. (2003) Effect of the 5-HT2 antagonist mianserin on cognitive dysfunction in chronic schizophrenia patients: an add-on, double-blind placebo-controlled study. *Eur Neuropsychopharmacol*, 13(2), 123-128.

Propping, P., Nöthen, M.M., Körner, J., Rietschel, M., Maier, W. (1994) Assoziationsuntersuchungen bei psychiatrischen Erkrankungen. Konzepte und Befunde. *Nervenarzt*, 65(11), 725-740.

Psychiatric GWAS Consortium Coordinating Committee, Cichon, S., Craddock, N., Daly, M., Faraone, S.V., et al. (2009) Genomewide association studies: history, rationale, and prospects for psychiatric disorders. *Am J Psychiatry*, 166(5), 540-556.

Pytliak, M., Vargova, V., Mechirova, V., Felsöci, M. (2011) Serotonin receptors - from molecular biology to clinical applications. *Physiol Res*, 60(1), 15-25.

Qiagen (ed.) (2005) QIAamp DNA Blood Midi/Maxi Handbook. 2nd ed.

Reynolds, C.A., Jansson, M., Gatz, M., Pedersen, N.L. (2006) Longitudinal change in memory performance associated with HTR2A polymorphism. *Neurobiol Aging*, 27(1), 150-154.

Rice, J.P., Reich, T., Bucholz, K.K., Neuman, R.J., Fishman, R., et al. (1995) Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res*, 19(4), 1018-1023.

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

Riley, B. und Kendler, K.S. (2006) Molecular genetic studies of schizophrenia. *Eur J Hum Genet*, 14(6), 669-680.

Risch, N. und Merikangas, K. (1996) The future of genetic studies of complex human diseases. *Science*, 273(5281), 1516-1517.

Ross, C.A., Margolis, R.L., Reading, S.A.J., Pletnikov, M., Coyle, J.T. (2006) Neurobiology of schizophrenia. *Neuron*, 52(1), 139-153.

Rosso, I., Cannon T.D., Huttunen, T., Huttunen, M.O., Lönnqvist, J., et al. (2000) Obstetric risk factors for early-onset schizophrenia in a Finnish birth cohort. *Am J Psychiatry*, 157(5), 801-807.

Sanders, A.R., Duan, J., Levinson, D.F., Shi, J., He, D., et al. (2008) No significant association of 14 candidate genes with schizophrenia in a large European ancestry sample: implications for psychiatric genetics. *Am J Psychiatry*, 165(4), 497-506.

Sanders, A.R., Rusu, I., Duan, J., Vander Molen, J.E., Hou, C., et al. (2005) Haplotypic association spanning the 22q11.21 genes COMT and ARVCF with schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 10(4), 353-365.

Sanders-Bush, E., Fentress, H., Hazelwood, L. (2003) Serotonin 5-HT₂ receptors: molecular and genomic diversity. *Mol Interv*, 3(6), 319-330.

Saß, H., Wittchen, H.U., Zaudig, M. (1999) Handbuch der Differenzialdiagnose DSM-IV. Hogrefe Verlag, Göttingen.

Schanze, D., Ekici, A.B., Gawlik, M., Pfuhlmann, B., Reis, A., et al. (2010) Evaluation of risk loci for schizophrenia derived from genome-wide association studies in a german population. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 156(2), 198-203.

Schosser, A., Kindler, J., Mossaheb, N., Aschauer, H. N. (2006) Genetische Aspekte affektiver Erkrankungen und der Schizophrenie. *Journal Neurol Neurochir Psychiatrie*, 7(4), 19-24.

Schumacher, J., Jamra, R.A., Freudenberg, J., Becker, T., Ohlraun, S., et al. (2004) Examination of G72 and D-amino-acid oxidase as genetic risk factors for schizophrenia and bipolar affective disorder. *Mol Psychiatry*, 9(2), 203-207.

Schwab, S.G., Hoefgen, B., Hanses, C., Hassenbach, M.B., Albus, M., et al. (2005) Further evidence for association of variants in the AKT1 gene with schizophrenia in a sample of European sib-pair families. *Biol Psychiatry*, 58(6), 446-450.

Segman, R.H., Heresco-Levy, U., Finkel, B., Goltser, T., Shalem, R., et al. (2001) Association between the serotonin 2A receptor gene and tardive dyskinesia in chronic schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 6(2), 225-229.

Selemon, L.D. und Goldman-Rakic, P.S. (1999) The reduced neuropil hypothesis: a circuit based model of schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 45(1), 17-25.

