

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

Direktor: Herr Prof. Dr. med. Peter Falkai

## **Assoziationen des PARK7 Gens mit der Schizophrenie**

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

vorgelegt von  
Christian Dariu

aus  
Aachen

2014



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dan Rujescu

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Max Schmauß

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

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

Tag der mündlichen Prüfung: 27.02.2014



## *Widmung*

Gewidmet meinen Eltern und meiner Liebe Eva, die immer für mich da waren und ohne deren Hilfe ich jetzt nicht da wäre wo ich bin.



# I INHALTSVERZEICHNIS

<b>1</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>EINLEITUNG</b> .....	<b>3</b>
2.1	Schizophrenie .....	3
2.1.1	Definition der Schizophrenie .....	3
2.1.2	Geschichte der Schizophrenie .....	4
2.1.3	Klassifikation und Symptomatik .....	5
2.1.4	Verlauf und Prognose .....	10
2.1.5	Epidemiologie .....	13
2.1.6	Multifaktorielle Ätiopathogenese .....	15
2.2	Genetische Faktoren .....	20
2.2.1	Familien-, Adoptions-, und Zwillingsstudien .....	21
2.2.2	Molekulargenetik .....	22
2.2.3	Kopplungsanalysen .....	24
2.2.4	Assoziationsstudien (Kandidatengenstudien) .....	25
2.2.5	Genomweite Assoziationsstudien (GWA) .....	27
2.3	Neurobiochemische Faktoren .....	32
2.3.1	Dopaminerge Einflussfaktoren .....	32
2.3.2	Glutamaterge Einflussfaktoren .....	33
2.3.3	Serotonerge Einflussfaktoren .....	34
2.3.4	Oxidativer Stress und mitochondriale Dysfunktion .....	35
2.4	Das PARK7 Gen in der Schizophrenie .....	42
2.4.1	Definition und Pathologie von PARK7 .....	42
2.4.2	Vorkommen von PARK7 .....	42
2.4.3	Aufbau, Struktur und Isoformen von PARK7 .....	43
2.5	Funktion von PARK7 .....	45
2.5.1	Park7 und oxidativer Stress .....	46
2.5.2	Tiermodelle mit DJ-1 .....	53
2.5.3	Genetische Abweichungen von DJ-1 und Verlust der Funktion .....	55

<b>3</b>	<b>FRAGESTELLUNG</b>	<b>58</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>59</b>
4.1	Vorbedingungen der Studie	59
4.1.1	Art der Studie	59
4.1.2	Durchführung	60
4.2	Studienteilnehmer und Rekrutierung	60
4.2.1	Patienten	60
4.2.2	Kontrollprobanden	67
4.3	Laborverfahren	69
4.3.1	DNA-Extraktion	69
4.3.2	Bestimmung der DNA Konzentration	70
4.3.3	Genotypisierung	72
4.4	Statistische Auswertung	81
4.5	Haplotypanalyse	82
<b>5</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>83</b>
5.1	Ergebnisse des Hardy-Weinberg Equilibriums	85
5.2	Patienten vs. Kontrollen	86
5.3	Patienten mit schizophrenen Erstgradangehörigen vs. Kontrollen	89
5.4	Patienten mit psychiatrisch erkrankten Angehörigen vs. Kontrollen	91
5.5	Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen vs. Kontrollen	94
5.6	Haplotypen	96

<b>6</b>	<b>DISKUSSION</b> .....	<b>99</b>
6.1	Übersicht zu den experimentellen Befunden .....	99
6.2	Diskussion der Methoden .....	100
6.2.1	<i>Ethnische Abstammung der Probanden</i> .....	100
6.2.2	<i>Alter der Teilnehmer</i> .....	104
6.2.3	<i>Diagnostische Tools und Skalen</i> .....	105
6.2.4	<i>Ätiologische Heterogenität und multifaktorielle Genese der Erkrankung</i> .....	106
6.3	Diskussion der Ergebnisse .....	108
6.3.1	<i>SNP Aussagen</i> .....	108
6.3.2	<i>Haplotypen</i> .....	109
6.3.3	<i>Funktionelle Einflüsse des PARK 7 Gens auf die Schizophrenie</i> .....	110
6.3.4	<i>Schizophrenie und oxidativer Stress</i> .....	111
6.4	Ausblick .....	119
<b>II</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>VII</b>
<b>III</b>	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>XXXIV</b>
<b>IV</b>	<b>TABELLENVERZEICHNIS</b> .....	<b>XXXV</b>
<b>V</b>	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>XXXVI</b>
<b>VI</b>	<b>DANKSAGUNG</b> .....	<b>XXXIX</b>
<b>VII</b>	<b>EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG</b> .....	<b>XL</b>
<b>VIII</b>	<b>LEBENS LAUF</b> .....	<b>XLI</b>



# 1 Zusammenfassung

Bei dem Symptomenkomplex der Schizophrenie, handelt es sich um eine schwerwiegende und heterogene psychiatrische Erkrankung mit bislang noch weitgehend unklarer Ätiopathogenese.

Anhand der Ergebnisse aus Zwillings- und Familienstudien, wird von einer starken genetischen Komponente bei der Entstehung ausgegangen. Die Untersuchung von Suszeptibilitätsgenen stellt daher in der Schizophrenieforschung einen Schwerpunkt dar.

Die vorliegende Arbeit wurde durchgeführt, um einen möglichen Zusammenhang zwischen Polymorphismen auf dem *Parkinson disease (autosomal recessive, early onset) 7 (PARK7)*-Gen und der Ausprägung einer Schizophrenie zu belegen.

Das Gen liegt auf Chromosom 1 und codiert für DJ-1, ein Protein, welches in verschiedenen intra- und extrazellulären Mechanismen, die an der Entstehung von Parkinson als sicher beteiligt gelten und ebenfalls mit der Schizophrenie in Zusammenhang werden.

Da das Gen darüber hinaus eine wichtige Rolle im Schutz der Zelle vor oxidativem Stress spielt, der wiederum in der Diskussion steht, eine Schizophrenie zu begünstigen, kann es als Kandidatengen für diese Erkrankung gelten.

Für die vorliegende Arbeit, wurde eine Fall-Kontroll Studie zur Untersuchung der Assoziation zwischen acht Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs) im PARK7 Gen und Schizophrenie an einem kaukasischen Kollektiv von 510 schizophrenen Patienten und 1.319 gesunden Kontrollprobanden durchgeführt.

Bei der Untersuchung von Allel- und Genotypfrequenzen ergaben sich Assoziationen mit der Schizophrenie bei den SNPs (rs4908488, rs178932, rs161807, rs226258) für die Subphänotypen Patienten vs. Kontrollen, sowie Patienten mit psychiatrisch erkrankten Angehörigen vs. Kontrollen (rs4908488).

Die Polymorphismen rs225092, rs225119, rs226242, rs226251, wiesen hingegen bei den untersuchten Gruppen, keinerlei Assoziationen mit den untersuchten Phänotypen auf. Es bedarf weiterer Studien in Kohorten verschiedener Ethnizitäten, um die Beteiligung von PARK7 an der Pathophysiologie der Schizophrenie weiter abzuklären.

Ein Ansatz hierbei könnte die Untersuchung von Effekten der untersuchten Polymorphismen sein. Weiterhin sollte in jeder Hinsicht das Genprodukt und der Einfluss auf die intrazellulären Redoxaktivitäten sowie der Einfluss auf oxidativen Stress und dessen Effekte auf die Schizophrenie im Detail untersucht werden.



## 2 Einleitung

### 2.1 Schizophrenie

#### 2.1.1 Definition der Schizophrenie

Bei der Schizophrenie handelt es sich um eine schwerwiegende seelische Erkrankung, welche zu den endogenen Psychosen gezählt wird. Diese ist durch Störungen im formalen und inhaltlichen Denken, Urteilen, Wahrnehmen und Fühlen gekennzeichnet. Charakteristisch für die Schizophrenie sind dementsprechend Wahnvorstellungen, Halluzinationen, formale Denkstörungen, Denkerfahrenheit, Ich-Störungen, Affektstörungen und Antriebsstörungen, kognitive Beeinträchtigungen und in ca. 1/3 der Fälle ein chronischer Verlauf (Tamminga & Holcomb 2005).

Etwa 1% der Weltbevölkerung ist davon betroffen (McGrath et al. 2008; Perälä et al. 2007). Dadurch gehört die Erkrankung zu den häufigsten Ursachen für Arbeits- und Erwerbsunfähigkeit und zählt innerhalb des Gesundheitssystems zu den zehn kostenintensivsten Erkrankungen (Murray & Lopez 1996; Lopez 2006).

Nachweisbare körperliche Ursachen fehlen, es werden jedoch multifaktorielle Ursachen angenommen, wobei die genetische Komponente als eine wichtige Ursache bei der Entstehung betrachtet wird (Tandon, Keshavan & Nasrallah 2008b).

Die American Psychiatric Association (APA) definiert die Schizophrenie folgendermaßen:

„Bei der Schizophrenie...handelt es sich um eine persistente oftmals chronische und üblicherweise schwerwiegende geistige Erkrankung welche verschiedene Aspekte des Verhaltens, Denkens und der Gefühlswelt beeinflussen kann. Patienten mit Halluzinationen oder Wahn können als psychotisch bezeichnet werden.... Das Denken kann unlogisch oder entkoppelt sein. Seltsam erscheinende Verhaltensweisen können mit sozialer Zurückgezogenheit und Desinteresse in Zusammenhang stehen“ (*Diagnostic and statistical manual of mental disorders* 2007).

Die *International Classification of Diseases (ICD-10)* definiert die Schizophrenie als:

„...eine Erkrankung mit Störungen des Denkens-, der Wahrnehmung, sowie zusätzlich verbunden mit Affektstörungen.“ (DIMDI 2011)

Der Begriff der Schizophrenie wie in der heutigen Definition wurde von Bleuler erstmals eingeführt (Bleuler 1911). Das Krankheitsbild ist jedoch schon sehr viel länger bekannt.

### **2.1.2 Geschichte der Schizophrenie**

Die beschriebenen Überlieferungen einer Krankheit, die als unheimlich oder gar teuflisch galt, spannen sich über alle Kulturen und epochalen Abschnitte der Menschheitsgeschichte, angefangen bei den Hindus ca. 1400 v.Chr., über China und Griechenland der Antike bis hin ins Mittelalter und schließlich der Neuzeit mit den Verfolgungen im dritten Reich (Kyziridis 2005; Torrey & Yolken 2010).

Vor Beginn der Neuzeit hielt sich sehr lange der Glaube, das seltsame Verhalten der Betroffenen wäre auf eine Bestrafung der Götter für schlechtes Verhalten oder Teufelseintreibungen zurückzuführen (Kyziridis 2005).

Noch vor der Verbreitung des heutigen Begriffes der Schizophrenie beschäftigte sich 1896 Emil Kraepelin mit der "Dementia praecox". Unter diesem Terminus fasste er die erstmals von Benedict Augustin Morel (*démence précoce*), Kahlbaum und Hecker (Hebephrenie und Katatonie) beschriebenen Störungen zusammen und erstellte gleichzeitig eine erste Klassifikation der Erkrankung: Simplex, paranoid-halluzinatorisch, hebephren und kataton (Kraepelin 1896; Morel 1860; Kahlbaum 1874; Hecker & Kraam 2009).

Kraepelin sah Parallelen in der Symptomatik zu der von Demenzpatienten wie sozialen Rückzug, Insichgekehrtheit und unerklärliche Affektschwankungen. Kraepelin nannte sie "frühe Demenz", um sie von anderen Demenzformen abzugrenzen. Diese traten üblicherweise in späteren Lebensabschnitten auf und zogen eine generelle Veränderung der Persönlichkeitsstruktur nach sich, die vor allem den Willen kompromittierte. Hierbei standen Negativsymptomatik und Progredienz im Vordergrund der Überlegungen (Kraepelin 1896).

Die von Kraepelin aufgestellten Thesen ließen jedoch Spielraum in der Genauigkeit der Symptomatik und des Terminus', da die 'Dementia praecox' nicht zu einem Abbau der Intelligenz wie z.B. bei Psychosen auf Grundlage von Hirnkrankheiten führte, und die Fälle sich zu einem frühen Zeitpunkt im Leben des Patienten manifestierten.

So wurde mit Beginn des 19. Jahrhunderts die Kritik an der aufgestellten Definition immer lauter.

Eugen Bleuler, der 1911 die Erkrankung neu definierte und somit den Begriff der Schizophrenie prägte, sah keinerlei Anzeichen für eine fortschreitende, degenerative Veränderung der Persönlichkeitsstruktur wie sie Kraepelin formulierte, sondern eher einen Symptomenkomplex aus 4 dauerhaften Grundelementen, den 4 "A's" (Bleuler 1911; Fusar-Poli & Politi 2008):

- Affektstörungen
- Assoziationsstörungen
- Autismus
- Ambivalenz

Hinzu kommen sogenannte akzessorische zeitweilig auftretende und nicht notwendige Elemente wie:

- Wahn
- Halluzinationen
- Katatonie
- Störungen in Schrift und Sprache

Das Wort „Schizophrenie“, welches Bleuler verwendete um die verschiedenen Denkstrukturen der Patienten zu beschreiben, leitet sich vom griechischen "schizo" (geteilt) und "phrene" (Geist) ab.

Bleuler betonte weiterhin in seiner Beschreibung der Erkrankung immer wieder, dass auch eine teilweise oder komplette Remission bis hin zur vollständigen Erholung vorliegen kann.

Bleuler nahm demnach Subgruppen der Erkrankung mit unterschiedlicher Prognose an. Somit wurde der Begriff „Dementia praecox“, der eine Unheilbarkeit und schlechte Prognose impliziert verlassen und durch den Begriff *Schizophrenie* ersetzt.

Es hält sich in der heutigen Zeit im Laienverständnis oftmals der Begriff der Schizophrenie als "gespaltene oder multiple Persönlichkeit", was damit jedoch nicht gemeint war (Kyziridis 2005).

### **2.1.3 Klassifikation und Symptomatik**

Sowohl Bleuler als auch Kraepelin teilten die Schizophrenie in Kategorien ein, basierend auf den Beobachtungen der Symptome die sie gemacht haben.

Die Diagnose der Schizophrenie folgt heute weitestgehend dem Schneider'schen Konzept.

Mit der kleinen Schrift „Psychischer Befund und psychiatrische Diagnose“, führte Kurt Schneider 1939 die Konzeption der Symptome 1. und 2. Ranges bei der Schizophrenie ein (Schneider 1940).

Er übernahm die von seinen Vorgängern bereits erstellte Einteilung und initiierte somit die diagnostische Klassifikation der Symptomatik der Schizophrenie (Bürgy 2010).

Schneider hielt eine Einteilung nach unterschiedlicher diagnostischer Relevanz einzelner Symptome für sinnvoller und differenzierte zwischen den abnormen Erlebniskategorien, Halluzinationen (akustische, Leibes- und andere Sinneshalluzinationen), schizophrenen Ich-Störungen und Wahn. Er teilte sie in Symptome ersten und zweiten Ranges ein.

Zu den Symptomen ersten Ranges zählen: Gedanken-lautwerden, -eingebung, -ausbreitung, -entzug, Wahnwahrnehmungen, Stimmenhören, und Beeinflussungserleben, Symptome der Affektveränderungen, Wahneinfälle, nicht-akustischen Halluzinationen sowie sonstige Sinnestäuschungen als zweiten Ranges (Schneider 1957)(s. Tabelle 1).

**Tabelle 1 Symptome 1. und 2. Ranges der Schizophrenie nach Schneider**

	<b>Symptom 1. Ranges</b>	<b>Symptom 2. Ranges</b>
<b>Akustische Halluzinationen</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• dialogisierende Stimmen</li> <li>• kommentierende Stimmen</li> <li>• Gedankenlautwerden</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• sonstige akustische Halluzinationen</li> </ul>
<b>Leibhalluzinationen</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• leibliche Beeinflussungserlebnisse</li> </ul>	
<b>Halluzinationen auf anderen Sinnesgebieten</b>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• optische, olfaktorische, gustatorische Halluzinationen</li> </ul>
<b>Ich-Störungen</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gedankeneingebung</li> <li>• Gedankenentzug</li> <li>• Gedankenausbreitung</li> <li>• Willensbeeinflussung</li> </ul>	
<b>Wahn</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Wahnwahrnehmung</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Wahneinfall/-gedanke</li> </ul>

Ende der 70er Jahre wurde die bestehende Klassifikation in "positive" und "negative" Symptome aufgeteilt, die so in die später von Kay et. al entwickelte *Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS)* einfließen (Kay et al. 1987).

Crow et al. unterteilten aus prognostischen Gründen in einen Typ 1, welcher durch eine ausgeprägte positive Symptomatik, wie z.B. Größen- und Verfolgungsideen, formale Denkstörungen, Wahn, Halluzination, desorganisiertes Verhalten, Erregung sowie Feindseligkeit geprägt ist. Des Weiteren ist er eher durch einen positiven Verlauf hinsichtlich Remission und hirnstrukturellen Veränderungen sowie deren Ansprechen auf Neuroleptika gekennzeichnet.

Bei Typ 2 dominieren überwiegend negative Symptome, z.B. Alogie, Schwierigkeiten beim abstrakten Denken, stereotype Gedanken, Affektverarmung, sozialer Rückzug und Aufmerksamkeitsstörungen. Des Weiteren spricht er meist schlechter auf Neuroleptika an. Darüber hinaus kommt es zu hirnstrukturellen Veränderungen, welche insgesamt mit einer schlechteren Prognose verbunden sind (Crow 1980).

Heute sind in erster Linie zwei Klassifikationsmodelle etabliert.

Das ICD-10 (*International Classification of Diseases 10th Edition*), welches von der WHO herausgebracht wird und zum anderen das der *American Psychiatric Association* zugehörige *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition (DSM-IV)*, welches seit 2007 in der heutigen Form besteht.

Beide Systeme wurden zugunsten der internationalen Konsensfindung und klinischen Operationalisierung nach den ursprünglichen Modellen von Kraepelin und Bleuler modifiziert, weisen allerdings wesentliche Unterschiede für die Diagnosestellung auf.

Die diagnostische Trennschärfe, vor allen Dingen die des DSM-IV, und die Unterschiede ergeben sich zum einen aus der Definition der Subtypen, zum anderen aus dem zeitlichen Verlauf der geforderten symptomatischen Kriterien (ICD-10 4 Wochen vs. DSM-IV 6 Monate)(Tabelle 3).

Darüber hinaus teilt das ICD-10 nosologisch in 7 klinische Subtypen ein, während das DSM-IV nur 5 Haupttypen ausweist (*Diagnostic and statistical manual of mental disorders* 2007; DIMDI 2011) (Tabelle 2).

**Tabelle 2 Subtypen der Schizophrenie nach ICD-10 vs. DSM-IV (Möller et al. 2011)**

ICD Typus	DSM Typus	Merkmale
<b>Paranoid</b>	Paranoid	Wahnvorstellungen, Ich-Störungen und akustischen Halluzinationen
<b>Hebephren</b>	Desorganisiert	Denk-, Affekt- und Antriebsstörungen
<b>Kataton</b>	Kataton	Psychomotorische Störungen von Hyperkinesie bis Stupor
<b>Undifferenzierte</b>	Undifferenziert	Alle Schizophreniekriterien sind erfüllt, jedoch entspricht keiner der anderen Formen
<b>Schizophrenes Residuum</b>	Residual	Vorwiegend Negativsymptomatik, Symptome einer Schizophrenie müssen in der Vergangenheit vorhanden gewesen sein
<b>Schizophrenia Simplex</b>		Ausschlussdiagnose; chronisch-progredienter Verlauf ohne Anzeichen einer Psychose
<b>Postschizophrene Depression</b>		Muss eindeutig auf eine Schizophrenie folgen
<b>Sonstige Schizophrenie</b>		

Tabelle 3 Diagnostische Kriterien der Schizophrenie nach ICD-10 vs. DSM-IV

	ICD 10	DSM-IV
<b>Symptomatik</b>	<p>Beeinflussungswahn, Kontrollwahn, Wahnwahrnehmung, Gefühl des Gemachten</p> <p>Halluzinationen, kommentierende und dialogisierende Stimmen</p> <p>Gedankenabreißen, -lautwerden, -entzug, -eingebung, desorganisierte Sprechweise, Zerfahrenheit, Assoziationslockerung</p> <p>Katatone Symptome</p> <p>Negative Symptome (Apathie, Sprachverarmung, Affektverarmung, -verflachung oder inadäquate Affekte)</p>	<p>Wahnvorstellungen (Größenwahn, Verfolgungswahn, Beziehungswahn, äußerst bizarrer Wahn)</p> <p>Halluzinationen, stimmungsinkongruent, kommentierende und dialogisierende Stimmen</p> <p>Zerfahrenheit</p> <p>Katatone Symptome</p> <p>Negative Symptome (Antriebsmangel, Alogie, Affektverflachung, -armut, sozialer Rückzug)</p>
<b>Soziale Einschränkungen</b>		Soziale Beziehungen oder andere soziale Funktionsbereiche sind seit Beginn der Erkrankung signifikant und über einen entsprechend langen Zeitraum unter dem früheren Leistungsbereich.
<b>Dauer</b>	Symptome bestehen kontinuierlich über mindestens vier Wochen.	Symptome bestehen kontinuierlich über mindestens sechs Monate. Symptome einer akuten Episode müssen in diesem Zeitraum über mindestens einen Monat bestehen.
<b>Ausschluss schizoaffektiver Störung</b>		Ausgeschlossen wurden eine schizoaffektive Störung und eine affektive Störung mit psychotischen Merkmalen.
<b>Andere Einflüsse</b>	Symptome durch keine organische Störung hervorgerufen.	Störungsbild ist nicht auf die direkte Wirkung einer Substanz (z.B. Drogen, Medikamente) oder eines medizinischen Krankheitsfaktors zurückzuführen.

### **2.1.4 Verlauf und Prognose**

Die Schizophrenie ist sehr heterogen, dies reicht vom akuten Auftreten der Symptomatik bis hin zum schleichenden Beginn. Es gestaltet sich daher schwierig anhand der vorliegenden Symptomatik eine Prognose über den Verlauf oder gar den Remissionsgrad zu treffen (Shajlawi 2008).

Grundsätzlich sind aus den Beobachtungen der heutigen Schizophrenieforschung folgende Phasen im Verlauf wiederkehrend:

#### **I Risiko (-faktoren)**

Laut McGorry et al. zählen zu den Risikofaktoren schon die frühen Verlaufsstadien (McGorry et al. 2008) wie z.B. genetische Faktoren, äußere Einflüsse während der Geburt-, Schwangerschaft und Wachstum.

Als Krankheitsmodell wird das Vulnerabilitäts-Schwellen Modell, welches eine überdauernde Prädisposition, die unter bestimmten Bedingungen die Entwicklung einer akuten Erkrankung fördert, angenommen (Sawa & Snyder 2002).

Unter ‚psychischer Vulnerabilität‘ wird eine Persönlichkeitseigenschaft verstanden, die sich unter bestimmten Bedingungen in einer Erkrankung manifestiert. Dabei wird von einem Schwellenwert ausgegangen, dessen Überschreitung das Einsetzen einer psychotischen Episode hervorrufen kann. Psychische Vulnerabilität äußert sich demnach in einer Schwellensenkung des Individuums vor allem gegenüber psychosozialen Bedingungen, die dadurch zu auslösenden Stressoren werden und eine psychotische Reaktion bedingen können, wenn die individuellen Schutzfaktoren nicht mehr ausreichend sind (Zubin & Spring 1977).

### **II Prodromalphase**

Diese ultra-hoch-Risiko oder prä-psychotische Phase ist definiert durch die Veränderung der Gedankenwelt wie z.B. bizarre Ideen, soziale Isolation oder eingeschränkte Leistungsfähigkeit und kann, muss aber nicht einer akuten Psychose voraus gehen sowie bis zu 5 Jahre vor der Erstmanifestation auftreten (Marneros et al. 1991; Yung et al. 2008). Weiterhin charakteristisch sind unspezifische Störungen des Affekts oder sozialen Verhaltens, Verminderung der persönlichen Leistungsfähigkeit, Zurückgezogenheit, Interessensverlust zusammen mit Angespanntheit und Unruhe und häufig schon depressive oder manische Phasen (Ebert & Loew 2008).

Prodromalphasen können von 2 Monaten bis hin zu über 30 Jahren dauern, ohne als solche erkannt zu werden, wobei im Durchschnitt die Psychose nach 3,2 Jahren einsetzt (Klosterkötter et al. 2001).

Bei ca. 70% der Patienten überwiegt eine Negativsymptomatik, während bei nur 10% die Positivsymptomatik im Vordergrund steht. Der Rest der Betroffenen weist eine Mischung der beiden Extreme auf (Maurer & Häfner 1995).

### **III Akute Psychotische Phase(n)**

In der Regel entwickelt sich die floride schizophrene Psychose innerhalb von einer Woche bis zu sechs Monaten, wobei die Akuität der ersten Episode für die Langzeitprognose entscheidend ist (Huber & Gross 2005) und über Wochen bis hin zu mehreren Monaten persistiert.

Die Psychose ist im Wesentlichen gekennzeichnet durch vorwiegend positive Symptome. Negativsymptomatik und kognitive Defizite sind hierbei jedoch ausschlaggebend für die spätere Langzeitprognose (Hyman & Fenton 2003).

Oftmals ist in dieser Phase ein stationärer Aufenthalt z.B. aufgrund zunehmender Selbst- und Fremdgefährdung nicht zu vermeiden.

In einigen Fällen geht das akute schizophrene Stadium in ein postpsychotisches reversibles oder irreversibles Basisstadium ohne positive oder negative Symptomatik über, welches nach einem bestehenden Zeitraum von mehr als 3 Jahren jedoch meist irreversibel bleibt. In der Mehrheit der Fälle treten im Verlauf depressive Symptome auf, die sowohl im akuten Stadium, aber auch in den Prodromen oder den prä- und postpsychotischen Basisstadien bestehen können (Huber & Gross 2005).

Es können nach Abklingen der akuten Psychose auch postremissive Zustände wie z.B. postpsychotische Depression oder Erschöpfungszustände auftreten, die im Unterschied zum folgenden chronischen Residuum nach einiger Zeit wieder abklingen (Möller et al. 2011). Auch eine vollständige Remission oder aber Chronifizierung mit zeitlebens bestehender Symptomatik sind nicht auszuschließen.

### **IV chronisches Residuum (Residualphase)**

Im Gegensatz zu der in Einzelfällen bestehenbleibenden produktiv-schizophrenen Symptomatik bleibt bei einem großen Teil der Patienten ein Residualzustand, der überwiegend durch negative Symptome oder Depression gekennzeichnet ist.

Zum generellen Verlauf einer Schizophrenie ist zu sagen, dass bei etwa zwei Drittel der Patienten phasenweise mit Remission oder leichten Residuen negative Symptome bereits nach den ersten Episoden verbleiben (Marneros et al. 1991).

Ein Drittel verläuft gradlinig-progredient mit zumeist irreversiblen schwerem Verlauf. Etwa die Hälfte der Patienten ist nach jahrzehntelangem Verlauf sozial geheilt und kann voll-erwerbstätig, ohne wesentliche Einschränkungen, leben (Huber et al. 1984).

Marneros et al. konnten zeigen, dass nur bei 7% der Patienten langfristig persistierende Symptome bleiben. Diese Langzeitstudie an 148 Patienten über 25 Jahre zeigte, dass knapp 50% der Teilnehmer anhaltend eine Negativsymptomatik aufwiesen und ca. 35% sowohl positive als auch negative Symptome behielten. Allerdings durchlebten im Langzeitverlauf 90% der Patienten mehr als eine abgrenzbare Krankheitsperiode (Marneros et al. 1991).

### **Prognose**

Heute stehen immer tiefere prognostisch wichtige Erkenntnisse über mögliche Prädiktoren wie perinatale Einflüsse, Biomarker, prä-morbider Allgemeinzustand und Ansprechen auf die Behandlungsmaßnahmen zur Verfügung, jedoch ist eine genaue Vorhersehbarkeit des individuellen Ausgangs und des Langzeitverlaufs der Erkrankung noch nicht möglich (Emsley et al. 2008).

Aus Perspektive der einzelnen Subtypen ist anzunehmen, dass der Verlauf der hebephrenen Schizophrenie eher ungünstig ist, wohingegen die katatone eine günstigere Prognose hat (Tandon et al. 2008b).

Die Prognose hängt von vielen verschiedenen Faktoren wie zum Beispiel Akuität der Erkrankung oder Umgebungsfaktoren während der Kindheit ab.

Generell gilt jedoch, dass die Prognose umso besser ist je später die Erkrankung auftritt und je akuter und fulminanter der Beginn ist wobei Frauen mit einem klaren Auslöser für die Krankheit und wenig Residual- und/oder Negativsymptomatik die aussichtsreichste Genesung zugesprochen wird (Tandon et al. 2008b).

Es hat sich aufgrund der vorliegenden Erkenntnisse über den Krankheitsverlauf die „Drittregel“ etabliert die besagt, dass ca. ein Drittel der Patienten geheilt wird bzw. nur leichte Residuen aufweist, bei einem Drittel mittelschwere uncharakteristische Symptome persistieren und bei einem Drittel die typischen schizophrenen Symptome und Residuen andauern (Möller et al. 2011).

### 2.1.5 Epidemiologie

#### Inzidenz

Die Inzidenz ist definiert als die Anzahl neuer Krankheitsfälle über einen bestimmten Zeitraum.

Im Falle der Schizophrenie wurde in über 150 Studien im Zeitraum 1965 bis 2001 eine Inzidenzrate von 1,52 auf 10.000 Einwohner, mit einer Spanne von 0,77-4,3 auf 10.000 zusammengefasst. Gleichzeitig wurde gezeigt, dass die Inzidenz bei Männern höher liegt als bei Frauen (McGrath et al. 2004). Das Verhältnis Männer zu Frauen hierbei liegt bei 1,4:1 (Aleman et al. 2003).

Lange Zeit wurde geglaubt, dass die Inzidenz von Schizophrenie überall auf der Welt homogen verteilt sei, was den Fokus eher auf die genetische Prädisposition als auf die äußeren Einflussfaktoren lenkte (Jablensky et al. 1992). Jedoch wurde in verschiedenen Studien gezeigt, dass es durchaus Unterschiede in der Ausprägung und Inzidenz gibt und zwar sowohl in ethnischen, urbano-ruralen als auch bei migrativen Hintergründen.

Migranten selbst haben insgesamt ein höheres Erkrankungsrisiko, aber auch die Nachkommen als zweite Generation im immigrierten Land, wobei das Risiko für beide Generationen gleich ist (Saha et al. 2006).

Es bestehen darüber hinaus Hinweise, dass im Falle einer Migration die post-migrativen Faktoren wie z.B. Migrationsland, eigene ethnische Zugehörigkeit und soziale Interaktion, einen größeren Einfluss haben als solche, die davor bzw. währenddessen auftreten (Bourque et al. 2011).

In Entwicklungsländern besteht z.B. eine höhere Inzidenzrate als in Ländern mit hohem Entwicklungsniveau, was darauf schließen lässt, dass das Lebensumfeld eine Rolle in der Ätiologie der Entwicklung einer Schizophrenie spielt (Saha et al. 2005). (s. Ätiologie)

Auch die offenbar direkte urbane oder ländliche Umgebung kommt bei der Entwicklung einer Schizophrenie zum Tragen, wobei das Aufwachsen in einer eher urbanen oder städtischen Gegend diese offenbar begünstigt (Marcelis et al. 1999; March et al. 2008).

Dabei kommen zwei Hypothesen zum Tragen, die als beeinflussend gelten:

Die „*environmental breeder hypothesis*“ besagt, dass die direkte Umgebung und Nachbarschaft in hochurbanen Gegenden mit entsprechenden Stressoren wie z.B. schlechter Unterkunft, mangelnde soziale Vernetzung, hohe Kriminalitätsrate Einfluss auf die Bewohner nehmen und diese dadurch dazu neigen, eine Schizophrenie zu entwickeln.

Die „*selective drift hypothesis*“ wiederum nimmt an, dass eine selektive Migration stattfindet bei der sich vermehrt Menschen mit psychiatrischen Prädispositionen in sozial schwachen Ballungsgebieten niederlassen (Cooper 2005).

80% der Patienten erkranken vor dem 40. Lebensjahr. Das Prädilektionsalter liegt zwischen 15 und 35 Jahren. Die Mehrzahl der Frauen erkrankt allerdings nach dem 30. Lebensjahr. Das Prädilektionsalter liegt bei Männern um das 21. Lebensjahr, bei Frauen um das 26. Lebensjahr (Aleman et al. 2003).

Die Verzögerung wird damit erklärt, dass Östrogene antagonistisch auf die exogene oder familiäre Prädisposition zu wirken scheinen und neuroleptikaähnliche Eigenschaften haben (Häfner 2003).

Dabei sind auch innerhalb der Subtypen Unterschiede im Prädilektionsalter zu berücksichtigen. So liegt beim hebephrenen Typ der Zeitraum der Erstmanifestation im Jugendalter, während der paranoid-halluzinatorische Typ eher im mittleren Erwachsenenalter auftritt (Tandon et al. 2008b).

### **Prävalenz**

Prävalenz als Kennzahl beschreibt, wie viele Menschen einer bestimmten Bevölkerung an einer Krankheit leiden.

Im Falle der Schizophrenie wurde über einen ähnlichen Umfang wie für die Inzidenz gezeigt, dass die Punktprävalenz im Schnitt bei 4,6 auf 1.000 und Lebenszeitprävalenz bei 4,0 auf 1.000 liegt. Dabei beträgt die Lebenszeitprävalenz weltweit zwischen 0,5 und 1,6%, ohne Hinblick auf soziokulturelle Unterschiede (Tsuang & Faraone 1995; Wobrock, et al. 2004; Saha et al. 2005).

Ungleich der Inzidenz wurden keine wesentlichen Unterschiede, sowohl zwischen den Geschlechtern als auch zwischen urbanen oder ruralen Patienten gefunden. Eine Diskrepanz wurde jedoch zwischen Entwicklungsländern und Ländern mit hohem Entwicklungsniveau gefunden, sowie zwischen höheren und schwächeren sozialen Klassen. (Tandon et al. 2008a). Diese ist auf die verschiedenen sozialen und ätiologischen Einflussfaktoren zurückzuführen, der genau gekoppelte Faktor für die Begünstigung der Schizophrenie wurde bislang jedoch nicht identifiziert.

### **2.1.6 Multifaktorielle Ätiopathogenese**

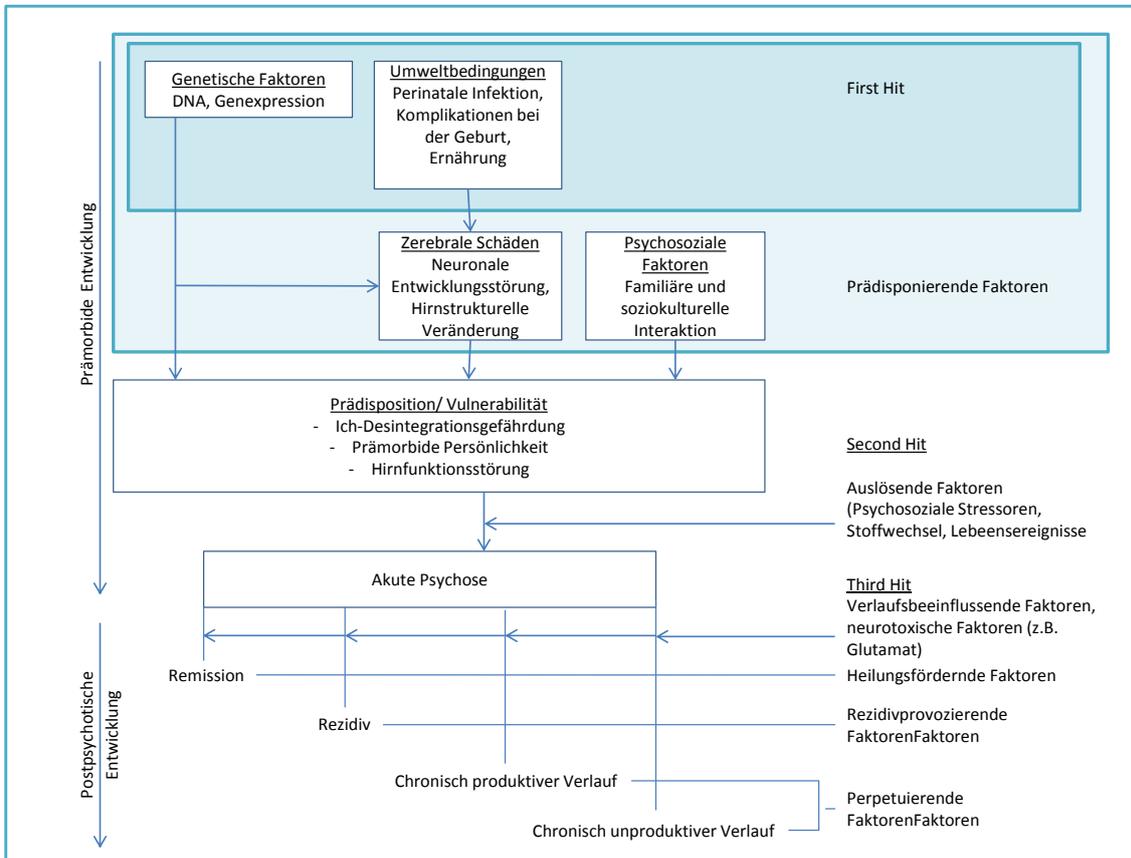
Die genaue Ätiologie der Schizophrenie ist bis heute leider ungeklärt. Es wird von verschiedenen psychosozialen, genetischen, hirnanatomischen und anderen biologischen Faktoren ausgegangen (multifaktorielle Genese), welche die Entstehung begünstigen können (Andreasen 2000).

Sicher ist jedoch, dass eine genetische Komponente, die familiären Umstände, sowie geburtliche Komplikationen und Lebensumstände eine Rolle spielen (Gottesman 1991).

Die im Folgenden beschriebenen Faktoren sind die in der Vorgeschichte von schizophrenen Patienten am häufigsten vorkommenden Faktoren die als ursächlich erscheinen. Diese haben unterschiedliche Wichtigkeit und können sich gegenseitig potenzieren. Es können sowohl neurobiologische als auch externe psychosoziale Einflüsse den Ausbruch der Krankheit hervorrufen, wenn eine bestimmte „multifaktorielle Schwelle“ überschritten wird (Sawa & Snyder 2002).

In der Abbildung 1 wird die Pathogenese unter Berücksichtigung der "Two Hit" Hypothese gezeigt. Dabei wird vermutet, dass prädisponierende genetische Einflüsse z.B. äußere Umstände, zu hirnanatomischen Veränderungen oder biochemischen Veränderungen führen können, welche als neuronale Entwicklungsstörung bezeichnet wird und somit zu einer erhöhten Vulnerabilität führen („First Hit“) (Murray & Lewis 1987).

In Kombination mit anderen Faktoren oder Stressoren wie zum Beispiel Drogenkonsum oder psychischen Belastungen führt dies möglicherweise dann zum Ausbruch der Krankheit (Maynard et al. 2001).



**Abbildung 1 Ätiopathogenese der Schizophrenie, (adaptiert nach Möller et al. 2011)**

Verschiedene exogene Einflüsse können, wie in Abb. 1 gezeigt, die Entstehung einer Psychose beeinflussen oder begünstigen.

Wie genau die Umweltfaktoren im Zusammenspiel eine Schizophrenie begünstigen, ist weitestgehend unbekannt. Auch ist unbekannt, ob diese Einflüsse das Risiko steigern oder andere Faktoren vermitteln bzw. einen positiven Faktor vermindern (Tandon, et al. 2008a).

Generell scheinen auch das soziale Niveau, Einkommensverhältnisse, und geographische Rahmenbedingungen mit in die Entstehung der Krankheit zu spielen (s. Epidemiologie). Die genaue Abgrenzung aller bei der Entstehung verantwortlichen Faktoren und deren Zusammenspiel ist unbekannt. Es scheint jedoch, dass jeder einzelne beschriebene Faktor für sich nicht unmittelbar zum Gesamtrisiko führt, sondern erst in der Kombination mit anderen und vor allem mit den genetischen Faktoren (Caspi & Moffitt 2006).

### **2.1.6.1 Psychosoziale Faktoren**

Ungünstige Stressoren oder Lebensumstände können die Prädisposition erhöhen oder zumindest den Verlauf beeinflussen (Tandon et al 2008a). Dazu gehören auch lebensverändernde Ereignisse, die zum Ausbruch einer Psychose beitragen können (Cullberg 2003). Diese können im Verlauf möglicherweise sogar zu einer hirnstrukturellen Veränderung führen (Lieberman et al. 2001).

Ein besonderes Augenmerk wird heute zunehmend den peri- oder pränatalen Risikofaktoren gewidmet, da diese ausschlaggebend sein können für die spätere Entwicklung einer Psychose im Jugend- oder Erwachsenenalter. Diese gilt dann als tatsächliche Spätfolge und nicht wie bisher angenommen als Beginn sog. „Onset of Disease“ (Insel 2010).

Es existieren Theorien, die besagen, dass auch der Umgang innerhalb einer Familie zu einem höheren Erkrankungsrisiko für psychiatrische Symptome führen kann, zum Beispiel wenn Eltern häufig überkritisch oder überprotektiv gegenüber dem Kind sind (sog. „High-Expressed-Emotions-Familien“)(Hooley 2007; Rosenfarb et al. 2004).

Durch die zunehmend eingeschränkte Kompetenz von Patienten im alltäglichen Leben, meist schon vor dem akuten Ausbruch der Erkrankung, kommt es zu einem sozialen Abstieg was als „Drift-Hypothese“ beschrieben worden ist und sich statistisch in einem erhöhten Erkrankungsrisiko in bestimmten sozialen Schichten widerspiegelt (Löffler & Häfner 1999).

### **2.1.6.2 Schwangerschaftskomplikationen und Infektionen**

Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen können zu einem erhöhten Risiko für eine Schizophrenie führen.

Eine mögliche Ursache für die erhöhte spätere Suszeptibilität des Kindes, kann eine Virusinfektion der Mutter während der Schwangerschaft besonders im 2. Trimenon sein, da hier eine Phase des verstärkten Hirnwachstums stattfindet und es dadurch zu einer neuronalen Schädigung im Gehirn des ungeborenen Kindes, mit entsprechenden neurophysiologischen Veränderungen kommen kann (Mednick et al. 1988; Brown 2006).

Diskutiert werden hier das Influenza-Virus, wobei die Datenlage inkonsistent ist (Limosin et al. 2003; Battle et al. 1999), Rubella-Virus (Brown et al. 2001), Herpes-simplex und Varizella Zoster, Polio sowie allgemeine Infekte oder Toxoplasmose gondii (Torrey et al. 2007; Brown et al. 2001; Brown 2002; Suvisaari et al. 1999). Vermutet wird hierbei jedoch, dass nicht das Virus selbst die Ursache für die Schädigung ist, sondern die Immunreaktion der Mutter (Verdoux 2004; Patterson 2002). Eine Häufung von Schizophreniepatienten, die im späten Winter und Frühjahr geboren sind, deutet auf eine jahreszeitliche Einflussnahme hin und ist möglicherweise auch auf eine Virusinfektion zurückzuführen (Torrey & Bowler 1990; Hettema, Walsh & Kendler 1996).

Autoimmunerkrankungen wie z.B. Sklerodermie oder Lupus erythematodes kommen in einigen Fällen auch als Prädeterminatoren in Frage, wobei die entstehenden postnatalen Antikörper gegen neurospezifische Proteine als eigentliche Ursache für die Veränderungen verantwortlich gemacht werden (DeLisi et al. 1987; Brixey et al. 1993). Des Weiteren können auch perinatale Komplikationen wie z.B. Sepsis, Nabelschnurvorfälle oder Präeklampsie zu hypoxischen Hirnschädigungen führen, die dann wiederum zu einer erhöhten Suszeptibilität hervorrufen können (Walker et al. 2004).

### **2.1.6.3 Drogenkonsum**

Auch Drogenkonsum kann zu einer Begünstigung der Krankheit führen oder sogar zum Ausbruch einer Psychose.

Vor allem Cannabiskonsum während der Pubertät wird hier diskutiert, aber auch andere Drogen wie Kokain sind von besonderer Relevanz (Dean, Bramon & Murray 2003; DeLisi 2008b; Moore et al. 2007).

Unklar ist jedoch noch, ob der Konsum hierbei die auslösende Ursache ist oder tatsächlich die Krankheit per se bedingt (Hall & Degenhardt 2008; Barnes et al. 2006).

#### **2.1.6.4 Hirnentwicklungsstörungen als Faktor neuroanatomischer Veränderungen des ZNS**

Die Untersuchung von makroskopischen Veränderungen im Zusammenhang mit Schizophrenie wurde bereits früh untersucht. Schon Alois Alzheimer publizierte erste Untersuchungen, die lange Zeit jedoch als unsicher galten, da zu dieser Zeit die entsprechenden bildgebenden Verfahren nicht vorhanden waren, um eine Hypothese systematisch zu validieren (Keshavan et al. 2008). Mittlerweile wurden Beweise erbracht, dass es zu neuroanatomische Veränderungen bei schizophrenen Patienten kommt, die auf eine Hirnentwicklungsstörung in der Entwicklungsphase oder auf degenerative Vorgänge zurückzuführen sind. Diese sind entweder anhand von post-mortem Analysen an verstorbenen Patienten oder mittels bildgebender Verfahren (z.B. CT) gezeigt worden (Keshavan, et al. 1994; Murray, Jones & O'Callaghan 1991).

Solche Veränderungen sind zum Beispiel eine signifikante Erweiterung der Seiten- und dritten Ventrikel bei gleichzeitig reduziertem Gehirnvolumen, vor allem der Frontal- und medialen Temporallappen sowie im Bereich des Hippocampus, aber auch des Parietallappens (McCarley et al. 1999; Nelson et al. 1998; Wright et al. 2000), wobei das reduzierte Volumen der Gehirnmasse auf die graue Substanz fokussiert zu sein scheint (Wright et al. 2000; Zipursky et al. 1998).

Auch wurden spezifische Symptome in direktem Zusammenhang mit einer Volumenänderung gebracht. Eine Verminderung im anterioren Gyrus temporalis zum Beispiel ging mit akustischen Halluzinationen konform. Der Verlust der grauen Substanz in dieser Gegend hat offenbar eine Positivsymptomatik zur Folge (Rajarethinam et al. 2000; Menon et al. 1995).

Des Weiteren wurden bei schizophrenen Patienten auch im Thalamus zahlreiche metabolische und auch strukturelle Veränderungen im Gegensatz zu gesunden Probanden gefunden (Brickman et al. 2004; Danos 2004; Hazlett et al. 1999; Meador-Woodruff et al. 2003).

Für alle Volumenänderungen konnte bislang nicht geklärt werden, ob es sich um Hirnentwicklungsstörungen im Sinne einer Wachstumsstörung oder um das Resultat einer progredienten Degeneration durch Schädigung der Zellen handelt. Einiges deutet darauf hin, dass sich die Lokalisationen im Verlauf der Krankheit ändern (DeLisi 2008a).

Histologisch sind post-mortem eine reduzierte Nervenzellzahl und –größe, jedoch keine für degenerative Prozesse typische Astrogliose zu finden, was wiederum auf eine Entwicklungsstörung hindeuten würde (Falkai et al. 1999). Die hippocampale Zytoarchitektur scheint zudem auch gestört zu sein (Kovelman & Scheibel 1984; Port & Seybold 1995; Sweatt 2004).

Analog zur multifaktoriellen Pathogenese können diese Entwicklungsstörungen Wegbereiter für spätere abweichende Prozesse oder andere kausale Faktoren (z.B. Stress, Substanzmissbrauch, etc.) sein, die zu neurodegenerativen Folgeerkrankungen führen, wodurch es im Verlauf zur Abnahme der grauen Substanz kommt (Pantelis et al. 2005; Rapoport et al. 2005; Ho et al. 2003).

Für eine gestörte Signalübertragung der Neuronen sprechen verschiedene Untersuchungen, die entweder eine Veränderung der Myelinisierung oder veränderte Synapsen und Dendriten als Ursache sehen (McGlashan & Hoffman 2000; Möller et al. 2011).

## **2.2 Genetische Faktoren**

Die weitere Erforschung der Schizophrenie legt den Verdacht nahe, dass auch eine genetische Komponente bei der Ausprägung einer Schizophrenie eine Rolle spielt. Dabei wird davon ausgegangen, dass eine Variation von verschiedenen Risikogenen zu einer Prädisposition führen kann. Die veränderten Gene tragen alle jeweils nur einen kleinen Beitrag dazu bei und interagieren mit anderen äußeren Einflüssen, wodurch sich der Effekt potenziert (Harrison & Weinberger 2005; Mueser & McGurk 2004; Sawa & Snyder 2002).

Heute gilt der Zusammenhang von einer genetischen Komponente und der Prädisposition bzw. Heritabilität der Veranlagung für eine Schizophrenie anhand der durchgeführten Assoziations-, Kopplungs-, und Adoptionsstudien validiert und gesichert (Walker et al. 2004; Gottesman & Erlenmeyer-Kimling 2001; Sullivan et al 2003).

Durch moderne molekulargenetische Techniken wird versucht, die Manifestation auf den verschiedenen genetischen Loci zu identifizieren und dadurch die kausalen pathogenen Mechanismen zu ergründen.

## **2.2.1 Familien-, Adoptions-, und Zwillingsstudien**

### **Familienstudien**

Es konnte gezeigt werden, dass in Familien mit einem an Schizophrenie erkrankten Angehörigen das Risiko für Verwandte höher ist als in der Allgemeinbevölkerung. Dabei steigt das Risiko für die Entstehung einer Schizophrenie mit zunehmender genetischer Verwandtschaft. So haben Verwandte 1. Grades ein 9% höheres Risiko als die Allgemeinbevölkerung, Verwandte 2. Grade ein 6% höheres, 3. Grades 2% (Giegling et al. 2008; McGuffin et al. 1995; Gottesman 1991; Tsuang et al. 2001).

Teilweise wurde bei Angehörigen 1. Grades von schizophrenen Patienten eine Häufung von sekundären Erkrankungen (z.B. Alkohol und Drogenmissbrauch oder bipolaren Störungen) von bis zu 16% nachgewiesen, im Vergleich zu solchen von gesunden Erstangehörigen von 0-2% (Parnas et al. 1993; Bailer et al. 2002).

Auch Umweltfaktoren können an der Entstehung der Erkrankung beteiligt sein, so dass bei Familien sowohl von der genetischen Komponente, als auch gleichzeitig der ähnlichen Sozialisation und Lebensumgebung ausgegangen werden muss. Dabei liegt der Anteil der genetischen Faktoren jedoch bei schätzungsweise 80% (Giegling et al. 2008).

### **Adoptionsstudien**

Adoptionsstudien stellen die geeignetste Methode zur Differenzierung zwischen genetischen und umweltbedingten Einflüssen bei der Krankheitsentstehung und deren Gewichtung dar.

Auch diese weisen auf eine starke genetische Komponente bei der Schizophrenieentstehung hin. Dabei wurde gezeigt, dass Kinder mit einer genetischen Determinierung auch dann das Risiko behielten, wenn sie frühzeitig in eine nicht mit Schizophrenie konfrontierte Familie im Rahmen einer Adoption einbezogen wurden. Dies wurde potenziert, wenn ein ungünstiges, psychosoziales Adoptionsmilieu vorlag. Auf der anderen Seite erhöhte sich jedoch das Risiko nicht, wenn ein nicht vorbelastetes Kind früh in eine Familie mit an Schizophrenie erkrankten Eltern adoptiert wurde (Kendler et al. 1994; Kety et al. 1994; Tienari et al. 2000; Tsuang & Faraone 1995).

