

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

**Direktor: Prof. Dr. med Peter Falkai
ehem. Direktor: Prof. Dr. med. H.-J. Möller**

**Genetische Variationen im 5-HT_{2A} Gen im Zusammenhang mit
suizidalem Verhalten**

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

vorgelegt von
Antje K. Reiter

aus
Düsseldorf

2012

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dan Rujescu

Mitberichterstatter: Professor Dr. med. Thomas Bronisch

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. rer. humbiol. Ina Giegling

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

Tag der mündlichen Prüfung: 08.11.2012

Meiner Familie gewidmet

1	Einleitung.....	8
1.1	Definition.....	8
1.2	Epidemiologie	9
1.3	Suizidmethoden	12
1.4	Risikofaktoren suizidalen Verhaltens	13
1.4.1	Soziodemographische Faktoren.....	13
1.4.2	Persönlichkeitsvariablen	15
1.4.3	Psychiatrische Erkrankungen.....	17
1.4.4	Genetische Risikofaktoren	18
1.5	Diathese- Stress Modell.....	26
1.6	Serotonerges System	28
1.6.1	Serotonin.....	28
1.6.2	Serotoninmetabolismus.....	29
1.6.3	Serotonerges System.....	30
1.6.4	Serotonerge Bahnen im Gehirn.....	31
1.6.5	Serotoninrezeptor 5-HT _{2A}	32
1.6.6	Serotonin und suizidales Verhalten.....	33
1.7	Fragestellung	36
2	Material und Methoden.....	38
2.1	Material	38
2.1.1	Material zur Präparation von <i>Postmortem</i> Gewebe.....	38
2.1.2	Material zur DNA Extraktion	40
2.1.3	Material zur DNA Konzentrationsbestimmung.....	41
2.2	Methoden.....	42
2.2.1	Studiendesign und Vorbedingungen zur Studiendurchführung	42
2.2.2	Studienteilnehmer: Kontrollgruppe	42
2.2.3	Studienteilnehmer: Suizidenten.....	43

2.2.4	Instrumente zur Erfassung psychologischer und psychiatrischer Parameter.....	44
2.2.5	Methoden zur Präparation von Postmortem Gewebe	45
2.2.6	Methoden zur DNA Extraktion und Studiendurchführung.....	61
2.2.7	Quantifizierung der DNA mittels Pico Green Assay	64
2.2.8	Auswahl der Polymorphismen zur Genotypisierung.....	67
2.2.9	Genotypisierung mittels SNP Microarrays.....	68
2.3	Statistische Auswertung	71
3	Ergebnisse	72
3.1	Analyse der Polymorphismen im 5-HT2A Rezeptor Gen.....	72
3.1.1	Analyse der 5-HT2A Allelverteilung zwischen Suizidenten und gesunden Probanden für rs643627	72
3.1.2	Analyse der 5-HT2A Genotypenverteilung zwischen Suizidenten und gesunden Kontrollen für rs643627	73
3.1.3	Analyse der 5-HT2A Allelverteilung zwischen Suizidenten und gesunden Kontrollen für rs594242	75
3.1.4	Analyse der 5-HT2A Genotypenverteilung zwischen Suizidenten und gesunden Probanden für rs594242	76
4	Diskussion.....	79
4.1	Inhaltliche Interpretation der Ergebnisse	79
4.2	Funktionelle Relevanz der untersuchten Polymorphismen des 5-HT2A Rezeptors.....	79
4.3	Vergleich der Ergebnisse zu den 5-HT2A Polymorphismen mit bestehender Literatur und abschließende Beurteilung.....	80
4.4	Allgemeine Betrachtung zur Methodik und Aussagekraft dieser Studie..	82
4.5	Ausblick	84
5	Zusammenfassung.....	86
6	Literaturverzeichnis	88
7	Danksagung	108

Abkürzungen und Fachbegriffe

Abkürzung	Erklärung
A	Adenin
Abb.	Abbildung
Aqua dest.	Aqua Destillata, destilliertes Wasser
AS	Aminosäure
bp	Basenpaare
C	Cytosin
CHIP	Children's Hospital Informatics Program
chr	Chromosom
cm	Zentimeter
CO ₂	Kohlendioxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DSM IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition, Diagnostisches Manual der amerikanischen Psychiatrie-Vereinigung (4. Auflage)
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
et al.	et altera, und andere
FHAM	Family History Assessment Module
G	Guanin
gDNA	genomische DNA
H ₂ O	Wasser
HCl	Salzsäure
HPA axis	hypothalamic pituitary adrenal axis, Hypothalamus-Hypophysen- Nebennieren Achse
ICD- 10	International Classification of Diseases, Klassifikationssystem für Krankheiten in der Weltgesundheitsorganisation
min.	Minute
ml	Milliliter
MMPI- 2	Minnesota Multiphasic Personality Inventory
mRNA	messenger RNA, Boten- RNA
n	Anzahl der Probanden

NaOH	Natriumhydroxid
ng	Nanogramm, 10^{-9} g
Nucleus	Nucleus, Kern
nm	Nanometer
NT	N- Terminus, Amino- Ende des DNA- Strangs
OR	Odds Ratio
p	Signifikanz, p-Wert, probability
PCR	Polymerase Chain Reaction
q	Queue, langer Arm des Chromosoms
QDNA	zu quantifizierende DNA, pico green
RNA	Ribonukleinsäure
RNase	Ribonuklease
rpm	rounds per minute, Umdrehungen pro Minute
RT	Raumtemperatur
SKID I	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV Achse I
SKID II	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV Achse II
SNP	Single nucleotide Polymorphism
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
Tab.	Tabelle
TE	Tris Base- EDTA- Mischung
TRP	Tryptophan
TZS	Therapiezentrum für Suizidgefährdete
U	Unit, Einheit der Enzymaktivität
UKE	Uniklinikum Hamburg Eppendorf
WHO	World Health Organization
λ	Lambda= Einheit für Wellenlänge
μ g	Mikrogramm, 10^{-6} g
μ l	Mikroliter, 10^{-6} l
°C	Grad Celsius
5- HT	5- Hydroxytryptamin (Serotonin)

1 Einleitung

1.1 Definition

Suizid (Selbsttötung, lat. Suicidium von sui= sich, caedere= töten) bezeichnet die absichtliche Selbstschädigung mit tödlichem Ausgang. Suizidversuch bezeichnet die absichtliche Selbstschädigung mit dem Ziel und, im weiteren Sinne, mit der Möglichkeit des tödlichen Ausgangs. Als Parasuizid wird eine Handlung mit nicht tödlichem Ausgang definiert, bei der ein Mensch sich absichtlich Verletzungen zufügt oder Medikamente, beziehungsweise Drogen außerhalb des anerkannten Dosisbereichs einnimmt (WHO). Der Begriff Suizidalität hingegen umfasst unterschiedliche Phänomene, die alle Gedanken und Handlungen einschliessen, die das Ziel verfolgen, das eigene Leben durch Selbsttötung zu beenden. Im Begriff der Suizidalität werden sowohl die Todeswünsche, die Suizidgedanken und die Absicht, sich das Leben zu nehmen, als auch die suizidale Handlung eingeschlossen. (Möller et al., 2005). Auch umfasst der Begriff Suizidalität den Wunsch nach Ruhe und Unterbrechung im Leben und die daraus resultierenden selbstschädigenden, das Leben gefährdenden Handlungen.

Die Begriffe Selbstmord und Freitod sind umgangssprachlich häufig benutzt, jedoch unpassend, da der Freitod den freien Willen beinhaltet, der im Rahmen einer psychiatrischen Erkrankung fraglich, und der Begriff Selbstmord falsch gewählt ist, da der Mord eine Straftat beinhaltet, die Selbsttötung, beziehungsweise die Teilnahme daran in Deutschland jedoch nicht strafbar sind (Helmich 2004). Eine den Suizid ausführende Person wird als Suizident bezeichnet.

1.2 Epidemiologie

Durch Suizid sterben in Deutschland jährlich mehr Menschen als bei Verkehrsunfällen, Drogen und Gewalttaten zusammen (Tabelle 1)

Tabelle 1: Vergleichszahlen zu Todesursachen in Deutschland

Todesursache	Anzahl der Todesfälle im Vergleich 1999/2005	Quelle
AIDS	587/ 720	1999, Stat.BA/ 2005 RKI
Gewalttaten	1357/ 869	1996, BKA/ 2005 BKA
Illegale Drogen	1565/ 1326	1996, BKA/ 2005 BKA
Verkehrsunfälle	7772/ 5361	1999, Stat.BA/2005
Suizid	11160/ 10260	1999, Stat.BA/ 2005

Laut statistischem Bundesamt starben im Jahre 2007 9402 Menschen in Deutschland an Suizid. Die Zahlen unterliegen nur leichten Schwankungen. Im Jahre 2000 waren es 11065. Eine Studie der Forschungsgruppe Suizidalität und Psychotherapie im Therapiezentrum für Suizidgefährdete (TZS) der Unikliniken Hamburg Eppendorf veröffentlichte Zahlen für das Jahr 2005, wonach, ebenfalls auf Statistiken des Bundesamtes beruhend, 10260 Menschen durch Suizid starben, 7523 Männer und 2737 Frauen. Die Suizidrate betrug 12,4 auf 100 000 Einwohner. (18,6 Männer, 6,5 Frauen). Somit liegt das Verhältnis Frauen zu Männern bei 1:2,9. Mit einer daraus resultierenden Suizidrate von etwa 12,4 zu 100 000 liegt die Bundesrepublik Deutschland im Vergleich zu einigen anderen europäischen Ländern höher, im Gesamtvergleich allerdings im Mittelfeld (Tabelle 2).

Einleitung

Tabelle 2: Beispiele für Suizidraten pro 100 000 Einwohner, 1999

Land	Rate
Ungarn	45,3
Österreich	28,3
Dänemark	27,8
Schweiz	22,8
Frankreich	22,7
Deutschland	19
Schweden	18,5
Bulgarien	16,3
Jugoslawien	16,1
Polen	13
Niederlande	11
England und Wales	8,9
Italien	7,6
Spanien	4,9
Griechenland	4,1

Dennoch ist nicht ausser Acht zu lassen, dass die Zahl der Suizidtoten über die Jahre zwar rückläufig ist (1980- 18451, 1995- 13887, 2005– 10260) dennoch deutlich über derer, die an einem Verkehrsunfall versterben liegt (1980- 13041, 1995- 8942, 2005- 5361).

Zudem muss eine hohe Dunkelziffer, die nicht mit einbezogen ist, ebenfalls berücksichtigt werden.

Die leicht rückläufigen Zahlen sind seit 2005 nahezu gleich bleibend. Das kann auf verschiedene Faktoren zurückgeführt werden, unter anderem die demographische Entwicklung in Deutschland. Da die Anzahl der vollendeten Suizide im höheren Lebensalter ansteigt, hat eine veränderte Altersstruktur der Gesellschaft Einfluss auf die Statistik. Die Verbesserung der notfall- und intensivmedizinischen Versorgung, sowie die Verbesserung der Versorgungsleistungen im Gesundheitssystem für Risikogruppen beeinflussen ebenfalls die Statistik (Schmidtke, 2000).

Nach Schätzung der World Health Organization (WHO) sterben jährlich weltweit etwa eine Million Menschen an Suizid, wobei die Zahlen laut WHO in den letzten 50

Jahren um 60% weltweit gestiegen sind. Damit ist der Suizid eine der drei häufigsten Todesursachen in der Gruppe der 15- 44 jährigen Menschen.

Suizide sind ab der Altersgruppe der 25- jährigen kontinuierlich zu finden, wie eine weitere Studie der WHO belegt (Tabelle 3).

Tabelle 3: Suizide in Deutschland nach Geschlecht und Altersgruppen getrennt für das Jahr 1999 (WHO,2003)

Alter	5-14	15-24	25-34	35-44	45-54	55-64	65-74	75 +	Gesamt
♂	26	595	1132	1581	1282	1400	1021	1045	8082
♀	9	133	265	439	438	582	463	749	3078
Gesamt	35	728	1379	2020	1720	1982	1484	1794	11160

Die Suizidrate ist in Großstädten deutlich höher als in ländlichen Gegenden, in den neuen Bundesländern höher als in den alten Bundesländern. Ebenfalls ist durch das statistische Bundesamt ein Unterschied zwischen einzelnen Bundesländern verdeutlicht worden. So hat Nordrhein-Westfalen die niedrigste Suizidrate mit 9,4 und Sachsen die höchste Suizidrate mit 16,2 je 100 000 Einwohner (Fiedler, 2007).

Außerdem gibt es epochale Schwankungen. Zum Beispiel ist in Kriegszeiten die Zahl der Suizide vermindert, in Zeiten wirtschaftlicher Krisen hingegen erhöht, wie Zahlen aus Japan belegen (Hegerl, 1999).

Während die Studien über Suizide sehr gewissenhaft verfolgt werden, gibt es nur ältere Zahlen zu Suizidversuchen, da diese aus datenschutzrechtlichen Gründen nicht erfasst werden. Studien, in denen die Häufigkeit geschätzt wurde, zeigen allerdings, dass Suizidversuche eher von Frauen als von Männern begangen werden, mit dem Verhältnis Frauen zu Männern 5,5: 1 (Schmidtke, 1998).

Es wird davon ausgegangen, dass die Parasuizidrate etwa 10-mal so hoch ist wie die Suizidrate. Jedoch ist auch hier von einer hohen Dunkelziffer auszugehen, da häufig die suizidalen Hintergründe einer Selbstschädigung verheimlicht und verschleiert werden. Verlässliche Statistiken hierzu gibt es aus datenschutzrechtlichen Gründen nicht. Studien wie beispielsweise die „WHO- Euro Multicentre Study on Parasuicide“ lassen lediglich die hohen Zahlen an Parasuiziden vermuten.

Einleitung

Die geschätzte Zahl der Forschungsgruppe „Suizidalität und Psychotherapie“ des Therapiezentrums für Suizidgefährdete (TZS) des Uniklinikums Hamburg Eppendorf (UKE) liegt bei 10 bis 15 mal so vielen Suizidversuchen wie Suiziden (Fiedler, 2007). Insgesamt kann davon ausgegangen werden, dass es bei etwa 8% der Durchschnittsbevölkerung zu einem beliebigen Zeitpunkt im Leben zu Suizidgedanken, und bei 2% der Durchschnittsbevölkerung zu einem Suizidversuch kommt.

1.3 Suizidmethoden

Die Arten, wie Menschen sich selbst töten, können in zwei Gruppen unterschieden werden (Bochnik, 1962). Zum einen gibt es die sogenannten „harten Methoden“, worunter Erschießen, Erhängen, Sturz aus großer Höhe und sich vor ein Fahrzeug zu werfen zählen. Diese Methoden sind bei den vollendeten Suiziden häufiger (50%), als bei den Suizidversuchen (25%) (Möller, 2001).

Hingegen dominieren die sogenannten „weichen“ Methoden, wie zum Beispiel Intoxikation durch Überdosierung von Medikamenten, deutlich bei den Suizidversuchen (Möller, 2001). Die Nomenklatur der „violenten“ (gewaltsamen) und „non-violenten“ (nichtgewaltsamen) Methoden nach Heila (Heila et al., 1997) führt zu der gleichen Einteilung. In der Regel führen die harten, bzw. violenten Methoden zu einer äußerlich deutlich sichtbaren Veränderung des Körpers (Rübenach, Reimann, 2007).

Die Methoden des Suizids sind stark abhängig von kulturellen Einflüssen, regionalen Faktoren (Möller et al, 2001), sowie der Verfügbarkeit und Zugänglichkeit unterschiedlicher Methoden (Wiesner, 2006). Auch spielen das Maß an Autoaggressivität und geschlechtsspezifisches Verhalten eine große Rolle (Schaller et al, 1987). In allen Altersgruppen wurden bei vollendetem Suizid überwiegend „harte“ Methoden angewandt, wobei insbesondere Männer und junge Menschen vermehrt zu „harten“ Suizidmethoden neigten. 52,6% der suizidierten Männer starben im Jahr 2006 durch Erhängen, Erdrosseln oder Ersticken. Bei den 10- 15-jährigen lagen die „harten“ Methoden sogar bei 81,5% (Rübenach, Reimann, 2007).

Mit Suiziden sind häufig weitere psychische Erkrankungen vergesellschaftet, die ebenfalls die Suizidmethode beeinflussen (Schaller et al., 1987). So wird von Menschen mit Psychosen häufig eine bizarre und meist grausam scheinende Form

der Selbsttötung gewählt, wie zum Beispiel das Abtrennen einer Extremität, sich selbst zu verbrennen, Tod durch Strom oder Anbohren des Schädels.

Grundsätzlich kann gesagt werden, dass die Wahl der Methode keinen Rückschluß auf die Ernsthaftigkeit des Versuches zulässt.

Eine Übersicht der Suizidmethoden in Zahlen zeigt Tabelle 4

Tabelle 4: Suizidmethoden bei einer Stichprobe von psychiatrischen Patienten mit Parasuizid (Möller, 2001)

Suizidmethode	Anteil in %
Intoxikation	64
Schnitt/-Stichverletzung	16
Verkehrsunfall absichtlich verursacht	6
Sturz aus Höhe	4
Erhängen, erdrosseln, ersticken	4
Sonstige	6

1.4 Risikofaktoren suizidalen Verhaltens

Der Begriff Risikofaktoren suizidalen Verhaltens beschreibt ein erhöhtes oder erniedrigtes Risiko einer bestimmten Personengruppe im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung. Eine Studie stellte fest, dass 90% der Suizidenten psychiatrische Vorerkrankungen aufwiesen, und weitere 5% von einer Posttraumatischen Belastungsstörung bzw. einer Anpassungsstörung betroffen waren (Black, Winokur, 1990).

1.4.1 Soziodemographische Faktoren

Anhand der 16 Bundesländer der Bundesrepublik Deutschland lassen sich deutliche Unterschiede im Bezug auf die Suizidraten von Frauen und Männern und den einzelnen Bundesländer untereinander aufweisen. Die höchsten Suizidraten bei Männern gibt es in Sachsen, Sachsen-Anhalt und Thüringen. Bei den Frauen weist Bayern neben Schleswig Holstein und Sachsen-Anhalt die höchsten Suizidraten auf. Die niedrigsten Zahlen der Suizidraten haben bei Frauen und Männern gleichermaßen Nordrhein-Westfalen und das Saarland (Statistik WHO, 2007).

Einleitung

Es sind also erhöhte Risikofaktoren für Suizidalität männliches Geschlecht und hohes Alter (Rhodes et al., 2008). Zwar werden Suizidversuche viermal häufiger von Frauen unternommen, die Wahrscheinlichkeit eines letalen Ausgangs ist bei männlichem Geschlecht aber um den Faktor drei erhöht (Kaplan et al., 1994). Diese Zahlen spiegeln auch die Zahlen des statistischen Bundesamtes wieder, wonach 2006 in Deutschland bei 1,9% der männlichen und 0,6 der weiblichen Sterbefälle Suizid die Todesursache war. Bei Angaben über die Rate der verübten Suizidversuche kann nur auf Hochrechnungen und Vermutungen zurückgegriffen werden. Diese betragen im Jahr 1996 122/100 000 für Männer, 147/100 000 für Frauen (Schmidtke et al., 1998).

Das Alter einer Person beeinflusst ebenfalls die Suizidrate. So steigt die Suizidrate im Alter erheblich an (Rübenach, Reimann, 2007). Lag die Zahl der Suizide in der Altersgruppe der unter 20-jährigen bei 5 pro 100 000, stieg sie in der Gruppe der über 70-jährigen auf über 50 pro 100 000 an. Im Jahresvergleich von 1980 bis 2006 stieg das durchschnittliche Sterbealter der Suizidenten von 52,3 auf 55,8 Jahre an. Analog stieg im gleichen Zeitraum die allgemeine Lebenserwartung von 71,8 auf 76,5 Jahre (Rübenach, Reimann, 2007).

Zusammenfassend können folgende soziodemographischen Variablen als beeinflussende Faktoren festgelegt werden:

Geschlecht: Männer begehen mehr Suizide, Frauen begehen mehr Suizidversuche (Statistik WHO, 2007).

Alter: Männer über 60 Jahre verüben statistisch häufiger einen Suizid. Bei Frauen über 60 Jahren ist die statistische Auswertung etwas verfälscht, da nur relativ wenige junge Frauen Suizide begehen. So kommt es bei den über 60-jährigen statistisch bei jeder zweiten Frau zum Suizid (Schmidtke, 2006). Der Höhepunkt der Suizidversuche liegt epidemiologisch zwischen 15 und 34 Jahren, wobei hier die weiblichen Suizidversuche überwiegen.

Personenstand: Die Suizidraten geschiedener, verwitweter oder lediger Menschen liegen signifikant über den liierter Peronen (WHO, 2007)

Arbeitsstand: Arbeitslosigkeit beeinflusst die Suizidversuchs- und Suizidrate (WHO, 2007)

Glaube und Religion: In Europa läuft der Gradient der Suizidraten vom protestantischen Norden zum katholischeren Süden, wo niedrigere Suizidraten vorliegen (WHO, 2007)

Soziale Schicht: Bei niedrigeren sozialen Schichten häuft sich die Rate der Suizidversuche. Bei den über 60-jährigen der gehobenen sozialen Schichten liegen die Raten des vollzogenen Suizids höher.

Stadt und Land: In ländlichen Gebieten liegt die Suizidrate unter der der städtischen. Eine Ausnahme bilden hier die Länder der ehemalige Sowjetunion und Asien, insbesondere China, wo das Stadt- Land Gefälle umgekehrt ist (WHO, 2007).

Klima und Jahreszeiten: Suizide treten sowohl in der nördlichen als auch der südlichen Hemisphäre gehäuft im Frühling und Sommer auf.

Auch das soziale Umfeld kann mitbestimmend sein für Suizidalität, Beispiele dafür wären Vereinsamung, Suizide im sozialen Umfeld und belastende Lebensereignisse (Coccaro et al., 1993). Zusätzlich zählen ein bereits versuchter Suizid, Alter, andauernde Arbeitslosigkeit und finanzielle Krisen zu Faktoren, die die Suizidalität beeinflussen. In vielen Fällen von Suizid kommen mehrere Faktoren zusammen (Möller et al., 2001).

Neben Alter und Geschlecht sind auch andere Risikofaktoren häufiger in der Literatur zu finden, die Auswirkungen auf suizidales Verhalten zu haben scheinen. Zu nennen wären Familienstand, sozialer Status, Schulbildung und berufliche Tätigkeit (Platt, 1984). Auch sind Veränderungen der aktuellen Lebenssituation oder belastende Lebensereignisse mögliche Risikofaktoren (Welch, 2001).

1.4.2 Persönlichkeitsvariablen

Lange Zeit hielt sich die Ansicht, dass Suizidalität eine direkte Folge psychischer Erkrankungen sei. Tatsächlich kann bei vielen Suizidenten eine psychiatrische Störung nachgewiesen werden (Harris, Barraclough, 1997, Mortensen et al. 2000,

Einleitung

Wolfersdorf, Neher, 2003). Ob allerdings tatsächlich der ursächliche Zusammenhang besteht ist fraglich, da die Mehrzahl der psychiatrischen Patienten keine suizidalen Handlungen begeht (Mann, 2003, Ebert, Loew, 2001, Thorncroft, 1993). Die psychiatrische Forschung orientiert sich immer mehr an Verhaltensmerkmalen, die diagnoseübergreifend bei psychiatrischen Patienten vorkommen. Aggressivität hat hierbei ein hohes Potential für ein solches Merkmal. In Form von Suizidalität tritt aggressives Verhalten bei Erkrankungen des schizophrenen Formenkreises, manischen und depressiven Erkrankungen, Persönlichkeitsstörungen und Alkoholabhängigkeit, sowie Suchterkrankungen auf (Ackenheil, 2000).

Impulsivität wird in der Literatur häufig als Risikofaktor für Suizidalität beschrieben (Apter, Ofek, 2001). Suizidalität ist der Verhaltensebene nach meistens als impulsive Handlung zu betrachten. Voraussicht oder die Betrachtung von Konsequenzen spielen hierbei keine Rolle. Mehr als die Hälfte aller suizidalen Handlungen erfolgen innerhalb eines Zeitraums von fünf Minuten des darüber Nachdenkens. Selbst bei Patienten, die Pläne machen, entscheidet der Impuls letztendlich die Handlung (Jamison, 2000).

Ein weiteres Persönlichkeitsmerkmal, das in Zusammenhang mit suizidalem Verhalten gesehen wird, ist die Ängstlichkeit. Eine Longitudinalstudie zeigte 1990, dass Ängstlichkeitssymptome bei affektiv erkrankten Personen stark mit vollzogenem Suizid innerhalb eines Jahres nach der Indexuntersuchung verbunden waren (Fawcett, 1990, Apter, Ofek, 2001).

Es gibt auch Studien die zeigen, dass Angststörungen mit einem erhöhten Suizidrisiko einhergehen (Apter, Ofek, 2001).

Depressionen stehen ebenso in einem Zusammenhang mit Angstsymptomen (Kosky et al., 1986). Dies zeigte eine Studie von Kosky et al., bei der suizidale, depressive Patienten, von denen 39% einen Suizidversuch unternommen hatten, in 76,4% der Fälle einen erhöhten Angstlevel aufwiesen. Sie unterschieden sich allerdings nicht signifikant von dem, die nichtsuizidale depressive Patienten erreicht hatten.

Apter et al. stellten die Hypothese auf, dass im Moment der suizidalen Handlung der Angstzustand reduziert sei. Sie maßen den Eigenschaftsangstlevel suizidaler Patienten und fanden heraus, dass Patienten mit Suizidversuchen höhere Eigenschaftsangstlevel aufwiesen, als Patienten ohne Suizidversuche, während die Zustandsangstlevel beider Gruppen keine Unterschiede aufwiesen (Apter et al., 1993, Ofek, 2001).

Ein gänzlich neu entdeckter, anderer Zusammenhang wurde von Mittendorfer- Rutz et al. postuliert. Sie stellten einen Zusammenhang zwischen der Körpergröße eines Säuglings und dem statistischen Einfluss auf spätere Suizidhandlungen her. Hierzu wurden 300.000 schwedische Bürger mit entsprechenden Daten aus dem Geburtenregister korreliert. Das Ergebnis zeigte, dass eine Körpergröße unter 47cm die Wahrscheinlichkeit einer späteren Suizidalität um das 2,5-fache erhöhte. Das Risiko für Suizidalität bei Frühgeborenen stiege demnach auf das 4-fache an. Ein kleinerer Kopfumfang bei der Geburt determinierte zudem eine höhere Wahrscheinlichkeit für Suizidgedanken und Suizidversuche. Die Ergebnisse dieser Studie werden über die Serotoninhypothese begründet (Mittendorfer- Rutz et al., 2008).

1.4.3 Psychiatrische Erkrankungen

Mehr als 90% aller Patienten mit Suizidversuchen in der Krankengeschichte leiden an einer psychiatrischen Erkrankung (Barracloagh et al., 1974, Moscicki, 2001). Bei 95% der an Suizid verstorbenen Patienten konnte eine psychiatrische Diagnose erstellt werden (Litman, 1989). Die Wahrscheinlichkeit, dass ein Suizid durchgeführt wird, steigt um den Faktor 3 bis 12, wenn der Patient an einer psychiatrischen Erkrankung leidet (Evenson, 1982).

Die am häufigsten assoziierten psychiatrischen Erkrankungen sind Depressionen, Suchterkrankungen, Psychosen und Persönlichkeitsstörungen (Möller et al. 2003). Seltener sind Panik- und Angststörungen sowie posttraumatische Stresssyndrome (Kotler, 2001) (Tabelle 5).

Tabelle 5: Häufigkeit der psychiatrischen Erkrankungen (Möller, 2003)

Diagnose	Häufigkeit
Depression	30-87%
Suchterkrankungen	2-78%
Psychosen	3-27%
Persönlichkeitsstörungen	0-27%

Einleitung

Patienten mit einer psychiatrischen Komorbidität scheinen ein erhöhtes Risiko im Vergleich zu Patienten mit nur einer psychiatrischen Erkrankung zu haben (Lonqvist, 2000).

Patienten, die bereits einen Suizidversuch unternommen haben, werden mit einer Wahrscheinlichkeit, die 5-6 mal höher liegt, einen weiteren Suizidversuch unternehmen.