Sequenom (2012) MassARRAY® iPLEX® Gold - SNP Genotyping.
http://www.sequenom.com/getdoc/197b98fa-93f7-40e8-9deb-a8dcfecf899e/iPLEX-brochure_web/.

Serretti, A., Drago, A., De Ronchi, D. (2007) HTR2A gene variants and psychiatric disorders: A review of current literature and selection of SNPs for future studies. *Curr Med Chem*, 14(19), 2053-2069.

Shi, J., Levinson, D.F., Duan, J., Sanders, A.R., Zheng, Y., et al. (2009) Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia. *Nature*, 460(7256), 753-757.

Shifman, S., Bronstein, M., Sternfeld, M., Pisanté-Shalom, A., Lev-Lehman, E., et al. (2002) A highly significant association between a COMT haplotype and schizophrenia. *Am J Hum Genet*, 71(6), 1296-1302.

Shifman, S., Johannesson, M., Bronstein, M., Chen, S.X., Collier, D.A., et al. (2008) Genome-wide association identifies a common variant in the reelin gene that increases the risk of schizophrenia only in women. *PLoS Genet*, 4(2), e28.

Shinkai, T., Ohmori, O., Kojima, H., Terao, T., Suzuki, T., et al. (1998) Negative association between T102C polymorphism of the 5-HT_{2A} receptor gene and schizophrenia in Japan. *Hum Hered*, 48(4), 212-215.

Sigmund, J.C., Vogler, C., Huynh, K.-D., de Quervain, D.J.-F., Papassotiropoulos, A. (2008) Fine-mapping at the HTR2A locus reveals multiple episodic memory-related variants. *Biol Psychol*, 79(2), 239-242.

Simansky, K.J. (1996) Serotonergic control of the organization of feeding and satiety. *Behav Brain Res*, 73(1-2), 37-42.

Sitskoorn, M.M., Aleman, A., Ebisch, S.J., Appels, M.C., Kahn, R.S. (2004) Cognitive deficits in relatives of patients with schizophrenia: a meta-analysis. *Schizophr Res*, 71(2-3), 285-295.

Smith, E.E. und Jonides, J. (1999) Storage and executive processes in the frontal lobes. *Science*, 283(5408), 1657-1661.

Smith, E.E., Jonides, J., Marshuetz, C., Koeppe, R.A. (1998) Components of verbal working memory: evidence from neuroimaging. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95(3), 876-882.

Snitz, B.E., MacDonald III, A.W., Carter, C.S. (2006) Cognitive deficits in unaffected first-degree relatives of schizophrenia patients: a meta-analytic review of putative endophenotypes. *Schizophr Bull*, 32(1), 179-194.

Sparkes, R.S., Lan, N., Klisak, I., Mohandas, T., Diep, A., et al. (1991) Assignment of a serotonin 5HT-2 receptor gene (HTR2) to human chromosome 13q14-q21 and mouse chromosome 14. *Genomics*, 9(3), 461-465.

Spurlock, G., Heils, A., Holmans, P., Williams, J., D'Souza, U.M., et al. (1998) A family based association study of T102C polymorphism in 5HT2A and schizophrenia plus identification of new polymorphism in the promoter. *Mol Psychiatry*, 3(1), 42-49.

Stamm, R. und Bühler, K.E. (2001) Vulnerabilitätskonzepte bei psychischen Störungen. *Fortschr Neurol Psychiatr*, 69(7), 300-309.

Stefansson, H., Ophoff, R.A., Steinberg, S., Andreassen, O.A., Cichon, S., et al. (2009) Common variants conferring risk of schizophrenia. *Nature*, 460(7256), 744-747.

Stefansson, H., Sarginson, J., Kong, A., Yates, P., Steinthorsdottir, V, et al. (2003) Association of Neuregulin 1 with schizophrenia confirmed in a scottish population. *Am J Hum Genet*, 72(1), 83-87.

Stefansson, H., Sigurdsson, E., Steinthorsdottir, V., Bjornsdottir, S., Sigmundsson, T., et al. (2002) Neuregulin 1 and susceptibility to schizophrenia. *Am J Hum Genet*, 71(4), 877-892.

Strachan, T. und Read, A.P. (2005) Evolution der Genstruktur und der duplizierten Gene. In *Molekulare Humangenetik*. 3. Auflage, Elsevier, München.

Straub, R.E., Jiang, Y., MacLean, C.J., Ma, Y., Webb, B.T., et al. (2002) 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.