### **Zwillingsstudien**

Auch die Ergebnisse von Zwillingsstudien belegen die starke genetische Beteiligung bei der Entstehung der Schizophrenie (Gottesman & Erlenmeyer-Kimling 2001; Cannon et al. 1998; Franzek & Beckmann 1996; Onstad et al. 1991).

Zwillingsstudien helfen dabei, die Weitervererbung quantitativ zu erfassen, indem sie bei monozygoten Zwillingen die Konkordanz im Vergleich zu zweieiigen Zwillingen (50% Genteilung) überprüfen.

Bei genetisch nahezu identischen monozygoten Zwillingen liegen Konkordanzraten von durchschnittlich 50% (41%-65%) vor, während bei heterozygoten Zwillingen 10-15% Konkordanz vorliegt (Kendler 2001; Gottesman & Erlenmeyer-Kimling 2001). (Tabelle 4)

**Tabelle 4 Übersicht von Zwillingsstudien bei Schizophrenie**

Autoren	Anzahl untersuchter Paare (Indexfall mit Schizophrenie)		Probandenweise Konkordanzraten	
	MZ	DZ	MZ	DZ
(Onstad et al. 1991)	31	28	4%	48%
(Farmer, McGuffin & Gottesman 1987)	21	21	10%	48%
(Kringlen 1966)	555	90	15%	45%
(Cannon et al. 1998)	134	374	9%	46%
(Franzek & Beckmann 1996)	21	18	11%	75%

Die Konkordanz bei monozygoten Zwillingen zeigt aber auch, dass eine Erkrankung nicht ausschließlich auf die genetische Komponente zurückzuführen ist und erst bei Hinzukommen anderer Faktoren ein Ausbruch der Krankheit wahrscheinlicher wird (Owen et al. 2005).

### 2.2.2 Molekulargenetik

Aus den zuvor beschriebenen Untersuchungen gehen genetische Faktoren bei der Schizophrenie hervor. Die molekulargenetischen Einflüsse, die noch immer weitestgehend unklar sind, werden durch immer neue Ansätze versucht zu entschlüsseln. Durch die technischen Möglichkeiten und Methoden wurden in den letzten Jahren große Fortschritte gemacht.

Bei der Vererbung der Schizophrenie wird heute nicht von dem Prinzip der Mendel'schen Regeln ausgegangen, sondern von einer polygenen Weitergabe, bei der Mutationen an verschiedenen Loci im genetischen Material in einer bestimmten Kombination, die Suszeptibilität für eine Schizophrenie hervorrufen können (Lander & Schork 1994; McGue & Gottesman 1989; Owen 2000).

Weiterhin besteht die Annahme einer phänotypischen und ätiologischen Heterogenität, das heißt, dass die Krankheit durch unterschiedliche Variationen an verschiedenen Loci hervorgerufen werden kann und ein qualitativ heterogener und quantitativ variierender Phänotyp übertragen wird.

Dies bedeutet, dass nach den heutigen Erkenntnissen pathophysiologisch kein Gen für sich alleine eine Rolle bei der Entstehung spielt (Harrison & Weinberger 2005; Norton, et al 2006).

Während das humane Genom einzelner Individuen zu 99% identisch ist, sind die verbleibenden 0,1% für die phänotypische Heterogenität der Population verantwortlich. Einen großen Anteil an diesen Sequenzunterschieden haben die Basenanordnungen im Genom. Von den ca. drei Milliarden Nukleotidbasen in der menschlichen DNA, variieren etwa drei Millionen zwischen den Individuen. Die meisten Variationen hierbei befinden sich jedoch auf nicht-kodierenden Exons oder auf DNA-Abschnitten, die nicht von mRNA transkribiert werden (Plomin et al. 1999).

Bei einer Mutation mit einem einzelnen Basenaustausch und einer Häufigkeit von über 1% wird diese als *Single Nucleotide Polymorphism* kurz „SNP“ bezeichnet.

Ein SNP kommt etwa alle 100-300 bp im Genom vor. Damit gibt es etwa 10-30 Millionen potentielle SNPs die 90% der Heterogenität beim Menschen ausmachen, von denen vier Millionen bereits sowohl quantitativ als auch genlocatorisch identifiziert sind (International HapMap Consortium 2005).

Unbekannt sind bei der Schizophrenie jedoch weiterhin die genaue Anzahl prädisponierender Genorte, das von jedem Genlocus übertragene anteilige Risiko und der Grad der Wechselwirkung zwischen den Genorten.

Als Basis für die Entstehung werden einige häufig vorkommende Allele mit geringem bis mittlerem Effekt und einige seltene Allele mit größerem Effekt angenommen, welche sich zudem gegenseitig beeinflussen (Wang et al. 2005; Craddock, et al 2007; Owen, et al 2009).

Aus diesem Grunde werden verschiedene Studien mit unterschiedlichen methodischen Ansätzen durchgeführt, welche im Folgenden beschrieben werden.

### 2.2.3 Kopplungsanalysen

Kopplungsuntersuchungen bestätigen die Co-Segregation eines vorhandenen Polymorphismus oder Markerallels innerhalb einer Familie, bei dem der chromosomale Locus bekannt ist, und einer in Zusammenhang stehenden Erkrankung (Böddeker & Ziegler 2000).

Dabei wird davon ausgegangen, dass zwei DNA Abschnitte umso unwahrscheinlicher durch Rekombination voneinander getrennt werden, je kleiner der Abstand der beiden zueinander auf dem Chromosom ist.

Grundlage bildet ein Gen-Kartierungsverfahren bei dem die in Verbindung stehenden Genorte vor der eigentlichen Identifikation des Gens bestimmt werden (Rujescu 2007).

Als Messgröße im Kopplungsungleichgewicht wird unter anderem der „Transmission Disäquilibrium Test“ (TDT) verwendet, um die gemeinsame Vererbung der genetischen Marker und der Erkrankung zu quantifizieren. Unter Verwendung von genetischen Variationen wie z.B. SNPs mit bekanntem Locus ist es möglich, den Ort des mit der Erkrankung gekoppelten Gens zu erhalten. Die Kopplungsintensität wird dann durch die Distanz der Basenpaare zwischen Gen und Marker bestimmt. Durch einen ausreichend großen Pool an Markern wird dadurch ermöglicht, das gesamte Genom zu screenen.

Für die Untersuchung werden Familien mit mehr als einem erkrankten Mitglied hinzugezogen, wie z.B. Geschwisterpaare, Betroffene und Eltern etc., da sich in solchen eher eine Homogenität der genetischen Vererbung annehmen lässt (Maier et al. 1999b; Bailer et al. 2002).

In den ersten Studien wurde angenommen, dass auf den Genen eine Hauptwirkung zu finden sei. Leider konnten in den ersten Versuchen die erhofften genomweiten Signifikanzen nicht erfüllt werden, was für eine niedrige Penetranz der Mutation spricht (Owen, et al 2004; Moldin 1997).

Die gefundenen Kandidatengenregionen waren zudem sehr breit (ca. 20-30 Centimorgan)(Giegling et al. 2008) und 58% des Genoms stand in mindestens einer genomweiten Kopplungsstudie mit der Erkrankung in Verbindung (Sullivan et al. 2008).

Es wurde daraufhin versucht in einigen Metaanalysen die wichtigsten Kopplungssignale zusammenzufassen. Die gefundenen Ergebnisse waren jedoch auch insgesamt voneinander abweichend, wenn auch eine größere Übereinstimmung der Ergebnisse gefunden wurde als ursprünglich angenommen.

In der Metaanalyse von Lewis wurden die Daten von 20 genomweiten Kopplungsstudien mit über 1200 Stammbäumen hinzugezogen und in den Abschnitten p12-q22.1 auf Chromosom 2 als am genomweit signifikantesten angegeben. Darüber hinaus wurden auf den Loci 1p13.3-q23.3, 2q22.1-q23.3, 3p25.3-p22.1, 5q23.2-q34, 6pter-21.1, 8p22-p21.1, 11q22.3-q24.1, 14pter-q13.1, 20p12.3-p11 und 22pter-q12.3 weitere starke Assoziationen gefunden (Lewis et al. 2003).

Badner & Gershon verwiesen auf Gene auf den Chromosomen 8p, 13q und 22q, dahingegen erachten Lewis et al. den Abschnitt 2p12-q22.1 als signifikant. In den untersuchten 20 genomweiten Kopplungsstudien von Lewis waren auch die Loci 5q23.2-q34, 3p25.3-p22.1, 11q22.3-q24.1, 6pter-p22.3, 2q22.1-q23.3, 1p13.3-q23.3, 22pter-q12.3, 8p22-p21.1, 20p12.3-p11, 14pter-q13.1 von besonderer Bedeutung in der Kopplung (Badner & Gershon 2002; Lewis et al. 2003).

Ng et al. untersuchten 32 genomweite Kopplungsstudien und identifizierten eine signifikante Kopplung für die Chromosomenloci 1, 2q (118.7-152 Mb), 3q, 4q, 5q, 8p und 10q. Ng grenzte diese Gesamtstichprobe weiterhin ein in Personen mit ausschließlich europäischer Herkunft und fand die Kopplung der Gesamtstichprobe als nicht signifikant. Dafür ergab sich in der europäischen Stichprobe eine Kopplung für das Chromosom 8p (15.7-32.7 Mb) (Ng et al. 2009).

Die Ergebnisse untermauern die These, dass verschiedene Loci mit jeweils mittelmäßigem Effekt für die Entstehung einer Schizophrenie in Frage kommen. Es bleibt jedoch nachzuweisen, dass die positiven Kopplungsbefunde für die Bedeutung der Krankheit funktionell relevant sind und die identifizierten Gene mit der Krankheit assoziiert sind.

### **2.2.4 Assoziationsstudien (Kandidatengenstudien)**

Assoziationsstudien leisten einen Beitrag um mögliche genetische Risiken zu identifizieren. Hierbei werden auch solche (Suszeptibilitäts-) Gene identifiziert, denen nur ein geringer krankheitsinduzierender Effekt zugesprochen wird.

Durch den Vergleich von Kontroll- und Patientenstichproben ist es möglich, potentiell funktionell relevante Gene, die in Zusammenhang mit bekannten Schizophreniehypothesen stehen, zu untersuchen.

Dabei wird anhand der Allelverteilung von relevanten Genvarianten in Patienten vs. Kontrollprobanden ein statistisch signifikanter Unterschied herausgearbeitet (Porteous 2008; Maier et al. 1999a).

SNPs werden oftmals nicht als einzelne SNPs weitervererbt, sondern als Block mehrerer benachbarter SNPs. Diese Blöcke werden als Haplotypblöcke bezeichnet. Haplotypblöcke sind einem einzelnen individuellen Chromosom zuweisbare und an einer oder mehreren polymorphen Stellen, in 5´- nach 3´-Sequenz lokalisierte Nukleotide, wobei diese für ein Gen, eine chromosomale Region oder auch für jedes lange DNA-Segment definiert sein können. Haplotypblöcke werden über Generationen ohne Rekombination weitervererbt. Dadurch reicht es aus, auch wenn ein Block viele SNPs enthält, die Identifizierung einiger SNPs zu kennen, um den Haplotyp zu bestimmen.

Eine Assoziation mit einem Merkmal ist dann anzunehmen wenn der genetische Marker in der untersuchten Kohorte signifikant häufiger bei betroffenen Patienten zum Vorschein tritt als bei gesunden Probanden (Böddeker & Ziegler 2000).

Die Auswahl richtet sich nach zuvor durchgeführten Kopplungsstudien, in denen für das Gen bereits ein positives Ergebnis erzielt wurde, oder die ätiopathologisch mit der Krankheit in Verbindung gebracht werden können. Dies kann die Neurotransmission oder die neuronale Stabilität der Zelle betreffen. Als Marker werden überwiegend Einzelnukleotid Polymorphismen (SNP) verwendet, in denen nur eine Base vertauscht ist. Dabei kann der SNP das Gen funktionell beeinflussen oder aber mit dem, die Erkrankung verursachenden Polymorphismus im Kopplungsungleichgewicht liegen.

Die Kandidatengene werden entweder nach funktionellen oder nach positionellen Kriterien ausgewählt. Bei funktionellen Kandidatengenen steht die Funktion mit einer der bekannten Schizophreniehypothesen in Zusammenhang, wie z.B. bei Genen die am glutamatergen oder dopaminergen System oder neuronalen Hirnentwicklung beteiligt sind (Williams et al; Owen 2000).

Positionelle Kandidatengene sind in Regionen mit Kopplungsergebnis für Schizophrenie zu finden. Da es bei heterogenen Kohorten durch die Stratifikation zu falsch-positiven Befunden kommen kann, wurden in den vergangenen Jahren bei Kopplungs- und Assoziationsstudien u.a. ganzer Haplotypblöcke in die Berechnungen mit einbezogen (Schulze et al. 2001).

Zum heutigen Zeitpunkt sind bereits eine Reihe von erfolgreichen Studien durchgeführt worden, die eine Assoziation wie z.B. Dysbindin (DTNBP1) (van Den Bogaert et al. 2003; Stefansson et al. 2002), G72 und DAAO zeigen (Schumacher et al. 2004), die jedoch nicht alle eine signifikante Assoziation aufweisen (Goldberg et al. 2006; Hall, Gogos & Karayiorgou 2004; Morris et al. 2003).

In einer Metaanalyse von Straub und Weinberger et al. wurden die 17 Gene RGS4, DISC1, GAD1, ERBB4, DTNBP1, MUTED, GRM3, NRG1, PPP3CC, GRIK4, FEZ1, DAAO, DAOA, AKT1, CHRNA7, COMT und PRODH mit der Schizophrenie assoziiert (Straub & Weinberger 2006).

Weiterhin wurde in einer großangelegten Metaanalyse von Allen et al. gezeigt, dass auf den 16 Genen APOE, COMT, DAO, DRD1, DRD2, DRD4, DTNBP1, GABRB2, GRIN2B, HP, IL1B, MTHFR, PLXNA2, SLC6A4, TP53 und TPH1 24 Polymorphismen vorliegen, die eine signifikante Assoziation zur Krankheit aufweisen (Allen et al. 2008).

### **2.2.5 Genomweite Assoziationsstudien (GWA)**

In der jüngsten Vergangenheit werden immer häufiger auch genomweite Assoziationsstudien zur Identifizierung möglicher Suszeptibilitätsgene durchgeführt. Dabei werden DNA-Chips eingesetzt, welche die Häufigkeit der Allele von bestimmten SNP's zwischen Patienten und gesunden Probanden vergleichen.

Der Unterschied zu den einfachen Assoziationsstudien besteht darin, dass zeitgleich mehrere Hunderttausend SNPs einer Person untersucht werden, ohne dass zuvor eine Hypothese bezüglich funktioneller oder positioneller Relevanz gebildet worden wäre. Dadurch werden auch solche risikosteigernde Polymorphismen entdeckt, die vorher gar nicht mit der Entstehung der Schizophrenie in Zusammenhang gebracht wurden.

GWA's werden entweder als individuelle Genotypisierung oder als Analysen mit gepoolter Genotypisierung durchgeführt.

Bei letzterer werden zwei DNA-Pools von jeweils äquimolaren individuellen DNA-Stichproben zusammengestellt. Dabei werden in den zwei Pools die DNA's von vielen verschiedenen Individuen vereinigt von denen einer die DNA vieler verschiedener Patienten und der andere die DNA von vielen verschiedenen Kontrollpersonen enthält. In jeder der beiden Pools wird dann die Allelfrequenz erfasst. Bei einem Unterschied in der Häufigkeit zwischen Probanden und Patienten wird dann eine individuelle Genotypisierung vorgenommen.

Bei der individuellen Genotypisierung wird die Allelfrequenz aller auf dem Genchip vorhandenen Marker für jeden Studienteilnehmer erfasst.

Veröffentlicht wurden bis heute eine Vielzahl von GWA's in Verbindung mit Schizophrenie und genetischen Markern von denen alle entweder die individuelle oder gepoolte Genotypisierung durchgeführt haben.

Die erste publizierte Studie wurde 2006 von Mah et al. veröffentlicht. Die gepoolte DNA aus 320 Probanden und 325 Kontrollen wurde an 25000 SNPs aus 14000 Genen genotypisiert. Es wurde dabei eine Assoziation des Gens PLXNA2 auf dem Locus 1q32 mit der Schizophrenie herausgefunden (Mah et al. 2006).

Lencz hingegen führte 2007 eine individuelle Analyse anhand 500.000 SNPs von 178 Patienten und 144 Kontrollen durch. Eine Assoziation wurde in pseudoautosomalen Region des X bzw. Y-Chromosoms des Gens CSF2RA (rs4129148) herausgefunden.

Eine weitere GWA zur Schizophrenie stellten Sullivan et al. im Jahre 2008 im Rahmen der CATIE-Studie vor. Es wurden 492.900 SNPs an einer Stichprobe aus 738 nach DSM-IV diagnostizierten Patienten und 733 Probanden genotypisiert. Die gefundenen Ergebnisse ergaben jedoch keine genomweiten signifikanten Assoziationen (Sullivan et al. 2008).

2008 wurde von Shifman et al. eine Kohorte Ashkenasi-Juden mittels gepoolter Genotypisierung untersucht. Diese fanden eine geschlechtsspezifische auf weibliche Teilnehmerinnen beschränkte Assoziation des Reelin-Gens auf Chromosom 7. Dieser Zusammenhang wurde auch in vier Replikationsstichproben aus England, Irland, China und den USA gefunden (Shifman et al. 2008).

O'Donovan et al. veröffentlichten im selben Jahr eine weitere genomweite Assoziationsstudie die an 479 Patienten und 2.937 Probanden durchgeführt wurde. In einer Folgestudie untersuchten sie die zwölf am stärksten assoziierten Loci in zwei multizentrisch rekrutierten Replikationsstichproben gemischter Abstammung (n = 16726). Dabei wurden im Follow-up die SNPs mit  $p < 10^{-5}$  in einer größeren Stichprobe repliziert und die gefundenen Loci der drei Chromosomen 2q32.1 (ZNF804A), 11p14.1 und 16p13.12 mit Schizophrenie assoziiert, von denen ersterer auch mit bipolaren Störungen und Depressionen in Zusammenhang steht und als einer der bis heute bedeutsamsten Entdeckungen in diesem Bereich gilt, wie zahlreiche weitere Studien belegen (Williams et al. 2011; O'Donovan et al. 2008).

Kurz darauf bestätigte das *International Schizophrenia Consortium (ISC)* die ZNF804A Ergebnisse und fügte eine Assoziation mit einem SNP auf Chromosom 22 und mehr als 450 SNPs in der Major-Histocompatibility-Complex (MHC) Region hinzu (Purcell et al. 2009).

Zwar konnte die Arbeitsgruppe von Shi et al. keine genomweiten Assoziationen der vom ISC vorgelegten Ergebnisse feststellen, jedoch wurde in der durchgeführten Metaanalyse für kaukasische Teilnehmer sieben SNPs auf dem Locus 6p22.1 identifiziert, die mit Schizophrenie assoziiert sind (Shi et al. 2009).

In der Studie von Stefansson et al. wurden 2.663 Patienten und 13.498 Probanden aus insgesamt acht europäischen Standorten mit insgesamt 314.868 SNPs verglichen und die Marker mit den besten Ergebnissen in vergleichbaren Studien kombiniert.

Darüber hinaus wurde ein Follow-up mit 4.999 Patienten und 15.555 Kontrollen durchgeführt. Das Ergebnis stimmt überein mit den Ergebnissen von Shi und Purcell in der Region des *Major Histocompatibility Complexes (MHC)*, mit zusätzlichen Assoziationen im *NRGN* und *TCF4* Gen (Stefansson et al. 2009; Shi et al. 2009; Purcell et al. 2009).

Kirov et al. folgten 2009 mit einer weiteren familienbasierten gepoolten Analyse von 2.327 kaukasischen Personen und dem Ergebnis einer Assoziation des Markers rs11064768, auf dem *CCDC60* Gen mit dem Locus auf Chromosom 12 (Kirov et al. 2009).

Tabelle 5 zeigt die oben beschriebenen verschiedenen durchgeführten Studien der genomweiten Assoziationsstudien mit den signifikantesten Ergebnissen für bestimmte Genome oder Genregionen.

Tabelle 5 Top Gene in GWA's identifiziert, adaptiert nach (Gejman et al. 2011)

Autoren und Jahr	Sample (case/control)	Gen oder Region	Kleinste p-Werte
(Lencz et al. 2007)(104)	178/144 (EA)	CSF2RA, SHOX	$3.7 \times 10^{-7}$
(Sullivan et al. 2008)(CATIE) (174)	738/733 (EA)	AGBL1	$1.71 \times 10^{-6}$
(O'Donovan et al. 2008) (Cardiff/WTCCC) (136)	Discovery: 479/2,937 (EA)	ZNF804A	$1.61 \times 10^{-7}$
	Follow-up: 6,829/9,897 (EA)		
(Need et al. 2009)(132)	Discovery: 871/863 (EA)	ADAMTSL3	$1.35 \times 10^{-7}$
	Follow-up; 1,460/12,995 /EA		
(Purcell et al. 2009)(ISC) (143)	3,322/3,587 (EA)	MHC region <sup>a</sup>	$9.5 \times 10^{-9}$
		MYO18B	$3.4 \times 10^{-7}$
(Stefansson et al. 2009)(SGENE) (171)	Discovery: 2,663/13,498 (EA)	MHC region <sup>b</sup>	$1.4 \times 10^{-12}$
	Follow-up 4,999/15,555 (EA)	NRGN <sup>b</sup>	$2.4 \times 10^{-9}$
		TCF4b	$4.1 \times 10^{-9}$
(Shi et al. 2009)(MGS) (162)	2,681/2,653 (EA)	MHC region <sup>a</sup>	$9.5 \times 10^{-9}$
	1,286/973 (AA)	CENTG2 (nur in EA)	$4.59 \times 10^{-7}$
		ERBB4 (nur in AA)	$2.14 \times 10^{-6}$
(Athanasiu et al. 2010) (TOP) (3)	201/305 (EA)	PCLO	$2.84 \times 10^{-7}$
(Ikeda et al. 2011)(71)	575/564 (Asian)	OAT	$6.2 \times 10^{-6}$

2011 wurde eine weitere Metaanalyse zur genomweiten Genotypisierung von Wang et al. durchgeführt. Diese gepoolte Metaanalyse untersuchte sowohl genetische Marker für Schizophrenie als auch bipolare Störungen in europäischen und amerikanischen Kohorten. Für die Schizophrenie waren dies insgesamt 1.172 Patienten und 1.379 Kontrollen.

Es wurde heraus gefunden, dass der SNP rs11789399 auf dem Locus 9q33.1 ( $p = 2.38 \times 10^{-6}$ ) des flankierenden Gens, ASTN2, am ehesten in Zusammenhang mit der Erkrankung steht. Den zweiten Rang belegte bei dieser Studie SNP rs12201676 auf 6q15 ( $p = 2.67 \times 10^{-4}$  in der Nähe der flankierenden Gene GABRR1 und GABRR2 (15 und 17kb entfernt). Ein dritter interessanter SNP war der SNP rs802568 auf 7q35 des Gens CNTNAP2 ( $p = 8.92 \times 10^{-4}$ ).

Durch die durchgeführte Meta-Analyse wurden noch zwei weitere Gene NALCN (SNP rs2044117,  $p = 4.57 \times 10^{-7}$ ) und NAP5 (SNP rs10496702,  $p = 7.15 \times 10^{-7}$ ) identifiziert.

Haplotypenanalysen der oben beschriebenen Loci unterstützen die Assoziation mit Schizophrenie sowie bipolaren Störungen (Wang et al. 2010).

Mittlerweile werden auch Untersuchungen an *Copy Number Variants (CNV's)*, durchgeführt, bei denen ihre Variationen im Hinblick auf eine mögliche Assoziation mit Schizophrenie untersucht werden.

CNV's haben *per definitionem* eine Länge von 1.000 bis 3 Mio. Basen und können zwischen den Individuen aufgrund von Deletion oder Duplikation variieren. Analog zu den GWA's wurden in den letzten Jahren verschiedene Analysen zu CNV's durchgeführt und veröffentlicht.

Schon seit einiger Zeit ist bekannt, dass CNVs das Erkrankungsrisiko einer Schizophrenie signifikant erhöhen können. Zum Beispiel erhöht eine Deletion auf Chromosom 22q11 das Risiko an einer Schizophrenie zu erkranken (Murphy et al. 1999).

Weitere Studien lassen vermuten, dass auch weitere selten vorkommende CNVs bei Patienten mit einer Schizophrenie in erhöhter Rate vorliegen. In zwei Studien wurden Verbindungen zwischen der Schizophrenie und den gleichen zwei Deletionen auf Chromosom 1q21.1 (Position 142.5 - 145.5 Mb) und auf Chromosom 15q13.2 (Position 28 -31 Mb) berichtet (Stefansson et al. 2009; International Schizophrenia Consortium 2008). Dabei waren die Varianten selten und hatten einen signifikanten Einfluss auf das Erkrankungsrisiko (Stefansson et al. 2009).

Beide CNVs umfassen mehrere Gene, die nicht nur für Schizophrenie sondern auch für andere Erkrankungen z.B. Autismus oder mentale Retardierung als Kandidatengene gelten können (Owen et al. 2009).

Und gleichwohl CNVs einen Einfluss auf das Erkrankungsrisiko zu haben scheinen, bedingt das Vorhandensein nicht das Erscheinen einer Schizophrenie, da sie auch bei Personen gefunden wurden, die nie an einer psychotischen Störung gelitten haben (Owen et al. 2009).

Aufgrund der genetischen Heterogenität in der Schizophrenie ist es außerordentlich schwierig, genaue genetische Varianten zu identifizieren, die für die Erkrankung prädisponieren oder das Risiko erhöhen.

Daher konnte bislang auch keines der in der Literatur diskutierten Gene als direkter Pathogen identifiziert werden, da darüber hinaus noch nicht alle pathophysiologischen Zusammenhänge verstanden sind. Als gesichert gelten jedoch auch neurobiochemische Veränderungen im Gehirn auf die im Folgenden näher eingegangen wird.

## 2.3 Neurobiochemische Faktoren

Bei neurochemischen Faktoren der Schizophrenie steht insbesondere eine veränderte oder gestörte Transmission der Signale zwischen den Neuronen im Vordergrund der Forschungsbemühungen.

Zwei Transmittersysteme sind hierbei als eminent identifiziert worden, welche auch in einer floriden Schizophrenie von besonderer Bedeutung sind.

### 2.3.1 Dopaminerge Einflussfaktoren

Dass das dopaminerge System einen starken Einfluss auf die Schizophreniesymptome hat, wurde bekannt als herausgefunden wurde, dass bei schizophrenen Psychosen die D2-Rezeptoren durch wirksame Neuroleptika blockiert werden (Baumeister & Francis 2002).

Agonisten wie Amphetamine aktivieren bei Gesunden diese Rezeptoren und können dadurch Psychose-ähnliche Positivsymptomaten oder bei Patienten Rezidive auslösen (Kapur et al. 1996; Möller et al. 2011; Baumeister & Francis 2002).

Entgegen der erstmals postulierten These einer allgemeinen Überaktivität dopaminerger Neuronen (Carlsson & Lindqvist 1963), werden dank neuer Untersuchungen heute die schizophrenen Psychosen als Ungleichgewicht zwischen frontalen und mesolimbischen dopaminergen Neuronen beschrieben. Dabei scheint eine verminderte dopaminerge Aktivität im präfrontalen Kortex für die Negativsymptomatik und kognitiven Defizite verantwortlich zu sein, wobei es mesolimbisch zu einer Hyperaktivität mit verbundener Positivsymptomatik kommt (Davis et al. 1991; Andreasen 1999).

Dies wurde auch dadurch bestätigt, dass mit den klassischen Neuroleptika eine Verbesserung der Positivsymptomatik zu beobachten ist, die Negativsymptomatik jedoch kaum eine Verbesserung zeigt (Meltzer 1997).

Durch die Rückkopplungsmechanismen der kortikalen und subkortikalen Dopaminsysteme kommt es durch die Behandlung mit Neuroleptika zu einer vermehrten Ausschüttung von Dopamin im Striatum und dadurch wiederum zu einer sekundären Positivsymptomatik (Abi-Dargham & Moore 2003).

Die Entstehung der initialen Dopaminhypoaktivität konnte bislang noch nicht geklärt werden.

Das dopaminerge Ungleichgewicht kann die Symptomatik der Schizophrenie jedoch nicht vollständig erklären (Howes & Kapur 2009) und impliziert die Möglichkeit, dass auch andere Neurotransmitter bei der Symptomatik und dem Ungleichgewicht der neuronalen Transmission beteiligt sind (Carlsson et al. 2001).

### **2.3.2 Glutamaterge Einflussfaktoren**

Auch die Betrachtung der glutamatergen Signalübermittlung gibt berechtigten Anlass zur Annahme einer signifikanten Rolle von Agonisten und Antagonisten dieses Systems.

Allerdings geht man im Gegensatz zum dopaminergen Ungleichgewicht von einer Unterfunktion der glutamatergen Neuronen aus, da durch Studien nachgewiesen wurde, dass mittels non-kompetitiven NMDA-Rezeptor-Antagonisten wie Phencyclidin (PCP) und Ketamin eine schizophrene Symptomatik einschließlich Negativsymptomatik ausgelöst werden kann, die in Ihrer Ausprägung noch stärker ist als die von Amphetaminen (Krystal et al. 1994).

Sowohl im frontalen Kortex, als auch im Hippocampus sind normalerweise glutamaterge Neuronen in hoher Dichte vertreten. Bei schizophrenen Patienten konnte jedoch eine Degeneration von GABA-ergen Interneuronen beobachtet werden (Benes 2000; Reynolds et al. 2004). Zudem waren bei Patienten verminderte Glutamatspiegel im Liquor zu finden (Coyle 2004; Kim et al. 1980). Dies wurde im weiteren Verlauf durch ähnliche Untersuchungen bestätigt (Fallgatter et al. 2010).

Daraus wird der Schluss gezogen, dass eine physiopathologische Unterfunktion der glutamatergen Neurotransmission zugrunde liegt (Möller et al. 2011).

Der NMDA-Rezeptor spielt hierbei eine zentrale Rolle. Dieser trägt wesentlich zu der Hirnentwicklung und einer Vielzahl von anderen neuronal Prozessen bei und befindet sich auf GABA-ergen inhibitorischen Neuronen, welche glutamaterge Pyramidenzellen hemmen (Javitt & Coyle 2004).

Bei einer NMDA-Rezeptor-Hypofunktion, ist die Aktivität der GABA-ergen Neurone auch herabgesetzt (Javitt & Coyle 2004; Olney et al. 1999). Dieser verminderte inhibitorische Tonus führt primär zu einer exzessiven Glutamatfreisetzung, was dadurch eine Excitotoxizität und die Zerstörung der GABA-ergen Interneurone zur Folge hat (Stone et al. 2007).

In Tiermodellen konnte gezeigt werden, dass es unter Inhibierung der NMDA Rezeptoren auf molekularer, zellulärer und funktioneller Ebene zu Veränderungen ähnlich einer Schizophrenie kommt (Rujescu et al. 2006).

Darüber hinaus erklärt eine NMDA Rezeptorstörung sowohl die Positiv- als auch die Negativsymptomatik. Weiterhin wurde gezeigt, dass Medikamente welche die Funktion des NMDA Rezeptors erhöhen v.a. eine Verbesserung der Negativsymptomatik ohne wesentlichen Einfluss auf die Positivsymptomatik zur Folge haben (Javitt & Coyle 2004).

Eine amphetamininduzierte Dopaminfreisetzung hingegen hat indes eine Verschlechterung der Positivsymptomatik ohne Einfluss auf die Negativsymptomatik zur Folge (Abi-Dargham et al. 1998).

Somit liegt die Vermutung nahe, dass dopaminerge und glutamaterge gemeinsam interagieren und für unterschiedliche psychopathologische Symptome verantwortlich sind. Eine Wechselwirkung der Dopamin- und Glutamatergen Systeme lässt den Schluss zu, dass ein primäres Glutamatdefizit zu einer sekundären Dopaminüberfunktion führen könnte (Ebert & Loew 2005). Damit wäre eine ursächliche Dysfunktion des NMDA Rezeptors mit Negativsymptomatik für eine Dopamin-induzierte Positivsymptomatik verantwortlich.

### **2.3.3 Serotonerge Einflussfaktoren**

Ein zusätzliches System, das in der Schizophrenieentstehung eine Rolle spielen könnte ist das Serotoninsystem, bei welchem beobachtet wurde, dass 5-HT Agonisten (z.B. LSD) psychotische Symptome hervorrufen können und darüber hinaus die neueren Medikamente zur Behandlung der Schizophrenie verstärkt auch 5-HT-Antagonisten enthalten (Terry et al 2008; Ichikawa et al. 2001; Meltzer 1987; Gouzoulis-Mayfrank et al. 2005).

Der NMDA Rezeptor kann durch übermäßige Reizung und Aktivierung auch zu oxidativem Stress und neuronalem Zelltod führen (Coyle 2006). Dadurch kommt es im weiteren Verlauf zu einer Störung der Konnektivität zwischen Neuronen, da sowohl Dendriten und Synapsen als auch die Axonmyelinisierung durch oxidativen Stress verändert werden (McGlashan & Hoffman 2000). All diese Thesen können die Symptomatik der Schizophrenie jedoch nicht vollständig erklären (Howes & Kapur 2009) und implizieren die Möglichkeit, dass auch andere Neurotransmitter bei der Symptomatik und dem Ungleichgewicht der neuronalen Transmission beteiligt sind (Carlsson et al. 2001).

Welches Neurotransmittersystem final das dysfunktional ursächliche ist konnte jedoch nicht abschließend geklärt werden, da glutamaterge Neurone im Hippocampus und im Kortex von Dopamin moduliert werden, auf der anderen Seite aber Glutamat die Aktivität dopaminerger Neurone reguliert (Stone et al. 2007).

Oxidativer Stress scheint jedoch bei beiden Systemen eine beeinflussende Rolle zu spielen.

### 2.3.4 Oxidativer Stress und mitochondriale Dysfunktion

Auch wenn die Mechanismen der Schizophrenie nicht genau ergründet sind, ist ein zunehmend diskutierter zusätzlicher Faktor bei der Entstehung der Schizophrenie laut neueren Untersuchungen oxidativer Stress, ausgelöst durch fehlerhafte Redox-Reaktionen in der Zelle (Zhang et al. 2010; Matsuzawa & Hashimoto 2011; Yao & Reddy 2011; Do et al. 2009; Do, Conus & Cuenod 2010).

Abbildung 2 zeigt die schematische Darstellung von Einflussfaktoren auf die Begünstigung einer Schizophrenie mit besonderem Fokus auf oxidativen Stress.

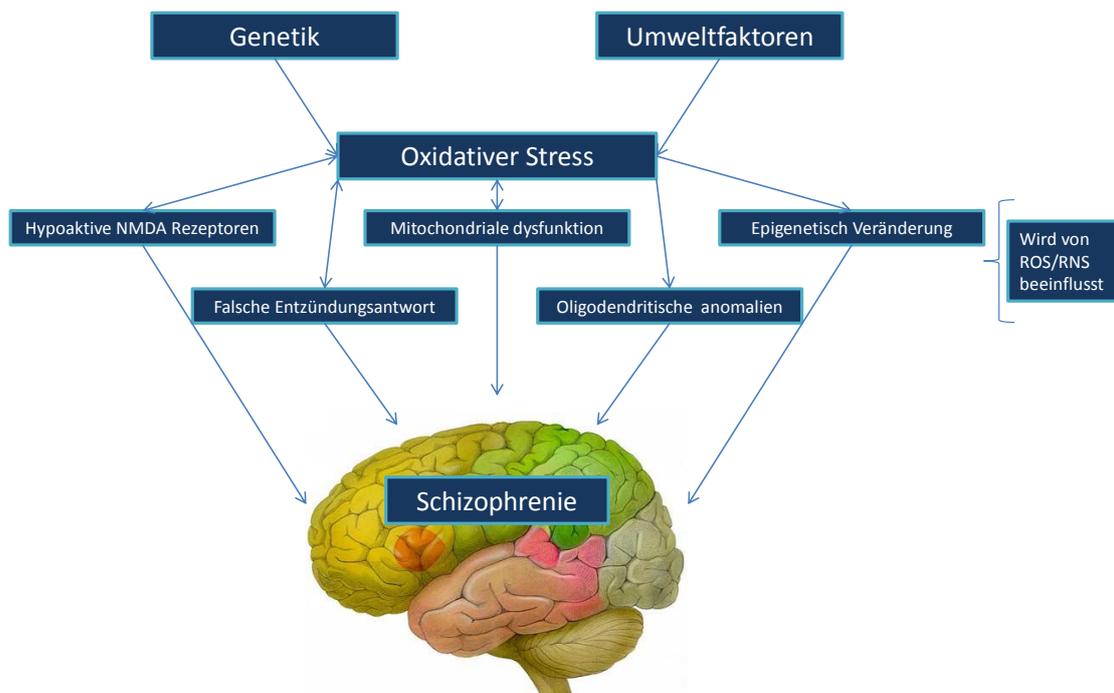


Abbildung 2 Schematische Darstellung des Einflusses von oxidativem Stress auf Schizophrenie, (nach Bitanihirwe & Woo 2011)

### **2.3.4.1 Oxidativer Stress**

Oxidativer Stress tritt dann auf, wenn die antioxidativen Schutzmechanismen der Zelle nicht mehr in der Lage sind, die Produkte aus dem physiologischen oxidativen Stoffwechsel auszugleichen. Diese sind reaktive Sauerstoffspezies (*ROS – reactive oxygen species*), auch freie Sauerstoffradikale genannt, und reaktive Stickstoffspezies (*RNS – reactive nitrogen species*) (Kohen & Nyska 2002; Berg et al 2004b).

Diese Oxidantien (RNS ist kein freies Radikal) entstehen in den Mitochondrien als Nebenprodukt der Zellatmungskette in der Oxidations-Reduktions-Kaskade. Sauerstoff wird in dieser widersprüchlichen Funktion als „Sauerstoff Paradoxon“ bezeichnet, da es sowohl überlebenswichtig für den Organismus ist, aber auch toxisch wirken kann (Davies 1995).

Dabei entweichen in der mitochondrialen Elektronentransportkette (ETC) ca. 2% der Elektronen und reagieren mit molekularem Sauerstoff zu ROS, welche unter anderem die mitochondriale DNA (mtDNA) schädigen.

Die mtDNA wiederum, kodiert einige Protein Untereinheiten der Atmungsketten-Komplexe vor allem I, III, IV und V, so dass eine Schädigung der mtDNA zu ETC Defekten besonders der Komplexe I und III führt. Dies hat eine stärkere Produktion der ROS zur Folge, so dass es zu einem Circulus vitiosus kommt (Balaban, et al. 2005; Fukui & Moraes 2008).

Tabelle 6 zeigt die wichtigsten freien Radikale im Organismus, die zu Störungen bestimmter Prozesse führen können.

**Tabelle 6 Wichtigste ROS adaptiert nach (Nordberg & Arnér 2001)**

Formelzeichen	Bezeichnung	Anmerkung
$O_2^{\cdot -}$	Hyperoxid-Anion	freies Radikal, Second Messenger, alte Bezeichnung: Superoxid-Anion
$HO^{\cdot}$	Hydroxyl-Radikal	freies Radikal, hochreaktiv
$HOO^{\cdot}$	Perhydroxyl-Radikal	freies Radikal
$ROO^{\cdot}$	Peroxyradikal	freies Radikal
$RO^{\cdot}$	Alkoxyradikal	freies Radikal, bei Lipiden
$H_2O_2$	Wasserstoffperoxid	Edukt zur Bildung anderer ROS, Second Messenger
$ROOH$	Hydroperoxid	
$O_3$	Ozon	
$OCl^-$	Hypochlorit-Anion	
$^1O_2$	Singulett-Sauerstoff	angeregtes Sauerstoffmolekül
$NO$	Stickstoffoxid	
$ONOO^{\cdot}$	Peroxynitrit	

Neuere Studien schreiben ROS wie dem Hyperoxid und dem Wasserstoffperoxid neben der Generierung oxidativen Stresses eine wichtige Signalfunktion, z.B. im Gehirn bei der Signalübertragung der synaptischen Plastizität und der Gedächtnisbildung zu. Sie wirken dort zudem stark vasodilatierend (gefäßerweiternd) und scheinen daher wichtig für die Steigerung des zerebralen Blutflusses und des zerebrovaskulären Tonus zu sein (Kishida & Klann 2007).

Ausgeglichene ROS Level sind nötig, da diese eine Vielzahl von Prozessen beeinflussen, wenn nicht sogar bedingen. Eine erhöhte ROS Produktion führt allgemein zu verstärkter Lipid- und Proteinoxidation, DNA-Schädigung und zur Aktivierung von proapoptotischen Signalwegen, wie z.B. der c-Jun-N-terminalen-Kinase (JNK) oder p38 Mitogen-aktivierten-protein-Kinase (MAPK) Signalweg, welcher auch Teil der caspaseabhängigen Apoptose in neurodegenerativen Prozessen ist (Balaban et al 2005; Schroeter et al. 2002).

Eine verstärkte Lipidoxidation zum Beispiel reduziert die Fluidität der Membran, verringert die Aktivität von membrangebundenen Enzymen und führt im schlimmsten Fall zu einem Verlust der Membranintegrität. Dies wiederum verschiebt den Ionenhaushalt der Neurone und löst Excitotoxizität aus (Stark 2005).

Des Weiteren werden durch einen ROS Überschuss auch Enzyme aktiviert. So kann die Aktivierung von Kinasen zum Zelltod führen (Scherz-Shouval & Elazar 2007). Auch können Proteine unspezifisch oxidiert werden, was zu ihrem Abbau, Inaktivierung oder ihrer Aggregation führen kann. Ein Beispiel hierfür ist das  $\alpha$ -Synuclein welches normalerweise in Lewy-Körperchen in nitrosylierter Form vorliegt (Giasson et al. 2000).

Es wurde gezeigt, dass das präsynaptische Protein  $\alpha$ -Synuclein welches in hohem Maße auch für die Entstehung einer Parkinson Erkrankung verantwortlich gemacht wird, in erhöhter Konzentration sowohl zu oxidativem Stress führen kann, als auch durch oxidativen Stress akkumuliert und dadurch zu mitochondrialer Dysfunktion mit verbundenem Untergang der Zelle führen kann.

Darüber hinaus kommt es in diesem Prozess zu einer Verminderung der Glutathion-Level, was über erhöhte ROS Produktion auch zu erhöhten oxidativem Stress der Zelle führt (Hsu et al. 2000). Eine erhöhte ROS Produktion führt wiederum zu Aggregation von  $\alpha$ -Synuclein. Dies kann jedoch mit einem Antioxidans wie z.B. Vitamin E rückgängig gemacht werden (Jenner & Olanow 1998).

Insbesondere das Gehirn ist von oxidativem Stress betroffen, da es auf der einen Seite einen hohen Anteil an Metallen (Eisen, Zink, Kupfer, Magnesium) enthält, welche die Entstehung von ROS /RNS katalysieren, und auf der anderen Seite einen extrem hohen Sauerstoffdurchsatz erreicht. 20% des Sauerstoffbedarfs des Körpers wird vom Gehirn benötigt, obwohl es lediglich 2% des Körpervolumens ausmacht (Berget al.2004a; Dringen 2000; McQuillen & Ferriero 2004).

Der hohe glukoseabhängige Stoffwechsel und die zusätzlichen mehrfach ungesättigten Fettsäuren, kombiniert mit einem relativ kleinen Anteil an Antioxidantien, führt zu der Annahme, dass das Gehirn besonders anfällig für oxidativen Stress ist (Dringen 2000).

Die der Hirnfunktion zur Verfügung stehenden Mittel, um der ROS/RNS Toxizität entgegenzuwirken sind (Dringen et al 2005):

1. Entfernung der ROS/RNS
2. Verhinderung der ROS/RNS Entstehung und
3. Bindung der für die Katalysierung der ROS/RNS erforderlichen Metallionen

Die Enzyme Glutathion-Peroxidase und Glutathion-Reduktase spielen eine entscheidende Rolle in diesem Prozess. Diese Enzyme konvertieren die freien Radikale und Peroxide in nicht-toxische Formen (Dringen et al. 2005). Dabei wird reduziertes Glutathion (GSH) oftmals von Glutathion-Peroxidase zu Glutathion-Disulfid (GSSG) oxidiert. Glutathion-Reduktase reduziert GSSG dann wieder zu GSH.

Andere antioxidative Substanzen sind z.B. Ascorbinsäure (Vitamin C), Ubiquinon,  $\alpha$ -Tocopherol (Vitamin E), Bilirubin, Albumin, Harnsäure, Niacin, Carotenoide und Flavonoide (Nordberg & Arnér 2001; Cho et al. 2009).

In einigen Studien wurde versucht, einen Zusammenhang zwischen oxidativen Stressmarkern und Schizophrenie herzustellen, jedoch ist die Datenlage bisher inkonsistent, wie auch die kürzlich durchgeführte Meta-Analyse von Zhang et al. zeigt (Zhang et al. 2010).

Sowohl glutamaterges, als auch dopaminerges und serotonerges System haben einen signifikanten Einfluss auf das Redoxgleichgewicht (Yao et al. 2010; Smythies 1999a; Smythies 1999b).

### **Dopaminerge Neurone und oxidativer Stress**

Die klassische Dopaminhypothese geht von einer Hyperaktivität der dopaminergen Übermittlung am D2-Rezeptor aus. Auffällig ist dabei, dass Dopamin von Monoaminoxidase zu Dihydrophenylelessigsäure umgesetzt wird.

Diese Reaktion löst eine vermehrte Wasserstoffperoxidbildung aus, welche dann mittels Auto-oxidation von Dopamin wiederum zu vermehrter Produktion von ROS wie z.B. Superoxiden und Dopaminchinonen führt (Hastings 1995; Fleckenstein et al. 2007).

Dopaminchinon wiederum kann mit diversen Biomolekülen wie den Cysteinresten von Proteinen reagieren und diese unter Ausbildung von Dopaminaddukten inaktivieren. Diese stellen neben der ROS-Produktion einen zusätzlichen Stress für die dopaminergen Neurone dar (Miyazaki & Asanuma 2008).

Do et al. zeigten in einer Studie, dass Dopamin in kortikalen Neuronen die GSH Aktivität allein um 40% senkt (Grima et al. 2003).

Somit kann der Schluss herbeigeführt werden, dass eine Hyperaktivität von Dopamin auch zu erhöhtem oxidativen Stress führt.

### **NMDA und NO**

Ein weiteres Beispiel hierfür ist die Tatsache, dass Stickstoffmonoxid (NO) als Metabolit mit Schizophrenie in Zusammenhang gebracht wurde. NO selbst spielt unter anderem eine Rolle in der Gehirnfunktion wie z.B. bei der synaptischen Plastizität (Hölscher & Rose 1992), Neurotransmitter Freisetzung (Lonart et al. 1992) und neuronale Entwicklung (Contestabile 2000; Gibbs 2003).

In Hinsicht auf den NMDA-Rezeptor, der wesentlich bei der Entstehung einer Schizophrenie beiträgt, ist NO besonders als *second Messenger* in der Aktivierung des Rezeptors beteiligt, welcher mit den dopaminergen und serotoninen Signalwegen interagiert (Lorrain & Hull 1993; Brenman & Bredt 1997).

### **Glutamaterge Neurone und oxidativer Stress**

Die Glutathathypothese der Schizophrenie stützt sich weitestgehend auf die Fehlfunktion des NMDA Rezeptors (NMDAR) (Coyle 2006).

Während Glutamat als primär exzitatorischer Neurotransmitter im zentralen Nervensystem agiert, ist es bei zu hohen Konzentrationen jedoch auch exzitotoxisch wirksam (Platt 2007).

Einer der dabei beteiligten Mechanismen ist ein durch Calciumflux ausgelöster exzitatorischer Zyklus, der wiederum einen Anstieg von Glutamat bewirkt. Durch die Akkumulierung von Glutamat und Calciumionen in der Zelle kommt es dann zur Bildung von ROS (Olney 1989; Hirose & Chan 1993).

Eine Unterfunktion des NMDAR bewirkt einen verringerten Durchstrom der  $Ca^{2+}$  Ionen durch diese Kanäle, was als Konsequenz über verschiedene Bypass-Mechanismen zu einer hohen Konzentration an freiem intrazellulären  $Ca^{2+}$  in einer großen Anzahl an neuronalen Zellen zur Folge hat. In letzter Instanz kann dies auch oxidativen Stress induzieren (Schwartz et al. 1994; Schwartz et al. 1994; Sharp et al. 1994; Lidow 2003).

In einer jüngeren Studie von Radonjić et al. wurden nach perinataler Gabe von PCP (s.o.) bei Ratten in bestimmten Hirnregionen eine Veränderung der GSH Konzentration und Aktivität der entsprechenden Enzymen (Glutathion-Oxydase und Reduktase) festgestellt, wohin gegen die Aktivität der Katalase nicht verändert war (Radonjić et al. 2009).

Während im präfrontalen Kortex sowohl GSH, Superoxid-Dismutase und Glutathion Reduktase niedriger waren, sah man hingegen einen Anstieg an Glutathion Peroxidase. Im Hippocampus waren GSH, und beide Glutathion Enzymaktivitäten verringert, Lipid-Peroxidase jedoch erhöht.

Im Thalamus waren indes Lipid-Peroxidase und Glutathion-Reduktase erhöht (Radonjić et al. 2009). Dies spricht sehr stark für eine Korrelation des NMDARs und dem Redox-Status bei schizophrenen Patienten.

### **Mitochondriale Dysfunktion**

Einige von den oben vorgestellten Prozessen haben auch Auswirkung auf die mitochondriale Funktion.

Oxidative Phosphorylierung und enzymatische Oxidation in den Mitochondrien führt zur Produktion von verschiedenen Superoxid-Ionen und ROS-Spezies, wie zum Beispiel Wasserstoffperoxid. Ein in der Funktion gestörtes oder alteriertes Mitochondrium produziert nicht nur vermehrt von diesen freien Radikalen, sondern ist auch anfälliger für oxidativen Stress (Kowaltowski & Vercesi 1999).

Dadurch kommt es wiederum zu Veränderungen der mitochondrialen Membran mit vermehrter Durchlässigkeit für  $\text{Ca}^{2+}$ , Glukose und anderen Ionen, was zu einem Energieungleichgewicht führt. Durch die wiederum verstärkte Produktion von ROS/RNS kommt es dann in letzter Konsequenz zum Untergang der gesamten Zelle (Hazlett et al. 2004; Calabrese et al. 2001; Martins-de-Souza et al. 2009; Martins-de-Souza et al. 2011; Lenaz).

Unbestritten ist jedoch, dass das Redox Gleichgewicht, als primäre Komponente der Hämostase innerhalb der Zelle, von grundlegender Bedeutung für das Überleben neuronalen Zellen ist. Daher kann jeder Prozess, der dieses Gleichgewicht stört zu einer Veränderung der zellulären biochemischen Prozesse mit verheerendem Ausgang für die Funktionsfähigkeit führen, die in neuronalen Defiziten und Zelltod resultieren kann (Bitanirwe & Woo 2011).

Glutathion und der NMDAR sind hierbei entscheidende Mitspieler und deren Funktion stehen in direktem Zusammenhang mit der Schizophrenie, wie auch Tierversuche mehrfach belegen (Cabungcal et al. 2007).

