

**Aus der
Psychiatrischen Klinik des Klinikum der Universität München
Klinikum Innenstadt
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Direktor: Herr Prof. Dr. med. P. Falkai

**Der Einfluss von Polymorphismen
des GRM-3 Gens
auf die Schizophrenie und Endophänotypen**

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

vorgelegt von
Sara Maria Karin Vogl

aus
München

2014

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. D. Rujescu

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Rebecca Schennach

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

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

Tag der mündlichen Prüfung: 28. Februar 2014

Gewidmet meinen Urgroßeltern

Anna und Matthias

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung.....	7
1.1 Definition der Schizophrenie.....	7
1.2 Historie der Schizophrenie.....	7
1.3 Klassifikation.....	8
1.4 Subtypen.....	9
1.5 Verlauf und Prognose.....	10
1.6 Epidemiologie.....	11
1.7 Ätiopathogenese.....	12
1.7.1 Psychosoziale Faktoren.....	13
1.7.2 Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen.....	14
1.7.3 Autoimmunerkrankungen.....	15
1.7.4 Hirnstrukturelle Veränderungen bei schizophrenen Patienten.....	16
1.7.5 Genetische Faktoren.....	16
1.7.6 Kopplungsanalysen.....	18
1.7.7 Assoziationsstudien.....	19
1.7.8 Neurotransmitterhypothesen.....	21
1.7.8.1 Dopaminhypothese.....	21
1.7.8.2 Adenosinhypothese.....	22
1.7.8.3 Glutamathypothese.....	23
1.8 Glutamat-Rezeptoren.....	24
1.8.1 metabotrope Rezeptoren.....	25
1.9 Der metabotrope Glutamatrezeptor 3 (GRM-3).....	26
1.9.1 Aufbau und Funktion von GRM-3.....	26
1.9.2 GRM-3 Gen in Zusammenhang mit der Schizophrenie.....	27
1.10 Das Konzept der Endophänotypen.....	29
1.10.1 Der Endophänotyp Wortflüssigkeit.....	31
1.10.2 Zusammenhang des GRM-3 Gens und Wortflüssigkeit.....	32
1.11 Fragestellung.....	33
2 Material und Methoden.....	34
2.1 Datengewinnung.....	34

2.2 Vorbedingungen der Studie.....	35
2.3 Studienteilnehmer.....	35
2.3.1 Kontrollprobanden.....	35
2.3.2 Schizophrene Patienten.....	38
2.4 Regensburger Wortflüssigkeits-Test (RWT).....	41
2.4.1 Beschreibung.....	41
2.4.2 Durchführung.....	42
2.4.3 Auswertung.....	43
2.4.4 Interpretation.....	44
2.4.5 Gütekriterien und Objektivität.....	44
2.5 Laborverfahren.....	45
2.5.1 DNA-Extraktion.....	45
2.5.2 Bestimmung der DNA-Konzentrationen.....	47
2.5.3 Genotypisierung.....	50
2.5.3.1 Die klassische Polymerase Kettenreaktion (PCR).....	51
2.5.3.1.1 Auswahl der Primer.....	53
2.5.3.2 Dephosphorylierung mit shrimp alkaline phosphatase.....	54
2.5.3.3 Die iPLEX-Extensionsreaktion.....	55
2.5.3.4 Messung der Extensionsprodukte im MALDI-TOF Massenspektrometer.....	56
2.6 Statistische Auswertung.....	57
3 Ergebnisse.....	59
3.1 Fall-Kontroll-Assoziations-Studie	59
3.1.1 Analyse des Polymorphismus rs13242038 des GRM-3 Gen.....	60
3.1.1.1 Genotypenverteilung.....	60
3.1.1.2 Allelträger und Allelverteilung.....	60
3.1.2 Analyse des Polymorphismus rs11772736 des GRM-3 Gens.....	62
3.1.2.1 Genotypenverteilung.....	62
3.1.2.2 Allelträger und Allelverteilung.....	63
3.1.3 Analyse des Polymorphismus rs802467 des GRM-3 Gens.....	64
3.1.3.1 Genotypenverteilung.....	64
3.1.3.2 Allelverteilung.....	65
3.2 Endophänotypen Studie.....	66

3.2.1 Analyse des Polymorphismus rs13242038 des GRM-3 Gens.....	66
3.2.1.1 Genotypen und Regensburger-Wortflüssigkeits-Test.....	66
3.2.1.2 Allele und Regensburger-Wortflüssigkeits-Test.....	68
3.2.2 Analyse des Polymorphismus rs11772736 des GRM-3 Gens.....	71
3.2.2.1 Genotypen und Regensburger-Wortflüssigkeits-Test.....	71
3.2.2.2 Allele und Regensburger-Wortflüssigkeits-Test.....	72
3.2.3 Analyse des Polymorphismus rs802467 des GRM-3 Gens.....	74
3.2.3.1 Genotypen und der Regensburger-Wortflüssigkeits-Test.....	74
3.2.3.2 Allele und der Regensburger-Wortflüssigkeits-Test.....	77
4 Diskussion.....	81
4.1 Zusammenfassung und inhaltliche Interpretation der Ergebnisse.....	81
4.2 Diskussion der Methoden.....	87
4.3 Ausblick auf zukünftige Untersuchungen.....	96
5 Zusammenfassung.....	98
6 Abkürzungsverzeichnis.....	99
7 Danksagung.....	102
8 Eidesstattliche Erklärung.....	103
9 Literaturverzeichnis.....	104

1 Einleitung

Die Schizophrenie ist eine psychische Erkrankung, die dem Formenkreis der endogenen Psychosen zugeordnet wird. Charakteristisch für die Erkrankung ist das Auftreten von Störungen des Denkens, des Handelns und der Wahrnehmung. Die Klarheit des Bewusstseins wird primär nicht beeinträchtigt. Die Auswirkungen auf die Lebensqualität und die Leistungsfähigkeit der betroffenen Patienten sind gravierend, weswegen die Schizophrenie zu den prognostisch schwerwiegendsten psychiatrischen Erkrankungen zählt. Der Krankheitsbeginn ist meist schleichend und mit dem Fortschreiten der Erkrankung kommt es zu zunehmend starker Beeinträchtigung des Betroffenen (Tahara, 2001). Die Schizophrenie ist zudem die kostspieligste psychiatrische Erkrankung in Deutschland (Rössler et al., 2006). Die Erkrankung ist Gegenstand der aktuellen Forschung, um die Therapie zu verbessern und neue Erkenntnisse über deren Entstehung zu erlangen. Ziel dieser Arbeit ist es, drei Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs = *Single Nucleotide Polymorphisms*) des GRM-3 Gens (metabotroper Glutamat Rezeptor 3) auf deren Assoziation mit Schizophrenie und deren Einfluss auf kognitive Fähigkeiten schizophrener Patienten und gesunder Probanden zu untersuchen.

1.1 Definition der Schizophrenie

Bei der Schizophrenie handelt es sich um eine Erkrankung, die sowohl Denkprozesse blockiert, als auch die Wahrnehmung beeinträchtigt und meist mit Verflachung des Affektes einhergeht. Die Erkrankung äußert sich unter anderem in Form von Gedankenlautwerden, Gedankenbeeinflussung wie etwa Gedankenentzug, Gedankeneingebung und Gedankenausbreitung, Wahnwahrnehmung, Beeinflussungswahn, Stimmenhören, Denkstörungen und Negativsymptomatik (DIMDI, 2006).

1.2 Historie der Schizophrenie

Die Geschichte der Schizophrenie reicht weit zurück. Im Jahre 1852 benannte der französische Psychiater Morel eine Erkrankung, die mit emotionalem Rückzug, verschrobener Eigenart und Selbstvernachlässigung einhergingen als „*démence précoce*“ (Morel, 1852).

Im Jahre 1898 beschrieb der deutsche Psychiater Emil Kraepelin die Dementia Praecox als eine bereits in jungen Lebensjahren beginnende, chronisch verlaufende Krankheit, einhergehend mit kognitiven Einbußen. Er unterschied drei Subtypen, die hebephrene, katatone und die paranoid-halluzinatorische Form der Erkrankung, die sich bis heute in der DSM-IV Klassifikation widerspiegeln (Kraepelin, 1898). Eugen Bleuler, ein Schweizer Psychiater, führte 1911 den Begriff der Schizophrenie (Bewusstseinspaltung) ein und löste damit den Begriff „Dementia Praecox“ ab. Als für die Erkrankung typische Symptome beschrieb er Wahnvorstellungen, Halluzinationen, Katatonie und abnorme, beziehungsweise unergründliche Verhaltensweisen. Er fügte nun zu den von Kraepelin bereits benannten Subtypen einen vierten Subtyp, die einfache Schizophrenie, hinzu (Bleuler, 1911).

Kurt Schneider, ebenfalls ein deutscher Psychiater, gruppierte 11 weitere Krankheitszeichen in Symptome ersten Ranges, die zur Diagnosestellung herangezogen werden sollten, und Symptome zweiten Ranges, die alleine nicht ausreichend seien, um die Diagnose Schizophrenie zu stellen.

Zu den Symptomen ersten Ranges zählte er Gedankenlautwerden, das Verhalten kommentierende Stimmen, Gedankenausbreitung, Gedankenentzug und Gedankeneingebung und schließlich äußere Beeinflussung des Handelns. Als Symptome zweiten Ranges bezeichnete er sonstige Halluzinationen, Verworrenheit, plötzlich auftretende Wahnideen und plötzlich auftretende Stimmungsschwankungen und Affektverflachung (Schneider, 1959; Warner, 1995).

Seit den 1970er Jahren wird eine Unterscheidung zwischen Positiv- und Negativsymptomatik vorgenommen. Für die Positivsymptomatik charakteristisch sind Halluzinationen, Wahnvorstellungen, formale Denkstörungen und desorganisierte Verhaltensweisen, wohingegen Affektverflachung, Aufmerksamkeitsstörungen, Antriebsarmut und Verarmung der Sprache der Negativsymptomatik zugeschrieben werden (Crow, 1985).

1.3 Klassifikation

Die Schizophrenie lässt sich sowohl nach der *International Classification of Diseases, 10th Edition* (ICD-10), als auch nach dem *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th Edition* (DSM-IV) klassifizieren und in Subtypen einteilen.

Die ICD-10 Klassifikation wurde von der WHO (*World Health Organization*) herausgegeben und findet in der Klinik und bei den Krankenkassen Verwendung (Dilling, 2008; WHO, 2007). Sie deckt

Störungen und Erkrankungen aller Art ab und postuliert eine ununterbrochene Dauer der Erkrankung von mindestens sechs Monaten. Die DSM-IV Klassifikation hingegen wurde von der *American Psychiatric Association* publiziert (APA – American Psychiatric Association, 2000) . Hier müssen zur Diagnosestellung die Symptome mindestens einen Monat vorliegen. Die DSM-IV Klassifikation deckt nur die psychischen Störungen ab und wird vorwiegend zu Forschungszwecken eingesetzt (Möller, 2009).

1.4 Subtypen

In der DSM-IV Klassifikation (Saß, 1998) werden die folgenden fünf Subtypen wie in Tabelle 1 dargestellt unterschieden:

Tabelle 1: Übersicht über die DSM-IV Klassifikation

Typus	DSM-IV Codierung	Charakteristika
paranoider Typus	295.30	mildeste Form mit ausgeprägtem Wahn und Halluzinationen
desorganisierter Typus	295.10	schwerwiegendste Form, gekennzeichnet durch desorganisierte Sprache und desorganisiertes Verhalten und Affektverflachung
katatoner Typus	295.20	einhergehend mit einer ausgeprägten Störung der Psychomotorik
undifferenzierter Typus	295.90	erfüllt zwar die diagnostischen Kriterien für Schizophrenie, lässt sich jedoch nicht in den paranoiden, desorganisierten oder katatonen Subtyp einteilen
residualer Typus	295.60	es hat eine schizophrene Episode vorgelegen, danach war jedoch keine ausgeprägte Positivsymptomatik zu diagnostizieren

Die ICD-10 Klassifikation sieht eine Unterteilung der schizophrenen Psychosen in folgende sieben Untergruppen vor:

- paranoide Schizophrenie F 20.0
- hebephrene Schizophrenie F 20.1
- katatone Schizophrenie F 20.0
- undifferenzierte Schizophrenie F 20.3
- postschizophrene Depression F 20.4
- schizophrenes Residuum F 20.5
- Schizophrenia simplex F 20.6

(DIMDI, 2006)

1.5 Verlauf und Prognose

Ebenso variabel wie die Symptome, können die Verlaufsformen der Erkrankung sein. Es ist der kontinuierlich episodische Verlauf mit stetiger Zunahme der Defizite von einer oder mehreren Krankheitsepisoden zu unterscheiden, bei denen es sowohl zur vollständigen, als auch zur Teilremission kommen kann (DIMDI, 2006).

Bei der von Halluzinationen, Wahnvorstellungen, formalen Denkstörungen und desorganisierten Verhaltensweisen geprägten Positivsymptomatik besteht die Möglichkeit eines reversiblen Verlaufs und die Patienten sprechen gut auf Neuroleptika an. Bei der Negativsymptomatik hingegen, die sich durch Affektverflachung, Aufmerksamkeitsstörungen, Antriebsarmut und Verarmung der Sprache auszeichnet, ist der Krankheitsverlauf prognostisch ungünstiger und die Patienten sprechen auch schlecht auf eine Therapie mit Neuroleptika an (Crow, 1985).

Hinsichtlich der Prognose lässt sich folgendes festhalten: Ein chronischer Verlauf ist am wahrscheinlichsten, wenn bei Aufnahme des Patienten paranoid-halluzinatorische Symptome vorliegen und bei Entlassung eine Negativsymptomatik zu verzeichnen ist (Möller et al., 2010).

Eine schlechte Langzeitprognose bei Vorliegen einer Negativsymptomatik zum Zeitpunkt der Entlassung wird in zahlreichen Studien bestätigt (Andreasen et al., 1982; Möller et al., 2010; Möller et al., 1986; Möller et al., 1982). Mit einem prognostisch günstigeren Verlauf kann bei Vorhandensein von depressiven Symptomen gerechnet werden (Möller, 2005; Möller et al., 1988).

1.6 Epidemiologie

Laut Auskunft der WHO leiden weltweit 24 Millionen Menschen an Schizophrenie. Die Prävalenz liegt bei sieben Betroffenen unter 1000 in der Bevölkerung. Die Betroffenen finden sich meist in der Altersgruppe zwischen 15 und 35 Jahren. Die Inzidenz (circa 3 pro 10.000 Einwohner) ist im Vergleich zur Prävalenz niedrig. Diese Diskrepanz lässt sich dadurch erklären, dass die Krankheit meist chronisch verläuft (WHO, 2012).

Soll eine präzise Aussage über die Häufigkeit der Schizophrenie getroffen werden, muss diese komplexe Erkrankung zunächst einheitlich diagnostiziert werden, was aufgrund der Vielfältigkeit der Symptomatik nicht einfach ist. Seit den letzten zwei Jahrzehnten konnte ein relativ gleichbleibendes Auftreten der Schizophrenie verzeichnet werden, obwohl die diagnostischen Gesichtspunkte nicht immer konstant waren (Tandon et al., 2008). Laut Auskunft der WHO (*Global Burden of Diseases*) lag die Prävalenz der Schizophrenie, die Häufigkeit mit der die Erkrankung zu einem bestimmten Zeitpunkt anzutreffen ist, im Jahre 2004 (WHO, 2004) in Europa bei 4,4 Millionen. Die Erkrankung tritt mit einer Häufigkeit von 1,4 bis zu 4,6 unter 1000 Menschen auf. Männer zeigen hierbei ein 1,4-fach höheres Risiko zu erkranken als Frauen (Aleman et al., 2003; Tandon et al., 2008). Es ist eine höhere Prävalenz in besser entwickelten Ländern zu verzeichnen im Vergleich zu weniger gut entwickelten Ländern (Tandon et al., 2008). Auch der soziale und wirtschaftliche Status in der Bevölkerung zeigt dahingehend Auswirkungen auf die Prävalenz, dass die sozial und wirtschaftlich benachteiligten Bevölkerungsgruppen signifikant häufiger von der Erkrankung betroffen sind (Tandon et al., 2008). Die soziale Drift-Hypothese stellt einen Erklärungsversuch dafür dar, dass in niedrigeren sozialen Schichten ein erhöhtes Krankheitsrisiko festgestellt werden kann. Diese besagt, dass Schizophreniepatienten aufgrund ihrer beeinträchtigten Lebenskompetenz bereits vor Ausbruch der Erkrankung in niedrigere soziale Schichten absteigen, was sich nach Erkrankungsausbruch weiter fortsetzt (Löffler et al., 1999).

Die Lebenszeitprävalenz bezeichnet die Wahrscheinlichkeit im Laufe des Lebens eine Schizophrenie zu entwickeln und liegt laut einer finnischen Studie aus dem Jahre 2007 bei 0,87 % (Perala et al., 2007).

Die Anzahl der Neuerkrankungen (Inzidenz) liegt zwischen 0,16 bis 0,42 unter 1000 in der Bevölkerung (Jablensky, 2000).

In diversen Studien verschiedener Länder berichten die Autoren über eine tendenzielle Zunahme der Neuerkrankungen (Boydell et al., 2003; Bray et al., 2006; Salokangas et al., 2010), andere

wiederum berichten von einer Abnahmetendenz (Osby et al., 2001; Suvisaari et al., 1999). In Finnland konnten 1999 Suvisaari et al. zunächst eine tendenzielle Abnahme verzeichnen (Suvisaari et al., 1999), Solokangas et al. fanden 2010 wiederum eine Zunahme der Erkrankung im Vergleich zu den vorherigen Jahren (Salokangas et al., 2010).

1.7 Ätiopathogenese

Die genaue Ätiologie der Schizophrenie konnte bisher nicht aufgeschlüsselt werden.

Bislang sind Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen (Byrne et al., 2007; Geddes et al., 1995; Geddes et al., 1999), Geburt in Wintermonaten (Davies et al., 2003), Infektionen während der Schwangerschaft (Edwards, 2007), Mangelernährung und Vitamin D Mangel der Mutter während der Gravidität (Kinney et al., 2009), das Heranwachsen in Großstädten (Pedersen et al., 2001), Migrationshintergrund (Cantor-Graae et al., 2005), männliches Geschlecht (Aleman et al., 2003), Alter des Vaters > 35 Jahre (Wohl et al., 2007), sowie Substanzabusus wie Drogenmissbrauch und Alkoholismus als Risikofaktoren bekannt (Semple et al., 2005; Tandon et al., 2008).

Es wurde von zahlreichen Autoren auch über eine familiäre Häufung berichtet. Hierbei steigt das relative Risiko an Schizophrenie zu erkranken im Vergleich zur gesunden Bevölkerung signifikant an (Gottesman et al., 1987; Kendler et al., 1993; Sullivan et al., 2003).

Sullivan et al. verglichen 2003 12 Zwillingsstudien miteinander, die sie mithilfe einer strukturierten Literatursuche auffindig machten und fanden eine erbliche Komponente für die Anfälligkeit an Schizophrenie zu erkranken von 81% (95% Konfidenzintervall, 73-90%) und einen Einfluss von Umweltfaktoren, der 11% (95% Konfidenzintervall, 3-19%) betrug.

Dies ist ein Hinweis darauf, dass sowohl endogene als auch exogene Faktoren eine Rolle in der Ätiologie spielen. Zudem konnten durch weltweite Forschung bisher in 1727 Studien 1008 Gene mit Schizophrenie in Zusammenhang gebracht werden (SZ Gene, 2011), wobei noch kein einzelnes Gen als alleiniger Auslöser für die Erkrankung identifiziert werden konnte. Es wird vielmehr davon ausgegangen, dass es sich um eine multifaktoriell bedingte Erkrankung handelt, bei deren Entstehung mehrere Gene beteiligt sind, sowie multiple nicht genetische Einflüsse auf das Individuum einwirken (Maier et al., 1999).