Stuss, D.T. und Benson, D.F. (1984) Neuropsychological studies of the frontal lobes. *Psychol Bull*, 95(1), 3-28.

Sullivan, P.F. (2005) The genetics of schizophrenia. *PLoS Med*, 2(7), e212.

Sullivan, P.F., Lin, D., Tzeng, J.Y., van den Oord, E., Perkins, D., et al. (2008) Genomewide association for schizophrenia in the CATIE study: results of stage 1. *Mol Psychiatry*, 13(6), 570-584.

Tan, E.C., Chong, S.A., Mahendran, R., Dong, F., Tan, C.H. (2001) Susceptibility to neuroleptic-induced tardive dyskinesia and the T102C polymorphism in the serotonin type 2A receptor. *Biol Psychiatry*, 50(2), 144-147.

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

Tewes, U. (1991) Hawie-R Hamburg-Wechsler Intelligenztest für Erwachsene. Revision 1991. Hogrefe Verlag, Göttingen.

Thier, P. (2003) Die funktionelle Architektur des präfrontalen Kortex. In Karnath, H.-O., Thier, P. (eds.), *Neuropsychologie*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg.

Trepel, M. (1999) Neuroanatomie. Struktur und Funktion. 2nd ed. Urban & Fischer, München, Stuttgart, Jena, Lübeck, Ulm.

Tsai, G., Lane, H.Y., Yang, P., Chong, M.Y., Lange, N. (2004) Glycine transporter I inhibitor, N-methylglycine (sarcosine), added to antipsychotics for the treatment of schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 55(5), 452-456.

Tsai, G., Yang, P., Chung, L.C., Lange, N., Coyle, J.T. (1998) D-serine added to antipsychotics for the treatment of schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 44(11), 1081-1089.

Tsuang, M.T. und Faraone, S.V. (2000) The frustrating search for schizophrenia genes. *Am J Med Genet*, 97(1), 1-3.

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

Turecki, G., Briere, R., Dewar, K., Antonetti, T., Lesage, A.D., et al. (1999) Prediction of level of serotonin 2A receptor binding by serotonin receptor 2A genetic variation in postmortem brain samples from subjects who did or did not commit suicide. *Am J Psychiatry*, 156(9), 1456-1458.

Turetsky, B.I., Calkins, M.E., Light, G.A., Olincy, A., Radant, A.D., et al. (2007) Neurophysiological endophenotypes of schizophrenia: the viability of selected candidate measures. *Schizophr Bull*, 33(1), 69-94.

Tuulio-Henriksson, A., Arajarvi, R., Partonen, T., Haukka, J., Varilo, T., et al. (2003) Familial loading associates with impairment in visual span among healthy siblings of schizophrenia patients. *Biol Psychiatry*, 54(6), 623-628.

Tuulio-Henriksson, A., Haukka, J., Partonen, T., Varilo, T., Paunio, T., et al. (2002) Heritability and number of quantitative trait loci of neurocognitive functions in families with schizophrenia. *Am J Med Genet*, 114(5), 483-490.

Üçok, A., Alpsan, H., Cakir, S., Saruhan-Direskeneli, G. (2007) Association of a serotonin 2A gene polymorphism with cognitive functions in patients with schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 144B(5), 704-707.

Van de Kar, L.D., Javed, A., Zhang, Y., Serres, F., Raap, D.K., et al. (2001) 5-HT_{2A} receptors stimulate ACTH, corticosterone, oxytocin, renin and prolactine release and activate hypothalamic CRF and oxytocin-expressing cells. *J Neurosci*, 21(10), 3572-3579.

Van Os, J., Marcelis, M., Sham, P., Jones, P., Gilvarry, K., et al. (1997) Psychopathological syndromes and familial morbid risk of psychosis. *Br J Psychiatry*, 170, 241-246.

Van Winkel, R., Esquivel, G., Kenis, G., Wichers, G., Wichers, M., et al. (2010) Review: Genome-wide findings in schizophrenia and the role of gene-environment interplay. *CNS Neurosci Ther*, 16(5), e185-e192.

Vaquero Lorenzo, C., Baca-Garcia, E., Diaz-Hernandez, M., Botillo-Martin, C., Perez-Rodriguez, M.M., et al. (2006) Association between the T102C polymorphism of the serotonin-2A receptor gene and schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 30(6), 1136-1138.