50% der Suizidopfer haben bereits in der Vorgeschichte einen Suizidversuch unternommen (Pokorny, 1983). Einer von 100 Überlebenden eines Suizidversuchs wird innerhalb eines Jahres nach dem ersten Suizidversuch an einem weiteren Suizid versterben. Dieses Risiko ist um fast das 100fache erhöht im Vergleich zur Gesamtbevölkerung (Hawton, 1992).

Neben psychosozialen Erklärungsmodellen zur Suizidalität, die suizidales Verhalten als Folge von emotionalen und sozialen Lebensbedingungen sehen, gibt es inzwischen viele Studien, die genetische oder biologische Ursachen vermuten und belegen.

1.4.4 Genetische Risikofaktoren

Eine Vielzahl von Familienstudien zeigt, dass die Angehörigen von parasuizidalen oder suizidalen Patienten ebenfalls gehäuft Suizide oder Suizidversuche unternehmen (Roy et al., 1997).

Diese Häufung ist unabhängig von einer psychiatrischen Diagnose. Diese Tatsache der familiären Häufung weist auf einen genetischen Zusammenhang hin, der von Umweltfaktoren, Geschlecht, Alter und soziodemographischen Komponenten unabhängig zu sein scheint.

In sieben Studien konnten Roy et al. die Einbeziehung von genetischen Faktoren statt Umweltfaktoren nachweisen. Hierbei ergibt sich auch eine höhere durchschnittliche Übereinstimmung von suizidalem Verhalten bei eineiigen Zwillingen im Vergleich zu zweieiigen Zwillingen und Blutsverwandten.

Drei weitere Studien zeigen ein signifikant höheres suizidales Risiko für biologisch verwandte Personen, die einen Suizidversuch unternommen haben, im Vergleich mit adoptierten, gesunden Verwandten von Suizidenten oder auch psychisch kranken Verwandten, auch wenn diese in jungen Jahren adoptiert wurden.

Molekulargenetische Studien haben Zusammenhänge von serotonergen Proteinen und suizidalem Verhalten determiniert. Komplexe Interaktionen von Herkunfts- und Umweltrisiken, die sogenannte multifaktorielle Genese und schützende Faktoren für Suizide und psychische Erkrankungen werden zwar angenommen, konnten aber noch nicht eigenständig differenziert werden.

Familiäre oder genetische Risiken für psychiatrische Faktoren, die stark mit Suizidalität in Zusammenhang stehen, konnten nicht fortwährend vom reinen suizidalen Risiko unterschieden werden (Baldessarini, Hennen et al., 2008).

Für die schwedische Suizidologin Träskman-Bendz und ihren amerikanischen Kollegen Mann zeigt sich eine multifaktorielle Genese aus einer heterogenen Gruppe psychiatrischer Diagnosen, unterschiedlicher Temperamente und biologischen Markern, die zu suizidalem Verhalten führen (Träskman-Bendz, 2000, Mann, 2000).

1.4.4.1 Familiäre Aggregation

Ein familiär gehäuftes Auftreten von Suizidversuchen und vollendeten Suiziden ist seit langem bekannt (Maier, 1995) und es liegen mehr als dreißig Familienstudien zum Thema suizidalen Verhaltens vor (Jamison, 2000). Die meisten dieser Studien weisen zwar keinen Diagnose übergreifenden Ansatz auf oder erfüllen die Kriterien epidemiologischer Studien, erlauben aber dennoch gemeinsame Schlußfolgerungen (Maier, 1995).

Eine große Metaanalyse, die 21 Studien beinhaltet und fast 25.000 Suizidenten und deren Angehörige untersuchte, errechnete ein gepooltes relatives Risiko von 5,01 für die Familienangehörigen von Suizidenten verglichen mit der Kontrollgruppe (Baldessarini, Hennen, 2004). Daraus kann abgeleitet werden, dass die Verwandten ersten und zweiten Grades von suizidalen Patienten im Vergleich zu Kontrollpersonen ein 5-fach erhöhtes Risiko haben, selbst einen Suizidversuch zu begehen. Allerdings kann auch bei der großen Zahl der Probanden nicht außer Acht gelassen werden, dass die reine familiäre Belastung nicht von den anderen beeinflussenden Faktoren, wie zum Beispiel den Umwelteinflüssen etc. abgegrenzt werden kann.

Brent et al. zeigten 1994, dass Kinder, deren Eltern suizidales Verhalten zeigten, besonders aber bei vollendetem Suizid der Eltern, ein erhöhtes Risiko für eigenes suizidales Verhalten haben. Ebenso haben Kinder mit Eltern, die an affektiven

Einleitung

Störungen leiden, Abhängigkeitssymptome und Substanzmissbrauch zeigen oder Aggression und kriminelles Verhalten in der Vorgeschichte haben, ein erhöhtes Suizidrisiko (Brent et al., 1994).

Diese Beobachtungen lassen folgern, dass suizidales Verhalten in Abhängigkeit von assoziierten psychopathologischen Bedingungen übertragen wird. Die familiäre Belastung mit Suizidversuchen erhöht das Suizidrisiko, wie die untersuchten Fälle in Diagnose übergreifender Form zeigen (Maier, 1995).

Fast alle Familienstudien fanden eine erhöhte Suizidrate bei Angehörigen von Suizidenten, die einen Suizid vollzogen oder einen ernsthaften Versuch unternommen hatten. Zum Teil haben diese Angehörigen eine zwei bis dreifach höhere familiäre Belastung als Vergleichspersonen (Jamison, 2000). Bei Suizidenten, die eine gewaltsame Methode des Suizids, wie Erschießen, Erhängen oder Sturz aus großer Höhe anwendeten, ist eine familiäre Belastung mit Suiziden besonders wahrscheinlich, häufig ebenfalls mit gewaltsamen Suiziden (Jamison, 2000).

Familienstudien weisen zum einen auf genetische Zusammenhänge hin, zum anderen helfen sie, Einflüsse der Umgebung, wie bereits angesprochen, zu identifizieren. Eine besondere Bedeutung wird hier der Gewaltanwendung in der Familie beigemessen. Im Vergleich zu Kontrollen ist das Verhalten der Eltern jugendlicher Suizidenten durch vermehrte Aggressivität und Konflikte gekennzeichnet (Coccaro et al., 1993).

Mitterauer konnte neben einer Häufung suizidalen Verhaltens in einigen Familien mit depressiver und manisch-depressiver Belastung, das Fehlen von suizidalem Verhalten in vielen Familien mit affektiven Störungen nachweisen (Mitterauer, 1990).

Linkowski et al. fanden, wie auch schon Jamison 2000, dass in Familien depressiver Patienten mit Suizidversuchen gehäuft Suizidversuche auftraten, wenn die Patienten selbst eine gewaltsame Methode für ihren Suizid gewählt hatten (Linkowski et al., 1985).

Suizidales Verhalten geht zu 90% mit weiteren psychischen Störungen einher. Dies lässt aber nicht auf eine zwangsläufige Koexistenz schließen. Zwar ist Suizidalität kein von weiteren psychiatrischen Erkrankungen unabhängiges, dennoch ein eigenständiges Phänomen, da nur ein Teil der Personen, die an diesen Störungen leiden, auch tatsächlich suizidale Handlungen durchführen.

Die Forschungsgruppe der Harvard Medical School um Baldessarini und Hennen beschreibt einen Zusammenhang zwischen Herkunft und dem Risiko für suizidales

Verhalten. Diese Hypothese wird gestützt auf intensive und fortwährende Beobachtungen von über 20 kontrollierten Familienstudien, in denen sich ein 5-fach erhöhtes Suizidrisiko für Angehörige von Suizidenten zeigte. Im Vergleich dazu zeigten die Kontrollgruppen dieser Studie die Häufungen nicht. Das familiäre Risiko für einen vollzogenen Suizid war größer als für Suizidversuche, verglichen mit der Kontrollgruppe (Baldessarini, Hennen et al., 2004).

1.4.4.2 Zwillingsstudien

Um genetische von psychologischen und umgebungsbedingten Einflüssen zu trennen, scheinen Zwillingsstudien maßgebliche Forschungszwecke zu erfüllen. In einer Metaanalyse wurden 399 Zwillingspaare untersucht, von denen sich ein Zwilling suizidiert hatte. In der Summe sind dieses 129 homozygote und 270 heterozygote Zwillingspaare. Die kumulativen Konkordanzraten für vollendeten Suizid in diesen Studien lagen bei 11,8% für eineiige Zwillingspaare, und bei 1,8% für zweieiige Zwillingspaare (Roy et al., 1999). In einer späteren Studie 2002, wurden von Roy erneut 28 Zwillingspaare studiert, 13 homozygote und 15 heterozygote Zwillinge. Auch bei dieser Studie war die Konkordanz, also die Zahl derer, bei der nach dem ersten Zwilling auch der zweite einen Suizid vollzogen hat, deutlich auf Seiten der homozygoten Zwillinge. 4 der 13 eineiigen Zwillinge hatten ebenfalls einen Suizid unternommen, aber kein Zwillingspartner der 15 Zweieiigen.

Eine weitere Zwillingsstudie umfasste 2737 Zwillingspaare und ergab eine Konkordanzrate von 23,1% für schweren Suizidversuch bei homozygoten Zwillingen, die um ein 17-faches höher lag als in der Gesamtstichprobe, und auf eine Heterabilität von 55% schließen lässt. Auch nach Berücksichtigung psychiatrischer Erkrankungen blieb ein 4-fach erhöhtes Restrisiko für suizidales Verhalten bei den Zwillingsgeschwistern der homozygoten Paare, von denen der eine bereits einen Suizidversuch unternommen hatte, bestehen (Statham et al., 1998).

Die im Vergleich wesentlich höheren Konkordanzraten bei eineiigen Zwillingen machen eine genetische Teilverursachung wahrscheinlich. Da sie aber in diesen Studien nur 11,8% beträgt, obwohl es sich um genetisch identisch ausgestattete Individuen handelt, dürfen nichtgenetische Ursachenfaktoren nicht außer Acht gelassen werden.

1.4.4.3 Adoptionsstudien

Aus wissenschaftlicher Sicht stellt eine Adoption eine geeignete Möglichkeit dar, genetische und umgebungsbedingte Einflüsse auseinander zu halten. Besteht eine bedeutende genetische Komponente bei der Ausbildung suizidalen Verhaltens, so ist bei adoptierten suizidalen Kindern eine deutliche höhere Suizidrate in den biologischen Familien als in den Adoptivfamilien zu erwarten.

Bisher gibt es erst wenige Adoptionsstudien, die unter dem Gesichtspunkt der Suizidalität Vergleiche anstellten, wobei alle sich auf ein dänisches Adoptionsregister beziehen.

Eine dieser Studien geht von 57 Adoptivkindern aus, die sich suizidierten (Schulsinger et al., 1979). Im Vergleich zu parallelisierten Adoptivkindern ohne Suizidversuch fand sich eine deutliche höhere Suizidrate in den biologischen Familien der Suizidenten. 12 der biologischen Verwandten hatten ebenfalls einen Suizid vollzogen, während lediglich zwei der biologischen Verwandten der Vergleichsgruppe Suizid begingen. In den Adoptivfamilien beider Vergleichsgruppen fanden keine Suizide statt (Schulsinger et al., 1979; Jamison 2000).

Die Studie zeigt somit die Relevanz genetischer Einflussfaktoren bei suizidalem Verhalten.

Da nur bei sechs der zwölf Verwandten mit Suiziden Kontakt mit psychiatrischen Einrichtungen bestand, stellten die Autoren zusätzlich die Hypothese auf, dass die genetische Komponente der Suizidalität nicht auf die genetische Komponente von assoziierten psychiatrischen Störungen zurückzuführen sei (Schulsinger et al., 1979, Jamison, 2000).

In einer weiteren Studie wurde eine Stichprobe von 71 affektiv kranken Adoptivkindern untersucht, die mit 71 Adoptivkindern ohne psychiatrische Krankheitsgeschichte verglichen wurden (Wender et al., 1986). Fünfzehn der neunzehn Suizide waren bei biologischen Verwandten von Kindern mit affektiven Störungen nachgewiesen. 73% der affektiv erkrankten Adoptivkinder zeigten jedoch kein Suizidverhalten.

1.4.4.4 Molekulargenetik

Psychiatrische Erkrankungen stellen ein komplexes Merkmal multifaktorieller Genese dar (Wijsman, Amos, 1997). Die Ausprägung wird determiniert durch genetische Kriterien und Umweltfaktoren. Im Bezug auf die unterschiedlichen

Erscheinungsformen und deren Ausprägung, sowie die Häufigkeit des Auftretens psychiatrischer Erkrankungen gründet sich das derzeit plausibelste formalgenetische Modell auf die Annahme einer polygenen Übertragung unter Beteiligung verschiedener Gene, die im einzelnen jeweils vermutlich nur eine geringe Gewichtung haben, sowie die Interaktion mit Umweltvariablen (Courtet et al., 2005).

Vorausgesetzt, dass ein Merkmal eine signifikante Heritabilität aufweist, besteht die theoretische Möglichkeit, die Gene zu identifizieren, die zu einer Merkmalsausprägung beitragen. Die Heritabilität ist eine Grundvoraussetzung für den Identifikationsversuch einzelner Gene (Wijsman, Amos, 1997).

Derzeit sind die Hauptgene für Suizidalität noch nicht erkannt. Ebenfalls können weder über die Anzahl prädisponierender Genloci, noch das vom einzelnen Genlocus übertragene anteilige Risiko oder Grad der Wechselwirkung zwischen den Genloci genaue Aussagen getroffen werden. Zur Verifizierung chromosomaler Regionen, in denen sich funktioniell bedeutsame DNA- Varianten befinden, gibt es zwei Ansätze. Zum einen bieten Kopplungsstudien die Möglichkeit zur hypothesenfreien Suche nach chromosomalen Regionen, in denen sich prädisponierende Gene befinden. Zum anderen gibt es die hypothesengeleiteten Assoziationsstudien, die eine ausreichende Empfindlichkeit aufweisen, auch geringe Geneffekte zu ermitteln. Sie sind allerdings auf die Auswahl plausibler Kandidatengene angewiesen. Beide Studien ergänzen sich in ihren Ergebnissen.

In den vergangenen Jahren hat die Nutzung der Micro Array Technologie ermöglicht, große Teile des Genoms zu untersuchen, und somit hypothesenfrei neue Gene oder Erkenntnisse über die Stoffwechselwege zu gewinnen.

1.4.4.4.1 Kopplungsstudien

Die Identifizierung genetischer Grundlagen psychiatrischer Erkrankungen basiert auf der Identifizierung chromosomaler Regionen, mittels Kopplungsstudien, sowie der Verifizierung einer Assoziation verschiedener Kandidatengene mit der zu untersuchenden Erkrankung, den Assoziationsstudien. Durch die technische Weiterentwicklung der jüngeren Zeit ist es mit Hilfe der Microarray Analyse möglich, bis zu einer Million Polymorphismen gleichzeitig zu untersuchen. Eine Kombination der genomweiten Assoziationsanalysen mit Fokus auf bereits identifizierte Kandidatengene, mit den ebenfalls genomweiten Kopplungsstudien, stellt eine Möglichkeit dar, in Zukunft weitreichende Experimente zur Ursachenforschung

Einleitung

komplexer Erkrankungen durchzuführen, und den genetischen Grundlagen näher zu kommen.

Kopplungsstudien dienen der genomweiten Suche und möglichen Identifikation von chromosomalen Regionen, in denen Gene lokalisiert sein können, die für die untersuchte Erkrankung prädisponieren. Hierzu wird untersucht, ob innerhalb einer Familie ein Markerallel überdurchschnittlich häufig mit einer Krankheit zusammen vererbt wird. Dieses Phänomen nennt man cosegregation (Böddeker, Ziegler, 2000). Die theoretische Grundlage dieser Studien beruht darauf, dass eine, dem Phänotyp zugrunde liegende DNA-Sequenz und ein bestimmter Marker mit umso geringerer Wahrscheinlichkeit durch Rekombination voneinander getrennt werden, je näher sie auf einem Chromosom beieinander liegen. Dies wird als Transmission disequilibrium (Vererbungsgleichgewicht) bezeichnet.

Zu suizidalem Verhalten wurde eine Kopplungsanalyse an Patienten mit Alkoholabhängigkeit und deren Familienangehörigen durchgeführt (Hesselbrock et al., 2004). Der Phänotyp „Suizidversuch“ zeigte eine genomweit signifikante Kopplung mit einem Marker auf Chromosom 2 (2p11).

Im Rahmen einer Untersuchung von bipolaren Störungen wurde ebenfalls für den Phänotyp „Suizidversuch“ auf Chromosom 2 eine angrenzende Region (2p12) identifiziert (Zubenko et al., 2004). Zudem wurden noch weitere signifikante Kopplungen zu Regionen auf den Chromosomen 5,6,8 und 11 identifiziert. Untersuchungen von Cheng et al., die ebenfalls bipolare Störungen zum Inhalt hatten, identifizierten für den Phänotyp „Suizidversuch“ ebenfalls eine Kopplung mit dem Marker auf Chromosom 2 (2q24.1). Für den Phänotyp ergaben sich auch Kopplungshinweise auf Chromosom 6 (6q25) (Cheng et al., 2006).

Die bisher erzielten Forschungsergebnisse sind jedoch noch relativ uneinheitlich. Da es sich bei suizidalem Verhalten um ein multifaktoriell beeinflusstes, komplexes Geschehen handelt, kann davon ausgegangen werden, dass eine genetische Prädisposition, die durch multiple genetische Faktoren determiniert wird in Kombination mit Umwelteinflüssen, Lebensumständen und anderen bereits genannten Faktoren nach Überschreiten der individuellen Toleranzschwelle zum Suizid führen kann (Mc Guffin et al., 2001)

1.4.4.4.2 Assoziationsstudien

Der Vorteil von Assoziationsstudien für die Identifizierung genetischer Grundlagen komplexer und polygener Phänomene liegt in der Möglichkeit, auch Suszeptibilitätsgene mit geringen Effekten zu identifizieren. Dazu wird die Allelhäufigkeit eines Polymorphismus in Fall-Kontrollstudien zwischen Patienten- und Kontrollgruppen verglichen. Daneben lassen sich aus der Kombination mehrerer Allele Haplotypen schätzen, die eine Signalverstärkung bewirken können.

In Assoziationsstudien werden für jeden SNP in allen Individuen einer Studiengruppe die entsprechenden Allele bestimmt. Legt man die Annahme zugrunde, dass ein bestimmter Marker keinerlei Beziehung zum untersuchten quantitativen Merkmal aufweist, wird von einer vergleichbaren Verteilung der Allele in sämtlichen Bereichen der Merkmalsausprägung ausgegangen. Es ist also in diesem Fall kein Unterschied im Hinblick auf die Häufigkeit der einzelnen Allele eines Markers zwischen Individuengruppen mit unterschiedlichen Merkmalsausprägungen.

Ziel dieser Studien ist es, einen Zusammenhang zwischen suizidalem Verhalten und potentiell funktionsrelevanten Genvarianten oder Haplotypen in einem Kandidatengen zu klären. Eine Assoziation liegt vor, wenn der spezifische genetische Marker in der untersuchten Population häufiger bei den Personen mit Suizidalität vorkommt als bei den nichtsuizidalen Gesunden oder psychiatrischen Kontrollpersonen.

Im Bezug auf die genetische Disposition suizidalen Verhaltens wurden bisher vorrangig biologische Kandidatengene verschiedener Neurotransmittersysteme untersucht, die sich aus ersten Ergebnissen der Ursachenforschung suizidalen Verhaltens, und daraus abgeleiteter Hypothesen ergaben. Hier standen hauptsächlich die serotonergen Gene im Zentrum des wissenschaftlichen Interesses (Asberg et al., 1976), sowie die adrenergen und dopaminergen Systeme (Rujescu et al., 2006).

Metaanalysen bestätigen die Involvierung des Tryptophan- Hydroxylase1 Gens (TPH1), sowie des Serotonintransporter Gens (5HTT) an der Diathese von Suizidalität (Anguelova et al., 2003, Bellivier et al., 2004, Rujescu et al., 2003). Für alle anderen Gene sind die Ergebnisse bisher meist widersprüchlich und es lassen sich keine eindeutigen und endgültigen Aussagen treffen. Insgesamt sprechen diese Ergebnisse nicht für eine starke Beteiligung genetischer Variationen in

Serotoninrezeptoren an der Suszeptibilität für suizidales Verhalten (Rujescu et al., 2009).

1.5 Diathese- Stress Modell

Das Risiko für suizidales Verhalten wird durch unterschiedliche psychiatrische Grunderkrankungen signifikant erhöht. Dazu gehören vor allem depressive und bipolare Erkrankungen, Erkrankungen aus dem schizophrenen Formenkreis, sowie Sucht- und Angsterkrankungen oder Persönlichkeitsstörungen. Neben den genetischen Faktoren für die genannten psychiatrischen Erkrankungen wird auch eine genetische Komponente für suizidales Verhalten angenommen. Nach aktuellem Stand liegt die Annahme nahe, dass eine neurobiologisch determinierte oder vermittelte Disposition zu suizidalem Verhalten am ehesten aus einer nosologieübergreifenden Impuls- und Aggressions-Kontrollstörung resultiert (Brunner, Bronisch, 2002).

Die Hypothese besagt, dass ein serotonerges Defizit im ventralen präfrontalen Cortex zu einer Impuls- und Aggressionskontrollstörung prädisponieren könnte.

Molekulargenetische Studien fokussierten auf serotonerge Kandidatengene (Brunner, Bronisch, 2002). Die Ergebnisse sind jedoch teilweise inkonsistent.

Die „Serotonin- Hypothese der Suizidalität“ (Mann, 1998) postuliert ein präsynaptisches serotonerges Defizit im präfrontalen Cortex, das zu impulsiven und autoaggressiven Handlungen prädisponieren könnte. Eben die mangelnde Vorhersehbarkeit und Kontrolle des suizidalen Verhaltens stellt ein großes Problem in der Behandlung suizidaler Patienten dar.

Nach dem Diathese-Stress Modell nach Mann hängt das Risiko für eine suizidale Handlung von einer Diathese und einem Stressor ab (Mann, 1999) (Abbildung 1).

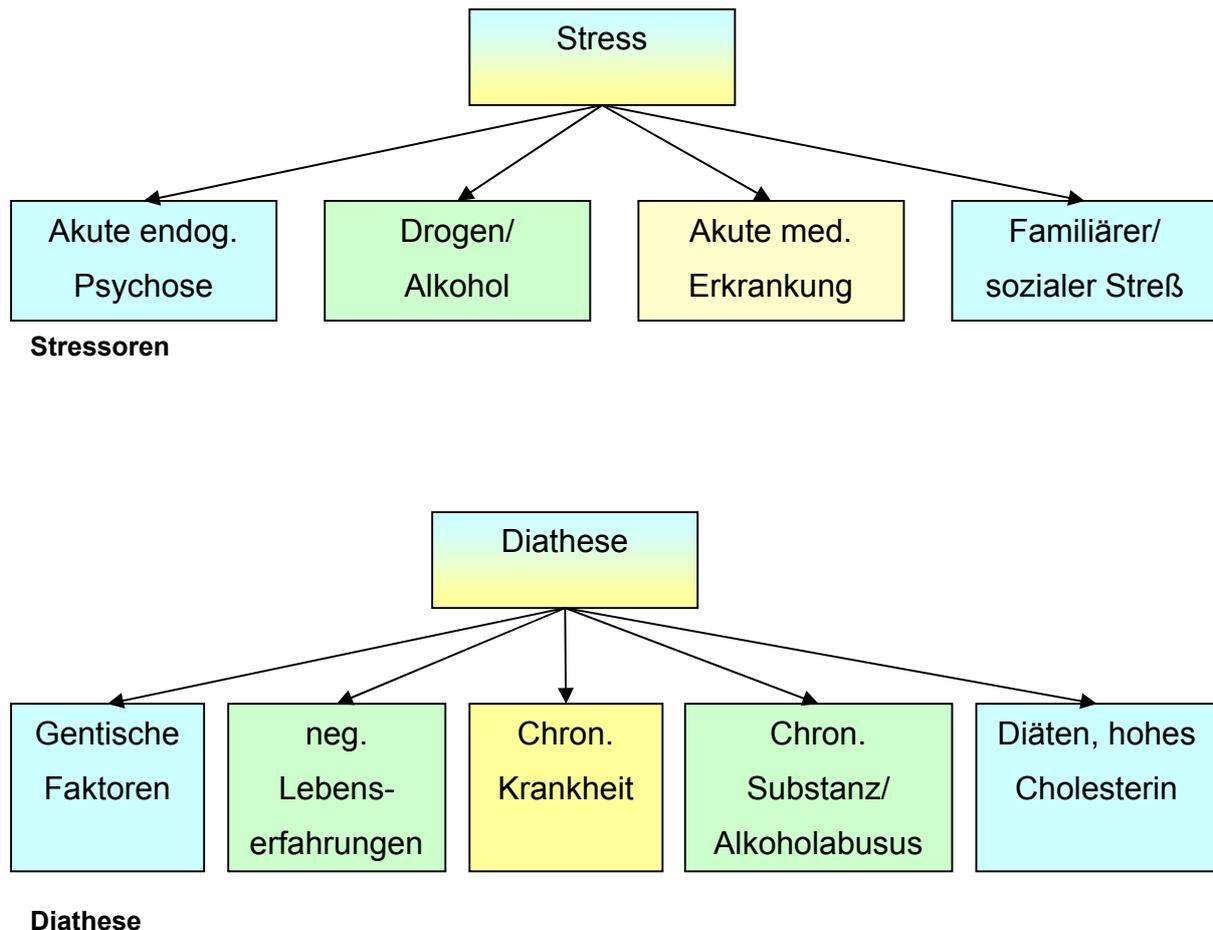


Abbildung 1: Diathese-Stress Modell nach Mann, 2001

Dabei wird durch die Diathese eine Neigung zum Ausdruck gebracht, nach der eine Person vermehrt Suizidgedanken ausgesetzt ist und aufgrund einer erhöhten Impulsivität den suizidalen Gedanken eher nachgibt. Dies ist seine Vulnerabilität. Der Stressor senkt die Hemmschwelle und leitet die suizidale Handlung ein. Suizidalität stellt einerseits ein eigenständiges Phänomen dar, wohingegen es andererseits auch als eine prinzipielle Problematik psychiatrischer Erkrankungen anzusehen ist, da über 90% der Suizidopfer zum Todeszeitpunkt eine psychiatrische Diagnose hatten (Isometsa et al., 1995). Im Gegensatz dazu begehen jedoch die wenigsten psychiatrischen Patienten jemals Suizid (Jamison, 1986, Roy, Linnoila, 1986). Daher scheinen psychiatrische Erkrankungen zwar einen Risikofaktor, jedoch keine hinreichende Bedingung für suizidale Handlungen darzustellen.

1.6 Serotonerges System

1.6.1 Serotonin

Bereits seit dem frühen 19. Jahrhundert ist bekannt, dass nach Abzug der geronnenen Bestandteile im Serum eine Substanz nachzuweisen ist, die eine Muskelkontraktion der glatten Muskulatur bewirkt und den vaskulären Tonus erhöht. Bereits 1948 gelang es einer Forschungsgruppe um Rapport diese Substanz, das Indolamin 5-Hydroxytryptamin (5-HT) in Eingeweiden und Blutserum als vasokonstriktiven Stoff nachzuweisen (Rapport et al., 1948). Aufgrund der beiden nachgewiesenen physiologischen Eigenschaften erhielt es den Namen Serotonin. Serotonin (Abbildung 2), ist das biogene Amin von 5-Hydroxytryptophan. Es wirkt als Mediatorsubstanz und Neurotransmitter. Nach der Oxidation zu 5-Hydroxyindolessigsäure scheidet der Körper den Metaboliten im Harn aus. Serotonin wirkt dosisabhängig und ist größtenteils in den enterochromaffinen Zellen der Darmschleimhaut vorhanden, wo es die Darmmotilität des Verdauungstraktes steigert, sowie in den Thrombozyten, im ZNS, v.a. im Hypothalamus, ebenso wie in den Granula der basophilen Granulozyten (Rodenbeck et al., 2005). Ebenfalls nimmt es Einfluß auf die glatte Muskulatur von Gefäßen, sowie den Respirationstrakt (Kreutzig, 2002).