## 2.4 Das PARK7 Gen in der Schizophrenie

### 2.4.1 Definition und Pathologie von PARK7

PARK7 (*Parkinson Protein 7*) kodiert für das DJ-1 Protein, welches 2003 von Bonifati et al. identifiziert und lokalisiert wurde (Bonifati et al. 2003a).

Alternative Bezeichnungen für PARK7 sind FLJ27376, FLJ34360 und FLJ92274.

Es befindet sich auf dem kurzen Arm des Chromosom 1 zwischen Position 8,021,713 und 8,045,341.

Das Produkt des Gens hat verschiedene Eigenschaften in sowohl neuronalen Transmissionswegen als auch in anderen generellen zellulären und mitochondrialen Mechanismen.

Die in diesem Kontext wichtigste Funktion hat es als Redox-sensitiver Chaperon, Sensor für oxidativen Stress und Schutz der Neuronen vor oxidativem Stress und Zelltod (s.u.).

Defekte oder Mutationen in diesem Gen sind die Ursache von diversen Krankheiten oder Störungen. Eine weitgehend gut erforschte ist die *autosomal rezessive early onset Parkinson-disease* (PK). Die vorhandenen neuropathologischen Erkenntnisse beziehen sich demnach weitestgehend auf die PK und damit verbundene Symptomatik. Parallelen zur Schizophrenie sollten jedoch nicht ausgeschlossen werden.

Da bislang post-mortem Studien mittels Autopsie fehlen, kann die genaue Neuropathologie nur ante-mortem oder durch Tiermodelle und in-vitro Experimente ergründet werden. In PET Untersuchungen zeigte sich bei Patienten mit homozygoten PARK7 Gen z.B. ein signifikanter Abbau von Dopamin (Dekker et al. 2004).

### 2.4.2 Vorkommen von PARK7

PARK7 kodiert ein ubiquitär zytosolisch, hoch konserviertes Protein, welches in Pankreas, Leber, Hoden, der Skelettmuskulatur, der Niere und insbesondere im Gehirn mit höheren Konzentrationen in subkortikalen Regionen (Thalamus und Substantia nigra pars compacta) vorkommt und in unterschiedlichen zellulären Mechanismen eine Rolle spielt (Bandopadhyay et al. 2004; Nagakubo et al. 1997; Cookson 2010).

Darüber hinaus wurde ein erhöhtes Vorkommen in den Gliazellen, den Astrozyten nachgewiesen.

Daher liegt die Vermutung nahe, dass DJ-1 von besonderer Bedeutung bei der glialen Funktion hat. Ruhende Astrozyten weisen zum Beispiel nur eine geringe Expression auf wohingegen reaktive Astrozyten oder solche von  $\alpha$ -Synuclein überexprimierenden Mäusen, sehr viel DJ-1 exprimieren (Neumann et al. 2004; Kotaria et al. 2005).

Ein potentieller Ausfall von DJ-1 im Gehirn betrifft somit vornehmlich Neurone und reaktive Astrozyten.

Zellulär spielt DJ-1 eine Rolle im Zytoplasma, Zellkern und den Mitochondrien. Unter normalen Umständen befindet es sich meist im Zytoplasma.

Mit zunehmendem oxidativen Stress und sauren Bedingungen verlagert es sich dann in den Kern und in die Mitochondrien, um diese vor Schaden zu schützen (Nagakubo et al. 1997; Yoshida et al. 2003; Junn et al. 2009).

### 2.4.3 Aufbau, Struktur und Isoformen von PARK7

Das PARK7 Gen ist auf Chromosom 1p36 lokalisiert (Abb. 3) und besteht aus acht Exons. Der aus 570bp bestehende offene Leserahmen (ORF) kodiert ein aus 189 AS bestehendes Protein, welches eine Masse von ca. 20kDa aufweist (Bonifati et al. 2003a).

Das Exon1 ist nicht-kodierend und wird alternativ gespleißt (Exon1a/b).

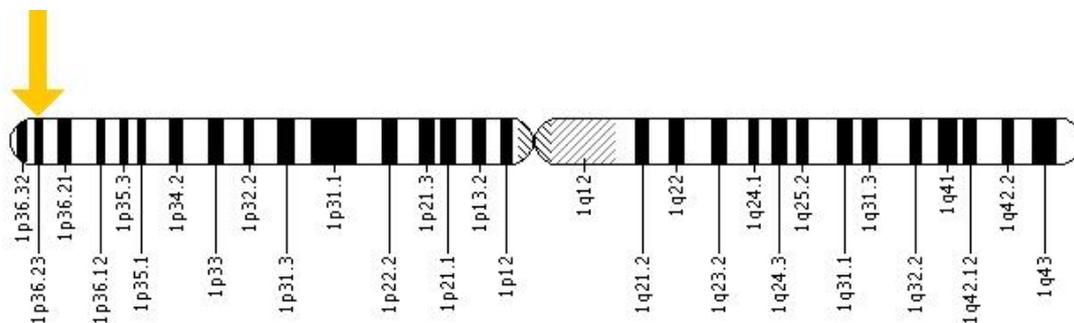


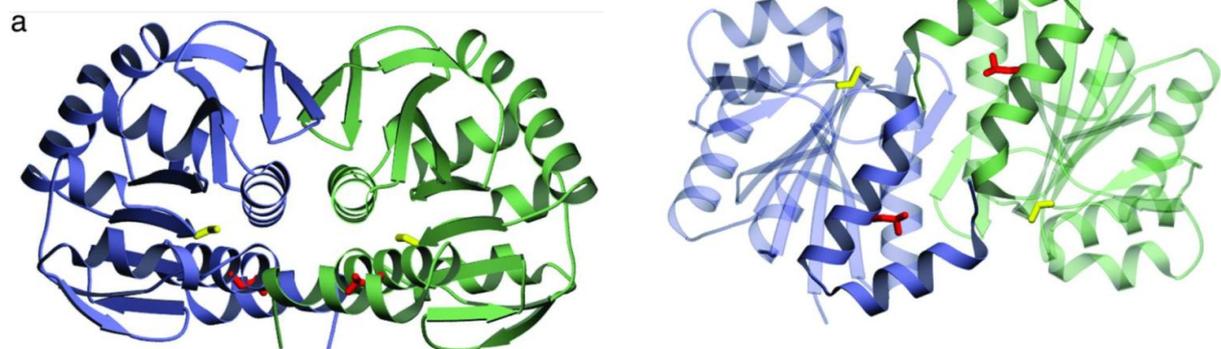
Abbildung 3 Locus des PARK7 Gens auf Chromosom 1 (MapView 2012)

Die vom Protein gebildete Tertiärstruktur gehört zur C56 THJ/Pfp1-Superfamilie, zu der auch bakterielle Proteasen (z.B. Pfp1/PH1704), Katalasen und Chaperone gehören. Jedoch gibt es zwei wesentliche Unterschiede:

1. DJ-1 hat eine verdrehte katalytische Triade welche essentiell für die Proteaseaktivität ist.

2. Es wird vermutet, dass im Inneren der zwei Monomere ein aktives Zentrum liegt, welches an Codon 106 ein Cystein enthält, wobei das aktive Zentrum nicht frei zugänglich liegt, sondern durch die  $\alpha$ -Helices der Helix-Knick-Helix-Motive am C-Terminus des Proteins verdeckt wird (Görner et al. 2007; Tao & Tong 2003). Dadurch besitzt DJ-1 keine Proteaseaktivität. Abbildung 4 zeigt die dreidimensionale Dimer-Struktur mit den zwei Monomeren.

Aktiviert wird DJ-1 von Wasserstoffperoxid und anderen freien Radikalen und UV-Strahlung (Taira et al. 2004; Sekito et al. 2006).



**Abbildung 4 Kristall Dimer-Struktur des humanen DJ-1 Proteins, (Wilson et al. 2003) Zwei Betrachtungswinkel um 90° gekippt. Monomer A ist blau und Monomer B ist grün. Erstellt mit POVSCRIPT (Fenn 2003).**

Speziell am DJ-1 ist weiterhin die dimere Quartärstruktur, von denen jedes der Monomere eine Flavodoxin-ähnliche Rossmann-Faltung mit  $\beta$ -Faltung und  $\alpha$ -Helices an den Tag legt (Honbou et al. 2003).

Der Cys106 Rest der katalytischen Triade aus E18, Cys106 und H126 wird heute durch seine nukleophile Ellbogen-Konformation und hohe Oxidabilität als zentrale Stelle in der oxidativen Aktivierung des Proteins gesehen (Wilson et al. 2003; Kinumi et al. 2004).

Die Seitenkette des E18, welches in das Redoxzentrum ragt, verringert die  $pK_a$  des Cys106 und stabilisiert die oxidierte Cys106 Sulfonsäure, welche als aktive Form von DJ-1 betrachtet wird (Witt et al. 2008; Blackinton et al. 2009; Canet-Avilés et al. 2004). Die Cysteinreste Cys53 und Cys46 könnte ein weiteres Redoxzentrum im DJ-1 formen welche die Oxidierbarkeit und dementsprechend die Aktivierung regulieren (Waack et al. 2009).

Studien zur Kristallstruktur unterstützen zudem die Vermutung, dass DJ-1-Proteine nur als Dimer funktionieren (Honbou et al. 2003; Moore et al. 2003; Olzmann et al. 2004; Tao & Tong 2003).

Strukturell besitzt DJ-1 keine Isoformen, hat aber Ähnlichkeit mit 4 Strukturhomologen in *E. coli*: 1. bakterielles Hitzeschockprotein Hsp31, einem Stress-induzierten Chaperon (Quigley et al. 2003), 2. das funktionell unbekannte Protein SCRP 27a, 3. die Cystein-Protease YhbO und 4. YajL, das bakterielle Homologe zu DJ- 1.

Des Weiteren in Achaebakterien, PhPI oder PfPI und das Hefehomologe zu Hsp31: YDR533Cp, welches als Antwort auf verschiedene Stressbedingungen in erhöhtem Maße transkribiert wird (Cookson 2003; Wilson et al. 2003; Wilson, Ringe & Petsko 2005; Wilson et al. 2004).

Diese strukturellen Besonderheiten lassen auf den Zusammenhang mit den Funktionen des Gens schließen.

## 2.5 Funktion von PARK7

Dem Protein DJ-1 wurden bislang verschiedene Funktionen zugeteilt, unter anderem der Schutz der Zelle vor oxidativem Stress.

Als das Gen 1997 das erste Mal entdeckt wurde, galt DJ-1 als mögliches Onkogen, welches bei Überexpression NIH3T3-Zellen H-Ras-abhängig transformiert, da es auch als positiver Regulator für Androgen rezeptor-abhängige Transkription dient (Nagakubo et al. 1997).

In einigen Krebsarten ist die DJ-1 Expression erhöht, sodass eine Verbindung zur PTEN (Phosphatase und Tensin homolog) Tumorsuppressor Regulation vermutet wird (Kim et al. 2005a; Liu et al. 2008b).

Darüber hinaus wurde in proteomischen Surveys gefunden, dass DJ-1 auch als Serumbiomarker bei Brustkrebs und uvealem malignen Melanom dient (Le Naour et al. 2001; Pardo et al. 2006)

Danach wurde dem Gen ein Zusammenhang mit der männlichen Fertilität nachgesagt (Wagenfeld et al 1998), die es möglicherweise auch durch positive Regulation des Androgenrezeptors erfüllt (Niki et al. 2003; Takahashi et al. 2001).

Gleichzeitig wurde erstmals eine Verbindung von DJ-1 zu oxidativem Stress entdeckt, indem herausgefunden wurde, dass DJ-1 die Oxidation von endogenen und exogenen ROS bewirkt (Mitsumoto & Nakagawa 2001; Mitsumoto et al. 2001).

Die Verbindung zur Neurodegeneration und damit zu psychiatrischen Erkrankungen wurde geschlossen als Bonifati et al. schließlich herausfanden, dass DJ-1 mit Mutationen wesentlich für die autosomal rezessive juvenile Parkinson Erkrankung verantwortlich ist (Bonifati et al. 2003a).

### **2.5.1 Park7 und oxidativer Stress**

DJ-1 wurde in den letzten 5 Jahren intensiv mit der Zielsetzung des oxidativen Stresses untersucht. Hierbei wurden verschiedene Zelltypen und Organismen unter Anwendung von Stressoren erforscht.

Dabei wurde unter anderem herausgefunden, dass DJ-1 Neuroblastomzellen vor MPTP-Toxizität (Canet-Avilés et al. 2004), Dopamin (Lev et al. 2009), Rotenon und 6-Hydroxydopamin schützt (Lev et al. 2008).

Canet-Avilés et al. beobachtete, dass unter oxidativen Bedingungen ein Cysteinrest (Cys106) im Rahmen der katalytischen Triade zu Sulfonsäure oxidiert wird, welches eine Neuordnung des DJ-1 Proteins innerhalb des Mitochondriums zur Folge hat und so die Zelle gegen Zelltod schützt. Als katalytische Triade wird die spezielle Anordnung von drei Aminosäuren im aktiven Zentrum eines Enzyms bezeichnet. Im Falle der Cysteinprpoteasen sind dies Cystein/Histidin und Asparagin/Aspartat/Glutamin oder Glutamat.

Darüber hinaus wurde beobachtet, dass Cys106 Mutationen nicht in der Lage waren die Zelle vor dem Zelltod zu schützen, wenn sie oxidativem Stress ausgesetzt war. Dieser oxidative Stress wurde durch MPP+, einen mitochondrialen Komplex I Inhibitor, provoziert (Canet-Avilés et al. 2004).

Aus diesen Erkenntnissen können möglicherweise auch Parallelen zu der Beeinflussung der Entstehung einer Schizophrenie gezogen werden.

Wie genau nun DJ-1 vor oxidativem Stress schützt konnte bislang nicht abschließend geklärt werden, jedoch werden heute drei prinzipielle Mechanismen verfolgt:

1. Protektiv durch Beeinflussung von Signalwegen
2. Durch transkriptionelle Regulation
3. Durch seine mitochondrialen Funktionen

### **2.5.1.1 Beeinflussung der Signaltransduktion**

Ursprünglich wurde in der zytoprotektiven Funktion von DJ-1 gegen mitochondriale ROS eine direkte vernichtende Wirkung gegen ROS vermutet (Takahashi-Niki et al. 2004; Taira et al. 2004). Obwohl im Zentrum der dreidimensionalen Struktur ein hochsensitiver oxidierbarer Rest steht, wird mittlerweile davon ausgegangen, dass DJ-1 die kraftvollen antioxidativen Eigenschaften über die Beeinflussung und Regulierung antioxidativer Gene entfaltet (Zhou & Freed 2005; Clements et al. 2006). Dabei verändert DJ-1 sowohl pro- als auch antiapoptotische Signalwege über die Beeinflussung von extrazellulären Kinasen (Lev et al. 2009). (Abb. 5)

Der wichtigste Signalweg ist der pro-survival Phosphatidylinositol-3-kinase(PI3K)/Akt-Signalweg (Kim et al. 2005a; Yang et al. 2005). Durch DJ-1 wird der Antagonist des Signalwegs, Phosphatase PTEN supprimiert, was eine Erhöhung der Konzentration von PI3K bewirkt. Das Ergebnis ist eine vermehrte Phosphorylierung und verringerter Zelltod (Duronio 2008).

Darüber hinaus unterdrückt DJ-1 die Aktivität der proapoptotischen c-Jun N-terminalen Kinase-Signalwege (JNK/p38-MAP-Kinase) über zwei Angriffspunkte an jeweils zwei Kinasen: Zum einen über die Inaktivierung von mitogenaktivierter Proteinkinasekinasekinase Apoptosesignal-regulierende Kinase 1 (MAPKKK ASK1) (Junn et al. 2005; Görner et al. 2007), zum anderen durch unterdrücken der Aktivität der Proteinkinasen MAPKKK und MEKK1 (Mo et al. 2008).

Die Aktivierung von Rezeptorkinasen (RTK) durch Ligandenbindung von Wachstumsfaktoren an den Rezeptor führt zu einer Aktivierung von Akt1 durch dessen Phosphorylierung mit Hilfe der PDK. Im weiteren Verlauf der Signalkaskade werden mitogene sowie apoptotische Gene an-bzw. abgeschaltet.

*Phosphatase and tensin homolog* (PTEN) als Gegenspieler von DJ-1 dephosphoryliert PI-3,4,5-P3 und verhindert die Aktivität der Akt1-Kinase. DJ-1 beeinflusst seinerseits den zytoprotektiven Weg positiv. Sowohl die Inhibition der einen als auch der anderen MAPKKK führt zu einer geringeren Aktivität der p38<sup>MAPK</sup> und JNK-Signalwege und dem Schutz der Zelle vor apoptotischem Zelltod.

Junn et al. zeigten als Erste dass DJ-1, mit dem Letalprotein DAXX interagiert, indem es die ASK1 Aktivität durch Maskierung von daxx unterdrückt und dabei humane Neuroblasomzellen gegen oxidativen Stress schützt (Junn et al. 2005).

PK assoziierte Mutationen hoben die ASK1 suppressive Aktivität von DJ-1 auf und förderten somit eine Neurodegeneration aufgrund höherer ASK1 Aktivität (Waak et al. 2009; Görner et al. 2007). Damit wirkt DJ-1 zytoprotektiv durch Stimulation antiapoptotischer und Unterdrückung proapoptotischer Signalwege. ROS sind nicht ausschließlich zytotoxische Moleküle, sondern werden auch von Zellen in winzigen Mengen produziert, um die Signaltransduktion zum Beispiel über reversible Oxidation der katalytischen Cysteinreste zu erleichtern (Maher & Schubert 2000; Janssen-Heininger et al. 2008).

Der von Tumornekrosefaktor (TNF) und Toll-like-Rezeptoren (TLR)-Liganden aktivierte ASK1 Signalweg ist unter anderem auch ROS abhängig und es wurde kürzlich festgestellt das DJ-1 die TLR4 abhängige Signalweg in Astrozyten reguliert (Matsuzawa & Ichijo 2008).

Mullett und Hinkle fanden zudem heraus, dass der Knockdown von DJ-1 in Astrozyten kokultivierter Neurone sensitiver gegenüber oxidativem Stress, in dem Fall Rotenon, macht (Mullett & Hinkle 2009). Ein neuropathologischer Befund war hierbei eine starke Immunfärbung von DJ-1 in Astrozyten, welche aufgrund ihrer sternförmigen Morphologie als reaktive Astrozyten identifiziert wurden (Neumann et al. 2004; Bandopadhyay et al. 2004).

Reaktive Astrozyten haben im Gegensatz zu stützenden Astrozyten eine Schutzfunktion gegenüber den benachbarten Neuronen und verteidigen diese vor erhöhtem oxidativem Stress (Heales et al. 2004). Damit scheint das Gen auch an der Versorgung von Neuronen mit protektiven Substanzen durch Astrozyten Einfluss zu nehmen.

### **2.5.1.2 Transkriptionelle Regulation**

Ein weiterer Mechanismus von DJ-1 ist die Einwirkung auf die transkriptionelle Regulation, die bereits früh in Zusammenhang mit der männlichen Fruchtbarkeit gebracht wurde (Takahashi et al. 2001; Niki et al. 2003).

Beim Schutz der Zelle gegen oxidativen Stress kommt die Funktionsweise von DJ-1 zum Einsatz, da es transkriptionell die antioxidativen Gene hochreguliert. Dabei wurde im Wesentlichen die Erhöhung der Glutathion-Konzentration durch die verstärkte Expression des limitierenden Enzyms Glutamat-Cystein-Ligase erforscht (Zhou & Freed 2005; Liu et al. 2008a). Während oxidativem Stress sorgt DJ-1 dafür, dass Glutathion verstärkt synthetisiert wird, indem es sowohl die Transkriptionsrate, als auch die Aktivität des für diesen Prozess erforderlichen Enzyms GCL erhöht.

Glutathion ist ein weitverbreitetes Thiol im menschlichen Körper und spielt eine entscheidende Rolle bei der Aufrechterhaltung des Redox-Gleichgewichtes, wie auch den Schutz vor Oxidierung in der Zelle (Dalton et al. 2004). In vielen Zellen führt daher ein Verlust von Glutathion zu oxidativem Stress und erhöhter Zytotoxizität, wohingegen die Erhöhung der GSH Aktivität zu erhöhtem Schutz führt (Woods et al. 1999). Insbesondere bei dopaminergen Neuronen spielt GSH eine besondere Rolle, wo es ROS und die Menge an oxidierten Proteinen reduziert.

Weiterhin scheint DJ-1 p53 positiv zu regulieren (Shinbo et al. 2005), während es auf Pyrimidin-tract-Bindungsprotein-assoziiierter Splicingfaktor (PSF) in umgekehrter Weise agiert (Xu et al. 2005).

### **2.5.1.3 Mitochondriale Funktionsbeeinflussung**

Canet-Avilés et al. beschrieben die mitochondrialen oxidationsabhängigen Translokationen von DJ-1 an die äußere Mitochondrienmembran und die damit zytoprotektiven Eigenschaften gegen oxidativen Stress.

Dabei sind die zentralen Cys106 Residuen essentiell für diese Bewegungen. Eine C106A Mutation von DJ-1 unterbindet diesen zytoprotektiven Effekt gegen das mitochondriale Toxin MPP<sup>+</sup> in Neuroblastom Zellen (Canet-Avilés et al. 2004).

Es wurde gezeigt, dass DJ-1 einige Einflüsse auf die Funktion, als auch auf die Morphologie von Mitochondrien hat. So zeigt das Fehlen von DJ-1 nicht nur eine veränderte Morphologie der Mitochondrien auf, sondern auch zu einer stress-induzierten Fragmentierung dieser (Silvestri et al. 2005; Irrcher et al. 2010).

Zusätzlich zu den Funktionen als Redox Sensor und Antioxidans zur Sicherung der mitochondrialen Homöostase (Kim et al. 2005b; Andres-Mateos et al. 2007; Taira et al. 2004) wurde entdeckt, dass DJ-1 die mitochondriale Qualitätskontrolle beeinflusst (Vasseur et al. 2009).

Weiterhin wurde gezeigt, dass das Fehlen von DJ-1 zu einer 1,4fach-gesteigerten ROS (vor allem Wasserstoffperoxid) Produktion in Mitochondrien führt. Dieses ist vornehmlich auf den Komplex I zurückzuführen, da Komplex I Inhibitor Rotenone nicht zu einer weiteren Steigerung von ROS führte (Irrcher et al. 2010).

### **2.5.1.4 Weitere Mechanismen**

Allerdings ist der exakte Mechanismus, wie DJ-1 die Regulation antioxidativer Gene beeinflusst, nicht genau bekannt. Es wird vermutet, dass verschiedene Mechanismen daran beteiligt sind.

Clements et al. zeigte in diesem Kontext, dass DJ-1 den antioxidativen Transkriptionsfaktor nukleären Faktor *erythroid-derived 2 related factor (Nrf2)*, den Hauptregulator der antioxidativen Transkription stabilisiert (Clements et al. 2006).

Offenbar verhindert DJ-1 durch einen noch ungeklärten Prozess die Bindung der Ubiquitinligase Keap1 an Nrf2. Dies unterdrückt die Ubiquitinierung und den proteosomalen Abbau von Nrf2. Zudem kann DJ-1 als transkriptionaler Koaktivator wirken und RNA binden (van der Brug et al. 2008; Xu et al. 2005). DJ-1 hat zudem auch eine spezifische Funktion in dopaminergen Neuronen als transkriptioneller Regulator des Enzyms Tyrosinhydroxylase (Zhong et al. 2006).

Zusätzlich zu den beschriebenen Wirkungsweisen verfügt DJ-1 über weitere zytoprotektive Eigenschaften. So wirkt DJ-1 unter bestimmten Redox-Bedingungen als Chaperon für  $\alpha$ -Synuclein und vermindert dessen Toxizität (Shendelman et al. 2004; Batelli et al. 2008). Die Funktion kommt der verminderten Expression von  $\alpha$ -Synuclein zu, welches in hohen Dosen in der Zelle aggregiert und zum Zelltod führt (Kaul et al. 2005; Alves Da Costa et al. 2002). Dieses Phänomen steht offenbar in Verbindung mit einer Steigerung der heat shock protein 70, Hsp70 Konzentration, welche bei einer L166P Mutation nicht zu finden ist (Zhou & Freed 2005). Hsp70 bindet an die  $\alpha$ -Synuclein Mikrofibrillen wodurch die Aggregation verhindert wird und die Toxizität sinkt (Dedmon et al. 2005).

Hsp70 wird wiederum von der nativen DJ-1 Präsenz hochreguliert. Dieses geschieht ohne den Einfluss auf Glutathion oder oxidierten Bedingungen. Dj-1 kann daher direkt oder auch indirekt als Chaperone auf die Proteinaktivitäten einwirken (Zhou & Freed 2005). Darüber hinaus kommt es zu einer Verringerung der Menge der Dopamintransporter in dopaminergen Neuronen, was einen regulatorischen Mechanismus bei der Dopaminausschüttung nahelegt (Goldberg et al. 2005; Manning-Boğ et al. 2007).

DJ-1 wirkt somit als redox-sensitiver Chaperon, als Sensor für oxidativen Stress und schützt Neuronen vor oxidativem Stress und Zelltod.

Eine besondere Bedeutung kommt auch der Beeinflussung des NMDA Rezeptors zu. Wie zahlreiche Studien zeigen, ist eine NMDAR gesteuerte Neurotoxizität in verschiedene zerebrale und psychiatrische Erkrankungen involviert. Diese schließen auch Schizophrenie und PK ein (Koutsilieri & Riederer 2007; Krystal et al. 1994).

Die kürzlich erschienene Studie von Chang et al. erörtert die Regulation des NMDARs durch DJ-1 (Chang et al. 2010). Demnach reguliert DJ-1 die NMDAR unterstützte Aktivität herunter und zwar durch die Inaktivierung der Untereinheiten des NMDAR, NR2ACNR und NR2B. Es wurde gezeigt, dass der Knock-out von DJ-1 die Expression von PTEN unterstützt, welche nicht nur die Funktion von NR2BCNR potenziert, sondern auch die PINK1 Expression erhöht, welche zu gesteigerter Aktivität von NR2ACNR führt.

Beide Untereinheiten sind proportional verantwortlich für neuronalen Zelltod. Vermittelt wird dieser Prozess durch den DJ-1 / PTEN / NR2BCNR und DJ-1 / PTEN / PINK1 / NR2ACNR Signalweg. Die Suppression von DJ-1 führte zu einem neuroprotektiven Gegeneffekt, um die DJ-1 Dysfunktion und Zelltod zu kompensieren und zwar über die Aktivierung des PTEN / PINK1 / NR2ACNR Zell-überlebens-Signalwegs, während ein aktiv gesteuerter NMDA-induzierter Zelltod zur Überaktivierung des PTEN / NR2BCNR abhängigen Zelltod Signalwegs führte (Chang et al. 2010).

Daher kann daraus geschlossen werden, dass sowohl Pink1 als auch DJ-1 an der Regulierung des NMDAR gesteuerten Zelltods beteiligt sind.

Abbildung 5 zeigt die Signalwege innerhalb der Zelle und die Beteiligung von DJ-1 an den Prozessen.

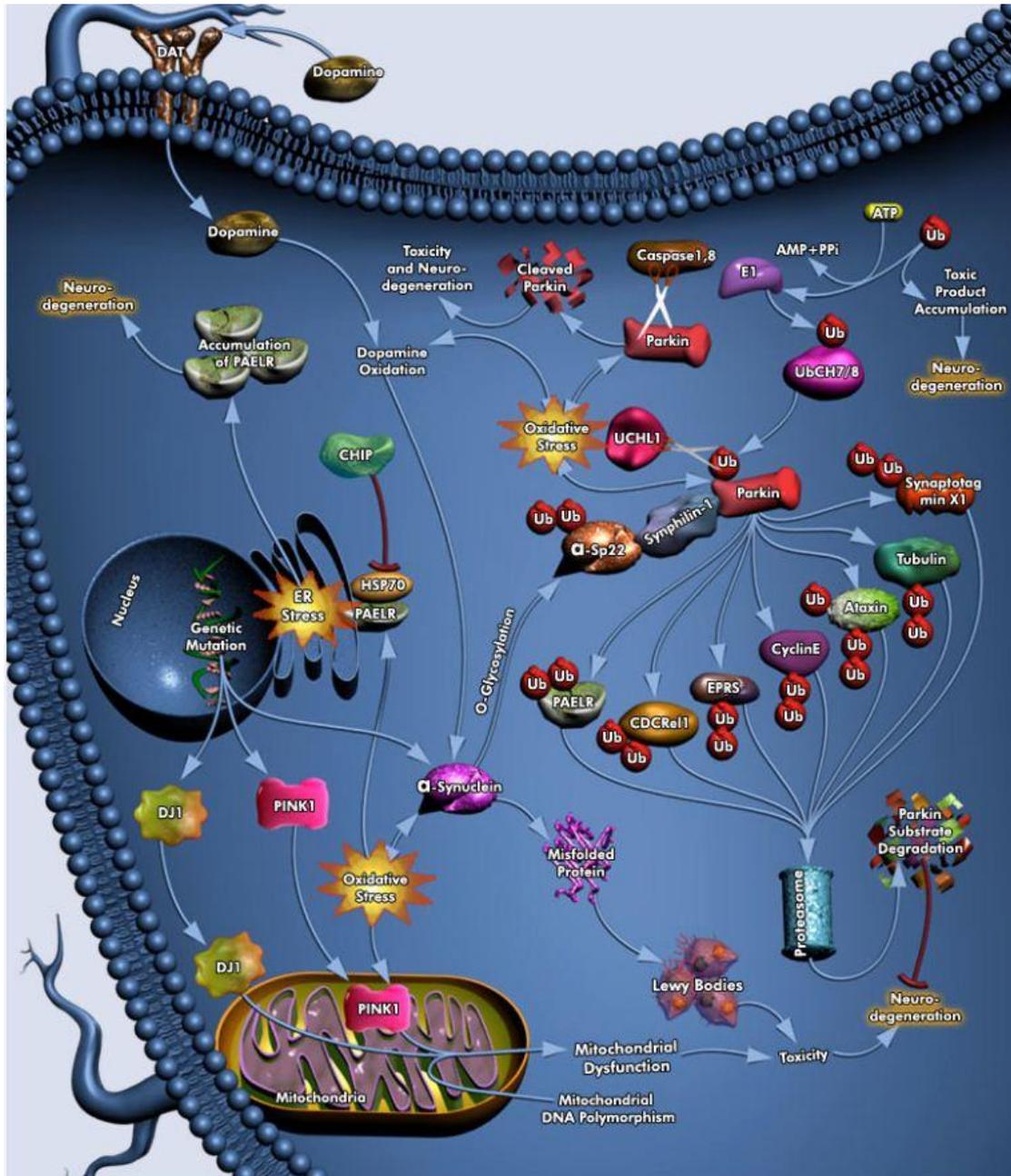


Abbildung 5 Schematische Darstellung der DJ-1 Funktion und Interaktionen in der Zelle (Qiagen GmbH 2009)

## 2.5.2 Tiermodelle mit DJ-1

Um die Konsequenzen eines DJ-1 Verlustes *in vivo* weiter zu erforschen, bediente man sich zahlreicher Tiermodelle in Mäusen, Drosophilafliegen und Zebrafischen.

### Mäuse

Kim et al. fanden heraus, dass sich DJ-1 Knock-out Mäuse unter basalen Bedingungen normal entwickeln, über eine normale Anzahl an dopaminergen Neuronen in der Substantia nigra verfügen und sich bis zum Alter von 13 Monaten keine nennenswerten Verhaltensauffälligkeiten einstellen (Kim et al. 2005b).

Allerdings ergaben *in vitro* Studien, dass primäre kortikale Neuronen der Knock-out Mäuse eine erhöhte Sensibilität gegenüber oxidativem Stress zeigen als Kontrollneuronen.

Nach einer Exposition gegenüber dem mitochondrialen Toxin, 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin (MPTP), zeigen daher knock-out Mäuse eine signifikante Abnahme der Gesamtaktivität und einen Verlust der striatalen dopaminergen Neurone verglichen mit den Kontrollen, die aber durch DJ-1 exprimierende Adenoviren wieder aufgefangen werden konnte (Kim et al. 2005b; Manning-Boğ et al. 2007). Daraus wurde geschlussfolgert, dass DJ-1 gegen neuronalen oxidativen Stress schützt, wobei allerdings ein Verlust von DJ-1 nicht ausreicht, um eine PK hervorzurufen (Paterna et al. 2007).

Die Sensitivität gegenüber MPTP wird dabei durch eine exzessive Dopamin Wiederaufnahme erklärt, welche durch die veränderte Aktivität der Domaintransporter zustande kommt, wodurch der neurotoxische Metabolit MPP<sup>+</sup> selektiv in dopaminerge Neuronen wieder aufgenommen wird (Chen et al. 2005; Manning-Boğ et al. 2007; Goldberg et al. 2005; Storch, Ludolph & Schwarz 2004).

Zusätzlich wurde gezeigt, dass DJ1 am *in-vivo* Signal-Transduktionsweg des Dopamin D2- Rezeptor-Subtyps bei Mäusen beteiligt ist (Goldberg et al. 2005).

Ein ähnlicher Versuchsaufbau und Ergebnis war gegenüber dem Parkinsontoxin Paraquat zu finden (Yang et al. 2007).

Ebenfalls wurde eine schützende Wirkung gegenüber Wasserstoffperoxid in dopaminergen Neuronen (Martinat et al. 2004) und Wildtyp-Mausfibroblasten (MEF) im Vergleich zu Dj-1<sup>-/-</sup>-MEF gefunden (Görner et al. 2007).

Andres-Mateos et al. hingegen stellten fest, dass Mäuse mit einer Deletion von Exon 2 und 3 keine signifikanten Veränderungen im striatalen dopaminergen System aufwiesen.

Dagegen wiesen ihre isolierten Mitochondrien eine zweifache Konzentration von Wasserstoffperoxid und eine Verminderung der mitochondrialen Aconitase ACO2 auf. Ältere mutierte Mäuse zeigten eine kompensatorische Hochregulierung der Superoxid-Dismutase SOD1 und Glutathion-Peroxidase GPX1 auf, welche Wasserstoffperoxid durch Oxidation von Cys106 eliminiert (Andres-Mateos et al. 2007).

In vitro und in vivo zeigten Aleyasin et al. dass DJ-1 gegen Ischämien und Excitotoxizität nach einem Schlaganfall schützend wirkt (Aleyasin et al. 2007).

DJ-1 knock-out Mäuse waren demnach signifikant empfindlicher bei glutamat-induzierter neuronaler Exzitotoxizität gegenüber Kontrollen. Eine Expression von DJ-1 wies eine schützende Wirkung auf. Auch wurden oxidative Stressmarker nach einem Schlaganfall reduziert. Damit unterstellte Aleyasin dass DJ-1 auch in anderen neuropathologische Prozesse involviert ist außer bei Parkinson (Aleyasin et al. 2007; Yanagisawa et al. 2008).

2010 zeigten Guzman et al. den Bezug zur mitochondrialen Membran und deren L-Typ Calciumkanäle. Es zeigte sich, dass bei transgenen Mäusen welche eine Redox-sensitive Variante eines fluoreszierenden Proteins exprimierten, an den Kanälen während der normalen Funktion oxidativer Stress bildeten. Dieser ist typisch für die Region der empfindlichen Substantia nigra pars compacta (SNc) (Guzman et al. 2010).

Dieser Stress ruft normalerweise Schutzmechanismen hervor, wie z.B. transiente milde mitochondriale Depolarisation und/oder Entkoppelung des Systems mittels bestimmter Proteine. Knock-out von DJ-1 reguliert die Expression von zwei Entkoppelungsproteinen herunter, sodass die Entkoppelung entfiel und die Mitochondrien zunehmend oxidativem Stress ausgesetzt waren (Guzman et al. 2010).

### **Drosophilafliegen**

Weitere Studien mit *Drosophila melanogaster* haben einen großen Beitrag zur Validierung der Schutzfunktion von DJ-1 bei oxidativem Stress erbracht. Bei Fruchtfliegen existieren zwei orthologe DJ-1a und b, hierbei entspricht DJ-1b weitgehend der humanen Form. Unter basalen Bedingungen kommt es zu keiner außergewöhnlichen Neurodegeneration. Der DJ-1 knock-out führt jedoch auch hier zu einer spezifischen Sensitivität gegenüber tödlichem oxidativen Stress.

Eine weitere Mikrodeletion hat darüber hinaus auch Einfluss gegenüber Paraquat. Die gezielte und spezifische Herunterregulation von DJ-1a führte zu einer dopaminergen Neurodegeneration durch Attenuierung des phosphatidylinositol 3-kinase-Akt Signalwegs (Menzies et al. 2005; Meulener et al. 2005; Park et al. 2005; Yang et al. 2005)

Zudem bestätigten Meulener et al., dass DJ-1 bei oxidativem Stress in saure Regionen wechselt und dass der Cys104 Rest (bei Menschen übertragen Cys106) das Zentrum für die Aktivierung von DJ-1 bildet (Meulener et al. 2006).

### **Zebrafische (*Danio rerio*)**

Die DJ-1 Expression bei Zebrafischen setzt früh in der Entwicklung ein und findet sich in dopaminergen Neuronen (Bai et al. 2006). Ähnlich wie bei Mäusen, zeigen sich unter basalen Bedingungen keine nennenswerten Veränderungen.

Ein knockout hingegen erhöht die Sensitivität gegenüber oxidativem Stress, welches auf die veränderte Genexpression und gestörte p53 Apoptose zurückzuführen ist (Bretaud et al. 2007).

### **2.5.3 Genetische Abweichungen von DJ-1 und Verlust der Funktion**

Einige Mutationen wurden identifiziert, die auf dem Gen zu bestimmten Erkrankungen führen können. Allerdings sind Mutationen in DJ-1 allgemein sehr selten und sind z.B. für nur 1-2% aller Parkinsonfälle verantwortlich (Abou-Sleiman et al. 2006).

Die bislang wohl schädlichste Mutation, eine Punktmutation, ist ein Leucin nach Prolin Austausch in Position 166 (L166P), welche in der G-Helix lokalisiert ist (Bonifati et al. 2003a). Durch den Austausch kommt es zu einem Bruch der Helix und der Zerstörung der Sekundärstruktur der G-Helix und damit auch des gesamten C-Terminus des Gens.

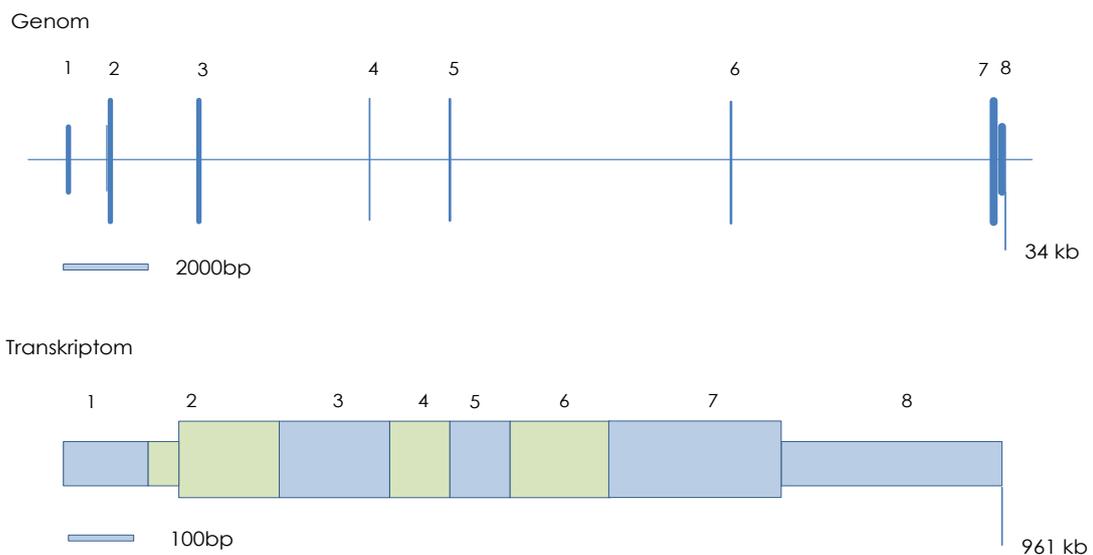
Der C-Terminus ist für die Dimerisierung wichtig und führt damit zum funktionalen Verlust des gesamten Proteins, da davon ausgegangen wird, dass DJ-1 nur als Dimer seine Funktion entfaltet (Huai et al. 2003; Tao & Tong 2003; Wilson et al. 2003; Malgieri & Eliezer 2008; Görner et al. 2004).

Es wird daher angenommen, dass ein falsch gefaltetes und somit instabiles DJ-1 Protein DJ1L166P, die Zytotoxizität durch Überforderung des zellulären Degradierungssystem und eine ungewöhnliche Zelllokalisierung bewirkt (Moore et al. 2003). Diese L166P Mutation hat auch einen entscheidenden Einfluss auf die oben beschriebene Funktion von Glutathion.

Eine weitere aggressive Mutation ist die Deletion von Exon 1-5 (Dekker et al. 2003).

Beide Mutationen bewirken einen Funktionsverlust des Proteins der in den typischen Merkmalen einer Parkinsonkrankheit resultiert.

Es bestehen weitere parkinsonasoziierte Mutationen mit weniger eindeutigen Effekten wie z.B. die Mutationen M26I (Packungsdefekte), A104T (Einlagerung eines H<sub>2</sub>O-Moleküls), und E163K (Ionenbindung), die jeweils eine minimale Veränderung der Kristallstruktur und eine thermodynamische Instabilität herbeiführen (Malgieri & Eliezer 2008; Lakshminarasimhan et al. 2008).



**Abbildung 6 Darstellung von PARK7 auf genomischem und transkriptomischem Level. Exons sind farblich differenziert (NM\_007262.4) (Nuytemans et al. 2010). (senkrechte Striche/ Boxen = Exons, Verbindungslinien = Introns)**

Nach der die von Bonifati et al. beschriebene Mutation auf Chromosom 7 eine autosomal-rezessiven PK auslöst, konnten kurz darauf zwei weitere DJ-1 Mutationen im homozygoten Zustand bei blutsverwandten Familien in den Niederlanden und Italien identifiziert werden. Im Anschluss wurden auch Mutationen im compound-heterozygoten und heterozygoten Zustand auch bei Patienten anderer Herkunft gefunden (Abou-Sleiman et al. 2003; Djarmati et al. 2004; Hague et al. 2003).

Dabei wurde gezeigt, dass diese Mutationen die Krankheitsempfindlichkeit bei *Early Onset Parkinson Disease (EOPD)* erhöhen (Abou-Sleiman et al. 2003; Hague et al. 2003). Bisher sind jedoch keine Studien zur Häufigkeit von DJ-1-Mutationen bei Patienten mit spätem Erkrankungsbeginn durchgeführt worden.

Die Häufigkeit von DJ-1 Mutationen liegt bei 1-2% in der Allgemeinbevölkerung, jedoch wurde noch eine Reihe weiterer Mutationen und Polymorphismen, die nicht eindeutig mit der Parkinson-Krankheit und auch nicht mit einer Schizophrenie assoziiert sind, gefunden.

Interessanterweise wurde in den durchgeführten Studien bei einigen Patienten mit L166P und M26I Mutationen auch psychiatrische Symptome mit psychotischen Episoden und Angstzuständen gefunden, welche möglicherweise auf eine weitreichendere Bedeutung der Punktmutationen schließen lässt (Bonifati et al. 2003b; Abou-Sleiman et al. 2003).

### 3 Fragestellung

Nach den heutigen durchgeführten Studien und den Erkenntnissen daraus, gilt ein genetischer Einfluss bei der Entstehung einer Schizophrenie als unbestritten, jedoch bleiben die genauen Entstehungsmechanismen und der Einfluss der potentiellen Suszeptibilitätsgene auf molekulare Mechanismen weiterhin ungeklärt.

Fall-Kontroll-Assoziationsstudien mit einer ausreichenden Größe der Individuenzahl können helfen, auf molekulargenetischer Ebene nach solchen Genen zu forschen, die rudimentäre Effekte auf die Entstehung und Ausprägung der Krankheit haben könnten.

Es wurde herausgefunden, dass PARK7 über verschiedene Mechanismen neurophysiologische Signalübertragungswege innerhalb der Zelle beeinflusst und unter anderem zu oxidativem Stress und Zelltod führen kann.

Darüber hinaus hat es Einfluss auf die mitochondriale Funktion und beeinflusst sowohl den dopaminergen Neurotransmitterweg als auch den Glutamatergen. Dabei spielt der NMDA Rezeptor eine zentrale Rolle.

PARK7 auf Chromosom 1p36 wurde zwar bislang in der Parkinsonforschung gründlich untersucht, jedoch noch nicht auf den Zusammenhang des Einflusses einer Schizophrenie.

Auf diesen Annahmen beruhend, scheint das PARK7 Gen und die entsprechenden Polymorphismen möglicherweise einen genetischen Einfluss auf die Prädisposition einer Schizophrenie zu haben.

Ziel der vorgelegten Arbeit war es, zu prüfen, ob ein Zusammenhang zwischen acht ausgewählten Polymorphismen rs161807, rs178932, rs225092, rs225119, rs226242, rs226251, rs226258, rs4908488 und Haplotypen des Gens PARK7 und Schizophrenie besteht.

## 4 Material und Methoden

### 4.1 Vorbedingungen der Studie

#### 4.1.1 Art der Studie

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine Fall-Kontroll-Assoziationsstudie, bei der an einer Stichprobe von insgesamt 1.319 Kontrollprobanden und 510 Schizophreniepatienten die beschriebenen SNPs des PARK7 Gens genotypisiert wurden, um eine Assoziation zur Schizophrenie zu überprüfen.

Mit den vorliegenden SNPs soll ein Beitrag zur Identifizierung solcher Genorte und Loci geleistet werden.

##### 4.1.1.1 Auswahl der SNPs

Das Ziel war hierbei SNPs mit möglichst hohem informativem Gehalt zu genotypisieren.

Neben der weitläufigen Recherche nach bereits veröffentlichten SNPs PubMed (NCBI, 2011) wurden die SNPs nach folgenden Kriterien in absteigender Reihenfolge ausgesucht:

1. Polymorphismen, die exonisch kodieren und die zu einem Austausch der Aminosäure in der Proteinsequenz führen.
2. Funktionelle Polymorphismen in der Promotorregion des Gens.
3. Exonische Polymorphismen, die nicht zu einem Austausch der Aminosäure führen („stille Mutation“).

Darüber hinaus wurde versucht, die Gene mit Hilfe von Haplotype Tag SNPs (htSNPs) möglichst komplett abzudecken. Diese sind Polymorphismen in einer Genomregion, die in Kopplungsungleichgewicht (LD) mit anderen SNPs in dieser Region liegen (International HapMap Consortium 2005).

Sind die Allele der htSNP's bekannt, kann auf alle Allele der mit diesen SNPs im Ungleichgewicht liegenden Polymorphismen rückgeschlossen werden. So kann mit einer minimalen Anzahl an genotypisierten SNPs ein maximaler Informationsgehalt erzielt werden. Idealerweise wurden htSNP's mit einem LD von 1,0 mit möglichst vielen weiteren Polymorphismen und einer minoren Allelfrequenz (MAF) von mindestens 0,25 ausgesucht.

Um eine größtmögliche Abdeckung des Gens zu gewährleisten wurden die Einzelnukleotidpolymorphismen auch nach der physikalischen Position einbezogen. Dabei wurde auf eine gleichmäßige chromosomale Verteilung der funktionellen, exonischen und htPolymorphismen geachtet.

### **4.1.2 Durchführung**

Die Studie wurde nach Zustimmung der lokalen Ethikkommission in der Arbeitsgruppe molekulare und klinische Neurobiologie unter der Leitung von Prof. Dr. Rujescu an der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Universität München, durchgeführt. Die Auswahl der Probanden erfolgte randomisiert aus der Allgemeinbevölkerung Münchens.

Alle eingeschlossenen Probanden wurden auf freiwilliger Basis untersucht und im Vorfeld in einem persönlichen Gespräch ausführlich über Art, Inhalt und Zielsetzung der Studie aufgeklärt.

Nach weiterer Information über die anonymisierte Verwendung ihrer erhobenen Daten und der verwendeten Blutproben wurde eine Einverständniserklärung vom Probanden eigenhändig unterschrieben.

Diese Einwilligung konnte jederzeit von den eingeschlossenen Personen widerrufen werden. Die Interviews fanden dann in den Räumlichkeiten des Instituts statt.

## **4.2 Studienteilnehmer und Rekrutierung**

### **4.2.1 Patienten**

Im ersten Schritt wurde eine Vielzahl von Patienten mit lifetime-diagnostizierter Schizophrenie aus den vorliegenden klinikinternen Datenbanken telefonisch kontaktiert und die Eckpunkte des Ablaufs und Zielsetzung der Studie erklärt. Hier wurde auch die Abstammung der Person abgeklärt, da ausschließlich Personen kaukasischer Herkunft für die Studie berücksichtigt wurden.

Nach prinzipiellem Interesse wurde der jeweilige Patient in die Klinik eingeladen, um eine ausführliche Anamnese durchzuführen.

Insgesamt wurden auf diese Weise 510 Patienten, die mit einer Schizophrenie diagnostiziert waren, und 1.319 Kontrollprobanden eingeschlossen.

Daraus ergaben sich 937 (51,2 %) männliche und 892 (48,8 %) weibliche Personen mit einem Mittelwert der Alterspanne von 37,73 Jahren (Standardabweichung 11,33) für Patienten und 46,26 (SD 15,7) für Probanden (s. Tabelle 7),

**Tabelle 7 Soziokulturelle Variablen der Kontroll- und Patientengruppe**

Stichprobe Alter MW (SD)		Geschlecht N (%)		Gesamt	Schulabschluss N (%)		
		männlich	weiblich		Hauptschule	Realschule	Abitur
<b>Kontrollen</b>	46,26 (15,7)	605 (45,9)	714 (54,4)	1.319	296 (22,5)	433 (32,8)	590 (44,7)
<b>Patienten</b>	37,7 (11,3)	332 (65,1)	178 (34,9)	510	219 (42,9)	131 (25,7)	160 (31,4)
<b>Gesamt</b>		<b>937(51,2)</b>	<b>892 (48,8)</b>	<b>1.829</b>	<b>515 (28,2)</b>	<b>564 (30,8)</b>	<b>750 (41,0)</b>

Für die weitere Analyse der Marker wurden vier Kohorten gebildet die gegeneinander verglichen wurden um mögliche signifikante Unterschiede festzustellen. Diese waren:

- Patienten vs. Kontrollen
- Patienten mit schizophrenen Erstgradangehörigen vs. Kontrollen
- Patienten mit psychiatrisch erkrankten Angehörigen vs. Kontrollen
- Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen vs. Kontrollen

#### 4.2.1.1 Anamnese

Beim ersten Untersuchungstermin wurde die Anamnese (Anamnese 1+2) mittels standardisierter Anamnesebögen durchgeführt und allgemeine Daten sowie Schullaufbahn, Familienstand, Abstammung, die allg. Lebensgeschichte oder besondere Lebensereignisse, Raucherstatus, Einnahme von Medikamenten-, Alkohol- oder Drogenmissbrauch, schulische und beruflich Ausbildung und besonders detailliert somatische und psychiatrische Vorerkrankungen – (stationäre Aufenthalte, Suizidversuche etc.) vor allem Angststörungen, affektive Störungen, Essstörungen und Erkrankungen aus dem schizophrenen Krankheitsfeld erörtert.

Auch mögliche Komplikationen während der Schwangerschaft oder eigenen Geburt, inklusive Kinderkrankheiten oder schwerer Unfälle, insbesondere mit Verletzungen des Kopfes und Bewusstseinsverlust (Schädel-Hirn-Trauma), wurden erfragt.