Verga, M., Macciardi, F., Cohen, S., Pedrini, S., Smeraldi, E. (1997) No association between schizophrenia and the serotonin receptor 5HTR2a in an Italian population. *Am J Med Genet*, 74(1), 21-25.

Vollenweider, F.X., Vollenweider-Scherpenhuyzen, M.F., Bäbler, A., Vogel, H., Hell, D. (1998) Psilocybin induces schizophrenia-like psychosis in humans via a serotonin-2 agonist action. *Neuroreport*, 9(17), 3897-3902.

Wang, W.Y.S., Barratt, B.J., Clayton, D.G., Todd, J.A. (2005) Genome-wide association studies: theoretical and practical concerns. *Nat Rev Genet*, 6(2), 109-118.

Warren, Jr., J.T., Peacock, M.L., Rodriguez, L.C., Fink, J.K. (1993) An Mspl polymorphism in the hyman serotonin receptor gene (HTR2): detection by DGGE and RFLP analysis. *Hum Mol Genet*, 2(3), 338.

Weickert, C.S., Straub, R.E., McClintock, B.W., Matsumoto, M., Hashimoto, R., et al. (2004) Human dysbindin (DTNBP1) gene expression in normal brain and in schizophrenic prefrontal cortex and midbrain. *Arch Gen Psychiatry*, 61(6), 544-555.

Weinberger, D.R., Egan, M.F., Bertolino, A., Callicott, J.H., Mattay, V.S., et al. (2001) Prefrontal neurons and the genetics of schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 50(11), 825-844.

Weltgesundheitsorganisation (2006) Taschenführer zur ICD-10-Klassifikation psychischer Störungen. Dilling H. und Freyberger H.J. (eds.), 3. Auflage, Verlag Hans Huber, Bern.

Wilkosc, M., Hauser, J., Tomaszewska, M., Dmitrzak-Weglarz, M., Skibinska, M., et al. (2010) Influence of dopaminergic and serotonergic genes on working memory in healthy subjects. *Acta Neurobiol Exp*, 70(1), 86-94.

Williams, G.V., Rao, S.G., Goldman-Rakic, P.S. (2002) The physiological role of 5-HT_{2A} receptors in working memory. *J Neurosci*, 22(7), 2843-2854.

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

Williams, J., Spurlock, G., Holmans, P., Mant, R., Murphy, K., et al. (1998) A meta-analysis and transmission disequilibrium study of association between the dopamine D3 receptor gene and schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 3(2), 141-149.

Williams, J., Spurlock, G., McGuffin, P., Mallet, J., Nöthen, M.M., et al. (1996) Association between schizophrenia and T102C polymorphism of the 5-hydroxytryptamine type 2a-receptor gene. *Lancet*, 347(9011), 1294-1296.

Williams, N.M., Preece, A., Morris, D.W., Spurlock, G., Bray, N.J., et al. (2004a) Identification in 2 independent samples of a novel schizophrenia risk haplotype of the dystrobrevin binding protein gene (DTNBP1). *Arch Gen Psychiatry*, 61(4), 336-344.

Williams, N.M., Preece, A., Spurlock, G., Norton, N., Williams, H.J., et al. (2003) Support for genetic variation in neuregulin 1 and susceptibility to schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 8(5), 485-487.

Williams, N.M., Preece, A., Spurlock, G., Norton, N., Williams H.J., et al. (2004b) Support for RGS4 as a susceptibility gene for schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 55(2), 192-195.

Wittchen, H.U., Saß, H. Zaudig, M. (1996) Diagnostisches und Statistisches Manual Psychischer Störungen DSM-IV. Hogrefe Verlag, Göttingen.

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

Wolf, L.E., Cornblatt, B.A., Roberts, S.A., Maminski Shapiro, B., Erlenmeyer-Kimling, L. (2002) Wisconsin Card Sorting deficits in the offspring of schizophrenics in the New York high-risk project. *Schizophr Res*, 57(2-3), 173-182.

Yamada, K., Iwayama, Y., Hattori, E., Iwamoto, K., Toyota, T. et al. (2011) Genome-wide association study of schizophrenia in Japanese population. *PLoS*, 6(6), e20468.

Zhang, F., Sarginson, J., Crombie, C., Walker, N., St Clair, D., et al. (2006) Genetic association between schizophrenia and the DISC1 gene in the Scottish population. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 141B(2), 155-159.

Zhang, X.N., Jiang, S.D., He, X.H., Zhang, L.N. (2004) 102T/C SNP in the 5-hydroxytryptamine receptor 2A (HTR2A) gene and schizophrenia in two southern Han Chinese populations: lack of association. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 126B(1), 16-18.