Serotonin ist neben Dopamin und den Aminosäuretransmittern Glutamat und γ -Amino- buttersäure der wichtigste Botenstoff des zentralen Nervensystems. Es steuert unter anderem kognitive, emotionale und neuroendokrine Prozesse. Zu letzteren gehören essentielle Funktionen wie die Regulation des zirkadianen Rhythmus, die Kontrolle des Ess- und Sexualverhaltens, die Verarbeitung von Schmerzreizen und die Entstehung von Angst und Aggression (Coccaro et al. 1998). Die Beteiligung des Serotonin an kognitiven Funktionen wie Lernen und Gedächtnis führt zu intensiver Erforschung des Neurotransmitters im Zusammenhang mit kognitiven Störungen. Die Rolle des Serotonins im Bezug auf das Schlafverhalten ist ebenfalls bedeutend. Im Wachzustand liegt die Rate der Ausschüttung etwa 2mal so hoch wie im Tiefschlaf. Im REM Schlaf bleibt sie sogar ganz aus (Rodenbeck et al., 2005). Auch die Mitbeteiligung an anderen psychiatrischen Erkrankungen wie Morbus Alzheimer, Migräne, Suchterkrankungen und Essstörungen wird angenommen und teils untersucht. Die bedeutende Rolle des Serotonins in der

Pathophysiologie der Depression ist hingegen bereits unbestritten (Jokisch, Bellebaum, Daum, 2005).

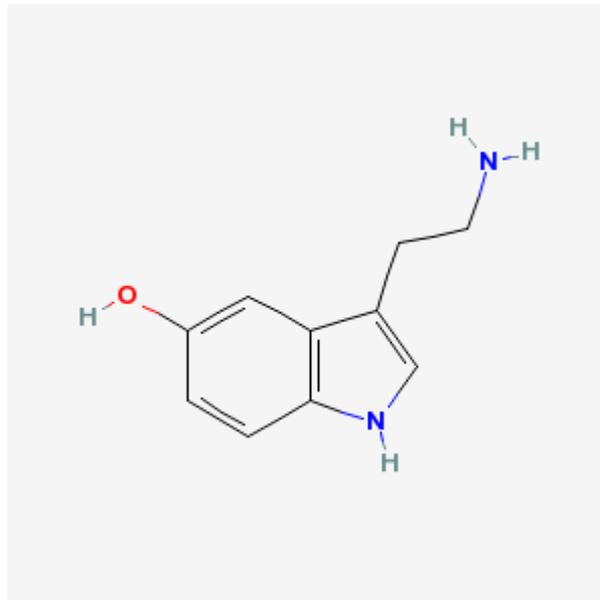


Abbildung 2: Strukturformel von Serotonin

1.6.2 Serotoninmetabolismus

Serotonin gehört mit den Katecholaminen Dopamin, Noradrenalin und Adrenalin, sowie Histamin zur Klasse der Monoaminotransmitter (v.Bohlen und Halbach et al., 2003). Ausgangssubstanz für Serotonin ist das L-Tryptophan, eine essentielle Aminosäure (Kreutzig, 2002). Durch eine OH-Gruppe und ein primäres Amin, dessen Stickstoffgruppe als Protonenakzeptor fungiert, hat Serotonin hydrophile Eigenschaften (Frazer et al., 1999) und kann somit die Blut-Hirn-Schranke nicht passieren. Daher muss es vor Ort in den zuständigen Neuronen synthetisiert werden. Im Plasma ist L-Tryptophan, das lipophile Eigenschaften besitzt an das Eiweiß Albumin gebunden und muss von diesem gelöst werden, um über einen Aminosäuretransporter die Blut-Hirn-Schranke zu passieren (Koch, 2006, Rodenbeck et al., 2005). Das Enzym Tryptophanhydroxylase oxidiert das L-Tryptophan im Zytoplasma der Perykarien der serotonergen Neuronen zu 5-Hydroxytryptophan. Das 5-HT wird in einer anschließenden Reaktion von der DOPA-Decarboxylase zu Serotonin decarboxyliert. Das so entstandene Serotonin wird über den aktiven Transport in Vesikel aufgenommen und gespeichert. Bei Eintreffen eines Aktionspotentials wird über einen Calciumeinstrom die Exocytose der Speichervesikel ausgelöst und das enthaltene Serotonin wird in den synaptischen

Einleitung

Spalt abgegeben. Die freigesetzten Transmittermoleküle können prä- und postsynaptisch wirken. Die Erregung postsynaptischer Rezeptoren bewirkt die Auslösung einer Kettenreaktion und somit eine Reizweiterleitung. Die präsynaptische Wirkung verhindert hingegen eine erneute Ausschüttung weiterer Neurotransmitter im Sinne einer negativen Rückkopplung (Frazer et al., 1999). Das freigesetzte Serotonin wird mit Hilfe der Monoaminoxidase (MAO) und Aldehyddehydroxygenase teilweise katabolisiert und ebenfalls wieder in die synaptischen Terminale aufgenommen (Löffler et al., 2007)

1.6.3 Serotonerges System

Serotonin ist einer der evolutionär ältesten zentralen Neurotransmitter und reguliert die weitreichendste Umsetzung der Generierung des Verhaltens im Gehirn von Wirbeltieren. Das serotonerge System ist hierbei durch eine weitverzweigte anatomische Verbreitung im zentralen Nervensystem gekennzeichnet. Mit einer Anzahl von unter 500 000 Neuronen ist die Gesamtzahl der serotonergen Neurone aber relativ gering (Lachenmayer et al. 2005). Diese konzentrieren sich in Zellgruppen entlang der Mittellinie des Hirnstamms (Molliver, 1987). Die Zellgruppen werden als Nuclei Raphe bezeichnet. Die Perykarien der Raphekerne haben lange verzweigte Axone, die in den gesamten Kortex und das Striatum ausstrahlen (Rodenbeck et al, 2005). Zwischen Hippocampus und Thalamus besteht eine besonders ausgeprägte Verbindung.

Die serotonergen Zellen sind alle multipolar, unterscheiden sich in ihrer Größe und Orientierung je nach Lokalisation. Während die Neurone im Bereich der Mittellinie der Raphekerne klein bis mittelgroß sind, sind die weiter von der Mittellinie entfernten größer. Die größten Zellen befinden sich im Bereich der serotonergen Nuclei, die peripher liegen (Tork, 1990).

Die serotonergen Neurone befinden sich allerdings nicht ausschließlich in den Raphekernen, und nicht alle Zellen der Raphekerne sind serotonerg (Frazer et al., 1999). Nur ein kleiner Teile der serotonergen Axone bildet klassische Synapsen, der größere Teil endet im Parenchym und setzt Serotonin in den intrazellulären Raum frei (Lachenmayer et al., 2005). Hierdurch werden vor allem von den Astrozyten exprimierte Rezeptoren aktiviert (Rodenbeck et al., 2005).

1.6.4 Serotonerge Bahnen im Gehirn

Das serotonerge System ist anatomisch weit im Zentralnervensystem verbreitet. Meist sind serotonerge Nervenzellen große retikuläre Neuronen, die bis zu 500.000 Kontakte zu anderen Neuronen ausbilden können (Lachenmayer, Baumgartner, 2005). Die meisten serotonergen Neuronen haben ihre Zellkörper in den verschiedenen Kernen der Raphe, aber auch im Pons cerebri, dem Tegmentum, sowie der medianen und paramedianen Formatio reticularis des Mesencephalon und der Medulla oblongata sind Zellkörper vorhanden.

Die serotonergen Neurone der rostralen Nuclei Raphe projizieren ihre Fasern aufsteigend in den Frontalcortex, das Striatum, die Amygdala, den Thalamus und Hypothalamus, Hippocampus, Substantia nigra, nucleus suprachiasmaticus und auch das Kleinhirn. Die aufsteigenden serotonergen Innervierungen des Vorderhirns kommen vorrangig aus zwei Regionen des Mesencephalons, den Nuclei raphe dorsalis und medianus. Der Nucleus raphe dorsalis innerviert den Frontalcortex, das laterale Septum und das Striatum. Der Nucleus raphe medianus innerviert den dorsalen und ventralen Hippocampus, Hypothalamus und das mediane Septum. Die caudal liegenden serotonergen Gruppen entspringen der absteigenden serotonergen Projektion in den Hirnstamm, die Medulla oblongata und das Rückenmark (Knobelmann et al., 2001a) (Abbildung 3).

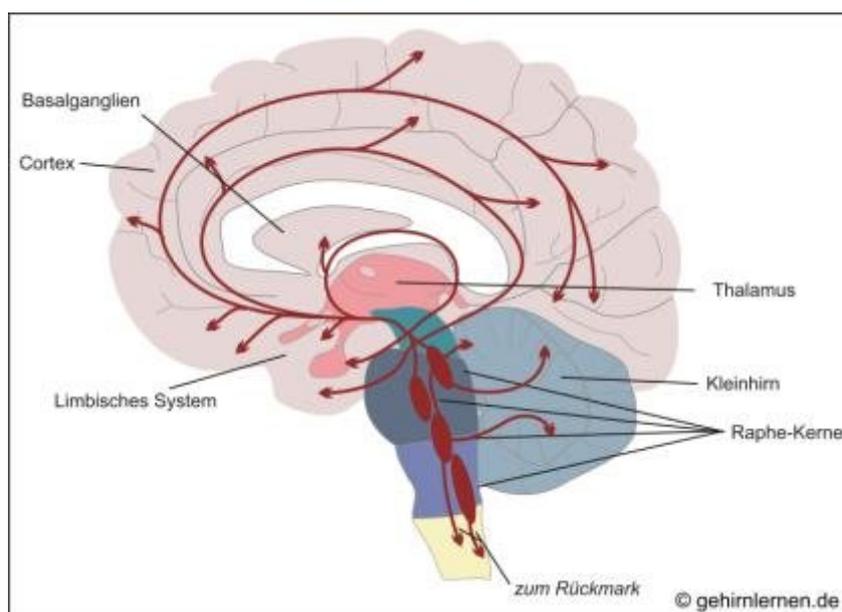


Abbildung 3 Serotonerge Bahnen im Gehirn

1.6.5 Serotoninrezeptor 5-HT2A

Das breite Wirkungsspektrum des Serotonin lässt sich durch die große Vielfalt an Rezeptortypen erklären, die sowohl prä- als auch postsynaptisch lokalisiert sind. Sie können sowohl exzitatorisch als auch inhibitorisch wirksam sein. Als erster Serotoninrezeptor wurde der 5-HT_{1C} Rezeptor kloniert, dem in den folgenden Jahren viele folgten (Frazer et al., 1999). Bis heute sind über 20 Serotoninrezeptoren identifiziert worden. Durch die Menge der gefundenen Rezeptoren wurde eine eindeutige und einheitliche Nomenklatur erforderlich. So wurden nach Identifikation zweier weiterer Rezeptoren, die dem bereits beschriebenen 5-HT₂ Rezeptor in ihrer Sequenzanalyse sehr ähnlich waren, als 5-HT_{2B} und 5-HT_{2C} bezeichnet, während der zuerst beschriebene das Suffix A erhielt (Hoyer et al., 1994).

Aufgrund der Sequenzhomologien lassen sich die Rezeptoren sieben Klassen zuordnen, die die Bezeichnung 5-HT₁ bis 5-HT₇ erhielten.

Zur Familie der 5-HT₂ Rezeptoren zählen die drei Mitglieder 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} und 5-HT_{2C}. Eine Besonderheit gegenüber anderen 5-HT Rezeptoren stellt ihre atypische Aktivitätsregulierung dar. Sowohl die Behandlung mit agonistischen als auch antagonistischen Substanzen, wie zum Beispiel atypische Neuroleptika bedingen eine funktionelle Downregulierung der Rezeptordichte (Oekelen et al., 2003)

Sie bewirken durch die Aktivierung der Hydrolyse von Phosphoinositid eine Stimulierung der phosphoinositid-spezifischen Phospholipase C (PLC) (Ozaki et al., 1997). Nach Bindung eines Agonisten kommt es vorwiegend zur Aktivierung der Phospholipase C über G-Proteine. Die Phospholipase C katalysiert die Hydrolyse von Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphonat zu Inositol-1,4,5-triphosphat (IP₃) und Diacylglycerol (DAG). IP₃ ist ein second messenger und bedingt die Freisetzung von Ca²⁺ aus dem endoplasmatischen Retikulum. DAG aktiviert die Proteinkinase C (Norton et al., 2005). Anatomisch sind die 5-HT_{2A} Rezeptoren hauptsächlich im Claustrum, dem cerebralen Cortex, den olfactorischen Tuberkeln und dem Nucleus accumbens vorhanden (Hoyer et al., 1994).

Im Frontalcortex, einem der Hauptprojektionsgebiete des serotonergen Systems ist der 5-HT_{2A} Rezeptor die quantitativ bedeutsamste Bindungsstelle (Larisch, 2001).

Die Rezeptoren der 5-HT₂ Klasse sind für die Plastizität des visuellen Cortex und auch für die Gehirnentwicklung relevant (Li, 2004). In Zusammenhang mit Schizophrenie wurde der 5-HT_{2A} Rezeptor in verschiedenen Studien untersucht. Mehrfach wurde ein Polymorphismus des 5-HT_{2A} Rezeptorgens (T102C) bestätigt,

der mit der Erkrankung assoziiert ist (Inayama et al., 1996, Lohmueller et al., 2003, Abdolmaleky et al., 2004). Zudem zeigte sich eine erniedrigte Rezeptordichte im frontalen Cortex bei schizophrenen Patienten (Dean, Hayes, 1996). Weiterhin wurden Assoziationen mit dem 5-HT_{2A} Rezeptor und dessen Polymorphismen in verschiedenen Erkrankungen und Verhaltensweisen gefunden. Hierunter die Anorexie (Collier et al., 1997, Frank et al., 2002, Tozzi et al., 2003), Nikotinabusus und kardiovaskuläre Krankheiten (Markovitz et al., 1999), optische und akustische Halluzinationen bei der Alzheimer Demenz (Holmes et al., 1998), depressive Störungen (Zheng et al., 1997), Zwangsstörungen (Enoch et al., 1998, Walitza et al., 2002), sowie Alkoholabhängigkeit (Hwu, Chen, 2000, Nakamura et al., 1999) und verminderte Gedächtnisleistungen (De Quervain et al., 2003)

1.6.6 Serotonin und suizidales Verhalten

Verschiedene psychiatrische Grunderkrankungen wie Depressionen, Schizophrenien, Suchterkrankungen, Angsterkrankungen oder Persönlichkeitsstörungen erhöhen das Risiko für suizidales Verhalten. Zusätzlich zu den genetischen Faktoren für die zugrunde liegenden psychiatrischen Erkrankungen scheint es auch eine separate genetische Komponente für suizidales Verhalten zu geben. Derzeit ist davon auszugehen, dass eine neurobiologisch determinierte oder vermittelte Disposition zu suizidalem Verhalten am ehesten aus einer diagnoseübergreifenden Impuls- und Aggressionskontrollstörung resultiert. (Brunner, Bronisch, 2002).

In den letzten Jahren wurde die Hypothese aufgestellt, dass ein serotonerges Defizit im ventralen präfrontalen Cortex zu einer Impuls- und Aggressionskontrollstörung prädisponieren könnte. Molekulargenetische Studien fokussierten serotonerge Kandidatengene (Brunner, Bronisch, 2002). Die Ergebnisse sind jedoch unstet und teilweise inkonsistent. Neben dem serotonergen System wurde auch eine Dysregulation des HPA- Systems nachgewiesen. Eine Reihe von Befunden weist auf Veränderungen des Cholesterin- und Lipidstoffwechsels hin (Brunner, Bronisch, 2002).

Eines der größten Probleme in der Behandlung suizidaler Patienten ist die mangelnde Vorhersehbarkeit und Kontrolle suizidalen Verhaltens. Dies ist teilweise auf die vermehrte Impulsivität mit überschießender Autoaggressivität zurückzuführen. Empirische Studien zeigen, dass Impulsivität und Autoaggressivität nur schlecht

Einleitung

pharmakologisch und psychotherapeutisch beeinflussbar sind. Zudem ist bei vielen Patienten nicht die Einsicht vorhanden, sich nach einem Suizidversuch einer längerfristigen Therapie zu unterziehen (Brunner, Bronisch, 2001). Die „Serotonin-Hypothese der Suizidalität“ (Mann, 1998) postuliert ein präsynaptisches serotonerges Defizit im präfrontalen Cortex, das zu impulsiven und autoaggressiven Verhaltensweisen disponieren könnte. So stellt sich das auch klinisch dar. Über 90% der Suizidenten haben eine Korrelation zu psychiatrischen Erkrankungen; davon die meisten eine Major Depression. In einer großen Zahl von postmortem Studien an Suizidopfern kristallisierten sich Aberrationen des serotonergen, noradrenergen und dopaminergen Systems heraus. Im serotonergen System zeigten sich durchweg Defizite sowohl in präsynaptischen serotonergen Bindungskapazitäten, als auch auf der serotonergen Transporterseite. Diese Studien zeigten eher eine Häufung im ventralen Präfrontalcortex als im dorsolateralen Präfrontalcortex. Variationen sind obligat (Mann et al, 2000) (siehe Abbildung 4).

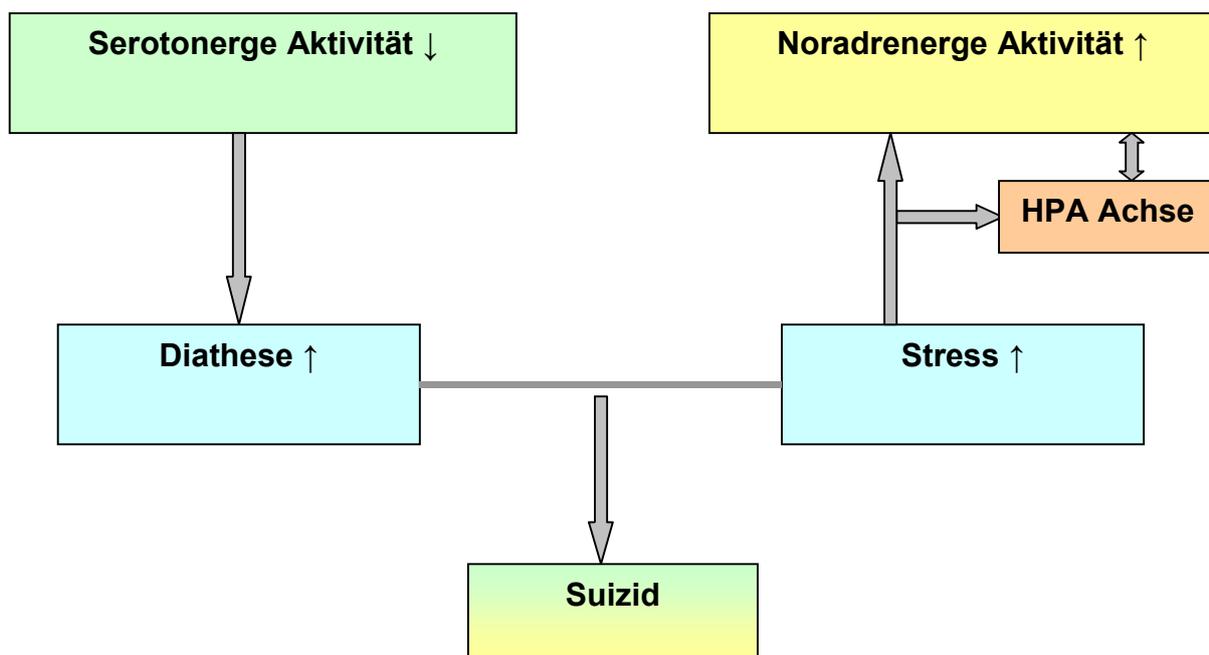


Abbildung 4: Neurobiologie des vollendeten Suizids (Mann et al., 2001)

Die neurobiologisch determinierte Anfälligkeit für Suizidalität ist am ehesten durch multiple genetische Faktoren bedingt, welche nach dem Modell von Brunner und Bronisch einen „intermediären Phänotypen“ formen (Brunner, Bronisch, 2002). Dieser Phänotyp zeichnet sich durch eine gesteigerte Impulsivität, Aggressionskontrollstörung, Irritabilität mit einem Hang zur dysphorischen Gereiztheit

und einer Neigung zum Substanzabusus aus (Mann et al., 2001). Die Forschung konzentrierte sich bisher im Wesentlichen auf die Gene des serotonergen und des Stresshormonsystems. 1976 wurde bereits von Asberg et al. ein Zusammenhang zwischen suizidalem Verhalten und dem serotonergen Transmittersystem dargestellt (Asberg et al., 1976). Seitdem wurde in mehreren Studien nachgewiesen, dass Patienten mit einem erniedrigten 5-Hydroxyindolessigsäure (5HIAA) Spiegel im Liquor vermehrt aggressiv impulsives Verhalten zeigten (Lester, 1995, Bloom-Kupfer, 1994). Diese Ergebnisse waren unabhängig von den jeweiligen psychopathologischen Befunden. Die Hauptresultate waren bei der Studie von Lester eine erniedrigte 5HIAA Konzentration bei Patienten nach einem Suizidversuch, und bei Patienten, die eine sogenannte „harte“ Suizidmethode verwendet hatten, sowie Patienten, die ein erhöhtes Risiko für weitere suizidale Handlungen hatten (Lester, 1995). Es wurde die Hypothese einer Diathese für Impulsivität, Autoaggressivität und Suizidalität durch eine verminderte serotoningesteuerte Innervation des präfrontalen Cortex (PFC) aufgestellt (Brunner, Bronisch, 1999). In diesem Zusammenhang konnten verschiedene post mortem Studien bei Suizidenten eine verminderte Zahl der präsynaptischen Serotonin Transporter (Mann et al., 2000) und eine übersteigerte Funktion der postsynaptischen 5HT-Rezeptoren (5-HT_{1A} und 5-HT_{2A}) im PFC nachweisen (Arango et al., 1997). Andere Studien deuten auf Veränderungen des aggressiven oder suizidalen Verhaltens im Zusammenhang mit Variationen im 5-HT_{2A} Rezeptor Gens hin (Giegling et al., 2006). Eine Vielzahl von Studien untersuchten ähnliche Gene, die die zentrale Serotoninfunktion beeinflussen. Hierbei sind die Tryptophanhydroxylase (TPH), die Monoaminoxidase (MAO) und andere Serotonin Rezeptorgene zu nennen. Jedoch gibt es hier kontroverse Ergebnisse, was auf die Komplexität der neurobiologischen Vorgänge zurückzuführen ist. So konnten teilweise nachgewiesene Assoziationen in Folgestudien nicht reproduziert werden (Savitz et al., 2006).

Du et al zeigten in einer Studie, dass das 102C-Allel des 5-HT_{2A} Rezeptor Gens eine signifikante Assoziation mit Suizidgedanken depressiver Patienten zeigt. Patienten mit einem 102C/C Genotyp hatten in dieser Studie mehr Suizidgedanken als T/C oder T/T Genotypen (Du et al., 2001).neurobiologische Studien zeigten, dass bei depressiven Patienten und Suizidenten die Anzahl der Serotonin Transporter Bindungsstellen im Gehirn vermindert und die Dichte der 5-HT_{2A} Rezeptoren erhöht

Einleitung

ist (Du et al., 2001). Es wurde vermutet, dass die Anzahl der Rezeptoren in Korrelation mit dem Grad der Suizidalität steht (Neuger et al., 1999).

Da die 5HT_{2A} Rezeptordichte auf Thrombozyten im Vergleich zu anderen HT-Rezeptoren erhöht ist, gibt es diverse Studien, die einen Zusammenhang mit Suizidalität und der Erhöhung der 5-HT_{2A} Rezeptordichte nahe legen.

Hrdina et al. zeigten bereits 1996, dass eine erhöhte thrombozytäre 5-HT_{2A} Rezeptordichte bei Suizidenten und depressiven Patienten, sowie bei schizophrenen Patienten besteht (Hrdina, 1996).

Alda et al. kamen zu dem gleichen Ergebnis, indem sie die thrombozytäre 5-HT_{2A} Rezeptordichte bei 60 depressiven Patienten mit 40 Kontrollen verglichen. Es wurde untersucht, in wie weit sich die Rezeptordichte bei Patienten und den gesunden Probanden unterschied. Es zeigten sich drei Verteilungsmuster mit geringer, mittlerer und hoher Rezeptordichte, wobei es signifikante Unterschiede zwischen gesunden Probanden und nicht suizidalen Patienten und den Suizidenten gab. Letztere hatten eine deutlich erhöhte Rezeptordichte (Alda et al., 2000).

In Anbetracht der Vielzahl der Forschungsansätze im Bereich der Genetik und der Neurobiologie verfestigt sich der Eindruck, dass es eine genetische Komponente des suizidalen Verhaltens gibt, die unabhängig von der psychiatrischen Erkrankung des Suizidenten ist. Zudem zeigt die Mehrheit der Studien, dass eine enge Verbindung zwischen der Suizidalität und einer Störung der Impuls- und Aggressionskontrolle besteht.

1.7 Fragestellung

Suizidales Verhalten ist durch das Zusammenspiel komplexer Faktoren bedingt. Dazu gehören Umwelteinflüsse, genetische Faktoren und deren Interaktion (Balazic, Marusic, 2005). Das serotonerge System gilt als beeinflussender Faktor des suizidalen Verhaltens, und Ergebnisse aus neurochemischen, *postmortem*-, genetischen-, und Imaging Studien deuten auf ein serotonerges Defizit im präfrontalen Cortex von Suizidenten hin, das die Wahrscheinlichkeit eines Suizids in Stresssituationen erhöht (Mann et al., 2003). Verschiedene Studien konnten im präfrontalen Cortex von Suizidenten eine Hochregulation der postsynaptischen 5-HT_{2A} Rezeptoren nachweisen (Arango et al., 1997). Ebenfalls ist einer anderen Studie zufolge die 5-HT_{2A} Rezeptoranzahl auf Thrombozyten bei Suizidenten erhöht

(Pandey et al., 1997, Alda et al., 2000). Veränderungen an diesem Rezeptorgen legen nahe, dass sie die Bindungsfähigkeiten des Rezeptors verändern, sodass bei Suizidenten zusätzlich eine erhöhte Bindung im präfrontalen Cortex oder den Thrombozyten vorhanden ist im Vergleich zu Kontrollen (Mann et al., 2003).

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Identifikation signifikanter Variationen im 5-HT_{2A} Rezeptorgen mit suizidalem Verhalten. Dazu wurde DNA aus *postmortem* Gewebe des präfrontalen Cortex von 101 Suizidenten sowie Blut von 323 Kontrollen extrahiert und die Polymorphismen rs643627 und rs594242 genotypisiert.