Darüber hinaus wurden insbesondere im Hinblick auf biologische Verwandte zweiten und dritten Grades Informationen auf psychiatrische und neurologische Erkrankungen erhoben.

Alle beschriebenen Informationen wurden mit Hilfe der zwei Anamnesebögen (ANA 1 und ANA 2) erfasst.

Sofern keine Anhaltspunkte für die definierten Ausschlusskriterien vorlagen, wurde der Proband für ein ausführliches Interview in die Klinik eingeladen.

Sofern von beiden Parteien keine Einwände für die weiterführenden Untersuchungen bestanden, wurde die Einverständniserklärung unterschrieben und mit dem strukturierten klinischen Interview SKID I begonnen.

#### **4.2.1.2 Differentialdiagnosen und Ausschlusskriterien**

Um eine möglichst homogene und enge diagnostische Patientenkohorte zu erhalten, wurden differentialdiagnostisch mögliche Erkrankungen des ähnlichen Formenkreises sondiert.

Ausschlusskriterien waren an der Stelle das Vorliegen einer differentialdiagnostischen affektiven Störung mit psychotischen Merkmalen, schizoaffektiven oder schizophrenieformen Störung sowie zu kurze oder nicht näher bestimmte Symptome, die im DSM-IV nicht zugeordnet werden konnten.

Weiterhin wurde ausgeschlossen, wenn bei Diagnosestellung der Krankheit oder davor externe Faktoren wie Komorbiditäten (Epilepsie, Autoimmun-, Somatische-, Stoffwechselerkrankungen), Alkohol-, Medikamenten- oder Drogenkonsum/missbrauch, oder andere organische Ursachen vorlagen, welche für den Ausbruch der Krankheit ursächlich sein hätten können. Darüber hinaus wurden aus Sicherheitsgründen Personen ausgeschlossen, die positiv auf HIV, Hepatitis B oder C getestet waren.

Erstmanifestation und Exazerbation durften nicht auf den Konsum von psychotropen Substanzen oder Drogen im Allgemeinen zurückzuführen sein.

Auch eine neurologische oder andere psychiatrische oder medizinische Erkrankung nach DSM-IV hätte an dieser Stelle ein Ausschlusskriterium dargestellt.

Es wurde darauf geachtet, dass keine autistische Störung oder weitreichende Entwicklungsstörung (Hypoxie, Infektion bei Geburt) und dass kein Schädel-Hirn-Trauma nach Unfall vorlag.

### 4.2.1.3 SKID - Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV

Das klinische Interview zur Exploration (SKID) gemäß der Klassifikation des *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV)* der *American Psychiatric Association* in der vierten Revision, 1994 besteht aus 2 Teilen (Wittchen 1997).

Das SKID I (klinische Version) dient der Erfassung der DSM-IV Achse I (psychopathologische) Störungen und wurde als halbstrukturiertes, klinisches Interview zur Überprüfung der vorliegenden Diagnose einer Schizophrenie nach den aktuellen DSM-IV Kriterien (Saß & Houben 2001), sowie der nochmaligen Erfassung der Symptomatik und des Verlaufs der Erkrankung bis zu dem Interviewtag durchgeführt.

Für das Vorliegen einer Schizophrenie fordert das DSM-IV wie bereits in Kapitel 2 beschrieben mindestens zwei der fünf Symptome über den überwiegenden zeitlichen Teil eines Monats. Bei bizarren Wahnvorstellungen oder akustischen Halluzinationen reicht ein Merkmal aus.

Diese sollten dann über einen Zeitraum von mindestens sechs Monaten präsent sein, wobei die Symptome einer Akutsymptomatik im Sinne einer positiven Produktivität mindestens einen Monat bestehen müssen.

Darüber hinaus muss ein deutlicher negativer Unterschied zu früheren Funktionsniveaus in mindestens einem Funktionsbereich, wie Arbeit oder sozialen Beziehungen vorliegen.

Die Ausprägung wurde anhand des SKIDS sowohl im jetzigen Stadium erfasst („Derzeit“) als auch im Zeitraum des schwerwiegendsten Vorliegens („Schlimmste Zeit“) und in den phänomenologischen Subtypus kataton, undifferenziert paranoid und hebephren (desorganisiert) unterteilt.

Die Struktur des SKID sieht vor, im Hinblick auf den zeitlichen Verlauf das Alter der Prodromalphase bzw. bei Erstmanifestation, die Anzahl der Episoden, sowie den aktuellen Remissionsgrad zu erfassen.

Darüber hinaus wurde unterschieden zwischen einer einzelnen Episode und /oder mehreren Episoden, kontinuierlichen und unspezifischen Verläufen der Erkrankung. Anhand der in Tabelle 8 dargestellten Sektionen wurden eventuelle Komorbiditäten identifiziert.

Die unterschiedlichen Sektionen des SKID wurden dann nach den Beurteilungskriterien bewertet und ausschließlich dann als Diagnose kodiert, wenn sie nicht besser durch eine andere psychische Störung (Schizophrenie) erklärt werden konnten.

**Tabelle 8 Sektionen des SKID I**

<b>Sektion</b>	<b>Erfassungsmerkmal</b>
<b>A</b>	Affektiv (depressive, manische, hypomane und dysthyme Symptome) noch keine Diagnosestellung (außer Dysthymie)
<b>B</b>	Psychotisch (Wahnvorstellung, Halluzination)
<b>C</b>	Differenzialdiagnosen psychotisch (Schizophrenie Subtypen, schizoaffektive Störung, Wahn)
<b>D</b>	Differenzialdiagnosen affektiv (Major Depression, Bipolar I+II, postpsychotisch)
<b>E</b>	Konsum von Alkohol und psychotropen Substanzen; Abklärung der Abhängigkeit und Missbrauch
<b>F</b>	Angststörungen, Panikstörungen, Phobien, Zwangsstörungen, posttraumatischen Belastungsstörungen und Anpassungsstörungen
<b>G</b>	Somatoforme Störungen (z. B.: Somatisierungsstörung, Hypochondrie oder Körperwahrnehmungsstörungen, Schmerzstörung)
<b>H</b>	Essstörungen (Anorexia nervosa, Bulimia nervosa, etc.)
<b>I</b>	Anpassungsstörungen (depressive Verstimmung, ängstliche Gehemmtheit, Verhaltensstörung)
<b>J</b>	Optionale Störungen (Stressstörungen, manische Episode)

Die aktuelle Leistungsfähigkeit, sowie die Leistungsfähigkeit während der schlimmsten Phase der Erkrankung wurden dann abschließend durch die GAS-Skala (0-100 Punkte) eingeschätzt. Dabei wurden auch aufgetretene Probleme des Patienten im sozialen und familiären Umfeld, bei der Arbeit oder der allgemeinen Alltagsbewältigung erläutert.

Das SKID II (Wittchen 1997) diente der Exploration der zehn DSM-IV auf Achse II und den zwei im Anhang des DSM-IV benannten Persönlichkeitsstörungen.

SKID II ist ein zweistufiges Verfahren, welches aus einem Fragebogen mit den jeweiligen Kriterien als Screening für die Merkmale und einem nachfolgenden Interview, in welchem dann die Fragen erläutert werden, die im Fragebogen mit „ja“ angekreuzt wurden, besteht.

Sollte sich im Verlauf ein Hinweis auf das Vorliegen einer angegebenen Persönlichkeitsstruktur vorliegen, führte dies zum Ausschluss.

Diese sind:

**Tabelle 9 Merkmale des SKID II**

Selbstunsicher	Dependente
Zwanghaft	Negativistisch
Depressiv	Paranoid
Schizotypisch	Schizoid
Narzisstisch	Antisozial
Histrionisch	Borderline

#### 4.2.1.4 PANSS

Das nächste formalisierte psychiatrische Interview welches nach Anamnese 1+2 und SKID mit den Patienten angewendet wurde, ist die Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) (Kay et al 1987).

Diese von Kay et al. entwickelte Skala dient im Wesentlichen dazu, 30 Merkmale in drei Achsen (Positiv-, Negativ und Allgemeinpsychopathologie) auf einer siebenstufigen Skala zu bewerten:

1 (extrem ausgeprägt) -7 (nicht vorhanden) wiederum in Derzeit und schlimmste Zeit.

**Tabelle 10 Symptome der PANSS (Kay et al 1989)**

Positivskala	Negativskala	Allgemeinpsychopathologie	
Halluzinationen	Mangelnder affektiver Rapport	Schuldgefühle	Mangelnde Aufmerksamkeit
Wahnideen	Affektverflachung	Sorge um die Gesundheit	Ungewöhnliche Denkinhalte
Erregung	soziale Passivität und Apathie	Anspannung	Mangelnde Urteilsfähigkeit und Einsicht
Größenideen	Schwierigkeiten beim abstrakten Denken	Manierismen und unnatürliche Körperhaltung	Willensschwäche
Feindseligkeit	Stereotype Gedanken	Motorische Verlangsamung	Selbstbezogenheit
Formale Denkstörungen	emotionaler Rückzug	Angst	Desorientiertheit
Misstrauen/ Verfolgungsideen	Mangel an Spontaneität und Flüssigkeit der Sprache	Depression	Mangelnde Impulskontrolle
		Unkooperatives Verhalten	aktives soziales Vermeidungsverhalten

### 4.2.2 Kontrollprobanden

Die Rekrutierung der Gruppe der Kontrollpersonen wurde in mehreren Etappen durchgeführt. Zunächst wurde auf Basis der vom Einwohnermeldeamt München überlieferten randomisierten Daten per Post angeschrieben, der Hintergrund der Studie erklärt und zur Teilnahme an der Studie eingeladen.

Alle Teilnehmer mussten das achtzehnte Lebensjahr vollendet haben und deutscher bzw. kaukasischer Abstammung sein. Die bezog sich auf die Herkunft beider Elternteile und die vorherigen zwei Generationen.

Psychiatrische oder neurologische Vorerkrankungen oder solche in der Blutsverwandtschaft führten gleichermaßen zum Ausschluss.

Bei einer positiven Rückmeldung an die Klinik wurde der Proband daraufhin angerufen und mittels eines standardisierten Vorscreenings grob auf Ein- und Ausschlusskriterien überprüft. Dieses beinhaltete wie bei der Anamnese der Patienten auch, den Ausschluss von psychiatrischen, neurologischen oder psychischen Erkrankungen, da nur diesbezüglich unauffällige Personen in die Kontrollkohorte aufgenommen wurden. Im Übrigen wurden die gleichen Ausschlusskriterien angewendet wie bei der Rekrutierung des Patientenkollektivs.

War das erste Gespräch positiv und der Proband immer noch gewillt teilzunehmen, wurde ihm postalisch der ANA I Bogen zugeschickt, in dem nochmals schriftlich seine Abstammung und sein Familienstand, mögliche Geburtskomplikationen und bisher aufgetretene Erkrankungen, Rauchverhalten, Alkohol- und Drogenkonsum, sowie Suizidversuche und mögliche Suizide innerhalb der Familie genau erfasst wurden. Darüber hinaus wurden die Phasen großer Angst, Essstörungen, affektive Störungen oder Störungen aus dem schizophrenen Formenkreis erfragt.

Bei positivem Basisscreening wurde der Proband für die weiteren Interviews eingeladen.

Zum Einsatz kamen die vollständige Anamnese II, sowie das SKID Achse I (s.o.) und II.

Die Anamnese II diente an der Stelle der Erfassung der beruflichen Karriere, besonderen Verhaltensweisen im Kindes- und Jugendalter, finanziellem Status und partnerschaftlichen Bindungen.

#### **4.2.2.1 Family History Assessment Module (FHAM)**

Darüber hinaus wurde das FHAM (Rice et al. 1995) verwendet, um psychiatrische Diagnosen in der Verwandtschaft ersten bis dritten Grades der Probanden auszuschließen. Hierbei wurde das Vorliegen von Alkohol-, Drogen- und Medikamentenabusus, Depression, neurotische Störungen etc. abgeklärt, welches bei positiver Angabe zum Ausschluss führte.

#### **4.2.2.2 Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI)**

Das LEBI (Richter & Guthke 1996) wurde eingesetzt, um belastende oder kritische Lebensereignisse sowie deren Bezug auf individuelle Lebensziele zu eruieren.

Zudem wurden hier noch die psychosozialen Belastungsfaktoren (Achse IV) und das globale Funktionsniveau (Achse V) beurteilt.

#### **4.2.2.3 Minnesota Multiphasic Personality Inventory 2 (MMPI-2)**

Im Zuge der Strukturierten Interviews wurde auch eine Persönlichkeitseinschätzung Mittels MMPI-2 durchgeführt. Dies sind 567 Items zur Persönlichkeit, die mit „trifft zu“ oder „trifft nicht zu“ zu beantworten sind. Aufgrund der Antwortmuster kann ein annähernd vollständiges Bild von Persönlichkeit und Beschwerden des Probanden erhalten.

Wenn auch nach diesen strukturierten Interviews keine Hinweise auf das Vorliegen einer neurologischen oder psychiatrischen Erkrankung (lifetime) vorlagen, wurden die Patienten eingeschlossen.

Um die vorliegenden psychiatrischen Merkmale genetisch zu überprüfen, wurde allen Patienten und Probanden für die weitere Genotypisierung venöses Blut abgenommen und labortechnisch aufbereitet.

## **4.3 Laborverfahren**

### **4.3.1 DNA-Extraktion**

Allen eingeschlossenen Studienteilnehmern (Probanden und Patienten) wurde im Laufe der Untersuchung venöses Blut in EDTA-Monovetten abgenommen, um die Gerinnung zu unterbinden und im Anschluss die DNA extrahiert. Dabei wurden alle entnommenen Blutproben mit einer siebenstelligen alphanumerischen Kodierung versehen, um die Anonymität im weiteren Verlauf zu gewährleisten und bei -80°C eingefroren.

Für die Extraktion der genomischen DNA wurde das QIAmp Blood Maxi Kit entsprechend dem vorliegenden Handbuch der Fa. Qiagen verwendet und die darin beschriebenen Arbeitsschritte durchlaufen (Qiagen 2010).

#### **4.3.1.1 Vorbereitung**

Für die Vorbereitung der späteren Zelllyse wurden die zuvor eingefrorenen Proben bei Raumtemperatur aufgetaut und 10ml des Vollblutes zur Lyse der Leukozyten und somit Freisetzung der Nukleinsäuren mit 500µl Qiagen Protease in einem 50ml Zentrifugenröhrchen versetzt. Durch die Protease kommt es zur Denaturierung und Degradierung der Proteine in der Probe zu kleineren Bruchstücken, wodurch eine bessere Trennung der Nukleinsäuren von den restlichen Bestandteilen möglich ist.

Um die spätere Bindung der DNA an die Silikagel-Säule zu gewährleisten, wurden 12ml eines Guanidin-HCL-Puffers hinzugefügt (Puffer AL, Qiagen) und diese Lösung für zwei Minuten auf dem Vortexer (Scientific Industries) gemischt, um die Lyse zu vervollständigen und zu homogenisieren.

Diese Mischung wurde dann bei 70°C für 30 Minuten im Wasserbad unter gleichzeitigem Schütteln inkubiert, um eine größtmögliche DNA Ausbeute zu erreichen.

#### **4.3.1.2 Silikagel-Membran-Adsorption**

Es wurden 10ml 96-100% Ethanol zugegeben und wieder für zwei Minuten auf dem Vortexer gemischt. Hierbei kommt es zum Entzug der Hydrathülle. Ethanol bewirkt eine Fällung der DNA. Um die Mixtur an die Silikamembran zu binden, wurde die Hälfte der DNA-Lösung in ein neues 50 ml Zentrifugenröhrchen mit Säuleneinsatz (Silikagel-Säule) gegeben und bei Raumtemperatur jeweils für drei Minuten bei 3.000 Umdrehungen/Minute zentrifugiert. Das Zentrifugat wurde verworfen, die zweite Hälfte der Probe auf den Säuleneinsatz gegeben und unter gleichen Bedingungen zentrifugiert.

Durch die entsprechenden Salz- und pH-Bedingungen blieben die Nukleinsäure bindenden Proteine und RNA ungebunden und konnten verworfen werden, wohingegen sich die DNA auf der Silikamembran wiederfand.

### **4.3.1.3 Reinigung**

Zur finalen DNA-Reinigung von möglichen RNA und Proteinresten wurden zwei Reinigungsvorgänge durchgeführt.

Zunächst wurden 5ml eines Guanidin-HCL-haltigen Puffers (Waschpuffer AW1 Qiagen) bei Raumtemperatur zugegeben und für 60 Sekunden bei 5.000 Umdrehungen/Minute zentrifugiert.

Durch die Zugabe von 5ml eines Ethanol haltigen salzarmen Waschpuffers (Waschpuffer AW2, Qiagen) und 15 minütiger Zentrifugierung bei 5.000 Umdrehungen/Minute wurden die Guanidinsalze entfernt.

### **4.3.1.4 Elution**

Die abschließende Elution wurde nach Transfer in ein neues steriles Zentrifugationsröhrchen, mittels 1ml basischen Tris-Puffers (Puffer AE, Qiagen, pH>9,0) auf die Silikamembran erreicht.

Um den Ertrag zu maximieren, wurde die Membran für 5 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert und für zwei Minuten bei 5.000 Umdrehungen/Min. zentrifugiert. Dieser gesamte Schritt wurde insgesamt einmal wiederholt, wobei im zweiten Durchgang für 5 Min. zentrifugiert wurde.

Durch den basischen Puffer wurde so die zuvor unter sauren Bedingungen gebundene DNA eluiert und die DNA auf zwei Reaktionsgefäße unterteilt.

## **4.3.2 Bestimmung der DNA Konzentration**

Für die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) musste zuvor die genaue DNA Konzentration bestimmt werden. Um dies zu ermöglichen, wurde die Pico-Green-Methode (Invitrogen) eingesetzt. Hierbei wird ein ultraspezifisches Fluorophor (PicoGreen, Molecular Probes) verwendet, welches Licht der Wellenlänge 480nm absorbiert, wenn es an doppelsträngige DNA gebunden ist. Wird dieser Komplex durch Lichtbestrahlung angeregt, wird wiederum Licht der Wellenlänge von 535nm, im grünen Bereich des sichtbaren Lichts, emittiert. Dabei korreliert die Fluoreszenzintensität direkt proportional mit der vorhandenen DNA.

Die Fluoreszenz wurde nach Verdünnung der Proben mit PicoGreen Lösung (1:200 in Aqua bidest) im Verhältnis 1:50 bestimmt.

Um die Konzentration der DNA zu bestimmen, war es zunächst erforderlich einen humanen genomischen Standard als Referenzkurve bereitzustellen. Dazu wurde eine Verdünnungsreihe mit DNA bekannter Konzentration (DNA 100ng/µl, Clontech) jeweils mit 1:2 Aqua bidest. verdünnt und gemischt.

Reihe A wurde mit 200 µl dieses Standards mit humaner genomischen DNA gefüllt. Danach wurde absteigend (B-H) jeweils 100 µl von dem vorherigen well in den folgenden well unter mehrmaligem Aufziehen pipettiert, so dass eine konstant absteigende, jeweils halbierte Verdünnungsreihe A-H erhalten wird. Reihe H enthielt dabei keine genomische DNA mehr und wurde als Referenz verwendet (Tabelle 11).

Das gefrorene PicoGreen Reagenz wurde etwa eine Stunde lichtgeschützt bei Raumtemperatur aufgetaut und dann in einem mit Aluminiumfolie umhüllten 50ml Röhrchen mit Aqua bidest. auf ein Verhältnis 1:156 verdünnt.

Die zu messenden DNA-Stammlösungen wurden vorher mit 1:10 Aqua bidest. in einer 96well Platte vorverdünnt, in dem zu 45µl Aqua jeweils 5µl DNA zugegeben wurde, um den Messbereich des Gerätes nicht zu übersteigen. Die Standardkurve wurde nicht weiter verdünnt.

**Tabelle 11 Genomische DNA Verdünnung**

<b>Konzentration (ng/µl)</b>	<b>Spalten</b>	
<b>100</b>	A1	A2
<b>50</b>	B1	B2
<b>25</b>	C1	C2
<b>12,5</b>	D1	D2
<b>6,25</b>	E1	E2
<b>3,125</b>	F1	F2
<b>1,5262</b>	G1	G2
<b>0</b>	H1	H2

In eine 96 flat bottom plate (Messplatte) wurde danach 50µl Aqua dest. pro well vorgelegt. Zu diesen wurden 5µl der Standardverdünnungsreihe bzw. vorverdünnten DNA in Duplikaten zugegeben.

Zu der vorgelegten Standard- und Proben-DNA wurden 145µl der verdünnten PicoGreen-Lösung gegeben um eine Verdünnung von 1:200 zu erhalten. Die Messplatte wurde durch einen Gripper der Janus Workstation in dem Victor<sup>3</sup> Multilabelcounter 1420 (Perkin Elmer) überführt.

Im Messgerät wurde die Messplatte für 30s in Doppelkreisen geschüttelt, um eine hohe Homogenität der Lösung zu erreichen.

Zur Anregung des PicoGreens wurde eine Wellenlänge von 485nm verwendet und die Emission bei 535nm Wellenlänge, bei einer Messzeit von 0,1 Sekunden gemessen. Die ermittelten Fluoreszenzwerte wurden vom Computer (Optiplex GX620 Pentium 4 HAT, Dell) erfasst. Anhand der Standardkurve und der Mittelwerte der Doppelbestimmungen wurde mit einem auf *Virtual Basic* basierendem Makro errechnet, welche Volumina der zu messenden DNA-Lösung und Aqua bidest nötig waren, um eine Konzentrationseinstellung von 50ng/µl zu erreichen.

Diese finale Konzentrationseinstellung führte die Janus Automated Workstation auf ein Zielvolumen von 500µl selbstständig durch. Die DNA wurde in 96well Platten zur weiteren Hochdurchsatzgenotypisierung vorgelegt.

### 4.3.3 Genotypisierung

#### 4.3.3.1 iPLEX-Verfahren

Zur Genotypisierung wurde das von der Firma Squenom entwickelte iPLEX- Verfahren eingesetzt. (*Increased Plexing Efficiency and Flexibility for MassARRAY® System through Single Base Primer Extension with Mass-Modified Terminators*)

Es arbeitet ohne Farbstoffe, Sonden oder andere DNA-Markierungen und macht es möglich an einer DNA-Probe zeitgleich bis zu 36 SNPs zu untersuchen. Dabei werden immer solche SNPs miteinander kombiniert, die sich in einem Reaktionsansatz nicht gegenseitig behindern können. Ein Set solcher kompatibler SNPs heißt Multiplex.

Um einen SNP nach diesem Verfahren zu genotypisieren, besteht der gesamte Vorgang aus drei Schritten: Zunächst muss die den SNP flankierende genomische Sequenz amplifiziert werden. Nur so kann die Zielsequenz in ausreichender Konzentration für die

nachfolgende iPLEX-Reaktion zur Verfügung gestellt werden. Dazu wird eine konventionelle Multiplex-Polymerasekettenreaktion (PCR) eingesetzt.

Für die eigentliche Genotypisierung werden danach in einer modifizierten PCR Reaktion sogenannte Extensionsprimer eingesetzt, die unmittelbar vor dem polymorphen Locus hybridisieren. Das aufgereinigte PCR-Produkt wird dazu zusammen mit den Extensionsprimern, einer thermophilen DNA-Polymerase und den vier Didesoxynucleotiden einer zyklischen Reaktion zugeführt und so die Extensionsprimer genau um die komplementäre Base des polymorphen Locus verlängert.

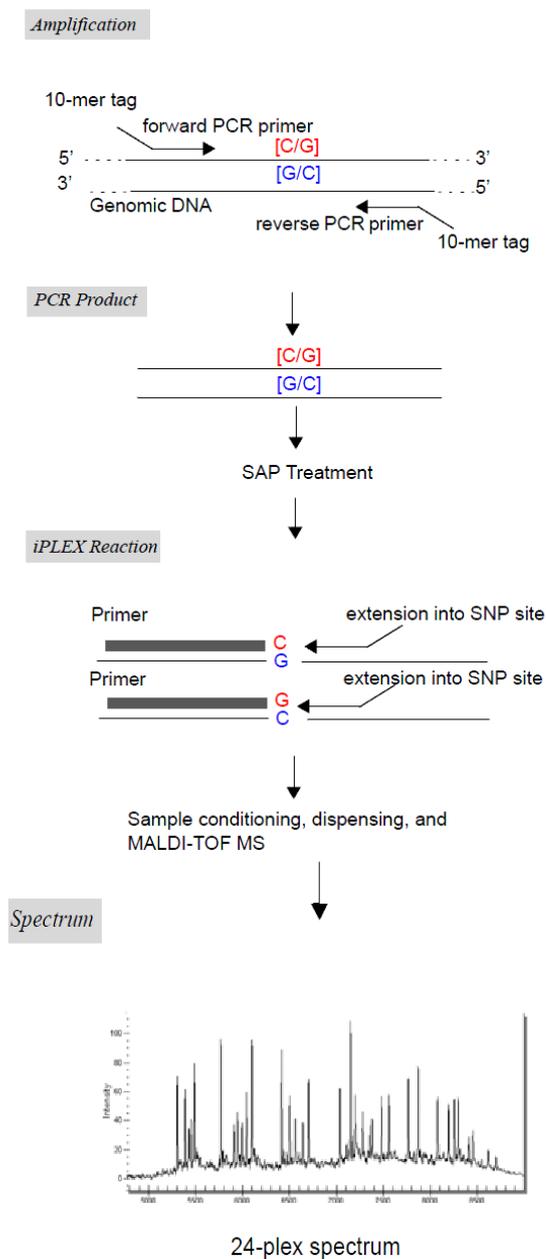


Abbildung 7 Schematische Darstellung des iPlex Verfahrens (Oeth et al. 2006)

Für die Ergebniserzeugung werden schließlich die Produkte der Primerextensionsreaktion auf kleine Siliziumchips übertragen, die dann mit Matrix gestützter Laser Ionisations-/Desorptions-Flugzeitspektrometrie (*Matrix-Assisted Laser Desorption / Ionization Time-Of-Flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS*) vermessen werden. Diese lässt eine Hochdurchsatz-Genotypisierung mit sehr hoher Sensitivität und Genauigkeit zu (Abb. 7).

Die untenstehenden SNPs wurden genotypisiert.

**Tabelle 12 Genotypisierte SNPs des PARK 7 Gens auf Chromosom 1p36.23 Übersicht**

SNP ID	Gen	Intron Exon	Sequenz	Allele	Position
rs4908488	PARK7	Intron 2	AACCTACACAAGAATACGTATTAC	C/T	8024592
rs226251	PARK7	Intron 2	ttggCCTAGTCATGCTGACTAC	T/C	8024690
rs178932	PARK7	Intron 4	ACATCTGTCATAACGGT	G/A	8030300
rs226242	PARK7	Intron 5	atgcAACAAACTCAGCCCCAAA	G/A	8033468
rs225092	PARK7	Intron 5	gggCTTGGTCTGAAACTGACA	G/C	8036075
rs161807	PARK7	Intron 5	ccagGTTTGGTAAGAGCCTCTTGATTT	A/G	8037496
rs226258	PARK7	Intron 6	GACTCCCTCACCTAGCTTC	G/T	8041352
rs225119	PARK7	Intron 6	catgCCAAAAGTGGACTCTT	T/C	8044361

#### 4.3.3.2 Multiplex PCR

Bei der Polymerase Kettenreaktion kurz PCR werden durch eine DNA-Polymerase die flankierenden genomischen SNP Sequenzen amplifiziert, um die Zielsequenz in ausreichender Konzentration zur Verfügung zu stellen.

Hierzu werden für die iPlex-Reaktion Primer benötigt. Dies sind Oligonukleotide, die an die gewünschte DNA Sequenz komplementär binden. Da diese Reaktion nur unter bestimmten Bedingungen stattfinden kann, werden bestimmte (Unter-)Schritte mit Puffern zyklisch wiederholt. In Tabelle 13 sind die verwendeten Primer aufgeführt.

Die Reaktion wird allgemein als *SNP Capture* bezeichnet und verwendet, anders als bei der Standard PCR, mehr DNA und mehr Polymerase. Die exakten Oligonukleotide passend zu den Einzelnukleotidpolymorphismen wurden mit der Spectrodesigner Software (Sequenom) hergestellt.

Dabei wurde darauf geachtet, dass alle Amplikons eines Plexes annähernd die gleiche Länge aufweisen,

Die Amplikonlänge wurde hierbei auf ca. 100bp inklusive der 10bp langen Tagsequenzen festgelegt.

**Tabelle 13 Verwendete PCR Primersequenzen**

SNP ID	Forward Primer 1	Reverse Primer 2	Extensionsprimer	Frag. länge
rs4908488	ACGTTGGATGGC ACAAAGAAACCT ACACAAG	ACGTTGGATGCC ACAATCTACCCA TTCCTC	AACCTACACAAG AATACGTATTAC	94
rs226251	ACGTTGGATGTAC AAACTGGGACA CTGGAG	ACGTTGGATGTA GAATGACTAGGC CGAAGG	ttggCCTAGTCATG CTGACTAC	100
rs178932	ACGTTGGATGGG ACTGTATTCATCG ACATC	ACGTTGGATGGT GCCATGGAAGTA AGCTG	ACATCTGTTCATA ACGGT	83
rs226242	ACGTTGGATGCA GGACAAACTGA CATGTGG	ACGTTGGATGCA AGCCTCAGTCCT AGATT	atgcAACAAACTC AGCCCAA	125
rs225092	ACGTTGGATGGA GCTATAAATCAG GACTGG	ACGTTGGATGCC GTAGCTGTTACAA ACAGG	gggCTTGGTCTGA AACTGACA	125
rs161807	ACGTTGGATGCT GTATGTTTGGTAA GAGCC	ACGTTGGATGCA GACCCCTTCTCTA ACAAC	ccagGTTTGGTAA GAGCCTCTTGATT T	100
rs226258	ACGTTGGATGCT GCTTCAGGATTGT TGGTG	ACGTTGGATGCA AACAGTACTCAG CAGTGG	GACTTCCCTCAC CTAGCTTC	104
rs225119	ACGTTGGATGCC GGTTGGCTATTCT TGGC	ACGTTGGATGGT GACTACCTGCTG TGGAG	catgCCAAAAGT GGACTCTT	112

Die folgenden Schritte wurden anhand des Sequenom iPLEX Application Schemas nach vorheriger Erstellung des Mastermixes mit den in Tabelle 14 aufgeführten Reagenzien durchgeführt.

**Tabelle 14 Reagenzien der Multiplex PCR**

Reagenzien	Volumen (µl)	Hersteller
H <sub>2</sub> O (Aqua bidest.)	1.850	Purelab Ultra, ELGA
PCR-Puffer mit MgCl <sub>2</sub>	0.625	Qiagen
MgCl <sub>2</sub> (25mM)	0.325	Qiagen
dNTP Mix (25mM)	0.100	ABGene
Primer Mix (500nM)	1.000	Qiagen
DNA (12.5ng)	2.5	
Hotstar Taq Polymerase (5U/µl)	0.100	Qiagen

### Denaturierung

Bei der Denaturierung werden die H-Brücken der DNA Stränge durch Erhitzen gelöst und somit der Doppelstrang in Einzelstränge getrennt. Danach konnte die PCR in dem für die Primer optimierten Thermocycler (GeneAmp, PCR System 9700, Applied Biosystems) durchgeführt werden. Dies geschah für 5 Minuten bei 94°C (initiale Denaturierung) und dann wiederholt für 20 Sekunden bei gleicher Temperatur (Tabelle 15).

### Annealing

In diesem Schritt lagern sich die Oligonukleotid-Primer bei einer Temperatur von 55°C (in Abhängigkeit der Basenzusammensetzung) an die komplementären Matrizenstränge der genomischen DNA an. Die Annealing Temperatur muss hier sorgfältig nach der Basenzusammensetzung jeden Primers ausgewählt werden, da eine zu hohe Temperatur zu sehr spezifischen Amplifikationen führt; eine zu niedrige jedoch die Ausbeute steigert.

### Elongation

In der Extensionsphase wird bei 72°C für 60 Sekunden von der Polymerase der Primer als Startmolekül für den dNTP Aufbau genutzt um eine Kopie der Stränge zu bilden.

In jedem der 45 Zyklen wird das Ausgangssubstrat verdoppelt, was zu einer exponentiellen Vermehrung der DNA Fragmente führt.

**Tabelle 15 SNP Capture Programm**

Schritt	Temperatur °C	Zeit (Sek.)	Wiederholungen
Denaturierung	94	300	1
	94	20	45
Annealing	56	30	
Extension	72	60	
	72	180	1
Abkühlung für weitere Verwendung	4	-	1

#### 4.3.3.3 Dephosphorelierung mit Shrimp Alkaline Phosphatase

Da nicht alle zugegebenen dNTP's bei der Amplifikation der SNP Capture verbraucht werden, muss dieser Überschuss inaktiviert werden, da sie sonst die iPlex-Reaktion stören würden.

Um dies zu erreichen, wird ein Gemisch (s. Tabelle 16) auf Basis von Shrimp Alkaline Phosphatase (SAP) verwendet, welche die 5' und 3'-Phosphatgruppen an DNA, RNA und Nukleotiden bei niedrigen Temperaturen effektiv entfernt und dadurch inaktiviert.

Die Phosphatase selbst wird dann anschließend bei 85°C denaturiert.

**Tabelle 16 Reagenzien der Dephosphorelierung mit SAP**

Reagenz	Volumen (µl)
H <sub>2</sub> O Aqua bidest.	1,530
10x SAP Puffer	0,170
SAP-Enzym	0,300

2µl dieses SAP-Mixes wurde nach Zugabe von 5µl der Produkte aus der SNP Capture Reaktion vermischt, abzentrifugiert und dann wieder im Thermocycler zuerst bei 37°C für 40 Minuten inkubiert und dann die SAP für 10 Min. bei 85°C inaktiviert.

#### 4.3.3.4 iPLEX Primerextension

Im vorliegenden iPLEX Verfahren werden die eingesetzten Extensionsprimer (Tabelle 13) um exakt eine Base verlängert (*Single Base Extension*). Hierbei werden anstatt dNTPs, Didesoxynukleotide (ddNTPs) verwendet und dem Gemisch beigefügt, da diese am 3'Ende keine OH-Gruppe besitzen und nach dem Einbau in den Extendprimer nicht weiter verlängert werden können. Dadurch kommt es automatisch zum Erliegen der Polymerisationsreaktion nach Anschluss einer Base, die dem gesuchten SNP komplementär ist.

Zudem sind die ddNTP's massenmodifiziert und eignen sich besser als Terminatoren für die MassExtend Reaktion, da die Massendifferenz zwischen den einzelnen ddNTP's 16Da oder mehr betragen. Dadurch werden sie im MALDI-TOF besser aufgetrennt.

Aufgrund der Massenunterschiede der ddNTP's ist es möglich nach Extension mit Hilfe des Massenspektrometers festzustellen, um welche Base es sich bei der Verlängerung handelt und dementsprechend auch, um welches komplementäre SNP-Allel.

Labortechnisch wurde wieder ein Reaktionscocktail aus den unten aufgeführten Reagenzien hergestellt, welche bis auf das iPLEX Enzym zuvor aufgetaut, gemischt und abzentrifugiert wurden (Tabelle 17).

**Tabelle 17 iPLEX Reagenzien**

Reagenz	Vol./Reaktion µl	Hersteller
<b>Aqua bidest.</b>	0,755	Sequenom
<b>iPLEX Buffer plus</b>	0,200	Sequenom
<b>iPLEX Termination Mix</b>	0,200	Sequenom
<b>Primer Mix (7 µM-14 µM)</b>	0,804	Sequenom
<b>iPLEX Enzym</b>	0,041	Sequenom
<b>Gesamt</b>	<b>2</b>	

Wiederum kam nach folgendem Schema der Thermocycler zum Einsatz, nachdem der Ingredienzien-Cocktail mit den SAP behandelten SNP Capture Produkten vermischt und abzentrifugiert worden war. Dieses modifizierte iPLEX PCR-Programm benutzt zwei Durchlaufschleifen mit insgesamt 200 Wiederholungen (Tabelle 18).

Vor dem weiteren Verwenden wurden die Extensionsprodukte dann mit einem Ionenaustauschharz (Clean Resin, Sequenom) gereinigt, um spätere Störsignale in der massenspektrometrischen Analyse durch Ionen zu vermeiden.

**Tabelle 18 iPLEX Programm**

Schritt	Temperatur °C	Zeit (Sek.)	Wiederholungen	
			1. Schleife	2. Schleife
Denaturierung	94	30	1	1
	94	5	1	40
Annealing	52	5	5	
Extension	80	5		
	72	180	1	1
Abkühlung	4	-		1

#### 4.3.3.5 MALDI-TOF Verfahren

Die Genotypisierung mittels MALDI-TOF Verfahren (*Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation*) ist eine Methode, welche auf der Massenspektrometrie beruht und bei der die in den Schritten zuvor durch Einzelbasenverlängerung entstandenen komplementären Allele der SNPs identifiziert werden können.

Hierbei wird in die Kristallstruktur der MALDI-Matrix ein Analyt eingebaut der später identifiziert wird. Dabei wird das Analytgemisch mit Hilfe des MassARRAY Nanodispensers (Sequenom) auf einen 384-format Siliziumchip (SpectroCHIP, Sequenom) übertragen. Kalibriert wurden die Analytspektren mit einem 3 Punkt Kalibrand (*3 Point Calibrand, Sequenom*) bekannter Massen.

Das Matrix-Analytgemisch wurde dann durch eine Vakuumschleuse in das Massenspektrometer eingesetzt und im Hochvakuum (ca.  $10^{-8}$ - $10^{-6}$ mbar) einige Nanosekunden der Bestrahlung einer Ionenquelle, in diesem Falle einer gepulsten Laserbestrahlung (N2-Laser:  $\lambda=337$ nm) ausgesetzt.

Unmittelbar nach der Bestrahlung lösen sich die Neutralteilchen aus der kondensierten Phase. Diese Reaktion ist auch bekannt als Desorption. Während dieser Reaktion wird der Analyt aus dem Matrixgemisch desintegriert und geht aus der kondensierten, in die gasförmige Phase über (Verdampfung). Darüber hinaus kommt es zur Ionisation, die für die TOF Spektrometrie unerlässlich ist.

In der nachfolgenden TOF (*Time of Flight*) werden die im MALDI Prozess generierten, einfach geladenen, unfragmentierten Ionen in ein Flugzeit-Massenspektrometer überführt und nach Ihrem Verhältnis von Masse  $m$  (kg) zur Ladung  $z$  (Coulomb) aufgetrennt.

Dazu werden sie zuerst in einem elektrischen Feld  $U$  beschleunigt und treten dann in eine feldfreie Driftstrecke ein und werden dann nach einer bestimmten Flugzeit  $t_{ges}$  (in Sek.) detektiert. Die Flugzeit wurde hierbei ab dem Laserbeschuss gemessen.

Es wird davon ausgegangen, dass Ionen mit gleichem Verhältnis von Masse zu Ladung im Idealfall auch die gleiche Flugzeit aufweisen.

Somit ergibt sich das Verhältnis

$$TOF \propto \sqrt{\frac{m}{z}}$$

Dabei entspricht die kinetische Energie  $E_{kin} = \frac{1}{2} mv^2$  der von der Ladung und der angelegten Beschleunigungsspannung  $z \cdot U$  ab. Daraus ergibt sich für die Geschwindigkeit der Ionen:

$$v = \sqrt{\frac{2zU}{m}}$$

Bei einer Gesamtflugzeit  $t_{ges}$  mit Flugstrecke  $L$  (Meter) ergibt sich somit:

$$t_{ges} = \frac{L}{v} = \frac{L}{\sqrt{2U}} \cdot \frac{\sqrt{m}}{z}$$

Für die Messung der Extensionsprodukte wurde ein Autoflex MALDI-TOF Massenspektrometer (Bruker Daltonics) verwendet, welcher mittels FlexControl Software (Bruker Daltonics) gesteuert wurde. Hiermit konnten auch die Parameter Laserenergie, Detektor- und Reflektorspannung überwacht und modifiziert werden.

Sämtliche Daten der Probandencodes, Massen der verlängerten Extensionsprimer und Allele wurden in eine Datenbank gespeist und mithilfe des AssayEditors (Sequenom) die zu erwartenden Massen der Extensionsprodukte festgelegt. Die Angaben zu Position der DNA's und SNPs wurden mithilfe des PlateEditors (Sequenom) zusammengeführt, um die Chips zu erstellen. Diese Datenbank wurde dann über den Chiplinker (Sequenom) mit dem MALDI-TOF Massenspektrometer verbunden, um die richtige Zuordnung der Messergebnisse sicherzustellen. Da die DNA-Fragmente aus der iPLEX Reaktion je nach angehängter Base unterschiedliche Massen haben, konnte entsprechend der Flugdauer der letzten angehängten Base der spezifische Genotyp zugeordnet werden.

Die Genotypisierung wurde in Echtzeit mit SpectroAQUIRE (Sequenom) verfolgt und mit Hilfe der TYPER Analyzer 3.3.0 Software (Sequenom) dem entsprechenden Genotyp zugeordnet.

### 4.4 Statistische Auswertung

Bei jedem SNP wurde das Hardy-Weinberg Equilibrium geprüft. Dieses geht von einer idealen Population aus und besagt, ausgehend von einer Elterngeneration mit beliebiger, zufälliger Genotypverteilung, dass sich bereits bei der ersten Tochtergeneration eine Genotyp-Verteilung einstellt, die sich in den folgenden Generationen nicht mehr ändert, sich also im Gleichgewicht befindet.

Die statistische Auswertung der Unterschiede in der Allel- und Genotypverteilung der PARK7 SNPs in der Häufigkeit zwischen Patienten und Probanden erfolgte mit Hilfe der IBM SPSS Statistics 19 Software, Plink v1.07 (Shaun Purcell; Purcell et al. 2007), R (R Development Core Team 2011), und Haploview 4.2 (Barrett et al. 2005).

Um die Assoziation der Allele und der Genotypen mit Schizophrenie zu überprüfen wurde bei den SNPs ein exakter Fischer-Test (zweiseitiger  $\chi^2$ -Test) nach Pearson durchgeführt und als Grenzwert für Signifikanz ein p-Wert von  $\leq 0,05$  festgelegt. Ab  $p \leq 0,10$  wurde ein Trend zur Signifikanz angenommen.

Dies galt für alle statistischen Berechnungen.

## 4.5 Haplotypanalyse

Die Haplotypanalyse wurde mit Hilfe der Haploview Software durchgeführt (Barrett et al. 2005) und dann die Kopplungsungleichgewichte und die LD-Blockstruktur errechnet. Haplotyp Blöcke wurden nach der Methode von Gabriel bestimmt.

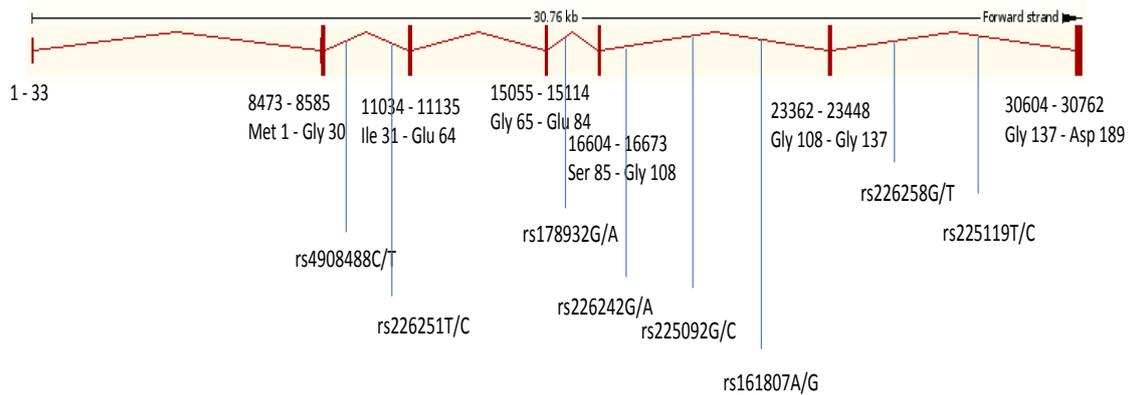
Haploscore (R Development Core Team 2011) diente hierbei dazu, die Haplotypen und die Frequenzen für den Fall-Kontroll-Vergleich zu schätzen und die Assoziationen zwischen den Haplotypen und den unterschiedlichen kognitiven Faktoren zu untersuchen (Schaid et al. 2002).

Dabei wurden die gleichen Co-Variablen einbezogen wie in der multivariaten Varianzanalyse: Status (Patienten vs. Kontrollprobanden), Geschlecht, Schulbildung und Alter. Haplotyp Frequenzen zwischen Patienten und Kontrollen wurden mittels eines Chi Square Test verglichen.

## 5 Ergebnisse

Für den Nachweis eines Zusammenhangs zwischen Variationen im PARK7 Gen und dem Gesundheitsstatus, wurde in vorliegender Studie für 510 schizophrenen Patienten und 1319 Kontrollen eine Genotypisierung durchgeführt.

Die 8 untersuchten Polymorphismen des PARK7 Gens auf Chromosom 1, waren alle acht in Introns lokalisiert (Abb. 8).



**Abbildung 8 Exon/Intron Position auf PARK7**

Die Ergebnisse sind im Folgenden nach den Phänotypen

- Patienten vs. Kontrollen,
- Patienten mit schizophrenen Erstgradangehörigen vs. Kontrollen,
- Patienten mit psychiatrisch erkrankten Angehörigen vs. Kontrollen und
- Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen vs. Kontrollen aufgeführt.

Es wurden für jeden Phänotypen vier Tests durchgeführt:

**Allelverteilung**

(A1 vs A2) vergleicht die Häufigkeit der Allele zwischen 2 Gruppen (Gesamtallel)

**Genotypverteilung**

Genotypverteilung (A1A1 vs A1A2 vs A2A2) vergleicht die Häufigkeit der Genotypen zwischen 2 Gruppen)

**Rezessives Modell**

(A1A1 vs A1A2 + A2A2) fasst die Genotypen, die das häufigere Allel enthalten, in einer Gruppe zusammen (Träger des majoren Allels) und vergleicht diese mit den homozygoten für das seltenere Allel

**Dominantes Modell**

(A1A1 + A1A2 vs A2A2) fasst die Genotypen, die das seltenere Allel enthalten, in einer Gruppe zusammen (Träger des minoren Allels) und vergleicht diese mit den homozygoten für das häufigere Allel.

## 5.1 Ergebnisse des Hardy-Weinberg Equilibriums

Um Genotypisierungsfehler auszuschließen sowie um eine Aussage über die Genotypverteilung innerhalb der untersuchten Population treffen zu können, wurde das Hardy-Weinberg Gleichgewicht mittels des exakten Tests nach Fisher überprüft. Die Genotypverteilung lag für alle SNPs im Hardy-Weinberg-Equilibrium (Tabelle 19 bis 21). Lediglich für rs226251 war in der Kontrollstichprobe eine leichte Abweichung zu verzeichnen (Tabelle 20).

**Tabelle 19 Darstellung des HWEs der untersuchten SNPs für Patienten**

SNP	Allele	Patienten Genotyp (N)	p-Wert	HWE (F)
	A/B	Allele AA/AB/BB		
rs4908488	C/T	12   100   365	0,107	0,073
rs226251	T/C	92   226   172	0,265	0,052
rs178932	G/A	62   200   229	0,083	0,079
rs226242	G/A	91   217   176	0,111	0,075
rs225092	G/C	91   230   178	0,269	0,049
rs161807	A/G	85   226   168	0,572	0,027
rs226258	G/T	94   236   165	0,582	0,026
rs225119	T/C	94   229   173	0,269	0,053

**Tabelle 20 Darstellung des HWEs der untersuchten SNPs für Kontrollen**

SNP	Allele	Kontrollen Genotyp (N)	p-Wert	HWE (F)
	A/B	Allele AA/AB/BB		
rs4908488	C/T	46   347   873	0,117	0,044
rs226251	T/C	241   633   412	0,955	-0,002
rs178932	G/A	127   601   560	0,068	-0,052
rs226242	G/A	239   612   425	0,492	0,020
rs225092	G/C	238   638   425	1,000	-0,001
rs161807	A/G	162   607   456	0,079	-0,052
rs226258	G/T	179   663   455	0,012	-0,071
rs225119	T/C	243   625   416	0,776	0,008

**Tabelle 21 Darstellung des HWEs der untersuchten SNPs für die Gesamtstichprobe**

SNP	Allele	Gesamtgenotyp (N)	p-Wert	HWE (F)
	A/B	Allele AA/AB/BB		
rs4908488	C/T	58   447   1238	0,033	0,053
rs226251	T/C	333   859   584	0,594	0,013
rs178932	G/A	189   801   789	0,521	-0,016
rs226242	G/A	330   829   601	0,143	0,035
rs225092	G/C	329   868   603	0,596	0,013
rs161807	A/G	247   833   624	0,263	-0,028
rs226258	G/T	273   899   620	0,077	-0,042
rs225119	T/C	337   854   589	0,384	0,021

## 5.2 Patienten vs. Kontrollen

Die Stichprobengröße gesamt enthält maximal 1.829 Probanden, darunter 510 Kontrollen und 1.319 schizophrene Patienten (Tabelle 22). Variationen zwischen den einzelnen SNPs sind auf vereinzelte Ausfälle in der Genotypisierung zurückzuführen.

**Tabelle 22 Stichprobengrößen an Schizophrenie erkrankter Patienten vs. Kontrollen**

SNP	Genotypenverteilung						
<b>rs4908488</b>	CC	%	CT	%	TT	%	$\Sigma$ n
P	12	2,5%	100	21,0%	365	76,5%	477
K	46	3,6%	347	27,4%	873	69,0%	1266
$\Sigma$ n	58	3,3%	447	25,6%	1238	71%	1743
<b>rs226251</b>	TT	%	TC	%	CC	%	$\Sigma$ n
P	92	18,8%	226	46,1%	172	35,1%	490
K	241	18,7%	633	49,2%	412	32,0%	1286
$\Sigma$ n	333	18,8%	859	48,4%	584	32,9%	1776
<b>rs178932</b>	GG	%	GA	%	AA	%	$\Sigma$ n
P	62	12,6%	200	40,7%	229	46,6%	491
K	127	9,9%	601	46,7%	560	43,5%	1288
$\Sigma$ n	189	10,6%	801	45,0%	789	44,4%	1779
<b>rs226242</b>	GG	%	GA	%	AA	%	$\Sigma$ n
P	91	18,8%	217	44,8%	176	36,4%	484
K	239	18,7%	612	48,0%	425	33,3%	1276
$\Sigma$ n	330	18,8%	829	47,1%	601	34,2%	1760

SNP	Genotypenverteilung						
<b>rs225092</b>	GG	%	GC	%	CC	%	$\Sigma$ n
P	91	18,2%	230	46,1%	178	35,7%	499
K	238	18,3%	638	49,0%	425	32,7%	1301
$\Sigma$ n	329	18,3%	868	48,2%	603	33,5%	1800
<b>rs161807</b>	AA	%	AG	%	GG	%	$\Sigma$ n
P	85	17,7%	226	47,2%	168	35,1%	479
K	162	13,2%	607	49,6%	456	37,2%	1225
$\Sigma$ n	247	14,5%	833	48,9%	624	36,6%	1704
<b>rs226258</b>	GG	%	GT	%	TT	%	$\Sigma$ n
P	94	19,0%	236	47,7%	165	33,3%	495
K	179	13,8%	663	51,1%	455	35,1%	1297
$\Sigma$ n	273	15,2%	899	50,2%	620	34,6%	1792
<b>rs225119</b>	TT	%	TC	%	CC	%	$\Sigma$ n
P	94	19,0%	229	46,2%	173	34,9%	496
K	243	18,9%	625	48,7%	416	32,4%	1284
$\Sigma$ n	337	18,9%	854	48,0%	589	33,1%	1780

Die Assoziation des Krankheitsstatus (Schizophrenie vs. Kontrollen) mit den 8 Polymorphismen des PARK7- Gens wurde mittels mit des exakten Tests nach Fisher überprüft

Für vier der untersuchten acht Polymorphismen konnten Assoziationen zur Schizophrenie identifiziert werden (Tabelle 23, Abb. 9).