Zhu, Q.S., Chen, K., Shih, J.C. (1995) Characterization of the human 5-HT_{2A} receptor gene promoter. *J Neurosci*, 15(7), 4885-4895.

Ziegler, A. (2002) Genetische Epidemiologie - Gegenwart und Zukunft. *Dtsch Arztbl*, 99(36), 2342-2346.

Zobel, A. und Maier, W. (2004) Endophänotypen - eine neues Konzept zur biologischen Charakterisierung psychischer Störungen. *Nervenarzt*, 75(3), 205-214.

Zubin, J. und Spring, B. (1977) Vulnerability - a new view of schizophrenia. *J Abnorm Psychol*, 86(2), 103-126.

9 Danksagung

Zunächst möchte ich Herrn Prof. Dr. med. Dan Rujescu dafür danken, dass er es mir ermöglichte, diese Promotionsarbeit in seiner Abteilung durchzuführen.

Bei Herrn Prof. Dr. med. Hans-Jürgen Möller bedanke ich mich für die Möglichkeit, diese Arbeit in der von ihm geleiteten Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität München absolvieren zu dürfen.

Frau Dr. Ina Giegling danke ich für ihre umfassende und engagierte Betreuung, sowohl während des praktischen Teils als auch während der theoretischen Ausarbeitung. Hierbei ist insbesondere ihre große Unterstützung bei der statistischen Auswertung zu erwähnen. Für Fragen aller Art stand sie jederzeit gerne zur Verfügung.

Ein großer Dank gebührt Frau Dr. Annette Hartmann für die zahlreichen Ratschläge und das Korrekturlesen. Als Ansprechpartner war sie von unschätzbarem Wert.

Bedanken möchte ich mich auch bei Frau Dr. Heike Konnerth, die ebenso bei Fragen jeglicher Art zur Verfügung stand und eine große moralische Unterstützung darstellte.

Ein herzlicher Dank gilt allen weiteren Mitarbeitern der Abteilung für Molekulare und Klinische Neurobiologie, insbesondere meinen Mitdoktoranden, die erheblich dazu beigetragen haben, dass mir der praktische Teil der Promotionsarbeit so große Freude bereitet hat.

Zuletzt möchte ich mich bei meinen Eltern und Großeltern für ihre unschätzbare Unterstützung bedanken. Ohne diese wäre die vorliegende Arbeit nicht möglich gewesen.

10 Erklärung

Erklärung gemäß § 2 Abs. 2 bis 4 der Promotionsordnung für die Medizinische Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München vom 01. Juni 1983 in der Fassung der neunten Änderungssatzung vom 11. August 2011

Hiermit erkläre ich, diese Dissertation selbstständig angefertigt zu haben, mich außer der angegebenen Hilfsmittel keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen zu haben.

Bisher habe ich an keiner anderen Doktorprüfung teilgenommen.

Die hier vorgelegte Dissertation wurde nicht in gleicher oder ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht.

Manching, den 31.01.2012

Stefan Markus Scherl

11 Lebenslauf

Persönliche Daten

Geb. am 20.03.1978 in Ingolstadt, ledig

Schule und Zivildienst

06/1997 Abitur am Reuchlin-Gymnasium Ingolstadt
09/1997 - 09/1998 Zivildienstleistender am Klinikum Ingolstadt

Hochschulausbildung

10/1998 - 10/2005 Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
03/2001 Ärztliche Vorprüfung
10/2005 Ärztliche Prüfung

Dissertation

02/2006 - 07/2006 Praktischer Teil der Dissertation zum Thema "Assoziationsuntersuchung von Polymorphismen im 5-HT_{2A}-Rezeptor-Gen mit Aspekten präfrontaler Kognition und Schizophrenie" bei Prof. Dr. med. Dan Rujescu, Abteilung für Molekulare und Klinische Neurobiologie, Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Ludwig-Maximilians-Universität München

Ärztliche Tätigkeit

04/2007 - 06/2011 Assistenzarzt der Danuvius Klinik GmbH, Fachklinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Ingolstadt (Dr. med. Torsten Mager) und Pfaffenhofen a.d. Ilm (PD Dr. med. Thomas Messer)

seit 09/2011 Assistenzarzt der Neurologischen Klinik am Klinikum München Pasing (Dr. med. Christian Lechner)

Manching, den 31.01.2012

Stefan Markus Schertl