Maynard et al. gelangten 2001 mit der Definition der „*Two-Hit*“-Hypothese ein Brückenschlag zwischen exogenen und endogenen Einflussfaktoren auf den Krankheitsausbruch und stellten mithilfe dieser Hypothese einen wissenschaftlichen Ansatz zur Aufklärung dar. Hierbei wird davon ausgegangen, dass es im Zuge einer genetischen Prädisposition zu einem „*First-Hit*“ kommt, der die Vulnerabilität steigert. Bei zusätzlicher Exposition des Individuums gegenüber exogener Faktoren wie Drogenkonsum, psychosozialer Stress etc., kommt es zum Ausbruch der Schizophrenie (Maynard et al., 2001).

1.7.1 Psychosoziale Faktoren

Belastende Lebensereignisse wie etwa ein Auszug aus dem Elternhaus, ein Wechsel des Arbeitsplatzes, eine Heirat oder ein Todesfall, Missbrauch und Straftaten wurden mit dem Ausbruch der Erkrankung in Zusammenhang gebracht. Auch das längerfristige Einwirken von kleineren Stressoren wie beispielsweise der Gedanke an eine unvollendete Arbeit, beim Sprechen unterbrochen zu werden, beim Schlaf gestört zu werden, in Streit mit einer anderen Person zu geraten oder ein Missverständnis können in der Summe Einfluss auf den Krankheitsausbruch haben. Des Weiteren sind Probleme in der Partnerschaft oder Familie, in der Schule, am Arbeitsplatz, Sorgen um die Gesundheit und den Wohnsitz als Stressoren zu nennen, die zumeist ersten Krankheitszeichen vorausgehen (Tessner et al., 2011).

Das familiäre Umfeld ist hinsichtlich der Rezidivprophylaxe von Bedeutung. Kritische Bemerkungen sowie verschrobene Denkweisen der Eltern oder deren überprotektives Verhalten spielen eine Rolle, ebenso können kulturelle Einflussfaktoren maßgeblich zur Stabilisierung nach einer akuten Krankheitsphase beitragen (Rosenfarb et al., 2004). Für Patienten, die in sogenannten „*High-Expressed-Emotions*“ Familien leben, besteht ein höheres Rezidivrisiko (Rosenfarb et al., 2004).

In einer finnischen Adoptionsstudie, die 155 Kinder schizophrener Eltern und 186 entsprechende Kontrollprobanden untersuchte, konnten Tienari et al. zeigen, dass Kinder von Schizophreniepatienten ein höheres Erkrankungsrisiko haben, wenn sie in dysfunktionalen Familien aufwachsen, als entsprechende Kinder aus familiären Verhältnissen mit positiver Atmosphäre (Tienari et al., 1994).

1.7.2 Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen

Das Risiko an Schizophrenie zu erkranken steigt um das zwei- bis dreifache, wenn während der Schwangerschaft im ersten oder zweiten Trimenon eine Infektion oder Mangelernährung der Mutter vorlag (Geddes et al., 1995; Tandon et al., 2008). Geddes et al. verglichen 1999 aus insgesamt 12 Fall-Kontroll-Studien aus den Jahren 1990 bis 1996 700 schizophrene mit 835 gesunden Probanden und fanden ein erhöhtes Risiko für das Kind aufgrund folgender Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen: ein vorzeitiger Blasensprung, Schwangerschaftsdauer weniger als 37 Wochen, die Verwendung eines Brutkastens bei Frühgeburten, Geburtsgewicht unter 2500g sowie Zangengeburt (Geddes et al., 1999).

Byrne et al. stellten in einer dänischen Studie 1039 Schizophreniepatienten 826 gesunden Probanden gegenüber und verglichen deren Schwangerschafts- und Geburtsumstände. Es konnte eine signifikante Häufung der Erkrankung bei Kindern von Müttern, die nicht an Vorsorgeuntersuchungen teilnahmen, sowie bei Schwangerschaftsdauern weniger als 37 Wochen, Influenzainfektion der Mutter, Präeklampsie, bei drohender Frühgeburt, Hämorrhagie während der Schwangerschaft, sowie manueller Extraktion des Babys, als auch mütterlicher Sepsis im Kindbett verzeichnet werden (Byrne et al., 2007).

Sorensen et al. konnten 2009 nachweisen, dass bakterielle Infekte der Schwangeren wie etwa eine Infektion der oberen Atemwege oder eine Gonokokkeninfektion das Erkrankungsrisiko des Kindes erhöhen (Sorensen et al., 2009). Es kann davon ausgegangen werden, dass die durch die Abwehrreaktion des mütterlichen Organismus hervorgerufenen Zytokine die Plazentaschranke passieren und somit das Kind in seiner gesunden Entwicklung beeinträchtigen (Sorensen et al., 2009).

Ebenso stehen virale Infektionen wie etwa das Influenza Virus während des ersten und zweiten Trimenons mit einem erhöhtem Risiko für Schizophrenie in Zusammenhang (Boog, 2004). In einer neueren Studie konnte anhand eines Mausmodells nachgewiesen werden, dass eine Infektion mit dem H1N1 Virus am siebten Tag der Schwangerschaft Veränderungen der Genexpression und Strukturveränderungen der Plazenta, des Hippocampus und Präfrontalen Cortex verursacht, jedoch ohne den Nachweis einer viralen DNS im Gewebe der veränderten Strukturen (Fatemi et al., 2011). Es wird diskutiert, ob das Virus selbst direkt einen Schaden an dem sich entwickelnden Gehirn verursacht, oder ob es sich um eine indirekte Schädigung handelt, indem das Virus eine

Autoimmunreaktion auslöst und somit das eventuell genetisch prädisponierte Gehirn schädigt (Fatemi et al., 2011; Fruntes et al., 2008; Patterson, 2009).

In weiteren Studien konnte nachgewiesen werden, dass eine Infektion mit *Toxoplasma gondii* Typ I und eine daraus resultierende Antikörperproduktion der Mutter gegen diese Parasiten mit einem erhöhtem Risiko behaftet ist (Brown et al., 2005; Mortensen et al., 2007; Xiao et al., 2009).

Psychische Belastungen und Stress der werdenden Mutter wie etwa ein schmerzlicher Verlust durch einen Todesfall, Krieg, Hungersnot oder große Katastrophen gehen ebenfalls mit einem erhöhtem Erkrankungsrisiko einher (Malaspina et al., 2008). Eine Studie aus dem Jahre 2008 konnte zeigen, dass sich Stress in der Schwangerschaft am gravierendsten im ersten Trimenon auswirkt (Khashan et al., 2008).

Zu den weiteren Schwangerschaftskomplikationen und Geburtsrisiken, die das Kind schädigen und somit die Vulnerabilität für den Ausbruch einer Schizophrenie erhöhen, zählen Praeklampsie, Rhesusunverträglichkeit, Schwangerschaftsdiabetes, geringes Geburtsgewicht und Malformationen wie ein zu geringer Kopfumfang, eine Erschlaffung des Uterus, Hypoxie während der Entbindung und ein Notfallkaiserschnitt (Cannon et al., 2002).

1.7.3 Autoimmunerkrankungen

Manche Autoren vermuten eine Assoziation zwischen Schizophrenie und Autoimmunerkrankungen. Die Heredität von Schilddrüsenerkrankungen, wie Schilddrüsenüberfunktion und Schizophrenie soll gekoppelt sein (DeLisi et al., 1991). Bezüglich des Entstehungsmechanismus wird davon ausgegangen, dass sich abnorme Konzentrationen von Schilddrüsenhormonen aus dem mütterlichen Kreislauf negativ auf die Gehirnentwicklung des Fötus auswirken (DeLisi et al., 1991; Eaton et al., 2006).

Auch bei Zöliakie (Gluten-Unverträglichkeit) gibt es eine Beziehung zur Schizophrenie. Es wurde beobachtet, dass schizophrene Patienten, die an Zöliakie litten, bessere Chancen auf eine Remission hatten, wenn sie glutenfreie Kost zu sich nahmen. Ein ursächlicher Zusammenhang konnte bisher nicht hergestellt werden (Eaton et al., 2004).

1.7.4 Hirnstrukturelle Veränderungen bei schizophrenen Patienten

Durch den technischen Fortschritt der letzten zwei Jahrzehnte auf dem Gebiet der bildgebenden Verfahren besteht die Möglichkeit mithilfe von MRT-Untersuchungen die morphologische Struktur sowie die Funktion des Gehirns des Patienten genauer zu analysieren und mit Gesunden zu vergleichen (Sakoglu et al., 2011).

In einer Studie aus Helsinki konnte durch MRT-Untersuchungen von schizophrenen Patienten und gesunden Probanden festgestellt werden, dass die Patienten über ein signifikant geringeres Volumen des Hippocampus verfügen, was wiederum bei der Patientengruppe auf Sauerstoffmangel während der Geburt zurückgeführt werden konnte. Die Hippocampusvolumina der Probandengruppe wurden durch eine fetale Hypoxie nicht beeinflusst (van Erp et al., 2002).

Auch strukturelle Veränderungen des Frontallappens und des Temporallappens stehen mit der Erkrankung in Zusammenhang (Narayan et al., 2007).

Sowohl eine Volumenreduktion des Cortex im Bereich des Frontal-, Temporal- und Occipitallappens und kleinen Teilen des Parietallappens konnte nachgewiesen werden (Rimol et al., 2010). Subcortikale Veränderungen im Sinne einer Größenabnahme wurden zu beiden Seiten des Hippocampus, am Hirnstamm, an der Kleinhirnrinde, dem linken Thalamus und dem Nucleus accumbens festgestellt, die in Zusammenhang mit einer Ventrikelerweiterung stehen (Rimol et al., 2010).

1.7.5 Genetische Faktoren

Dass die hirmorphologischen Veränderungen möglicherweise vererbbar sind, worauf eine familiäre Häufung der Erkrankung hinweist, deutet auf die Heritabilität und somit auch den genetischen Aspekt der Schizophrenie hin (Brans et al., 2008). Brans et al. konnten den fortschreitenden Verlust an Hirnvolumen bei Schizophreniepatienten und deren nicht erkrankten Zwillingen zumindest teilweise den genetischen Faktoren der Erkrankung zuschreiben (Brans et al., 2008). Hierfür wurden in einer 5 Jahre dauernden Follow-Up Studie insgesamt 92 Probanden, darunter 9 monozygote und 10 dizygoten schizophrene Zwillingpartner und 14 monozygote und 13 dizygoten gesunde Zwillinge mittels Magnet Resonanz Tomographie des Gehirns untersucht.

Bei der Schizophrenie handelt es sich um eine genetisch sehr komplexe psychische Erkrankung, deren Vererbungsmechanismen nur in Ansätzen aufgeklärt sind. Es wird angenommen, dass mehrere Gene an der Entstehung beteiligt sind und dass die genetische Veranlagung nicht zwingend zum Ausbruch der Erkrankung führen muss, sondern diese die Vulnerabilität erhöht. Es handelt sich um ein Zusammenspiel aus genetischen Faktoren und Umwelteinflüssen (Gejman et al., 2010).

In zahlreichen Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien konnte nachgewiesen werden, dass die Schizophrenie stark genetisch geprägt ist. Es gibt Hinweise darauf, dass die Heritabilität schätzungsweise 80% zur Ausprägung einer Schizophrenie beiträgt (Giegling et al., 2008).

Mit einem schizophrenen Elternteil steigt das Risiko zu erkranken auf 15% im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung, bei der das Risiko bei 1% liegt. Verwandte zweiten Grades (z.B. Enkelkinder) von Schizophrenen haben ein Risiko von 3% (Gottesman et al., 2001; Tsuang et al., 2001).

Bei monozygoten Zwillingen, von denen einer bereits an Schizophrenie erkrankt ist, steigt die Wahrscheinlichkeit für den zweiten Zwilling auf 41 - 65%, bei dizygoten Zwillingen liegt das Risiko bei 0 - 28% (Cardno et al., 2000). Auch Gottesman et al. gelang es, in einer Studie 2001 eine 50 prozentige Erkrankungswahrscheinlichkeit für monozygote Zwillinge nachzuweisen, wenn bereits ein Zwillingspartner an Schizophrenie erkrankt war (Gottesman et al., 2001).

Mittels Adoptionsstudien konnte gezeigt werden, dass bei Hochrisiko-Kindern (Gejman et al., 2010) (Kinder mit mindestens einem schizophrenen Elternteil) das Risiko an Schizophrenie zu erkranken größer ist, als bei Kindern ohne genetische Prädisposition, unabhängig davon, ob sie bei schizophrenen oder psychiatrisch unauffälligen Adoptiveltern aufwuchsen.

So wurden in 1727 Studien 1008 Gene und 8788 Polymorphismen untersucht und 287 Metaanalysen durchgeführt (Allen et al., 2008; Schizophrenia Research Forum, 2010).

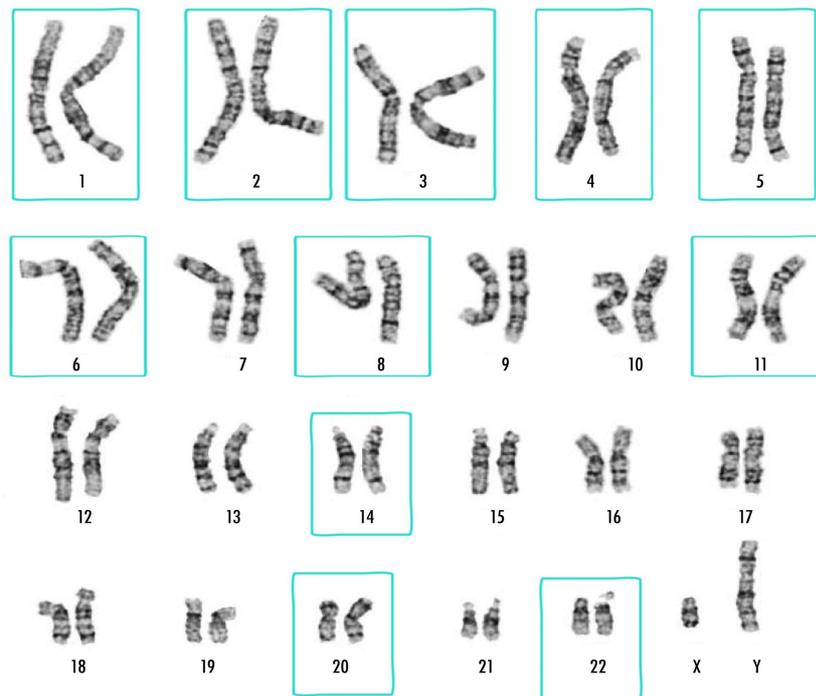
Da zwar eine genetische Komponente als gesichert gilt, der genaue genetische Mechanismus der Vererbung jedoch noch nicht geklärt ist, werden Kopplungsanalysen und Assoziationsstudien zur Gewinnung neuer Erkenntnisse herangezogen.

1.7.6 Kopplungsanalysen

In Kopplungsanalysen (*linkage studies*) werden Familien, die mehrfach mit der zu untersuchenden Krankheit belastet sind, über mehrere Generationen dahingehend untersucht, ob ein Zusammenhang in der Übertragung bestimmter Gene und der Störung besteht.

Lewis et al. fanden 2003 in einer Studie, in die 20 genomweite Metaanalysen eingeschlossen waren, folgende Regionen auf Chromosomen, die für die Entstehung der Schizophrenie relevant sind: 1p13.3-q23.3, 2p12-q22.1, 2q22.1-q23.3, 3p25.3-p22.1, 5q23.2-q34, 6pter-p22.3, 6p22.3-p21.1, 8p22-p21.1, 11q22.3-q24.1, 14pter-q13.1, 20p12.3-p11, 22pter-q12.3 (Lewis et al., 2003).

In einer weiteren Studie aus dem Jahre 2008, die 32 unabhängige genomweite Kopplungsstudien beinhaltete, wurden folgende Chromosomen als relevant identifiziert: 1, 2q, 3q, 4q, 5q, 8p und 10q (Ng et al., 2009). Im Bezug auf das Karyogramm des Menschen, das 23 Chromosomenpaare enthält, darunter 22 Autosomenpaare und 1 Gonosomenpaar (xx = weiblich, xy = männlich) wie Grafik 1 veranschaulicht (Abbott Diagnostics, 2011), ist die Anzahl der krankheitsassoziierten Chromosomenabschnitte erheblich. Es kann jedoch eine Eingrenzung der potentiellen Kandidatengene für Schizophrenie vorgenommen werden, auf der weitere Forschungen betrieben werden können mithilfe genomweiter Assoziationsstudien (GWAS). Siehe Grafik 1, S.19.



Grafik 1: Karyogramm des Menschen (xy = männlich) (Abbott Diagnostics, 2011)

1.7.7 Assoziationsstudien

Mittels Assoziationsstudien wird die Verteilung der Allele eines Polymorphismus hinsichtlich ihres Unterschiedes zwischen nicht erkrankten Blutsverwandten und gesunden Kontrollprobanden untersucht. Es wird beobachtet, ob ein Allel, das mit einer Erkrankung assoziiert ist, besonders häufig auftritt (Maier et al., 1999).

In genomweiten Assoziationsstudien konnte bisher für Polymorphismen bestimmter Gene ein Zusammenhang mit der Entstehung von Schizophrenie beobachtet werden (Girard et al. 2011). Beispielsweise wurde von Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs) im Major Histocompatibility Complex Region (MHC Region) auf dem Chromosom 6 berichtet, die mit Schizophrenie assoziiert sind (Shi et al., 2009). Auch Stefanson et al. fanden einen Zusammenhang des Major Histocompatibility Complex und der Schizophrenie auf folgendem Weg: Sie untersuchten 2633 Schizophreniepatienten und 13.498 Kontrollprobanden aus England, Finnland (Helsinki und Kuusamo), Deutschland (Bonn und München), Island, Italien und Schottland. Insgesamt wurden

314.868 SNPs in die Analyse eingeschlossen. Die 1500 Marker mit den besten Ergebnissen wurden mit den gleichen Markern aus zwei weiteren Studien kombiniert. Aus diesem Datenpool wurde eine Auswahl von 25 Markern getroffen und ein *Follow-Up* mit 4999 Patienten und 15.555 Probanden gestartet. Hierbei wurden insgesamt 5 Marker in der erweiterten MHC Region des Chromosoms 6 gefunden sowie zwei weitere Marker im NRG1 Gen auf Chromosom 11 und im TCF4 Gen auf Chromosom 18, die genomweit signifikant waren (Stefansson et al., 2009). In *Follow-Up* Studien finden nach vorläufiger Beendigung der Studie Nachuntersuchungen in bestimmten Abständen statt. Dieses Studiendesign eignet sich besonders, um den Krankheits- oder Therapieverlauf zu beobachten und die Reproduzierbarkeit der erhobenen Daten zu überprüfen.

Aus den GWAS ergibt sich folglich ein Kandidatengenansatz, an den ein *Fine-Mapping* angeschlossen werden sollte. Das bedeutet, die Gene, die mithilfe von GWAS als mögliche Suszeptibilitätsgene für Schizophrenie infrage kommen, können in weiteren Studien genauer untersucht werden und einige davon sogar bestätigt werden. Ein Einzelnukleotidpolymorphismus (SNP) im Zinkfinger Gen ZNF804A, der in vielen Stichproben genomweit signifikant mit Schizophrenie assoziiert war (O'Donovan et al., 2008; Riley et al., 2010; Shi et al., 2009; Williams et al., 2011), konnte beispielsweise in einer japanischen Studie aus dem Jahr 2011 nicht nur mit Schizophrenie in Verbindung gebracht werden, sondern auch mit schizotypischen Persönlichkeitsmerkmalen (Yasuda et al., 2011). Obwohl die genaue biologische Funktion des ZNF804A weiterhin ungeklärt ist, konnte in einigen Studien ein Zusammenhang mit kognitiven Leistungen, die bei Schizophrenie beeinträchtigt sind, nachgewiesen werden (Balog et al., 2011; Esslinger et al., 2009; Hashimoto et al., 2010; Walter et al., 2011; Walters et al., 2010).