Dabei waren für rs4908488 sowohl die Allelverteilung ( $p=0,0019$ ), die Genotypverteilung ( $p=0,0079$ ) sowie der Vergleich der T-Allelträger mit den homozygoten GG- Trägern (dominantes Modell,  $p=0,002$ ) signifikant unterschiedlich zwischen den Gruppen.

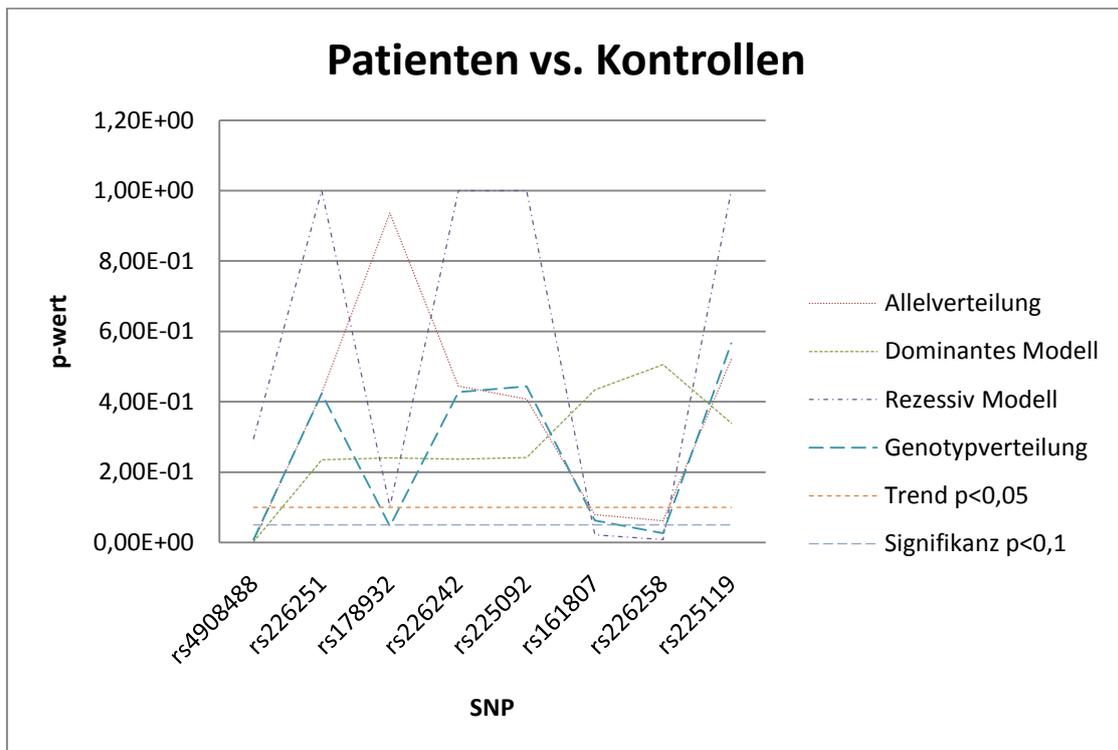
Bei rs178932 konnte für die Genotypverteilung ein signifikanter Zusammenhang zur Schizophrenie festgestellt werden ( $p= 0,0460$ ).

Die Allelverteilung von rs161807 ( $p=0,0787$ ) zeigte ebenso wie die Genotypverteilung ( $p=0,0622$ ) einen Trend zu häufigerem Vorkommen des A- Allels bzw. der AA- Genotypen in der Patientengruppe. Dies wurde durch eine signifikante Überrepräsentation der AA- Homozygoten im Vergleich zu G-Allelträgern in der Patientengruppe ( $p=0,0215$ ) bestätigt.

Für rs226258 ergab sich eine Allelverteilung von 0,0621 und somit ein Trend für den Zusammenhang zur Schizophrenie, Die Genotypverteilung (0,0264) zeigte einen signifikanten Zusammenhang zur Schizophrenie,

Bei homozygoten G-Trägern vs. T-Trägern ergab sich ein p Wert von 0,0080.

Die Variationen rs226251, rs226242, rs225092 und rs225119 zeigten in keiner der durchgeführten Gruppenzusammenstellungen eine signifikante Assoziation zur Schizophrenie.



**Abbildung 9** Assoziation der untersuchten Polymorphismen mit dem Phänotyp Schizophrenie. Dargestellt sind die Ergebnisse (p-Werte) der einzelnen statistischen Tests. Die Reihenfolge der SNPs auf der y-Achse entspricht der Anordnung auf dem Chromosom (5' nach 3').

Tabelle 23 Patienten vs. Kontrollen

SNP	Allele	Allel p-Wert	OR (CI)	Dominant p-Wert	OR (CI)	Rezessiv p-Wert	OR (CI)	Genotyp p-Wert
<b>rs4908488</b>	C/T	0,0019	0,71 (0,57-0,88)	0,0020	0,68 (0,53-0,87)	0,2951	0,68 (0,36-1,30)	0,0079
<b>rs226251</b>	T/C	0,4260	0,94 (0,81-1,09)	0,2354	0,87 (0,70-1,09)	1,0000	1,00 (0,77-1,31)	0,4225
<b>rs178932</b>	G/A	0,9365	0,99 (0,85-1,16)	0,2404	0,88 (0,71-1,08)	0,1017	1,32 (0,96-1,83)	0,0460
<b>rs226242</b>	G/A	0,4448	0,94 (0,81-1,09)	0,2373	0,87 (0,70-1,09)	1,0000	1,00 (0,77-1,31)	0,4273
<b>rs225092</b>	G/C	0,4075	0,94 (0,81-1,09)	0,2415	0,87 (0,70-1,09)	1,0000	1,00 (0,76-1,30)	0,4435
<b>rs161807</b>	A/G	0,0787	1,15 (0,99-1,34)	0,4337	1,10 (0,88-1,37)	0,0215	1,42 (1,06-1,89)	0,0622
<b>rs226258</b>	G/T	0,0621	1,15 (0,99-1,34)	0,5054	1,08 (0,87-1,35)	0,0080	1,46 (1,11-1,93)	0,0264
<b>rs225119</b>	T/C	0,5210	0,95 (0,82-1,10)	0,3396	0,89 (0,72-1,11)	1,0000	1,00 (0,77-1,30)	0,5662

### 5.3 Patienten mit schizophrenen Erstgradangehörigen vs. Kontrollen

Die Stichprobengröße gesamt enthält maximal 1829 Probanden, darunter 1319 Kontrollen und 97 schizophrene Patienten (Tabelle 24). Variationen zwischen den einzelnen SNPs sind wiederum auf vereinzelte Ausfälle in der Genotypisierung zurückzuführen.

**Tabelle 24** Stichprobengrößen schizophrener Erstgradangehöriger vs. Kontrollen

SNP	Genotypenverteilung						
<b>rs4908488</b>	CC	%	CT	%	TT	%	$\Sigma$ n
P	2	2,2%	20	22,5%	67	75,3%	89
K	46	3,6%	347	27,4%	873	69,0%	1266
$\Sigma$ n	48	3,5%	367	27,1%	940	69,4%	1355
<b>rs226251</b>	TT	%	TC	%	CC	%	$\Sigma$ n
P	19	20,7%	46	50,0%	27	29,3%	92
K	241	18,7%	633	49,2%	412	32,0%	1286
$\Sigma$ n	260	18,9%	679	49,3%	439	31,9%	1378
<b>rs178932</b>	GG	%	GA	%	AA	%	$\Sigma$ n
P	11	11,8%	40	43,0%	42	45,2%	93
K	127	9,9%	601	46,7%	560	43,5%	1288
$\Sigma$ n	138	10,0%	641	46,4%	602	43,6%	1381
<b>rs226242</b>	GG	%	GA	%	AA	%	$\Sigma$ n
P	19	20,7%	43	46,7%	30	32,6%	92
K	239	18,7%	612	48,0%	425	33,3%	1276
$\Sigma$ n	258	18,9%	655	47,9%	455	33,3%	1368

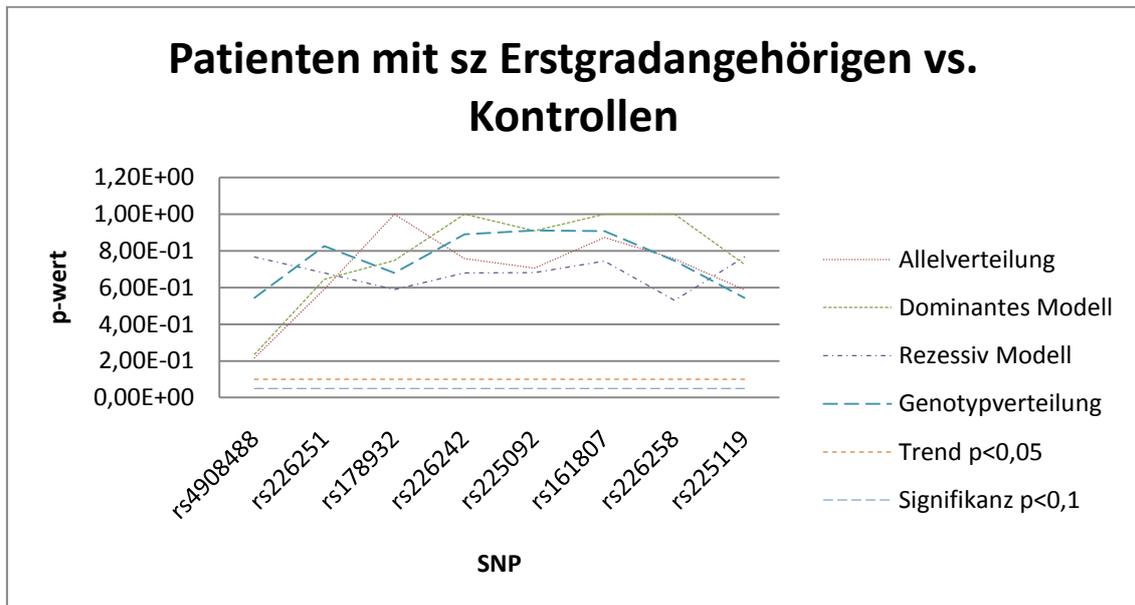
SNP	Genotypenverteilung						
<b>rs225092</b>	GG	%	GC	%	CC	%	$\Sigma$ n
P	19	20,0%	46	48,4%	30	31,6%	95
K	238	18,3%	638	49,0%	425	32,7%	1301
$\Sigma$ n	257	18,4%	684	49,0%	455	32,6%	1396
<b>rs161807</b>	AA	%	AG	%	GG	%	$\Sigma$ n
P	10	11,2%	46	51,7%	33	37,1%	89
K	162	13,2%	607	49,6%	456	37,2%	1225
$\Sigma$ n	172	13,1%	653	49,7%	489	37,2%	1314
<b>rs26258</b>	GG	%	GT	%	TT	%	$\Sigma$ n
P	10	10,9%	50	54,3%	32	34,8%	92
K	179	13,8%	663	51,1%	455	35,1%	1297
$\Sigma$ n	189	13,6%	713	51,3%	487	35%	1389
<b>rs225119</b>	TT	%	TC	%	CC	%	$\Sigma$ n
P	19	21,1%	44	48,9%	27	30,0%	90
K	243	18,9%	625	48,7%	416	32,4%	1284
$\Sigma$ n	262	19,1%	669	48,7%	443	32,2%	1374

Die Assoziation der untersuchten Polymorphismen zu dem Phänotyp schizophrene Erstgradangehörige vs. Kontrollen zeigt weder einen signifikanten Zusammenhang noch einen Trend bezüglich der Verteilung von Genotypen oder Allelen der getesteten SNPs.

Für die untersuchten acht Polymorphismen konnten in den Modellen keinerlei Assoziationen zur Schizophrenie identifiziert werden (Tabelle 25, Abb. 10).

**Tabelle 25 Patienten mit schizophrenen Erstgradangehörigen vs. Kontrollen**

SNP	Allele	Allel p-Wert	OR (Ci)	Dominant p-Wert	OR (Ci)	Rezessiv p-Wert	OR (Ci)	Genotyp p-Wert
rs4908488	C/T	0,2161	0,74 0,48-1,16	0,2352	0,73 0,44-1,20	0,7656	0,61 0,15-2,55	0,5432
rs226251	T/C	0,5902	1,10 0,81-1,48	0,6443	1,13 0,71-1,80	0,6788	1,13 0,67-1,91	0,8249
rs178932	G/A	1,0000	1,01 0,73-1,38	0,7468	0,93 0,61-1,43	0,5896	1,23 0,64-2,36	0,6796
rs226242	G/A	0,7578	1,05 0,78-1,43	1,0000	1,03 0,66-1,62	0,6787	1,13 0,67-1,91	0,8895
rs225092	G/C	0,7050	1,06 0,79-1,42	0,9099	1,05 0,67-1,65	0,6811	1,12 0,66-1,88	0,9106
rs161807	A/G	0,8729	0,96 0,70-1,32	1,0000	1,01 0,64-1,57	0,7445	0,83 0,42-1,64	0,9067
rs226258	G/T	0,7551	0,95 0,70-1,29	1,0000	1,01 0,65-1,58	0,5293	0,76 0,39-1,50	0,7453
rs225119	T/C	0,5863	1,10 0,81-1,49	0,7266	1,12 0,70-1,78	0,7656	0,61 0,15-2,55	0,5432



**Abbildung 10 Assoziation der untersuchten Polymorphismen zum Phänotyp schizophrene Erstgradangehörige vs. Kontrollen**

Analysiert wurden hierbei schizophrene Patienten mit schizophrenen Erstgradangehörigen, also Mutter, Vater, Geschwister etc.

## 5.4 Patienten mit psychiatrisch erkrankten Angehörigen vs. Kontrollen

Die Stichprobengröße gesamt enthält maximal 1.829 Probanden, darunter 1.319 Kontrollen und 372 schizophrene Patienten (Tabelle 26). Variationen zwischen den einzelnen SNPs sind auf vereinzelt Ausfälle in der Genotypisierung zurückzuführen.

**Tabelle 26 Stichprobengrößen psychiatrisch erkrankter Angehöriger vs. Kontrollen**

SNP	Genotyp						
<b>rs4908488</b>	CC	%	CT	%	TT	%	$\Sigma$ n
P	11	3,1%	74	21,1%	265	75,7%	350
K	46	3,6%	347	27,4%	873	69,0%	1266
$\Sigma$ n	57	3,5%	421	26,1%	1138	70,4%	1616
<b>rs226251</b>	TT	%	TC	%	CC	%	$\Sigma$ n
P	69	19,2%	166	46,1%	125	34,7%	360
K	241	18,7%	633	49,2%	412	32,0%	1286
$\Sigma$ n	310	18,8%	799	48,5%	537	32,6%	1646
<b>rs178932</b>	GG	%	GA	%	AA	%	$\Sigma$ n
P	45	12,5%	145	40,3%	170	47,2%	360
K	127	9,9%	601	46,7%	560	43,5%	1288
$\Sigma$ n	172	10,4%	746	45,3%	730	44,3%	1648
<b>rs226242</b>	GG	%	GA	%	AA	%	$\Sigma$ n
P	68	19,3%	159	45,0%	126	35,7%	353
K	239	18,7%	612	48,0%	425	33,3%	1276
$\Sigma$ n	307	18,8%	771	47,3%	551	33,8%	1629

SNP	Genotyp						
<b>rs225092</b>	GG	%	GC	%	CC	%	$\Sigma$ n
P	68	18,7%	168	46,2%	128	35,2%	364
K	238	18,3%	638	49,0%	425	32,7%	1301
$\Sigma$ n	306	18,4%	806	48,4%	553	33,2%	1665
<b>rs161807</b>	AA	%	AG	%	GG	%	$\Sigma$ n
P	55	15,9%	161	46,7%	129	37,4%	345
K	162	13,2%	607	49,6%	456	37,2%	1225
$\Sigma$ n	217	13,8%	768	48,9%	585	37,3%	1570
<b>rs226258</b>	GG	%	GT	%	TT	%	$\Sigma$ n
P	64	17,7%	170	47,1%	127	35,2%	361
K	179	13,8%	663	51,1%	455	35,1%	1297
$\Sigma$ n	243	14,7%	833	50,2%	582	35,1%	1658
<b>rs225119</b>	TT	%	TC	%	CC	%	$\Sigma$ n
P	70	19,4%	167	46,4%	123	34,2%	360
K	243	18,9%	625	48,7%	416	32,4%	1284
$\Sigma$ n	313	19,0%	792	48,2%	539	32,8%	1644

Bei der Assoziation der PARK7 Variationen mit der Schizophrenie von (Patienten mit psychiatrisch erkrankten Angehörigen vs. Kontrollen) ergab sich bei drei der acht Variationen die untersucht wurden entweder ein Trend oder ein signifikanter Zusammenhang zur Schizophrenie.

Für den **rs4908488** SNP ergeben sich in drei Modellen Signifikanzen.

Bei einem p-Wert von 0,0216; OR= 0,76 (CI 0,60-0,96) ergibt sich für die Allelverteilung ein signifikanter Unterschied.

Ein Vergleich der Häufigkeit der Genotypen, zeigt einen signifikanten Unterschied bei einem p-Wert von 0,0462.

In der Analyse des dominanten Modells (homozygote T-Träger vs. C-Träger), besteht in beiden Gruppen eine Verteilung zugunsten der homozygoten T-Allelträger, wobei in der Patientengruppe die homozygoten T-Träger mit 75,7% überrepräsentiert sind. Es ergibt sich eine signifikante Verteilung zwischen den beiden Gruppen ( $p=0,0144$ ).

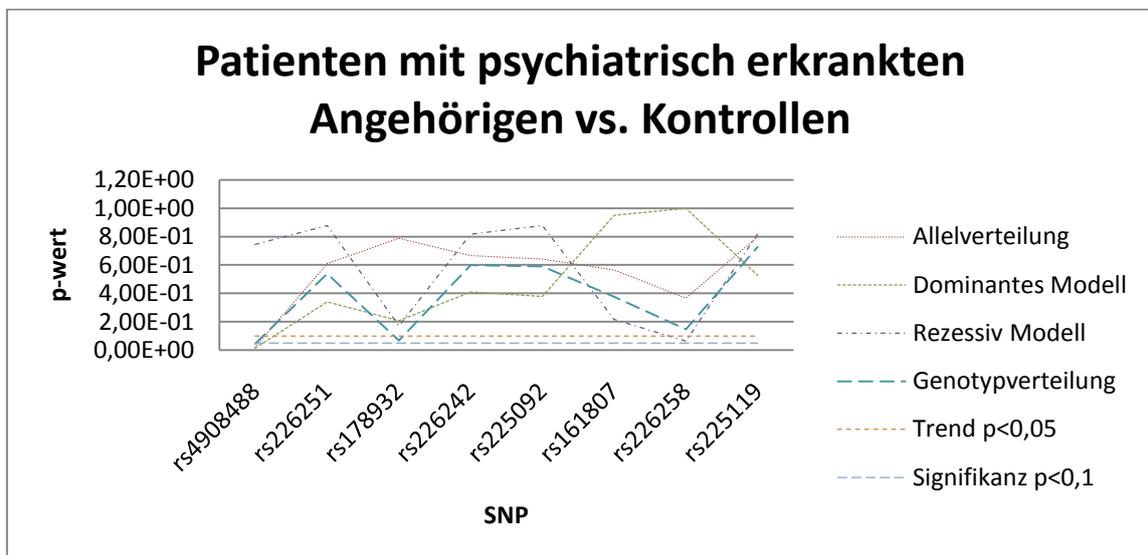
Bei **rs178932** ist in der Genotypverteilung mit einem p-Wert von 0,0677 ein Trend zu einem Unterschied dargestellt.

Bei den Kontrollen sind die heterozygoten Genotypen prozentual in der Mehrheit, gefolgt von den homozygoten A-Trägern und dann auch den homozygoten G-Trägern.

Bei **rs226258** ist im rezessiven Modell (homozygote G-Träger vs. T-Träger) ein Trend zu einem signifikanten Unterschied zwischen Patienten und Kontrollen zu finden ( $p=0,0645$ ;  $OR=1,35$  (CI 0,98-1,84)).

Bei allen andern Variationen wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt.

Untersucht wurden hierbei die Gruppen der schizophrenen Patienten und deren Angehörige die jemals unter einer psychiatrischen Erkrankung gelitten haben.



**Abbildung 11 Assoziation der untersuchten Polymorphismen zum Phänotyp Patienten mit psychiatrisch erkrankten Angehörigen vs. Kontrollen**

Tabelle 27 Patienten mit psychiatrisch erkrankten Angehörigen vs. Kontrollen

SNP	Allele	Allel p- Wert	OR (Ci)	Dominant p-Wert	OR (Ci)	Rezessiv p-Wert	OR (Ci)	Genotyp p-Wert
<b>rs4908488</b>	C/T	0,0216	0,76 0,60- 0,96	0,0144	0,71 0,54- 0,94	0,7453	0,86 0,44- 1,68	0,0462
<b>rs226251</b>	T/C	0,6095	0,95 0,81- 1,13	0,3407	0,89 0,69- 1,13	0,8788	1,03 0,76- 1,38	0,5389
<b>rs178932</b>	G/A	0,7883	0,98 0,82- 1,16	0,2082	0,86 0,68- 1,09	0,1717	1,31 0,91- 1,88	0,0677
<b>rs226242</b>	G/A	0,6673	0,96 0,81- 1,14	0,4091	0,90 0,70- 1,15	0,8178	1,04 0,77- 1,40	0,5989
<b>rs225092</b>	G/C	0,6410	0,96 0,81- 1,13	0,3786	0,89 0,70- 1,14	0,8784	1,03 0,76- 1,38	0,5888
<b>rs161807</b>	A/G	0,5644	1,06 0,89- 1,25	0,9498	0,99 0,78- 1,27	0,2161	1,24 0,89- 1,73	0,3758
<b>rs226258</b>	G/T	0,3667	1,08 0,92- 1,28	1,0000	1,00 0,78- 1,27	0,0645	1,35 0,98- 1,84	0,1465
<b>rs225119</b>	T/C	0,7984	0,97 0,82- 1,15	0,5260	0,92 0,72- 1,18	0,8200	1,03 0,77- 1,39	0,7267

## 5.5 Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen vs. Kontrollen

Die Stichprobengröße gesamt enthält maximal 1.829 Probanden, darunter 1.319 Kontrollen und 146 schizophrene Patienten (Tabelle 28).

**Tabelle 28 Stichprobengrößen an Schizophrenie erkrankter Angehöriger vs. Kontrollen**

SNP	Genotyp						
<b>rs4908488</b>	CC	%	CT	%	TT	%	Σ n
P	4	2,9%	29	21,2%	104	75,9%	137
K	46	3,6%	347	27,4%	873	69,0%	1266
Σ n	50	3,6%	376	26,8%	977	69,6%	1403
<b>rs226251</b>	TT	%	TC	%	CC	%	Σ n
P	31	22,1%	65	46,4%	44	31,4%	140
K	241	18,7%	633	49,2%	412	32,0%	1286
Σ n	272	19,1%	698	48,9%	456	32%	1426
<b>rs178932</b>	GG	%	GA	%	AA	%	Σ n
P	21	14,9%	58	41,1%	62	44,0%	141
K	127	9,9%	601	46,7%	560	43,5%	1288
Σ n	148	10,4%	659	46,1%	622	43,5%	1429
<b>rs226242</b>	GG	%	GA	%	AA	%	Σ n
P	31	22,3%	62	44,6%	46	33,1%	139
K	239	18,7%	612	48,0%	425	33,3%	1276
Σ n	270	19,1%	674	47,6%	471	33,3%	1415

SNP	Genotyp						
<b>rs225092</b>	GG	%	GC	%	CC	%	Σ n
P	31	21,8%	65	45,8%	46	32,4%	142
K	238	18,3%	638	49,0%	425	32,7%	1301
Σ n	269	18,6%	703	48,7%	471	32,6%	1443
<b>rs161807</b>	AA	%	AG	%	GG	%	Σ n
P	18	13,3%	65	48,1%	52	38,5%	135
K	162	13,2%	607	49,6%	456	37,2%	1225
Σ n	180	13,2%	672	49,4%	508	37,4%	1360
<b>rs226258</b>	GG	%	GT	%	TT	%	Σ n
P	21	15,0%	68	48,6%	51	36,4%	140
K	179	13,8%	663	51,1%	455	35,1%	1297
Σ n	200	13,9%	731	50,9%	506	35,2%	1437
<b>rs225119</b>	TT	%	TC	%	CC	%	Σ n
P	31	22,6%	63	46,0%	43	31,4%	137
K	243	18,9%	625	48,7%	416	32,4%	1284
Σ n	274	19,3%	688	48,4%	459	32,3%	1421

Bei der Assoziation der PARK7 Variationen mit der Schizophrenie (Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen vs. Kontrollen) wurden bei zwei der Variationen Trends zur Schizophrenie gefunden.

Für rs4908488 wurde bei der Analyse des dominanten Modells (homozygote T-Träger vs. C-Träger), ein Trend in der Verteilung zwischen den beiden Gruppen festgestellt ( $p=0,0970$ ;  $OR=0,70$  (CI 0,47-1,06)). Bei beiden Gruppen lag eine Verteilung zugunsten der homozygoten T-Allelträger vor, wobei in der Patientengruppe die homozygoten T-Träger im Vergleich zu CC-Trägern mit 75,9% überrepräsentiert waren.

Bei rs178932 ist in der Rezessivverteilung (homozygote G-Träger vs. A-Träger) der seltenere homozygote G-Genotyp in der Gruppe der Patienten überrepräsentiert. Eine Signifikanz ist hier nicht gegeben, jedoch kann man einen Trend zu einem signifikanten Unterschied feststellen, da der p-Wert 0,0789 beträgt;  $OR=1,60$  (CI 0,97-2,63).

Ein Unterschied bei allen anderen SNPs wurde nicht gefunden.

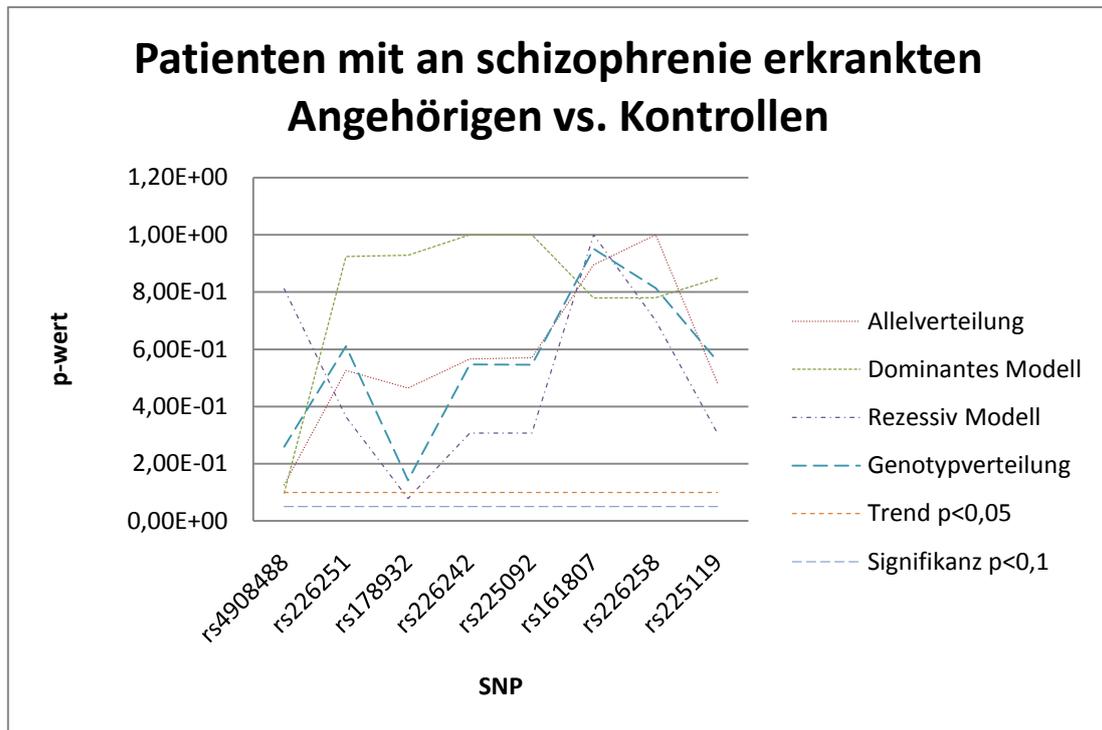


Abbildung 12 Assoziation der untersuchten Polymorphismen zum Phänotyp Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen vs. Kontrollen.

Tabelle 29 Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen vs. Kontrollen

SNP	Allele	Allel p-Wert	OR (Ci)	Dominant p-Wert	OR (Ci)	Rezessiv p-Wert	OR (Ci)	Genotyp p-Wert
rs4908488	C/T	0,1267	0,74 0,52-1,07	0,0970	0,70 0,47-1,06	0,8119	0,80 0,28-2,25	0,2589
rs22625	T/C	0,5262	1,08 0,85-1,39	0,9242	1,03 0,71-1,50	0,3644	1,23 0,81-1,88	0,6101
rs178932	G/A	0,4646	1,11 0,85-1,43	0,9289	0,98 0,69-1,39	0,0789	1,60 0,97-2,63	0,1424
rs226242	G/A	0,5660	1,08 0,84-1,39	1,0000	1,01 0,70-1,46	0,3074	1,25 0,82-1,90	0,5466
rs225092	G/C	0,5701	1,08 0,84-1,38	1,0000	1,01 0,70-1,47	0,3077	1,25 0,82-1,90	0,5462
rs161807	A/G	0,8949	0,98 0,75-1,26	0,7790	0,95 0,66-1,36	1,0000	1,01 0,60-1,70	0,9512
rs226258	G/T	1,0000	1,00 0,77-1,28	0,7801	0,94 0,66-1,36	0,6999	1,10 0,68-1,80	0,8135
rs225119	T/C	0,4809	1,10 0,86-1,41	0,8480	1,05 0,72-1,53	0,3055	1,25 0,82-1,91	0,5583

## 5.6 Haplotypen

Der p-Wert wurde mit einem Permutationstest mit 50.000 Permutationen bestimmt.

Für die Haplotypanalyse wurden nur Haplotypen mit einer Frequenz über 1% in die Analyse mit einbezogen. Probanden mit mehr als 50% fehlenden Genotypen wurden ausgeschlossen. Die Stichprobengröße war 1829 (1.319 Kontrollen; 510 Patienten).

Für das PARK-7 Gen konnten anhand der acht genotypisierten SNPs zwei Linkage Disequilibrium (LD)- Blöcke identifiziert werden.

Block1 (kb=0) besteht aus den 2 SNPs rs4908488 und rs226251, Block 2 mit einem rund 10kb großen Genombereich aus den SNPs rs226242, rs225092, rs161807, rs226258 und rs225119 (Abbildung 13).

Block 1 ist im Intron 2 zwischen den großen Exons 1 und 2 lokalisiert und enthält keine exonischen Genbereiche.

Block 2 umfasst die zwei großen Introns 5 und 6 am 3`-Ende des Gens. Dieser Block enthält Exon 6.

SNP rs178932 war in keinem der beiden LD-Blöcke enthalten.

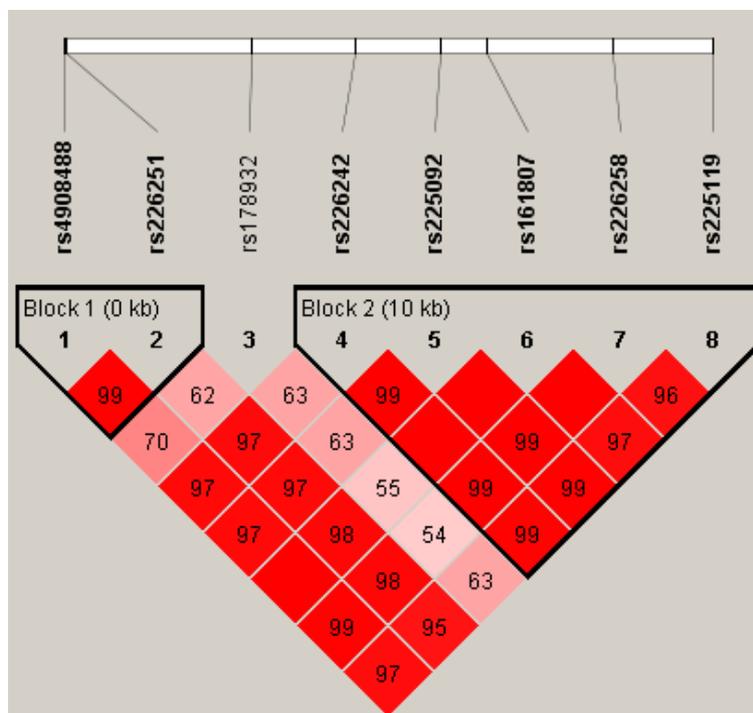


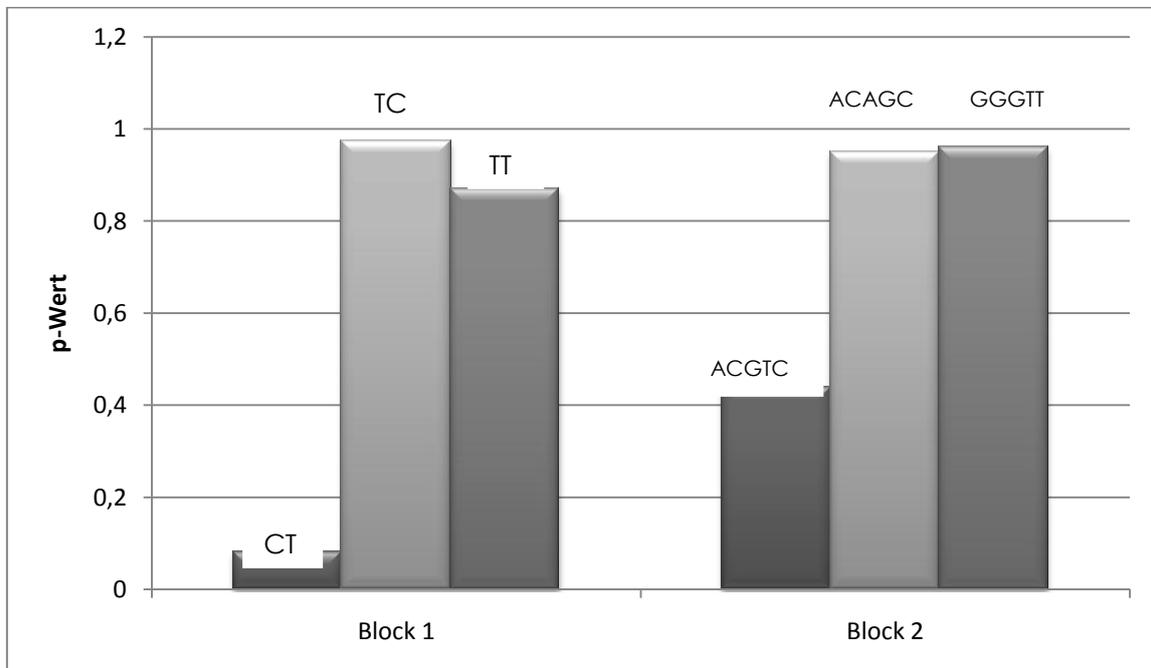
Abbildung 13 Blockstruktur der untersuchten Marker mit den *haploscores* für das Kopplungsungleichgewicht. Rote Kästchen ohne Zahl entsprechen einem Wert von 100.

Für keinen der Haplotypen aus Block 1 (CT, TC oder TT) bestehend aus den SNPs rs4908488 und rs226251 kann eine Signifikanz im Vergleich von schizophrenen Patienten mit gesunden Kontrollen gezeigt werden (Tabelle 35).

Lediglich bei Haplotyp CT ist ein Trend erkennbar ( $p=0,0812$ ), die weiteren Haplotypen TC und TT der beschriebenen SNPs weisen weder Signifikanz noch Trend auf.

Der zweite LD-Block, bestehend aus den SNPs rs226242, rs225092, rs161807, rs226258, rs225119 liegt in der hier getesteten Stichprobe in 3 Kombinationen vor.

Keiner der Haplotypen aus Block 2 (GGGT, ACGTC, ACAGC) weist dabei eine signifikante Assoziation mit der Erkrankung auf. (Abb. 14, Tab. 30)



**Abbildung 14** p-Werte der Haplotypblöcke 1 (rs4908488, rs226251) und Haplotypblock 2 (rs4941573, rs226242, rs225092, rs161807, rs226258, rs225119).

Tabelle 30 Zusammenfassung der Haplotypfrequenzen

Block	rs Nummern	Haplotyp	Haplotyp Frequenz	Haplotypanzahl Patienten: restliche Haplotypen	Haplotypanzahl Kontrollen: restliche Haplotypen	Haplotyp Frequenz Patienten	Haplotyp Frequenz Kontrollen	$\chi^2$	p-Wert
1	rs4908488, rs226251	CT	0,162	138.2 : 873.8	452.9 : 2177.1	0,137	0,172	6,846	0,0812
1	rs4908488, rs226251	TC	0,572	590.5 : 421.5	1492.2 : 1137.8	0,583	0,567	0,775	0,9735
1	rs4908488, rs226251	TT	0,266	283.4 : 728.6	684.9 : 1945.1	0,28	0,26	1,436	0,8704
2	rs226242, rs225092, rs161807, rs226258, rs225119	ACAGC	0,398	424.8 : 581.2	1018.4 : 1599.6	0,422	0,389	3,344	0,4401
2	rs226242, rs225092, rs161807, rs226258, rs225119	ACGTC	0,173	164.0 : 842.0	463.2 : 2154.8	0,163	0,177	0,981	0,9504
2	rs226242, rs225092, rs161807, rs226258, rs225119	GGGT	0,423	413.0 : 593.0	1120.0 : 1498.0	0,411	0,428	0,89	0,9614

## 6 Diskussion

### 6.1 Übersicht zu den experimentellen Befunden

Ziel dieser Arbeit war es festzustellen, ob ein Zusammenhang zwischen den untersuchten Haplotypen und den acht Polymorphismen rs161807, rs178932, rs225092, rs225119, rs226242, rs226251, rs226258, rs4908488 des Gens PARK7 und dem Vorliegen einer Schizophrenie besteht.

Da die Untersuchten SNPs und das dazugehörige Gen verhältnismäßig rezent entdeckt wurden und vorwiegend in Zusammenhang mit der Parkinsonerkrankung untersucht wurden, liegen zum heutigen Zeitpunkt keine Vergleichs- oder Referenzstudien zu diesem Thema vor.

Aufgrund der vorliegenden Resultate lassen sich folgende Aussagen treffen:

Für die Gruppe Patienten vs. Kontrollen zeigte sich bei dem Polymorphismus rs4908488 in der 5'-Region von PARK7 bezüglich Allelverteilung ein signifikanter Unterschied zwischen den Allelen C und T bei der Kontroll- und Patientengruppe, sowohl in der Allelverteilung, als auch bei den homozygoten T-Trägern und der Genotypverteilung. Der Rezessiv-Test zeigte keine Signifikanz für diese Gruppe.

Es zeigten sich weiterhin bei rs178932, wieder einem SNP aus der 5'-Region von PARK7, in der Genotypverteilung zwischen Patienten und Kontrollgruppe signifikante Unterschiede.

Der SNP rs161807 aus der 3'-Region weist eine signifikante Assoziation für die homozygoten A-Allelträger und eine Trend für die Allelträger und die Genotypträger.

Bei dem Polymorphismus rs226258 wiederum aus der 3'-Region, waren die beiden Allele A und T nicht signifikant unterschiedlich auf beide Gruppen verteilt, jedoch zeigte sich ein Trend. Sowohl in der Genotypverteilung als auch beim Vergleich der homozygoten G-Träger mit den T-Allelträgern fand sich ein signifikanter Unterschied zwischen Kontrollprobanden und Patienten.

In der Gruppe Patienten mit schizophrenen Erstgradangehörigen vs. Kontrollen gab es für alle SNPs weder Trends noch signifikante Unterschiede.

Der SNP rs4908488 wies in der Gruppe Patienten mit psychiatrisch erkrankten Angehörigen vs. Kontrollen als einziges einen signifikanten Unterschied für Allel- und Genotypträger sowie T-Träger auf. Die Verteilung der Genotypen ist im vorherigen Kapitel der Ergebnisse erläutert.

In der Gruppe Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen versus Kontrollen wiesen keine der SNPs eine Signifikanz auf.

Es gab in allen Subgruppen keine signifikanten Unterschiede für die Polymorphismen rs226251, rs226242, rs225092 und rs225119.

Im Folgenden sollen auch im Hinblick auf folgende Replikationsversuche auf einige zu berücksichtigende Faktoren bei der Durchführung einer solchen Studie eingegangen werden, welche die Ergebnisse beeinflussen könnten. Die weitere Diskussion der Methoden beruft sich auf allgemeine Betrachtungen von vergleichbaren Assoziationsstudien und deren Unterschiede.

## **6.2 Diskussion der Methoden**

Assoziationsstudien mit Fall-Kontroll Design eignen sich gut, um Faktoren auf einem Genom aufzudecken, die nur einen kleinen Effekt auf die Entstehung einer Krankheit haben. Dabei beruht der Prozess der Aufdeckung solcher Faktoren auf der Assoziation mit Einzelnukleotidpolymorphismen. (Owen 2000; Maier et al. 1999a)

Die Studie umfasste 510 Patienten und 1319 Kontrollprobanden. Der Vergleich mit anderen Assoziationsstudien, die Suszeptibilitätsgene für Schizophrenie untersuchten, zeigt einen klaren Trend zu größeren Kohorten. Ist das Studienkollektiv zu klein gewählt, wird es schwierig eine valide Aussage zu treffen, wenn Marker untersucht werden, die sehr häufig oder sehr selten in der Bevölkerung vorhanden sind, oder aber bei denen zwischen Patienten und Kontrollen nur eine kleine Differenz der Häufigkeit aufzufinden ist.

Unsere Teilnehmerzahl scheint im Vergleich jedoch vertretbar (Allen et al. 2008; Owen 2000; Schumacher et al. 2004; van den Bogaert et al. 2003).

### **6.2.1 Ethnische Abstammung der Probanden**

Die vergleichbare Ethnizität ist analog zur Gruppengröße eine relevante Voraussetzung für die valide Durchführung einer Studie. Die Populationsstratifikation verschiedener ethnischer Abstammung könnte aufgrund der verschiedenen Häufigkeiten zu einer verzerrten Darstellung und zu falsch-positiven oder falsch-negativen Ergebnissen führen, wenn die Verteilung der Allel-, und Genotypfrequenz divergiert (Lander & Schork 1994; Owen 2000).

Daher wurde in der vorliegenden Studie unter Berücksichtigung der Ein- und Ausschlusskriterien auf ethnische Homogenität der Stichprobe geachtet und nur Personen aus dem kaukasischen Raum eingeschlossen, um eine valide Aussagekraft der SNPs bezogen auf die Ethnizität zu gewährleisten.

Die genetischen Varianten verschiedener Populationen werden vom International Hap Map Project (International HapMap Consortium 2005) identifiziert und eingeteilt. Die genaue Betrachtung der Daten für unsere SNPs zeigt deutlich, welche Unterschiede in den Abstammungen und den Merkmalen der Mutationen herrschen kann. Anhand des HapMaps können die Allel-, und Genotypfrequenz mit Durchschnittswerten aus verschiedenen Bevölkerungsgruppen verglichen und katalogisiert werden.

Das Sample 3 des HapMap's umfasst die Daten von 1.301 Personen aus mehr als zehn Populationen z.B. Han Chinesen, Beijing, Japaner, Tokyo, Yoruba aus Ibadan (Nigeria), Einwohner aus Utah, USA mit Ahnen aus Nord- und Westeuropa.

Die entsprechenden Allel-, und Genotypfrequenzen der untersuchten SNPs für PARK7 in den einzelnen Stichproben im Vergleich zu den HapMap Daten sind in Tabelle 31 aufgezeigt. <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>

P = Patientengruppe

K = Kontrollgruppe

E = Europäer (Bewohner von Utah, nord- und westeuropäischer Herkunft)

C = Han Chinesen (Peking)

J = Japaner (Tokyo)

A = Afrikaner (Nigeria)

Tabelle 31 Allel und Genotypfreq. der untersuchten SNPs für Phänotyp Pat. vs. Kon.

	Geno- -typ	Freq. %	Geno- -typ	Freq. %	Geno- -typ	Freq. %	Allel	Freq. %	Allel	Freq. %
<b>rs4908488</b>										
<b>P</b>	C/C	0,023	C/T	0,196	T/T	0,715	C	0,122	T	0,814
<b>K</b>	C/C	0,034	C/T	0,263	T/T	0,662	C	0,166	T	0,793
<b>E</b>	C/C	0,018	C/T	0,223	T/T	0,759	C	0,129	T	0,871
<b>C</b>	C/C	0	C/T	0,118	T/T	0,882	C	0,059	T	0,941
<b>J</b>	C/C	0,009	C/T	0,186	T/T	0,805	C	0,102	T	0,898
<b>A</b>	C/C	0	C/T	0,150	T/T	0,850	C	0,075	T	0,925
<b>rs226251</b>										
<b>P</b>	T/T	0,180	C/T	0,443	C/C	0,337	T	0,402	C	0,559
<b>K</b>	T/T	0,182	C/T	0,480	C/C	0,312	T	0,423	C	0,552
<b>E</b>	T/T	0,177	C/T	0,416	C/C	0,407	T	0,385	C	0,615
<b>C</b>	T/T	0,139	C/T	0,380	C/C	0,482	T	0,328	C	0,672
<b>J</b>	T/T	0,142	C/T	0,487	C/C	0,372	T	0,385	C	0,615
<b>A</b>	T/T	0,007	C/T	0,156	C/C	0,837	T	0,085	C	0,915
<b>rs178932</b>										
<b>P</b>	G/G	0,212	A/G	0,392	A/A	0,345	G	0,318	A	0,645
<b>K</b>	G/G	0,096	A/G	0,456	A/A	0,425	G	0,324	A	0,652
<b>E</b>	G/G	0,150	A/G	0,389	A/A	0,460	G	0,345	A	0,655
<b>C</b>	G/G	0,095	A/G	0,401	A/A	0,504	G	0,296	A	0,704
<b>J</b>	G/G	0,133	A/G	0,425	A/A	0,442	G	0,345	A	0,655
<b>A</b>	G/G	0,0	A/G	0,027	A/A	0,973	G	0,014	A	0,986
<b>rs226242</b>										
<b>P</b>	G/G	0,178	A/G	0,425	A/A	0,345	G	0,391	A	0,558
<b>K</b>	G/G	0,181	A/G	0,464	A/A	0,322	G	0,413	A	0,554
<b>E</b>	G/G	0,168	A/G	0,425	A/A	0,407	G	0,381	A	0,619
<b>C</b>	G/G	0,139	A/G	0,380	A/A	0,482	G	0,328	A	0,672
<b>J</b>	G/G	0,159	A/G	0,496	A/A	0,345	G	0,407	A	0,593
<b>A</b>	G/G	0,007	A/G	0,143	A/A	0,850	G	0,078	A	0,922

Tabelle 32 forts. Allel und Genotypfreq. der untersuchten SNPs für Phänotyp Pat. vs. Kon.

	Geno- -typ	Freq. %	Geno- -typ	Freq. %	Geno- -typ	Freq. %	Allel	Freq. %	Allel	Freq. %
<b>rs225092</b>										
<b>P</b>	G/G	0,178	G/C	0,450	C/C	0,349	G	0,404	C	0,575
<b>K</b>	G/G	0,180	G/C	0,484	C/C	0,322	G	0,422	C	0,564
<b>E</b>	G/G	n.a.	G/C	n.a.	C/C	n.a.	G	n.a.	C	n.a.
<b>C</b>	G/G	n.a.	G/C	n.a.	C/C	n.a.	G	n.a.	C	n.a.
<b>J</b>	G/G	n.a.	G/C	n.a.	C/C	n.a.	G	n.a.	C	n.a.
<b>A</b>	G/G	n.a.	G/C	n.a.	C/C	n.a.	G	n.a.	C	n.a.
<b>rs161807</b>										
<b>P</b>	A/A	0,167	A/G	0,443	G/G	0,329	A	0,388	G	0,551
<b>K</b>	A/A	0,123	A/G	0,460	G/G	0,346	A	0,353	G	0,576
<b>E</b>	A/A	0,239	A/G	0,416	G/G	0,345	A	0,447	G	0,553
<b>C</b>	A/A	0	A/G	0,007	G/G	0,993	A	0,004	G	0,996
<b>J</b>	A/A	0	A/G	n/a	G/G	1,000	A	0	G	1,000
<b>A</b>	A/A	0	A/G	0,088	G/G	0,912	A	0,044	G	0,956
<b>rs226258</b>										
<b>P</b>	G/G	0,184	G/T	0,463	T/T	0,324	G	0,416	T	0,555
<b>K</b>	G/G	0,136	G/T	0,503	T/T	0,345	G	0,387	T	0,596
<b>E</b>	G/G	0,159	G/T	0,460	T/T	0,381	G	0,389	T	0,611
<b>C</b>	G/G	0	G/T	n/a	T/T	1,000	G	0	T	1,000
<b>J</b>	G/G	0	G/T	n/a	T/T	1,000	G	0	T	1,000
<b>A</b>	G/G	0	G/T	0,016	T/T	0,984	G	0,008	T	0,992
<b>rs225119</b>										
<b>P</b>	T/T	0,184	C/T	0,449	C/C	0,339	T	0,409	C	0,564
<b>K</b>	T/T	0,184	C/T	0,473	C/C	0,315	T	0,421	C	0,552
<b>E</b>	T/T	0,168	C/T	0,425	C/C	0,407	T	0,381	C	0,619
<b>C</b>	T/T	0,140	C/T	0,375	C/C	0,485	T	0,327	C	0,673
<b>J</b>	T/T	0,159	C/T	0,496	C/C	0,345	T	0,407	C	0,593
<b>A</b>	T/T	0,007	C/T	0,116	C/C	0,878	T	0,065	C	0,935

Die Verteilung der Allele und Genotypen der DJ-1 Marker rs4908488, rs225119, rs226258, rs225092, rs226242, rs4908488 weichen in der vorliegenden Stichprobe nur geringfügig von der Verteilung in der kaukasischen Stichprobe der Einwohner aus Utah (CEU) ab. (Tabelle 32)

Lediglich die SNPs rs178932 und rs161807 weisen eine größere Abweichung auf, welche auf punktuelle Populationsunterschiede oder Größenunterschiede im untersuchten Pool zurückzuführen sein könnten die zu einem Bias führen. Diese sollten bei Folgestudien berücksichtigt werden und speziell für diese zwei SNPs validiert bzw. korrigiert werden.

### **6.2.2 Alter der Teilnehmer**

Das Alter der Studienteilnehmer kann ebenso das Ergebnis verfälschen, wenn die Teilnehmerkohorten eine hohe Heterogenität im Altersdurchschnitt aufweisen.

Dies trifft insbesondere zu, wenn das Durchschnittsalter der Teilnehmer bei Krankheitsbeginn unter dem allg. angenommenen Alter liegt (Häfner & an der Heiden 1999).