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Material zur Präparation von *Postmortem* Gewebe

Tabelle 6: Geräte

Gerät	Typ	Hersteller
Gefrierschrank	Hera freeze (-80°C)	Haereus
Gefrierschrank	Bosch Economic (-20°C)	Bosch
Kühlplatten	Kryoplatten	Eppendorf GmbH, Hamburg
Präparationsbesteck	Kirschen Einsteigerset 7K	Kirschen Manufaktur, Kerb
Parenchymmesser	X50CrMoV15	Solingen
Laminiergerät	Laminiergerät HL9	Leitz
Styroporboxen	Thermobox 1/1 GN	Barth
Schneideunterlage	Eloxiertes Zinkblech	Albea GmbH, Friesenheim
Abwurfbehälter	Medi- Entsorgungsbehälter	Semadeni, Düsseldorf
Schere		Roth, Karlsruhe
Schutzbrille	Ultra Spec	Uvex
Aufbewahrungsschale	Nierenschale 17 cm	Contacto- Bander
Desinfektionswanne	PVC- DesiWanne	Semadeni, Düsseldorf
Pinzetten		Roth, Karlsruhe
Spatel		Roth, Karlsruhe
Tablettunterlage	Instrumententablett, Melaminharz, weiß	Peske, Aindling, Pichl
Beleuchtung, Kaltlicht	KL 1500 Elektronik	Leica

Tabelle 7: Verbrauchsmaterialien

Material	Typ	Hersteller
Sterile Abdeckung	Secu-Drape	Sengewald, Rohrdorf
Auflagevlies	Mehrfachwischtücher, 43x30cm	Roth, Karlsruhe
Gefrierbeutel klein, 50x80 mm	Rotilabo- Probenbeutel	Wagner + Munz
Gefrierbeutel groß, 150x220 mm	Rotilabo- Probenbeutel	Wagner + Munz
Gefrierbeutel groß, 180x220 mm	Rotilabo- Probenbeutel	Wagner + Munz
Unterlage Polyethylenbeutel blau	PE-LD Beutel, weich	Semadeni, Düsseldorf
Unterlage Polyethylenbeutel weiß	PE-LD Beutel, weich	Semadeni, Düsseldorf
Laminierfolie	DIN A4, 250 Mikron	Leitz
Trockentücher Cellulose	Kimwipes Lite Präzisions- tücher	Kimberly-Clark
Schürzen	Einmalschürzen, 100 Stück	Roth, Karlsruhe
Mundschutz	BEEM- Visma G	Braun, Melsungen
Handschuhe	Sensicare Value	Maxxim Medical
Skalpelle, steril	Disposable Scalpel № 11 „Feather“	PFM
Gewebeabwurf	Sekurora-Problemmüllbehälter	Roth, Karlsruhe

Tabelle 8: Chemikalien

Chemikalie	Typ	Hersteller
NaOH	Natriumhydroxid ISO	Roth, Karlsruhe
Bigusept-Spray, gebrauchsfertig	Sprühdesinfektion	Peske, oHG
Rohrsolin FF	Flächendesinfektion	Roth, Karlsruhe
Baktolin Basic	Waschlotion	Bode Chemie, Hamburg
Sterillium	Hautdesinfektion	Roth, Karlsruhe
CO ₂	Trockeneis	TKD

2.1.2 Material zur DNA Extraktion

Tabelle 9: Geräte zur DNA Extraktion

Gerät	Typ	Hersteller
Waagen	Explorer	Ohaus Corporation, USA
	PRECISA 1620 C	PRECISA Instruments AG, Dietikon
Zentrifuge	Zentrifuge 5804	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Hamburg
Zentrifugenröhrchen	PP-Röhrchen steril	Greiner Labortechnik
Mikrozentrifuge	Zentrifuge 5415 C	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Hamburg
Thermocycler	Mastercycler	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Hamburg
Tiefkühlschrank	Economic (– 20 °C)	Bosch, München
Ultra-Tiefkühlschrank	ULT 1386 VOE (-80 °C)	REVCO Scientific Inc., Asheville, USA
Pipetten		Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Hamburg
Pipettenspitzen		Sarstedt, Nümbrecht
Photometer	Genequant	Pharmacia Biotech
Wasserbad	WB 14	Memmert GmbH u. CoKG, Schwabhausen

Tabelle 10: Chemikalien

Chemikalie	Hersteller
Ethanol absolut	Carl Roth GmbH, Karlsruhe
QIAamp DNA Blood Maxi Kit	QIAGEN GmbH, Hilden, Germany
Streptokinase	QIAGEN GmbH, Hilden, Germany
H ₂ O	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen

Tabelle 11: Datenbanken, Internetseiten

Anwendung	Software	Adresse
SNP Suche	NCBI SNP	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=snp
SNP Suche	Ensembl	http://www.ensembl.org
SNP Suche	SNPper	http://iipga:iipga@snpper.chip.org/bio/snpper-enter-gene
SNP Suche	LocusLink	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/LocusLink
Gensequenz	NCBI Entrez	http://www.ncbi.nlm.nih.gov /

2.1.3 Material zur DNA Konzentrationsbestimmung

Tabelle 12: Verbrauchsmaterialien

Material	Hersteller
96 well Platte	Greiner
Selbstklebende Aluminiumfolie	Eppendorf GmbH, Hamburg
50 ml Konische PP- Röhrchen	Sarstedt

Tabelle 13: Reagenzien

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

Tabelle 14: Geräte

Geräte	Hersteller
Tecan GENios Workstation 150	Applied Biosystems
Vortexer Reax	Heidolph

2.2 Methoden

2.2.1 Studiendesign und Vorbedingungen zur Studiendurchführung

Es handelt sich bei dieser Arbeit um eine Kandidatengen- Fall- Kontroll- Studie, bei der Patienten mit Suizidversuchen in der Krankengeschichte, Patienten mit einem vollzogenen Suizid und gesunde Probanden ohne Suizidversuch oder psychiatrische Erkrankung teilnahmen.

Die Studiendurchführung erfolgte mit Genehmigung der lokalen Ethikkommission, sowie der Zustimmung der Ethikkommission der Johann Wolfgang von Goethe Universität, Frankfurt am Main. Alle lebenden Probanden wurden ausführlich über die Studie informiert, es wurde ebenfalls eine sorgfältige Erklärung über die anonymisierte Verwendung der Ergebnisse erteilt. Die Teilnahme an der Studie erfolgte auf freiwilliger Basis. In den Fällen der Patienten mit vollendetem Suizid, deren Gehirne uns von Frau Dr. Barbara Schneider, Universität Frankfurt zur Bearbeitung überlassen wurden, bestand eine Einwilligung den Körper post mortem der Wissenschaft anteilig zu überlassen.

2.2.2 Studienteilnehmer: Kontrollgruppe

Als Studienteilnehmer wurde eine Gruppe von 323 nicht verwandten, gesunden, per Zufallsauswahl aus der allgemeinen Bevölkerung Bayerns ausgewählten Freiwilligen untersucht. Es handelte sich um 142 männliche und 181 weibliche Studienteilnehmer, deren Alter zwischen 19 und 79 Jahren lag. Sie wurden schriftlich auf dem Postweg kontaktiert. Um eigene neuropsychiatrische Störungen oder solche bei Verwandten ersten Grades auszuschließen, wurden vor Studieneinschluß mehrere Untersuchungen durchgeführt wie ein Telefonscreening, sowie die Erfassung einer schriftlichen medizinischen und psychiatrischen Anamnese und jene ihrer Verwandten ersten Grades. Als nächstes wurden sie zu einem umfassenden

Interview eingeladen, das das Strukturierte Klinische Interview (SKID) für DSM-IV, SKID I und SKID II einschloß (First et al. 1997; Wittchen et al. 1997, siehe 2.2.4.1). Psychiatrische Diagnosen unter Verwandten ersten Grades wurden mit Hilfe des Family History Assessment Module (Rice et al. 1995, siehe 2.2.4.3) beurteilt. Testpersonen mit relevanten somatischen Krankheiten oder Achse I/II- Störungen (lifetime) wurden ausgeschlossen. Ebenso erfolgte ein Ausschluß bei positiver psychiatrischer Familienanamnese.

2.2.3 Studienteilnehmer: Suizidenten

Untersucht wurde eine Gruppe von Suizidenten (n=101) bestehend aus männlichen und weiblichen europäischen Patienten mit vollendetem Suizid, entsprechend der DSM-IV Kriterien. Die Gehirne wurden in einem Zeitraum von 1997 bis 2003 im Großraum Frankfurt rekrutiert. Die Patienten waren zwischen 18 und 65 Jahren alt. Besondere Sorgfalt wurde darauf verwendet, nur Patienten mit eindeutiger Selbsttötung ohne Fremdeinwirkung in die Studie einzubeziehen (Tabelle 15). Alle Suizide wurden durch die Rechtsmedizin als sichere Suizide klassifiziert. Einzelheiten zur suizidalen Handlung, oder einer zum Todeszeitpunkt bestehenden psychiatrischen Diagnose sind nicht bekannt, da keine retrospektive psychologische Autopsie erfolgte, und keine ausreichenden medizinischen Unterlagen vorhanden waren.

Tabelle 15: Klassifizierung der postmortem Gewebeprobe

Männlich	Weiblich	Durchschnittsalter	1	2	3	4	5	Gesamt
57	44	50 (49-76)	36%	9%	16%	2%	38%	100%
			36,36	9,09	16,16	2,02	38,38	101

Altersdurchschnitt mit einer Standardabweichung von 18

1-5 Art des Suizids: 1=Erhängen;2=Schuß/Stichverletzung;3=Sturz/Sprung aus großer Höhe; 4=Ertrinken;5=Tablettenintoxikation/ andere Intoxikation

2.2.4 Instrumente zur Erfassung psychologischer und psychiatrischer Parameter

2.2.4.1 Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV (SKID I und SKID II)

Zur Erstellung der Diagnose und zum Ausschluß einer psychiatrischen Erkrankung bei den gesunden Probanden wurde ein Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV (SKID) nach DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4. Auflage) durchgeführt.

Das SKID I dient der Erfassung und Diagnostik ausgewählter psychischer Syndrome und Störungen, wie sie im DSM-IV auf Achse I definiert werden. Außerdem werden Kodierungsmöglichkeiten für die Beurteilung von Achse III (körperliche Störungen), Achse IV (psychosoziale Probleme) und Achse V (psychosoziales Funktionsniveau) angeboten. Alle Diagnosen werden im Längs- und Querschnitt, sowie mit Zusatzinformationen über Beginn und Verlauf erhoben.

Folgende DSM-IV Diagnosen können im SKID I auf Achse I beurteilt werden: Affektive Störungen, psychotische Störungen, Störungen durch psychotrope Substanzen, Angststörungen, somatoforme Störungen, Eßstörungen und Anpassungsstörungen.

Das SKID II ist ein Verfahren zur Diagnostik der zehn auf Achse II, sowie der zwei im Anhang des DSM-IV aufgeführten Persönlichkeitsstörungen.

2.2.4.2 Minnesota Multiphasic Personality Module (MMPI-2)

Der Minnesota multiphasic Personality Fragebogen dient der Erfassung psychiatrischer Auffälligkeiten (Engel et al., 1995). Mit Hilfe des MMPI-2, der eine neu normierte Version des Minnesota Multiphasic personality Inventory (MMPI) ist, kann ein relativ vollständiges Bild von Persönlichkeit und Beschwerden von Probanden und Patienten erfasst werden. Die deutsche Testform wurde an einer repräsentativen Stichprobe von 958 Personen im Alter zwischen 18-70 Jahren in Deutschland normiert.

2.2.4.3 Family History Assessment Module (FHAM)

Der von Rice et al. (Rice et al., 1995) entwickelte Fragebogen „Family history Assessment Module (FHAM) ist eine standardisierte Möglichkeit das Auftreten und

den Grad der familiären Belastung durch psychiatrische Erkrankungen zu erheben. Hierbei werden Blutverwandtschaften bis zum 3. Grad unter Berücksichtigung einer mütterlichen oder väterlichen Verwandtschaft erfasst.

2.2.5 Methoden zur Präparation von Postmortem Gewebe

2.2.5.1 Vorbereitung des Arbeitsplatzes

Der Arbeitsplatz wurde für zwei Personen, die stehend nebeneinander präparieren und archivieren können, ohne die Kühlkette zu unterbrechen aufgestellt. Die Prozedur ist von der Entnahme des Präparates aus der -80°C Kühlung über die Sektion mit direkter Etikettierung und Archivierung so schematisiert, dass es nicht zu einer Unterbrechung der Kühlkette kommt.

Die Präparationslisten werden mit der fortlaufenden Sektionsnummer und der Jahreszahl des Suizides versehen. Nach Laminierung und Zuschnitt gemäß der einzelnen Präparatbezeichnungen werden sie in vorgegebener Reihenfolge auf einem Unterlagetablett abgelegt. Die so entstandenen Schilder werden in die zur Archivierung verwendeten Polyethylenbeutel mit den Maßen 50x 80 cm eingefügt. Für den Verschnitt des Cerebrums bzw. des Cerebellums kommen die Beutel mit den Maßen 150x 220 cm zum Einsatz. Weiter findet ein Polyethylenbeutel mit den Maßen 180x 250 cm sowie eine schwarze Tüte zur Umverpackung Verwendung. Eine Sektionsliste mit der Nummer des Präparates wird während der Präparation geführt, um jede gewonnene Struktur zu dokumentieren und um auf fehlende Abschnitte oder Besonderheiten hinzuweisen.

Der eigentliche Arbeitsplatz zur Präparation besteht aus einer mit Trockeneis gefüllten Styroporbox mit den Maßen 60x 40x 25 cm, Randstärke 2,5 cm, auf der ein eloxiertes Zinkblech sitzt, welches mit einer blauen Polyethylentüte überzogen ist. Als Beleuchtung dient ein Kaltlichtgerät, um eine größere Wärmeentwicklung über dem Präparat zu verhindern. Rechts neben der Styroporbox liegen das Präparationsbesteck, drei mit Holzgriff versehene Schnitzsicheln und -skalpelle, sowie das Parenchymmesser auf einer sterilen Abdeckung. Auf der linken Seite, ebenfalls mit einer sterilen Abdeckung versehen, befindet sich eine Kryokühlplatte für die Zwischenlagerung der entnommenen Strukturen. Daneben liegen steril die zur Archivierung notwendigen Präparationsbestecke, bestehend aus Pinzetten und Spateln aus chirurgischem Stahl. Links liegt ein Tablett mit den Tüten zur

Aufbewahrung und zwei steril abgedeckte Kryokühlplatten, um die eingetüteten und beschrifteten Gewebestrukturen abzulegen, bevor sie in dem sich daneben befindenden Styroporbehälter mit den Maßen 50x 40x 30 cm, Randstärke 3 cm, gefüllt mit Trockeneis, aufbewahrt werden.

Die Präparatoren schützen sich mit Schürzen, Mundschutz und Schutzbrillen, sowie unsterilen Handschuhen. Auf absolute Vorsicht bei der Präparation muss unbedingt geachtet werden. Es handelt sich bei den Präparaten um potentiell kontaminiertes oder infektiöses Material.

2.2.5.2 Präparation des Gewebes

Während der Präparation der Gewebeproben wurde stets auf Trockeneis oder auf minus 80 °C gekühlten Kryoplatten gearbeitet. Handschuhe, sterile Unterlagen und mit Natronlauge desinfizierte Skalpelle und Spatel verhinderten RNase-Kontaminationen. Die von der Rechtsmedizin erhaltene und in Frankfurt am Main oder in Würzburg archivierte, linke oder rechte Gehirnhälfte, wurde aus dem minus 80°C Gefrierschrank entnommen und entpackt. Die Gehirnhälften waren aus drei ineinander liegenden Tüten zu entnehmen und angefrorene Plastikreste mussten entfernt werden. Das Gewebe wurde auf die gekühlte Präparationsplatte gelegt und auf eine Temperatur von etwa -50 °C durch die Umgebungsluft erwärmt. Der benötigte Zeitrahmen dafür betrug ungefähr 60 Minuten, bei einer Raumtemperatur von 27 °C. Nach der Anwärmzeit, innerhalb derer die Vorbereitung erfolgte, wurden zunächst die Cortices präpariert und danach Frontalschnitte angefertigt, um die Basalganglien und weitere intracerebral liegende Strukturen zu entnehmen. Cerebellum und Hirnstamm wurden, soweit vorhanden, separat präpariert und zeitlich versetzt der Kühlung entnommen, um eine ausreichende Kühlung zu gewährleisten, und den Abbau durch RNase zu verhindern.

2.2.5.3 Abfolge der Präparation

Die Präparation erfolgte in der im Folgenden dargestellten Reihenfolge anhand einer Sektionsliste (siehe Abbildung 5). Die Numerierungen der Sektionsliste sind nicht fortlaufend, sondern orientieren sich an einer umfassenderen Zusammenstellung der Universität Würzburg, um eine Vergleichbarkeit herzustellen. Die Präparation erfolgte von innen nach außen, von der kompletten Gehirnhälfte zu den einzelnen Kernen. Die Schnitte am Cortex erfolgten mit drei Schnitzwerkzeugen mit Holzgriff, ohne die weißen Bahnen zu beschädigen. Das Cerebralgewebe wurde hierbei abgeschält.

Die Nuclei wurden den aufgeschnittenen Gehirnscheiben als Stanzzylinder entnommen mit dem Werkzeug das bereits beim Cortex eingesetzt wurde.

Material und Methoden

<p>1. Cortex frontalis, komplett 2. Cortex frontalis, Pol 3. Cortex orbitofrontalis (frontoorbitalis) 98. Nucleus olfactorius 4. Cortex frontalis, Convexität 5. Gyrus praecentralis 95. Prämotorischer Cortex (PMC) 90. Broca 6. Cortex temporalis, komplett 7. Gyrus temporalis superior 8. Gyrus temporalis medialis 9. Gyrus temporalis inferior 10. Cortex parietalis, komplett 11. Lobulus parietalis superior 12. Gyrus postcentralis 13. Gyrus angularis 14. Gyrus supramarginalis 15. Cortex occipitalis, komplett 16. Cortex occipitalis, Pol 17. Gyrus oberhalb Sulcus Calcarinus (Cuneus) 18. Gyrus unterhalb Sulcus Calcarinus 19. Gyrus Cinguli</p>	<p>20. Corpus callosum 94. Supplementärer Motorcortex (SMC)</p> <p>Hirnstamm: 21. Hypothalamus 22. Trigonum habenulare 23. Corpus mamillare 24. Nucleus Raphe dorsalis 25. Locus Coeruleus 26. Nucleus Centralis supraraphis 86. Pulvinar 91. Nucleus Olivarius, Olive 92. VTA ventral- tegmental Area 97. Nucleus Nervus vagi, Vagus Kern</p> <p>Kleinhirn: 27. Nucleus Dentatus 87. Cerebellum (Rest, Verschnitt)</p> <p>Basalganglien: 28. Nucleus Caudatus, komplett</p>	<p>29. Nucleus Caudatus, Caput 32. Nucleus Caudatus, Corpus 33. Nucleus Caudatus, Cauda 34. Putamen, komplett 35. Putamen, pars anterior 39. Putamen, pars medialis 43. Putamen, pars posterior 47. Nucleus accumbens 48. Globus Pallidus, komplett 52. Globus Pallidus, pars ventralis (Caput Globus pallidi) 49. Globus Pallidus, anterior 50. Globus Pallidus, pars lateralis 51. Globus Pallidus, pars medialis</p> <p>Zusatz (gleiche Region, nicht zugehörig): 84. Corpus geniculatum laterale 85. Corpus geniculatum mediale</p> <p>Limbisches System: 53. Substantia innominata 55. Corpus amygdaloideum, Amygdala 57. Hippocampus 63. Plexus Choroideus</p>	<p>Thalamus: 69. Thalamus, komplett 70. Nucleus Anterior thalami 77. Nucleus Medialis thalami 83. Nucleus Centromedianus thalami 71. Nucleus Ventralis anterior 74. Nucleus Ventralis lateralis 64. Substantia Nigra komplett 88. Striatum (gleiche Region, nicht zugehörig) 67. Nucleus Ruber 68. Nucleus Subthalamicus 93. Insula, Insel</p> <p>89. Mark (Rest, Verschnitt)</p>
--	---	--	---

Abbildung 5: Sektionsliste

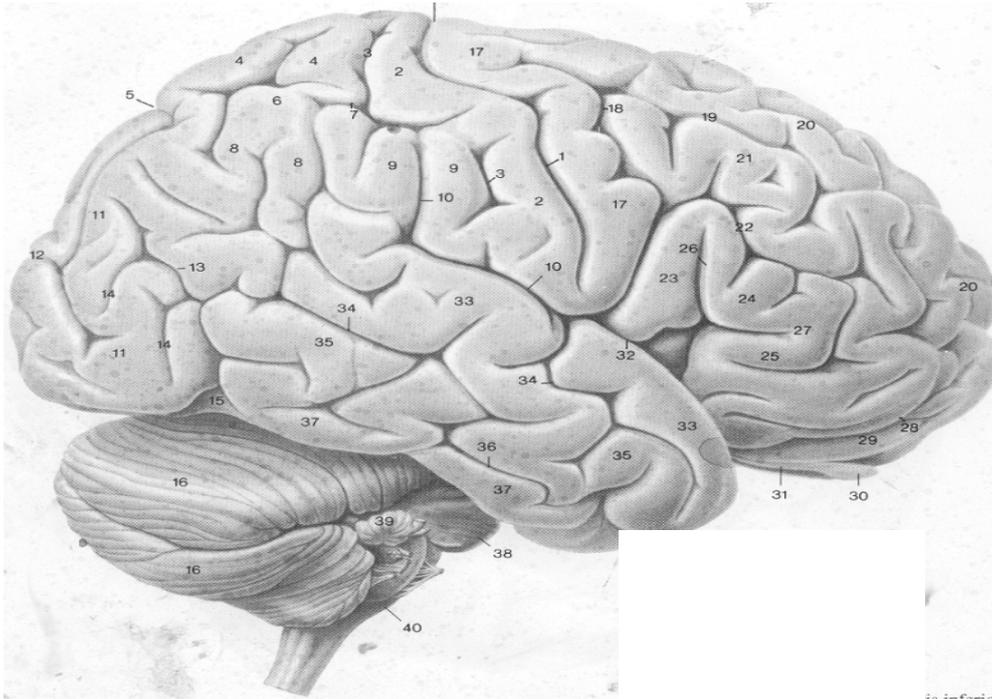


Abbildung 6: Lateralansicht des Gehirns (Niewenhuys, 1991)

1. Cortex frontalis, komplett: An der Mantelkante der Hemisphäre wurde ein Aufriß des Frontallappens in der Longitudinale abgeschält.
2. Cortex frontalis, Pol: Mit dem Parenchymmesser wurde in der Sagittalebene der Pol im Cortex als Scheibe abgeschnitten (Abbildung 6: Nr.20).
3. Cortex orbitofrontalis: Die Unterseite des Frontallappens wurde in longitudinaler Richtung lateral corticales Gewebe abgeschält (Abbildung 6: Nr.29).
98. Nucleus olfactorius: Ausgehend vom neuronalen Strang des Nervus olfactorius wurde möglichst stumpf an der Unterseite des Frontallappens entlang bis zum Nucleus olfactorius präpariert.
4. Cortex frontalis, Convexität: An der convexen Biegung der Lateralseite des Frontallappens wurde sagittal über die gesamte Hemisphäre Gewebe abgeschält (Abbildung 6: Nr.19-21).
5. Gyrus präcentralis: Orientierend am Sulcus centralis wurde der anatomisch davor liegenden Gyrus entlang des Strukturverlaufes entnommen (Abbildung 6: Nr.17).
95. Prämotorischer Cortex (PMC): Frontal des Gyrus präcentralis schließen sich Area 6 und Area 8 an. Diese zwei Areaten wurden sagittal von der Mantelkante ausgehend dreieckig zulaufend zur temporalen Fissur entnommen (Abbildung 6: Nr.17-18).

Material und Methoden

90. Broca: Die Begrenzung des Temporallappens kranialwärts und die Area 6 Grenze nach frontal bilden die Broca Region in einem 3-4 cm² Bereich (Abbildung 6: Nr.17-22).
6. Cortex temporalis, komplett: Im Longitudinalbereich wurde über alle drei Temporalgyri ein Aufriß abgeschält (Abbildung 6: Nr.33-37).
7. Cortex temporalis superior: Der Gyrus wurde an der Oberkante des Temporallappens entnommen (Abbildung 6: Nr.33-34).
8. Cortex temporalis medialis: Der unter dem superioren Gyrus liegende, im Temporallappen am prominentesten wirkende Gyrus wurde abgeschält (Abbildung 6: Nr.35).
9. Cortex temporalis inferior: Dem Unterrand des Temporallappens wurde der randständige Gyrus entnommen (Abbildung 6: Nr.36-37).
10. Cortex parietalis, komplett: Der Bereich an der Mantelkante dorsal des Sulcus centralis bis zum Beginn des Occipitallappens wurde entnommen (Abbildung 6: Nr.4-7).
11. Lobulus parietalis superior: Craniodorsal des Centralsulcus, in einer Schleife gelegen wurde der Lobulus parietalis superior entnommen (Abbildung 6: Nr.4).
12. Gyrus postcentralis: Zwischen dem Sulcus centralis und dem Lobulus parietalis superior liegt der Gyrus postcentralis. Er wurde entlang seiner Struktur geschält (Abbildung 6: Nr.3).
13. Gyrus angularis: Unter dem Lobulus parietalis superior liegt in einer Schlinge gekrümmt der Gyrus angularis. Er wurde ohne die umliegenden Strukturen zu beschädigen der Convexität entlang abgenommen (Abbildung 6: Nr.8).
14. Gyrus supramarginalis: Zwischen dem Gyrus angularis und dem Gyrus postcentralis befindet sich der Gyrus supramarginalis (Abbildung 6: Nr.9).
15. Cortex occipitalis, komplett: An der Mantelkante wurde ein Longitudinalschnitt des Occipitalcortex entnommen (Abbildung 6: Nr.11).
16. Cortex occipitalis, Pol: Gleich dem Frontalpol wurde mit dem Parenchymmesser eine Scheibe in sagittaler Schnittrichtung abgeschnitten (Abbildung 6: Nr.9).

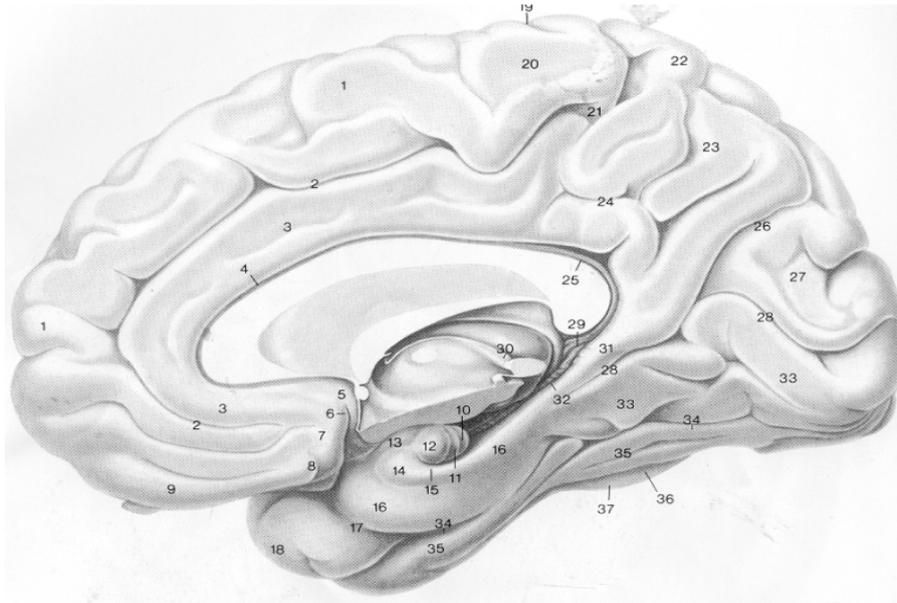


Abbildung 7: Medianansicht der rechten Prosencephalonhälfte, (Niewenhuys, 1991)

17. Gyrus oberhalb Sulcus Calcarinus (Cuneus): Dorsomedial an der Innenseite der Hemisphäre wurde kranial des Sulcus calcarinus der Gyrus unterhalb des Sulcus parieto- occipitalis entnommen (Abbildung 7: Nr.27-28).

18. Gyrus unterhalb Sulcus Calcarinus: Die einfach ungewundene Gyrusstruktur unterhalb des Sulcus Calcarinus wurde abgeschält (Abbildung 7: Nr.28-33).

19. Gyrus Cinguli: Das Cingulum wurde in seiner gesamten Longitudinalauslenkung kegelförmig entnommen (Abbildung 7: Nr.3).

20. Corpus callosum: Die weiße Balkenstruktur wurde inklusive Splenium und Genu herausgeschnitten (Abbildung 7: Nr.9).

94. Supplementärer Motorcortex (SMC): Der SMC wurde von der Mantelkante ausgehend entnommen.

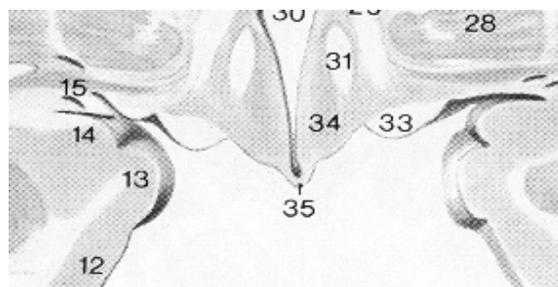


Abbildung 8: Schnitt durch das Foramen interventriculare, (Niewenhuys, 1991)

Hirnstamm:

21. Hypothalamus: Frontal des Hirnstammes wurde an der Unterseite der Hemisphäre der Hypothalamus entnommen (Abbildung 8: Nr.34).