Auch das aufgrund seiner Funktion als Kandidatengen infrage kommende GRM3 Gen, das für die Expression eines metabotropen Glutamaterezeptors verantwortlich ist, sowie andere glutamaterge Gene (z.B. GRIN2B) konnten durch weitere Untersuchungen sowohl mit schlechteren Gedächtnisleistungen, als auch mit einer klinisch diagnostizierbaren Schizophrenie in Zusammenhang gebracht werden (Jablensky et al., 2011).

1.7.8 Neurotransmitterhypothesen

Auch biochemische Faktoren sind bei der Entstehung der Schizophrenie von Bedeutung. Eine zentrale Rolle in der Fachliteratur spielen glutamaterge, dopaminerge, sowie in neueren Publikationen auch das adrenerge System.

1.7.8.1 Dopaminhypothese

Bei der Dopaminhypothese wird davon ausgegangen, dass Konzentrationsabweichungen des Neurotransmitters Dopamin mit den Symptomen der Schizophrenie korrelieren. Bereits seit den 80er Jahren des 20. Jahrhunderts ist bekannt, dass die Einnahme von Substanzen, die die Dopaminfreisetzung steigern, wie etwa Kokain oder Amphetamin, Symptome wie Halluzinationen und Wahnvorstellungen hervorruft (Snyder, 1981). Mit Medikamenten, die dagegen die Dopaminfreisetzung vermindern, indem sie den Dopamin D2 Rezeptor blockieren, können diese psychotischen Symptome behandelt werden (Meltzer et al., 1976; Nord et al., 2011).

Die Theorie, dass für die Entstehung von Schizophrenie eine allgemeine Überaktivität dopaminerger Neurone eine Rolle spielt (Carlsson et al., 1963), wurde angezweifelt, als sich herausstellte, dass klassische Neuroleptika zwar die Positivsymptomatik beeinflussen, die Negativsymptomatik hingegen nicht (Meltzer, 1997).

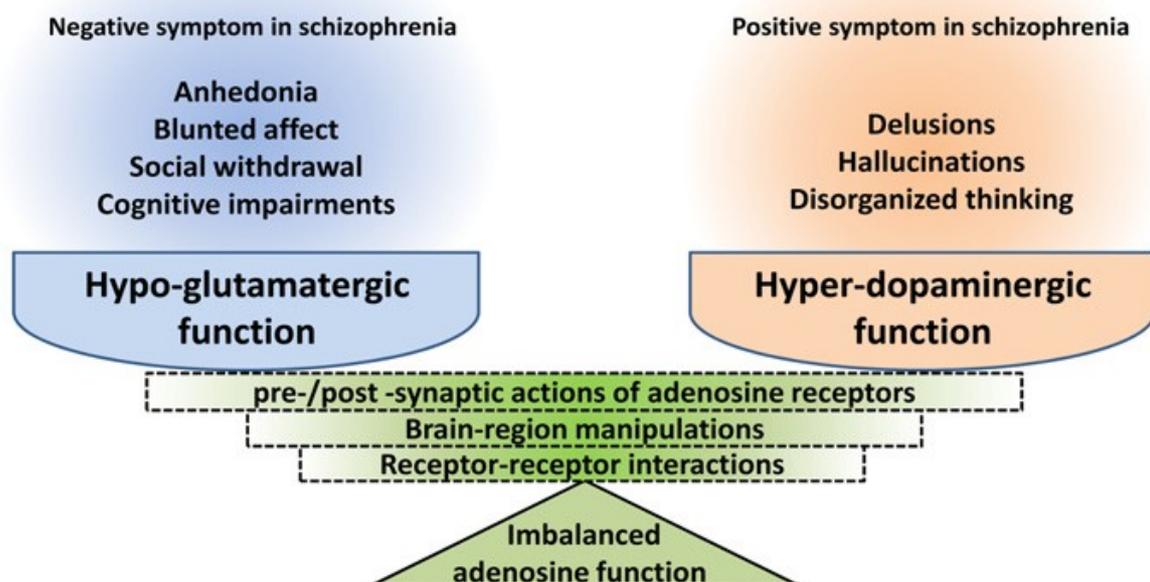
Weitere Studien zur Überprüfung der Dopaminhypothese (Laruelle et al., 1999) wurden mittels moderner Untersuchungsmethoden wie SPECT und PET durchgeführt und bestätigten eine Beteiligung des dopaminergen Systems bei der Krankheitsentstehung.

Gegenstand neuerer Studien ist der Dopamin D3 Rezeptor. Dieser wurde von Redden et al. in einer durch Placebo kontrollierten Doppel-Blind-Studie in drei Ländern untersucht, darunter in den U.S.A., Argentinien und Mexiko. Es wurden 115 Patienten, die sich in einer akuten Phase der Schizophrenie befanden, mit einer täglichen Dosis von 50 mg und einer 150 mg des Dopamin D3 Rezeptor Antagonisten ABT-925 behandelt. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe, die mit Placebo behandelt wurde, was Redden et al. auf die möglicherweise zu geringe ABT-925-Konzentration zurückführen (Redden et al., 2011). Von gesunden Kontrollprobanden ist bekannt, dass erst eine ABT-925-Konzentration zwischen 450 mg

und 600 mg eine Dopaminblockade auszulösen vermag (Graff-Guerrero et al., 2010; Redden et al., 2011). Da jedoch aus präklinischen toxikologischen Studien bekannt ist, dass derart hohe ABT-925-Dosen nicht verträglich sind, stellte sich dieser Therapieansatz als unbrauchbar heraus (Redden et al., 2011).

1.7.8.2 Adenosinhypothese

Die Pharmakotherapie basierend auf der Dopaminhypothese war als alleinige Erklärung nicht ausreichend (Meltzer, 1997). Hinsichtlich der Langzeittherapie durch Dopaminrezeptorantagonisten konnten teilweise nur unbefriedigende therapeutischen Ergebnisse erzielt werden, da das Auftreten der Negativsymptomatik weiterhin vorhanden war. Daher wurde unter anderem die vielversprechende Adenosinhypothese aufgestellt. Es wird davon ausgegangen, dass das Adenosin das Ungleichgewicht zwischen Dopamin und Glutamat, einem weiteren Neurotransmitter, der mit dem Auftreten von Schizophrenie in ursächlichem Zusammenhang zu stehen scheint, regulieren kann (Boison et al., 2011; Lara et al., 2000), siehe Grafik 2.



Grafik 2: Zusammenhang zwischen Glutamat-, Dopamin- und Adenosinhypothese (Boison et al., 2011)

Derzeit existieren noch keine auf Adenosin basierenden Medikamente. Die Adenosinhypothese entstand, da von Patienten mit moderat refraktärer Schizophrenie, die Allopurinol einnehmen, bekannt war, dass dieses Medikament einen positiven Effekt auf den endogenen Spiegel von Purinen, unter anderem auch Adenosin, hat. In einer Studie aus dem Jahr 2005 stellte sich Allopurinol als gut verträglich heraus und zeigte eine gute Wirkung bei Patienten, die bisher schlecht auf eine medikamentöse Therapie ansprachen und wiederkehrende Positivsymptomatik zeigten (Brunstein et al., 2005), was in einer weiteren Studie mit akut erkrankten Patienten bestätigt werden konnte (Akhondzadeh et al., 2005). Da bei beiden Studien nur eine geringe Anzahl an Patienten getestet wurde, sind vor der generellen Empfehlung zur klinischen Anwendung noch weitere Daten zu erheben (Akhondzadeh et al., 2005; Brunstein et al., 2005).

1.7.8.3 Glutamathypothese

Glutamat ist der bedeutendste stimulierende Neurotransmitter bei Säugetieren (Scherer et al., 1996). Bei der Glutamathypothese der Schizophrenie wird eine Unterfunktion des glutamatergen Systems angenommen. Bereits 1980 konnten Kim et al. in einer Studie geringere Glutamatkonzentrationen im Liquor von Schizophreniepatienten nachweisen (Kim et al., 1980). Es gelang weiteren Autoren die Glutamathypothese mithilfe von Studien zu bestätigen (Goff et al., 2001; Jentsch et al., 1999; Meador-Woodruff et al., 2000; Olney et al., 1995).

Diverse Glutamatrezeptoren stehen in Zusammenhang mit einer Vielzahl an psychischen Erkrankungen, darunter die Schizophrenie (Chaki et al., 2011). Der Missbrauch illegaler Drogen wie Phencyclidin (PCP = „Angel Dust“) und Ketamin ruft Symptome hervor, die denen der Schizophrenie ähneln (Javitt et al., 1991; Krystal et al., 1994; Luby et al., 1959). Diese Substanzen wirken auf einen der Glutamatrezeptoren, den NMDA Rezeptor, und blockieren diesen, so dass das Substrat Glutamat nicht binden kann. So entstand die Hypothese, dass eine Unterfunktion des NMDA Rezeptors mit der Entstehung der Schizophrenie einhergeht (Goff et al., 2001; Jentsch et al., 1999). Das glutamaterge System wirkt wiederum hemmend auf das dopaminerge System (Stone et al., 2007). Wird nun das glutamaterge System blockiert, kommt es zum Überwiegen des dopaminergen Systems. Die daraus resultierende sekundäre Dopamin Überproduktion führt dann zum Auftreten von Positivsymptomatik wie Halluzinationen und Wahnvorstellungen (Stone et al., 2007). So wurden bei vermehrter Dopaminproduktion Negativsymptome beobachtet wie

Affektverflachung, sozialer Rückzug und kognitive Defizite. Der Einfluss des NMDA Rezeptors auf das dopaminerge System besteht nicht nur bezüglich der Hemmung der Dopaminfreisetzung, sondern auch in der Stimulation der mesokortikalen dopaminergen Neurone. Fehlt nun dieser Stimulus durch den Glutamatrezeptor, ermüden diese Neurone und es kommt zu einer geringeren Dopaminfreisetzung, wodurch sich die Negativsymptomatik erklären lässt (Jentsch et al., 1999).

Glutamaterge Projektionsneurone im Hippocampus und im Cortex werden von Dopamin moduliert (David et al., 2005; Hatzipetros et al., 2006). Der Einfluss des Glutamats wiederum reguliert die Aktivität von dopaminergen Neuronen (Aalto et al., 2005; David et al., 2005; Kegeles et al., 2000; Smith et al., 1998; Vollenweider et al., 2000).

Derzeit ist nicht geklärt, ob eine veränderte Dopamin- oder Glutamat-Neurotransmission den Ausbruch einer Schizophrenie begünstigt, sondern es existiert eine multifaktorielle Sichtweise. Es wird angenommen, dass es sich vermutlich um ein Zusammenwirken verschiedener Neurotransmittersysteme handelt und nicht ein einzelnes System, sondern vielmehr das Gleichgewicht der verschiedenen Systeme von entscheidender Bedeutung sind (Carlsson et al., 2001).

1.8 Glutamat-Rezeptoren

Im zentralen Nervensystem (ZNS) vermitteln Glutamat-Rezeptoren die exzitatorische Neurotransmission und spielen deshalb eine bedeutende Rolle bei Gedächtnisprozessen, Lernvorgängen und auch bei einigen neurodegenerativen Erkrankungen (Nakanishi, 1992). Die Glutamatrezeptoren lassen sich in ionotrope Rezeptoren, darunter die N-methyl-D-aspartat (NMDA) Rezeptoren, AMPA- und Kainat-Rezeptoren und metabotrope Rezeptoren einteilen (Monaghan et al., 1989).

An die ionotropen Rezeptoren binden bestimmte Liganden, um eine Öffnung oder Blockade des Ionenkanals zu erreichen, an die wiederum unterschiedliche Agonisten binden. Nach der Bindung werden sie in folgende Subtypen eingeteilt: N-Methyl-D-Aspartat (NMDA), α -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isioxazolepropionic Acid (AMPA) (Monaghan et al., 1989) und Kainat (KA) Rezeptoren

(Monaghan et al., 1989). Die Unterscheidung dieser drei ionotropen Rezeptortypen erfolgt anhand ihrer Bindungspartner NMDA, AMPA oder KA (Ozawa et al., 1998).

1.8.1 metabotrope Rezeptoren

Es gibt unterschiedliche Subtypen von metabotropen Rezeptoren. Ihnen allen gemeinsam ist die Bindung von extrazellulären Liganden, welche eine G-Protein gekoppelte Signaltransduktionskaskade im Zellinneren zur Folge hat. Erst nach Ablauf dieser Kaskade im Zellinneren erfolgt durch *second messenger* die Öffnung eines Ionenkanals. G-Protein gekoppelte Rezeptoren werden synonym auch als metabotrope Rezeptoren bezeichnet und sind durch die G-Protein-vermittelte Signalübertragung von den ionotropen Rezeptoren zu unterscheiden, bei denen es zur Öffnung des Ionenkanals durch direkte Bindung des Liganden an den Ionenkanal selbst kommt.

Metabotrope Rezeptoren sind Zielstrukturen von Hormonen, Neurotransmittern, aber auch Sinnesreize wie optische Signale, Geschmack oder Geruch werden durch diese Rezeptorenfamilie weitergeleitet.

Sie lassen sich in die Subtypen mGluR1 - mGluR8 unterteilen, die von den entsprechenden Genen GRM-1 – GRM-8 exprimiert werden (Pin et al., 1995). Diese 8 Subtypen können wiederum in drei Gruppen unterteilt werden:

Gruppe I, darunter der mGluR1 und mGluR5, aktivieren die Phospholipase C, was zu einer Anreicherung von IP₃ und Diacylglycerol führt, wodurch es zu einer Kalziumausschüttung aus dem Endoplasmatischen Retikulum in der Zelle kommt, sowie einer Aktivierung der Proteinkinase A (Ribeiro et al., 2010).

Gruppe II mit den mGluR2 und mGluR3 hemmen die Adenylatcyclase, was bedeutet, dass weniger cAMP in der Zelle entsteht (Harrison et al., 2008).

Gruppe III, wozu mGluR4, mGluR6, mGluR7 und mGluR 8 gehören, haben gemeinsam eine grosse extrazelluläre Domäne am N-Terminus zur Bindung von Glutamat und hemmen wie die Rezeptoren der Gruppe II die Adenylatcyclase (Fagni et al., 2000; Pellicciari et al., 1999).

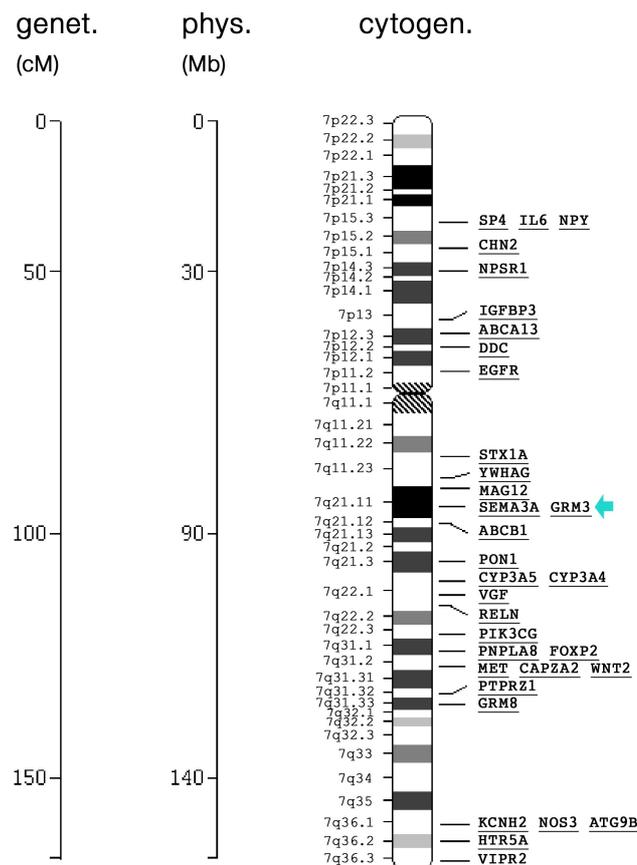
Metabotrope Rezeptoren spielen auch eine Rolle hinsichtlich der Funktionsweise des Gehirns, wie beispielsweise bei der synaptischen Plastizität. Langzeitpotenzierung und Langzeitdepression, die

als Grundlage des Lernens verstanden werden, sind durch G-Protein gekoppelte Rezeptoren vermittelt (Pin et al., 1995).

1.9 Der metabotrope Glutamatrezeptor 3 (GRM-3)

1.9.1 Aufbau und Funktion von GRM-3

Das menschliche GRM-3 Gen ist auf dem Chromosom 7q21.1-2 lokalisiert und erstreckt sich über 220 Kilobasen (kb) (Corti et al., 2000; Scherer et al., 1996).



Grafik 3: Chromosom 7 des Menschen (SZGene, 2010)

Es besitzt sechs Exons, von denen das erste keine kodierende Funktion hat und ein negativ regulatorisches Element enthält, das die Gentranskription unterdrückt (Corti et al., 2001). Der durch das GRM-3 Gen kodierte metabotrope Glutamatrezeptor (mGluR3) verfügt über sieben Transmembrandomänen bestehend aus 879 Aminosäuren mit einem Molekulargewicht von etwa 95 kDa. Der große extrazelluläre N-Terminus enthält die Glutamat bindende Seite und der kleine intrazelluläre C-Terminus reguliert gekoppelt an G-Proteine durch Hemmung der Adenylatcyclase die Glutamat Level in den Synapsen (Fagni et al., 2000; Makoff et al., 1996; Mossner et al., 2008; Pellicciari et al., 1999; Schoepp et al., 1992; Tanabe et al., 1993).

Der metabotrope Glutamat Rezeptor 3 (GRM-3) wird vor allem stark in den Neuronen des zerebralen Cortex und der Cauda des Putamens exprimiert, sowie in der Granularzellschicht des Gyrus Dentatus im Hippocampus, was mithilfe von Tierexperimenten an Hamstern nachgewiesen wurde (Makoff et al., 1996; Tanabe et al., 1993).

Bereits 1995 konnten Scherer et al. das GRM-3 dem langen Arm des menschlichen Chromosoms 7 zuordnen: 7q21.1–q21.2 und 7q31.3–q32.1 (Scherer et al., 1996). Grafik 3, S. 26 (SZGene, 2010).

1.9.2 GRM-3 Gen in Zusammenhang mit der Schizophrenie

Die genetischen Varianten des GRM-3 Gens, haben einen Einfluss auf die Pathogenese der Schizophrenie. Moghaddam et al. entdeckten 1998, dass eine Gruppe von mGluR-Agonisten das Verhalten von Ratten verändert und ein Glutamatanstieg in deren Hirnrinde von dem nicht-kompetitiven NMDA-Rezeptor-Antagonisten PCP hervorgerufen wird (Moghaddam et al., 1998). Krystal et al. wiesen 2009 nach, dass bei gesunden Probanden eine dosisabhängige Verschlechterung der Arbeitsgedächtnisleistung durch den NMDA-Rezeptor Antagonisten Ketamin resultiert (Krystal et al., 2005). Da Ketamin statt Glutamat kompetitiv an den NMDA-Rezeptor gebunden wurde und somit eine geringere Glutamatkonzentration simuliert wurde, lieferten Krystal et al. einen Hinweis darauf, dass die mGluRs bei der Pathophysiologie des Glutamats in der Schizophrenie von Bedeutung seien.

Mittels Assoziationsstudien können die Einflüsse einzelner SNPs auf die Erkrankung genauer untersucht werden. In einer japanischen Studie untersuchten Fuji et al. 100 schizophrene Patienten und 100 gesunde Kontrollprobanden hinsichtlich sechs Einzelnukleotidpolymorphismen in der GRM-3 Region. Die Assoziationsstudie konnte einen signifikanten Unterschied hinsichtlich des SNPs rs1468412 zwischen Patienten und Kontrollen feststellen. Ein Haplotyp, aus drei SNPs, darunter rs1468412, zeigte ebenfalls eine signifikante Assoziation mit der Erkrankung. Die erhobenen Daten weisen darauf hin, dass sich ein Risikogenort für Schizophrenie auf dem GRM-3 Gen befinden könnte (Fujii et al., 2003).