Hier kann es dann zu falsch-negativen Ergebnissen kommen, wenn zum Zeitpunkt des Befundes, die Krankheit noch nicht symptomatisch ist und gerade dann bei genetischen Untersuchungen zum Tragen kommt wenn diese Probanden mit der schizophrenen Kohorte verglichen werden. Diese können zu einem späteren Zeitpunkt erkranken oder aber wenn das Durchschnittsalter der Kontrollprobanden unterhalb des typischen Ersterkrankungsalters für Schizophrenie, also zwischen 22 und 32 Jahren, liegt (Häfner & an der Heiden 1999).

In der vorliegenden Studiengruppe lag das mittlere Alter für Patienten bei 37,7 Jahren und für Kontrollen bei 46,3 Jahren und damit deutlich über dem 32. Lebensjahr. Zwar kann dadurch nicht vollständig ausgeschlossen werden, dass ein späterer Ausbruch der Krankheit nicht übersehen wird, jedoch wird zumindest das Risiko minimiert, da sich an die vorgegebenen Parameter gehalten wird.

### **6.2.3 Diagnostische Tools und Skalen**

Relevant für die Studienergebnisse ist des Weiteren die enge Diagnosestellung bei der Rekrutierung des Patientenkollektivs, um eine Vergleichbarkeit zu gewährleisten. Bei ausgeweiteter Definition des Begriffs der Schizophrenie zählen 15-20% der diagnostizierten Psychosen zu den schizoaffektiven Störungen (Marneros et al 1991).

Weiterhin sollte differentialdiagnostisch nach organischen und nichtorganischen bzw. substanzinduzierten Störungen abgegrenzt werden. Daher sind die wichtigsten Qualitätskriterien bei einer empirischen Studie Validität, Objektivität und Reliabilität.

Die Klassifikation nach DSM-IV wurde in dieser Studie verwendet, da es in der psychiatrischen Forschung ein international anerkanntes System mit engen Kriterien zur Klassifizierung der Schizophrenie ist (Giegling et al. 2008).

Dadurch trägt es zu einer verbesserten Objektivität und Reliabilität bei, auch wenn zur Diagnosefindung die pathognomonischen Indizien oder messbaren Laborwerte fehlen und die Diagnose mitunter auf der subjektiven Einschätzung des jeweiligen Untersuchers beruht.

Das SKID, welches zur Diagnosestellung entwickelt wurde, kam aufgrund der hohen Reliabilität zum Einsatz, da es auch von anderen Studien mit vergleichbarem Ziel verwendet wurde (Goldberg et al. 2006; Segal, Hersen & van Hasselt 1994; van Den Bogaert et al. 2003). In die Einschlussdiagnose mithilfe des SKID flossen, neben den Schilderungen des Patienten zu seinem Ist- und War-Zustand, auch Beobachtungen der ausgebildeten Untersucher, vorliegende Arztbriefe und andere Dokumente ein.

Wie jedes Interview beruht auch dieses auf den subjektiven Einschätzungen des Untersuchers bestimmter Symptome, sowie dem Wahrheitsgehalt des Patienten, so dass es unter anderem zu unkorrekten und/oder fehlenden Angaben kommen kann, die die Einschätzung und Kategorisierung beeinflussen oder erschweren. So sind gerade bei blanden Verläufen oder der Einschätzung des Wahrheitsgehaltes oder der Affektivität Fehleinschätzungen möglich.

Eine lückenlose Dokumentation und ausführliche Informationen über das Umfeld, familiäre Situation und Sozialisierung helfen erfahrungsgemäß, die Diagnosen in den richtigen Kontext zu bringen und richtig einzuschätzen.

Verschiedene klinische Diagnoseverfahren und Einschlusskriterien können die Assoziationsergebnisse möglicherweise beeinflussen vor allem wenn es sich wie bei der Schizophrenie nicht um eine einzelne Erkrankung handelt sondern eher um einen Symptomenkomplex (Stefansson et al. 2009). Dadurch werden häufig bei Assoziationsstudien auch Patienten mit Erkrankungen des schizophrenen Formenkreises eingeschlossen, wodurch sich zwar die Patientenzahl erhöht aber auch weniger differenzierte Ergebnisse erwartet werden. (Goldberg et al. 2006; van Den Bogaert et al. 2003).

Durch die Objektivierung des psychiatrischen Zustandes Mittels LEBI, FHAM und SKID wurde sichergestellt, dass die Kontrollprobanden und ihre Angehörigen gesund sind und weder neurologische noch psychiatrische Erkrankungen aufweisen.

Daraus ergibt sich allerdings ein hoher zeitlicher Aufwand sowohl für die durchführenden Mitarbeiter als auch für jeden einzelnen Probanden.

Dies potenziert sich insbesondere, wenn eine hohe Fallzahl, mit dem Vorteil eines möglichst kleinen BIAS, angestrebt wird.

Zusätzlich wurde die PANSS durchgeführt um die Diagnose noch einmal zu validieren und sicherzustellen, dass es sich nicht um eine Fehldiagnose aus einem ähnlichen Formenkreis handelt.

Ein Einbezug anderer schizophrenieformen Erkrankungen würde zwar eine höhere Kohortenzahl erbringen, auf der anderen Seite undifferenzierte Ergebnisse zur Folge haben.

### **6.2.4 Ätiologische Heterogenität und multifaktorielle Genese der Erkrankung**

Da es sich bei der Schizophrenie nach heutigem Wissenstand um eine multifaktorielle Genese handelt, kann entsprechend der Phänotyp durch verschiedenste pathophysiologische Mechanismen und Einflüsse hervorgerufen werden, so dass auch einzelne Gene nur einen geringen Einfluss haben und eventuell von Patient zu Patient unterschiedliche Gene zur Krankheitsausprägung beitragen (Andreasen 2000; Owen 2000).

Für die Rekrutierung der Kontrollprobanden der vorliegenden Studie wurde eine negative persönliche und familiäre Anamnese psychiatrischer und neurologischer Erkrankungen zusätzlich durch strukturierte Interviews (SKID) untermauert, um eine möglichst gesunde Kohorte mit wenig fehlerhaften Einschlüssen zu erhalten. Der Nachteil bei dieser Prozedur ist der hohe zeitliche und logistische Aufwand für Mitarbeiter des Instituts und die einzuschließenden Personen. Für die Erstellung eines Pools mit hoher Fallzahl sind so bislang mehrere Jahre vergangen.

Die bereits beschriebenen Familienstudien zeigen, dass der dominierende Einflussfaktor bei der Entstehung der Schizophrenie die genetische Vererbung ist, welche einen Anteil von ca. 45-75% an den gesamten ätiologischen Faktoren bei der Schizophrenie hat (Cannon et al. 1998; Franzek & Beckmann 1996).

Da monozygote Zwillinge jedoch nur eine Konkordanz von ca. 50% haben, kommt auch den äußeren Umständen und Umweltfaktoren eine hohe Bedeutung zu. Dazu zählen Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen, Infektionen der Mutter und des Kindes während der Schwangerschaft, Drogenkonsum in der Adoleszenz und urbane Sozialisation.

Die unterschiedliche Ausprägung wird dabei nicht ausschließlich durch die mutierten Gene oder Allelvarianten bestimmt, sondern auch durch die Umwelt- und epigenetischen Faktoren. Dies hat zur Folge, dass auch das Ansprechen auf eine medikamentöse Therapie individuell variiert und dementsprechend eine Vielfalt an unterschiedlichen Forschungsansätzen und Ergebnissen der verschiedenen untersuchten Populationen vorliegen.

Der Einfluss dieser Faktoren variiert naturgemäß zwischen den Populationen, so dass auch die Vergleichbarkeit je nach untersuchter Kohorte unterschiedlich sein kann und die Reproduktion der Studienergebnisse verfälscht bzw. die Ergebnisse verändert. Darüber hinaus können die Effekte die reine genetische Aussage verändern oder überdecken.

## **6.3 Diskussion der Ergebnisse**

### **6.3.1 SNP Aussagen**

Die vorliegende Studie mit der Vermutung einer Beteiligung des PARK7 Gens an der Entstehung der Schizophrenie beruht auf bereits durchgeführten Untersuchungen, sowie pharmakologischen- und Tiermodellen.

#### **SNP rs4908488**

Bei dem Vergleich der Gruppen der Patienten und Kontrollen und dem der Patienten mit psychiatrisch erkrankten Familienmitgliedern vs. Kontrollen, waren sowohl für die Allelverteilung, die Genotypverteilung und die T-Allelträger (CC vs. CT und TT) signifikante Unterschiede darzustellen. Dabei war der homozygote TT-Genotyp bei den Patienten überrepräsentiert.

Der Polymorphismus rs4908488 könnte demnach mit dem T-Allel an der Entstehung der Schizophrenie beteiligt sein. Für die Zukunft sollten in diese Richtung, z.B. zur Verifizierung der festgestellten Tendenz, weitere Untersuchungen durchgeführt werden.

#### **SNP 178932**

Dieser Polymorphismus zeigte in der Gruppe der Patienten vs. Kontrollen einen signifikanten Unterschied in der Genotypverteilung.

#### **SNP 161807**

Die vorliegenden Ergebnisse könnten auf einen Zusammenhang des Polymorphismus rs161807 mit der Schizophrenie hindeuten. Hier war ein signifikanter Unterschied zwischen Patienten und Kontrollen nach Analyse mit dem rezessiven Modell festzustellen.

#### **SNP 226258**

Der Vergleich von Patienten vs. Kontrollen ergab für diesen SNP einen signifikanten Zusammenhang sowohl mit der Genotypverteilung als auch im rezessiven Modell.

### **SNP rs226251, 226242, 225092, 225119**

Für diese SNPs liegen keine signifikanten Ergebnisse bzw. Unterschiede vor. Die Tatsache, dass bei keinem der 4 genannten SNPs dieser Gruppe ein signifikanter Unterschied bei schizophrenen Patienten und den Kontrollen gefunden wurde, lässt nicht unmittelbar darauf schließen, dass erbliche Veranlagungen in den untersuchten SNPs vorhanden sind oder auch, dass die Sozialisation innerhalb der Familie eine Rolle spielt. Hier gab es zwar Trends, die jedoch nicht signifikant sind und somit keinen Rückschluss zulassen.

Die acht im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Polymorphismen wurden bis zum jetzigen Zeitpunkt wenig, beziehungsweise gar nicht in Zusammenhang der Schizophrenie erforscht. Insbesondere die Ergebnisse zu den Polymorphismen 4908488, 178932, 161807 und 226258 weisen auf vielversprechende Kandidaten für weitere Untersuchungen hin.

### **6.3.2 Haplotypen**

Die acht untersuchten Marker von PARK7 lagen in der vorliegenden Studie auf zwei LD-Blöcken. Die Marker rs226251, rs4908488 waren im ersten Block lokalisiert, die Marker rs226242, rs225092, rs161807, rs226258, rs225119 im zweiten.

Keiner der untersuchten Haplotypen kam in der vorliegenden Stichprobe bei schizophrenen Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden signifikant seltener oder häufiger vor.

### **6.3.3 Funktionelle Einflüsse des PARK 7 Gens auf die Schizophrenie**

Für die weitere Untersuchung des PARK7 Gens und seine Polymorphismen gibt es mehrere Ansätze und Begründungen:

Da es an vielen zellulären Prozessen beteiligt ist, von denen angenommen wird, dass sie der Parkinson Erkrankung zugrunde liegen (Abeliovich & Flint Beal 2006), kann es durchaus sein, dass auch zu den Mechanismen der Schizophrenie Parallelen gezogen werden können, wenn nicht sogar die gleichen Fehlfunktionen bzw. Mutationen des PARK7 Gens wie beim Parkinson das neuronale System der Schizophrenie verändern können.

Im vorliegenden Fall der acht untersuchten Marker liegen alle auf nicht kodierenden Introns. Somit gilt für alle, dass eine direkte Auswirkung auf die Transkription, nicht angenommen werden kann.

Zum heutigen Zeitpunkt liegen für alle acht SNPs noch keine abschließenden Untersuchungen vor, die mögliche alternative Mechanismen post-transkriptionaler oder epigenetischer Art, welche einen Einfluss auf die Translation des Proteins haben könnten, beeinhalteten.

Es wurden bislang jedoch zwei Typen von Mutationen bei PARK7 detektiert:

- eine Deletion mehrerer Basenpaare an der Intron-Exon-Grenze, die durch die Beeinflussung der Spleißregion einen vorzeitigen Proteinabbruch bewirkt,
- Deletionen eines oder mehrerer Exons, die zu einer Veränderung des Transskripts führen und zu einem vorzeitigen Abbruch der Translation (Schäfer 2006).

Folglich fehlt dem Protein durch alle Mutationen die C-terminale Helix. Untersuchungen der Kristallstruktur lassen vermuten, dass das DJ-1 -Protein obligat als Dimer vorliegt. Die Dimerisierung wird durch Deletionen relativ kleiner Sequenzabschnitte am N- oder C-terminalen Ende stark abgeschwächt oder aufgehoben.

Die Konsequenz dieser Strukturveränderung ist wahrscheinlich ein Funktionsverlust des DJ-1-Proteins. Es bleibt zu klären, wie der toxische Effekt auf dopaminerge Neurone durch einen Funktionsverlust des DJ-1 -Proteins vermittelt wird.

### **6.3.4 Schizophrenie und oxidativer Stress**

Eine der wichtigsten Funktionen des PARK7 Gens ist jedoch der Schutz der Zelle vor oxidativem Stress (Yang et al. 2005; Lev et al. 2008).

Der Pathophysiologie der Schizophrenie liegen ätiologisch verschiedenste Einflussfaktoren zugrunde, welche die Schizophrenie begünstigen oder auslösen können. Dazu gehören sowohl genetische als auch externe Faktoren die die Entwicklung des Gehirns beeinflussen (Sawa & Snyder 2002; Harrison & Weinberger 2005; Mueser & McGurk 2004).

Auch wenn noch nicht alle Zusammenhänge der Ätiopathogenese der Schizophrenie in Ihrer Komplexität verstanden und untersucht worden sind, scheint oxidativer Stress als Konsequenz einer abnormalen Redox-Reaktion der Zelle, als hypothetische Erklärung für die Pathophysiologie immer interessanter zu werden (Matsuzawa & Hashimoto 2011; Zhang et al. 2010).

PARK7 ist erwiesenermaßen an den Redox-Vorgängen der Zelle beteiligt und kann umgekehrt durch Fehlfunktionen des Gens, zum Verlust der Funktionsfähigkeit der Zelle führen (Yao & Reddy 2011). Diese Veränderungen der Redox-Fähigkeit sind reversibel und nicht statisch.

Durch den Verlust der Funktionsfähigkeit, kommt es zu oxidativem Stress der Mitochondrien in der Zelle, wodurch die Zellsysteme aus dem Gleichgewicht geraten. Hierdurch wiederum, kommt es zu Veränderungen sowohl im dopaminergen System, als auch im glutamatergen System, welche die Entwicklung einer Schizophrenie bedingen können.

Darüber hinaus bewirkt ein Verlust von DJ-1 in Astrozyten eine übermäßige Produktion von NO und Zytokinen, welches wiederum zu einem Absterben kortikaler Neuronen führt. Diese Apoptose wird vermutlich durch die übermäßige Produktion von NO, Prostaglandinen und proinflammatorischen Zytokinen ausgelöst (Heales et al. 2004; Calabrese et al. 2001).

Die verstärkte Produktion von NO führt zu einem Anstieg des oxidativen Stresses in Form von reaktiven Stickstoffspezies (RNS) und ROS in Neuronen. Da der Verlust von DJ-1 Zellen wesentlich empfindlicher gegenüber oxidativem Stress macht, kommt es zu einem verstärkten Zelltod im Vergleich zu wildtyp-Neuronen (Martinat et al. 2004; Taira et al. 2004; Yang et al. 2005; Mo et al. 2008). Die kognitive Dysfunktion, welche mit einem Ungleichgewicht in der Produktion und Ausscheidung von ROS und RNS verbunden wird, scheint auch variabel und modifizierbar zu sein (Massaad & Klann 2011; Calabrese et al. 2006)

Weil in Patienten mit PARK7-Mutationen sowohl Astrozyten als auch Neuronen betroffen sind, wird auch in diesen die astrozytenvermittelte Neurodegeneration noch weiter verstärkt. In einer aktuellen Studie wurde die Frage untersucht, inwieweit DJ-1 in Astrozyten kokultivierte Neurone gegen oxidativen Stress schützt (Mullett & Hinkle 2009).

Die Autoren zeigen, dass der knockdown von DJ-1 in Astrozyten kokultivierte Neurone empfindlicher gegen das ROS-produzierende Toxin Rotenon macht. Sie postulieren, dass der Schutz über lösliche Faktoren erfolgt, ohne diese näher zu charakterisieren. Es ist somit anzunehmen, dass nicht nur die verstärkte Produktion inflammatorischer Mediatoren, sondern auch die verringerte Produktion neuroprotektiver Substanzen zum Absterben der Neurone beiträgt.

Die Brücke zur Schizophrenie schließt sich bei Betrachtung der Auswirkungen von oxidativem Stress auf die Entwicklung von Psychosen und den damit verbundenen neuronalen und molekularphysiologischen Prozessen.

In jüngster Vergangenheit wurden zu den wesentlichen vorgestellten Einflussfaktoren von DJ-1, nämlich des ROS Systems und oxidativem Stress auf die Zelle, Verbindungen zur Pathogenese der Schizophrenie vorgelegt (Wood et al. 2009; Do, Conus & Cuenod 2010)(Zhang et al. 2010)(Bitanirwe & Woo 2011).

**Tabelle 33 Redox-aktive Spezies und ihre korrespondierenden neutralisierenden Antioxidantien (Bitanihirwe & Woo 2011).**

ROS	Antioxidantien (endogen)		Antioxidantien (exogen)
	Direkte Rolle	Indirekte Rolle	
Hydroxyl Radikale	Glutathion peroxidase Glucose-6-phosphat dehydrogenase Thioredoxin		
Lipid peroxide	Glutathion peroxidase Glutathion-S-transferase Glucose-6-phosphat dehydrogenase Stickstoffmonoxid		Ascorbat Flavonoide Liponsäure $\alpha$ -Tocopherol Carotenoide Flavonoide Ubiquinone Niacin
Superoxide Radikale	Superoxiddismutase (Cofaktor Kupfer /Zinc/Mangan) Glutathion Glucose-6-phosphat dehydrogenase Thioredoxin	Albumin	Ascorbat Flavonoide
Wasserstoffperoxid	Katalase Glutathion-S-transferase Glutathion stickstoffmonoxid Thioredoxin reductase	Ferritin Transferrin Hämoglobin	Ascorbat Carotenoide Liponsäure Glucose-6-phosphat dehydrogenase
Pro-oxidantien/anti-oxidantes equilibrium	Thiole (Glutathion, N-acetyl-cystein) NADPH, Thioredoxin	Bilirubin Harnsäure	Flavonoide

**Direkte Rolle = Direkte Entfernung redox-aktiver Spezies; Indirekte Rolle = Verhinderung der Anreicherung**

In Tabelle 33 sind verschiedene ROS Spezies die zum Funktionsverlust der Zelle führen können, dargestellt.

So wurde zu den antioxidativen Mechanismen der Zelle in einer Metaanalyse von Zhang gezeigt, dass bei schizophrenen Patienten die Konzentration der Lipidperoxidaseprodukte und NO erhöht ist, wohingegen die Superoxid Dismutase erniedrigt ist (Zhang et al. 2010). Weiterhin wurde in der gleichen Studie gezeigt, dass die Aktivität der Glutathion Peroxidase und Katalase nicht in Mitleidenschaft gezogen ist.

In post-mortem Studien wurde weiterhin gezeigt, dass es zu einem Abfall um 40% von GSH im Nucleus caudatus und präfrontalen Kortex bei schizophrenen Patienten kommt (Yao et al. 2006; Gawryluk et al. 2011). Somit scheint auch der Glutathion Metabolismus an der Entstehung einer Schizophrenie beteiligt sein zu können, wie die Studie von Matigian u.a. bestätigt (Matigian et al.).

Im Gegensatz dazu wurde Thioredoxin identifiziert, während einer akuten Phase der Schizophrenie erhöht und direkt mit den Positivsymptomen korreliert zu sein, während es sich unter Langzeittherapie mit Antipsychotika wieder normalisiert (Zhang et al. 2009).

Das DJ-1 Protein ist seinerseits bekannt für den Einfluss in den Glutathionmetabolismus (Zhou & Freed 2005). Auch in präklinischen Studien an Tieren wurde gezeigt, dass eine Veränderung der GSH Konzentrationen zu psychotischen Ausprägungen führen kann. Cabungcal zum Beispiel zeigte an Ratten, welche kurz nach der Geburt schon der Behandlung von l-buthation-(S,R)-sulfoximin (BSO), welches zum transienten Absinken der GSH Konzentration führt, dass das Absinken von GSH zu langanhaltenden Verhaltensauffälligkeiten und kognitiven Defiziten führt (Cabungcal et al. 2007).

Diese Defizite könnten mit einer unvollständigen Verbindung der Neuronen in spezifischen Gehirnregionen erklärt werden, wenn es sehr früh in der Entwicklung zu einem Absinken der GSH Konzentration kommt.

Dean et al. zeigten an bestimmten Ratten, dass es durch 2-cyclohexen-1-one (CHX), dosisabhängig zu einem ähnlichen Absinken der GSH Konzentrationen und dadurch zu einer Abnahme der striatalen und fronto-kortikalen Aktivität kommt, so wie bei schizophrenen Patienten (Dean et al. 2009).

Da GSH unter anderem die glutamaterge Aktivität beeinflusst, ist auch die Abhängigkeit von GSH in diesem Prozess unbestritten.

Somit scheint DJ-1 und dessen Funktionsverlust auch unmittelbar in die NMDA Rezeptorfunktion einzugreifen.

In der Studie von Lorrain und Hull wurde gezeigt, dass eine gestörte Funktion der serotonergen und glutamatergen Signalwege in der Pathophysiologie der Schizophrenie beteiligt sein könnte. Möglicherweise sind hierbei die beschriebenen Prozesse der NO-Synthase und dessen protektive Wirkung gegen PCP (welche Schizophrenie ähnliche Symptome hervorruft) von Bedeutung. Hinzu kommt die Tatsache, dass bei schizophrenen Patienten post-mortem erhöhte NO Konzentrationen und NOS Konzentrationen gefunden wurden (Lorrain & Hull 1993).

Polymorphismen in andern Genen als mögliche Ursache für eine Veränderung der Suszeptibilität zu oxidativem Stress in der Schizophrenie, wurden kürzlich ausführlich in einer genetischen Assoziationsstudie von Chowdari et al. beschrieben (Chowdari et al. 2011).

In die Entstehung der Schizophrenie sind verschiedene exprimierte Enzyme wie zum Beispiel Mangansuperoxid-Dismutase und Glutathion S-Transferase T1 involviert (Akyol et al. 2005; Saadat 2007).

Ein funktioneller Polymorphismus im Glutathion S-Transferase p1 Gen wurde in Verbindung gebracht, eine erhöhte Vulnerabilität für eine Psychose nach Metamphetaminabusus zu entwickeln (Hashimoto et al. 2005), welches auch Einfluss auf eine Schizophrenie haben könnte.

Auch mit der Erkrankung verbunden wurde eine mitochondriale DNA Sequenz, welche die Untereinheit der NADPH-Ubiquinon-Reductase (Complex 1), ein Teil der Elektronen-Transport-Kette verantwortlich für die Produktion von Superoxid, dass man auch post-mortem in erhöhten Konzentrationen bei Patienten fand (Marchbanks et al. 2003).

In einer anderen Studie von Tasic et al. wurde die GCLM Untereinheit des Glutamat Cystein Ligase Enzyms (GCL) als Suszeptibilitäts-gen bei Schizophrenie und oxidativem Stress identifiziert (Tasic et al. 2006).

Ähnlich dazu wurde in der genetischen Analyse des Trinukleotid Repeat Polymorphismus GAG in der katalytischen GCL-Untereinheit (GCLC) eine Reduktion von Glutathion und damit eine signifikante Korrelation mit Schizophrenie in zwei unterschiedlichen Kontroll-Kohorten (Dänisch und Schweizerisch) erbracht. (Gysin et al. 2007). Die gleiche Studie zeigte eine Korrelation zwischen der krankheitsverbundenen GCLC GAG Trinukleotid Repeat Genotypen und verringerter GCLC Proteinexpression.

Do et al. sind neuerlich dazu übergegangen zu zeigen, dass bei Patienten mit dem GAG Trinukleotid Repeat Suszeptibilitätspolymorphismus verringerte Cysteinresten, aber erhöhte Konzentrationen der oxidierten Form Cystin vorliegen (Do et al. 2010).

Diese Patienten weisen auch erhöhte Plasma-Serin, -Glutamin, -Citruillin, und -Arginin Werte auf, was darauf schließen lässt, dass Schizophreniepatienten eine reduzierte Fähigkeit besitzen, GSH zu synthetisieren. Dies deutet wiederum auf eine Dysregulation und Fehlkontrolle der Redox-Reaktion hin, die in höherer Anfälligkeit für oxidativen Stress resultiert und die höchstwahrscheinlich auf eine genetische Ursache zurückzuführen ist.

Die postulierte Dopaminhypothese deckt sich mit einigen Ergebnissen bei schizophrenen Patienten, bei denen eine Degeneration neuronaler Strukturen in Regionen hoher dopaminerger Aktivität vorgefunden wurden, welche zu anormaler kortiko-kortikaler und thalamo-kortikaler Konnektivität führen. Als Grund wird ein Abbau der GSH Konzentration, unter anderem durch übermäßige Dopaminausschüttung angenommen (Selemon 2001; Glantz & Lewis 2000).

Die Vorgänge in Mitochondrien und vor allem das Ungleichgewicht der inneren Hämostase hängen auch mit der Pathophysiologie der Schizophrenie zusammen (Prabakaran et al. 2004; Martins-de-Souza et al. 2009).

Prabakaran et al. zeigten an humanem präfrontalem Kortexgewebe von schizophrenen Patienten, Veränderungen von bestimmten Proteinen, welche mit der mitochondrialen Funktion und Antwort auf oxidativem Stress in Zusammenhang stehen.

Des Weiteren wurde auch in anderen Studien aufgezeigt, dass erhöhte Laktatwerte und mitochondriale Dysfunktion (mit Veränderung der Morphologie, Größe und Dichte) mit entsprechender defekten, neuronalen und oxidativen Phosphorylierung im Hirngewebe von schizophrenen Patienten zu sehen sind (Ben-Shachar 2002; Ben-Shachar & Laifenfeld 2004; Ben-Shachar et al. 1999; Prabakaran et al. 2004; Martins-de-Souza et al. 2009).

Anhand der vorgestellten Daten ist es sehr wahrscheinlich, dass oxidativer Stress zusammen mit anderen Umwelteinflüssen mit Schizophrenie in Verbindung steht.

Zusammengefasst zeigen diese Ergebnisse unterstützende Evidenz für den genetischen Einfluss auf die Entstehung von oxidativem Stress und der Ätiologie der Schizophrenie.

Diese Belege lassen weiterhin die Vermutung zu, dass der Funktionsverlust von PARK7 durchaus Einfluss auf neuropsychiatrische Erkrankungen hat und auch auf die Schizophrenie haben könnte – inwieweit gilt es noch umfassender zu klären und zu validieren.

Welcher Mechanismus nun genau zur Ausprägung einer Schizophrenie führt, ist sowohl auf Seiten des DJ-1 noch ungeklärt, weil bislang nicht abschließend bekannt ist, was genau DJ-1 und dessen Ausfall bei einigen zellulären Prozessen bewirkt. Dies gilt auch auf Seiten der Schizophreniepathogenese, da nicht bekannt ist, welche Mechanismen der oxidativen Stressantwort zu einer Diagnose führen können.

Für die therapeutische Behandlung der Schizophrenie hat dies als Konsequenz dass Antioxidantien möglicherweise viele psychische und neurologische Anomalien inklusive die der Schizophrenie positiv beeinflussen könnten (Seybolt 2010; Reddy & Reddy 2011).

Anhand neuer Erkenntnisse wirkt sich die Aufnahme von mehrfach ungesättigten Omega-3-Fettsäuren in Kombination mit Ascorbinsäure und  $\alpha$ -Tocopherol positiv auf die Psychopathologie von chronisch behandelten schizophrenen Patienten aus (Verbesserte PANNS Ergebnisse)(Arvindakshan et al. 2003).

Desweiteren führen offenbar auch Ginkgo biloba Extrakte und Haloperidol zu verbesserten PANNS Outcomes, sowie gleichermaßen atypische Antipsychotica und Ascorbinsäure,  $\alpha$ -Tocopherol und Liponsäure(Kim et al. 2008; Michael et al. 2002; Dakhale et al. 2005).

Die Substitution von N-acetylcystein (NAC), in der Synthese von GSH führt zu einer Steigerung der GSH Level und damit zur Verbesserung der Hauptsymptome der Schizophrenie. Dies wirkt sich auch positiv auf den NMDA Stoffwechsel aus was wiederum zu einer Potenzierung der Verbesserung führt (Lavoie et al. 2008; Dodd et al. 2008; Berk et al. 2008).

Somit sind das PARK7 Gen bzw. dessen Polymorphismen, nicht zuletzt auch aufgrund der Zusammenhänge mit der Parkinsonkrankheit und der in der Vergangenheit durchgeführter Studien, ein interessanter Ansatzpunkt zur weiteren Schizophrenieforschung, auch was die Entwicklung neuer Therapieansätze angeht.

Auch welche Mutationen bzw. Polymorphismen für den Funktionsverlust und den Umfang dieses schlussendlich verantwortlich sind, lässt sich an dieser Stelle nicht final klären. Für die uns vorliegenden SNPs finden sich in der Literatur keine validen Hinweise, die auf den Einfluss schließen lassen würden. Hinzu kommt, dass viele Zusammenhänge von PARK7 und dessen bekannte Mutationen noch nicht entschlüsselt sind (s. PDMutDB).

Zudem sei noch erwähnt, dass positive Ergebnisse von genetischen Studien in wesentlichem Maße auch von der Untersuchung des richtigen Markers oder in diesem Falle den richtigen Suszeptibilitätsgenen abhängen.

Ein negatives Ergebnis in einer Studie in Bezug auf einen bestimmten Marker schließt demnach eine Kopplung oder Assoziation eines anderen Markers in dieser Genregion nicht per se aus. Ob die in dieser Arbeit als signifikant befundenen Marker eine reliable Assoziation mit der Schizophrenie aufweisen, kann daher erst nach weiteren Replikationen mit ähnlichem Ergebnis in weiteren Studien abschließend beurteilt werden.

Diese Studie soll lediglich ein paar Ansätze in den Möglichkeiten der Aufdeckung dieser geben, da eine umfassende Ergründung der physiologischen und neurologischen Prozesse den Rahmen dieser Arbeit übersteigen würde.

Auch die medikamentöse Versorgung hat in den letzten Jahren enorme Fortschritte gemacht, trotzdem ist es zum heutigen Zeitpunkt nicht möglich, die Krankheit zu heilen sondern nur die Symptome zu erleichtern, oft auch auf Kosten der Lebensqualität.

## 6.4 Ausblick

Seit der Entdeckung des PARK7-Gens wurden einige Mutationen nachgewiesen. Es wurden Erkenntnisse darüber gewonnen, welche Funktionen das DJ-1-Protein im Zellstoffwechsel hat und wie diese Funktionen durch Mutationen beeinflusst werden.

Diese Erkenntnisse tragen viel zum Verständnis der Mechanismen bei, die zu einer Parkinsonerkrankung oder anderen Krankheiten und Symptomen führen können. Die Frage nach der Rolle von heterozygoten Mutationen, die bereits bei anderen Genen diskutiert wurde, tritt nun auch bei dem DJ-1-Gen auf.

Die Untersuchung potentieller Gene, welche die Entstehung einer Schizophrenie begünstigen oder beeinflussen, hilft das Wissen über die Krankheit zu erweitern und möglicherweise neue Ansätze zur Diagnose Therapie und Prävention zu finden.

Bislang konnte noch kein eindeutiger Nachweis erbracht werden, dass das PARK7 Gen auf genetischer Ebene an der Entstehung einer Schizophrenie beteiligt, oder dafür verantwortlich ist.

Die vorliegenden Ergebnisse sind nur teilweise negativ. Weitere Studien in diesem Zusammenhang sind zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht durchgeführt bzw. publiziert worden, so dass die Ergebnisse nur bedingt validiert sind.

Gefunden wurden statistisch auch einige signifikante Zusammenhänge der untersuchten Polymorphismen auf dem Gen und der Schizophrenie. Die Beteiligung an verschiedenen Prozessen in der Hirnentwicklung und Tätigkeit insbesondere in Zusammenhang mit oxidativem Stress und neuronalen Prozessen, wie zum Beispiel der Parkinson Erkrankung, lässt PARK7 weiterhin als mögliches Suszeptibilitäts-gen erscheinen.

Davon ausgehend sollte das Gen weiter untersucht werden, mit dem Ziel, einen eindeutigen Nachweis zu erbringen, ob das Gen an der Pathogenese einer Schizophrenie beteiligt ist oder nicht. Dabei spielen die oben beschriebenen Kriterien der Methoden einer Studie wie zum Beispiel ausreichende Größe der Studienpopulation, ethnische Abstammung, diagnostische Instrumente bzw. Trennschärfe der Diagnose eine wesentliche Rolle bei der statistischen Aussagekraft der Ergebnisse, vor allem bei seltenen Allelen und Genotypen.

In zukünftigen Studien sollten nicht nur Interaktionen und der Einfluss von PARK7 auf oxidativen Stress und den verbundenen Einfluss auf Schizophrenie untersucht werden, sondern auch Gen-Gen Interaktionen und der Einfluss auf verschiedene Rezeptoren wie zum Beispiel den NMDA Rezeptor, für den bereits weitere Gene wie das GRIN 1 und 2, NRG1, DAAO, G72, und andere in Zusammenhang gebracht worden sind.

Eine Möglichkeit die erschwerenden Einflussfaktoren und die damit verbundene Heterogenität zu berücksichtigen und eine ätiologische Homogenisierung der Krankheit zu erreichen, kann durch den Einsatz von Endophänotypen erreicht werden. Endophänotypen basieren, anders als die psychopathologischen Subtypen, auf neurobiologischen und hirnanatomischen Korrelaten bzw. deren krankheitsbedingte Veränderungen als Phänotypen. In diesem Falle die der Schizophrenie.

Endophänotypen werden direkt durch die Krankheitsgene beeinflusst und sind so einfacher ausfindig zu machen, das heißt, sie sind im Vergleich zu den klassischen Phänotypen klarer im Ausdruck bestimmter Genotypen. Zusätzlich sind bei Studien die Ergebnisse valider, da auch klinisch gesunde Patienten als Träger eines Endophänotyps als erkrankt gelten. Damit eignen sie sich möglicherweise besser für molekulargenetische Untersuchungen.

Hier wäre die Aufgabe, die funktionellen Auswirkungen von Risikoallelen- und Haplotypen auf die Funktion des Gens und deren Prozesse zu entschlüsseln.

Die Schizophrenieerforschung ist ein sehr komplexes Thema mit vielen offenen Fragen, die durch entsprechende Untersuchungen und Bemühungen aufgeklärt werden könnten.

Jeder aufgedeckte Wissensbaustein trägt dazu bei, die Schizophrenie besser zu verstehen, folglich die Therapie und damit auch die Lebensqualität der Patienten zu verbessern.

## II LITERATURVERZEICHNIS

Abeliovich, A & Flint Beal, M 2006, 'Parkinsonism genes: culprits and clues', *Journal of neurochemistry*, vol. 99, no. 4, pp. 1062–1072.

Abi-Dargham, A & Moore, H 2003, 'Prefrontal DA transmission at D1 receptors and the pathology of schizophrenia', *The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry*, vol. 9, no. 5, pp. 404–416.

Abi-Dargham, A, Gil, R, Krystal, J, Baldwin, RM, Seibyl, JP, Bowers, M, van Dyck, CH, Charney, DS, Innis, RB & Laruelle, M 1998, 'Increased striatal dopamine transmission in schizophrenia: confirmation in a second cohort', *The American journal of psychiatry*, vol. 155, no. 6, pp. 761–767.

Abou-Sleiman, PM, Hanna, MG & Wood, NW 2006, 'Genetic association studies of complex neurological diseases', *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, vol. 77, no. 12, pp. 1302–1304.

Abou-Sleiman, PM, Healy, DG, Quinn, N, Lees, AJ & Wood, NW 2003, 'The role of pathogenic DJ-1 mutations in Parkinson's disease', *Annals of neurology*, vol. 54, no. 3, pp. 283–286.

Akyol, O, Yanik, M, Elyas, H, Namli, M, Canatan, H, Akin, H, Yuce, H, Yilmaz, HR, Tutkun, H, Sogut, S, Herken, H, Ozyurt, H, Savas, HA & Zoroglu, SS 2005, 'Association between Ala-9Val polymorphism of Mn-SOD gene and schizophrenia', *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, vol. 29, no. 1, pp. 123–131.

Aleman, A, Kahn, RS & Seltzer, J 2003, 'Sex differences in the risk of schizophrenia: evidence from meta-analysis', *Archives of general psychiatry*, vol. 60, no. 6, pp. 565–571.

Aleyasin, H, Rousseaux, MWC, Phillips, M, Kim, RH, Bland, RJ, Callaghan, S, Slack, RS, Durrin, MJ, Mak, TW & Park, DS 2007, 'The Parkinson's disease gene DJ-1 is also a key regulator of stroke-induced damage', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 104, no. 47, pp. 18748–18753.

Allen, NC, Bagade, S, McQueen, MB, Ioannidis, JPA, Kavvoura, FK, Khoury, MJ, Tanzi, RE & Bertram, L 2008, 'Systematic meta-analyses and field synopsis of genetic association studies in schizophrenia: the SzGene database', *Nature genetics*, vol. 40, no. 7, pp. 827–834.

Alves Da Costa, C, Paitel, E, Vincent, B & Checler, F 2002, 'Alpha-synuclein lowers p53-dependent apoptotic response of neuronal cells. Abolishment by 6-hydroxydopamine and implication for Parkinson's disease', *The Journal of biological chemistry*, vol. 277, no. 52, pp. 50980–50984.

*Diagnostic and statistical manual of mental disorders. DSM-IV-TR* 2007, American Psychiatric Assoc, Arlington, VA.

Andreasen, NC 1999, 'A unitary model of schizophrenia: Bleuler's "fragmented phrene" as schizencephaly', *Archives of general psychiatry*, vol. 56, no. 9, pp. 781–787.

Andreasen, NC 2000, 'Schizophrenia: the fundamental questions', *Brain research. Brain research reviews*, vol. 31, 2-3, pp. 106–112.

Andres-Mateos, E, Perier, C, Zhang, L, Blanchard-Fillion, B, Greco, TM, Thomas, B, Ko, HS, Sasaki, M, Ischiropoulos, H, Przedborski, S, Dawson, TM & Dawson, VL 2007, 'DJ-1 gene deletion reveals that DJ-1 is an atypical peroxiredoxin-like peroxidase', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 104, no. 37, pp. 14807–14812.

Athanasu, L, Mattingsdal, M, Kähler, AK, Brown, A, Gustafsson, O, Agartz, I, Giegling, I, Muglia, P, Cichon, S, Rietschel, M, Pietiläinen, OPH, Peltonen, L, Bramon, E, Collier, D, Clair, DS, Sigurdsson, E, Petursson, H, Rujescu, D, Melle, I, Steen, VM, Djurovic, S & Andreassen, OA 2010, 'Gene variants associated with schizophrenia in a Norwegian genome-wide study are replicated in a large European cohort', *Journal of psychiatric research*, vol. 44, no. 12, pp. 748–753.

Arvindakshan, M, Ghate, M, Ranjekar, PK, Evans, DR & Mahadik, SP 2003, 'Supplementation with a combination of omega-3 fatty acids and antioxidants (vitamins E and C) improves the outcome of schizophrenia', *Schizophrenia research*, vol. 62, no. 3, pp. 195–204.

Badner, JA & Gershon, ES 2002, 'Meta-analysis of whole-genome linkage scans of bipolar disorder and schizophrenia', *Molecular psychiatry*, vol. 7, no. 4, pp. 405–411.

Bai, Q, Mullett, SJ, Garver, JA, Hinkle, DA & Burton, EA 2006, 'Zebrafish DJ-1 is evolutionarily conserved and expressed in dopaminergic neurons', *Brain research*, vol. 1113, no. 1, pp. 33–44.

Bailer, U, Leisch, F, Meszaros, K, Lenzinger, E, Willinger, U, Strobl, R, Heiden, A, Gebhardt, C, Döge, E, Fuchs, K, Sieghart, W, Kasper, S, Hornik, K & Aschauer, HN 2002, 'Genome scan for susceptibility loci for schizophrenia and bipolar disorder', *Biological psychiatry*, vol. 52, no. 1, pp. 40–52.

Balaban, RS, Nemoto, S & Finkel, T 2005, 'Mitochondria, oxidants, and aging', *Cell*, vol. 120, no. 4, pp. 483–495.

Bandopadhyay, R, Kingsbury, AE, Cookson, MR, Reid, AR, Evans, IM, Hope, AD, Pittman, AM, Lashley, T, Canet-Aviles, R, Miller, DW, McLendon, C, Strand, C, Leonard, AJ, Abou-Sleiman, PM, Healy, DG, Ariga, H, Wood, NW, Silva, R de, Revesz, T, Hardy, JA & Lees, AJ 2004, 'The expression of DJ-1 (PARK7) in normal human CNS and idiopathic Parkinson's disease', *Brain : a journal of neurology*, vol. 127, Pt 2, pp. 420–430.

Barnes, TRE, Mutsatsa, SH, Hutton, SB, Watt, HC & Joyce, EM 2006, 'Comorbid substance use and age at onset of schizophrenia', *The British journal of psychiatry : the journal of mental science*, vol. 188, pp. 237–242.

Barrett, JC, Fry, B, Maller, J & Daly, MJ 2005, 'Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps', *Bioinformatics (Oxford, England)*, vol. 21, no. 2, pp. 263–265.

Batelli, S, Albani, D, Rametta, R, Polito, L, Prato, F, Pesaresi, M, Negro, A & Forloni, G 2008, 'DJ-1 modulates alpha-synuclein aggregation state in a cellular model of oxidative stress: relevance for Parkinson's disease and involvement of HSP70', *PLoS one*, vol. 3, no. 4, pp. e1884.

Battle, YL, Martin, BC, Dorfman, JH & Miller, LS 1999, 'Seasonality and infectious disease in schizophrenia: the birth hypothesis revisited', *Journal of psychiatric research*, vol. 33, no. 6, pp. 501–509.

Baumeister, AA & Francis, JL 2002, 'Historical development of the dopamine hypothesis of schizophrenia', *Journal of the history of the neurosciences*, vol. 11, no. 3, pp. 265–277.

Benes, FM 2000, 'Emerging principles of altered neural circuitry in schizophrenia', *Brain research. Brain research reviews*, vol. 31, 2-3, pp. 251–269.

- Ben-Shachar, D 2002, 'Mitochondrial dysfunction in schizophrenia: a possible linkage to dopamine', *Journal of neurochemistry*, vol. 83, no. 6, pp. 1241–1251.
- Ben-Shachar, D & Laifenfeld, D 2004, 'Mitochondria, synaptic plasticity, and schizophrenia', *International review of neurobiology*, vol. 59, pp. 273–296.
- Ben-Shachar, D, Zuk, R, Gazawi, H, Reshef, A, Sheinkman, A & Klein, E 1999, 'Increased mitochondrial complex I activity in platelets of schizophrenic patients', *The international journal of neuropsychopharmacology / official scientific journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum (CINP)*, vol. 2, no. 4, pp. 245–253.
- Berg, D, Youdim, MBH & Riederer, P 2004a, 'Redox imbalance', *Cell and tissue research*, vol. 318, no. 1, pp. 201–213.
- Berg, D, Youdim, MBH & Riederer, P 2004b, 'Redox imbalance', *Cell and tissue research*, vol. 318, no. 1, pp. 201–213.
- Berk, M, Copolov, D, Dean, O, Lu, K, Jeavons, S, Schapkaitz, I, Anderson-Hunt, M, Judd, F, Katz, F, Katz, P, Ording-Jespersen, S, Little, J, Conus, P, Cuenod, M, Do, KQ & Bush, AI 2008, 'N-acetyl cysteine as a glutathione precursor for schizophrenia--a double-blind, randomized, placebo-controlled trial', *Biological psychiatry*, vol. 64, no. 5, pp. 361–368.
- Bitanirwe, BKY & Woo, TW 2011, 'Oxidative stress in schizophrenia: an integrated approach', *Neuroscience and biobehavioral reviews*, vol. 35, no. 3, pp. 878–893.
- Blackinton, J, Lakshminarasimhan, M, Thomas, KJ, Ahmad, R, Greggio, E, Raza, AS, Cookson, MR & Wilson, MA 2009, 'Formation of a stabilized cysteine sulfinic acid is critical for the mitochondrial function of the parkinsonism protein DJ-1', *The Journal of biological chemistry*, vol. 284, no. 10, pp. 6476–6485.
- Bleuler, E 1911, *Dementia praecox oder die Gruppe der Schizophrenien*, Deuticke, Leipzig.
- Böddeker, I & Ziegler, A 2000, 'Assoziations- und Kopplungstudien zur Analyse von Kandidatengenen', *Deutsche medizinische Wochenschrift (1946)*, vol. 125, 25-26, pp. 810–815.
- Bonifati, V, Rizzu, P, Squitieri, F, Krieger, E, Vanacore, N, van Swieten, JC, Brice, A, van Duijn, CM, Oostra, B, Meco, G & Heutink, P 2003a, 'DJ-1(PARK7), a novel gene for autosomal recessive, early onset parkinsonism', *Neurological sciences : official journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology*, vol. 24, no. 3, pp. 159–160.
- Bonifati, V, Rizzu, P, van Baren, MJ, Schaap, O, Breedveld, GJ, Krieger, E, Dekker, MCJ, Squitieri, F, Ibanez, P, Jooose, M, van Dongen, JW, Vanacore, N, van Swieten, JC, Brice, A, Meco, G, van Duijn, CM, Oostra, BA & Heutink, P 2003b, 'Mutations in the DJ-1 gene associated with autosomal recessive early-onset parkinsonism', *Science (New York, N.Y.)*, vol. 299, no. 5604, pp. 256–259.
- Bourque, F, van der Ven, E & Malla, A 2011, 'A meta-analysis of the risk for psychotic disorders among first- and second-generation immigrants', *Psychological medicine*, vol. 41, no. 5, pp. 897–910.
- Brenman, JE & Bredt, DS 1997, 'Synaptic signaling by nitric oxide', *Current opinion in neurobiology*, vol. 7, no. 3, pp. 374–378.
- Bretaud, S, Allen, C, Ingham, PW & Bandmann, O 2007, 'p53-dependent neuronal cell death in a DJ-1-deficient zebrafish model of Parkinson's disease', *Journal of neurochemistry*, vol. 100, no. 6, pp. 1626–1635.

- Brickman, AM, Buchsbaum, MS, Shihabuddin, L, Byne, W, Newmark, RE, Brand, J, Ahmed, S, Mitelman, SA & Hazlett, EA 2004, 'Thalamus size and outcome in schizophrenia', *Schizophrenia research*, vol. 71, 2-3, pp. 473–484.
- Brixey, SN, Gallagher, BJ, McFalls, JA & Parmelee, LF 1993, 'Gestational and neonatal factors in the etiology of schizophrenia', *Journal of clinical psychology*, vol. 49, no. 3, pp. 447–456.
- Brown, AS 2002, 'Prenatal risk factors and schizophrenia', *Expert review of neurotherapeutics*, vol. 2, no. 1, pp. 53–60.
- Brown, AS 2006, 'Prenatal infection as a risk factor for schizophrenia', *Schizophrenia bulletin*, vol. 32, no. 2, pp. 200–202.
- Brown, AS, Cohen, P, Harkavy-Friedman, J, Babulas, V, Malaspina, D, Gorman, JM & Susser, ES 2001, 'A.E. Bennett Research Award. Prenatal rubella, premorbid abnormalities, and adult schizophrenia', *Biological psychiatry*, vol. 49, no. 6, pp. 473–486.
- Bürgy, M 2010, 'Zur Psychopathologie der Ich-Störungen: Geschichte und Phänomenologie', *Der Nervenarzt*, vol. 81, no. 9, pp. 1097–1107.
- Cabungcal, J, Preissmann, D, Delseth, C, Cuénod, M, Do, KQ & Schenk, F 2007, 'Transitory glutathione deficit during brain development induces cognitive impairment in juvenile and adult rats: relevance to schizophrenia', *Neurobiology of disease*, vol. 26, no. 3, pp. 634–645.
- Calabrese, V, Scapagnini, G, Giuffrida Stella, AM, Bates, TE & Clark, JB 2001, 'Mitochondrial involvement in brain function and dysfunction: relevance to aging, neurodegenerative disorders and longevity', *Neurochemical research*, vol. 26, no. 6, pp. 739–764.
- Calabrese, V, Guagliano, E, Sapienza, M, Mancuso, C, Butterfield, DA & Stella, AMG 2006, 'Redox regulation of cellular stress response in neurodegenerative disorders', *The Italian journal of biochemistry*, vol. 55, 3-4, pp. 263–282.
- Canet-Avilés, RM, Wilson, MA, Miller, DW, Ahmad, R, McLendon, C, Bandyopadhyay, S, Baptista, MJ, Ringe, D, Petsko, GA & Cookson, MR 2004, 'The Parkinson's disease protein DJ-1 is neuroprotective due to cysteine-sulfinic acid-driven mitochondrial localization', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 101, no. 24, pp. 9103–9108.
- Cannon, TD, Kaprio, J, Lönnqvist, J, Huttunen, M & Koskenvuo, M 1998, 'The genetic epidemiology of schizophrenia in a Finnish twin cohort. A population-based modeling study', *Archives of general psychiatry*, vol. 55, no. 1, pp. 67–74.
- Carlsson, A & LINDQVIST, M 1963, 'EFFECT OF CHLORPROMAZINE OR HALOPERIDOL ON FORMATION OF 3METHOXYTYRAMINE AND NORMETANEPHRINE IN MOUSE BRAIN', *Acta pharmacologica et toxicologica*, vol. 20, pp. 140–144.
- Carlsson, A, Waters, N, Holm-Waters, S, Tedroff, J, Nilsson, M & Carlsson, ML 2001, 'Interactions between monoamines, glutamate, and GABA in schizophrenia: new evidence', *Annual review of pharmacology and toxicology*, vol. 41, pp. 237–260.
- Caspi, A & Moffitt, TE 2006, 'Gene-environment interactions in psychiatry: joining forces with neuroscience', *Nature reviews. Neuroscience*, vol. 7, no. 7, pp. 583–590.
- Chang, N, Li, L, Hu, R, Shan, Y, Liu, B, Li, L, Wang, H, Feng, H, Wang, D, Cheung, C, Liao, M & Wan, Q 2010, 'Differential regulation of NMDA receptor function by DJ-1 and PINK1', *Aging cell*, vol. 9, no. 5, pp. 837–850.