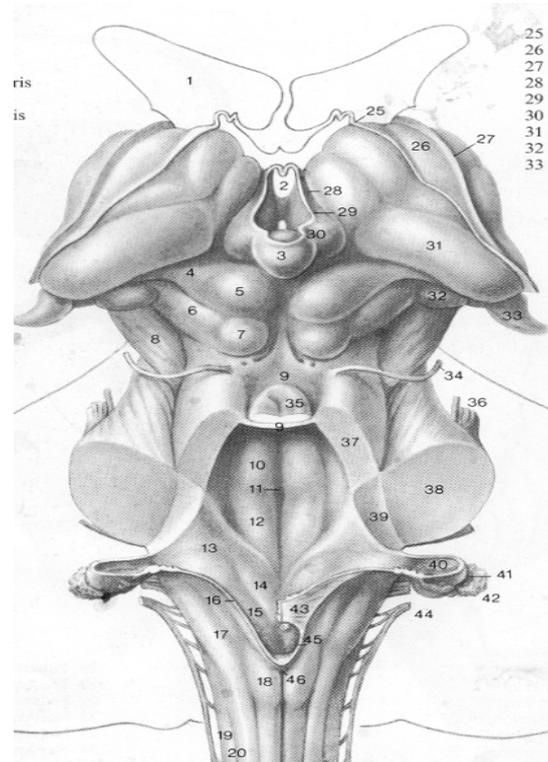


Abbildung 9: Dorsaler Aufblick auf den Hirnstamm, (Niewenhuys, 1991)

22. Trigonum habenulare: Neben dem Corpus pineale, retrograd davon gelegen, wurde spitz das Trigonum als Stanze entnommen (Abbildung 9: Nr.30).

23. Corpus mamillare: Die Corpora wurden, je nach Zustand des Präparates, dem Hirnstamm oder der Unterseite der Hemisphäre entnommen (Abbildung 9: nahe Nr.1-25, Abbildung 12: Nr.17-18).

24. Nucleus Raphe dorsalis: Nach dem Entfernen der Vierhügelplatte wurden nach Vorlage und Sicht die Raphekerne entnommen. Orientierend befinden sie sich etwa 2 mm frontal des Colliculus inferior (Abbildung 9: Nr.7).

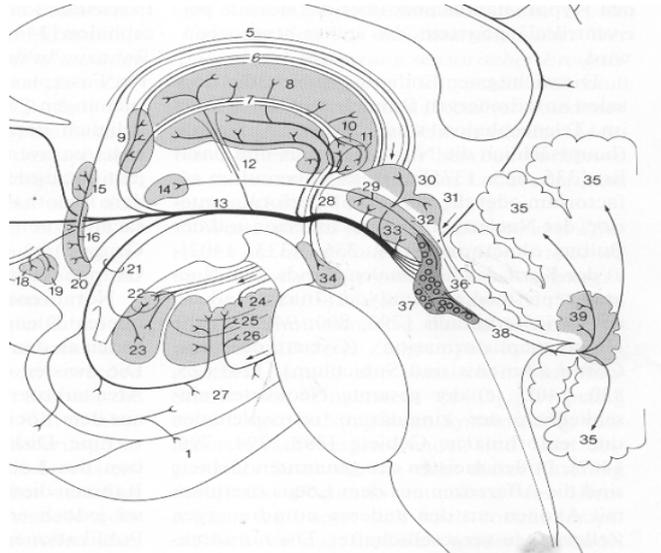


Abbildung 10: Blick auf das aufsteigend retikuläre System, (Niewenhuys, 1991)

25. Locus coeruleus: Unterhalb der Vierhügelplatte gelegen, wurde nach Entfernen des Cerebellums, als Longitudinalzylinder des Locus coeruleus entnommen (Abbildung 10: Nr.36).

26. Nucleus centralis supraraphis: Kranial der Raphe dorsalis Kerne wurden ebenfalls unter Sicht und Vorlage, die Supraraphekerne aufgesucht und diese spitz entnommen (Abbildung 10: nahe Nr.33).

86. Pulvinar: Lateral des corpus pineale liegt das Pulvinar von medial nach lateral abfallend angrenzend zum Cerebellum (Abbildung 10: Nr.32-37, Abbildung 12: Nr.1).

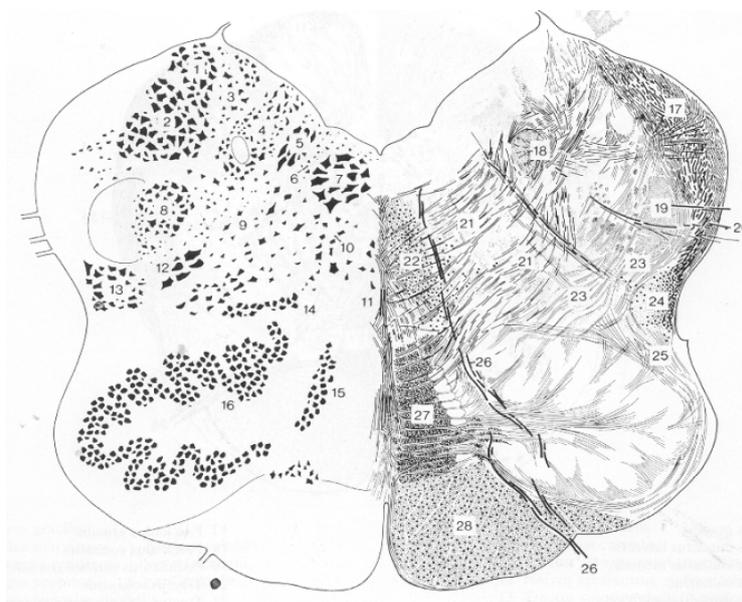


Abbildung 11: Schnitt durch die Oliva inferior, (Niewenhuys, 1991)

Material und Methoden

91. Nucleus olivarius, Olive: Der Hirnstamm wurde längs aufgeschnitten, die Olive nach Sicht entnommen (Abbildung 11: Nr.14-16).



Abbildung 12: Schnitt durch die Commissura posterior, (Niewenhuys, 1991)

92. Ventral- tegmentale Area (VTA): Zwischen Nucleus ruber und Corpus mamillare wurde die VTA nach Präparatslage entnommen (Abbildung 12: Nr.16).

97. Nucleus Nervus vagi, Vagus Kern: Der Vagus Kern wurde am Lateralrand des Hirnstammes des Pedunculus cerebellaris inferior aufgesucht und ventral dem Verlauf des Lateralrandes folgend entnommen (Abbildung 12)

27. Nucleus dentatus: Das Cerebellum wurde in Longitudinalschnitten zerteilt und der Nucleus herausgeschnitten

87. Cerebellum (Rest, Verschnitt): Die entstandenen Scheiben werden separat verpackt und archiviert.

Um die weiteren Strukturen gewinnen zu können, wurden Scheiben von dem cortexpräparierten Cerebrum geschnitten. Mit dem Parenchymmesser wurden in sagittaler Schnitfführung etwa 1 cm dicke Scheiben, ohne die gefrorene Substanz zu zerbrechen geschnitten. Unter genauer Beachtung der

Verlaufszusammengehörigkeit der Cerebralscheiben wurden sie auf der Arbeitsfläche ausgelegt, um die Basalganglien, das limbische System und die thalamischen Strukturen zu gewinnen. Die vordere und hintere Kappe konnten verworfen werden.

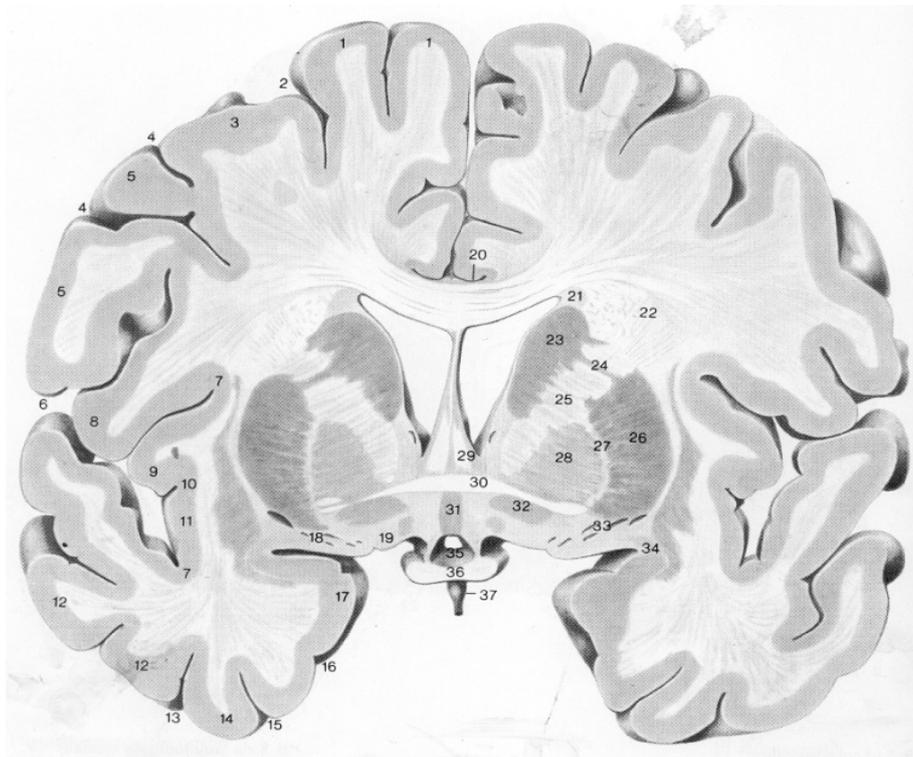


Abbildung 13: Schnitt durch das Chiasma opticum, (Niewenhuys, 1991)

28. Nucleus caudatus, komplett: Nach dem Verlauf des Nucleus caudatus wurde unter Belassung von genügend Struktur für spätere Proben aus drei Scheibenschnitten jeweils ein Stanzzylinder entnommen (Abbildung 13: Nr.23).

29. Nucleus caudatus, Caput: An der lateralen Seite des Ventrikels gelegen wurde auf Höhe der Commissura anterior das Caput des Nucleus caudatus entnommen (Abbildung 13: Nr.23).

32. Nucleus caudatus, Corpus: Der Corpus wurde auf Höhe des Foramen interventriculare oder am vorderen Rand des Hippocampus entnommen. Der dünne Strang zieht entlang des Ventriculus lateralis (Abbildung 14: Nr.17).

33. Nucleus caudatus, Cauda: Die Cauda wurde auf Höhe der Pons entnommen (Abbildung 15: Nr.18).



Abbildung 14: Schnitt durch das Infundibulum, (Niewenhuys, 1991)

34. Putamen, komplett: Nach dem Verlauf des Putamen wurde aus drei Scheibenschnitten jeweils ein Stanzzylinder entnommen unter Belassung von restlicher Struktur, um einzelne Proben zu entnehmen (Abbildung 14: Nr.24).

35. Putamen, Pars anterior: Verbunden mit dem Caput nuclei caudati durch die Capsula interna wurde die pars anterior entnommen (Abbildung 13: Nr.23-26, Abbildung 14: Nr.17-24).

39. Putamen, Pars medialis: Der mediale Teil wurde auf Höhe des Foramen interventriculare oder am vorderen Rand des Hippocampus entnommen (Abbildung 14: Nr.24).

43. Putamen, Pars posterior: Die Pars posterior wurde auf Höhe der Pons entnommen (Abbildung 14: Nr.24).

47. Nucleus accumbens: Neben dem Putamen auf Höhe der Lamina terminalis ist der Nucleus accumbens gelegen. Er wurde nach topographischer Lage entnommen (Abbildung 14: Nr.24).

48. Globus pallidus, komplett: Der Globus pallidus wurde aus zwei Scheibenschnitten entnommen. Das Caput wurde auf Höhe des Chiasma opticum und der ventrale und mediale Teil auf Höhe des Corpus Amygdaloideum spitz entnommen. Für den kompletten Teil wurde von jedem Präparat ein Strukturrest zusammengefügt (Abbildung 14: Nr.26-28).

- 52. Globus pallidus, Pars ventralis (Caput globus pallidi) (Abbildung 13: Nr.28).
- 49. Globus pallidus, Pars anterior (Abbildung 13: Nr.28).
- 50. Globus pallidus, Pars lateralis (Abbildung 14: Nr.26).
- 51. Globus pallidus, Pars medialis (Abbildung 14: Nr.28).



Abbildung 15: Schnitt durch den hinteren Thalamus, (Niewenhuys, 1991)

- 84. Corpus geniculatum laterale: Ventral des Thalamus und dorsal des Nucleus Ruber gelegen wurde unter genauer punktueller Illumination bei Diskriminierung der Farbstrukturen gewonnen (Abbildung 15: Nr.39, 36).
- 85. Corpus geniculatum mediale: Medial davon oft ohne sichtbaren Zwischenraum liegt das Corpus geniculatum mediale (Abbildung 15: Nr.31).
- 53. Substantia innominata: Ventral der commissura anterior und unter dem Globus pallidus gelegen findet sich die Substantia innominata. Farblich schwer zu diskriminieren wurde sie topographisch entnommen (Abbildung 13: Nr.32).
- 55. Corpus amygdaloideum, Amygdala: Im Temporallappen medial ventral der commissura anterior befindet sich das Amygdaloid. Es wurde spitz im Ganzen entnommen (Abbildung 14: Nr.36).

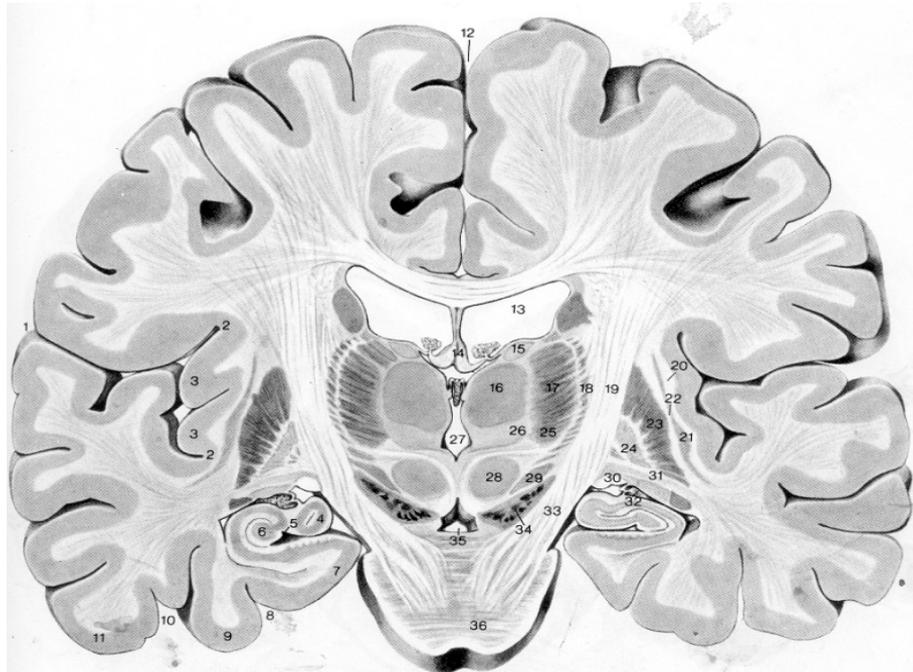


Abbildung 16: Schnitt durch den pedunculus cerebri, (Niewenhuys, 1991)

57. Hippocampus: Dorsal des Amygdaloides befindet sich der Hippocampus. Durch die Größe der Struktur wurde, um das Gewebe im Ganzen zu gewinnen, in mehreren Schnitten, je nach Schnittführung, präpariert (Abbildung 16: Nr.5).

63. Plexus choroideus: Am Boden des ventriculus lateralis befindet sich der Plexus choroideus. Der Ventrikel ist durch die Aufbewahrung zusammengefallen und der Liquor kristallisiert. Durch Ausschabung wurde der Plexus präpariert (Abbildung 14: Nr.19).

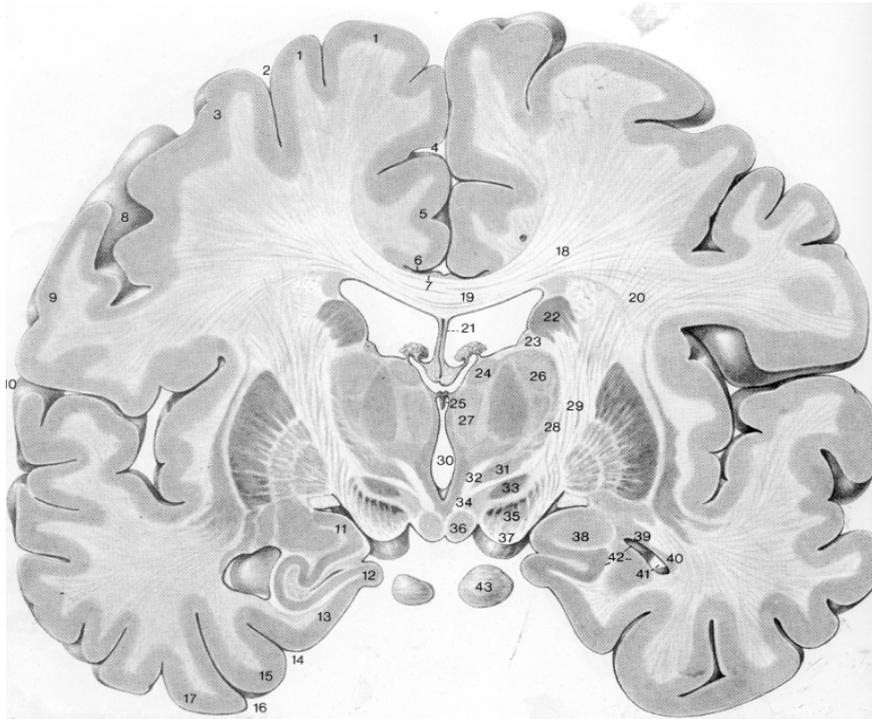


Abbildung 17: Schnitt durch den Tractus mamilothalamicus, (Niewenhuys, 1991)

Thalamus:

69. Thalamus, komplett: Der Thalamus mit seinen einzelnen Kernsegmenten ist eingebettet zwischen der Capsula interna, dem Ventriculus lateralis, dem Ventriculus tertius und dem Nucleus ruber. Aufgrund schwer zu diskriminierender optischer Farbunterschiede mußte unter idealen Lichtbedingungen gearbeitet werden. Aus jedem gewonnenen Präparat wurde je ein Subsegment abgetrennt, um dieses als komplettes Thalamuspräparat zu gewinnen (Abbildung 17: Nr.24, 26, 27, 28).

70. Nucleus anterior thalami: Ventral des Plexus choroideus befindet sich der Nucleus anterior thalami (Abbildung 17: Nr.24).

77. Nucleus medialis thalami: Umgeben von den weiteren Thalamuskernen sitzt auf Höhe der Pons zentral der Nucleus medialis thalami als prominenteste Struktur (Abbildung 16: Nr.27).

83. Nucleus centromedianus thalami: Nahe dem Nucleus medialis thalami befindet sich der Nucleus centromedianus thalami. Diese Struktur muss nach topographischen Gesichtspunkten gewonnen werden (Abbildung 16: Nr.26).

71. Nucleus ventralis anterior: Lateral des Nucleus medialis thalami befindet sich etwas kranial der Nucleus ventralis anterior (Abbildung 17: Nr.24-26).

74. Nucleus ventralis lateralis: Lateral des Nucleus medialis thalami befindet sich etwas kranial der Nucleus ventralis lateralis, dorsal des Nucleus ventralis anterior (Abbildung 17: Nr.26).

64. Substantia nigra komplett: Diese leicht abzugrenzende Struktur verläuft ventral des Thalamus gut erkennbar und wurde im Ganzen entnommen (Abbildung 17: Nr.35).

88. Striatum: Gebildet aus Capsula interna und Putamen wurde das Striatum am ventralen Rand der Basalganglien präpariert (Abbildung 14: Nr.24).

67. Nucleus ruber: Kranial der Substantia nigra präpariert man den Nucleus ruber heraus (Abbildung 17: zwischen Nr.33, 34).

68. Nucleus Subthalamicus: Medial des Nucleus ruber befindet sich der Nucleus subthalamicus

93. Insula, Insel: Ein großes Präparat wurde entlang der Cortexkanten geschnitten damit alle drei Lappenteile enthalten waren (Abbildung 17: Nr.33).

89. Mark (Rest, Verschnitt): Sämtliche verbliebenen Anteile der Schnittscheiben und der Polkappen wurden zur weiteren RNA- /DNA- Gewinnung archiviert und separat verpackt.

2.2.5.4 Nachbereitung des Arbeitsplatzes

Nach der Präparationsdurchführung wurde der Arbeitsplatz großflächig gereinigt und RNA/ DNA des präparierten Gewebes wurden denaturiert.

Sobald alle gewonnenen Strukturen in der mit Trockeneis gefüllten Styroporbox zwischengelagert waren, wurden sie in einem schwarzen Polyethylenbeutel zusammengefaßt, beschriftet und direkt wieder auf -80 °C im Gefrierschrank gekühlt. Sämtliche gewebekontaminierten Verbrauchsmaterialien wurden, inklusive der Schutzkleidung der Präparatoren, ohne jeden weiteren Flächenkontakt verworfen. Die Region des Arbeitsplatzes unter der Präparationsfläche und die Umgebung wurden mit Flächendesinfektionsspray unter Einhaltung der erforderlichen Einwirkzeit gereinigt. Das Präparationsbesteck, das Parenchymmesser, sowie die Pinzetten und Spatel wurden für etwa eine Stunde in eine Desinfektionswanne mit 1 Molarer NaOH-Lösung gelegt. Um einen fortlaufenden Arbeitsturnus zu gewährleisten, und dennoch die Reinigungs- und Desinfektionszeiten einhalten zu können, war eine doppelte Ausführung sämtlicher Präparationsutensilien vorhanden.

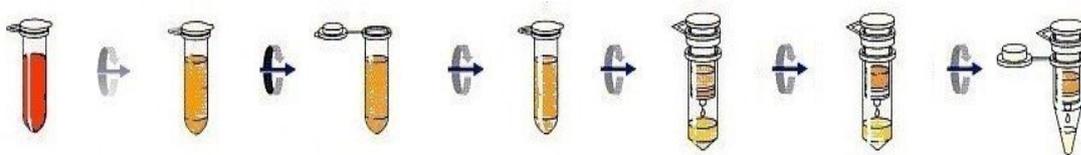
Die Daten der Sektionsliste wurden zur Auswertung in eine Exceltabelle eingegeben und die Sektionsliste selbst wurde in chronologischer Form nach fortlaufenden Nummern abgeheftet.

2.2.6 Methoden zur DNA Extraktion und Studiendurchführung

Die nachfolgenden Methoden sind als Standardmethoden im Labor der Arbeitsgruppe für molekulare und klinische Neurobiologie

2.2.6.1 DNA-Extraktion

Von allen Probanden wurde Blut venös abgenommen bzw. Gehirngewebe extrahiert, und bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert. Durch Zugabe von EDTA wurde die Gerinnung des gewonnenen Blutes verhindert. Aus 10 ml EDTA-Blut erfolgte mittels eines Kits der Firma Qiagen gemäß der gegebenen Anleitung die Extraktion der genomischen DNA (Abbildung 18)



Blutprobe	Lyse mit Proteinase K und AL Puffer	Zugabe von Ethanol	Inkubieren im Wasserbad	Adsorption der DNA an die Membran	Reinigung der DNA	Elution der DNA von der Membran
-----------	-------------------------------------	--------------------	-------------------------	-----------------------------------	-------------------	---------------------------------

Abbildung 18: DNA-Extraktion gemäß der Anleitung des QIAamp DNA Blood Midi/Maxi Kit Handbook

2.2.6.2 DNA Extraktion aus Blut

2.2.6.2.1 Vorbereitung der Blutproben

Das bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ tiefgefrorene Blut wurde bei Raumtemperatur (RT) aufgetaut, und jeweils 5-10 ml Blut in ein 50 ml großes Zentrifugenröhrchen pipettiert.

2.2.6.2.2 Zellyse

Um die Leukozyten zu lysieren und Nukleinsäuren freizusetzen, wurde Vollblut mit 500 µl Proteinase K versetzt und mittels eines Vortexers kurz vermischt. Die Proteinase K kann dann die Proteine, besonders Hämoglobin, Nukleasen, Histone u.a. Proteine, die später die PCR stören könnten, verdauen. Sie degradiert die denaturierten Proteine zu kleineren Fragmenten, die leichter von der DNA abgetrennt werden können.

Zu dieser Lösung erfolgte nun eine Zugabe von 12 ml AL-Puffer (Guanidin-HCL). Der AL-Puffer schafft optimale Reaktionsbedingungen (pH-Wert, etc.) für die Lyseeigenschaften der Proteinase K. Daraufhin wird die Lösung 2 min. lang auf dem Vortexer durchgemischt, damit die Zellyse vollständig ist.

Für einen maximalen DNA-Ertrag erfolgte dann eine mindestens 30-minütige Inkubation der Lösung im Wasserbad bei 70 °C unter gleichzeitigem Schütteln.

2.2.6.2.3 Adsorption der DNA an die Silikagelmembran

10 ml Ethanol (96-100%) wurden in die Probe gegeben, um die DNA auf das Säulenmaterial zu fällen. Anschließend erfolgte eine 2 minütige Vermischung auf dem Vortexer. Ca. ein Drittel der DNA-Lösung wurde dann auf die Silikagel- Säule überführt und 3 min. bei 3000 Umdrehungen pro Minute (rpm) zentrifugiert. Dieser Vorgang wurde insgesamt 3mal durchgeführt, da eine Säule nicht ausreichend ist, um die gesamte DNA auf einmal aufzunehmen. Die DNA bindet so an die Silikamembran, während Salz- und pH-Bedingungen dafür sorgen, dass RNA und Nukleinsäure-Bindenden-Proteine, die die PCR später stören könnten, nicht gebunden werden. Das Filtrat wurde jeweils verworfen.

2.2.6.2.4 Reinigung der DNA durch Waschen von Verunreinigungen von der Säule

Es wurden 5 ml Waschpuffer AW 1, der Guanidin-HCl enthält, auf den DNA-haltigen Filter gegeben und 1 Minute lang bei 5000 rpm zentrifugiert. Dieser Vorgang entfernt nochmals Proteine.

Dann erfolgte die Zugabe von 5 ml ethanolhaltigem Waschpuffer AW 2, auf den Filter und eine 15 Min. lange Zentrifugation bei 5000 rpm. Dadurch wurden Guanidiniumsalze entfernt. Anschließend wurde zur vollständigen Entfernung von

Ethanolresten nochmals zentrifugiert, damit die DNA im nächsten Schritt von der Säule eluiert werden konnte.

2.2.6.2.5 Elution der DNA von der Silikamembran

Anschließend erfolgte die Überführung der Filter in sterile Falcon- Rörchen. Die Elution wurde unter Zugabe von 1,2 ml AE-Puffer (TRIS- Puffer, pH > 9,0) durchgeführt. Die DNA wurde 5 Min. lang bei RT mit dem AE-Puffer inkubiert und anschließend für 5 min. bei 5000 rpm zentrifugiert. Da die DNA nur unter sauren Bedingungen an die Silikamembran bindet, löst sie sich nun mittels des basischen TRIS-Puffers von der Membran ab und verbleibt im AE-Puffer. Die so gewonnene DNA kann dann für die PCR verwendet werden.

2.2.6.3 DNA Extraktion aus postmortem Gewebe

Genomische DNA wurde aus postmortem Hirngewebe, aus dem Cortex von 101 Suizidopfern mit Hilfe eines kommerziell erhältlichen Kits (Qiamp DNA Mini Kit) der Firma Qiagen entsprechend den Angaben des Herstellers extrahiert.

Die im Protokoll angegebene Gewebemenge führte jedoch nicht zu ausreichend hohen DNA Ausbeuten. Daher wurde zunächst eine Methodenoptimierung in Bezug auf die Menge des Cortexgewebes durchgeführt, wobei sich eine Einwaage von 75 mg Cortexgewebe als optimal zeigte. Die im Verlauf zugefügten Reagenzien wurden der erhöhten Menge proportional angepasst.