Chen et al. knüpften 2005 an die bereits vorhandenen Ergebnisse an und untersuchten 752 schizophrene Patienten, die nicht miteinander verwandt waren, darunter 359 Frauen und 393 Männer. Zur gleichen Zeit wurden 752 gesunde Kontrollpersonen aus der selben geographischen Region rekrutiert, darunter 367 Personen weiblichen Geschlechts und 385 männliche. Eine genetische Variante des SNP rs2299225 wurde häufiger unter den Patienten gefunden, als unter den Kontrollen. Die SNPs rs2237562 und rs1468412 wurden ebenfalls mit Schizophrenie in Zusammenhang gebracht (Chen et al., 2005).

In einer skandinavischen Studie von Johnson et al. aus dem Jahr 2009 wurden 657 Patienten und 889 Kontrollprobanden auf eine Reihe von Polymorphismen verschiedener Gene untersucht, darunter auch hinsichtlich der SNPs rs187993, rs802432, rs802427, rs13242038, rs1012973, rs2214653, rs2189812, rs917071, rs757656, rs6943659, rs6465084, rs2237561, rs10277739, rs10234440, rs1468412, rs17676277, rs2237565, rs17126 des GRM-3 Gens. Hierbei konnte der SNP rs7676277 mit der Krankheit assoziiert werden (Jonsson et al., 2009).

Tochigi et al. untersuchten in Japan 402 nicht verwandte schizophrene Patienten, darunter 181 Frauen und 221 Männer und verglichen diese mit 468 ebenfalls nicht verwandten gesunden Probanden, darunter 211 Frauen und 257 Männer. Es wurden insgesamt 10 SNPs des GRM-3 Gens untersucht, wobei keine signifikante Assoziation mit der Erkrankung festgestellt werden konnte (Tochigi et al., 2006).

In einigen unabhängigen Studien konnten bezüglich des GRM-3 Gens SNPs und Haplotypen mit Schizophrenie in Zusammenhang gebracht werden und GRM-3 als Kandidatengen identifiziert werden (Chen et al., 2005; Egan et al., 2004; Fujii et al., 2003; Nicodemus et al., 2007; Schwab et al., 2006).

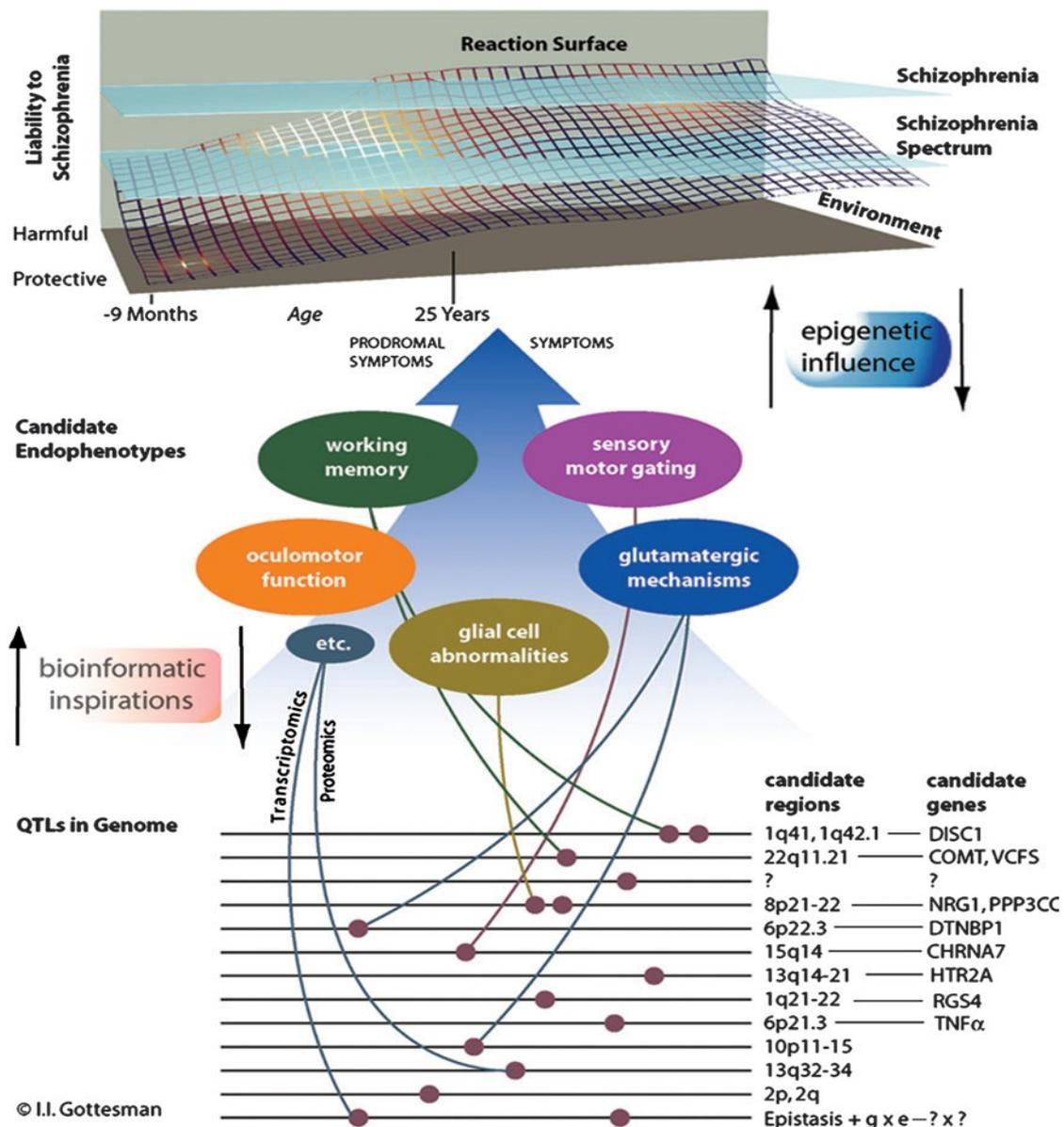
Es gab jedoch auch Studien, die diese Ergebnisse nicht bestätigen konnten (Albalushi et al., 2008; Bishop et al., 2007; Marti et al., 2002; Norton et al., 2005; Nunokawa et al., 2008; S. G. Schwab et al., 2008; Tochigi et al., 2006). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Ergebnisse als inkonsistent zu werten sind, auch im Hinblick auf die neuesten Studien konnte keine einheitliche Aussage getroffen werden.

1.10 Das Konzept der Endophänotypen

Aufgrund der inkonsistenten Ergebnislage bei der Genortsuche für genetisch beeinflusste Erkrankungen mit einem komplexen Erbgang, der auf der ätiologischen Heterogenität klinischer Diagnosen basiert, gibt es Überlegungen, ein anderes Modell zur Identifikation und Einteilung zu entwerfen.

Das Konzept der Endophänotypen wurde erstmals 1972 von Gottesman und Shields in der Psychiatrie eingeführt (Shields et al., 1972) und wurde erneut im Jahr 2003 von Gottesman und Gould aufgegriffen (Gottesman et al., 2003). Die gebräuchliche Einteilung anhand klinischer Diagnosen ist nicht geeignet, komplexe und ätiologisch sehr unterschiedliche Erkrankungen wie Schizophrenie zu kategorisieren, da sie lediglich auf Symptomen basiert. Mit dem Endophänotypenmodell wird versucht, Symptome mithilfe von neuropsychologischen Tests neu einzuteilen, um dadurch eine homogenere Gruppe zu erhalten, die besser greifbar ist. Es wird angenommen, dass psychische Störungen neurobiologisch bedingt sind und Endophänotypen zugrunde liegende Hirnfunktionen beziehungsweise ihre neurobiologischen Korrelate repräsentieren, durch die ein molekularer Angriffspunkt für neue Therapieansätze möglich sein kann (Thaker, 2007). Voraussetzung ist, dass die genetische Determination des Endophänotyps einfacher ist, als die Erkrankung selbst, weniger Gene involviert sind, eine höhere Penetranz aufweist und geringeren Umwelteinflüssen unterliegt (Chan et al., 2008; Gottesman et al., 2003). Gemessen werden beispielsweise Vigilanzdefizite, kognitive Defizite und Informationsverarbeitungsdefizite (vgl. Grafik 4, S. 30). Gene, deren Varianten den Endophänotyp beeinflussen, stellen zugleich Suszeptibilitätsgene der Erkrankung dar. Die somit aufgedeckten Defizite korrelieren nicht zwingend mit der Erkrankung, sondern können auch mit anderen

Erkrankungen assoziiert sein, wodurch es möglich ist, auf gemeinsame Risikogene Rückschlüsse zu ziehen (Braff et al., 2007).



Grafik 4: Das Konzept der Endophänotypen (Gottesman et al., 2003)

Das Vorliegen dieser Voraussetzungen ist nicht direkt prüfbar, es können jedoch Kriterien für die Eignung als Phänotyp aufgestellt werden. Nach Gottesmann und Gould (2003) sind dies eine Assoziation mit einer Erkrankung, Erblichkeit, Unabhängigkeit vom Gesundheitszustand des

Individuums und vom Ausbruch der Erkrankung, häufiges Auftreten unter Angehörigen (unabhängig von eigener Erkrankung), als in nicht verwandten gesunden Personen.

Die neurobiologisch definierte Variable soll möglichst einfach und standardisiert zu messen sein und es müssen sich Häufigkeitsunterschiede zwischen Gesunden und Erkrankten ergeben.

Das Modell der Endophänotypen stellt den Versuch dar, eine biologisch orientierte Klassifikation psychiatrischer Erkrankungen zu erreichen.

1.10.1 Der Endophänotyp Wortflüssigkeit

Das *National Institute of Mental Health* hat die Initiative *Measurement and Treatment Research to Improve Cognition in Schizophrenia* (MATRICS) ins Leben gerufen, die eine Reihe neuropsychologischer Testverfahren entwickelte, mit deren Hilfe kognitive Defizite erfasst werden können. Sie umfasst folgende kognitive Domänen: Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit, Aufmerksamkeit und Vigilanz, Arbeitsgedächtnis, verbales Lernen, visuelles Lernen, Problemlösung und soziale Kognition (Matrics Assessment Inc., 2009).

Die Wortflüssigkeit (im englischen Sprachgebrauch „*verbal fluency*“ oder „*word fluency*“ genannt) wird unter anderem mithilfe des Regensburger Wortflüssigkeitstests (RWT) untersucht (Aschenbrenner et al., 2000). Dieser Test dient zur Beurteilung des divergenten Denkens, einen flüssigen und originellen Denkprozess, bei dem möglichst viele Lösungsmöglichkeiten hervorgebracht werden sollen, ohne dass der Lösungsweg oder das Ziel konkret festgelegt werden (Aschenbrenner et al., 2000). Der hierbei untersuchte kognitive Prozess ist kein unkontrollierter und willkürlicher Gedächtnisabruf, es handelt sich vielmehr um eine strukturierte phonologische und/oder lexikalische Suche. Wortflüssigkeitsleistungen sind häufig bei neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen vermindert, wie etwa bei der Temporallappenepilepsie (Martin et al., 1990; Rzezak et al., 2009), Multipler Sklerose (Sandyk, 1994; Valentino et al., 2009), intrakraniellen Raumforderungen (Schweizer et al., 2010), nach einem Schlaganfall (Wolf et al., 2010), bei Depression (Taconnat et al., 2010) und bei Schizophrenie. Patienten, bei denen die Erkrankung nach den Kriterien der ICD-10 diagnostiziert worden war, schnitten sowohl in Wortflüssigkeitstests, als auch bei weiteren Tests, die das divergente Denken erfassten, im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden schlechter ab (Takeshi et al., 2010).

1.10.2 Zusammenhang des GRM-3 Gens und Wortflüssigkeit

Egan et al. untersuchten im Jahre 2004 den Einfluss verschiedener SNPs des GRM-3 Gens auf ihre Assoziation mit Schizophrenie und kognitive Fähigkeiten, unter anderem auch auf die Wortflüssigkeit. Es wurden 217 Patienten, deren nicht erkrankte Geschwister (n = 311) und 136 gesunde Kontrollprobanden untersucht. Alle getesteten Personen waren zwischen 18 und 60 Jahre alt und größtenteils europäisch-stämmige Amerikaner. Insgesamt sieben SNPs wurden untersucht, wovon einer, SNP 4 (hCV11245618 in Intron 2), einen besonders signifikanten Bezug zu kognitiven Fähigkeiten wie Wortflüssigkeit zeigte (Egan et al., 2004). Ein Effekt von SNP 4 auf die Transkription und Translation des GRM-3 Gens wurde nachgewiesen, der genaue Mechanismus, wie SNP 4 die Glutamatlevel verändert, konnte nicht geklärt werden.

Baune et al. untersuchten in einer Studie mit 31 männlichen und 67 weiblichen, gesunden Probanden kaukasischer Abstammung, die genetisch nicht miteinander verwandt waren, den Einfluss von Polymorphismen des GRM-3 Gens im Hinblick auf ihren Einfluss auf die Wortflüssigkeit. Die Probanden waren durchschnittlich 22,7 (SD 0,19) Jahre alt. Untersucht wurden 14 SNPs des GRM-3 Gens, mit dem Resultat, dass bei dem SNP rs17676277 eine signifikante Assoziation mit Perseverationen nachgewiesen werden konnte (Baune et al., 2010). Perseveration bedeutet in diesem Zusammenhang ein unangebrachtes Beharren in einer Kategorie oder Wiederholen von Wörtern.

In einer Studie von Marengo et al. aus dem Jahre 2006 wurden 54 gesunde Probanden ausgewählt, die ebenfalls kaukasischer Abstammung waren und europäische Vorfahren hatten. Untersucht wurde der Einzelnukleotidpolymorphismus SNP rs6465084 des GRM-3 Gens hinsichtlich seines Einflusses auf die Wortflüssigkeit (Buchstaben und Kategorien) und einer Reihe weiterer kognitiver Fähigkeiten. Marengo et al. konnten keinen signifikanten Unterschied zwischen den Genotypen feststellen, was vermutlich auf die kleine Gruppe von Probanden zurückzuführen ist oder auf eine nicht erfasste Covariante (Marengo et al., 2006).

1.11 Fragestellung

Da Schizophrenie sehr komplex ist und vielerlei Faktoren auf ihre Ätiologie Einfluss nehmen, gestaltet sich ihre Erforschung als sehr aufwändig. Der genetische Einfluss auf die Schizophrenie ist jedoch nach dem derzeitigen Wissenstand gesichert.

Assoziationsstudien stellen ein sensitives Verfahren dar, mit dessen Hilfe es möglich ist auf molekularer Ebene Suszeptibilitätsgene und deren Effekt auf kognitive Fähigkeiten bei Gesunden und Erkrankten zu identifizieren. Auf diesem Wege wurde bereits mehrfach eine Assoziation des GRM-3 Gens mit der Erkrankung nachgewiesen, es existieren jedoch auch Studien, die diese Aussage nicht bestätigen.

Da sich die Ergebnisse der vorherig benannten Studien als inkonsistent darstellen, bedarf es weiterer wissenschaftlicher Untersuchungen.

Das Ziel dieser Arbeit ist es, die drei intronischen Polymorphismen rs13242038, rs11772736 und rs802467 des GRM-3 Gens, das auf Chromosom 7 lokalisiert ist, mithilfe einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie auf deren Zusammenhang mit Schizophrenie zu untersuchen und in einer Endophänotypenstudie deren Auswirkungen auf die Wortflüssigkeit sowohl bei gesunden Probanden, als auch bei an Schizophrenie erkrankten Patienten zu erfassen. Für die vorliegende Studie wurden insgesamt 457 Probanden, darunter 139 Patienten und 318 Kontrollen, mittels MALDI-TOF Massenspektrometrie genotypisiert und für die Erhebung der Wortflüssigkeit der Regensburger-Wortflüssigkeits-Test durchgeführt..

2 Material und Methoden

In dieser Fall-Kontroll-Assoziationsstudie, wurden insgesamt 139 Patienten und 318 Probanden eingeschlossen, von denen die DNA extrahiert und die SNPs rs13242038, rs11772736 und rs802467 des GRM-3 Gens genotypisiert wurden. Die Auswirkung auf die kognitive Fähigkeit wurde mittels Wortflüssigkeit untersucht. Zudem wurden die drei SNPs auf eine Assoziation mit Schizophrenie untersucht.

2.1 Datengewinnung

Für die vorliegende Fall-Kontroll-Assoziationsstudie wurde eine umfangreiche Population von Gesunden und an Schizophrenie erkrankten Personen untersucht und verglichen, um verwertbare Ergebnisse zu erhalten. Aus diesem Grund wurden die Aufgabenbereiche zur Generierung und Erfassung der Daten innerhalb der Sektion für Molekulare und klinische Neurobiologie aufgeteilt.

Während meiner sechsmonatigen Tätigkeit in Vollzeit als Doktorandin in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. med. Dan Rujescu führte ich neben dem in der vorliegenden Studie untersuchten und unter 2.4 ausführlich beschriebenen Regensburger Wortflüssigkeits Test (Aschenbrenner et al., 2000) eine Reihe von weiteren Kognitionstests durch. Diese waren auf zwei Blöcke verteilt, wobei jeweils ein Block mit einem circa zweistündigen Termin angesetzt war. Diese beiden Testblöcke habe ich während meiner Tätigkeit in der Arbeitsgruppe an circa 40 Schizophreniepatienten durchgeführt, teils in den Räumen der Psychiatrischen Klinik des Klinikum der Universität München Klinikum Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität München, teils in Form von Hausbesuchen bei den Patienten.

Des Weiteren befasste ich mich mit der Korrektur der sowohl von mir selbst, als auch von Kollegen der Arbeitsgruppe durchgeführten Tests, der digitalen Erfassung der Testergebnisse und klinischen Daten sowie deren Abgleich und Prüfung auf Fehlerfreiheit der Eingabe. Die telefonische Rekrutierung der Studienteilnehmer und deren Aufklärung sowie die Blutentnahmen zur Gewinnung des DNA-Materials zur molekulargenetischen Untersuchung notwendigen Proben gehörten ebenso zu meinem Aufgabenbereich.

Die von mir gewonnenen Daten wurden mit den Daten der Kollegen der Arbeitsgruppe gesammelt, die sich mit anderen Aufgabenbereichen befassten, wie beispielsweise der ausführlichen Anamnese, und der Erhebung des strukturierten klinischen Interviews. Dieser Datenpool eröffnet die Möglichkeit, eine umfangreiche Stichprobe an Patienten und gesunden Kontrollprobanden zu erhalten und bildet die Grundlage für die vorliegende Fall-Kontroll-Assoziationsstudie im Zusammenhang mit dem untersuchten GRM3-Gen.

2.2 Vorbedingungen der Studie

Die Durchführung der Studie wurde durch die lokale Ethikkommission genehmigt. Von jedem der Teilnehmer wurde eine Einverständniserklärung unterschrieben, die zuvor durch den Untersuchungsleiter detailliert erläutert wurde. Die Teilnehmer wurden hierbei ausführlich über das Ziel und den Zweck der Studie sowie über die Anonymisierung der persönlichen Daten und Blutproben informiert und über die Risiken einer Blutentnahme aufgeklärt. Es bestand zu jedem Zeitpunkt der Studie die Möglichkeit, das Einverständnis für die Teilnahme ohne Angabe von Gründen zu widerrufen.

2.3 Studienteilnehmer

2.3.1 Kontrollprobanden

Die Rekrutierung der Kontrollprobanden verlief in mehreren Abschnitten.

Zunächst wurden mithilfe von Auszügen aus dem Melderegister des Einwohnermeldeamts randomisiert Personen aus München und der Umgebung ausgewählt und auf dem Postweg zur Teilnahme an der Studie eingeladen und über Ziel und Zweck der Studie aufgeklärt.

Nach einer positiven Rückantwort, wurden die Probanden telefonisch interviewt, um psychische oder neurologische Erkrankungen sowohl bei dem Befragten selbst, als auch bei Verwandten ersten,

zweiten und dritten Grades, vorab auszuschließen. Es wurde ebenso erfragt, ob die Probanden kaukasischer Abstammung waren, um ethnisch bedingte Unterschiede einzugrenzen.