- Chen, L, Cagniard, B, Mathews, T, Jones, S, Koh, HC, Ding, Y, Carvey, PM, Ling, Z, Kang, UJ & Zhuang, X 2005, 'Age-dependent motor deficits and dopaminergic dysfunction in DJ-1 null mice', *The Journal of biological chemistry*, vol. 280, no. 22, pp. 21418–21426.
- Cho, K, Kim, H, Rodriguez-Iturbe, B & Vaziri, ND 2009, 'Niacin ameliorates oxidative stress, inflammation, proteinuria, and hypertension in rats with chronic renal failure', *American journal of physiology. Renal physiology*, vol. 297, no. 1, pp. F106-13.
- Chowdari, KV, Bamne, MN & Nimgaonkar, VL 2011, 'Genetic association studies of antioxidant pathway genes and schizophrenia', *Antioxidants & redox signaling*, vol. 15, no. 7, pp. 2037–2045.
- Clements, CM, McNally, RS, Conti, BJ, Mak, TW & Ting, JP 2006, 'DJ-1, a cancer- and Parkinson's disease-associated protein, stabilizes the antioxidant transcriptional master regulator Nrf2', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 103, no. 41, pp. 15091–15096.
- Contestabile, A 2000, 'Roles of NMDA receptor activity and nitric oxide production in brain development', *Brain research. Brain research reviews*, vol. 32, 2-3, pp. 476–509.
- Cookson, MR 2003, 'Crystallizing ideas about Parkinson's disease', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 100, no. 16, pp. 9111–9113.
- Cookson, MR 2010, 'DJ-1, PINK1, and their effects on mitochondrial pathways', *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, 25 Suppl 1, pp. S44-8.
- Cooper, B 2005, 'Immigration and schizophrenia: the social causation hypothesis revisited', *The British journal of psychiatry : the journal of mental science*, vol. 186, pp. 361–363.
- Coyle, JT 2004, 'The GABA-glutamate connection in schizophrenia: which is the proximate cause?', *Biochemical pharmacology*, vol. 68, no. 8, pp. 1507–1514.
- Coyle, JT 2006, 'Glutamate and schizophrenia: beyond the dopamine hypothesis', *Cellular and molecular neurobiology*, vol. 26, 4-6, pp. 365–384.
- Craddock, N, O'Donovan, MC & Owen, MJ 2007, 'Phenotypic and genetic complexity of psychosis. Invited commentary on ... Schizophrenia: a common disease caused by multiple rare alleles', *The British journal of psychiatry : the journal of mental science*, vol. 190, pp. 200–203.
- Crow, TJ 1980, 'Positive and negative schizophrenic symptoms and the role of dopamine', *The British journal of psychiatry : the journal of mental science*, vol. 137, pp. 383–386.
- Cullberg, J 2003, 'Stressful life events preceding the first onset of psychosis. An explorative study', *Nordic journal of psychiatry*, vol. 57, no. 3, pp. 209–214.
- Dakhale, GN, Khanzode, SD, Khanzode, SS & Saoji, A 2005, 'Supplementation of vitamin C with atypical antipsychotics reduces oxidative stress and improves the outcome of schizophrenia', *Psychopharmacology*, vol. 182, no. 4, pp. 494–498.
- Dalton, TP, Chen, Y, Schneider, SN, Nebert, DW & Shertzer, HG 2004, 'Genetically altered mice to evaluate glutathione homeostasis in health and disease', *Free radical biology & medicine*, vol. 37, no. 10, pp. 1511–1526.
- Danos, P 2004, 'Pathologie des Thalamus und Schizophrenie -- Ein Überblick', *Fortschritte der Neurologie-Psychiatrie*, vol. 72, no. 11, pp. 621–634.

- Davies, KJ 1995, 'Oxidative stress: the paradox of aerobic life', *Biochemical Society symposium*, vol. 61, pp. 1–31.
- Davis, KL, Kahn, RS, Ko, G & Davidson, M 1991, 'Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization', *The American journal of psychiatry*, vol. 148, no. 11, pp. 1474–1486.
- Dean, K, Bramon, E & Murray, RM 2003, 'The causes of schizophrenia: neurodevelopment and other risk factors', *Journal of psychiatric practice*, vol. 9, no. 6, pp. 442–454.
- Dean, O, Bush, AI, Berk, M, Copolov, DL & van den Buuse, M 2009, 'Glutathione depletion in the brain disrupts short-term spatial memory in the Y-maze in rats and mice', *Behavioural brain research*, vol. 198, no. 1, pp. 258–262.
- Dedmon, MM, Christodoulou, J, Wilson, MR & Dobson, CM 2005, 'Heat shock protein 70 inhibits alpha-synuclein fibril formation via preferential binding to prefibrillar species', *The Journal of biological chemistry*, vol. 280, no. 15, pp. 14733–14740.
- Deister, A & Marneros, A 1993, 'Subtypes in schizophrenic disorders: frequencies in long-term course and premorbid features', *Social psychiatry and psychiatric epidemiology*, vol. 28, no. 4, pp. 164–171.
- Dekker, M, Bonifati, V, van Swieten, J, Leenders, N, Galjaard, R, Snijders, P, Horstink, M, Heutink, P, Oostra, B & van Duijn, C 2003, 'Clinical features and neuroimaging of PARK7-linked parkinsonism', *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, vol. 18, no. 7, pp. 751–757.
- Dekker, MCJ, Eshuis, SA, Maguire, RP, Veenma-van der Duijn, L, Pruijm, J, Snijders, PJLM, Oostra, BA, van Duijn, CM & Leenders, KL 2004, 'PET neuroimaging and mutations in the DJ-1 gene', *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)*, vol. 111, no. 12, pp. 1575–1581.
- DeLisi, LE 2008a, 'The concept of progressive brain change in schizophrenia: implications for understanding schizophrenia', *Schizophrenia bulletin*, vol. 34, no. 2, pp. 312–321.
- DeLisi, LE 2008b, 'The effect of cannabis on the brain: can it cause brain anomalies that lead to increased risk for schizophrenia?', *Current opinion in psychiatry*, vol. 21, no. 2, pp. 140–150.
- DeLisi, LE, Goldin, LR, Maxwell, ME, Kazuba, DM & Gershon, ES 1987, 'Clinical features of illness in siblings with schizophrenia or schizoaffective disorder', *Archives of general psychiatry*, vol. 44, no. 10, pp. 891–896.
- DIMDI 2011, *DIMDI - ICD-10-GM Version 2011*. Available from: <http://www.dimdi.de/static/de/klassi/diagnosen/icd10/htmlgm2011/block-f20-f29.htm> [27 May 2011].
- Djarmati, A, Hedrich, K, Svetel, M, Schäfer, N, Juric, V, Vukosavic, S, Hering, R, Riess, O, Romac, S, Klein, C & Kostic, V 2004, 'Detection of Parkin (PARK2) and DJ1 (PARK7) mutations in early-onset Parkinson disease: Parkin mutation frequency depends on ethnic origin of patients', *Human mutation*, vol. 23, no. 5, p. 525.
- Do, KQ, Cabungcal, JH, Frank, A, Steullet, P & Cuenod, M 2009, 'Redox dysregulation, neurodevelopment, and schizophrenia', *Current opinion in neurobiology*, vol. 19, no. 2, pp. 220–230.
- Do, KQ, Conus, P & Cuenod, M 2010, 'Redox dysregulation and oxidative stress in schizophrenia: nutrigenetics as a challenge in psychiatric disease prevention', *Journal of nutrigenetics and nutrigenomics*, vol. 3, 4-6, pp. 267–289.
- Dodd, S, Dean, O, Copolov, DL, Malhi, GS & Berk, M 2008, 'N-acetylcysteine for

- antioxidant therapy: pharmacology and clinical utility', *Expert opinion on biological therapy*, vol. 8, no. 12, pp. 1955–1962.
- Dringen, R 2000, 'Metabolism and functions of glutathione in brain', *Progress in neurobiology*, vol. 62, no. 6, pp. 649–671.
- Dringen, R, Pawlowski, PG & Hirrlinger, J 2005, 'Peroxide detoxification by brain cells', *Journal of neuroscience research*, vol. 79, 1-2, pp. 157–165.
- Duronio, V 2008, 'The life of a cell: apoptosis regulation by the PI3K/PKB pathway', *The Biochemical journal*, vol. 415, no. 3, pp. 333–344.
- Ebert, D & Loew, T 2005, *Psychiatrie systematisch*, UNI-MED Verl, Bremen. Available from: [http://deposit.ddb.de/cgi-bin/dokserv?id=2758487&prov=M&dok\\_var=1&dok\\_ext=htm](http://deposit.ddb.de/cgi-bin/dokserv?id=2758487&prov=M&dok_var=1&dok_ext=htm).
- Ebert, D & Loew, T 2008, *Psychiatrie systematisch*, UNI-MED-Verl, Bremen.
- Emsley, R, Chiliza, B & Schoeman, R 2008, 'Predictors of long-term outcome in schizophrenia', *Current opinion in psychiatry*, vol. 21, no. 2, pp. 173–177.
- Falkai, P, Honer, WG, David, S, Bogerts, B, Majtenyi, C & Bayer, TA 1999, 'No evidence for astrogliosis in brains of schizophrenic patients. A post-mortem study', *Neuropathology and applied neurobiology*, vol. 25, no. 1, pp. 48–53.
- Fallgatter, AJ, Ehlis, A, Herrmann, MJ, Hohoff, C, Reif, A, Freitag, CM & Deckert, J 2010, 'DTNBP1 (dysbindin) gene variants modulate prefrontal brain function in schizophrenic patients—support for the glutamate hypothesis of schizophrenias', *Genes, brain, and behavior*, vol. 9, no. 5, pp. 489–497.
- Farmer, AE, McGuffin, P & Gottesman, II 1987, 'Twin concordance for DSM-III schizophrenia. Scrutinizing the validity of the definition', *Archives of general psychiatry*, vol. 44, no. 7, pp. 634–641.
- Fenn, T 2003, 'POVScript+: a program for model and data visualization using persistence of vision ray-tracing', *J. Appl. Cryst.*, vol. 2003, no. 36, pp. 944–947.
- Fleckenstein, AE, Volz, TJ, Riddle, EL, Gibb, JW & Hanson, GR 2007, 'New insights into the mechanism of action of amphetamines', *Annual review of pharmacology and toxicology*, vol. 47, pp. 681–698.
- Franzek, E & Beckmann, H 1996, 'Die genetische Heterogenität der Schizophrenie. Ergebnisse einer systematischen Zwillingsstudie', *Der Nervenarzt*, vol. 67, no. 7, pp. 583–594.
- Fukui, H & Moraes, CT 2008, 'The mitochondrial impairment, oxidative stress and neurodegeneration connection: reality or just an attractive hypothesis?', *Trends in neurosciences*, vol. 31, no. 5, pp. 251–256.
- Fusar-Poli, P & Politi, P 2008, 'Paul Eugen Bleuler and the birth of schizophrenia (1908)', *The American journal of psychiatry*, vol. 165, no. 11, p. 1407.
- Gawryluk, JW, Wang, J, Andreatza, AC, Shao, L & Young, LT 2011, 'Decreased levels of glutathione, the major brain antioxidant, in post-mortem prefrontal cortex from patients with psychiatric disorders', *The international journal of neuropsychopharmacology / official scientific journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum (CINP)*, vol. 14, no. 1, pp. 123–130.
- Gejman, PV, Sanders, AR & Kendler, KS 2011, 'Genetics of schizophrenia: new findings and challenges', *Annual review of genomics and human genetics*, vol. 12, pp. 121–144.

- Giasson, BI, Duda, JE, Murray, IV, Chen, Q, Souza, JM, Hurtig, HI, Ischiropoulos, H, Trojanowski, JQ & Lee, VM 2000, 'Oxidative damage linked to neurodegeneration by selective alpha-synuclein nitration in synucleinopathy lesions', *Science (New York, N.Y.)*, vol. 290, no. 5493, pp. 985–989.
- Gibbs, SM 2003, 'Regulation of neuronal proliferation and differentiation by nitric oxide', *Molecular neurobiology*, vol. 27, no. 2, pp. 107–120.
- Giegling, I, Hartmann, AM, Genius, J, Benninghoff, J, Möller, H & Rujescu, D 2008, 'Systems biology and complex neurobehavioral traits', *Pharmacopsychiatry*, 41 Suppl 1, pp. S32-6.
- Glantz, LA & Lewis, DA 2000, 'Decreased dendritic spine density on prefrontal cortical pyramidal neurons in schizophrenia', *Archives of general psychiatry*, vol. 57, no. 1, pp. 65–73.
- Goldberg, MS, Pisani, A, Haburcak, M, Vortherms, TA, Kitada, T, Costa, C, Tong, Y, Martella, G, Tscherter, A, Martins, A, Bernardi, G, Roth, BL, Pothos, EN, Calabresi, P & Shen, J 2005, 'Nigrostriatal dopaminergic deficits and hypokinesia caused by inactivation of the familial Parkinsonism-linked gene DJ-1', *Neuron*, vol. 45, no. 4, pp. 489–496.
- Goldberg, TE, Straub, RE, Callicott, JH, Hariri, A, Mattay, VS, Bigelow, L, Coppola, R, Egan, MF & Weinberger, DR 2006, 'The G72/G30 gene complex and cognitive abnormalities in schizophrenia', *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, vol. 31, no. 9, pp. 2022–2032.
- Görner, K, Holtorf, E, Odoy, S, Nuscher, B, Yamamoto, A, Regula, JT, Beyer, K, Haass, C & Kahle, PJ 2004, 'Differential effects of Parkinson's disease-associated mutations on stability and folding of DJ-1', *The Journal of biological chemistry*, vol. 279, no. 8, pp. 6943–6951.
- Görner, K, Holtorf, E, Waak, J, Pham, T, Vogt-Weisenhorn, DM, Wurst, W, Haass, C & Kahle, PJ 2007, 'Structural determinants of the C-terminal helix-kink-helix motif essential for protein stability and survival promoting activity of DJ-1', *The Journal of biological chemistry*, vol. 282, no. 18, pp. 13680–13691.
- Gottesman, II 1991, *Schizophrenia genesis. The origins of madness*, Freeman, New York. Available from: <http://www.loc.gov/catdir/enhancements/fy0667/90003840-d.html>.
- Gottesman, II & Erlenmeyer-Kimling, L 2001, 'Family and twin strategies as a head start in defining prodromes and endophenotypes for hypothetical early-interventions in schizophrenia', *Schizophrenia research*, vol. 51, no. 1, pp. 93–102.
- Gouzoulis-Mayfrank, E, Heekeren, K, Neukirch, A, Stoll, M, Stock, C, Obradovic, M & Kovar, K 2005, 'Psychological effects of (S)-ketamine and N,N-dimethyltryptamine (DMT): a double-blind, cross-over study in healthy volunteers', *Pharmacopsychiatry*, vol. 38, no. 6, pp. 301–311.
- Grima, G, Benz, B, Parpura, V, Cuénod, M & Do, KQ 2003, 'Dopamine-induced oxidative stress in neurons with glutathione deficit: implication for schizophrenia', *Schizophrenia research*, vol. 62, no. 3, pp. 213–224.
- Guzman, JN, Sanchez-Padilla, J, Wokosin, D, Kondapalli, J, Ilijic, E, Schumacker, PT & Surmeier, DJ 2010, 'Oxidant stress evoked by pacemaking in dopaminergic neurons is attenuated by DJ-1', *Nature*, vol. 468, no. 7324, pp. 696–700.

- Gysin, R, Kraftsik, R, Sandell, J, Bovet, P, Chappuis, C, Conus, P, Deppen, P, Preisig, M, Ruiz, V, Steullet, P, Tosic, M, Werge, T, Cuénod, M & Do, KQ 2007, 'Impaired glutathione synthesis in schizophrenia: convergent genetic and functional evidence', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 104, no. 42, pp. 16621–16626.
- Häfner, H 2003, 'Gender differences in schizophrenia', *Psychoneuroendocrinology*, 28 Suppl 2, pp. 17–54.
- Häfner, H & der Heiden, W an 1999, 'The course of schizophrenia in the light of modern follow-up studies: the ABC and WHO studies', *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*, 249 Suppl 4, pp. 14–26.
- Hague, S, Rogaeva, E, Hernandez, D, Gulick, C, Singleton, A, Hanson, M, Johnson, J, Weiser, R, Gallardo, M, Ravina, B, Gwinn-Hardy, K, Crawley, A, St George-Hyslop, PH, Lang, AE, Heutink, P, Bonifati, V, Hardy, J & Singleton, A 2003, 'Early-onset Parkinson's disease caused by a compound heterozygous DJ-1 mutation', *Annals of neurology*, vol. 54, no. 2, pp. 271–274.
- Hall, D, Gogos, JA & Karayiorgou, M 2004, 'The contribution of three strong candidate schizophrenia susceptibility genes in demographically distinct populations', *Genes, brain, and behavior*, vol. 3, no. 4, pp. 240–248.
- Hall, W & Degenhardt, L 2008, 'Cannabis use and the risk of developing a psychotic disorder', *World psychiatry : official journal of the World Psychiatric Association (WPA)*, vol. 7, no. 2, pp. 68–71.
- Harrison, PJ & Weinberger, DR 2005, 'Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence', *Molecular psychiatry*, vol. 10, no. 1, pp. 40–68; image 5.
- Hashimoto, T, Hashimoto, K, Matsuzawa, D, Shimizu, E, Sekine, Y, Inada, T, Ozaki, N, Iwata, N, Harano, M, Komiyama, T, Yamada, M, Sora, I, Ujike, H & Iyo, M 2005, 'A functional glutathione S-transferase P1 gene polymorphism is associated with methamphetamine-induced psychosis in Japanese population', *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 135B, no. 1, pp. 5–9.
- Hastings, TG 1995, 'Enzymatic oxidation of dopamine: the role of prostaglandin H synthase', *Journal of neurochemistry*, vol. 64, no. 2, pp. 919–924.
- Hazlett, EA, Buchsbaum, MS, Byne, W, Wei, TC, Spiegel-Cohen, J, Geneve, C, Kinderlehrer, R, Haznedar, MM, Shihabuddin, L & Siever, LJ 1999, 'Three-dimensional analysis with MRI and PET of the size, shape, and function of the thalamus in the schizophrenia spectrum', *The American journal of psychiatry*, vol. 156, no. 8, pp. 1190–1199.
- Hazlett, EA, Buchsbaum, MS, Kemether, E, Bloom, R, Platholi, J, Brickman, AM, Shihabuddin, L, Tang, C & Byne, W 2004, 'Abnormal glucose metabolism in the mediodorsal nucleus of the thalamus in schizophrenia', *The American journal of psychiatry*, vol. 161, no. 2, pp. 305–314.
- Heales, SJR, Lam, AAJ, Duncan, AJ & Land, JM 2004, 'Neurodegeneration or neuroprotection: the pivotal role of astrocytes', *Neurochemical research*, vol. 29, no. 3, pp. 513–519.
- Hecker, E & Kraam, A 2009, 'Hebephrenia. A contribution to clinical psychiatry' by Dr. Ewald Hecker in Gorlitz. 1871', *History of psychiatry*, vol. 20, 77 Pt 1, pp. 87–106.

- Hettema, JM, Walsh, D & Kendler, KS 1996, 'Testing the effect of season of birth on familial risk for schizophrenia and related disorders', *The British journal of psychiatry : the journal of mental science*, vol. 168, no. 2, pp. 205–209.
- Hirose, K & Chan, PH 1993, 'Blockade of glutamate excitotoxicity and its clinical applications', *Neurochemical research*, vol. 18, no. 4, pp. 479–483.
- Ho, B, Andreasen, NC, Nopoulos, P, Arndt, S, Magnotta, V & Flaum, M 2003, 'Progressive structural brain abnormalities and their relationship to clinical outcome: a longitudinal magnetic resonance imaging study early in schizophrenia', *Archives of general psychiatry*, vol. 60, no. 6, pp. 585–594.
- Hölscher, C & Rose, SP 1992, 'An inhibitor of nitric oxide synthesis prevents memory formation in the chick', *Neuroscience letters*, vol. 145, no. 2, pp. 165–167.
- Honbou, K, Suzuki, NN, Horiuchi, M, Niki, T, Taira, T, Ariga, H & Inagaki, F 2003, 'The crystal structure of DJ-1, a protein related to male fertility and Parkinson's disease', *The Journal of biological chemistry*, vol. 278, no. 33, pp. 31380–31384.
- Hooley, JM 2007, 'Expressed emotion and relapse of psychopathology', *Annual review of clinical psychology*, vol. 3, pp. 329–352.
- Howes, OD & Kapur, S 2009, 'The dopamine hypothesis of schizophrenia: version III--the final common pathway', *Schizophrenia bulletin*, vol. 35, no. 3, pp. 549–562.
- Hsu, LJ, Sagara, Y, Arroyo, A, Rockenstein, E, Sisk, A, Mallory, M, Wong, J, Takenouchi, T, Hashimoto, M & Masliah, E 2000, 'alpha-synuclein promotes mitochondrial deficit and oxidative stress', *The American journal of pathology*, vol. 157, no. 2, pp. 401–410.
- Huai, Q, Sun, Y, Wang, H, Chin, LS, Li, L, Robinson, H & Ke, H 2003, 'Crystal structure of DJ-1/RS and implication on familial Parkinson's disease', *FEBS letters*, vol. 549, 1-3, pp. 171–175.
- Huber, G & Gross, G 2005, *Psychiatrie. Lehrbuch für Studium und Weiterbildung ; mit 44 Tabellen*, Schattauer, Stuttgart.
- Huber, G, Gross, G & Schüttler, R 1984, *Schizophrenie. Verlaufs- u. sozialpsychiatr. Langzeituntersuchung an den 1945-1959 in Bonn hospitalisierten schizophrenen Kranken*, Springer, Berlin.
- Hyman, SE & Fenton, WS 2003, 'Medicine. What are the right targets for psychopharmacology?', *Science (New York, N.Y.)*, vol. 299, no. 5605, pp. 350–351.
- Ichikawa, J, Ishii, H, Bonaccorso, S, Fowler, WL, O'Laughlin, IA & Meltzer, HY 2001, '5-HT(2A) and D(2) receptor blockade increases cortical DA release via 5-HT(1A) receptor activation: a possible mechanism of atypical antipsychotic-induced cortical dopamine release', *Journal of neurochemistry*, vol. 76, no. 5, pp. 1521–1531.
- Ikeda, M, Aleksic, B, Kinoshita, Y, Okochi, T, Kawashima, K, Kushima, I, Ito, Y, Nakamura, Y, Kishi, T, Okumura, T, Fukuo, Y, Williams, HJ, Hamshere, ML, Ivanov, D, Inada, T, Suzuki, M, Hashimoto, R, Ujike, H, Takeda, M, Craddock, N, Kaibuchi, K, Owen, MJ, Ozaki, N, O'Donovan, MC & Iwata, N 2011, 'Genome-wide association study of schizophrenia in a Japanese population', *Biological psychiatry*, vol. 69, no. 5, pp. 472–478.
- Insel, TR 2010, 'Rethinking schizophrenia', *Nature*, vol. 468, no. 7321, pp. 187–193.
- International HapMap Consortium 2005, 'A haplotype map of the human genome', *Nature*, vol. 437, no. 7063, pp. 1299–1320.
- International Schizophrenia Consortium 2008, 'Rare chromosomal deletions and duplications increase risk of schizophrenia', *Nature*, vol. 455, no. 7210, pp. 237–241.

- Irrcher, I, Aleyasin, H, Seifert, EL, Hewitt, SJ, Chhabra, S, Phillips, M, Lutz, AK, Rousseaux, MWC, Bevilacqua, L, Jahani-Asl, A, Callaghan, S, MacLaurin, JG, Winkhofer, KF, Rizzu, P, Rippstein, P, Kim, RH, Chen, CX, Fon, EA, Slack, RS, Harper, ME, McBride, HM, Mak, TW & Park, DS 2010, 'Loss of the Parkinson's disease-linked gene DJ-1 perturbs mitochondrial dynamics', *Human molecular genetics*, vol. 19, no. 19, pp. 3734–3746.
- Jablensky, A, Sartorius, N, Ernberg, G, Anker, M, Korten, A, Cooper, JE, Day, R & Bertelsen, A 1992, 'Schizophrenia: manifestations, incidence and course in different cultures. A World Health Organization ten-country study', *Psychological medicine. Monograph supplement*, vol. 20, pp. 1–97.
- Janssen-Heininger, YMW, Mossman, BT, Heintz, NH, Forman, HJ, Kalyanaraman, B, Finkel, T, Stamler, JS, Rhee, SG & van der Vliet, A 2008, 'Redox-based regulation of signal transduction: principles, pitfalls, and promises', *Free radical biology & medicine*, vol. 45, no. 1, pp. 1–17.
- Javitt, DC & Coyle, JT 2004, 'Decoding schizophrenia', *Scientific American*, vol. 290, no. 1, pp. 48–55.
- Jenner, P & Olanow, CW 1998, 'Understanding cell death in Parkinson's disease', *Annals of neurology*, vol. 44, 3 Suppl 1, pp. S72–84.
- Junn, E, Jang, WH, Zhao, X, Jeong, BS & Mouradian, MM 2009, 'Mitochondrial localization of DJ-1 leads to enhanced neuroprotection', *Journal of neuroscience research*, vol. 87, no. 1, pp. 123–129.
- Junn, E, Taniguchi, H, Jeong, BS, Zhao, X, Ichijo, H & Mouradian, MM 2005, 'Interaction of DJ-1 with Daxx inhibits apoptosis signal-regulating kinase 1 activity and cell death', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 102, no. 27, pp. 9691–9696.
- Kahlbaum, K 1874, *Die Katatonie, oder das Spannungsirresein: eine klinische Form psychischer Krankheit*, Hirschwald. Available from: <http://books.google.com/books?id=TqhWGWAAACAAJ>.
- Kapur, S, Zipursky, RB, Jones, C, Remington, GJ, Wilson, AA, DaSilva, J & Houle, S 1996, 'The D2 receptor occupancy profile of loxapine determined using PET', *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, vol. 15, no. 6, pp. 562–566.
- Kaul, S, Anantharam, V, Kanthasamy, A & Kanthasamy, AG 2005, 'Wild-type alpha-synuclein interacts with pro-apoptotic proteins PKCdelta and BAD to protect dopaminergic neuronal cells against MPP+-induced apoptotic cell death', *Brain research. Molecular brain research*, vol. 139, no. 1, pp. 137–152.
- Kay, SR, Fiszbein, A & Opler, LA 1987, 'The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia', *Schizophrenia bulletin*, vol. 13, no. 2, pp. 261–276.
- Kay, SR, Opler, LA & Lindenmayer, JP 1989, 'The Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS): rationale and standardisation', *The British journal of psychiatry. Supplement*, no. 7, pp. 59–67.
- Kendler, KS 2001, 'Twin studies of psychiatric illness: an update', *Archives of general psychiatry*, vol. 58, no. 11, pp. 1005–1014.
- Kendler, KS, Gruenberg, AM & Kinney, DK 1994, 'Independent diagnoses of adoptees and relatives as defined by DSM-III in the provincial and national samples of the Danish Adoption Study of Schizophrenia', *Archives of general psychiatry*, vol. 51, no. 6, pp. 456–468.

- Keshavan, MS, Anderson, S & Pettegrew, JW 1994, 'Is schizophrenia due to excessive synaptic pruning in the prefrontal cortex? The Feinberg hypothesis revisited', *Journal of psychiatric research*, vol. 28, no. 3, pp. 239–265.
- Keshavan, MS, Tandon, R, Boutros, NN & Nasrallah, HA 2008, 'Schizophrenia, "just the facts": what we know in 2008 Part 3: neurobiology', *Schizophrenia research*, vol. 106, 2-3, pp. 89–107.
- Kety, SS, Wender, PH, Jacobsen, B, Ingraham, LJ, Jansson, L, Faber, B & Kinney, DK 1994, 'Mental illness in the biological and adoptive relatives of schizophrenic adoptees. Replication of the Copenhagen Study in the rest of Denmark', *Archives of general psychiatry*, vol. 51, no. 6, pp. 442–455.
- Kim, JS, Kornhuber, HH, Schmid-Burgk, W & Holzmüller, B 1980, 'Low cerebrospinal fluid glutamate in schizophrenic patients and a new hypothesis on schizophrenia', *Neuroscience letters*, vol. 20, no. 3, pp. 379–382.
- Kim, RH, Peters, M, Jang, Y, Shi, W, Pintilie, M, Fletcher, GC, DeLuca, C, Liepa, J, Zhou, L, Snow, B, Binari, RC, Manoukian, AS, Bray, MR, Liu, F, Tsao, M & Mak, TW 2005a, 'DJ-1, a novel regulator of the tumor suppressor PTEN', *Cancer cell*, vol. 7, no. 3, pp. 263–273.
- Kim, RH, Smith, PD, Aleyasin, H, Hayley, S, Mount, MP, Pownall, S, Wakeham, A, You-Ten, AJ, Kalia, SK, Horne, P, Westaway, D, Lozano, AM, Anisman, H, Park, DS & Mak, TW 2005b, 'Hypersensitivity of DJ-1-deficient mice to 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) and oxidative stress', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 102, no. 14, pp. 5215–5220.
- Kim, E, Park, D, Choi, S, Kim, J & Cho, H 2008, 'A preliminary investigation of alpha-lipoic acid treatment of antipsychotic drug-induced weight gain in patients with schizophrenia', *Journal of clinical psychopharmacology*, vol. 28, no. 2, pp. 138–146.
- Kinumi, T, Kimata, J, Taira, T, Ariga, H & Niki, E 2004, 'Cysteine-106 of DJ-1 is the most sensitive cysteine residue to hydrogen peroxide-mediated oxidation in vivo in human umbilical vein endothelial cells', *Biochemical and biophysical research communications*, vol. 317, no. 3, pp. 722–728.
- Kirov, G, Zaharieva, I, Georgieva, L, Moskvina, V, Nikolov, I, Cichon, S, Hillmer, A, Toncheva, D, Owen, MJ & O'Donovan, MC 2009, 'A genome-wide association study in 574 schizophrenia trios using DNA pooling', *Molecular psychiatry*, vol. 14, no. 8, pp. 796–803.
- Kishida, KT & Klann, E 2007, 'Sources and targets of reactive oxygen species in synaptic plasticity and memory', *Antioxidants & redox signaling*, vol. 9, no. 2, pp. 233–244.
- Klosterkötter, J, Hellmich, M, Steinmeyer, EM & Schultze-Lutter, F 2001, 'Diagnosing schizophrenia in the initial prodromal phase', *Archives of general psychiatry*, vol. 58, no. 2, pp. 158–164.
- Kohen, R & Nyska, A 2002, 'Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification', *Toxicologic pathology*, vol. 30, no. 6, pp. 620–650.
- Kotaria, N, Hinz, U, Zechel, S & Bohlen Und Halbach, O von 2005, 'Localization of DJ-1 protein in the murine brain', *Cell and tissue research*, vol. 322, no. 3, pp. 503–507.
- Koutsilieris, E & Riederer, P 2007, 'Excitotoxicity and new ant glutamatergic strategies in Parkinson's disease and Alzheimer's disease', *Parkinsonism & related disorders*, 13 Suppl 3, pp. S329–31.
- Kovelman, JA & Scheibel, AB 1984, 'A neurohistological correlate of schizophrenia', *Biological psychiatry*, vol. 19, no. 12, pp. 1601–1621.

- Kowaltowski, AJ & Vercesi, AE 1999, 'Mitochondrial damage induced by conditions of oxidative stress', *Free radical biology & medicine*, vol. 26, 3-4, pp. 463-471.
- Kraepelin, E 1896, *Psychiatrie. Ein Lehrbuch für Studierende und Aerzte*, Barth, Leipzig.
- Kringlen, E 1966, 'Schizophrenia in twins. An epidemiological-clinical study', *Psychiatry*, vol. 29, no. 2, pp. 172-184.
- Krystal, JH, Karper, LP, Seibyl, JP, Freeman, GK, Delaney, R, Bremner, JD, Heninger, GR, Bowers, MB & Charney, DS 1994, 'Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses', *Archives of general psychiatry*, vol. 51, no. 3, pp. 199-214.
- Kyziridis, TC 2005, 'Notes on the History of Schizophrenia', *German Journal of Psychiatry*, vol. 8, no. 3, pp. 42-48 [22 May 2011].
- Lakshminarasimhan, M, Maldonado, MT, Zhou, W, Fink, AL & Wilson, MA 2008, 'Structural impact of three Parkinsonism-associated missense mutations on human DJ-1', *Biochemistry*, vol. 47, no. 5, pp. 1381-1392.
- Lander, ES & Schork, NJ 1994, 'Genetic dissection of complex traits', *Science (New York, N.Y.)*, vol. 265, no. 5181, pp. 2037-2048.
- Lavoie, S, Murray, MM, Deppen, P, Knyazeva, MG, Berk, M, Boulat, O, Bovet, P, Bush, AI, Conus, P, Copolov, D, Fornari, E, Meuli, R, Solida, A, Vianin, P, Cuénod, M, Buclin, T & Do, KQ 2008, 'Glutathione precursor, N-acetyl-cysteine, improves mismatch negativity in schizophrenia patients', *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, vol. 33, no. 9, pp. 2187-2199.
- Le Naour, F, Misek, DE, Krause, MC, Deneux, L, Giordano, TJ, Scholl, S & Hanash, SM 2001, 'Proteomics-based identification of RS/DJ-1 as a novel circulating tumor antigen in breast cancer', *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, vol. 7, no. 11, pp. 3328-3335.
- Lenaz, G, 'The mitochondrial production of reactive oxygen species: mechanisms and implications in human pathology', *IUBMB life*, vol. 52, 3-5, pp. 159-164.
- Lencz, T, Morgan, TV, Athanasiou, M, Dain, B, Reed, CR, Kane, JM, Kucherlapati, R & Malhotra, AK 2007, 'Converging evidence for a pseudoautosomal cytokine receptor gene locus in schizophrenia', *Molecular psychiatry*, vol. 12, no. 6, pp. 572-580.
- Lev, N, Ickowicz, D, Barhum, Y, Lev, S, Melamed, E & Offen, D 2009, 'DJ-1 protects against dopamine toxicity', *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)*, vol. 116, no. 2, pp. 151-160.
- Lev, N, Ickowicz, D, Melamed, E & Offen, D 2008, 'Oxidative insults induce DJ-1 upregulation and redistribution: implications for neuroprotection', *Neurotoxicology*, vol. 29, no. 3, pp. 397-405.
- Lewis, CM, Levinson, DF, Wise, LH, DeLisi, LE, Straub, RE, Hovatta, I, Williams, NM, Schwab, SG, Pulver, AE, Faraone, SV, Brzustowicz, LM, Kaufmann, CA, Garver, DL, Gurling, HMD, Lindholm, E, Coon, H, Moises, HW, Byerley, W, Shaw, SH, Mesen, A, Sherrington, R, O'Neill, FA, Walsh, D, Kendler, KS, Ekelund, J, Paunio, T, Lönnqvist, J, Peltonen, L, O'Donovan, MC, Owen, MJ, Wildenauer, DB, Maier, W, Nestadt, G, Blouin, J, Antonarakis, SE, Mowry, BJ, Silverman, JM, Crowe, RR, Cloninger, CR, Tsuang, MT, Malaspina, D, Harkavy-Friedman, JM, Svrakic, DM, Bassett, AS, Holcomb, J, Kalsi, G, McQuillin, A, Brynjolfson, J, Sigmundsson, T, Petursson, H, Jazin, E, Zoëga, T & Helgason, T 2003, 'Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia', *American journal of human genetics*, vol. 73, no. 1, pp. 34-48.

- Lidow, MS 2003, 'Calcium signaling dysfunction in schizophrenia: a unifying approach', *Brain research. Brain research reviews*, vol. 43, no. 1, pp. 70–84.
- Lieberman, J, Chakos, M, Wu, H, Alvir, J, Hoffman, E, Robinson, D & Bilder, R 2001, 'Longitudinal study of brain morphology in first episode schizophrenia', *Biological psychiatry*, vol. 49, no. 6, pp. 487–499.
- Limosin, F, Rouillon, F, Payan, C, Cohen, J & Strub, N 2003, 'Prenatal exposure to influenza as a risk factor for adult schizophrenia', *Acta psychiatrica Scandinavica*, vol. 107, no. 5, pp. 331–335.
- Liu, F, Nguyen, JL, Hulleman, JD, Li, L & Rochet, J 2008a, 'Mechanisms of DJ-1 neuroprotection in a cellular model of Parkinson's disease', *Journal of neurochemistry*, vol. 105, no. 6, pp. 2435–2453.
- Liu, H, Wang, M, Li, M, Wang, D, Rao, Q, Wang, Y, Xu, Z & Wang, J 2008b, 'Expression and role of DJ-1 in leukemia', *Biochemical and biophysical research communications*, vol. 375, no. 3, pp. 477–483.
- Löffler, W & Häfner, H 1999, 'Ecological pattern of first admitted schizophrenics in two German cities over 25 years', *Social science & medicine (1982)*, vol. 49, no. 1, pp. 93–108.
- Lonart, G, Wang, J & Johnson, KM 1992, 'Nitric oxide induces neurotransmitter release from hippocampal slices', *European journal of pharmacology*, vol. 220, 2-3, pp. 271–272.
- Lopez, AD 2006, *Global burden of disease and risk factors. [disease control priorities project]*, Oxford Univ. Press, New York, NY. Available from: <http://www.loc.gov/catdir/enhancements/fy0638/2006040094-d.html>.
- Lorrain, DS & Hull, EM 1993, 'Nitric oxide increases dopamine and serotonin release in the medial preoptic area', *Neuroreport*, vol. 5, no. 1, pp. 87–89.
- Mah, S, Nelson, MR, DeLisi, LE, Reneland, RH, Markward, N, James, MR, Nyholt, DR, Hayward, N, Handoko, H, Mowry, B, Kammerer, S & Braun, A 2006, 'Identification of the semaphorin receptor PLXNA2 as a candidate for susceptibility to schizophrenia', *Molecular psychiatry*, vol. 11, no. 5, pp. 471–478.
- Maher, P & Schubert, D 2000, 'Signaling by reactive oxygen species in the nervous system', *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, vol. 57, 8-9, pp. 1287–1305.
- Maier, W, Lichtermann, D, Rietschel, M, Held, T, Falkai, P, Wagner, M & Schwab, S 1999a, 'Genetik schizophrener Störungen. Neuere Konzepte und Befunde', *Der Nervenarzt*, vol. 70, no. 11, pp. 955–969.
- Maier, W, Rietschel, M, Lichtermann, D & Wildenauer, DB 1999b, 'Family and genetic studies on the relationship of schizophrenia to affective disorders', *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*, 249 Suppl 4, pp. 57–61.
- Malgieri, G & Eliezer, D 2008, 'Structural effects of Parkinson's disease linked DJ-1 mutations', *Protein science : a publication of the Protein Society*, vol. 17, no. 5, pp. 855–868.
- Manning-Boğ, AB, Caudle, WM, Perez, XA, Reaney, SH, Paletzki, R, Isla, MZ, Chou, VP, McCormack, AL, Miller, GW, Langston, JW, Gerfen, CR & Dimonte, DA 2007, 'Increased vulnerability of nigrostriatal terminals in DJ-1-deficient mice is mediated by the dopamine transporter', *Neurobiology of disease*, vol. 27, no. 2, pp. 141–150.
- MapView 2012. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview/> [01 April 2012].

- Marcelis, M, Takei, N & van Os, J 1999, 'Urbanization and risk for schizophrenia: does the effect operate before or around the time of illness onset?', *Psychological medicine*, vol. 29, no. 5, pp. 1197–1203.
- March, D, Hatch, SL, Morgan, C, Kirkbride, JB, Bresnahan, M, Fearon, P & Susser, E 2008, 'Psychosis and place', *Epidemiologic reviews*, vol. 30, pp. 84–100.
- Marchbanks, RM, Ryan, M, Day, INM, Owen, M, McGuffin, P & Whatley, SA 2003, 'A mitochondrial DNA sequence variant associated with schizophrenia and oxidative stress', *Schizophrenia research*, vol. 65, no. 1, pp. 33–38.
- Marneros, A, Deister, A & Rohde, A 1991, *Affektive, schizoaffektive und schizophrene Psychosen. Eine vergleichende Langzeitstudie ; mit 137 Tabellen*, Springer, Berlin.
- Martinat, C, Shendelman, S, Jonason, A, Leete, T, Beal, MF, Yang, L, Floss, T & Abeliovich, A 2004, 'Sensitivity to oxidative stress in DJ-1-deficient dopamine neurons: an ES- derived cell model of primary Parkinsonism', *PLoS biology*, vol. 2, no. 11, pp. e327.
- Martins-de-Souza, D, Gattaz, WF, Schmitt, A, Novello, JC, Marangoni, S, Turck, CW & Dias-Neto, E 2009, 'Proteome analysis of schizophrenia patients Wernicke's area reveals an energy metabolism dysregulation', *BMC psychiatry*, vol. 9, p. 17.
- Martins-de-Souza, D, Harris, LW, Guest, PC & Bahn, S 2011, 'The role of energy metabolism dysfunction and oxidative stress in schizophrenia revealed by proteomics', *Antioxidants & redox signaling*, vol. 15, no. 7, pp. 2067–2079.
- Massaad, CA & Klann, E 2011, 'Reactive oxygen species in the regulation of synaptic plasticity and memory', *Antioxidants & redox signaling*, vol. 14, no. 10, pp. 2013–2054.
- Matigian, N, Abrahamsen, G, Sutharsan, R, Cook, AL, Vitale, AM, Nouwens, A, Bellette, B, An, J, Anderson, M, Beckhouse, AG, Bennebroek, M, Cecil, R, Chalk, AM, Cochrane, J, Fan, Y, Féron, F, McCurdy, R, McGrath, JJ, Murrell, W, Perry, C, Raju, J, Ravishankar, S, Silburn, PA, Sutherland, GT, Mahler, S, Mellick, GD, Wood, SA, Sue, CM, Wells, CA & Mackay-Sim, A, 'Disease-specific, neurosphere-derived cells as models for brain disorders', *Disease models & mechanisms*, vol. 3, 11-12, pp. 785–798.
- Matsuzawa, A & Ichijo, H 2008, 'Redox control of cell fate by MAP kinase: physiological roles of ASK1-MAP kinase pathway in stress signaling', *Biochimica et biophysica acta*, vol. 1780, no. 11, pp. 1325–1336.
- Matsuzawa, D & Hashimoto, K 2011, 'Magnetic resonance spectroscopy study of the antioxidant defense system in schizophrenia', *Antioxidants & redox signaling*, vol. 15, no. 7, pp. 2057–2065.
- Maurer, K & Häfner, H 1995, 'Methodological aspects of onset assessment in schizophrenia', *Schizophrenia research*, vol. 15, no. 3, pp. 265–276.
- Maynard, TM, Sikich, L, Lieberman, JA & LaMantia, AS 2001, 'Neural development, cell-cell signaling, and the "two-hit" hypothesis of schizophrenia', *Schizophrenia bulletin*, vol. 27, no. 3, pp. 457–476.
- McCarley, RW, Wible, CG, Frumin, M, Hirayasu, Y, Levitt, JJ, Fischer, IA & Shenton, ME 1999, 'MRI anatomy of schizophrenia', *Biological psychiatry*, vol. 45, no. 9, pp. 1099–1119.
- McGlashan, TH & Hoffman, RE 2000, 'Schizophrenia as a disorder of developmentally reduced synaptic connectivity', *Archives of general psychiatry*, vol. 57, no. 7, pp. 637–648.
- McGorry, PD, Yung, AR, Bechdolf, A & Amminger, P 2008, 'Back to the future: predicting and reshaping the course of psychotic disorder', *Archives of general psychiatry*, vol. 65, no. 1, pp. 25–27.

- McGrath, J, Saha, S, Chant, D & Welham, J 2008, 'Schizophrenia: a concise overview of incidence, prevalence, and mortality', *Epidemiologic reviews*, vol. 30, pp. 67–76.
- McGrath, J, Saha, S, Welham, J, El Saadi, O, MacCauley, C & Chant, D 2004, 'A systematic review of the incidence of schizophrenia: the distribution of rates and the influence of sex, urbanicity, migrant status and methodology', *BMC medicine*, vol. 2, p. 13.
- McGue, M & Gottesman, II 1989, 'Genetic linkage in schizophrenia: perspectives from genetic epidemiology', *Schizophrenia bulletin*, vol. 15, no. 3, pp. 453–464.
- McGuffin, P, Owen, MJ & Farmer, AE 1995, 'Genetic basis of schizophrenia', *Lancet*, vol. 346, no. 8976, pp. 678–682.
- McQuillen, PS & Ferriero, DM 2004, 'Selective vulnerability in the developing central nervous system', *Pediatric neurology*, vol. 30, no. 4, pp. 227–235.
- Meador-Woodruff, JH, Clinton, SM, Beneyto, M & McCullumsmith, RE 2003, 'Molecular abnormalities of the glutamate synapse in the thalamus in schizophrenia', *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1003, pp. 75–93.
- Mednick, SA, Machon, RA, Huttunen, MO & Bonett, D 1988, 'Adult schizophrenia following prenatal exposure to an influenza epidemic', *Archives of general psychiatry*, vol. 45, no. 2, pp. 189–192.
- Meltzer, HY 1987, 'Biological studies in schizophrenia', *Schizophrenia bulletin*, vol. 13, no. 1, pp. 77–111.
- Meltzer, HY 1997, 'Treatment-resistant schizophrenia--the role of clozapine', *Current medical research and opinion*, vol. 14, no. 1, pp. 1–20.
- Menon, RR, Barta, PE, Aylward, EH, Richards, SS, Vaughn, DD, Tien, AY, Harris, GJ & Pearlson, GD 1995, 'Posterior superior temporal gyrus in schizophrenia: grey matter changes and clinical correlates', *Schizophrenia research*, vol. 16, no. 2, pp. 127–135.
- Meulener, MC, Xu, K, Thomson, L, Thompson, L, Ischiropoulos, H & Bonini, NM 2006, 'Mutational analysis of DJ-1 in *Drosophila* implicates functional inactivation by oxidative damage and aging', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 103, no. 33, pp. 12517–12522.
- Michael, N, Sourgens, H, Arolt, V & Erfurth, A 2002, 'Severe tardive dyskinesia in affective disorders: treatment with vitamin E and C', *Neuropsychobiology*, 46 Suppl 1, pp. 28–30.
- Mitsumoto, A & Nakagawa, Y 2001, 'DJ-1 is an indicator for endogenous reactive oxygen species elicited by endotoxin', *Free radical research*, vol. 35, no. 6, pp. 885–893.
- Mitsumoto, A, Nakagawa, Y, Takeuchi, A, Okawa, K, Iwamatsu, A & Takanezawa, Y 2001, 'Oxidized forms of peroxiredoxins and DJ-1 on two-dimensional gels increased in response to sublethal levels of paraquat', *Free radical research*, vol. 35, no. 3, pp. 301–310.
- Miyazaki, I & Asanuma, M 2008, 'Dopaminergic neuron-specific oxidative stress caused by dopamine itself', *Acta medica Okayama*, vol. 62, no. 3, pp. 141–150.
- Mo, J, Kim, M, Ann, E, Hong, J & Park, H 2008, 'DJ-1 modulates UV-induced oxidative stress signaling through the suppression of MEK1 and cell death', *Cell death and differentiation*, vol. 15, no. 6, pp. 1030–1041.
- Moldin, SO 1997, 'The maddening hunt for madness genes', *Nature genetics*, vol. 17, no. 2, pp. 127–129.

- Möller, H, Laux, G & Kapfhammer, H 2011, *Psychiatrie, Psychosomatik, Psychotherapie*, SpringerMedizin, Berlin.
- Moore, DJ, Zhang, L, Dawson, TM & Dawson, VL 2003, 'A missense mutation (L166P) in DJ-1, linked to familial Parkinson's disease, confers reduced protein stability and impairs homo-oligomerization', *Journal of neurochemistry*, vol. 87, no. 6, pp. 1558–1567.
- Moore, THM, Zammit, S, Lingford-Hughes, A, Barnes, TRE, Jones, PB, Burke, M & Lewis, G 2007, 'Cannabis use and risk of psychotic or affective mental health outcomes: a systematic review', *Lancet*, vol. 370, no. 9584, pp. 319–328.
- Morel, B 1860, *Traité des maladies mentales*, Victor Masson. Available from: [http://books.google.com/books?id=yp8\\_AAAAcAAJ](http://books.google.com/books?id=yp8_AAAAcAAJ).
- Morris, DW, McGhee, KA, Schwaiger, S, Scully, P, Quinn, J, Meagher, D, Waddington, JL, Gill, M & Corvin, AP 2003, 'No evidence for association of the dysbindin gene [DTNBP1] with schizophrenia in an Irish population-based study', *Schizophrenia research*, vol. 60, 2-3, pp. 167–172.
- Mueser, KT & McGurk, SR 2004, 'Schizophrenia', *Lancet*, vol. 363, no. 9426, pp. 2063–2072.
- Mullett, SJ & Hinkle, DA 2009, 'DJ-1 knock-down in astrocytes impairs astrocyte-mediated neuroprotection against rotenone', *Neurobiology of disease*, vol. 33, no. 1, pp. 28–36.
- Murphy, KC, Jones, LA & Owen, MJ 1999, 'High rates of schizophrenia in adults with velo-cardio-facial syndrome', *Archives of general psychiatry*, vol. 56, no. 10, pp. 940–945.
- Murray, CJ & Lopez, AD 1996, 'Evidence-based health policy--lessons from the Global Burden of Disease Study', *Science (New York, N.Y.)*, vol. 274, no. 5288, pp. 740–743.
- Murray, RM & Lewis, SW 1987, 'Is schizophrenia a neurodevelopmental disorder?', *British medical journal (Clinical research ed.)*, vol. 295, no. 6600, pp. 681–682.
- Murray, RM, Jones, P & O'Callaghan, E 1991, 'Fetal brain development and later schizophrenia', *Ciba Foundation symposium*, vol. 156, pp. 155-63; discussion 163-70.
- Nagakubo, D, Taira, T, Kitaura, H, Ikeda, M, Tamai, K, Iguchi-Ariga, SM & Ariga, H 1997, 'DJ-1, a novel oncogene which transforms mouse NIH3T3 cells in cooperation with ras', *Biochemical and biophysical research communications*, vol. 231, no. 2, pp. 509–513.
- Need AC, Ge D, Weale ME, Maia J, Feng S, et al. (2009) A Genome-Wide Investigation of SNPs and CNVs in Schizophrenia. *PLoS Genet* 5(2): e1000373. doi:10.1371/journal.pgen.1000373
- Nelson, MD, Saykin, AJ, Flashman, LA & Riordan, HJ 1998, 'Hippocampal volume reduction in schizophrenia as assessed by magnetic resonance imaging: a meta-analytic study', *Archives of general psychiatry*, vol. 55, no. 5, pp. 433–440.
- Neumann, M, Müller, V, Görner, K, Kretschmar, HA, Haass, C & Kahle, PJ 2004, 'Pathological properties of the Parkinson's disease-associated protein DJ-1 in alpha-synucleinopathies and tauopathies: relevance for multiple system atrophy and Pick's disease', *Acta neuropathologica*, vol. 107, no. 6, pp. 489–496.

Ng, MYM, Levinson, DF, Faraone, SV, Suarez, BK, DeLisi, LE, Arinami, T, Riley, B, Paunio, T, Pulver, AE, Irmansyah, Holmans, PA, Escamilla, M, Wildenauer, DB, Williams, NM, Laurent, C, Mowry, BJ, Brzustowicz, LM, Maziade, M, Sklar, P, Garver, DL, Abecasis, GR, Lerer, B, Fallin, MD, Gurling, HMD, Gejman, PV, Lindholm, E, Moises, HW, Byerley, W, Wijsman, EM, Forabosco, P, Tsuang, MT, Hwu, H, Okazaki, Y, Kendler, KS, Wormley, B, Fanous, A, Walsh, D, O'Neill, FA, Peltonen, L, Nestadt, G, Lasseter, VK, Liang, KY, Papadimitriou, GM, Dikeos, DG, Schwab, SG, Owen, MJ, O'Donovan, MC, Norton, N, Hare, E, Raventos, H, Nicolini, H, Albus, M, Maier, W, Nimgaonkar, VL, Terenius, L, Mallet, J, Jay, M, Godard, S, Nertney, D, Alexander, M, Crowe, RR, Silverman, JM, Bassett, AS, Roy, M, Mérette, C, Pato, CN, Pato, MT, Roos, JL, Kohn, Y, Amann-Zalcenstein, D, Kalsi, G, McQuillin, A, Curtis, D, Brynjolfson, J, Sigmundsson, T, Petursson, H, Sanders, AR, Duan, J, Jazin, E, Myles-Worsley, M, Karayiorgou, M & Lewis, CM 2009, 'Meta-analysis of 32 genome-wide linkage studies of schizophrenia', *Molecular psychiatry*, vol. 14, no. 8, pp. 774–785.