2.2.6.3.1 Zellyse

Es wurden 75 mg des bei -80°C gefrorenen Cortexgewebes mit 540 µl Gewebelysepuffer (ATL) versetzt. Zur Verringerung der Lysezeit wurde das Gewebelysepuffer –Gemisch mehrmals in eine sterile Kanüle aufgezogen. Durch die dabei entstandenen Scherkräfte wurde das Gewebe grob homogenisiert und so eine größere Gewebeoberfläche erzielt. Zur Freisetzung der Nukleinsäuren wurden 60 µl Proteinase K zugesetzt. Auf dem Vortexer wurde die Lösung gemischt, und anschließend unter gleichmäßigem Schütteln im Wasserbad bei 56°C für 2h bis zur vollständigen Lyse inkubiert. Nach Zugabe von 600µl Guanidin HCl-haltigem Puffer

Material und Methoden

(AL) und sorgfältigem Mischen der Lösung auf dem Vortexer erfolgte eine erneute Inkubation bei 70°C für 10 min, um eine homogene Lösung zu erhalten.

2.2.6.3.2 Adsorption der DNA an die Silikagel Membran

Zur Fällung der DNA auf das Säulenmaterial wurde die Probe mit 600µl Ethanol (100%) versetzt und auf dem Vortexer gemischt. Dann wurde die Lösung portionsweise auf die Silikamembran aufgebracht und 1 min bei 14000 rpm zentrifugiert. Im Anschluss wurde die Säule zur Entfernung von RNA und Proteinverunreinigungen mit Guanidin HCl haltigem Puffer (AW1) und nachfolgend mit ethanolhaltigem Waschpuffer (AW2) gewaschen, um die Guanidiniumsalze zu entfernen. Die Pufferbedingungen im Lysat schafften ideale Voraussetzungen für eine gute Bindung der DNA an die Silikamembran, während Proteine und sonstige Verunreinigungen aufgrund des pH-Wertes und der Salzkonzentration nicht an der Membran haften können.

2.2.6.3.3 Elution der DNA

Die Elution der DNA erfolgte in zwei aufeinanderfolgenden Schritten, um die Ausbeute der DNA zu erhöhen. Zunächst wurden 75 µl Tris- Puffer (AE 10mM Tris-HCl, 0,5mM EDTA, pH 9,0) hinzugefügt. Diese Mischung wurde 5 min bei Raumtemperatur inkubiert und im Anschluss bei 14000 rpm zentrifugiert. Dieser Arbeitsschritt wurde dann erneut mit nochmals 50µl Tris-Puffer wiederholt. Die anschließende Lagerung der so gewonnenen DNA erfolgte bei -80°C.

2.2.7 Quantifizierung der DNA mittels Pico Green Assay

Die DNA Quantifizierung wurde mit der PicoGreen Methode durchgeführt. Pico Green ist ein hochempfindlicher Fluoreszenzfarbstoff, der für die Quantifizierung von doppelsträngiger DNA geeignet ist. Als Interkalans lagert er sich in die Doppelhelix der DNA ein und nach Anregung durch Licht der Wellenlänge $\lambda=480\text{nm}$ kann eine Fluoreszenzemission der Wellenlänge $\lambda= 520 \text{ nm}$ gemessen werden. Die Intensität der gemessenen Emission ist proportional zur vorhandenen DNA Menge. Verunreinigungen durch RNA, Salze, Ethanol oder Proteine beeinflussen das Ergebnis nicht.

Die DNA- Proben wurden 1: 50 mit PicoGreen Lösung (5 µl/ mlTE) verdünnt, die Fluoreszenz mit dem Tecan GENios Fluoreszenzreader gelesen und die Konzentration anhand einer Eichkurve aus genomischer DNA berechnet.

Im Folgenden werden die Materialien, sowie die einzelnen Arbeitsschritte beschrieben.

2.2.7.1 Vorbereitung der gDNA Standards

Zunächst wurden 100 µl von 1x TE jeweils auf die ersten zwei Reihen einer 96 well Platte (Säulen B-H, Abbildung 19) pipettiert. Als nächstes wurden 200 µl der humanen genomischen DNA (Clontech;100ng/µl) in die ersten zwei Reihen der Säule A pipettiert. Im Anschluß wurde mit Säule A beginnend eine Verdünnungsreihe hergestellt. Hierbei wurden der Säule A 100 µl entnommen und in Säule B pipettiert. Nach fünfmaligem Umrühren mit der Pipettenspitze wurden 100 µl von Säule B in Säule C transferiert. Ebenso wurde mit den Säulen D- G verfahren. Säule H wurde zur Bestimmung des Referenzwertes (1xTE: 0ng/µl gDNA) verwendet. Die Platte wurde versiegelt und als Standard DNA beschriftet bei 4°C gekühlt gelagert.

Die Arbeitsschritte sind in Abbildung 19 dargestellt, nach denen die in Tabelle 16 angegebenen Konzentrationen erhalten wurden.

Tabelle 16: Konzentrationen der gDNA in den einzelnen Säulen

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

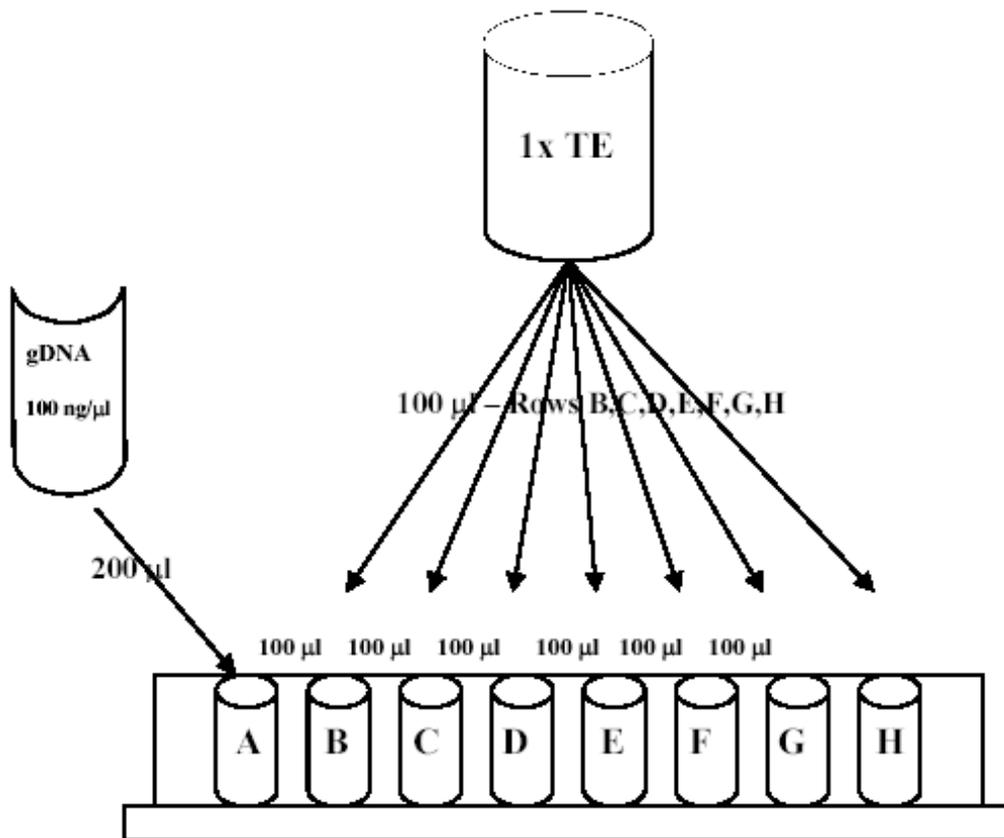


Abbildung 19: Durchführung der Verdünnungsreihe

2.2.7.2 Vorbereitung der Meßplatte

Je 2x5µl der gDNA Standard-Verdünnungsreihe wurden in eine Meßplatte pipettiert (Q-Standard, Abbildung 19), eine weitere Platte mit den zu bestimmenden DNA-Proben belegt (ebenfalls je 2x5µl).

Die gefrorenen PicoGreen Reagenzien wurden ca. 60 min. bei Raumtemperatur in einem lichtundurchlässigen Container aufgetaut. In einem mit Aluminium Folie umhüllten 50 ml Röhrchen (Lichtschutz) wurde eine Verdünnung von 1: 200 PicoGreen mit 1x TE hergestellt. Die Tabelle 17 zeigt die Volumenangaben der Reagenzien für eine bzw. zwei Meßplatten.

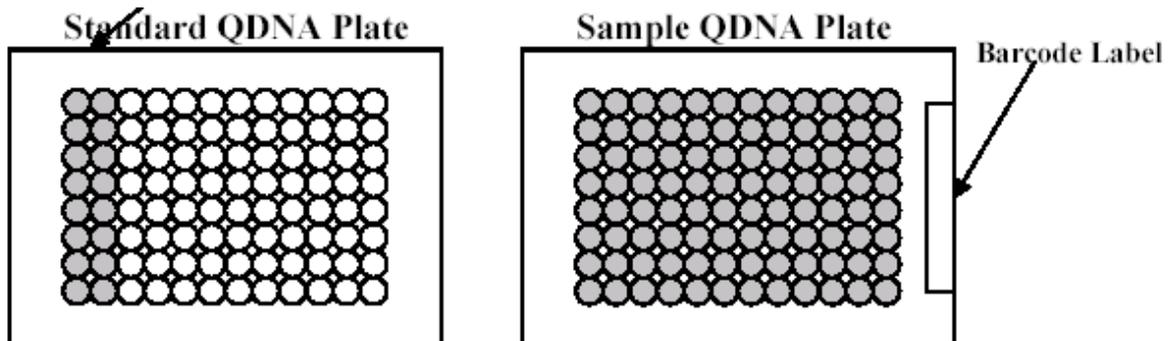
Tabelle 17: Volumenverteilung der Reagenzien

QDNA Platte	PicoGreen Volumen (µl)	Volumen 1x TE(ml)
1	115	23
2	215	43

Die Reagenzien wurden mit Hilfe des Vortexers gemischt, und dann mit einer Dispenser- Pipette aufgezogen.

Mit Hilfe der Dispenser- Pipette wurden zunächst 195 µl PicoGreen Verdünnung in die Reihen 1 und 2 der Säulen A-H der Standard QDNA Platte pipettiert, und dann direkt mit selbstklebender Aluminiumfolie verdeckt.

Ebenso wurde mit der Sample QDNA Platte verfahren (Abbildung 20).



● = 195 µl Picogreen Dilution

Abbildung 20: Pipettierung der DNA Platten

2.2.8 Auswahl der Polymorphismen zur Genotypisierung

Die SNPs wurden unter verschiedenen Gesichtspunkten ausgewählt. Das seltenere Allel hatte eine Häufigkeit von mindestens 20% in einer kaukasischen Bevölkerung. Der SNP wurde durch mindestens zwei verschiedene Methoden in unterschiedlichen Laboratorien validiert, wovon eine nicht computerbasiert sein durfte.

Für jeden SNP wurden folgende Daten festgehalten: Gen, bzw. Region des Gens, in der der SNP lokalisiert ist, SNP- Identitätsnummer, chromosomale Lokalisation (Contig- Position, zytogenetische Lokalisation), SNP- Position relativ zum Nukleinsäureaustausch, potentielle Rolle des DNA Abschnitts, Frequenz des selteneren Allels, sowie die, den SNP umrahmende Sequenz von je 100 Basenpaaren (Abbildung 21, Abbildung 22)

Tabelle 18: Tabellarische Polymorphismen Charakterisierung

Gen	rs- Nummer	Chromosomen Position	Band	Allele	Rolle	Min. Frequenz
5-HT-2A	rs643627	chr13:45226612	13q14.2	A/G	Intron 2	0,49
5-HT-2A	rs594242	chr13:45256053	13q14.2	C/G	Intron 2	0,23

```
AAAGTCACTATTTGAAGTCCTGGCTATAAAAATTAGTTCCAGCAGCTTTCACCTA
AAGCTGGCCCAAGTCTGAAATGAACCAAATTGCATGAGCTCTATT[A/G]TGTGCC
CCTCTTGTAATATAAAAATCTAATAAAAGTAAATAGCAAAGTCTAATAGATAATCC
TAACAGAGGAGCAAGCACTAAGGTGTGGTAGCTGAGGA
```

Abbildung 21: Zielsequenz des 5-HT2A SNP rs643627, Basenaustausch gelb unterlegt

```
CATCATAGATTAGTCAAGTTTTCTGCACTCAGTACTCCTGAAATGTACTGCTGC
TTTCCCCTTGCTCACCATTATCAGTGTGGTCACTTCACTGCTTGC[C/G]AAGGATT
CCATCTAATTCTGAGGAAAAGGAACATAATTGCAAATCATTGTGTTTTCTGTGTG
GGAGCTTCTGAGTAAAGCAGCAATGACAGGAGATTGAA
```

Abbildung 22: Zielsequenz des 5-HT2A SNP rs594242, Basenaustausch gelb unterlegt

2.2.9 Genotypisierung mittels SNP Microarrays

Die Genotypisierung der genomischen DNA wurde in Zusammenarbeit mit einer Biotechnologie Firma (Illumina Inc., San Diego, CA) durchgeführt. Die beiden Polymorphismen rs594242 und rs643627 wurden im Rahmen eines Hochdurchsatzgenotypisierungsprojektes untersucht. Die Methode umfasst eine Kombination aus Sentrix Microarrays und dem Golden Gate Protokoll. Je 40µl DNA pro untersuchtem Proband (60-100 ng/µl) wurden auf mit Barcodes versehene Mikrotiterplatten pipettiert, versiegelt und auf Trockeneis in die USA verschickt. Nach Erhalt der DNA wurden die entsprechenden Oligonukleotid Reagenzien (Primer) für das GoldenGate Assay Protokoll hergestellt und einer Qualitätskontrolle unterzogen. Der Assay beruht auf einer allelspezifischen Extensionsmethode (Abbildung 23). Anschließend an die im Multiplex Maßstab durchgeführte PCR wurden die Proben an *96-sample high-density* Sentrix Microarray-Matrizen hybridisiert (komplementäre Basenpaarung). Die Matrizen beruhen auf sogenannten *bead-based capture probe* Sequenzen.

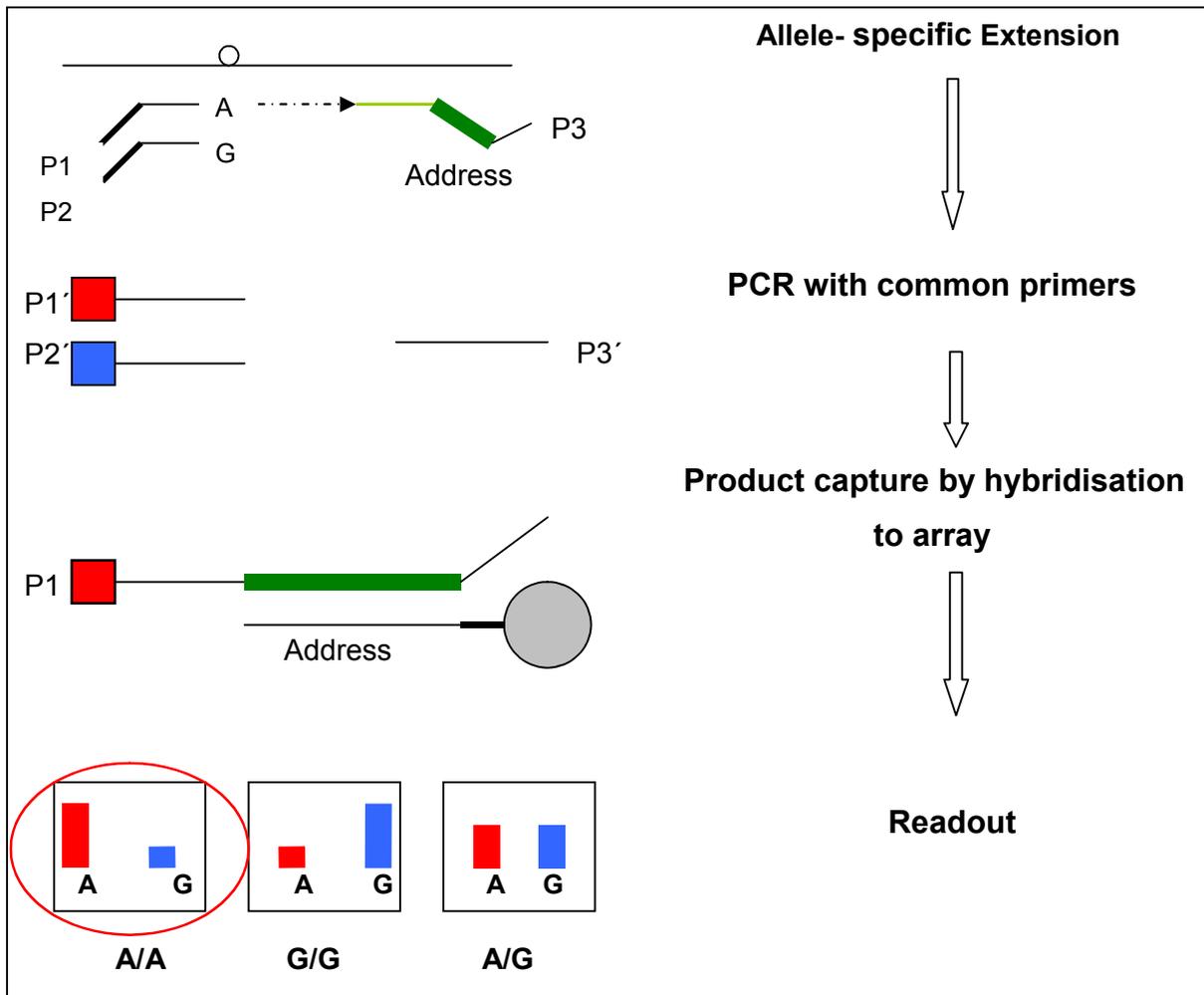


Abbildung 23: Schema der allelspezifischen Verlängerungsmethode und Typisierung

2.2.9.1 Hochdurchsatzgenotypisierung mittels Golden Gate Protokoll

Die Hochdurchsatzgenotypisierung mittels „Golden Gate Protokoll“ basiert auf einer allelspezifischen Extension und einer PCR Verstärkungsreaktion. Für jeden SNP Locus existieren allelspezifische Sonden (ASO) und locuspezifische Sonden (LSO), die Bereiche enthalten, die zum einen von universellen Primern P1 und P2, zum anderen mit der genomischen DNA komplementär sind. Sie enden an der polymorphen Stelle mit einer allelspezifischen Base. LSO enthält zudem einen der genomischen DNA komplementären Bereich. Diese Sonde endet mit einer spezifischen „Address“ Sequenz, die zur SNP- Identifizierung (Bindung an Bead Typen) und als Sequenz für den universellen Primer p3 dient.

Die DNA wird zunächst an paramagnetischen Partikeln immobilisiert und dann im Hybridisierungsschritt an die Sonden gebunden. Im Anschluss folgen mehrere

Waschschritte, bei denen überschüssige und falsch hybridisierte Oligonukleotide entfernt werden. Nach Zugabe von Taq- Polymerase wird durch Extension der entsprechenden ASO und Ligation mit der LSO die Lücke zwischen den Fragmenten geschlossen. Die so erzeugten Sequenzabschnitte dienen in der folgenden PCR als Matrize. Die Mischung für die PCR besteht aus Cy3 und Cy5 fluoreszenzmarkierten Primern P1 und P2, und einem biotinylierten Primer P3. Die durch die PCR entstandene Doppelstrang DNA enthält dem Markierungsmuster entsprechend einen Strang, der das Komplement „Address“ Sequenz enthält und entweder einen Cy3 oder Cy5 markiert ist. Außerdem enthält sie einen zweiten, biotinylierten Strang. Nach Entfernung des biotinylierten Stranges werden die Proben mit einer Sentrix Array Matrix zur Hybridisierung mit den Beads und anschließenden Detektion zusammengebracht.

2.2.9.2 Bead Array Technologie und Sentrix Array Matrix

Kernstück des Verfahrens ist die *Bead Array* Technologie. Sie basiert auf einem fiberoptischen Array System. Ein Array besteht aus einem Faserbündel, das sich aus 50.000 Einzelfasern zusammensetzt. An die chemisch durch Verätzung aufgerauhten Enden setzen sich in zufälliger Anordnung die sogenannten beads (Perlen), die bis zu 3µm groß sind. An der Oberfläche jedes Beads sind mehrere 100 000 Kopien eines spezifischen Oligonukleotids. Für die Genotypisierung wurden 384 verschiedene Perlen (den zu untersuchenden Allelen entsprechend) verwendet. Die Oligonukleotide wurden so ausgewählt, dass es weder zu unspezifischen Hybridisierungen im menschlichen Genom, noch zu Kreuzhybridisierungen der Oligonukleotide untereinander kommen konnte.

Die spezifischen Beads wurden gemischt und mit einem fiberoptischen Faserbündel aus ungefähr 50.000 Fasern in Kontakt gebracht (Abbildung 24). An das Ende jeweils einer Faser heftet sich jeweils ein Bead mit dem entsprechenden Oligonukleotid an. So ergeben sich pro Faserbündel ungefähr 50 000 Signale, die aus dem Vielfachen der eingesetzten Oligonukleotidproben bestehen (ca 33 Signale pro Nukleotid bei maximal 1500 unterschiedlichen Beadtypen und gleichmäßiger Verteilung).

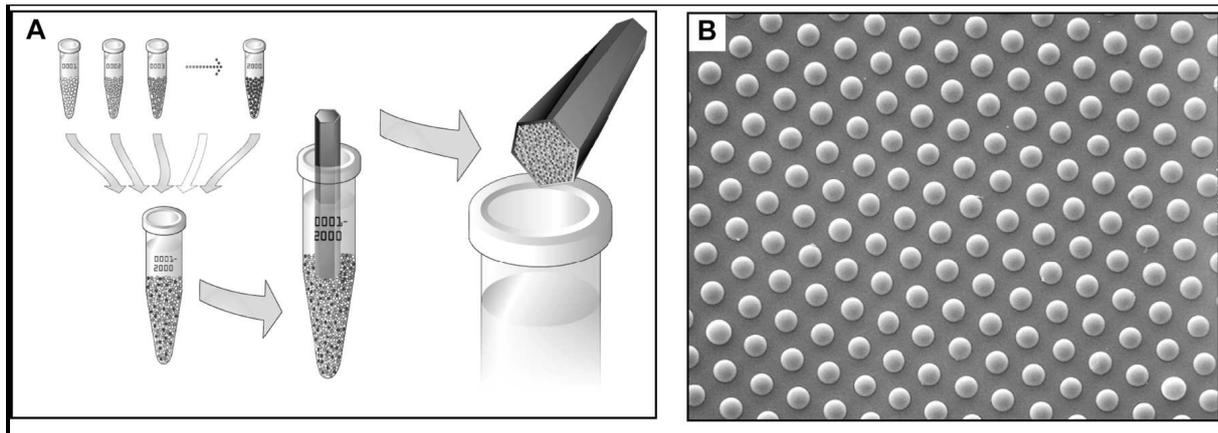


Abbildung 24: Schematische Darstellung der Arbeitsschritte zum Bead Array Prinzip, Elektronenmikroskopische Abbildung von Siliziumperlen mit 3µm Durchmesser

Die Sentrrix Array Matrix besteht aus 96 Einzelarrays, die in einem „Array of Arrays“ Format angeordnet sind. Dieses ist mit 96 well-Mikrotiterplatten kompatibel. Pro Array kann eine DNA Probe untersucht werden.

2.3 Statistische Auswertung

Die Statistik wurde mit Hilfe der SPSS 14.0 Software (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc, Chicago, 2005) ausgewertet. Die Verteilung der Genotypen wurde mittels des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts getestet. Unterschiede in den Häufigkeiten der Allele und Genotypen bei Patienten und Kontrollen wurden mittels des zweiseitigen χ^2 -Tests verglichen. Dabei wurde ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ festgelegt, während $p < 0.1$ als Trend gewertet wurde.

3 Ergebnisse

3.1 Analyse der Polymorphismen im 5-HT2A Rezeptor Gen

Untersucht wurde der Basenaustauschpolymorphismus von Adenin nach Guanin an Locus 46365248: rs643627, sowie der Austausch von Cytosin nach Guanin an Locus 46394689: rs594242. Untersucht wurden 101 Suizidenten, und 323 Kontrollen von gesunden Probanden.

3.1.1 Analyse der 5-HT2A Allelverteilung zwischen Suizidenten und gesunden Probanden für rs643627

Bei der Analyse der Daten zum 5-HT2A- Polymorphismus rs643627 wurde zunächst die Verteilung der Allele zwischen der Suizidenten- und Kontrollgruppe untersucht (Tabelle 19).

Tabelle 19: Darstellung der Allelverteilung des Polymorphismus rs643627 zwischen Suizidenten und gesunden Kontrollen

		Gen 5-HT2A Locus 46365248 SNP rs643627		Gesamt
		A- Allel	G- Allel	
Kontrollen	Anzahl	446	200	646
	Anzahl in %	69,0%	31,0%	100%
Suizidenten	Anzahl	147	55	202
	Anzahl in %	72,8%	27,2%	100%
Gesamt	Anzahl	593	255	848
	Anzahl in %	69,9%	30,1%	100%

Es konnte kein Unterschied in den Häufigkeiten der Allele zwischen Suizidenten- und Kontrollgruppe nachgewiesen werden ($\chi^2=1,019$, OR= 0,834, df=1, p=0,313).

3.1.2 Analyse der 5-HT2A Genotypenverteilung zwischen Suizidenten und gesunden Kontrollen für rs643627

Die möglichen Genotypen für den in dieser Arbeit untersuchten Polymorphismus an der Stelle rs643627 des 5-HT2A Gens wurden folgendermaßen benannt:

Tabelle 20 zeigt die Genotypfrequenzen in den beiden Gruppen.

Tabelle 20: Darstellung der Genotypverteilung des 5-HT2A Polymorphismus für rs643627

		rs643627			Gesamt
		A/A	A/G	G/G	
Kontrollen	Anzahl	156	134	33	323
	Anzahl in %	48,3%	41,5%	10,2%	100%
Suizidenten	Anzahl	53	41	7	101
	Anzahl in %	52,5%	40,6%	6,9%	100%
Gesamt	Anzahl	209	175	40	423
	Anzahl in %	49,3%	41,3%	9,4%	100%

Auch in den Genotypfrequenzen war zwischen den beiden untersuchten Gruppen ($\chi^2=1,168$, $df=2$, $p=0,558$) kein Unterschied erkennbar.

Ergebnisse

In Tabelle 21 wurden die G-Allel Träger (A/G, G/G) in einer Gruppe zusammengefaßt und mit den Homozygoten für das A-Allel (A/A) verglichen.

Tabelle 21: Darstellung der Häufigkeit der G Allel-Träger (Genotyp A/G und G/G) im Vergleich zu den homozygoten Trägern für das A-Allel (Genotyp A/A) des 5HT2A Rezeptor Gens für rs643627

		rs643627		Gesamt
		Genotyp A/A	Genotypen A/G und G/G	
Kontrollen	Anzahl	156	167	323
	Anzahl in %	48,3%	51,7%	100%
Suizidenten	Anzahl	53	48	101
	Anzahl in %	52,5%	47,5%	100%
Gesamt	Anzahl	209	215	424
	Anzahl in %	49,3%	50,7%	100%

Es konnte keine Assoziation des G-Allels mit suizidalem Verhalten festgestellt werden ($\chi^2=0,537$, OR= 0,846, df=1, p=0,464).

Tabelle 22 zeigt entsprechend die Analyse der Genotypen, indem die Träger des A-Allels (A/A, A/G) in einer Gruppe zusammengefaßt und mit den Homozygoten für das G-Allel (G/G) verglichen wurden.

Tabelle 22: Darstellung der Häufigkeit der A-Allel Träger (Genotyp A/A und A/G) gegen die homozygoten Träger für das G-Allel (Genotyp G/G) des 5-HT2A Rezeptorgens für rs643627

		rs643627		Gesamt
		Genotypen A/A und A/G	Genotyp G/G	
Kontrollen	Anzahl	290	33	323
	Anzahl in %	89,8%	10,2%	100%
Suizidenten	Anzahl	94	7	101
	Anzahl in %	93,1%	6,9%	100%
Gesamt	Anzahl	384	40	424
	Anzahl in %	90,6%	9,4%	100%

Es konnte keine Assoziation mit Suizidalität festgestellt werden ($\chi^2=0,972$, OR=0,654, df=1, p=0,324).