Ergab dieses Telefonscreening keinen Anhalt für das Vorliegen einer Erkrankung oder familiäre Belastung, wurde ein ausführlicher Anamnesebogen (ANA 1) zugeschickt, den der Proband ausgefüllt zurückschickte. Die Fragen bezogen sich sowohl auf die eigene Person, als auch auf deren Verwandte ersten, zweiten und dritten Grades. Erhoben wurden unter anderem persönliche biographische Daten bezüglich der geographischen Herkunft, Komplikationen in der Schwangerschaft und während der Geburt, Informationen über die Schullaufbahn, den Familienstand, sowie Angaben über aktuell vorliegende oder vorangegangene Erkrankungen in psychiatrischer, neurologischer und somatischer Hinsicht, die Einnahme von Medikamenten, möglicher Nikotin-, Drogen- oder Alkoholkonsum, Unfälle und Krankenhausaufenthalte, suizidales Verhalten, Essstörungen, Angst- und Panikstörungen und Zwangsstörungen.

Nachdem das Vorliegen sowie jegliche Risikofaktoren für eine neurologische Erkrankung mithilfe des Telefonscreenings und ANA 1 ausgeschlossen werden konnten, wurde der Proband zu einem ausführlichen Interview in die Psychiatrische Klinik eingeladen.

An dieser Stelle wurde das halbstrukturierte klinische Interview nach DSM-IV Achse I (SKID-I) für psychische Störungen und Achse II (SKID-II) für Persönlichkeitsstörungen verwendet und eine neurologische Untersuchung durchgeführt, um das Vorliegen von psychischen und neurologischen Erkrankungen auszuschließen (Wittchen, 1997). Zudem wurden psychosoziale Belastungsfaktoren entsprechend der DSM-IV Achse IV exploriert und eine Beurteilung des globalen Funktionsniveaus entsprechend DSM-IV Achse V durchgeführt.

Bei SKID-II, das ebenfalls ein halbstrukturiertes klinisches Interview ist, werden Merkmale erfasst, die Rückschlüsse auf die Persönlichkeitsstruktur ermöglichen. Es wird zwischen der antisozialen, borderline, dependenten, depressiven, histrionischen, narzistischen, negativistischen, paranoiden, schizoiden, schizotypischen, selbstunsicheren und der zwanghaften Persönlichkeit unterschieden. Ist keines der Merkmale derart ausgeprägt, dass sich das Individuum in eine der genannten Kategorien einteilen lässt, wird die Persönlichkeit als „nicht näher bezeichnet“ (NNB) erfasst.

Das Family History Assessment Module FHAM (Rice et al., 1995) wurde eingesetzt, um psychiatrische Erkrankungen in der Familie zu erfassen. Personen, bei denen affektive Syndrome, psychotische Störungen, Missbrauch und Abhängigkeit von psychotropen Substanzen sowie eine antisoziale Persönlichkeitsstörung im Familienkreis festgestellt wurde, konnten nicht an der Studie teilnehmen.

Um einen allgemeinen Überblick über die kognitiven Fähigkeiten des Probanden zu erhalten, wurde der Hamburg Wechsler Intelligenztest für Erwachsene in der revidierten Version (HAWIE-R) durchgeführt (Tewes, 1994). Personen mit einem IQ-Wert unter 75 wurden von der Studie ausgeschlossen.

Es wurde zudem eine ausführliche somatische Anamnese erhoben, bei der gezielt nach früheren Kopfverletzungen, Schädelhirntraumata und Schädelbrüchen, Enzephalitiden, Meningitiden Gehirntumoren, Epilepsien, Schlaganfällen, Multipler Sklerose, Parkinson, Lues, Fibromyalgie, Muskeldystrophie, Amyotropher Lateralsklerose (ALS), *Restless Legs* Syndrom und sonstigen neurologischen Erkrankungen gefragt wurde. Betroffene wurden ebenfalls von der Studie ausgeschlossen.

Bei Probanden, die älter als 60 Jahre alt waren, wurde ein Mini-Mental-Status-Test (MMST) (Folstein, 2000) durchgeführt, um eine eventuell vorliegende Demenz auszuschließen zu können.

In die Studie wurden alle Probanden eingeschlossen, die eine negative psychiatrische Familienanamnese aufwiesen, sowie keine Achse I und Achse II Störungen oder neurologische Erkrankungen vorlagen. Sowohl Probanden mit einem IQ-Wert unter 75 (HAWIE-R), als auch einem MMST Wert von unter 26 Punkten wurden von der Studie ausgeschlossen.

Mit diesem Auswahlverfahren konnten 318 gesunde, kaukasische Kontrollprobanden ausgewählt werden, bestehend aus 165 (51,9%) Frauen und 153 (48,1%) Männer im Alter zwischen 22 und 74 Jahren. Das Durchschnittsalter betrug 48,02 Jahre mit einer Standardabweichung von 15,02 Jahren (Tabellen 3 und 4, S. 40).

2.3.2 Schizophrene Patienten

Für die vorliegende Studie wurden Patienten, bei denen eine Schizophrenie diagnostiziert wurde ausgewählt. Rekrutiert wurden ausschließlich Patienten kaukasischer Abstammung mit der *lifetime*-Diagnose Schizophrenie. Diese Patienten wurden zunächst telefonisch kontaktiert und über das Ziel und den Zweck der Studie aufgeklärt, sowie über den Ablauf und die Blutentnahme informiert.

Zunächst wurde die Abstammung des Patienten in Erfahrung gebracht und Ausschlusskriterien wie eventuell vorangegangene Erkrankungen wie Meningitis, Epilepsie, Schädel-Hirn-Traumata, Unfälle einhergehend mit Bewusstlosigkeit, Drogenabusus, Hepatitis- oder HIV- Infektion und sonstige schwerwiegende Erkrankungen erfragt. Lag nichts dergleichen vor, wurde der Patient in die Klinik eingeladen. Unterlag der Patient einer gesetzlichen Betreuung oder war ein Vormund bestimmt, wurde dessen Zustimmung nach detaillierter Erklärung von Sinn und Zweck der Studie, Teilnahmebedingungen und Risiken, eingeholt.

Analog zu den Kontrollprobanden wurde eine standardisierte ausführliche Anamnese (ANA 1 und 2) erhoben, bei der sowohl nach eigenen psychologischen, neurologischen und somatischen Erkrankungen gefragt wurde, als auch nach Erkrankungen unter den Verwandten ersten zweiten und dritten Grades. Die bisherige Lebensgeschichte wurde erfragt, darunter Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen, Auffälligkeiten in der Kindheit und Jugend, die schulische Laufbahn und der berufliche Werdegang, Partnerschaften und sexuelle Kontakte, die wirtschaftliche Situation, das familiäre Umfeld, Medikation sowie eventuell vorliegender Alkohol oder Drogenabusus, frühere psychiatrische Erkrankungen, Psychotherapien, stationäre psychiatrische Aufenthalte und Suizidversuche.

Ebenfalls wurde ein klinisches Interview entsprechend der DSM-IV Klassifikation (SKID) durchgeführt.

Die bereits gestellte Diagnose Schizophrenie wurde nochmals überprüft und in die unterschiedlichen Subtypen (hebephrener, katatoner, paranoider, undifferenzierter und Residualtypus) eingeteilt.

Mithilfe des SKID-II wurden wie bei den Kontrollprobanden Persönlichkeitsstörungen erfasst und vom Krankheitsgeschehen abgegrenzt.

Im Gegensatz zu den Kontrollprobanden war es notwendig, bei den Patienten außer SKID, ANA 1 und 2, mit der PANSS (Positive and Negative Syndrome Scale for Schizophrenia) (Kay et al., 1987) die Positiv- und Negativsymptomatik zu erfassen und 30 Symptome in sieben Abstufungen zu bewerten (von 1 = nicht vorhanden bis 7 = stark ausgeprägt). Dabei werden die Symptome in drei Skalen eingeteilt: Positivskala, die Negativskala und die Skala der Allgemeinpsychopathologie (Tabelle 2).

Tabelle 2: Symptome der PANSS und deren Einteilung in die drei Skalen (Kay et al., 1987)

Positivskala	Wahnideen, formale Denkstörungen, Halluzinationen, Erregungszustände, Größenideen, Misstrauen und Verfolgungsideen, Feindseligkeit
Negativskala	Affektverflachung, emotionaler Rückzug, mangelnder affektiver Rapport, Schwierigkeit beim abstrakten Denken, Mangel an Spontaneität und Flüssigkeit der Sprache, stereotype Gedanken
Allgemeine Psychopathologische Skala	Sorge um die Gesundheit, Angst, Schuldgefühle, Anspannung, Manierismen und unnatürliche Körperhaltung, Depression und motorische Verlangsamung, unkooperatives Verhalten, ungewöhnliche Denkinhalte, Desorientiertheit, mangelnde Aufmerksamkeit, mangelnde Urteilsfähigkeit und Einsicht, Willensschwäche, mangelnde Impulskontrolle, Selbstbezogenheit, aktives soziales Vermeidungsverhalten

Alle Patienten, bei denen die Diagnose Schizophrenie vom katatonen, paranoiden, hebephrenen, undifferenzierten oder Residualtypus bestätigt werden konnte, wurden für die Studie ausgewählt. Durch dieses Selektionsverfahren konnten 139 Patienten im Alter von 19 bis 70 Jahren und einem Durchschnittsalter von 39,19 Jahren mit einer Standardabweichung von 10,24 Jahren rekrutiert werden (siehe Tabelle 3, S. 40).

Tabelle 3: Geschlechtsverteilung der Studienteilnehmer

	Geschlecht n (%)		Gesamt n
	männlich	weiblich	
Kontrollen	153 (48,1)	165 (51,9)	318
Patienten	87 (62,6)	52 (37,4)	139
Gesamt n (%)	240 (52,5)	217 (47,5)	457

Bei dem Patientenkollektiv konnte im Gegensatz zu dem Kontrollkollektiv ein signifikanter Unterschied bezüglich des Geschlechts der Studienteilnehmer verzeichnet werden ($\chi^2 = 8,29$, OR = 0,554 (CI = 0,369 – 0,833), df = 1, p = 0,004). Unter den Patienten befanden sich mehr Männer (Tabelle 3).

Tabelle 4: Altersverteilung der Studienteilnehmer

	Gesamtzahl (n)	Alter Minimum	Alter Maximum	Alter Durchschnitt	Standardabweichung (SD)
Kontrollen	318	22	74	48,02	15,016
Patienten	139	19	70	39,19	10,243

Bezüglich des Alters der Patienten und der Kontrollen ergab sich ein signifikanter Unterschied (t = 7,296, df = 374,972, p < 0,001), was bedeutet, dass die Patienten jünger waren, als die Kontrollprobanden (Tabelle 4).

Zusätzlich wurden die untersuchten Personen nach ihrer Schulbildung in drei Gruppen eingeteilt (Tabelle 5, 6, S. 41).

Tabelle 5: Gruppierung der Studienteilnehmer nach Schulabschluss

Gruppe 1 = niedrig	Ohne Schulabschluss
	Sonderschule ohne Abschluss
	Sonderschule mit Abschluss
	Volks-/Hauptschule ohne Abschluss
	Volks-/Hauptschule mit Abschluss
	Volks-/Hauptschule mit qualifizierendem Abschluss
	Real-/Mittelschule ohne Abschluss
Gruppe 2 = mittel	Real-/Mittelschule mit Abschluss
	Gymnasium ohne Abschluss
Gruppe 3 = hoch	Gymnasium mit Abschluss

Tabelle 6: Übersicht über die Verteilung der Gruppierung nach Schulabschlüssen

	Gruppe 1 (n%)	Gruppe 2 (n%)	Gruppe 3 (n%)	Gesamt
Kontrollen	74 (32,3)	123 (38,7)	121 (38,1)	318
Patienten	43 (30,9)	46 (33,1)	50 (36,0)	139
Gesamt	117 (25,6)	169 (37,0)	171 (37,4)	457

Es ergab sich eine gleichmäßige Verteilung der verschiedenen Schulabschlüsse unter Patienten und Kontrollen ($\chi^2 = 3,147$, $df = 2$, $p = 0,207$).

2.4 Regensburger Wortflüssigkeits-Test (RWT)

2.4.1 Beschreibung

Der Regensburger Wortflüssigkeitstest (RWT) wurde in den 90er Jahren des 20. Jahrhunderts auf der Grundlage von Ergebnissen gesunder Probanden entwickelt und findet weltweit bei Patienten mit erworbenen Hirnschädigungen zur Beurteilung des divergenten Denkens Verwendung

(Aschenbrenner, et al., 2000). Bis zur Entwicklung des RWT stand für den deutschsprachigen Raum kein adäquates Messinstrument für diese Parameter zur Verfügung.

Er besteht aus 14 einzeln normierten Untertests zur Erfassung der verbalen Wortflüssigkeit bei Probanden. Die zu untersuchenden Personen werden aufgefordert, innerhalb einer vorgegebenen Zeit möglichst viele Wörter zu nennen, die mit einem bestimmten Anfangsbuchstaben beginnen oder zu einer gewissen Kategorie gehören. Der Test kann in einer 2-Minuten-Version oder einer 1-Minute-Version durchgeführt werden, entsprechend der Belastbarkeit des Untersuchten. Er wird mündlich durchgeführt. Das bedeutet, der Proband gibt die Wörter verbal zu Protokoll und der Untersucher notiert jedes genannte Wort auf einem standardisierten Protokollblatt (Aschenbrenner et al., 2000).

Die formal lexikalische Wortflüssigkeit (= grammatikalisch) wird überprüft, indem von dem Untersuchten Wörter mit einem bestimmten Anfangsbuchstaben verlangt werden. Da nicht alle Anfangsbuchstaben gleich häufig auf die Wörter der deutschen Sprache verteilt sind, werden mehrere Tests mit verschiedenen Anfangsbuchstaben durchgeführt. Die Häufigkeit der Wörter mit dem jeweiligen Anfangsbuchstaben wurde mithilfe von Lexika geschätzt. Um die formal lexikalische Wortflüssigkeit genauer zu analysieren, gibt es zusätzlich Tests, bei denen der Proband Wörter mit abwechselnden Anfangsbuchstaben benennen soll. Hiermit kann eine Aussage über die kognitive Flexibilität (*Shifting*) getroffen werden und eine bessere Differenzierung zwischen Kranken und Gesunden wird ermöglicht (Aschenbrenner, et al., 2000).

Die semantische Wortflüssigkeit (= bedeutungsbezogen) wird mithilfe von verschiedenen Tests, bei denen der Proband in einer vorgegebenen Zeit verschiedene Begriffe einer gewissen Kategorie nennen soll überprüft. Hier gibt es ebenfalls die Möglichkeit, das *Shifting* zu testen, indem ein Kategoriewechsel verlangt wird. Somit werden auch hier unterschiedliche Schwierigkeitsgrade erzielt und die Exekutivfunktionen differenziert erfasst (Aschenbrenner et al., 2000).

2.4.2 Durchführung

Der RWT kann ohne aufwändige Hilfsmittel durchgeführt werden, es sind lediglich eine Stoppuhr, ein Stift und die Protokollbögen erforderlich, auf dem zu Beginn des Tests angekreuzt werden muss, welcher Test gerade verwendet wird. Der Test ist entsprechend der Belastbarkeit des Untersuchten variabel gestaltbar und er ist in kurzer Zeit einfach durchzuführen (Aschenbrenner et al., 2000).

Zu Beginn wird der Proband durch den Testleiter mündlich standardisiert instruiert. Um die formal lexikalische Kategorie zu untersuchen, soll er zunächst in zwei Minuten so viele Wörter wie möglich mit dem Anfangsbuchstaben S nennen. Danach wird er aufgefordert zu den gleichen Konditionen Wörter mit P zu benennen. Um das *Shifting* zu testen wird der Wechsel der Buchstaben G-R und H-T verwendet, bei dem der Proband abwechselnd Wörter mit dem Anfangsbuchstaben G und dann eines mit R nennen muss, beziehungsweise mit H und dann mit T.

Dabei müssen einige Regeln beachtet werden. Es dürfen nur Wörter genannt werden, die in einem deutschen Buch oder einer deutschen Zeitung Verwendung finden können, ebenso sind Fachbegriffe erlaubt. Eigennamen von Personen, Städten oder Ländern sind nicht zulässig. Die Wörter dürfen nicht mehrfach genannt oder wiederholt werden und dürfen auch nicht mit dem selben Wortstamm beginnen, dies würde als ein Wort gewertet werden und zählt somit als Wiederholung (Aschenbrenner, et al., 2000).

Die semantische Kategorie wird abgefragt, indem der Untersuchte in zwei Minuten zunächst beispielsweise Tiere, in einem weiteren Testabschnitt Lebensmittel aufzählen soll. Der Kategoriewechsel besteht analog in der Nennung von wechselweise Sportarten und Früchten und dann abwechselnd Kleidungsstücken und Blumen (Aschenbrenner et al., 2000). Jedes Wort wird vom Untersucher auf dem Protokollbogen notiert.

2.4.3 Auswertung

Die notierten Wörter werden nun auf ihre Richtigkeit überprüft und gezählt. Ebenso werden die einfachen Fehler wie Repetitionen (= Wiederholungen), Regelbrüche (= Wörter mit einem falschen Anfangsbuchstaben, Neologismen oder Eigennamen) und zusätzliche Fehler bei Kategoriewechselaufgaben wie einfache Regelbrüche (= Namen, Neologismen, Wörter, die nicht im Zusammenhang mit der Aufgabe stehen), Kategoriefehler (= Proband wechselt in die falsche Kategorie, das bedeutet er nennt beispielsweise statt einem Tier eine Blume) und Kategorieperseverationen (= Beharren in einer Kategorie) addiert und in der Auswertungstabelle notiert (Aschenbrenner, et al., 2000). Um nun die erbrachte Leistung beurteilen zu können, wird die Anzahl der korrekten Wörter (Rohwerte) mit einer normierten Eichstrichprobe verglichen und die Rohwerte werden in Prozentränge transformiert. Erreicht ein Proband beispielsweise einen Prozentrang von 40, bedeutet dies, dass 40 % der Vergleichspersonen niedrigere oder gleiche Werte

erreicht haben, 60 % hingegen haben einen höheren Wert erreicht (Aschenbrenner et al., 2000). Die Normwertetabelle für Erwachsene ist in fünf Altersgruppen gegliedert (18-29, 30-41, 42-53, 54-65 und >65 Jahre).

2.4.4 Interpretation

Die Wortflüssigkeit wird durch einen Prozess ermöglicht, der als divergentes Denken bezeichnet wird (Aschenbrenner, et al., 2000). Es werden offene Probleme gelöst, wobei eine Vielzahl an kognitiven Leistungen wie beispielsweise das Kurzzeitgedächtnis, Arbeitsgedächtnis oder die Vigilanz involviert sind. Es gibt Patienten, bei denen die kognitiven Fähigkeiten nicht oder nur sehr leicht beeinträchtigt sind, die Wortflüssigkeit jedoch starke Defizite aufweist (Aschenbrenner et al., 2000). Dies erklärt sich dadurch, dass eine Beeinträchtigung anderer kognitiven Basisleistungen Auswirkungen auf die Wortflüssigkeit hat. Diese Leistungen werden mit anderen Tests gesondert erfasst und beurteilt, um ein spezifisches Defizit beim Problemlösen diagnostizieren zu können. Als Maßstab für die Beurteilung des offenen Problemlösungsversuchs wird die Anzahl der korrekten Wörter herangezogen (Aschenbrenner, et al., 2000).

2.4.5 Gütekriterien und Objektivität

Sowohl die Durchführungsobjektivität als auch die Auswertungsobjektivität ist gewährleistet, da großer Wert auf die standardisierte Durchführung der Tests gelegt wurde und die Antworten sorgfältig protokolliert wurden. Sowohl die Zeit, als auch die Instruktionen sind standardisiert und daher ohne Probleme einheitlich durchführbar. Auch die Ergebnisse sind aufgrund der vorgegebenen Tabellen standardisiert auswertbar (Aschenbrenner et al., 2000). Es wurde stets eine Nachkorrektur von einer zweiten Person vorgenommen, um eventuell aufgetretene Fehler zu entdecken und zu beheben. Auch die Dateneingabe wurde doppelt angelegt, verglichen und bei Abweichungen erneut mit dem Originalprotokollbogen abgeglichen.