Niki, T, Takahashi-Niki, K, Taira, T, Iguchi-Ariga, SMM & Ariga, H 2003, 'DJBP: a novel DJ-1-binding protein, negatively regulates the androgen receptor by recruiting histone deacetylase complex, and DJ-1 antagonizes this inhibition by abrogation of this complex', *Molecular cancer research : MCR*, vol. 1, no. 4, pp. 247–261.

Nordberg, J & Arnér, ES 2001, 'Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system', *Free radical biology & medicine*, vol. 31, no. 11, pp. 1287–1312.

Norton, N, Williams, HJ & Owen, MJ 2006, 'An update on the genetics of schizophrenia', *Current opinion in psychiatry*, vol. 19, no. 2, pp. 158–164.

Nuytemans, K, Theuns, J, Cruts, M & van Broeckhoven, C 2010, 'Genetic etiology of Parkinson disease associated with mutations in the SNCA, PARK2, PINK1, PARK7, and LRRK2 genes: a mutation update', *Human mutation*, vol. 31, no. 7, pp. 763–780.

O'Donovan, MC, Craddock, N, Norton, N, Williams, H, Peirce, T, Moskvina, V, Nikolov, I, Hamshere, M, Carroll, L, Georgieva, L, Dwyer, S, Holmans, P, Marchini, JL, Spencer, CCA, Howie, B, Leung, H, Hartmann, AM, Möller, H, Morris, DW, Shi, Y, Feng, G, Hoffmann, P, Propping, P, Vasilescu, C, Maier, W, Rietschel, M, Zammit, S, Schumacher, J, Quinn, EM, Schulze, TG, Williams, NM, Giegling, I, Iwata, N, Ikeda, M, Darvasi, A, Shifman, S, He, L, Duan, J, Sanders, AR, Levinson, DF, Gejman, PV, Cichon, S, Nöthen, MM, Gill, M, Corvin, A, Rujescu, D, Kirov, G, Owen, MJ, Buccola, NG, Mowry, BJ, Freedman, R, Amin, F, Black, DW, Silverman, JM, Byerley, WF & Cloninger, CR 2008, 'Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up', *Nature genetics*, vol. 40, no. 9, pp. 1053–1055.

Oeth, P et al. 2006, 'Sequenom iPLEX™ Assay: Increased Plexing Efficiency and Flexibility for MassARRAY® System Through Single Base Primer Extension with Mass-Modified Terminators', Doc. No. 8876-006, R04 CO 060150

Olney, JW 1989, 'Excitatory amino acids and neuropsychiatric disorders', *Biological psychiatry*, vol. 26, no. 5, pp. 505–525.

Olney, JW, Newcomer, JW & Farber, NB 1999, 'NMDA receptor hypofunction model of schizophrenia', *Journal of psychiatric research*, vol. 33, no. 6, pp. 523–533.

Olzmann, JA, Brown, K, Wilkinson, KD, Rees, HD, Huai, Q, Ke, H, Levey, AI, Li, L & Chin, L 2004, 'Familial Parkinson's disease-associated L166P mutation disrupts DJ-1 protein folding and function', *The Journal of biological chemistry*, vol. 279, no. 9, pp. 8506–8515.

Onstad, S, Skre, I, Torgersen, S & Kringlen, E 1991, 'Twin concordance for DSM-III-R schizophrenia', *Acta psychiatrica Scandinavica*, vol. 83, no. 5, pp. 395–401.

- Owen, MJ 2000, 'Molecular genetic studies of schizophrenia', *Brain research. Brain research reviews*, vol. 31, 2-3, pp. 179–186.
- Owen, MJ, Craddock, N & O'Donovan, MC 2005, 'Schizophrenia: genes at last?', *Trends in genetics : TIG*, vol. 21, no. 9, pp. 518–525.
- Owen, MJ, Williams, HJ & O'Donovan, MC 2009, 'Schizophrenia genetics: advancing on two fronts', *Current opinion in genetics & development*, vol. 19, no. 3, pp. 266–270.
- Owen, MJ, Williams, NM & O'Donovan, MC 2004, 'The molecular genetics of schizophrenia: new findings promise new insights', *Molecular psychiatry*, vol. 9, no. 1, pp. 14–27.
- Pantelis, C, Yücel, M, Wood, SJ, Velakoulis, D, Sun, D, Berger, G, Stuart, GW, Yung, A, Phillips, L & McGorry, PD 2005, 'Structural brain imaging evidence for multiple pathological processes at different stages of brain development in schizophrenia', *Schizophrenia bulletin*, vol. 31, no. 3, pp. 672–696.
- Pardo, M, García, A, Thomas, B, Piñeiro, A, Akoulitchev, A, Dwek, RA & Zitzmann, N 2006, 'The characterization of the invasion phenotype of uveal melanoma tumour cells shows the presence of MUC18 and HMG-1 metastasis markers and leads to the identification of DJ-1 as a potential serum biomarker', *International journal of cancer. Journal international du cancer*, vol. 119, no. 5, pp. 1014–1022.
- Parnas, J, Cannon, TD, Jacobsen, B, Schulsinger, H, Schulsinger, F & Mednick, SA 1993, 'Lifetime DSM-III-R diagnostic outcomes in the offspring of schizophrenic mothers. Results from the Copenhagen High-Risk Study', *Archives of general psychiatry*, vol. 50, no. 9, pp. 707–714.
- Paterna, J, Leng, A, Weber, E, Feldon, J & Büeler, H 2007, 'DJ-1 and Parkin modulate dopamine-dependent behavior and inhibit MPTP-induced nigral dopamine neuron loss in mice', *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy*, vol. 15, no. 4, pp. 698–704.
- Patterson, PH 2002, 'Maternal infection: window on neuroimmune interactions in fetal brain development and mental illness', *Current opinion in neurobiology*, vol. 12, no. 1, pp. 115–118.
- Perälä, J, Suvisaari, J, Saarni, SI, Kuoppasalmi, K, Isometsä, E, Pirkola, S, Partonen, T, Tuulio-Henriksson, A, Hintikka, J, Kieseppä, T, Härkänen, T, Koskinen, S & Lonnqvist, J 2007, 'Lifetime prevalence of psychotic and bipolar I disorders in a general population', *Archives of general psychiatry*, vol. 64, no. 1, pp. 19–28.
- Platt, SR 2007, 'The role of glutamate in central nervous system health and disease--a review', *Veterinary journal (London, England : 1997)*, vol. 173, no. 2, pp. 278–286.
- Plomin, R, DeFries, JC, MacClearn, GE, Rutter, M & Borkenau, P 1999, *Gene, Umwelt und Verhalten. Einführung in die Verhaltensgenetik*, Huber, Bern.
- Port, RL & Seybold, KS 1995, 'Hippocampal synaptic plasticity as a biological substrate underlying episodic psychosis', *Biological psychiatry*, vol. 37, no. 5, pp. 318–324.
- Porteous, D 2008, 'Genetic causality in schizophrenia and bipolar disorder: out with the old and in with the new', *Current opinion in genetics & development*, vol. 18, no. 3, pp. 229–234.
- Prabakaran, S, Swatton, JE, Ryan, MM, Huffaker, SJ, Huang, JT, Griffin, JL, Wayland, M, Freeman, T, Dudbridge, F, Lilley, KS, Karp, NA, Hester, S, Tkachev, D, Mimmack, ML, Yolken, RH, Webster, MJ, Torrey, EF & Bahn, S 2004, 'Mitochondrial dysfunction in schizophrenia: evidence for compromised brain metabolism and oxidative stress', *Molecular psychiatry*, vol. 9, no. 7, pp. 684–97, 643.

- Purcell, S, Neale, B, Todd-Brown, K, Thomas, L, Ferreira, MAR, Bender, D, Maller, J, Sklar, P, Bakker, PIW de, Daly, MJ & Sham, PC 2007, 'PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses', *American journal of human genetics*, vol. 81, no. 3, pp. 559–575.
- Purcell, SM, Wray, NR, Stone, JL, Visscher, PM, O'Donovan, MC, Sullivan, PF & Sklar, P 2009, 'Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder', *Nature*, vol. 460, no. 7256, pp. 748–752.
- Qiagen 2010, *QIAamp DNA Blood Midi/Maxi Handbook. For large-scale genomic and viral DNA purification from whole blood plasma serum body fluids lymphocytes*, Hilden, Germany.
- Qiagen GmbH 2009, *Parkinson Disease Pathway*.
- Quigley, PM, Korotkov, K, Baneyx, F & Hol, WGJ 2003, 'The 1.6-Å crystal structure of the class of chaperones represented by *Escherichia coli* Hsp31 reveals a putative catalytic triad', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 100, no. 6, pp. 3137–3142.
- R Development Core Team 2011, *R: A Language and Environment for Statistical Computing*, Vienna, Austria.
- Radonjić, NV, Knezević, ID, Vilimanovich, U, Kravić-Stevović, T, Marina, LV, Nikolić, T, Todorović, V, Bumbasirević, V & Petronijević, ND 2009, 'Decreased glutathione levels and altered antioxidant defense in an animal model of schizophrenia: long-term effects of perinatal phencyclidine administration', *Neuropharmacology*, vol. 58, 4-5, pp. 739–745.
- Rajarethinam, RP, DeQuardo, JR, Nalepa, R & Tandon, R 2000, 'Superior temporal gyrus in schizophrenia: a volumetric magnetic resonance imaging study', *Schizophrenia research*, vol. 41, no. 2, pp. 303–312.
- Rapoport, JL, Addington, AM, Frangou, S & Psych, MRC 2005, 'The neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2005', *Molecular psychiatry*, vol. 10, no. 5, pp. 434–449.
- Reddy, R & Reddy, R 2011, 'Antioxidant therapeutics for schizophrenia', *Antioxidants & redox signaling*, vol. 15, no. 7, pp. 2047–2055.
- Reynolds, GP, Abdul-Monim, Z, Neill, JC & Zhang, Z 2004, 'Calcium binding protein markers of GABA deficits in schizophrenia--postmortem studies and animal models', *Neurotoxicity research*, vol. 6, no. 1, pp. 57–61.
- Rice, JP, Reich, T, Bucholz, KK, Neuman, RJ, Fishman, R, Rochberg, N, Hesselbrock, VM, Nurnberger, JL, Schuckit, MA & Begleiter, H 1995, 'Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence', *Alcoholism, clinical and experimental research*, vol. 19, no. 4, pp. 1018–1023.
- Richter, V & Guthke, J 1996, *Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar. (LEBI) ; Handanweisung*, Hogrefe Verl. für Psychologie, Göttingen.
- Robinson, DG, Woerner, MG, McMeniman, M, Mendelowitz, A & Bilder, RM 2004, 'Symptomatic and functional recovery from a first episode of schizophrenia or schizoaffective disorder', *The American journal of psychiatry*, vol. 161, no. 3, pp. 473–479.
- Rosenfarb, IS, Bellack, AS, Aziz, N, Kratz, KM & Sayers, S 2004, 'Race, family interactions, and patient stabilization in schizophrenia', *Journal of abnormal psychology*, vol. 113, no. 1, pp. 109–115.

- Rujescu, D 2007, 'Psychiatrische Erkrankungen – Genetik der Schizophrenie', *Biospektrum*, no. 13, pp. 727–729.
- Rujescu, D, Bender, A, Keck, M, Hartmann, AM, Ohl, F, Raeder, H, Giegling, I, Genius, J, McCarley, RW, Möller, H & Grunze, H 2006, 'A pharmacological model for psychosis based on N-methyl-D-aspartate receptor hypofunction: molecular, cellular, functional and behavioral abnormalities', *Biological psychiatry*, vol. 59, no. 8, pp. 721–729.
- Saadat, M 2007, 'Influence of genetic polymorphisms of glutathione S-transferases T1 and M1 on serum lipid parameters', *Saudi medical journal*, vol. 28, no. 11, pp. 1645–1647.
- Saha, S, Chant, D, Welham, J & McGrath, J 2005, 'A systematic review of the prevalence of schizophrenia', *PLoS medicine*, vol. 2, no. 5, pp. e141.
- Saha, S, Welham, J, Chant, D & McGrath, J 2006, 'Incidence of schizophrenia does not vary with economic status of the country: evidence from a systematic review', *Social psychiatry and psychiatric epidemiology*, vol. 41, no. 5, pp. 338–340.
- Saß, H & Houben, I 2001, *Diagnostisches und statistisches Manual psychischer Störungen. DSM-IV ; übersetzt nach der vierten Auflage des diagnostic and statistical manual of mental disorders der American Psychiatric Association*, Hogrefe Verl. für Psychologie, Göttingen.
- Sawa, A & Snyder, SH 2002, 'Schizophrenia: diverse approaches to a complex disease', *Science (New York, N.Y.)*, vol. 296, no. 5568, pp. 692–695.
- Schäfer, NJ 2006, *Molekulargenetische Untersuchung des DJ1- und Parkin-Gens bei Patienten mit Parkinson-Syndrom*, Lübeck.
- Schaid, DJ, Rowland, CM, Tines, DE, Jacobson, RM & Poland, GA 2002, 'Score tests for association between traits and haplotypes when linkage phase is ambiguous', *American journal of human genetics*, vol. 70, no. 2, pp. 425–434.
- Scherz-Shouval, R & Elazar, Z 2007, 'ROS, mitochondria and the regulation of autophagy', *Trends in cell biology*, vol. 17, no. 9, pp. 422–427.
- Schneider, K 1940, 'Psychischer Befund Und Psychiatrische Diagnose', *The Journal of Nervous and Mental Disease*, vol. 92, no. 5, p. 686.
- Schneider, K 1957, 'Primäre und sekundäre Symptome bei der Schizophrenie', *Fortschritte der Neurologie-Psychiatrie*, vol. 25, no. 9, pp. 487–490.
- Schroeter, H, Boyd, C, Spencer, JPE, Williams, RJ, Cadenas, E & Rice-Evans, C 2002, 'MAPK signaling in neurodegeneration: influences of flavonoids and of nitric oxide', *Neurobiology of aging*, vol. 23, no. 5, pp. 861–880.
- Schulze, TG, Müller, DJ, Krauss, H, Gross, M, Bauer, I, Fangerau-Lefèvre, H, Illes, F, Ohlraun, S, Fimmers, R, Cichon, S, Held, T, Propping, P, Nöthen, MM, Maier, W & Rietschel, M 2001, 'Caught in the trio trap? Potential selection bias inherent to association studies using parent-offspring trios', *American journal of medical genetics*, vol. 105, no. 4, pp. 351–353.
- Schumacher, J, Jamra, RA, Freudenberg, J, Becker, T, Ohlraun, S, Otte, ACJ, Tullius, M, Kovalenko, S, van Bogaert, AD, Maier, W, Rietschel, M, Propping, P, Nöthen, MM & Cichon, S 2004, 'Examination of G72 and D-amino-acid oxidase as genetic risk factors for schizophrenia and bipolar affective disorder', *Molecular psychiatry*, vol. 9, no. 2, pp. 203–207.

- Schwartz, RD, Wagner, JP, Yu, X & Martin, D 1994, 'Bidirectional modulation of GABA-gated chloride channels by divalent cations: inhibition by Ca<sup>2+</sup> and enhancement by Mg<sup>2+</sup>', *Journal of neurochemistry*, vol. 62, no. 3, pp. 916–922.
- Segal, DL, Hersen, M & van Hasselt, VB 1994, 'Reliability of the Structured Clinical Interview for DSM-III-R: an evaluative review', *Comprehensive psychiatry*, vol. 35, no. 4, pp. 316–327.
- Sekito, A, Koide-Yoshida, S, Niki, T, Taira, T, Iguchi-Ariga, SMM & Ariga, H 2006, 'DJ-1 interacts with HIPK1 and affects H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced cell death', *Free radical research*, vol. 40, no. 2, pp. 155–165.
- Selemon, LD 2001, 'Regionally diverse cortical pathology in schizophrenia: clues to the etiology of the disease', *Schizophrenia bulletin*, vol. 27, no. 3, pp. 349–377.
- Seybolt, SEJ 2010, 'Is it time to reassess alpha lipoic acid and niacinamide therapy in schizophrenia?', *Medical hypotheses*, vol. 75, no. 6, pp. 572–575.
- Shajlawi, Aa 2008, *Psychische Erkrankungen. Klinik und Therapie ; unter systematischer Berücksichtigung von Übersichtsarbeiten der Cochrane-Collaboration und des Centre for Reviews and Dissemination ; mit 296 Tabellen*, Elsevier Urban & Fischer, München. Available from: [http://deposit.d-nb.de/cgi-bin/dokserv?id=3117097&prov=M&dok\\_var=1&dok\\_ext=htm](http://deposit.d-nb.de/cgi-bin/dokserv?id=3117097&prov=M&dok_var=1&dok_ext=htm).
- Sharp, FR, Butman, M, Koistinaho, J, Aardalen, K, Nakki, R, Massa, SM, Swanson, RA & Sagar, SM 1994, 'Phencyclidine induction of the hsp 70 stress gene in injured pyramidal neurons is mediated via multiple receptors and voltage gated calcium channels', *Neuroscience*, vol. 62, no. 4, pp. 1079–1092.
- Shaun Purcell. Plink v1.07, SPSS Statistics 19 Software. Available from: <http://pngu.mgh.harvard.edu/purcell/plink/>.
- Shendelman, S, Jonason, A, Martinat, C, Leete, T & Abeliovich, A 2004, 'DJ-1 is a redox-dependent molecular chaperone that inhibits alpha-synuclein aggregate formation', *PLoS biology*, vol. 2, no. 11, pp. e362.
- Shi, J, Levinson, DF, Duan, J, Sanders, AR, Zheng, Y, Pe'er, I, Dudbridge, F, Holmans, PA, Whitemore, AS, Mowry, BJ, Olincy, A, Amin, F, Cloninger, CR, Silverman, JM, Buccola, NG, Byerley, WF, Black, DW, Crowe, RR, Oksenberg, JR, Mirel, DB, Kendler, KS, Freedman, R & Gejman, PV 2009, 'Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia', *Nature*, vol. 460, no. 7256, pp. 753–757.
- Shifman, S, Johannesson, M, Bronstein, M, Chen, SX, Collier, DA, Craddock, NJ, Kendler, KS, Li, T, O'Donovan, M, O'Neill, FA, Owen, MJ, Walsh, D, Weinberger, DR, Sun, C, Flint, J & Darvasi, A 2008, 'Genome-wide association identifies a common variant in the reelin gene that increases the risk of schizophrenia only in women', *PLoS genetics*, vol. 4, no. 2, pp. e28.
- Shinbo, Y, Taira, T, Niki, T, Iguchi-Ariga, SMM & Ariga, H 2005, 'DJ-1 restores p53 transcription activity inhibited by Topors/p53BP3', *International journal of oncology*, vol. 26, no. 3, pp. 641–648.
- Silvestri, L, Caputo, V, Bellacchio, E, Atorino, L, Dallapiccola, B, Valente, EM & Casari, G 2005, 'Mitochondrial import and enzymatic activity of PINK1 mutants associated to recessive parkinsonism', *Human molecular genetics*, vol. 14, no. 22, pp. 3477–3492.
- Smythies, J 1999a, 'Redox mechanisms at the glutamate synapse and their significance: a review', *European journal of pharmacology*, vol. 370, no. 1, pp. 1–7.

- Smythies, J 1999b, 'The neurotoxicity of glutamate, dopamine, iron and reactive oxygen species: functional interrelationships in health and disease: a review-discussion', *Neurotoxicity research*, vol. 1, no. 1, pp. 27–39.
- Stark, G 2005, 'Functional consequences of oxidative membrane damage', *The Journal of membrane biology*, vol. 205, no. 1, pp. 1–16.
- Stefansson, H, Ophoff, RA, Steinberg, S, Andreassen, OA, Cichon, S, Rujescu, D, Werge, T, Pietiläinen, OPH, Mors, O, Mortensen, PB, Sigurdsson, E, Gustafsson, O, Nyegaard, M, Tuulio-Henriksson, A, Ingason, A, Hansen, T, Suvisaari, J, Lonnqvist, J, Paunio, T, Børghlum, AD, Hartmann, A, Fink-Jensen, A, Nordentoft, M, Hougaard, D, Norgaard-Pedersen, B, Böttcher, Y, Olesen, J, Breuer, R, Möller, H, Giegling, I, Rasmussen, HB, Timm, S, Mattheisen, M, Bitter, I, Réthelyi, JM, Magnusdottir, BB, Sigmundsson, T, Olason, P, Masson, G, Gulcher, JR, Haraldsson, M, Fossdal, R, Thorgeirsson, TE, Thorsteinsdottir, U, Ruggeri, M, Tosato, S, Franke, B, Strengman, E, Kiemenev, LA, Melle, I, Djurovic, S, Abramova, L, Kaleda, V, Sanjuan, J, Frutos, R de, Bramon, E, Vassos, E, Fraser, G, Ettinger, U, Picchioni, M, Walker, N, Touloupoulou, T, Need, AC, Ge, D, Yoon, JL, Shianna, KV, Freimer, NB, Cantor, RM, Murray, R, Kong, A, Golimbet, V, Carracedo, A, Arango, C, Costas, J, Jönsson, EG, Terenius, L, Agartz, I, Petursson, H, Nöthen, MM, Rietschel, M, Matthews, PM, Muglia, P, Peltonen, L, St Clair, D, Goldstein, DB, Stefansson, K & Collier, DA 2009, 'Common variants conferring risk of schizophrenia', *Nature*, vol. 460, no. 7256, pp. 744–747.
- Stefansson, H, Sigurdsson, E, Steinthorsdottir, V, Bjornsdottir, S, Sigmundsson, T, Ghosh, S, Brynjolfsson, J, Gunnarsdottir, S, Ivarsson, O, Chou, TT, Hjaltason, O, Birgisdottir, B, Jonsson, H, Gudnadottir, VG, Gudmundsdottir, E, Bjornsson, A, Ingvarsson, B, Ingason, A, Sigfusson, S, Hardardottir, H, Harvey, RP, Lai, D, Zhou, M, Brunner, D, Mutel, V, Gonzalo, A, Lemke, G, Sainz, J, Johannesson, G, Andresson, T, Gudbjartsson, D, Manolescu, A, Frigge, ML, Gurney, ME, Kong, A, Gulcher, JR, Petursson, H & Stefansson, K 2002, 'Neuregulin 1 and susceptibility to schizophrenia', *American journal of human genetics*, vol. 71, no. 4, pp. 877–892.
- Stone, JM, Morrison, PD & Pilowsky, LS 2007, 'Glutamate and dopamine dysregulation in schizophrenia—a synthesis and selective review', *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)*, vol. 21, no. 4, pp. 440–452.
- Storch, A, Ludolph, AC & Schwarz, J 2004, 'Dopamine transporter: involvement in selective dopaminergic neurotoxicity and degeneration', *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)*, vol. 111, 10–11, pp. 1267–1286.
- Straub, RE & Weinberger, DR 2006, 'Schizophrenia genes - famine to feast', *Biological psychiatry*, vol. 60, no. 2, pp. 81–83.
- Sullivan, PF, Kendler, KS & Neale, MC 2003, 'Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies', *Archives of general psychiatry*, vol. 60, no. 12, pp. 1187–1192.
- Sullivan, PF, Lin, D, Tzeng, J, van den Oord, E, Perkins, D, Stroup, TS, Wagner, M, Lee, S, Wright, FA, Zou, F, Liu, W, Downing, AM, Lieberman, J & Close, SL 2008, 'Genomewide association for schizophrenia in the CATIE study: results of stage 1', *Molecular psychiatry*, vol. 13, no. 6, pp. 570–584.
- Suvisaari, J, Haukka, J, Tanskanen, A, Hovi, T & Lonnqvist, J 1999, 'Association between prenatal exposure to poliovirus infection and adult schizophrenia', *The American journal of psychiatry*, vol. 156, no. 7, pp. 1100–1102.
- Sweatt, JD 2004, 'Hippocampal function in cognition', *Psychopharmacology*, vol. 174, no. 1, pp. 99–110.

- Taira, T, Saito, Y, Niki, T, Iguchi-Arigo, SMM, Takahashi, K & Ariga, H 2004, 'DJ-1 has a role in antioxidative stress to prevent cell death', *EMBO reports*, vol. 5, no. 2, pp. 213–218.
- Takahashi, K, Taira, T, Niki, T, Seino, C, Iguchi-Arigo, SM & Ariga, H 2001, 'DJ-1 positively regulates the androgen receptor by impairing the binding of PIAS $\alpha$  to the receptor', *The Journal of biological chemistry*, vol. 276, no. 40, pp. 37556–37563.
- Takahashi-Niki, K, Niki, T, Taira, T, Iguchi-Arigo, SMM & Ariga, H 2004, 'Reduced anti-oxidative stress activities of DJ-1 mutants found in Parkinson's disease patients', *Biochemical and biophysical research communications*, vol. 320, no. 2, pp. 389–397.
- Tamminga, CA & Holcomb, HH 2005, 'Phenotype of schizophrenia: a review and formulation', *Molecular psychiatry*, vol. 10, no. 1, pp. 27–39.
- Tandon, R, Keshavan, MS & Nasrallah, HA 2008a, 'Schizophrenia, "just the facts" what we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology', *Schizophrenia research*, vol. 102, 1-3, pp. 1–18.
- Tandon, R, Keshavan, MS & Nasrallah, HA 2008b, 'Schizophrenia, "Just the Facts": what we know in 2008 part 1: overview', *Schizophrenia research*, vol. 100, 1-3, pp. 4–19.
- Tao, X & Tong, L 2003, 'Crystal structure of human DJ-1, a protein associated with early onset Parkinson's disease', *The Journal of biological chemistry*, vol. 278, no. 33, pp. 31372–31379.
- Terry, AV, Buccafusco, JJ & Wilson, C 2008, 'Cognitive dysfunction in neuropsychiatric disorders: selected serotonin receptor subtypes as therapeutic targets', *Behavioural brain research*, vol. 195, no. 1, pp. 30–38.
- Tienari, P, Wynne, LC, Moring, J, Läksy, K, Nieminen, P, Sorri, A, Lahti, I, Wahlberg, KE, Naarala, M, Kurki-Suonio, K, Saarento, O, Koistinen, P, Tarvainen, T, Hakko, H & Miettunen, J 2000, 'Finnish adoptive family study: sample selection and adoptee DSM-III-R diagnoses', *Acta psychiatrica Scandinavica*, vol. 101, no. 6, pp. 433–443.
- Tienari, PJ & Wynne, LC 1994, 'Adoption studies of schizophrenia', *Annals of medicine*, vol. 26, no. 4, pp. 233–237.
- Torrey, EF & Bowler, AE 1990, 'The seasonality of schizophrenic births: a reply to Marc S. Lewis', *Schizophrenia bulletin*, vol. 16, no. 1, pp. 1-3; discussion 17-28.
- Torrey, EF & Yolken, RH 2010, 'Psychiatric genocide: Nazi attempts to eradicate schizophrenia', *Schizophrenia bulletin*, vol. 36, no. 1, pp. 26–32.
- Torrey, EF, Bartko, JJ, Lun, Z & Yolken, RH 2007, 'Antibodies to *Toxoplasma gondii* in patients with schizophrenia: a meta-analysis', *Schizophrenia bulletin*, vol. 33, no. 3, pp. 729–736.
- Tosic, M, Ott, J, Barral, S, Bovet, P, Deppen, P, Gheorghita, F, Matthey, M, Parnas, J, Preisig, M, Saraga, M, Solida, A, Timm, S, Wang, AG, Werge, T, Cuénod, M & Do, KQ 2006, 'Schizophrenia and oxidative stress: glutamate cysteine ligase modifier as a susceptibility gene', *American journal of human genetics*, vol. 79, no. 3, pp. 586–592.
- Tsuang, MT & Faraone, SV 1995, 'Genetic heterogeneity of schizophrenia', *Seishin shinkeigaku zasshi = Psychiatria et neurologia Japonica*, vol. 97, no. 7, pp. 485–501.
- van Den Bogaert, A, Schumacher, J, Schulze, TG, Otte, AC, Ohlraun, S, Kovalenko, S, Becker, T, Freudenberg, J, Jönsson, EG, Mattila-Evenden, M, Sedvall, GC, Czerski, PM, Kapelski, P, Hauser, J, Maier, W, Rietschel, M, Propping, P, Nöthen, MM & Cichon, S 2003, 'The DTNBP1 (dysbindin) gene contributes to schizophrenia, depending on family history of the disease', *American journal of human genetics*, vol. 73, no. 6, pp. 1438–1443.

- van der Brug, MP, Blackinton, J, Chandran, J, Hao, L, Lal, A, Mazan-Mamczarz, K, Martindale, J, Xie, C, Ahmad, R, Thomas, KJ, Beilina, A, Gibbs, JR, Ding, J, Myers, AJ, Zhan, M, Cai, H, Bonini, NM, Gorospe, M & Cookson, MR 2008, 'RNA binding activity of the recessive parkinsonism protein DJ-1 supports involvement in multiple cellular pathways', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 105, no. 29, pp. 10244–10249.
- Vasseur, S, Afzal, S, Tardivel-Lacombe, J, Park, DS, Iovanna, JL & Mak, TW 2009, 'DJ-1/PARK7 is an important mediator of hypoxia-induced cellular responses', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 106, no. 4, pp. 1111–1116.
- Verdoux, H 2004, 'Perinatal risk factors for schizophrenia: how specific are they?', *Current psychiatry reports*, vol. 6, no. 3, pp. 162–167.
- Waak, J, Weber, SS, Görner, K, Schall, C, Ichijo, H, Stehle, T & Kahle, PJ 2009, 'Oxidizable residues mediating protein stability and cytoprotective interaction of DJ-1 with apoptosis signal-regulating kinase 1', *The Journal of biological chemistry*, vol. 284, no. 21, pp. 14245–14257.
- Wagenfeld, A, Gromoll, J & Cooper, TG 1998, 'Molecular cloning and expression of rat contraception associated protein 1 (CAP1), a protein putatively involved in fertilization', *Biochemical and biophysical research communications*, vol. 251, no. 2, pp. 545–549.
- Walker, E, Kestler, L, Bollini, A & Hochman, KM 2004, 'Schizophrenia: etiology and course', *Annual review of psychology*, vol. 55, pp. 401–430.
- Wang, K, Liu, X & Aragam, N 2010, 'A genome-wide meta-analysis identifies novel loci associated with schizophrenia and bipolar disorder', *Schizophrenia research*, vol. 124, 1–3, pp. 192–199.
- Wang, WYS, Barratt, BJ, Clayton, DG & Todd, JA 2005, 'Genome-wide association studies: theoretical and practical concerns', *Nature reviews. Genetics*, vol. 6, no. 2, pp. 109–118.
- Williams, HJ, Norton, N, Dwyer, S, Moskvina, V, Nikolov, I, Carroll, L, Georgieva, L, Williams, NM, Morris, DW, Quinn, EM, Giegling, I, Ikeda, M, Wood, J, Lencz, T, Hultman, C, Lichtenstein, P, Thiselton, D, Maher, BS, Malhotra, AK, Riley, B, Kendler, KS, Gill, M, Sullivan, P, Sklar, P, Purcell, S, Nimgaonkar, VL, Kirov, G, Holmans, P, Corvin, A, Rujescu, D, Craddock, N, Owen, MJ & O'Donovan, MC 2011, 'Fine mapping of ZNF804A and genome-wide significant evidence for its involvement in schizophrenia and bipolar disorder', *Molecular psychiatry*, vol. 16, no. 4, pp. 429–441.
- Williams, HJ, Owen, MJ & O'Donovan, MC 2009, 'New findings from genetic association studies of schizophrenia', *Journal of human genetics*, vol. 54, no. 1, pp. 9–14.
- Wilson, MA, Collins, JL, Hod, Y, Ringe, D & Petsko, GA 2003, 'The 1.1-Å resolution crystal structure of DJ-1, the protein mutated in autosomal recessive early onset Parkinson's disease', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 100, no. 16, pp. 9256–9261.
- Wilson, MA, Ringe, D & Petsko, GA 2005, 'The atomic resolution crystal structure of the YajL (ThiJ) protein from *Escherichia coli*: a close prokaryotic homologue of the Parkinsonism-associated protein DJ-1', *Journal of molecular biology*, vol. 353, no. 3, pp. 678–691.
- Wilson, MA, St Amour, CV, Collins, JL, Ringe, D & Petsko, GA 2004, 'The 1.8-Å resolution crystal structure of YDR533Cp from *Saccharomyces cerevisiae*: a member of the DJ-1/ThiJ/PfpI superfamily', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 101, no. 6, pp. 1531–1536.

Witt, AC, Lakshminarasimhan, M, Remington, BC, Hasim, S, Pozharski, E & Wilson, MA 2008, 'Cysteine pKa depression by a protonated glutamic acid in human DJ-1', *Biochemistry*, vol. 47, no. 28, pp. 7430–7440.

Wittchen, H 1997, *SKID. Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV; Achse I und II*, Hogrefe, Göttingen.

Wobrock, T, Pajonk, F & Falkai, P 2004, 'Schizophrenie. Teil I. Epidemiologie, Ätiopathogenese, Symptomatologie', *Fortschritte der Neurologie-Psychiatrie*, vol. 72, no. 2, pp. 98–113.

Wood, SJ, Yücel, M, Pantelis, C & Berk, M 2009, 'Neurobiology of schizophrenia spectrum disorders: the role of oxidative stress', *Annals of the Academy of Medicine, Singapore*, vol. 38, no. 5, pp. 396–6.

Woods, JS, Kavanagh, TJ, Corral, J, Reese, AW, Diaz, D & Ellis, ME 1999, 'The role of glutathione in chronic adaptation to oxidative stress: studies in a normal rat kidney epithelial (NRK52E) cell model of sustained upregulation of glutathione biosynthesis', *Toxicology and applied pharmacology*, vol. 160, no. 3, pp. 207–216.

Wright, IC, Rabe-Hesketh, S, Woodruff, PW, David, AS, Murray, RM & Bullmore, ET 2000, 'Meta-analysis of regional brain volumes in schizophrenia', *The American journal of psychiatry*, vol. 157, no. 1, pp. 16–25.

Xu, J, Zhong, N, Wang, H, Elias, JE, Kim, CY, Woldman, I, Pifl, C, Gygi, SP, Geula, C & Yankner, BA 2005, 'The Parkinson's disease-associated DJ-1 protein is a transcriptional co-activator that protects against neuronal apoptosis', *Human molecular genetics*, vol. 14, no. 9, pp. 1231–1241.

Yanagisawa, D, Kitamura, Y, Inden, M, Takata, K, Taniguchi, T, Morikawa, S, Morita, M, Inubushi, T, Tooyama, I, Taira, T, Iguchi-Ariga, SMM, Akaike, A & Ariga, H 2008, 'DJ-1 protects against neurodegeneration caused by focal cerebral ischemia and reperfusion in rats', *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, vol. 28, no. 3, pp. 563–578.

Yang, W, Chen, L, Ding, Y, Zhuang, X & Kang, UJ 2007, 'Paraquat induces dopaminergic dysfunction and proteasome impairment in DJ-1-deficient mice', *Human molecular genetics*, vol. 16, no. 23, pp. 2900–2910.

Yang, Y, Gehrke, S, Haque, ME, Imai, Y, Kosek, J, Yang, L, Beal, MF, Nishimura, I, Wakamatsu, K, Ito, S, Takahashi, R & Lu, B 2005, 'Inactivation of Drosophila DJ-1 leads to impairments of oxidative stress response and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 102, no. 38, pp. 13670–13675.

Yao, JK & Reddy, R 2011, 'Oxidative stress in schizophrenia: pathogenetic and therapeutic implications', *Antioxidants & redox signaling*, vol. 15, no. 7, pp. 1999–2002.

Yao, JK, Dougherty, GG, Reddy, RD, Keshavan, MS, Montrose, DM, Matson, WR, Rozen, S, Krishnan, RR, McEvoy, J & Kaddurah-Daouk, R 2010, 'Altered interactions of tryptophan metabolites in first-episode neuroleptic-naïve patients with schizophrenia', *Molecular psychiatry*, vol. 15, no. 9, pp. 938–953.

Yao, JK, Leonard, S & Reddy, R 2006, 'Altered glutathione redox state in schizophrenia', *Disease markers*, vol. 22, 1–2, pp. 83–93.

Yao, JK & Reddy, R 2011, 'Oxidative stress in schizophrenia: pathogenetic and therapeutic implications', *Antioxidants & redox signaling*, vol. 15, no. 7, pp. 1999–2002.

- Yoshida, K, Sato, Y, Yoshiike, M, Nozawa, S, Ariga, H & Iwamoto, T 2003, 'Immunocytochemical localization of DJ-1 in human male reproductive tissue', *Molecular reproduction and development*, vol. 66, no. 4, pp. 391–397.
- Yung, AR, Nelson, B, Stanford, C, Simmons, MB, Cosgrave, EM, Killackey, E, Phillips, LJ, Bechdolf, A, Buckby, J & McGorry, PD 2008, 'Validation of "prodromal" criteria to detect individuals at ultra high risk of psychosis: 2 year follow-up', *Schizophrenia research*, vol. 105, 1-3, pp. 10–17.
- Zhang, M, Zhao, Z, He, L & Wan, C 2010, 'A meta-analysis of oxidative stress markers in schizophrenia', *Science China. Life sciences*, vol. 53, no. 1, pp. 112–124.
- Zhang, XY, Chen, DC, Xiu, MH, Wang, F, Qi, LY, Sun, HQ, Chen, S, He, SC, Wu, GY, Haile, CN, Kosten, TA, Lu, L & Kosten, TR 2009, 'The novel oxidative stress marker thioredoxin is increased in first-episode schizophrenic patients', *Schizophrenia research*, vol. 113, 2-3, pp. 151–157.
- Zhong, N, Kim, CY, Rizzu, P, Geula, C, Porter, DR, Pothos, EN, Squitieri, F, Heutink, P & Xu, J 2006, 'DJ-1 transcriptionally up-regulates the human tyrosine hydroxylase by inhibiting the sumoylation of pyrimidine tract-binding protein-associated splicing factor', *The Journal of biological chemistry*, vol. 281, no. 30, pp. 20940–20948.
- Zhou, W & Freed, CR 2005, 'DJ-1 up-regulates glutathione synthesis during oxidative stress and inhibits A53T alpha-synuclein toxicity', *The Journal of biological chemistry*, vol. 280, no. 52, pp. 43150–43158.
- Zipursky, RB, Lambe, EK, Kapur, S & Mikulis, DJ 1998, 'Cerebral gray matter volume deficits in first episode psychosis', *Archives of general psychiatry*, vol. 55, no. 6, pp. 540–546.
- Zubin, J & Spring, B 1977, 'Vulnerability--a new view of schizophrenia', *Journal of abnormal psychology*, vol. 86, no. 2, pp. 103–126.



### III ABBILDUNGSVERZEICHNIS

ABBILDUNG 1 ÄTIOPATHOGENESE DER SCHIZOPHRENIE, (ADAPTIERT NACH MÖLLER ET AL. 2011)..	16
ABBILDUNG 2 SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DES EINFLUSSES VON OXIDATIVEM STRESS AUF SCHIZOPHRENIE, (NACH BITANHIRWE & WOO 2011) .....	35
ABBILDUNG 3 LOCUS DES PARK7 GENS AUF CHROMOSOM 1 (MAPVIEW 2012) .....	43
ABBILDUNG 4 KRISTALL DIMER-STRUKTUR DES HUMANEN DJ-1 PROTEINS, (WILSON ET AL. 2003) ZWEI BETRACHTUNGSWINKEL UM 90° GEKIPPT. MONOMER A IST BLAU UND MONOMER B IST GRÜN. ERSTELLT MIT POVSCRIPT (FENN 2003) .....	44
ABBILDUNG 5 SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER DJ-1 FUNKTION UND INTERAKTIONEN IN DER ZELLE (QIAGEN GMBH 2009) .....	52
ABBILDUNG 6 DARSTELLUNG VON PARK7 AUF GENOMISCHEM UND TRANSKRIPTIVEM LEVEL. EXONS SIND FARBlich DIFFERENZIERT (NM_007262.4) (NUYTEMANS ET AL. 2010).....	56
ABBILDUNG 7 SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DES IPLEX VERFAHRENS (OETH ET AL. 2006) .....	73
ABBILDUNG 8 EXON/INTRON POSITION AUF PARK7 (EIGENE DARSTELLUNG) .....	83
ABBILDUNG 9 ASSOZIATION DER UNTERSUCHTEN POLYMORPHISMEN MIT DEM PHÄNOTYP SCHIZOPHRENIE. DARGESTELLT SIND DIE ERGEBNISSE (P-WERTE) DER EINZELNEN STATISTISCHEN TESTS. DIE REIHENFOLGE DER SNPS AUF DER Y-ACHSE ENTSpricht DER ANORDNUNG AUF DEM CHROMOSOM (5' NACH 3') .....	87
ABBILDUNG 10 ASSOZIATION DER UNTERSUCHTEN POLYMORPHISMEN ZUM PHÄNOTYP SCHIZOPHRENE ERSTGRADANGEHÖRIGE VS. KONTROLLEN .....	90
ABBILDUNG 11 ASSOZIATION DER UNTERSUCHTEN POLYMORPHISMEN ZUM PHÄNOTYP PATIENTEN MIT PSYCHIATRISCH ERKRANKTEN ANGEHÖRIGEN VS. KONTROLLEN .....	92
ABBILDUNG 12 ASSOZIATION DER UNTERSUCHTEN POLYMORPHISMEN ZUM PHÄNOTYP PATIENTEN MIT AN SCHIZOPHRENIE ERKRANKTEN ANGEHÖRIGEN VS. KONTROLLEN.....	95
ABBILDUNG 13 BLOCKSTRUKTUR DER UNTERSUCHTEN MARKER MIT DEN HAPLOSCORES FÜR DAS KOPPLUNGSUNGLEICHGEWICHT. ROTE KÄSTCHEN OHNE ZAHL ENTSprechen EINEM WERT VON 100. ....	96
ABBILDUNG 14 P-WERTE DER HAPLOTYPBLÖCKE 1 (RS4908488, RS226251) UND HAPLOTYPBLOCK 2 (RS4941573, RS226242, RS225092, RS161807, RS226258, RS225119).....	97

## IV TABELLENVERZEICHNIS

TABELLE 1 SYMPTOME 1. UND 2. RANGES DER SCHIZOPHRENIE NACH SCHNEIDER.....	6
TABELLE 2 SUBTYPEN DER SCHIZOPHRENIE NACH ICD-10 VS. DSM-IV (MÖLLER ET AL. 2011).....	8
TABELLE 3 DIAGNOSTISCHE KRITERIEN DER SCHIZOPHRENIE NACH ICD-10 VS. DSM-IV .....	9
TABELLE 4 ÜBERSICHT VON ZWILLINGSSTUDIEN BEI SCHIZOPHRENIE .....	22
TABELLE 5 TOP GENE IN GWA'S IDENTIFIZIERT, ADAPTIERT NACH (GEJMAN ET AL. 2011) .....	30
TABELLE 6 WICHTIGSTE ROS ADAPTIERT NACH (NORDBERG & ARNÉR 2001) .....	37
TABELLE 7 SOZIOKULTURELLE VARIABLEN DER KONTROLL- UND PATIENTENGRUPPE .....	61
TABELLE 8 SEKTIONEN DES SKID I .....	64
TABELLE 9 MERKMALE DES SKID II.....	65
TABELLE 10 SYMPTOME DER PANSS (KAY ET AL 1989).....	66
TABELLE 11 GENOMISCHE DNA VERDÜNNUNG .....	71
TABELLE 12 GENOTYPISIERTE SNPS DES PARK 7 GENS AUF CHROMOSOM 1P36.23 ÜBERSICHT .....	74
TABELLE 13 VERWENDETE PCR PRIMERSEQUENZEN .....	75
TABELLE 14 REAGENZIEN DER MULTIPLEX PCR .....	76
TABELLE 15 SNP CAPTURE PROGRAMM.....	77
TABELLE 16 REAGENZIEN DER DEPHOSPHORELIERUNG MIT SAP .....	77
TABELLE 17 IPLEX REAGENZIEN .....	78
TABELLE 18 IPLEX PROGRAMM.....	79
TABELLE 19 DARSTELLUNG DES HWES DER UNTERSUCHTEN SNPS FÜR PATIENTEN .....	85
TABELLE 20 DARSTELLUNG DES HWES DER UNTERSUCHTEN SNPS FÜR KONTROLLEN .....	85
TABELLE 21 DARSTELLUNG DES HWES DER UNTERSUCHTEN SNPS FÜR DIE GESAMTSTICHPROBE .....	85
TABELLE 22 STICHPROBENGRÖßEN AN SCHIZOPHRENIE ERKRANKTER PATIENTEN VS. KONTROLLEN..	86
TABELLE 23 PATIENTEN VS. KONTROLLEN .....	88
TABELLE 24 STICHPROBENGRÖßEN SCHIZOPHRENER ERSTGRADANGEHÖRIGER VS. KONTROLLEN..	89
TABELLE 25 PATIENTEN MIT SCHIZOPHRENER ERSTGRADANGEHÖRIGEN VS. KONTROLLEN .....	90
TABELLE 26 STICHPROBENGRÖßEN PSYCHIATRISCH ERKRANKTER ANGEHÖRIGER VS. KONTROLLEN .....	91
TABELLE 27 PATIENTEN MIT PSYCHIATRISCH ERKRANKTEN ANGEHÖRIGEN VS. KONTROLLEN .....	93
TABELLE 28 STICHPROBENGRÖßEN AN SCHIZOPHRENIE ERKRANKTER ANGEHÖRIGER VS. KONTROLLEN.....	94
TABELLE 29 PATIENTEN MIT AN SCHIZOPHRENIE ERKRANKTEN ANGEHÖRIGEN VS. KONTROLLEN .....	95
TABELLE 30 ZUSAMMENFASSUNG DER HAPLOTYPFREQENZEN .....	98
TABELLE 31 ALLEL UND GENOTYPFREQ. DER UNTERSUCHTEN SNPS FÜR PHÄNOTYP PAT. VS. KON...102	
TABELLE 33 REDOX-AKTIVE SPEZIES UND IHRE KORRESPONDIERENDEN NEUTRALISIERENDEN ANTIOXIDANTIEN (BITANIHIRWE & WOO 2011).....	113

## V ABKÜRZUNGENVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung
allg.	allgemein
ANA	Anamnesebogen
AS	Aminosäure
bp	Basenpaare
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CHX	2-cyclohexen-1-one
CNV's	Copy Number Variants
CT	Computertomographie
Da	Dalton
ddNTP's	Didesoxynukleotide
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphate
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EOPD	Early Onset Parkinson Disease
et. al	et altera
ETC	Elektronentransportkette
etc.	et cetera
Fa.	Firma
FHAM	Family History Assessment Module
Freq.	Frequenz
GABA	Gamma-aminobutyric acid
GAG	Guanine-Adenine-Guanine
GCL	Glutamat Cystein Ligase Enzym
GCLM	Glutamat Cystein Ligase Enzym – modifizierte Untereinheit
GSH	reduziertes Glutathion
GSSG	Glutathion-Disulfid (GSSG)
GWA	Genomweite Assoziationsstudien
HCL	Salzsäure
HIV	Human immunodeficiency virus
htSNPs	Haplotype Tag SNPs
HWE	Hardy-Weinberg Equilibrium
ICD-10	International Classification of Diseases (Tenth Edition)
iPLEX	Increased Plexing Efficiency and Flexibility
ISC	International Schizophrenia Consortium
JNK	c-Jun N-terminale Kinasen
Kg	Kilogramm

LD	Linkage disequilibrium
LEBI	Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar
LSD	Lysergsäurediethylamid
MAF	Minore Allelfrequenz
MALDI-TOF MS	Matrix-Assisted Laser Desorption / Ionization Time-Of-Flight mass spectrometry
MAPK	Mitogen Aktivierte Protein Kinase
mb	Megabase
mDNA	mitochondriale DNA
MHC	Major-Histocompatibility-Complex
Min.	Minuten
Mio.	Millionen
ml	Milliliter
MMPI-2	Minnesota Multiphasic Personality Inventory 2
mRNA	mitochondriale Ribonukleinsäure
nm	Nanometer
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NMDAR	NMDA Rezeptoren
NO	Stickstoffmonoxid
o.g.	oben genannte
OR	Odds Ratio
PANSS	Positive and Negative Syndrome Scale
PARK7	Parkinson Protein 7
Pat. vs. Kon.	Patienten versus Kontrollen
PCP	Phencyclidin
PCR	Polymerasekettenreaktion
PDK	
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
pH	Negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration
PINK1	PTEN-induced putative kinase 1
PK	Parkinson-disease
PPI	Präpulsinhibition
Prof. Dr.	Professor Doktor
PTEN	Phosphatase and tensin homolog
p-Wert	probability-Wert
RNA	Ribonucleic acid
RNS	reactive nitrogen species
ROS	reactive oxygen species
rpm	round per minute (Umdrehungen/minute)
RTK	Rezeptorkinasen
s.	siehe

s.o.	siehe oben
s.u.	siehe unten
SAP	Shrimp Alkaline Phosphatase
SD	Standard Deviation
Sek.	Sekunde/n
SKID	Strukturiertes klinisches Interview
SNC	Substantia nigra pars compacta
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
sog.	sogenannte/n
sz	schizophren
Tab.	Tabelle
TDT	Transmission Disäquilibrium Test
TLR	Toll-like-Rezeptoren
TNF	Tumornekrosefaktor
TOF	Time of Flight
v. Chr.	vor Christus
v.a.	vor allem
vs.	versus
z.B.	zum Beispiel
ZNS	zentrales Nervensystem



## **VI DANKSAGUNG**

Hiermit möchte ich mich bei allen Personen, die mich tatkräftig mit Informationen, wertvollen Tipps und Ratschlägen unterstützt haben, ganz herzlich bedanken.

Herrn Prof. Dr. med. H.-J. Möller danke ich für das Entgegenkommen, dass ich diese Arbeit in der von ihm damals geleiteten psychiatrischen Universitätsklinik absolvieren durfte.

Mein besonderer Dank gilt weiterhin Herrn Prof. Dr. Dan Rujescu für die Möglichkeit zur Durchführung der vorliegenden Arbeit in seiner Forschungsgruppe. Er war stets ein hilfsbereiter und entgegenkommender Ansprechpartner.

Ganz herzlich möchte ich mich bei Frau PD Dr. Ina Giegling für die Unterstützung während der praktischen Durchführung und allen Fragen bezüglich der Arbeit bedanken.

Ausdrücklich möchte ich mich bei Frau Dr. Annette Hartmann bedanken. Ich möchte ihr in diesem Rahmen für die geduldige und schnelle Beantwortung aller aufkommenden Fragen und die hilfreichen Anregungen im Rahmen der Korrektur danken.

Als letztes möchte ich von Herzen meiner Liebe Eva danken, für Ihre moralische und konstruktive Unterstützung, Aufopferung und Hingabe während der letzten Jahre.

Danke