3.1.3 Analyse der 5-HT2A Allelverteilung zwischen Suizidenten und gesunden Kontrollen für rs594242

Bei der Analyse der Daten zum 5-HT-2A- Polymorphismus an Locus 46394689: rs594242 wurde ebenfalls zunächst die Verteilung der Allele zwischen der Suizidenten- und Kontrollgruppe untersucht (Tabelle 23).

Ergebnisse

Tabelle 23: Darstellung der Allelverteilung des Polymorphismus rs594242 zwischen Suizidenten- und gesunden Kontrollen

		rs594242		Gesamt
		C-Allel	G-Allel	
Kontrollen	Anzahl	139	507	646
	Anzahl in %	21,5%	78,5%	100%
Suizidenten	Anzahl	50	152	202
	Anzahl in %	24,8%	75,2%	100%
Gesamt	Anzahl	189	659	848
	Anzahl in %	22,3%	77,7%	100%

Es zeigten sich keine Unterschiede der allelischen Verteilung zwischen Suizidenten und Kontrollgruppe ($\chi^2=0,930$, OR= 0,8334, df=1, p=0,335).

3.1.4 Analyse der 5-HT2A Genotypenverteilung zwischen Suizidenten und gesunden Probanden für rs594242

Die möglichen Genotypen für den in dieser Arbeit untersuchten Polymorphismus an der Stelle rs594242 des 5-HT2A Gens wurden folgendermaßen bezeichnet:

Tabelle 24 zeigt die Genotypfrequenzen in den beiden Gruppen.

Tabelle 24: Genotypenverteilung zwischen Suizidenten und Probanden für rs594242

		rs594242			Gesamt
		C/C	C/G	G/G	
Kontrollen	Anzahl	15	109	199	323
	Anzahl in %	4,6%	33,7%	61,6%	100%
Suizidenten	Anzahl	4	42	55	101
	Anzahl in %	4,0%	41,6%	54,5%	100%
Gesamt	Anzahl	19	151	254	424
	Anzahl in %	4,5%	35,6%	59,9%	100%

Auch hier war kein Unterschied in den Genotypfrequenzen zwischen den beiden untersuchten Gruppen erkennbar ($\chi^2=2,065$, $df=2$, $p=0,356$).

In Tabelle 25 wurden die G-Allel Träger (G/G, G/C) in einer Gruppe zusammengefaßt und mit den Homozygoten für das C-Allel (C/C) verglichen.

Tabelle 25: Darstellung der Häufigkeit der G-Allel Träger (Genotyp G/G und G/C) im Vergleich zu den homozygoten Trägern für das C-Allel (Genotyp C/C) des 5-HT2A Rezeptor Gens für rs594242

		rs594242		Gesamt
		Genotyp C/C	Genotypen C/G und G/G	
Kontrollen	Anzahl	15	308	323
	Anzahl in %	4,6%	95,4%	100%
Suizidenten	Anzahl	4	97	101
	Anzahl in %	4,0%	96,0%	100%
Gesamt	Anzahl	19	405	424
	Anzahl in %	4,5%	95,5%	100%

Es konnte keine Assoziation mit suizidalem Verhalten festgestellt werden ($\chi^2=0,084$, $OR= 1,181$, $df=1$, $p=0,772$).

Ergebnisse

Tabelle 26 zeigt die Analyse der Genotypen, indem die Träger des C-Allels (C/G, C/C) in einer Gruppe zusammengefaßt und mit den Homozygoten für das G-Allel verglichen wurden.

Tabelle 26: Darstellung der Häufigkeit der C-Allel Träger (Genotyp C/G und C/C) gegen die homozygoten Träger für das G-Allel (Genotyp G/G) des 5-HT2A Rezeptorgens für rs594242

		rs594242		Gesamt
		Genotypen C/C und C/G	Genotyp G/G	
Kontrollen	Anzahl	124	199	323
	Anzahl in %	38,4%	61,6%	100%
Suizidenten	Anzahl	46	55	101
	Anzahl in %	45,5%	54,5%	100%
Gesamt	Anzahl	170	254	424
	Anzahl in %	40,1%	59,9%	100%

Es konnte keine Assoziation mit Suizidalität festgestellt werden ($\chi^2=1,640$, OR=0,745, df=1, p=0,200).

4 Diskussion

4.1 Inhaltliche Interpretation der Ergebnisse

Für die vorangestellte Hypothese dieser Arbeit, dass die untersuchten genetischen Variationen des 5-HT_{2A} Rezeptors mit suizidalem Verhalten assoziiert sein könnten, läßt sich aufgrund der Untersuchungsergebnisse folgende Aussage treffen:

In der vorliegenden Arbeit konnte keine Assoziation der untersuchten Polymorphismen des Gens des 5-HT_{2A} Rezeptors und suizidalem Verhalten festgestellt werden. Es zeigten sich keine Unterschiede in den Häufigkeiten der Genotypen- und Allelverteilung zwischen Suizidenten und gesunden Probanden.

4.2 Funktionelle Relevanz der untersuchten Polymorphismen des 5-HT_{2A} Rezeptors

Es handelt sich sowohl bei dem Polymorphismus rs643627, wo ein Austausch der Basen Adenin und Guanin stattfindet, als auch bei dem Polymorphismus rs594242, bei dem es sich um einen Austausch von Cytosin gegen Guanin handelt, um intronische Polymorphismen. Beide liegen im Intron 2 des 5-HT_{2A} Rezeptors zwischen den Exons 2 und 3 auf dem Chromosom 13 und haben dadurch möglicherweise keine regulatorische Relevanz. Der SNP liegt nicht in einer Sequenzfolge als eigentliche Funktionseinheit auf der DNA vor sondern ist in eine Matrix aus Introns, also nicht- codierenden DNA- Abschnitten, eingebettet. Bei der Transkription entsteht eine prä-mRNA, die noch nicht- codierende Sequenzen enthält. Für die reife mRNA werden diese Sequenzen entfernt. Diesen Vorgang nennt man Spleißen. Das Spleißen erfolgt an bestimmten Spleißstellen, die durch korrekte Spleißsequenzen erkannt werden. Es ist möglich, dass eine veränderte Basensequenz der genomischen DNA, wie sie bei einem Polymorphismus zustande kommt, zur Folge hat, dass die Konsensussequenz der Spleißstelle verändert wird, oder eine neue Spleißstelle entsteht, das heißt, es kann zu einem fehlerhaften Spleißen kommen, infolge dessen ein Protein mit veränderten Eigenschaften gebildet wird.

Polymorphismen sind sehr häufig einfache Marker, das heißt, dass der krankheitsrelevante Polymorphismus zwar in der Nähe des untersuchten Polymorphismus liegt, dieser selbst keinen direkten Einfluß nimmt, aber dass die

beiden aufgrund ihrer räumlichen Nähe meistens zusammen vererbt werden. Daher haben betroffene Individuen häufiger ein bestimmtes Allel, ohne dass dieses selbst funktionell ist.

Auf keine der beiden in dieser Arbeit untersuchten Polymorphismen trifft dies jedoch zu.

4.3 Vergleich der Ergebnisse zu den 5-HT_{2A} Polymorphismen mit bestehender Literatur und abschließende Beurteilung

Die statistische Auswertung ergab, dass sowohl die untersuchte DNA der Kontrollgruppe als auch die der Suizidentengruppe keine signifikanten Unterschiede in der Häufigkeit des einen oder des anderen Allels aufwies. Bisher gibt es nur wenige Studien, die einen Zusammenhang zwischen Polymorphismen im 5-HT_{2A} Rezeptor und suizidalem Verhalten untersucht haben. Zudem ist die Anzahl der Probanden meist stark begrenzt.

Eine postmortem Studie der Universität von Illinois, die unter anderem an Hirngewebe von Suizidopfern im Teenageralter durchgeführt wurde zeigte, dass in den Bereichen des präfrontalen Cortex und des Hippocampus eine deutlich höhere Expression von 5-HT_{2A} Rezeptoren existierte. Es wurden hierbei Gewebeproben von 15 Suizidopfern untersucht (Pandey et al., 2002). Diese Aussage stimmt mit einem Forschungsergebnis überein, das sich 1998 in einer Studie ergab. Hierbei wurden Gewebeproben von erwachsenen Suizidopfern untersucht (Gross- Isseroff et al., 1998). Das Centre of Research Science in Montreal hat bei einer Studie von 11 Gewebeproben von Suizidopfern im Vergleich zu 11 gesunden Probanden verglichen, ob die höhere Bindung von Serotonin im Bereich des präfrontalen Cortex an den 5-HT_{2A} Rezeptor zumindest teilweise genetische Ursachen haben könnte. Hierfür wurden die Polymorphismen T102C und A-1438G untersucht. Die Forschungsgruppe fand übereinstimmend mit bisherigen Ergebnissen, dass in der Gruppe der Suizidenten eine höhere 5-HT_{2A} Bindung existierte, ein Zusammenhang mit den untersuchten Loci konnte aber nicht festgestellt werden (Turecki et al., 1999). 2001 veröffentlichte eine Forschungsgruppe der Universität Barcelona, dass ein Polymorphismus gefunden wurde, der mit suizidalem Verhalten bei depressiven Patienten assoziiert ist. Es handelte sich um einen Austausch von Thymin gegen Cytosin im 5-HT_{2A} Rezeptorgen, der an Stelle 102 stattfand. In einer Fall-Kontroll-Studie wurden 189 Patienten mit einer *Major Depression Episode* nach *Diagnostic*

and Statistical Manual of Mental Disorders -IV Kriterien mit einer Gruppe von 159 gesunden Probanden verglichen. Alle Untersuchten waren spanischer Abstammung. Das Ergebnis zeigte nicht nur einen Unterschied zwischen Suizidpatienten und Gesunden, in Genotyp und Phänotyp in der Allelverteilung, sondern auch, dass die C-Allelträger ein fünffach höheres Suizidversuchsrisiko hatten als die Nicht-C-Allelträger (Arias et al., 2001). Das ließ darauf schließen, dass die Assoziation zu dem suizidalen Verhalten der depressiven Patienten bestand, und nicht zur Depression. Diese Aussage wurde 2003 von einer Forschungsgruppe der Universität Toronto widerlegt, die denselben Polymorphismus an einer Gruppe von einundsiebzig an Schizophrenie oder schizo- affektiven Störungen erkrankten Patienten untersuchte, die ebenfalls Suizidversuche unternommen hatten. Die Assoziation wurde in der Gruppe derer, die Suizidversuche unternommen hatten, nicht nachgewiesen, sodass eine Assoziation zu suizidalem Verhalten alleine unwahrscheinlich ist (Ertugurl et al., 2003). Diese Aussage wurde von einigen anderen Studien unterstützt (Correa et al., 2002, Anguelova et al., 2003). Allerdings zeigte die Studie, dass Patienten mit dem Genotyp T/C, also Heterozygote, ein deutlich höheres Maß an Depression auf der Hamilton Depression Scale aufwiesen, als die C/C Homozygoten, und ein wenig höher als die T/T Homozygoten. Die Studie kam zu dem Schluß, dass eine weitere Studie mit größeren Zahlen aussagekräftiger wäre. Diese erfolgte im Oktober 2004. Das Department of Neuroscience New York untersuchte in Zusammenarbeit mit dem Department of Psychiatry der Columbia University, New York 63 freiwillige, gesunde Probanden im Vergleich zu 152 Patienten mit affektiven Störungen, wovon 56 suizidales Verhalten in der Krankengeschichte aufwiesen. Alle untersuchten Probanden waren kaukasischer Abstammung, und waren auf im Hinblick auf den T102C Polymorphismus genotypisiert worden. Das Ergebnis zeigte, dass die T/C Heterozygoten hauptsächlich in der Gruppe der Patienten mit affektiven Störungen und suizidalem Verhalten zu finden waren.

Auch wenn sich, wie in der Einleitung beschrieben, einige Studien bereits mit der Untersuchung von einzelnen Polymorphismen beschäftigten, und auch gegenwärtig noch weiter untersuchen, so konnte ein eindeutiges Ergebnis bislang nicht erzielt werden. Die Ergebnisse der meisten Studien führen derzeit zu einem Ausschluß der untersuchten Polymorphismen, da keine Assoziation zu suizidalem Verhalten nachgewiesen werden konnte.

Ziel der molekulargenetischen Forschung ist es, die genetischen Ursachen für die Pathomechanismen von Krankheiten auf Ebene der DNA-Sequenz zu identifizieren. Bei multifaktoriellen Erkrankungen, zu denen auch die des suizidalen Verhaltens gehört, wird das Erreichen dieses Ziels dadurch erschwert, dass sowohl Umwelt-, als auch genetische Faktoren an der Krankheit beteiligt sind. Darüber hinaus ist das suizidale Verhalten eine polygene Erkrankung, deren genetischer Beitrag wahrscheinlich durch Varianten in verschiedenen Genen entsteht, wie beispielsweise Gene, die zwar für die Krankheitsentstehung nicht unmittelbar notwendig sind, aber die Erkrankungswahrscheinlichkeit dafür erhöhen. Ein tieferes Verständnis der Krankheitsentstehung kann daher erst nach der Identifizierung dieser Gene und der Kenntnis ihrer Wirkungen und Wechselwirkungen entstehen. Eine bessere Eingrenzung, welche Vulnerabilitätsgene, bzw. deren genetische Variationen für diese Erkrankung prädisponieren, wäre zu erhoffen.

Die für diese Dissertation untersuchten Polymorphismen zeigen in der hier untersuchten Stichprobe keinen Einfluß auf das suizidale Verhalten.

4.4 Allgemeine Betrachtung zur Methodik und Aussagekraft dieser Studie

Die serotonerge Aktivität wird vermutlich durch Umweltfaktoren wie Diät, frühkindliche Erfahrungen und zahlreiche andere Faktoren beeinflusst. Aufgrund der erblichen Komponente suizidalen Verhaltens lässt sich das Vorhandensein einer genetischen Ursache annehmen. Daher ist es sinnvoll, Kandidatengene und deren Polymorphismen zu identifizieren, die das serotonerge System beeinflussen und in direktem Zusammenhang mit der Aktivität des serotonergen Systems stehen. Optimal wäre die Identifizierung solcher Polymorphismen, die eine Genexpression oder Rezeptoraffinität beeinflussen. Aber auch die Identifizierung von sogenannten „stillen Polymorphismen“, die keinen direkten Einfluss auf Struktur oder Funktion der Serotoninrezeptoren haben, sind weiterführend, da sie, soweit sie sich im Kopplungsgleichgewicht befinden, als Marker funktionell bedeutender Geneorte dienen können. Das gründet in der Tatsache, dass einzelne Allele, sofern sie auf einem Chromosom nahe beieinander liegen, abhängig voneinander auftreten können.

Eine Untersuchungsmethode stellen Kopplungsstudien dar, die zur Identifizierung von Genen, die mit Suizidalität assoziiert sein können, herangezogen werden. Ein

Vorteil bei Kopplungsstudien ist, dass sie nicht auf pathobiologischen Modellen der Suizidalität beruhen. Erst bei der Identifizierung eines entsprechenden Gens im gekoppelten Sequenzabschnitt, wird dieses in den Zusammenhang mit der Entstehung der Krankheit gestellt.

Im Hinblick auf die Suizidalität, die eine komplexe Erkrankung mit vermutlich vielen kleinen Genregionen zu sein scheint, ist die Methodik der Kopplungsstudie jedoch nicht gut geeignet. Die eingrenzbaeren Genregionen sind hierbei noch zu groß.

Mittels der Assoziationsstudien wird untersucht, ob die Kandidatengene die Vererbung des suizidalen Verhaltens oder anderer Erkrankungen beeinflussen, oder an ihrer Ausprägung beteiligt sein könnten. In diesem Fall weicht die Allelverteilung der Patientengruppe signifikant von der Kontrollgruppe ab. Suizidales Verhalten ist ein multifaktoriell bedingtes Verhalten, dessen Ursachenerforschung komplexe Anforderungen stellt. Da die Suizidalität eine polygene Erkrankung zu sein scheint, stellen Assoziationsstudien eine geeignete Forschungsmethode dar, um bereits in Verdacht stehende Genregionen auf kleinere Genvarianten zu untersuchen. Ein Nachteil der Assoziationsstudien besteht jedoch darin, dass es bei relativ kleinen Patienten- und Kontrollkollektiven ($n=101$) zu falsch-positiven und falsch-negativen Ergebnissen kommen kann, die mit der Populationsstratifikation und Populationsschichtung im Zusammenhang stehen, nicht aber mit der Erkrankung selbst.

Die in dieser Arbeit untersuchten Polymorphismen rs643527 und rs594242 liegen beide auf dem Chromosom 13 in räumlicher Nähe und sind somit für die Analyse im Bezug auf Ihre funktionelle Relevanz geeignet.

Obwohl diese Untersuchung negative Ergebnisse erbracht hat, trägt sie dennoch zur Einschränkung der Hypothese bei, dass eine Rezeptoraktivierung zur Entstehung der Suizidalität führt, indem sie die Determination an dieser Stelle ausschließen.

Die zahlreichen Befunde von Risikogenen aus Kopplungsstudien und Assoziationsstudien, die in der Einleitung dieser Arbeit näher beschrieben wurden, sowie das heterogene klinische Bild aus Depression und Suizidalität, lassen eine Beteiligung von nur einem einzelnen Gen sehr unwahrscheinlich erscheinen.

Die unterschiedlichen Risikogene sind in diesem Zusammenhang eher als komplementäre, denn als konkurrierende pathophysiologische Modelle zu sehen, die im Zusammenhang mit verschiedenen Umweltfaktoren an der Ätiopathogenese der Suizidalität beteiligt sein können.

Bei der Vielzahl der anzunehmenden beeinflussenden Faktoren der Entstehung der Suizidalität, wäre eine genetische Homogenität der Suizidenten und der gesunden Kontrollgruppe wünschenswert. Damit könnten Effekte der Populationsvermischung, Probenstratifizierung und Populationsstratifizierung umgangen, und eventuelle falsch positive Assoziationen ausgeschlossen werden (Plomin et al., 1994). Die in dieser Studie eingeschlossene Stichprobe der Suizidenten war in Hinblick auf Alter, Geschlecht, Ethnizität, Komorbidität unterschiedlich. Eine diagnostische relevante Aussage hinsichtlich der gemeinsamen Risikogene zu treffen, wäre bei der vermuteten multifaktoriellen Beeinflussung nicht möglich.

4.5 Ausblick

Die vorliegende Genanalyse zu suizidalem Verhalten an postmortem Gewebe zeigte keine signifikanten Unterschiede der genetischen Variationen im 5-HT_{2A} Rezeptorgen. Durch die Möglichkeit multiple Polymorphismen zu untersuchen, sollte weiter daran gearbeitet werden relevante Gene zu identifizieren. Die naheliegendste Maßnahme wäre eine generelle Erhöhung der Fallzahlen, um die statistische Aussagekraft zu erhöhen. Die Studiendesigns, die sich auf suizidales Verhalten festlegen, sollten einheitlich im Bezug auf ethnische Hintergründe und Komorbiditäten sein, um ebenfalls Fallzahlen zu steigern und eine höhere statistische Aussagekraft zu erzielen. Nachdem das suizidale Verhalten durch multiple Faktoren beeinflusst wird, die untersuchten Serotoninrezeptoren an verschiedenen Organen vorkommen und an unterschiedlichen Abläufen beteiligt sind, ist es schwierig, die identifizierten Genvarianten eindeutig der Suizidalität zuzuordnen. Es wäre also nötig die unterschiedlichen Einflüsse und Mechanismen so weit wie möglich einzugrenzen und wenn möglich auszuschalten. Es wäre daher eine Überlegung, da Suizidalität unter anderem häufig mit psychiatrischen Erkrankungen vergesellschaftet ist, die Suizidentengruppe mit einer Kontrollgruppe zu vergleichen, die den gleichen psychopathologischen Befund aufweist, jedoch ohne Suizidversuch in der Krankengeschichte ist. In dem Falle wäre es leichter einzugrenzen, ob die genetischen Varianten tatsächlich mit Suizidalität im Zusammenhang stehen, oder mit dem psychiatrischen Krankheitsbild.

Sind solche relevanten Unterschiede aufgedeckt, sollte weitergehend die funktionelle Relevanz erforscht werden. Mit identifizierten Genvarianten wäre somit die Basis

geschaffen aufgrund der neurobiologischen Faktoren Hochrisikopatienten zu identifizieren und präventiv zu behandeln. Da die Funktion von Genen in Gehirnprozessen immer mehr verstanden wird, kann eventuell begonnen werden in die Entstehungsprozesse einzugreifen. Sollte die ursächliche Pathophysiologie der Suizidalität verstanden werden, würde dieses zu neuen, spezifischeren Therapien und Prävention der Suizide führen können.

5 Zusammenfassung

Der Suizid ist eine der häufigsten Todesursachen weltweit. Er ist ein vermeidbares Problem der öffentlichen Gesundheit. Daher ist es notwendig, dass die Ursachenforschung und damit verknüpfte mögliche Prävention weiter untersucht werden.

Suizidales Verhalten ist ein komplexes und multifaktoriell bedingtes Verhalten, dessen Ausprägung durch psychiatrische Erkrankungen und Persönlichkeitsmerkmale, aber auch verschiedene äußere Risikofaktoren, wie psychosoziale, lebenssituative und neurobiologische beziehungsweise genetische Faktoren beeinflusst wird.

Neuroanatomische und neurobiologische Studien bestärken zunehmend einen Zusammenhang zwischen suizidalem Verhalten und einer Störung des serotonergen Systems.

Bislang konnte kein eindeutiger Zusammenhang zwischen suizidalem Verhalten und serotonergen Genen nachgewiesen werden.

Im Rahmen dieser Dissertation wurden zwei Polymorphismen im Serotonin-2A-Rezeptorgen (5-HT_{2A}) rs 643627 und rs594242 und den Allelen A/G und C/G auf einen Zusammenhang mit der Erkrankung untersucht.

Der 5-HT_{2A} Rezeptor ist Teil des serotonergen Systems, das eine zentrale Rolle in der Regulation von kognitiven, emotionalen und neuroendokrinen Prozessen spielt, und somit eine Vielzahl verhaltensrelevanter Funktionen beeinflusst.

Es handelt sich um eine Kandidatengen- Fall- Kontrollstudie, die Patienten mit vollendetem Suizid und eine Kontrollgruppe von Probanden, die keine psychiatrische Erkrankung in der Vorgeschichte haben, einschließt.

Hierzu wurde postmortem Gewebe von 101 Suizidenten einer Genotypisierung unterzogen, und die Ergebnisse mit 323 Kontrollen verglichen

Bisher durchgeführte Studien, die verschiedene Polymorphismen in dem hier beschriebenen Gen untersuchten, konnten keine direkte Assoziation mit der Erkrankung feststellen.

Auch die für diese Dissertation untersuchten Polymorphismen wiesen keine funktionelle Relevanz in Bezug auf suizidales Verhalten auf. Eine Assoziation mit suizidalem Verhalten konnte in der untersuchten Zielgruppe ebenfalls nicht festgestellt werden.

Gelänge es, Varianten in Genen zu identifizieren, die das Risiko für suizidales Verhalten erhöhen, könnte daraus ein wichtiger Hinweis auf neurobiologische Zusammenhänge gewonnen werden und ein Einsatz als klinischer Marker wäre denkbar. Dies könnte einerseits die Identifizierung von Hochrisikopatienten ermöglichen, zum anderen könnten daraus neue Therapiemöglichkeiten resultieren.

6 Literaturverzeichnis

Abdolmaleky HM, Faraone SV, Glatt SJ, Tsuang MG, (2004)

Meta-Analysis of association between T102C polymorphism of the 5HT2a receptor gene and schizophrenia

Schizophrenia research 67(1):53-62

Ackenheil M, (2000)

Neurobiologie von Aggression, Impulskontrolle und Gewalttätigkeit. ZNS Journal, Forum für Psychiatrie und Neurologie.

Alda M, Hrdina PD, (2000)

Distribution of Platelet 5-HT(2A) receptor densities in suicidal and non- suicidal depressives and control subjects.

Psychiatry Res. 2000 Jul 17; 94 (3): 273-7.

Allgulander C, (2000)

Psychiatric aspects of suicidal behaviour: anxiety disorders. In: The international handbook of suicide and attempted suicide (eds. Hawton, K., van Heeringen, K.). John Wiley & Sons, Ltd., West Sussex, England.

Amsel L, Mann JJ, (2001)

Suicide risk assessment and the suicidal-process approach. In: Understanding suicidal behaviour: The suicidal process approach to research, treatment and prevention (ed. van Heeringen, K.). John Wiley & Sons, Ltd., West Sussex, England.

Anguelova M, Benkelfat C, Turecki G, (2003)

A systematic review of association studies investigating genes coding for serotonin receptors and the serotonin transporter: II. Suicidal behavior.

Mol Psychiatry. 2003 Jul;8(7):646-53. Review.

Apter A, Ofek H, (2001)

Personality constellations and suicidal behaviour. In: Understanding suicidal behaviour: The suicidal process approach to research, treatment and prevention (ed. van Heeringen, K.). John Wiley & Sons, Ltd., West Sussex, England.

Apter A, Plutchik R, Van Praag HM, (1993)

Anxiety, impulsivity and depressed mood in relation to suicide and violent behavior. *Acta Psychiatrica Scandinavica* 87: 1-5.

Arango V, Underwood MD, Mann JJ (1997)

Postmortem findings in suicide victims. Implications for in vivo imaging studies *Ann N.Y. Acad.Sci* 836 269-287

Arango V, Huang YY, Underwood MD, Mann JJ., (2003)

Genetics of the serotonergic system in suicidal behavior *Journal of Psychiatric Research*. 2003 Sep-Oct;37(5):375-386

Arias B, Gasto C, Catalan R, Gutierrez B, Pintor L, Fananas L., (2001)

The 5-HT_{2A} receptor gene 102T/C polymorphism is associated with suicidal behavior in depressed patients, *American Journal Medical Genetics*, 2001 Dec 8;105(8):801-4.

Åsberg M, Träskman L, Thorén P, (1976)

5-HIAA in the cerebrospinal fluid: a biochemical suicide predictor? *Archives of General Psychiatry* 33: 1193-1197.

Bagby RM, Bindseil KD, Schuller DR, Rector NA, Young LT, Cooke RG, Seeman MV, McCay EA, Joffe RT, (1997)

Relationship between the five-factor model of personality and unipolar, bipolar and schizophrenic patients. *Psychiatry Research* 70: 83-94.

Balazic J, Marusic A, (2005)

The completed Suicide as interplay of genes and environment
Forensic Sci. Int. 147, Suppl. S1-S3

Literaturverzeichnis

Baldessarini RJ, Hennen J, (2004)

Genetics of Suicide and overview

Havard review of psychiatry, Jan/Feb;12(1):1-13

Barraclough B, Bunch J, Nelson B, Sainsbury P, (1974)

One hundred cases of suicide clinical aspects

British Journal Psychiatry 125: 355-373

Barratt ES, (1991)

Measuring and predicting aggression within the context of a personality theory. The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neuroscience 3: 535-539.

Barrat ES, (1994)

Impulsiveness and aggression. In: Violence and mental disorder: developments in risk assessment (eds. Monahan, J., Stedman, H.). University of Chicago Press, Chicago.

Beck AT, Schuyler D, Herman I, (1974)

In: The Prediction of Suicide (eds. Beck, A.T., Resnik, H.L.P., Lettier, A.J.). Charles Press Publishing, Bowie, Maryland.

Bellivier F, Szoke A, Henry C, Lacoste J, Bottos C, Nosten- Bertrand M, Hardy P, Rouillon F, Launay JM, Laplanche JL, Leboyer M, (2000)

Possible association between serotonin transporter gene polymorphism and violent suicidal behaviour in mood disorders

Biological psychiatry Aug; 15; 48 (4):319-22

Bloom F, Kupfer D (1994)

Psychopharmacology: The fourth Generation of Progress

Raven Press, New York 1919-1928

Bochnik HJ, (1962)

Verzweiflung. Randzonen menschlichen Verhaltens

Stuttgart

Böddeker I, Ziegler A, (2000)

Assoziations- und Kopplungsstudien zur Analyse von Kandidatengen

Deutsche medizinische Wochenschrift; 810-815

Brent DA, Perper JA, Moritz G, Liotus L, Schweers J, Balach L, Roth C, (1994)

Familial risk for adolescent suicide: a case-control study. Acta Psychiatrica Scandinavica 89: 52-58.