2.5 Laborverfahren

2.5.1 DNA-Extraktion

Von jedem Studienteilnehmer wurde venöses Blut entnommen. Die verwendeten Monovetten (Sarstedt, Nürnberg) enthielten EDTA, um den Gerinnungsprozess des Blutes zu verhindern. Vor der Blutentnahme wurden auf den Monovetten Etiketten angebracht, die zum Zwecke der Anonymisierung mit einem zufällig gewählten siebenstelligen alphanumerischen Code versehen waren. Danach erfolgte mit dem QIAamp Blood Midi/Maxi Kit (Qiagen, 2005) im Labor nach Protokollanweisung die Extraktion der genomischen DNA (Materialien zur DNA-Extraktion sind Tabelle 7, S. 46 zu entnehmen).

Zunächst wurde das Vollblut bei 4000 Umdrehungen pro Minute für 10 Minuten zentrifugiert (Rotixa RP Standzentrifuge, Firma Hettich, Tuttlingen), um das Plasma für spätere Untersuchungen zu gewinnen und bei -80° C separat zu lagern. Der verbliebene Blutkuchen wurde bei -20° C gelagert, zur nachfolgenden DNA-Extraktion aufgetaut und mit PBS-Puffer aus eigener Herstellung das Volumen auf circa 10 ml erweitert.

Danach wurden jeweils zu 10 ml Lösung 500 µl QIAGEN Protease (Firma Qiagen, Hilden) hinzugefügt, um die Leukozyten zu lysieren und DNA-bindende Proteine (z.B. Histone, Transkriptionsfaktoren etc.) zu verdauen und somit die DNA leichter zugänglich zu machen. Anschließend werden 12 ml eines Guanidin-HCl-haltigen Lysepuffer AL (Firma Qiagen, Hilden) hinzugefügt, der später die Bindung an die Silica-Gel-Säule erleichtert. Zur Optimierung der Lysebedingungen wurde die Lösung für 30 Minuten in einem 70° C Wasserbad inkubiert. Die Lösung wurde nun für 60 Sekunden auf einem Vortexer (Firma Scientific Industries, New York) durchgemischt, um eine Homogenisierung zu erreichen.

Die Fällung der DNA erfolgte anschließend, indem 10 ml Ethanol (Firma Carl Roth, Karlsruhe) hinzugefügt wurden, um die Hydrathülle der DNA zu entfernen, wodurch diese ausfällt. Die Suspension wurde auf dem Vortexer gemischt, anschließend auf eine QIAamp Maxi Säule überführt und dort für 3 Minuten bei 3000 rpm zentrifugiert.

Tabelle 7: Materialien zur DNA-Extraktion

Materialien/ Geräte	Verwendungszweck	Volumen	Hersteller
QIAamp Maxi Spin Säulen	Bindung der DNA		Firma Qiagen
Sammelröhrchen	Auffangen der DNA		Firma Qiagen
Zentrifugenröhrchen	Auffangen der Eluate	50 ml	Sarstedt, Nürnberg
PBS-Puffer	Resuspendierung des Blutkuchens		Eigene Herstellung
EDTA-Monovette	Blutentnahme		Sarstedt, Nürnberg
Micro Schraubröhre	Lagerung der DNA	2,0 ml	Sarstedt, Nürnberg
Rotixa RP Standzentrifuge	Zentrifugieren		Hettich, Tuttlingen
Vortex Genie	Durchmischung der Blut-Puffer-Suspensionen		Scientific Industries, New York, USA
WB Wasserbad	Inkubation der Blut-Puffer-Suspension bei 70° C Grad		Memmert , Schwabhausen
QIAGEN Protease	Abbau von Zellproteinen	500 µl	Firma Qiagen
Puffer AL	Zellyse	12 ml	Firma Qiagen
Ethanol Rotipuran (> 99,8 p.a.)	Entfernung der Hydrathülle der DNA	10 ml	Firma Carl Roth, Karlsruhe
Puffer (Guanidin-HCl)		5 ml	Firma Qiagen
Waschpuffer AW1 / AW2 (ethanolhaltig)	Entfernung von Zellrückständen	5 ml	Firma Qiagen
Puffer AE (Tris-Puffer, >9,0)	Elution der DNA	1,5 ml	Firma Qiagen

Durch das hinzugefügte Guanidin-HCl blieben aufgrund der nun vorherrschenden Salz- und pH-Bedingungen die Nukleinsäure-bindenden Proteine und die RNA ungebunden und liessen sich somit auswaschen. Um diese restlichen Proteine und die RNA zu entfernen, wurden 5 ml des Waschpuffers AW1 hinzugegeben und für 2 Minuten bei 4000 rpm zentrifugiert.

In einem weiteren Waschschrift wurde die Salz-Konzentration wieder verringert durch Zugabe von 5ml des ethanolhaltigen, salzarmen Puffers AW2 (Firma Qiagen, Hilden) und anschließendem Zentrifugieren bei 4000 rpm für 15 Minuten, wodurch die Säulen getrocknet wurden.

Zum Zwecke der Elution der DNA wurden 1,5 ml des Tris-haltigen AE-Puffers (Firma Qiagen Hilden) auf die DNA-haltige Silicamembran pipettiert, bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend bei 5000 rpm für 2 Minuten zentrifugiert. Die in diesen Arbeitsschritten gewonnene DNA wurde in 2,0 ml Microtubes (Sarstadt, Nürnberg) bis zur nachfolgenden Verwendung bei -80° C gelagert.

2.5.2 Bestimmung der DNA-Konzentrationen

Durchschnittlich war eine DNA-Konzentration von 120-150 ng/µl in den Proben enthalten. Für weitere Arbeitsschritte musste die Konzentration jeder der DNA Proben bestimmt und auf einen Wert von 50 ng/µl normiert werden.

Die Messung der DNA-Konzentration erfolgte mithilfe des Fluoreszenzfarbstoffes Pico-Green (Firma Invitrogen, Karlsruhe). Dieser Farbstoff bindet selektiv an Doppelstrang-DNA und bildet mit dieser einen Komplex, der Licht der Wellenlänge von 480 nm absorbiert. Wird dieser Komplex durch Lichtstrahlung angeregt, emittiert dieser wiederum Licht von 520 nm Wellenlänge. Die Anzahl der emittierten Lichtquanten ist direkt proportional zu der DNA- Konzentration und kann somit zur Quantifizierung herangezogen werden. Dies geschieht anhand einer interpolierten Standardkurve aus bekannten genomischen Standard DNA-Konzentrationen (gDNA), mit deren Hilfe die Konzentration der extrahierten DNA bestimmt wird.

Die DNA aus den zu messenden Proben wurde zunächst 1:10 mit H₂O bidest. verdünnt. Währenddessen wurde das Pico-Green-Gemisch bei Zimmertemperatur in einem lichtundurchlässigen Gefäß aufgetaut. Anschließend wurde es in einem 50 ml Röhrchen, das zum Lichtschutz mit Alufolie ummantelt war, mit dem Tris-EDTA-Puffer zu einem Verhältnis von 1:156 verdünnt.

Die im Folgenden genannten Pipettierschritte wurden von einem Pipettier-Roboter (Janus Automated Workstation, Firma Perkin Elmer, Massachusetts) durchgeführt. Dieser Roboter applizierte auf eine Messplatte *Thermo fast 96 well plate* (Firma ABgene, Hamburg) pro Vertiefung (*well*) jeweils 50 µl H₂O. Jeweils 5 µl der genomischen Standard DNA Verdünnungsreihe (Firma Clontech, Mountain View, USA) wurden in absteigender Reihenfolge beginnend bei der höchsten (100 ng/µl) in die *wells* A-H der Spalten 1 und 2 pipettiert, wobei Spalte H ohne genomische DNA verblieb. Folglich war die Standard DNA Verdünnungsreihe in Duplikaten vorhanden (Tabelle 8, S. 49).

Die vorverdünnte DNA, die es zu messen galt, wurde in den soeben beschriebenen Verdünnungsschritten analog auf die Spalten 3 - 12 der Vertiefungen A-H der verwendeten Messplatte *96 well black flat bottom plate* verteilt und war folglich ebenfalls doppelt vorhanden.

In jede Vertiefung wurden nun 145 µl des Pico-Green-Gemischs hinzu pipettiert und die Platte durch einen Greifarm von der Janus Workstation in das Fluoreszenzgerät Victor 3 Multilabel Counter 1420 (Firma Perkin Elmer, Massachusetts) transportiert. Somit ergab sich ein Endverdünnungsverhältnis des Pico-Green von 1:200. Vor Beginn der Fluoreszenzmessung wurde die *96 well* Platte horizontal in Doppellellipsen für 30 Sekunden geschüttelt, um ein homogenes Gemisch zu erzielen.

Danach wurde der Farbstoff Pico-Green mit Licht der Wellenlänge 485 nm angeregt und dessen Fluoreszenz bei 535 nm für jeweils 0,1 Sekunde pro *well* gemessen.

Mithilfe eines Computers (Optiplex GX620 Pentium 4 HAT, Dell, Frankfurt) wurde der Mittelwert aus den Messergebnissen der Duplikate (beispielsweise *well* A3 und A4; vgl. Tabelle 9, S. 50) ermittelt und über die Konzentrationen der Standard DNA Verdünnungsreihe die Konzentration in der DNA Probe unbekannter Konzentration errechnet.

Tabelle 8: DNA-Verteilung auf die 96-well Messplatte

	Standard	Standard	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	100 ng/μl	100 ng/μl	DNA 1	DNA 1	DNA 9	DNA 9	DNA 17	DNA 17	DNA 25	DNA 25	DNA 33	DNA 33
B	50 ng/μl	50 ng/μl	DNA 2	DNA 2	DNA 10	DNA 10	DNA 18	DNA 18	DNA 26	DNA 26	DNA 34	DNA 34
C	25 ng/μl	25 ng/μl	DNA 3	DNA 3	DNA 11	DNA 11	DNA 19	DNA 19	DNA 27	DNA 27	DNA 35	DNA 35
D	12,5 ng/μl	12,5 ng/μl	DNA 4	DNA 4	DNA 12	DNA 12	DNA 20	DNA 20	DNA 28	DNA 28	DNA 36	DNA 36
E	6,25 ng/μl	6,25 ng/μl	DNA 5	DNA 5	DNA 13	DNA 13	DNA 21	DNA 21	DNA 29	DNA 29	DNA 37	DNA 37
F	3,125 ng/μl	3,125 ng/μl	DNA 6	DNA 6	DNA 14	DNA 14	DNA 22	DNA 22	DNA 30	DNA 30	DNA 38	DNA 38
G	1,5625 ng/μl	1,5625 ng/μl	DNA 7	DNA 7	DNA 15	DNA 15	DNA 23	DNA 23	DNA 31	DNA 31	DNA 39	DNA 39
H	0 ng/μl	0 ng/μl	DNA 8	DNA 8	DNA 16	DNA 16	DNA 24	DNA 24	DNA 32	DNA 32	DNA 40	DNA 40

(Standard = genomische Standard DNA-Verdünnungsreihe je 5 μl, Spalten 3-12 enthalten vorverdünnte DNA unbekannter Konzentration)

Im darauf folgenden Arbeitsschritt wurde die DNA mithilfe des Roboters und H₂O bidest., auf eine Konzentration von 50 ng/μl eingestellt und bei -80° C gelagert. Zur weiteren Verwendung wurde sie dann bei 4° C aufgetaut.

Tabelle 9: Zur DNA-Konzentrationsbestimmung verwendete Materialien und Reagenzien

Material/Reagenz	Verwendungszweck	Hersteller
Quant IT PicoGreen ds DNA reagent	Fluoreszenz der DNA	Invitrogen, Karlsruhe
Human genomic DNA 100ng/ μ l	Standard Verdünnungsreihe	Firma Clontech, Mountain View, USA
Janus Automated Workstation	Durchführung aller Pipettierschritte	Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA
WinPREP	Software zur Steuerung Janus Pipettierroboter	Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA
Victor 3 Multilabel Counter 1420	Fluoreszenzmessung der DNA	Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA
Wallac 1420 Workstation Software	Software zur Steuerung Victor3 Multilabel Counters	Perkin Elmer, Massachusetts
Thermo Fast 96 well Plate	Vorverdünnung der Proben-DNA, Standardverdünnungsreihe	ABgene, Hamburg
Computer Optiplex GX 620 Pentium 4 HAT	Berechnungen	Dell, Frankfurt

2.5.3 Genotypisierung

Die Genotypisierung wurde an den drei SNPs rs13242038, rs11772736 und rs802467 des GRM-3 Gens durchgeführt (NCBI, 2011d).

Das in dieser Arbeit verwendete iPLEX-Verfahren ist eine Methode zur Einzelbasenverlängerung (*single base extension* = SBE). Die Besonderheit des iPLEX-Verfahrens besteht darin, dass Multiplex-Reaktionen durchgeführt werden können. Das bedeutet, dass in einem gemeinsamen Reaktionstopf bis zu 36 PCR-Reaktionen gleichzeitig stattfinden können. Es werden also zu einer DNA-Lösung eines Probanden 36 Primerpaare gegeben, mit Enzym und Nukleotiden versetzt und

in der PCR-Maschine zur Reaktion gebracht, wodurch zur gleichen Zeit 36 verschiedene Amplifikate in einem Ansatz entstehen.

In Kombination mit der MALDI-TOF MS (*matrix assisted laser desorption/ionisation time of flight mass spectrometry*) findet es Verwendung, um Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs) automatisch zu genotypisieren.

Das für die Hochdurchsatzgenotypisierung eingesetzte iPLEX-Verfahren ist in 3 Schritte gegliedert:

1. Zuerst erfolgt eine klassische Multiplex-Polymerase Kettenreaktion (PCR) der Genombereiche, in denen die zu untersuchenden SNPs zu lokalisiert sind.
2. Im nächsten Schritt werden mithilfe von *shrimp alkaline phosphatase* (SAP) überschüssige Nukleotide dephosphoryliert und somit inaktiviert, da sich diese auf die später erfolgende iPLEX-Reaktion störend auswirken würden.
3. Zuletzt kommt ein spezielles iPlex zur Anwendung, wobei für jedes Allel der zu genotypisierenden SNPs ein massenspezifisches Produkt entsteht, wodurch der Genotyp mithilfe von MALDI-TOF Massenspektrometrie bestimmt werden kann.

2.5.3.1 Die klassische Polymerase Kettenreaktion (PCR)

Bei der klassischen Polymerase Kettenreaktion handelt es sich um ein Verfahren zur Amplifikation von DNA, das vielseitig in der Wissenschaft Verwendung findet. Sie wurde 1983 von Kary Mullis et al. entwickelt und hat einen grossen Teil zum heutigen wissenschaftlichen Fortschritt beigetragen.

Die Vervielfältigung von DNA durch die PCR gelingt, indem durch eine DNA-Polymerase spezifische DNA-Sequenzen amplifiziert werden können (Mullis, 1990; Saiki et al., 1988). Der Replikationsmechanismus ist angelehnt an die DNA-Replikation in der Zelle.

Die Vermehrung eines spezifischen DNA-Doppelstrangs erfolgt in drei aufeinanderfolgenden Schritten, die zyklisch wiederholt werden:

- Denaturierung: Es werden Oligonukleotide als Startmoleküle (Primer) zugegeben. Dann wird die gesamte DNA im Ansatz, die den zu amplifizierenden Doppelstrang enthält, durch Erhöhung der Temperatur auf 95°C erhitzt und dadurch in zwei Einzelstränge aufgetrennt (Volkenandt et al., 1990).
- *Annealing* der Primer: Im zweiten Arbeitsschritt wird die DNA rasch auf 56° C abgekühlt und die Primer, die komplementär zu der Sequenz an den 3' und 5' Enden des zu vervielfältigenden DNA Stücks sind, können an diesen binden.
- Elongation: Bei 72° C wird das Enzym DNA-Polymerase, welches die Primer als Startpunkte verwendet, hinzugegeben, um die jeweiligen Einzelstränge wiederum zu Doppelsträngen zu vervollständigen.

Folglich sind nun zwei Doppelstränge vorhanden. Die DNA-Polymerasen stammen von thermophilen Bakterien wie beispielsweise die *Taq*-Polymerasen aus dem Eubakterium *Thermophilus aquaticus*, die auch bei Temperaturen bis zu 100° C keine Aktivitätseinbußen erleiden (Myers et al., 1991).

Dieser Reaktionszyklus wurde 45 mal wiederholt. Dabei wurde eine annähernd exponentiell Vervielfältigung des Amplikons erzielt.

Zur Optimierung der Reaktionsbedingungen wurde ein Gemisch aus verschiedenen Reagenzien vorbereitet (Tabelle 10, S. 53) und jeweils 2,5µl dieses Gemisches zu der DNA gegeben.

Tabelle 10: Für die Multiplex-PCR verwendete Reagenzien (pro Reaktion)

Reagenz	Volumen	Hersteller
Autoklaviertes H ₂ O	1,850 µl	Purelab ultra, ELGA
1 x PCR Puffer	0,625 µl	Qiagen
MgCl ₂ (25 nM)	0,352 µl	Qiagen
dNTP Mix (25 nm)	0,100 µl	ABgene
Primer Mix (je 500 nm)	1,000 µl	Qiagen
Genomische DNA 5 ng/µl)	2,5 µl	
HotStar Taq DNA Polymerase (5 U/µl)	0,100 µl	Qiagen

Verwendetes PCR-Programm

Zeit	Temperatur in °C	Wiederholungsschleifen
5 min	95	
30 sec	95	
30 sec	56	45
1 min	72	
10 min	72	

Die Proben wurden anschließend auf 12° C abgekühlt und bis zum nächsten Arbeitsschritt bei -20°C aufbewahrt.

2.5.3.1.1 Auswahl der Primer

In Tabelle 11, S. 54 sind die Basenabfolge der für die PCR ausgewählten Primer für die jeweiligen SNPs aufgelistet.

Tabelle 11: Für die in dieser Arbeit untersuchten SNPs des GRM-3 Gens verwendete Primer

	SNP rs13242038	SNP rs11772736	SNP rs802467
Chromosomale Position	86152356	86153858	86166546
1. PCR-Primer	ACG TTG GAT GGT TGC TAG GTT CAA TTT CTC	ACG TTG GAT GTG TCA GCT ATA GCA GTA ATG	ACG TTG GAT GAG GAA CCA TCC AGA TTC TGC
2. PCR-Primer	ACG TTG GAT GTG AGG ATG GAA GTC ATG CTG	ACG TTG GAT GCT CAC TCA AGT GTA AGG GCA	ACG TTG GAT GAG AGG TTA ACA CCT ACC AGC
Amplifikations-Länge in Basenpaaren (bp)	93	121	141
Extensionsprimer	TCA TGC TGC AAA TAT GAG	GTG TAA GGG CAA ATA TTA TGT AA	GAA ATT AGA AAC AAT ACC TAT TAG C

2.5.3.2 Dephosphorylierung mit *shrimp alkaline phosphatase*

Bei der PCR werden die Nukleotide im Überschuss hinzugefügt um zu gewährleisten, dass diese stets in ausreichender Menge bei der Amplifikation zur Verfügung stehen. Da diese überschüssigen Basen jedoch bei der iPLEX-Reaktion stören würden, müssen sie entfernt werden. Durch Zugabe der *shrimp alkaline phosphatase* (SAP, Firma Sequenom, San Diego) werden diese dephosphoryliert und somit inaktiviert.

Es wurde mit einem Multimek Pipettierroboter (Firma Beckmann, Fullerton) zu jeweils 5 µl der PCR-Produkte 2 µl SAP- Mastermix gegeben. Dieser Mastermix bestand zu 1,53 µl aus Wasser, 0,17 µl aus 10x SAP Buffer und zu 0,3 µl aus SAP-Enzym. Die Lösung wurde gemischt, abzentrifugiert und in einem Thermocycler (Applied Biosystems, Foster City) zunächst bei 37° C für 40 Minuten inkubiert. Zuletzt wurde die Probe auf 85° C für 10 Minuten erhitzt, um die SAP irreversibel zu inaktivieren und zur Aufbewahrung auf 4° C herunter gekühlt.

2.5.3.3 Die iPLEX-Extensionsreaktion

Bei dem iPLEX-Verfahren handelt es sich um eine modifizierte PCR, die für jedes Allel eines SNPs massenspezifische Primerextensionsprodukte erzeugt.

Das iPLEX-Gemisch (Tabelle 13, S. 56) von insgesamt 2 µl für diese Extensionsreaktion besteht aus 0,755 µl autoklaviertem H₂O, 0,2 µl iPlex Buffer Plus (Sequenom, San Diego, USA), 0,2 µl *iPLEX Termination-Mix* (Sequenom, San Diego, USA), 0,804 µl Primer Mix (7-14 µM; Metabion, Martinsried) und 0,041 µl iPlex Enzym (Sequenom, San Diego, USA). Zusammen mit der zuvor via PCR amplifizierten DNA wurde diese Mischung in einen Thermocycler (Firma Applied Biosystems, Foster City) überführt, wo eine erneute PCR stattfand.

Die verwendeten Extensionsprimer waren so entworfen, dass sie unmittelbar vor den zu untersuchenden SNPs an die zuvor durch PCR vervielfältigte DNA binden.

Durch die Verwendung von ddNTPs (Didesoxynukleotide) kann die Polymerase nur jeweils eine Base zur Primersequenz hinzufügen, danach kommt es zu einem Abbruch der Reaktion. Die Extensionsprimer werden also um genau eine Base verlängert. Die vier Basen Adenin, Guanin, Cytosin und Thymin haben unterschiedliche Massen, was sich als hilfreich bei der Detektion der SNPs erweist. Mithilfe eines Massenspektrometers kann nun differenziert werden, um welche Base der jeweilige Strang verlängert wurde. Da die hinzugefügte Base komplementär zu dem gesuchten SNP ist, lassen sich so die vorliegenden SNP-Allele bestimmen.

Das i-PLEX-Programm läuft nach folgendem Schema in unterschiedlichen PCR-Stufen und zwei Zyklusschleifen wie folgt ab (Tabelle 12, S. 56):

Zuerst wird die Probe dabei für 30 Sekunden auf 94° C erhitzt. Die Temperatur wird dann für weitere fünf Sekunden zur Denaturierung beibehalten.

Anschließend erfolgt fünf Sekunden lang das Annealing bei 52° C, gefolgt von der fünf Sekunden andauernden Extension bei 80° C.

Das Annealing und die Extension werden noch viermal wiederholt, dann springt das Thermocyclerprogramm zurück zur Denaturierung für fünf Sekunden bei 94° C.

Dieses Muster wird insgesamt 40 Mal wiederholt, woraus folglich 200 Zyklen resultieren. Anschließend erfolgt noch eine dreiminütige finale Extension bei 72° C.

Zur Lagerung werden die Proben schließlich auf 4° C herunter gekühlt.

Tabelle 12: Schematische Darstellung der iPLEX-Reaktionsschritte:

Reaktionsschritt	Temperatur / Zeit	Anzahl der Zyklusschleifen	
1	94° C / 30 sec		
2	94° C / 5 sec		40 x für die Reaktionschritte 2, 3 und 4
3	52° C / 5 sec	5 x für die Reaktionsschritte	
4	80° C / 5 sec	3 und 4	
5	72° C / 3 min		
6	4° C zur Lagerung		

Tabelle 13: Zusammensetzung des iPLEX Mix

Reagenz	Volumen	Hersteller
Autoklaviertes H ₂ O	0,755 µl	Sequenom, San Diego USA
iPlex Buffer Plus	0,200 µl	Sequenom, San Diego USA
iPlex Termination-Mix	0.200 µl	Sequenom, San Diego USA
Primer Mix (7 µM - 14 µM)	0.804 µl	Sequenom, San Diego USA
iPlex-Enzym	0.041 µl	Sequenom, San Diego USA

2.5.3.4 Messung der Extensionsprodukte im MALDI-TOF Massenspektrometer

Vor der Verwendung für die Massenspektrometrie mussten die Extensionsprodukte zur Vermeidung von Störsignalen durch Salzionen mit dem Ionenaustauschharz SpectroClean (Sequenom, San Diego, USA) entsalzt werden.

Die Massenspektrometrie wurde mit dem MassARRAY MALDI-TOF (Sequenom, San Diego, USA) durchgeführt. Dazu wurde die Probe mit dem MassARRAY Nanodispenser (Sequenom, San Diego, USA) auf Siliziumchips (384er SpectroCHIP bioarray, Sequenom, San Diego, USA) aufgebracht, dessen Matrix aus 3-Hydroxypicolinsäure besteht und somit ein Auskristallisieren der Endprodukte verhindert. Dann wurden die Siliziumchips durch eine Vakuumschleuse in das

Hochvakuum (ca. 10^{-8} - 10^{-6} mbar) des Massenspektrometers überführt und jede Probe für einige Nanosekunden einem intensiven Laserpuls (N₂-Laser: $\lambda = 337$ nm) ausgesetzt.

Dadurch verdampfte und ionisierte die Probe, wodurch gasförmige einfach geladene Ionen entstanden, die durch ein elektrisches Feld beschleunigt und nach ihrem Masse-/Ladungsverhältnis aufgetrennt wurden. Da die in der iPlex-Extensionsreaktion erzeugten DNA-Fragmente je nach Beschaffenheit der zuletzt angehängten Base unterschiedliche Massen haben, konnte jeweils eine unterschiedliche Flugdauer gemessen werden. Aufgrund der gemessenen Daten konnte auf die molekulare Masse der Ionen geschlossen werden und mithilfe der TYPER Analyzer 3.3.0 Software (Sequenom) jeder Base ein spezifischer Genotyp zugeordnet werden.

2.6 Statistische Auswertung

Die Statistische Auswertung erfolgte mithilfe der PASW (predictive analytics software) Statistics 18.0 Software.

Die Verteilung der Genotypen wurde hinsichtlich des Hardy-Weinberg-Equilibriums (HWE) überprüft.

In der Fall-Kontroll-Assoziations-Studie wurden Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollprobanden hinsichtlich der Häufigkeiten der Allele und Genotypen mit dem zweiseitigen χ^2 -Test überprüft.

In der deskriptiven Statistik wird die Häufigkeit der anzutreffenden Genotypen für den jeweiligen SNP beschrieben.

Bei der Prüfstatistik wurde ein χ^2 -Test durchgeführt, der eine 2-seitige Signifikanz beschreibt. Die Odds Ratio (OR) ist ein Assoziationsmaß, eine statistische Messzahl, die etwas über die Stärke eines Zusammenhangs von zwei Merkmalen aussagt. Dieser wird anhand einer Vierfeldertafel berechnet: $a*b/b*c$.

Ein Quotenverhältnis von genau 1 bedeutet, dass es keinen Unterschied in den Odds gibt, >1 bedeutet, dass die Odds der ersten Gruppe größer sind und ein Wert <1 beschreibt kleinere Odds in der ersten Gruppe.

Mit einer Multivariaten Varianzanalyse (MANOVA) wurde anschließend geprüft, ob Zusammenhänge zwischen den Testergebnissen des RWT und den einzelnen SNPs vorliegen. Als Covariablen wurden die Gruppe (Patienten vs. Kontrollprobanden), das Geschlecht, die Schulbildung und das Alter einbezogen. Die Genotypen und Allele gingen als unabhängige Variablen (UV), die Leistung in den Wortflüssigkeitstests als abhängige Variablen (AV) in die Berechnungen mit ein.

In der deskriptiven Statistik werden die Ergebnisse für die Gesamtstichprobe (männlich und weibliche Patienten und Probanden) hinsichtlich ihres Genotyps beziehungsweise Allels unterschieden. Die Werte für die Testergebnisse sind Rohwerte (Anzahl an richtigen Wörtern), keine Normwerte.

Bei der Prüfstatistik wird der Einfluss des Genotyps bzw. Allels betrachtet, unabhängig von anderen Covarianten oder Interaktionen (Tabelle 14).

Für alle statistischen Berechnungen wurde ein Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$ zugrunde gelegt und ein Trend beziehungsweise eine Tendenz als $p \leq 0,1$ definiert.

Tabelle 14: Auswertung des RWT

RWT	
Fluency Words	Anzahl richtiger Wörter der Durchgänge S-Wörter + P-Wörter (Rohwert)
Fluency Words Switch	Anzahl richtiger Wörter der Durchgänge H/T + G/R (Rohwert)
Fluency Categories	Anzahl richtiger Wörter der Durchgänge Tiere + Lebensmittel (Rohwert)
Fluency Categories Switch	Anzahl richtiger Wörter der Durchgänge Sportarten/Früchte + Kleidungsstücke/Blumen (Rohwert)

3 Ergebnisse

3.1 Fall-Kontroll-Assoziations-Studie

Im Rahmen einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie wurden insgesamt 457 Individuen, darunter 318 gesunde Probanden und 139 Schizophreniepatienten, dahingehend untersucht, ob eine Assoziation zwischen dem GRM-3 Gen und der Schizophrenie besteht. Zu diesem Zweck wurden die drei SNPs rs13242038, rs11772736 und rs802467 des GRM-3 Gens genotypisiert und einer statistischen Analyse bezüglich ihrer Genotypen- und Allelfrequenz unterzogen. Die Ergebnisse zeigen, dass sich die Genotypenverteilung in unserer Population im Hardy-Weinberg-Equilibrium befindet (Tabelle 15).

Alle drei untersuchten SNPs befinden sich innerhalb des Intron 1 des GRM-3 Gens.

Der SNP *rs802467* befindet sich in der Intron-1-Region 86.116.546 des GRM-3 Gens. Ein Austausch der Basen Cytosin (C) und Thymin (T) hat keinen Aminosäureaustausch zur Folge (NCBI, 2011a).

Der SNP *rs11772736* befindet sich ebenfalls in der Intron-1-Region 86.153.858 des GRM-3 Gens. Durch den Austausch der Basen Guanin (G) und Thymin (T) kommt es zu keinem Aminosäureaustausch (NCBI, 2011b).

Der SNP *rs1324038* befindet sich in der Intron-1-Region 86.152.356 des GRM-3 Gens. Ein Austausch der Basen Cytosin (C) und Thymin (T) bewirkt keinen Aminosäureaustausch (NCBI, 2011c).

Tabelle 15: Überprüfung der Genotypen mithilfe des Hardy-Weinberg-Equilibriums

SNP	F (Fischer-Verteilung)	df (Freiheitsgrade)	p (Signifikanz)
rs13242038	0.02765	1	0.557882
rs11772736	-0.06187	1	0.185976
rs802467	0.03197	1	0.506409

3.1.1 Analyse des Polymorphismus rs13242038 des GRM-3 Gen

3.1.1.1 Genotypenverteilung

In Tabelle 16 ist die Verteilung der Genotypen CC, CT und TT des Einzelbasenpolymorphismus rs13242038 dargestellt.

Tabelle 16: Genotypenverteilung des Polymorphismus rs13242038

	Genotyp CC (n %)	Genotyp CT (n%)	Genotyp TT (n%)	Gesamt n
Kontrollen	202 (64,5)	98 (31,3)	13 (4,2)	313
Patienten	91 (66,9)	39 (28,7)	6 (4,4)	136
Gesamt	293 (65,3)	137 (30,5)	19 (4,2)	449

Bezüglich der Genotypenverteilung war kein signifikanter Unterschied zwischen Kontrollprobanden und Patienten feststellbar ($\chi^2 = 0,312$, $df = 2$, $p = 0,855$). Die Genotypen CC, CT und TT sind folglich unter den Kontrollprobanden ebenso häufig zu finden wie unter den Patienten.

3.1.1.2 Allelträger und Allelverteilung

Die Allelverteilung des SNP rs13242038, das sich in dem Intron 1 des GRM-3 Gens befindet, wurde auf folgende Weise analysiert:

Die Genotypenverteilungen wurden zunächst zu sogenannten gruppierten Genotypen (Allelträgern) zusammengefasst und ausgewertet. Hierbei wurden alle Träger des Allels C (Genotypen CC und CT) in eine Gruppe zusammengefasst, Träger des Merkmals TT in eine andere Gruppe wie in Tabelle 17, S. 61 dargestellt.

Tabelle 17: Verteilung der gruppierten Genotypen CC & CT und TT des SNP rs13242038

	Genotyp CC & CT (n%)	Genotyp TT (n%)	Gesamt
Kontrollen	300 (95,8)	13 (4,2)	313
Patienten	130 (95,6)	6 (4,4)	136
Gesamt	430 (95,8)	19 (4,2)	449

In dieser Gruppierung der Genotypenverteilung war kein signifikanter Unterschied zwischen Kontrollen und Patienten feststellbar ($\chi^2 = 0,016$, OR = 1,065 (CI = 0,396-2,864), df = 1, p = 0,901). Sowohl die Genotypen CC & CT als auch der Genotyp TT sind gleichmäßig auf das Probanden- und Patientenkollektiv verteilt.

In einer weiteren Berechnung bildeten Personen mit dem Genotyp CC eine Gruppe, Träger der Merkmale CT und TT wurden ebenfalls zu einer gemeinsamen Gruppe zusammengefasst (siehe Tabelle 18).

Tabelle 18: Verteilung der gruppierten Genotypen CC und CT&TT des SNP rs13242038

	Genotyp CC (n%)	Genotyp CT & TT (n%)	Gesamt
Kontrollen	202 (64,5)	111 (35,5)	313
Patienten	91 (66,9)	45 (33,1)	136
Gesamt	293 (65,3)	156 (34,7)	449

Auch hier konnte kein signifikanter Unterschied zwischen Kontrollen und Patienten verzeichnet werden ($\chi^2 = 0,236$, OR = 0,900 (CI = 0,588 - 1,377), df = 1, p = 0,627), was bedeutet, dass die Genotypen CC & CT und TT sowohl im Patienten- als auch im Probandenkollektiv gleichermaßen zu finden sind.

In der dritten Berechnung zur Allelverteilung wurde die Häufigkeit aller Allele verglichen. Da sich jeder Genotyp aus jeweils zwei Allelen zusammensetzt, erklärt sich die doppelte Gesamtzahl. Die Ergebnisse der Berechnung sind in der Tabelle 19, S. 62 zusammengefasst.

Tabelle 19: Verteilung der Allele C und T des SNP rs13242038

	Allel C (n%)	Allel T (n%)	Gesamt
Kontrollen	502 (80,2)	124 (19,8)	626
Patienten	221 (81,3)	51 (18,8)	272
Gesamt	723 (80,5)	175 (19,5)	898

Bei dieser Berechnung ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen Kontrollen und Patienten ($\chi^2 = 0,135$, OR = 0,934 (CI = 0,650 - 1,342), df = 1, p = 0,713). Folglich waren die Allele C und T genauso häufig bei Kontrollen, wie bei Patienten anzutreffen.

3.1.2 Analyse des Polymorphismus rs11772736 des GRM-3 Gens

3.1.2.1 Genotypenverteilung

Die Genotypen GG, GT und TT des SNP rs11772736 des GRM-3 Gens sind wie in Tabelle 20 dargestellt verteilt.

Tabelle 20: Genotypenverteilung des Polymorphismus rs11772736 des GRM-3 Gens

	Genotyp GG (n%)	Genotyp GT (n%)	Genotyp TT (n%)	Gesamt
Kontrollen	28 (8,8)	145 (45,6)	145 (45,6)	318
Patienten	15 (10,8)	69 (49,6)	55 (39,6)	139
Gesamt	43 (9,4)	214 (46,8)	200 (43,8)	457

Die Genotypenverteilung wies keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollen auf ($\chi^2 = 1,547$, df = 2, p = 0,461). Die Genotypen GG, GT und TT sind folglich unter den Kontrollprobanden mit derselben Häufigkeit zu finden wie unter den Patienten

3.1.2.2 Allelträger und Allelverteilung

Um die Allelträger zu identifizieren und die Allelverteilung des SNP rs11772736 zu analysieren, wurden wiederum 3 verschiedene Einteilungen vorgenommen.

Die Genotypenverteilungen wurden wieder in gruppierte Genotypen zusammengefasst und ausgewertet. Hierbei wurden alle Träger des Allels GG und GT in eine Gruppe zusammengefasst, Träger des Merkmals TT in eine andere Gruppe (Tabelle 21).

Tabelle 21: Verteilung der gruppierten Genotypen GG & GT und TT des SNP rs11772736

	Genotyp GG & GT (n%)	Genotyp TT (n%)	Gesamt
Kontrollen	173 (54,4)	145 (45,6)	318
Patienten	84 (60,4)	55 (39,6)	139
Gesamt	257 (56,2)	200 (43,8)	457

In dieser Gruppierung der Genotypenverteilung war kein signifikanter Unterschied zwischen Kontrollen und Patienten feststellbar ($\chi^2 = 1,429$, OR = 0,781 (CI = 0,521-1,172), df = 1, p = 0,232). Die Genotypen GG & GT und TT sind gleichmäßig häufig sowohl im Probanden- als auch im Patientenkollektiv zu finden.

In einer weiteren Berechnung bilden Individuen mit dem Genotyp GG eine Gruppe und es wurden die Genotypen GT und TT zusammen gruppiert.

Für die Genotypenverteilung des SNP rs11772736 wurden die in Tabelle 22 gezeigten Ergebnisse ermittelt.

Tabelle 22: Verteilung der gruppierten Genotypen GG und GT & TT des SNP rs11772736

	Genotyp GG (n%)	Genotyp GT & TT (n%)	Gesamt
Kontrollen	28 (8,8)	290 (91,2)	318
Probanden	15 (10,8)	124 (89,2)	139
Gesamt	43 (9,4)	414 (90,6)	457

In dieser Gruppierung der Genotypenverteilung war kein signifikanter Unterschied zwischen Kontrollen und Patienten feststellbar ($\chi^2 = 0,448$, OR = 0,789 (CI = 0,412-1,547), df = 1, p = 0,503). Die Genotypen sind gleichmäßig sowohl im Probanden- als auch im Patientenkollektiv anzutreffen.

In der dritten Berechnung zur Allelverteilung wurde die Häufigkeit aller Allele verglichen wie Tabelle 23 zeigt.

Tabelle 23: Verteilung der Allele G und T des SNP rs11772736

	Allel G (n%)	Allel T (n%)	Gesamt
Kontrollen	201 (31,6)	435 (68,4)	636
Patienten	99 (35,6)	179 (64,4)	278
Gesamt	300 (32,8)	614 (67,2)	914

Bei dieser Berechnung ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen Kontrollen und Patienten ($\chi^2 = 0,1409$, OR = 0,835 (CI = 0,621 - 1,124), df = 1, p = 0,235). Das Allel G und das Allel T sind folglich gleich häufig bei Patienten und Kontrollen zu finden.

3.1.3 Analyse des Polymorphismus rs802467 des GRM-3 Gens

3.1.3.1 Genotypenverteilung

Die Genotypen CC, CT und TT des SNP rs802467 sind wie in Tabelle 24 dargestellt verteilt.

Tabelle 24: Genotypenverteilung des Polymorphismus rs802467 des GRM-3 Gens

	Genotyp CC (n%)	Genotyp CT (n%)	Genotyp TT (n%)	Gesamt
Kontrollen	48 (15,8)	138 (45,5)	117 (38,6)	303
Patienten	25 (19,4)	63 (48,8)	41 (31,8)	129
Gesamt	73 (16,9)	201 (46,5)	158 (36,6)	432

Die Genotypenverteilung wies keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollen auf ($\chi^2 = 2,035$, $df = 2$, $p = 0,361$). Die Genotypen CC, CT und TT sind folglich unter den Kontrollprobanden ebenso häufig zu finden wie unter den Patienten.