Brunner J, Bronisch T, (1999)

Neurobiologische Korrelate suizidalen Verhaltens. Fortschritte

Neurologie Psychiatrie 67:391-412

Brunner J, Bronisch T, (2002)

Genetics and Neurobiology of suicidal behavior- Implications for Psychopharmacotherapy and Psychotherapy, Psychotherapie, 7. Jahrgang Bd7, Heft 2, CIP-Medien. München

Brunner J, Bronisch T, (1999)

Neurobiological correlates of suicidal behavior, Forts Neurol Psychiatr. 1999 Sep;67(9):391-412

Bühning, P, (2002)

Suizidprävention, Gesellschaftliches Tabu brechen

Deutsches Ärzteblatt, Jg.99, Heft 25, 21.Juni.2002

Coccaro EF, Siever LJ, Klar HM, Maurer G, Cochrane K, Cooper TB, Mohs RC, Davis KL, (1989)

Serotonergic studies in patients with affective and personality disorders. Archives of General Psychiatry 46: 587-599.

Coccaro EF, Bergeman CS, McClearn GE, (1993)

Heritability of irritable impulsiveness: a study of twins reared together and apart. Psychiatry Research 48: 229-242.

Literaturverzeichnis

Collier DA, Arranz MJ, Li T, Mupita D, Brown N, Treasure J, (1997)

Association between 5HT2A gene promoter polymorphism and anorexia nervosa

The Lancet 350 :412

Correa H, De Marco L, Boson W, Viana MM, Lima VF, Campi-Azevedo AC, Naronha JC, Guatimosim C, Romano-Silva MA., (2002)

Analysis of the T102C Polymorphism in Brazilian psychiatric inpatients: relationship of suicidal behaviour.

Cell Mol Neurobiol, Dec, 2002;22(5-6);813-7

Courtet P et al., (2005)

Association between violent suicidal behaviour and the low activity allele of the serotonin transporter gene

Mol Psychiatry, 2005 May; 6(3):388-41

Clark DC, Fawcett J, (1992)

Review of empirical risk factors for evaluation of the suicidal patient. In: Suicide: Guidelines for assessment, management and treatment (ed. Bongar, B.). Oxford University Press.

Costa PT, McCrae RR, (1990)

Personality disorders and the five-factor model of personality. Journal of Personality Disorders 4: 362-371.

De Quervain DJF, Henke K, Aerni A, Coluccia D, Wollmer MA, Hock C, Nitsch RM, Papassotiropoulos A, (2003)

A functional genetic variation of the 5-HT_{2A} receptor affects human memory

Native Neuroscience 6:1141-1142

Dean B, Hayes W, (1996)

Decreases frontal cortical serotonin 2A receptors in schizophrenia

Schizophrenia research 21(3):133-139

Du L, Faludi G, Palkovits M, Demeter E, Bakish D, Lapierre YD, Sotonyi P, Hrdina PD., (1999)

Frequency of long allele in serotonin transporter gene is increased in depressed suicide victims, *Biological Psychiatry*. 1999 Jul 15;46(2):196-201.

Du L, Faludi G, Palkovits M, Bakish D, Hrdina PD, (2001)

Serotonergic Genes and suicidality.

Crisis. 2001; 22(2): 54-60

Ebert D, Loew T (2001)

Psychiatrie systematisch

UNI-MED Verlag Bremen 1.1.5: 45-47, 4.5.1 360-361

Enoch MA, Kaye WH, Rotondo A, Greenberg BD, Murphy DL, Goldman D, (1998)

5-HT_{2A} promoter polymorphism 1438G/A anorexia nervosa and obsessive-compulsive disorder

The Lancet 351:1785-1786

Ertugrul A, Kennedy JL., Masellis M, Basile VS, Jayathilake K, Meltzer H, (2004)

No association of the T102C polymorphism of the serotonin 2A receptor gene (HTR_{2A}) with suicidality in schizophrenia

Schizophrenia Research, Volume 69, Issues 2-3, 1 August 2004, Pages 301-305

Escriba PV, Ozaita A, Garcia-Sevilla JA., (2004)

Increased mRNA expression of alpha_{2A}-adrenoceptors, serotonin receptors and mu-opioid receptors in the brains of suicide victims.

Neuropsychopharmacology. 2004 Aug;29(8):1512-21.

Evenson RC, Wook JB, Nuttall EA (1982)

Suicide Rates among public mental health patients.

Acta psychiatria Scand. 66 254

Felber W., Winiecki P. (2008)

Suizid-Statistik- aktuelle ausgewählte statistisch- epidemiologische Daten zu Deutschland und Osteuropa mit Kommentaren

Literaturverzeichnis

Fiedler G, (1999)

So hab ich doch was in mir, das Gefahr bringt- Perspektiven suizidalen Erlebens
Göttingen: Vandenhoeck & Ruprecht.

Fiedler G, (2001)

Suizide, Suizidversuche und Suizidalität in Deutschland- Daten und Fakten 2002
Forschungsgruppe Suizidalität und Psychotherapie, TZS UKE, Version 2.0,
November 2003

Fiedler G, (2007)

Suizide, Suizidversuche und Suizidalität in Deutschland- Daten und Fakten 2005
Version 6.0, April 2007

Frank GK, Kaye WH, Meltzer CC, Price JC, Greer P, McConaha C, Skovira K, (2002)

Reduced 5-HT_{2A} receptor binding after recovery from anorexia nervosa

Biological Psychiatry 52(9):896-906

Frazer A, Hensler J, (1999)

Serotonin In: Basic Neurochemistry

Siegel G, Agranoff B, Albers W

Fu Q, Heath AC, Buchholz KK, Nelson EC, Glowinski AL, Goldberg J (2002)

A twin study of genetic and environmental influences on suicidality in men

Psychol Med 32:11-24.

Giegling I, Hartmann AM, Möller HJ, Rujescu D, (2006)

Anger and aggression-related traits are associated with polymorphisms in the 5-HT_{2A} Gene

J Affect Disord. 96 (1-2)75-81

Glowinski AL, Buchholz KK, Nelson EC Fu Q, Madden PA, Reich W, Heath AC, (2001)

Suicide attempts in an adolescent female twin sample
J Am Acad Child Adolesc Psychiatry 40:1300-1307.

Gross- Isseroff R, Biegon A, Voet H, Weizmann A, (1998)

The suicide Brain: a review of postmortem receptor/ transporter binding studies
Neuroscie Biobehav., 1998 22:653-661

Harris EC, Barraclough B, (1997)

Suicide as outcome for mental disorders: a meta-analysis
British Journal Psychiatry 170 205-228

Hawton K, (1992)

Suicide and attempted Suicide In: A Handbook of affective Disorders
2nd Edition Pankel ES, Guilford, New York p. 635

van Heeringen C, Audenaert K, Van Laere K, Dumont F, Slegers G, Mertens J, Dierckx RA., (2003)

Prefrontal 5-HT_{2a} receptor binding index, hopelessness and personality characteristics in attempted suicide. J Affect Disord. 2003 Apr;74(2):149-58.

Heila H, Isometsä E, Henrikson M, Heikkinen M, Marttunen M, Lönnquist J, (1997)

Suicide and Schizophrenia: A Nationwide Psychological Autopsy study on Age and Sex-specific Clinical Characteristics of 2 Suicide Victims of Schizophrenia
AM J Psychiatry 154 1235-1242

Helmich P, (2004)

Suizid- Ein Wort, das es nicht geben sollte
Deutsches Ärzteblatt 101, Heft 23, S. 1374

Hesselbrock V, Dick D, Hesselbrock M, Foroud T, Schuckit M, Edenberg H, (2004)

The search for the genetic risk factors associated with suicidal behaviour. Alcohol Clin. Exp. Res. 28:70S-76S

Literaturverzeichnis

Holmes C, Arranz MJ, Powell JF, Collier DA, Lovestone S, (1998)

5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptor polymorphisms and psychopathology in late onset Alzheimer's disease

Human molecular Genetics 7:1507-1509

Hrdina PD, (1996)

A new biological test for suicidality?

J Psychiatry Neurosci. 1996 Jul;21 (4): 233-4

Hwu HG, Chen CH, (2000)

Association of 5-HT_{2A} receptor gene polymorphism and alcohol abuse with behaviour problems.

American Journal of Medical Genetics 96(6):797-800

Inayama Y, Yoneda H, Sakai T, Ishida T, Nonomura Y, Kono Y, Takahata R, (1996)

Positive association between a DNA sequence variant in the serotonin 2A receptor gene and schizophrenia.

Am J of Med Gen 67:103-105

Isometsa ET, Henriksson MM, Heikkinen ME, Aro HM, Marttunen MJ, Kuoppasalmi KI, Lonnqvist JK, (1996)

Suicide among subjects with personality disorders

American Journal of psychiatry May;153 (5): 667-73

Jamison KR, (2000)

Night falls fast – understanding suicide.

Vintage Books, New York.

Jokisch D, Bellebaum C, Daum I, (2005)

Das serotonerge System aus neurologischer und psychiatrischer Sicht

Steinkopf, Darmstadt

Kaplan HI, Sadock BJ, Grebb JA, (1994)

Psychiatric Emergencies

Synopsis of Psychiatry 7th Edition p. 803

Khait VD, Huang YY, Zalsman G, Oquendo MA, Brent DA, Harkavy-Friedman JM, Mann JJ, (2004)

Association of Serotonin 5-HT(2A) Receptor Binding and the T102C Polymorphism in Depressed and Healthy Caucasian Subjects

Neuropsychopharmacology, 2004 Oct 13

Kline AE, Yu J, Horvath E, Marion DW, Dixon CE., (2001)

The selective 5-HT(1A) receptor agonist repinotan HCl attenuates histopathology and spatial learning deficits following traumatic brain injury in rats.

Neuroscience. 2001;106(3):547-55.

Koch M, (2006)

Neuropharmakologie In: Neurobiologie psychischer Störungen

Springer Verlag, Berlin, Heidelberg p.177-219

Kosky R, Silburn S, Zubrick S, (1986)

Symptomatic depression and suicidal ideation: A comparative study with 628 children. Journal of Nervous and Mental Disease, 174: 523-528.

Kreitmann N,(1986)

Die Epidemiologie des Suizids und Parasuizids In: Psychiatrie der Gegenwart

Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York 87-106

Kreutzig T, (2002)

Kurzlehrbuch Biochemie ,11. Auflage 2002,

Urban & Fischer

Lachenmayer L, Baumgarten H, (2005)

Zentrales Serotoninsystem und Serotonin Neurotoxine In: Das serotonerge Sxstem aus neurologischer und psychiatrischer Sicht

Literaturverzeichnis

Larisch R, (2001)

Untersuchungen des serotonergen Systems und der Serotonin 5-HT_{2A} Rezeptoren mit F-Altanserin und PET: Ein Beitrag zur Neurologie der Depression

HHU, Düsseldorf

Lester D, (1995)

The concentration of neurotransmitter metabolites in the cerebrospinal fluid of suicidal individuals: A metaanalysis

Pharmacopsychiatry 28: 45-50

Li L, He S, Sun JM, Davie JR, (2004)

Gene regulation by SP1 and SP3

Biochem.Cell Biol. V82, p. 460-471

Li D, Duan Y, He L, (2006)

Association study of serotonin 2A receptor (5-HT_{2A}) gene with schizophrenia and suicidal behaviour using systematic meta-analysis

Biochem. Biophys.Res Commun., v. 340 p.1006-1015

Linkowski P, de Maertelaer V, Mendlewicz J, (1985)

Suicidal behaviour in major depressive illness

Acta psychiatrica scandinavica Sep; 72(3): 233-8

Litman RE, (1998)

Suicides: What do they have in mind) In: Suicide: Understanding and Responding

International University Press, Madison 143

Löffler G, Petridis PE, (1986)

Biochemie und Pathobiochemie

6. Auflage, Kap. 19/23/25/28/31/33

Lohmueller KE, Pearce CL, Pike M, Lander ES, Hirschhorn JN, (2003)
Meta-analysis of genetic association studies supports a contribution of common variants to susceptibility to common disease
Nature Genetics 33:177-182

Lonquist JK, (2000)
Psychiatric Aspects of suicidal Behaviour: Depression In: The International Handbook of Suicide and Attempted Suicide, Hawton, Heeringen
Wiley, New York

Man JJ, Stanley M, McBride A, Mc Ewen B, (1986)
Increased serotonin₂ and β -adrenergic receptor binding in the frontal cortices of suicide victims. Archives of General Psychiatry 43: 954-959.

Mann JJ, McBride A, Brown R, Linnoila M, Leon AC, DeMeo M, Mieczkowski T, Myers JE, Stanley M, (1992)
Relationship between central and peripheral serotonin indexes in depressed and suicidal psychiatry inpatients. Archives of General Psychiatry 49: 442-446.

Mann JJ, Waternaux C, Haas GL, Malone M, (1999)
Toward a clinical model of suicidal behavior in psychiatric patients. Am J Psychiatry 156: 181-189.

Mann JJ, Brent DA, Arango V, (2001)
The Neurobiology and Genetics of Suicide and Attempted Suicide, A Focus on the Serotonergic System, Elsevier Science Inc.
American College of Neuropsychopharmacology 24:467– 477, 2001

Mann JJ, (2003)
Neurobiology of Suicidal Behavior, Review
Department of Neuroscience, New York, Nature Reviews, Volume4, October2003

Literaturverzeichnis

Mann JJ, (2004)

Searching for Triggers of Suicidal Behavior, Editorial

Am J Psychiatry 161:3, March 2004

Manuck SB, Flory JD, Ferrell RE, Muldoon MF, (2004)

Socio-economic status covaries with central nervous system serotonergic responsivity as a function of allelic variation in the serotonin transporter gene-linked polymorphic region. Psychoneuroendocrinology, Volume 29, Issue 5, June 2004, Pages 651-668

Markovitz JH, Tolbert L, Winders SE, (1999)

Increased serotonin receptor density and platelet GPIIb/IIIa activation among smokers

Arteriosclerosis, thrombosis and vascular biology 19(3):762-766

Mc Guffin P, Marusic A, Farmer A, (2001)

What can psychiatric genetics offer suicidology?

Crisis 22:61-65

Mittendorfer- Rutz E, (2008)

Fetal and childhood growth and the risk of violent and non- violent suicide attempts: a cohort study of 318953 men

Journal of epidemiology and community health; 62, 168-173

Mitterauer B, (1990)

A contribution to the discussion of the role of the genetic factor in suicide, based on five studies in an epidemiologically defined area (province of Salzburg, Austria). Comprehensive Psychiatry 31: 557-565.

Möller HJ, (1996)

Suizidalität. In: Psychiatrie (Hrsg. Möller, H.-J., Laux, G., Deister, A.). Hippokrates Verlag, Stuttgart (Duale Reihe).

Molliver ME, (1987)

Serotonergic neuronal systems: what their anatomical organization tells us about function

J.Clin.Psychopharmacol., v.7 p.3-23

Mortensen PB, Agerbo E, Erikson T, (2000)

Psychiatric illness and risk factors for suicide in Denmark

Lancet 355: 9-12

Moscicki E, (2001)

Epidemiology of suicide In: Suicide prevention and intervention

National academy press, Washington DC

Musshoff F, Menting T, Madea B, (2004)

Postmortem serotonin (5-HT) concentrations in the cerebrospinal fluid of medicolegal cases. Forensic Sci Int. 2004 Jun 10;142(2-3):211-9.

Nakamura T, Matsushita S, Nishiguchi N, Kimura M, Yoshino A, Higuchi S, (1999)

Association of a polymorphism of the 5-HT_{2A} receptor gene promoter region with alcohol dependence

Molecular psych. 4(1):85-88

Neuger J, El Khoury A, Kjellmann BF, Wahlunf B, Asberg- Wistedt A, Stain-Malmgren R, (1999)

Platelet serotonin functions in untreated major depression.

Psychiatry Res. 1999 Feb 22; 85(2): 189-98

Niewenhuys R, Voogd J, van Huijzen C, (1991)

Das Zentralnervensystem des Menschen, Springer Verlag

Norton N, Owen MJ, (2005)

HTR2A: association and expression studies in neuropsychiatric genetics

Ann. Med., v. 37, p.121-129

Literaturverzeichnis

Ozaki N, Manji H, Lubierman V, Lu SJ, Lappalainen J, Rosenthal NE, Goldman D, (1997)

A naturally occurring aminoacid substitution of the human serotonin 5-HT_{2A} receptor influences amplitude and timing of intracellular calcium mobilization

Jneurochem. V.68, p.2186-2193

Pandey GN, Dwivedi Y, Rizavi HS, Ren X, Pandey SC, Pesold C, Roberts RC, Conley RR, Tamminga CA, (2002)

Higher expression of serotonin 5-HT_{2A} receptors in the postmortem brains of teenage suicide victims.

Am J Psychiatry. 2002 Mar;159(3):419-29.

Pierce DW, (1977)

Suicidal intent in self-injury. The British Journal of Psychiatry 130: 377-385.

Pierce DW, (1981)

The predictive validation of a suicide intent scale: a five year follow-up. The British Journal of Psychiatry 139: 391-396.

Pierce D, (1984)

Suicidal intent and repeated self-harm. Psychological Medicine 14: 655-659.

Platt S, (1984)

Unemployment and suicidal Behaviour : a review of the literature

Soc Sci Med 19:93-115

Plutchik R, van Praag HM, Conte HR, (1989)

Correlates of suicide and violence risk: III. A two-stage model of countervailing forces. Psychiatry Research 28: 215-225.

Plutchik R, (1997)

Suicide and violence: The two-stage model of countervailing forces. In: Suicide: Biopsychosocial approaches (eds. Botsis, A.J., Soldatos, C.R., Stefanis, C.N.). Elsevier Science B.V..

Plutchik R, (1997)

Expanding our conceptual horizons on the future of suicide research. In: Suicide: Biopsychosocial approaches (eds. Botsis, A.J., Soldatos, C.R., Stefanis, C.N.). Elsevier Science B.V..

Pokorny AD, (1983)

Prediction of Suicide in psychiatric Patients. A report of a retrospective Study
Arch Gen. Psychiatry 40: 249

Pooley EC, Houston K, Hawton K, Harrison PJ, (2003)

Deliberate self-harm is associated with allelic variation in the tryptophan hydroxylase gene (TPH A779C), but not with polymorphisms in five other serotonergic genes.
Psychol Med. 2003 Jul;33(5):775-83.

Rapport MM, Green, AA Page IH, (1948)

Serum vasoconstrictor Serotonin, isolation and characterization
J. Biol. Chem.,v. 176,p.1243-1251

Rodenbeck A, Hüther G, Rüter E, (2005)

Die Lust am serotonergen System , das serotonerge System aus neurologischer und psychiatrischer Sicht
Steinkopff Verlag

Rhodes AE, Spence J , Bethell J, Links PS, Streiner DL, Jaakkimainen RL, (2008)

Age-Sex differences in medical self-poisonings: A population-based-study of deliberate intent and medical severity
Soc. Psychiatry 43: 642-52

Roy A, Segal NL, Sarchiapone M, (1995)

Attempted Suicide among living co-twins of twin suicide victims. American Journal of Psychiatry 152: 1075-1076.

Literaturverzeichnis

Roy A, Rylander G, Sarchiapone M, Segal N, (1999)

Genetics of suicide in depression.

Journal of Clinical Psychiatry (Suppl. 2): 12-17.

Rübenach SP, Reimann B, (2007)

Todesursache Suizid. Auszug aus Wirtschaft und Statistik

Statistisches Bundesamt Wiesbaden Online Dokument

www.destatis.de (abgerufen am 26.10.09)

Rujescu D, Giegling I, Sato T, Hartmann AM, Moller HJ., (2003)

Genetic variations in tryptophan hydroxylase in suicidal behavior: analysis and meta-analysis. Biol Psychiatry. 2003 Aug 15;54(4):465-73.

Rujescu D, Thalmeier A, Moeller HJ, Bronisch T, Giegling I, (2006)

Molecular genetic findings in suicidal behaviour. What is beyond the serotonergic system?

Arch.Suicide Res. 2001, 11(1):17-40

Savitz JB, Cupido CL, Ramesar RS, (2006)

Trends in suicidology: Personality as an endophenotype for molecular genetic investigations.

Plos Med 3(5)_ e107, 0619-0623

Schaller S, Schmidtke A, Torhorst A, Wächtler C, Wedler H, (1987)

Basisdokumentation suizidalen Verhaltens, Kurzform: Manual.

Beltz Test Gesellschaft, Weinheim.

Schmidtke A, (1995)

Suizid- und Suizidversuchsraten in Deutschland. In: Tropon- Symposium, Bd. X, Suizidalität – Die biologische Dimension (Hrsg. Wolfersdorf, M., Kaschka, W.P.). Springer Verlag, Berlin, Heidelberg.

Schmidtke A, Weinacker B, Fricke S, (1998)

Epidemiologie von Suiziden und Suizidversuchen in Deutschland. Suizidprophylaxe, Sonderheft 37-49

Schmidtke A, Weinacker B, Fricke S, (2000)

Suizidforschung und Prävention am Ende des 20. Jahrhunderts

Roderer, Regensburg

Schmidtke A, Weinacker B, Löhr C, (2000)

Epidemiologie der Suizidalität im 20. Jahrhundert In: Wolfersdorf: Suizidforschung und Prävention am Ende des 20. Jhdts.

Roderer, Regensburg

Schulsinger R, Kety SS, Rosenthal D, Wender PH, (1979)

A family study of suicide. In: Origins, prevention and treatment of affective disorders (eds. Schou, M., Strömberg, E.). Academic Press, New York pp. 277-287.

Sobotta J, Pabst R, Putz R, (1999)

Atlas der Anatomie des Menschen

Elsevier- Urban und Fischer Verlag

Statham DJ, Heath AC, Madden PAF, Buchholz KK, (1998)

Suicidal behaviour: an epidemiological and genetic study.

Psychological Medicine, 1998, 28, 839-855

Strüder HK, Weicker H, (2001)

Physiology and Pathophysiology of the serotonergic System and its Implications on mental and physical Performance, Part One. Int. J. Sports Med. 2001;22

Thornicroft G, Sartorius N, (1993)

The course and outcome of depression in different cultures. 10 year follow-up of the WHO collaborative study on the assessment of depressive disorders

Psychol Med.23: 1023-0322

Literaturverzeichnis

Tork I, (1990)

Anatomy of the serotonergic system

Ann.N.Y. Acad.Sci., v. 600, p.9-34

Tozzi F, Bulick CM, (2003)

Candidate genes in eating disorders

Current drug targets. CNS and neurological disorders 2(1):31-39

Träskman- Bendz L, Bäckmann J, Regnell G, (2000)

Changes of cerebrospinal fluid monoamine metabolites during long-term antidepressant treatment.

European neuropsychopharmacology, 2000/10; 10(5); 341-9

Turecki G, Briere R, Dewar K, Antonetti T, Lesage AD, Seguin M, Chawky N, Vanier C, Alda M, Joober R, Benkelfat C, Rouleau GA, (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.

American Journal of Psychiatry. 1999 Sep;156(9):1456-8.

Von Bohlen und Halbach O, Dermietzel R, (2003)

Neuromodulators and Neurotransmitters

Wiley-VCH Verlag, p.116-127

Walitza S, Wewetzer C, Warnke A, Gerlach M, Geller F, Gerber G, (2002)

5-HT_{2A} promoter polymorphism 1438G/A in children and adolescents with obsessive- compulsive disorders

Molecular Psychiatry 7:1054-1057

Wender PH, Seymour SK, Rosenthal D, Schulsinger F, Ortmann J, Lunde I, (1986)

Psychiatric disorders in the biological and adoptive families of adopted individuals with affective disorders. Archives of General Psychiatry 43: 923-929.

Wijsman EM, Amos CI, (1997)

Genetic analysis of simulated oligogenic traits in nuclear and extended pedigrees: summary of GAW10 contributions

Genetic epidemiology 14(6): 719-35

Williams CL, Davidson JA, Montgomery I, (1980)

Impulsive suicidal behavior.

Journal of Clinical Psychology 36: 90-94.

Williams JMG, Pollock LR, (2000)

The psychology of suicidal behaviour. In: The international handbook of suicide and attempted suicide (eds. Hawton, K., van Heeringen, K.). John Wiley & Sons, Ltd., West Sussex, England

Wolfersdorf M, (1995)

Suizidalität – Begriffsbestimmung und Entwicklungsmodelle suizidalen Verhaltens. In: Tropon-Symposium, Bd. X, Suizidalität – Die biologische Dimension (Hrsg. Wolfersdorf, M., Kaschka, W.P.). Springer Verlag, Berlin, Heidelberg.

Wolfersdorf M, Neher F, (2003)

Schizophrenia and Suicide- results of a control group comparison of schizophrenic patient suicides with schizophrenic inpatients without suicide

Psychiatrische Praxis 30: 227-278

Zheng HY, Ishigaki T, Tani K, Chen K, Shih JC, Miyasato K, Ohara K, (1997)

Serotonin 2A receptor gene polymorphism in mood disorders

Biological Psychiatry 42(7):768-773

Zubenko GS, Maher BS, Hughes HB, Zubenko WN, Scott SJ, Marazita ML, (2004)

Genome-wide linkage survey for genetic loci that affect the risk of suicide attempt in families with recurrent, early-onset, major depression.

AM J Med Genet B Neuropsych Genet 129:47-54

7 Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde in der Psychiatrischen Klinik der Ludwig- Maximilians- Universität in München und im Zentrum für Psychiatrie und Psychotherapie I der Johann Wolfgang Goethe Universität in Frankfurt am Main durchgeführt.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. Dan Rujescu, Frau Dr. Annette Hartmann und Frau Dr. Ina Giegling für ihre freundschaftliche Unterstützung und Förderung. Sie waren zu jeder Zeit hilfsbereite und kompetente Ansprechpartner. Darüber hinaus danke ich Herrn Prof. Dr. Dan Rujescu für die Möglichkeit zur Durchführung der vorliegenden Arbeit in seiner Forschungsgruppe, sowie die umsichtige Auswahl des Themas dieser Arbeit und deren konstruktive Betreuung.

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

Ausdrücklich möchte ich mich bei Frau Dr. Annette Hartmann für die vielen konstruktiven Gespräche, Erläuterungen und Aufmunterungen bedanken, die bei der Dauer der vorliegenden Arbeit unerlässlich waren. Ihr Wissen über Genetik und molekulare Neurobiologie waren für die Lösung dieser Arbeit unentbehrlich.

Ebenfalls hervorheben möchte ich Frau Dr. Ina Giegling, die gerade in der Anfangszeit immer wieder Impulse gegeben und mir mit Geduld die Statistik nähergebracht hat. Ihr Wissen und ihre Unterstützung haben ebenfalls entscheidend zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Ein herzlicher Dank gilt allen Mitarbeitern der Forschungsgruppe, die mit ihrer guten Laune und tatkräftigen Unterstützung für Spaß an der Arbeit sorgten, besonders Danke ich Herrn Dr. Sebastian Friedrich für die enge Zusammenarbeit.

Ebenfalls geht mein Dank an Frau Dr. Barbara Schneider aus dem Zentrum für Psychiatrie und Psychotherapie I der Johann Wolfgang Goethe Universität in

Frankfurt am Main und Herrn Dr. Thomas Tatschner aus dem Institut für Rechtsmedizin der Julius- Maximilians- Universität in Würzburg für deren fachliche und organisatorische Unterstützung bei der Sektionsarbeit in Frankfurt am Main.

Ich danke meinen lieben Freunden Christopher Mitchell und Dr. Gerd Gauglitz für ihr Interesse an meiner Arbeit und ihre konstruktive Kritik.

Abschließend danke ich meiner Familie, allen voran meinem Ehemann, Florian Reiter, der nie aufgehört hat an den erfolgreichen Abschluß dieser Arbeit zu glauben, und mir auch in schwierigen Phasen mit Zuspruch und Aufmunterung zur Seite stand, sowie meinen Eltern, die mir das Medizinstudium und das Leben, das ich nun führe, ermöglicht haben.