3.1.3.2 Allelverteilung

Die Allelverteilung des SNP rs802467 wurden 3 unterschiedliche Einteilungen vorgenommen. Die Genotypenverteilung wurde zunächst in sogenannte gruppierte Genotypen zusammengefasst und ausgewertet. Hierbei wurden alle Personen mit dem Genotyp CC und CT in eine Gruppe zusammengefasst, Träger des Merkmals TT in eine andere Gruppe (Tabelle 25).

Tabelle 25: Verteilung der gruppierten Genotypen CC & CT und TT des SNP rs802467

	Genotyp CC & CT (n%)	Genotyp TT (n%)	Gesamt
Kontrollen	186 (61,4)	117 (38,6)	303
Patienten	88 (68,2)	41 (31,8)	129
Gesamt	274 (63,4)	158 (36,6)	432

In dieser Gruppierung der Genotypenverteilung war kein signifikanter Unterschied zwischen Kontrollen und Patienten feststellbar ($\chi^2 = 1,820$, $OR = 0,741$ ($CI = 0,479 - 1,146$), $df = 1$, $p = 0,177$). Die Genotypen CC & CT und TT sind gleichmäßig sowohl im Probanden- als auch im Patientenkollektiv anzutreffen.

In einer weiteren Berechnung bildeten Personen mit den Genotypen CC eine Gruppe, Träger der Merkmale CT und TT wurden zu einer gemeinsamen Gruppe zusammengefasst (Tabelle 26).

Tabelle 26: Verteilung der gruppierten Genotypen CC und CT & TT des SNP rs802467

	Genotyp CC (n%)	Genotyp CT & TT (n%)	Gesamt
Kontrollen	48 (15,8)	255 (84,2)	303
Patienten	25 (19,4)	104 (80,6)	129
Gesamt	73 (16,9)	359 (83,1)	432

Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen Kontrollen und Patienten verzeichnet werden ($\chi^2 = 0,807$, OR = 0,783 (CI = 0,459 - 1,336), df = 1, p = 0,369), was bedeutet, dass die Genotypen CC & CT und TT in beiden Gruppen gleichermaßen zu finden sind.

In der dritten Berechnung zur Allelverteilung wurde die Häufigkeit der Allele C und T verglichen (Tabelle 27).

Tabelle 27: Verteilung der Allele C und T des SNP rs802467

	Allel C (n%)	Allel T (n%)	Gesamt
Kontrollen	234 (38,6)	372 (61,4)	606
Patienten	113 (43,8)	145 (56,2)	258
Gesamt	347 (40,2)	517 (59,8)	864

Bei dieser Berechnung ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen Kontrollen und Patienten ($\chi^2 = 2,024$, OR = 0,807 (CI = 0,601 - 1,085), df = 1, p = 0,155), was bedeutet, dass die Allele C und T gleich häufig auf Kontrollen und Patienten verteilt sind.

3.2 Endophänotypen Studie

3.2.1 Analyse des Polymorphismus rs13242038 des GRM-3 Gens

3.2.1.1 Genotypen und Regensburger-Wortflüssigkeits-Test

Es wurde bei 449 Patienten und Probanden der Regensburger-Wortflüssigkeits-Test (RWT) durchgeführt. Davon hatten 293 den Genotyp CC, 137 den Genotyp CT und 19 untersuchte Personen den Genotyp TT. Eine Unterscheidung zwischen Kontrollen und Patienten wurde in

diesem Teil der Arbeit nicht vorgenommen, es wurde jedoch der Krankheitsstatus als Covariate eingebaut.

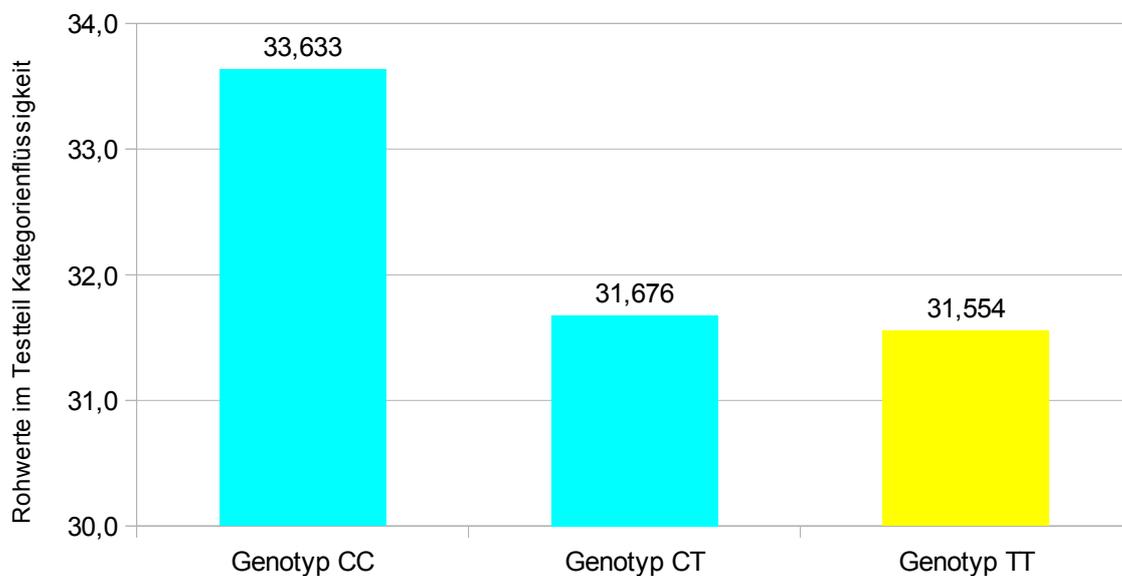
Es erfolgte eine Unterteilung in vier Untergruppen, bei denen die Wortflüssigkeit (*Fluency Words*), der Wechsel zwischen Wörtern mit zwei verschiedenen Anfangsbuchstaben (*Fluency Words Switch*), Nennen von Wörtern, die zu einer gewissen Kategorie gehören (*Fluency Categories*) und der Flüssigkeit des Kategorienwechsel (*Fluency Categories Switch*), bei dem der Untersuchte zwischen zwei vorgegebenen Kategorien wechseln muss, indem er abwechselnd ein Wort der einen Kategorie und dann der anderen Kategorie nennt. Es wurde eine Multivarianzanalyse durchgeführt, um festzustellen, ob eine Assoziation zwischen den vier Faktoren und dem SNP rs13242038 des GRM-3 Gens besteht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 28 dargestellt.

Tabelle 28: Ergebnisse der Multivarianzanalyse und Ergebnisse der vier Untergruppen des RWT aufgeteilt nach den Genotypen CC, CT und TT des SNP rs13242038

	F-Wert	df	p	Genotypen	Durchschnittliche Anzahl an richtigen Wörtern (n)	Standardabweichung (SD)
Fluency Words	0,620	2/866	0,533	CC	18,159	0,363
				CT	17,517	0,526
				TT	17,078	1,707
Fluency Words Switch	1,222	2/866	0,296	CC	19,690	0,351
				CT	18,945	0,507
				TT	17,787	1,647
Fluency Categories	2,682	2/866	0,070	CC	33,633	0,498
				CT	31,676	0,720
				TT	31,554	2,340
Fluency Categories Switch	1,892	2/866	0,152	CC	18,581	0,256
				CT	18,176	0,371
				TT	16,338	1,205

Bei der Kategorie Flüssigkeit konnte für den SNP rs13242038 ein Trend ($p = 0,07$) zur Signifikanz festgestellt werden. Bei den drei anderen Untertests war kein signifikanter Unterschied zu bemerken.

Die Anzahl der richtigen Wörter wurde für die vier Gruppen Wortflüssigkeit, Flüssigkeit des Wortwechsels, Kategorien-Flüssigkeit und Flüssigkeit des Kategorienwechsels vorgenommen und in die Genotypen CC, CT und TT unterteilt, um ein nach Genotypen differenziertes Ergebnis zu erhalten. Die Ergebnisse sind in Tabelle 28, S. 67 und Grafik 5, S. 68 dargestellt. Als Covariate gingen in die Berechnung die Schulbildung, der Krankheitsstatus, das Geschlecht und das Durchschnittsalter von 45,38 Jahren zum Zeitpunkt des Tests ein.



Grafik 5: Darstellung der Ergebnisse (Rohwerte) im Testteil Kategorienflüssigkeit für die Genotypen CC, CT und TT

Personen mit dem Genotyp TT des SNP rs13242038 hatten tendenziell weniger richtige Antworten beim Nennen von Wörtern, die zu einer bestimmten Kategorie gehören.

3.2.1.2 Allele und Regensburger-Wortflüssigkeits-Test

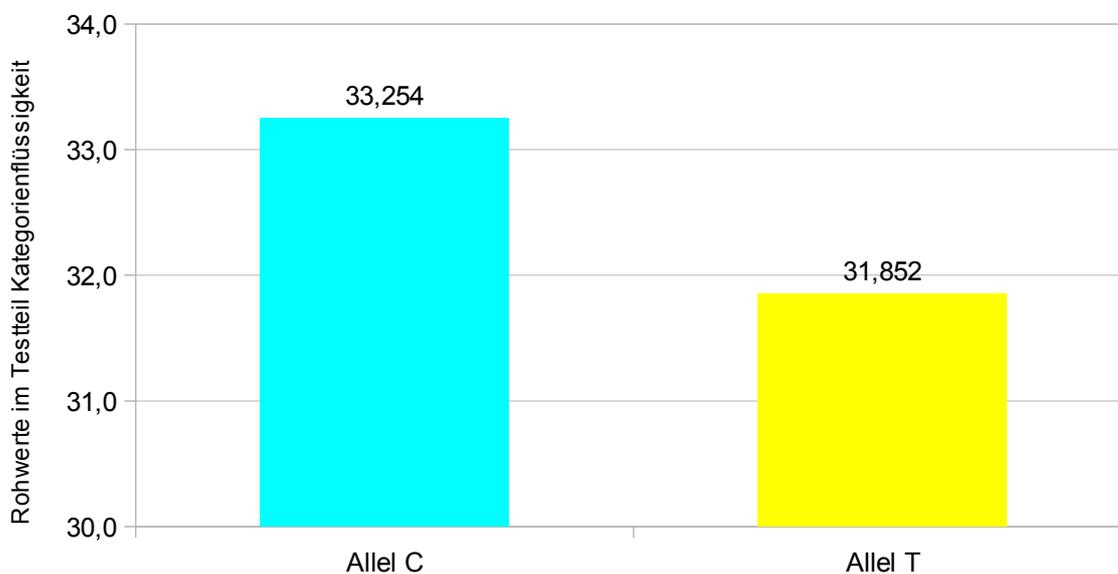
Die untersuchten Personen wurden danach hinsichtlich ihrer Allele untersucht. Hierbei wurde 723 mal das Allel C und 175 mal das Allel T festgestellt. Es wurden dieselben Untertests des RWT durchgeführt. Die Multivarianzanalyse ergab das in Tabelle 29, S. 69 veranschaulichte Ergebnis.

Tabelle 29: Ergebnisse der Multivarianzanalyse und Leitungen im RWT aufgelistet nach den Allelen C und T des SNP rs13242038

	F-Wert	df	p	Allel	Durchschnittliche Anzahl an richtigen Wörtern (n)	Standardabweichung (SD)
Fluency Words	0,795	2/885	0,373	C	18,0223	0,229
				T	17,562	0,465
Fluency Words Switch	1,841	2/885	0,175	C	19,519	0,221
				T	18,842	0,449
Fluency Categories	3,907	2/885	0,048	C	33,254	0,314
				T	31,852	0,638
Fluency Categories Switch	1,666	2/885	0,197	C	18,481	0,162
				T	18,008	0,329

Bei der Kategorien-Flüssigkeit zeigte sich für den SNP rs13242038 ein signifikanter Wert von $p = 0,048$. Bei den drei anderen Untertests war kein Unterschied zu bemerken.

Die Anzahl der richtigen Wörter wurde erneut für die vier Gruppen Wortflüssigkeit, Flüssigkeit des Wortwechsels, Kategorien-Flüssigkeit und Flüssigkeit des Kategorienwechsels vorgenommen. Um nun die Allelträger gezielt unterscheiden zu können, wurde zusätzlich hinsichtlich der Allele C und T unterteilt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 29 und Grafik 6, S. 70 dargestellt.



Grafik 6: Darstellung der Ergebnisse (Rohwerte) im Testteil Kategorienflüssigkeit für die Allele C und T

Träger des Allels T des SNP rs13242038 gaben signifikant weniger richtige Antworten zu Protokoll als Probanden mit dem Allel C, nachdem sie aufgefordert wurden Wörter zu nennen, die zu einer bestimmten Kategorie gehören.

Somit konnte sowohl für den Genotyp TT, als auch für das Allel T an sich ein Unterschied zu allen anderen Merkmalsträgern im Bezug auf die Kategorien-Flüssigkeit herausgefunden werden, da diese Personen im Durchschnitt weniger richtige Wörter, die einer Kategorie angehörten, nennen konnten, als die anderen Untersuchten.

3.2.2 Analyse des Polymorphismus rs11772736 des GRM-3 Gens

3.2.2.1 Genotypen und Regensburger-Wortflüssigkeits-Test

Um den Zusammenhang zwischen dem SNP rs11772736 des GRM-3 Gens und der Wortflüssigkeit zu untersuchen, wurden insgesamt 457 Personen mithilfe des RWT untersucht. Darunter 43 Personen mit dem Genotyp GG, 214 mit Genotyp GT und 200 Untersuchte, die den Genotyp TT hatten.

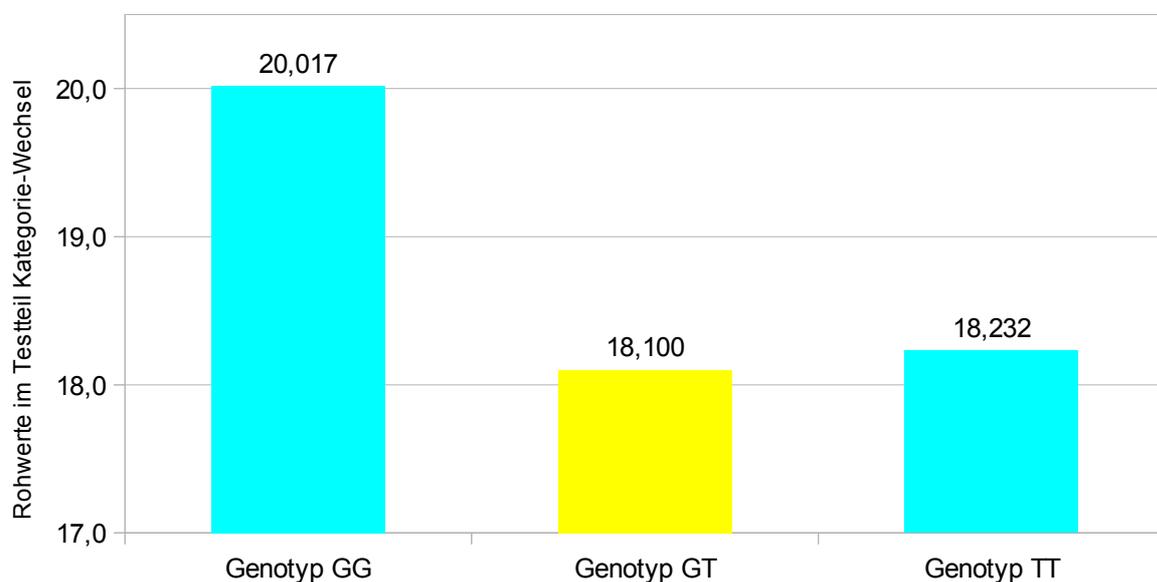
Es wurde eine Einteilung in Wortflüssigkeit, Flüssigkeit des Wortwechsels, Kategorien- Flüssigkeit und Flüssigkeit des Kategorienwechsels vorgenommen, wie in Tabelle 30 veranschaulicht wird.

Tabelle 30: Ergebnisse der Multivarianzanalyse und Ergebnisse der vier Untertests des RWT aufgeteilt nach den Genotypen GG, GT und TT des SNP rs11772736

	F-Wert	df	p	Genotypen	Durchschnittliche Anzahl an richtigen Wörtern (n)	Standardabweichung (SD)
Fluency Words	1,6447	2/882	0,194	GG	19,501	0,954
				GT	17,664	0,407
				TT	17,718	0,444
Fluency Words Switch	1,724	2/882	0,180	GG	20,945	0,926
				GT	19,209	0,395
				TT	19,089	0,431
Fluency Categories	1,453	2/882	0,235	GG	34,913	1,320
				GT	32,469	0,563
				TT	32,917	0,614
Fluency Categories Switch	3,436	2/882	0,033	GG	20,017	0,680
				GT	18,100	0,290
				TT	18,239	0,316

Hier konnte im Bezug auf den SNP rs11772736 ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Flüssigkeit des Kategorien-Wechsels festgestellt werden ($p = 0,033$). Die Ergebnisse der drei anderen Untertests waren nicht signifikant unterschiedlich.

Um den Genotyp zu unterscheiden, der dieses signifikante Ergebnis erzielen konnte, wurde eine detaillierte Aufteilung hinsichtlich der Genotypen vorgenommen (Tabelle 30, S. 71 und Grafik 7)



Grafik 7: Darstellung der Ergebnisse (Rohwerte) im Testteil Kategorie-Wechsel für die Genotypen GG, GT und TT

Die Personen, die den Genotyp GT aufwiesen, gaben eine geringere Anzahl an richtigen Antworten zu Protokoll, wenn ein Kategorie-Wechsel gefragt war im Vergleich zu Personen, die einen anderen Genotyp hatten.

3.2.2.2 Allele und Regensburger-Wortflüssigkeits-Test

Im nächsten Schritt wurden die Personen auf ihre Allele hin untersucht, wobei sich 300 mal das Allel G verzeichnen ließ und 614 mal das Allel T, zu insgesamt 914 Allelen. Es wurden die

Untertests Wortflüssigkeit, Flüssigkeit des Wortwechsels, Kategorien-Flüssigkeit und Flüssigkeit des Kategorienwechsels des RWT durchgeführt. Die Multivarianzanalyse ergab das in Tabelle 31 veranschaulichte Ergebnis.

Tabelle 31: Ergebnis der Multivarianzanalyse und Leistungen im RWT aufgelistet nach Allelen G und T des SNP rs11772736

	F-Wert	df	p	Allel	Durchschnittliche Anzahl an richtigen Wörtern (n)	Standardabweichung (SD)
Fluency Words	1,510	1/901	0,219	G	18,212	0,346
				T	17,689	0,249
Fluency Words Switch	2,140	1/901	0,144	G	19,733	0,336
				T	19,129	0,241
Fluency Categories	0,641	1/901	0,424	G	33,203	0,478
				T	32,733	0,343
Fluency Categories Switch	2,509	1/901	0,114	G	18,666	0,247
				T	18,184	0,177

Keines der Ergebnisse war signifikant.

Auch hier wurden die Ergebnisse für die Allele G und T gesondert betrachtet, wie 31 zeigt.

Hierbei konnten keine signifikanten Unterschiede herausgearbeitet werden bezüglich der Allele G und T des SNP rs11772736.

Für den SNP rs11772736 konnte nur im Bezug auf den Kategorienwechsel bei den Genotypen GT ein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Hinsichtlich der Allele wurde keine Signifikanz deutlich.

3.2.3 Analyse des Polymorphismus rs802467 des GRM-3 Gens

3.2.3.1 Genotypen und der Regensburger-Wortflüssigkeits-Test

Um den Zusammenhang zwischen dem SNP rs802467 des GRM-3 Gens und der Wortflüssigkeit zu untersuchen, wurden insgesamt 432 Personen mithilfe des RWT analysiert und eine Multivarianzanalyse durchgeführt. Darunter 73 Personen mit dem Genotyp CC, 201 mit Genotyp CT und 158 Untersuchte, die den Genotyp TT hatten.

Es wurde die Einteilung in Wortflüssigkeit, Flüssigkeit des Wortwechsels, Kategorien-Flüssigkeit und Flüssigkeit des Kategorienwechsels vorgenommen, wie in Tabelle 32 veranschaulicht wird.

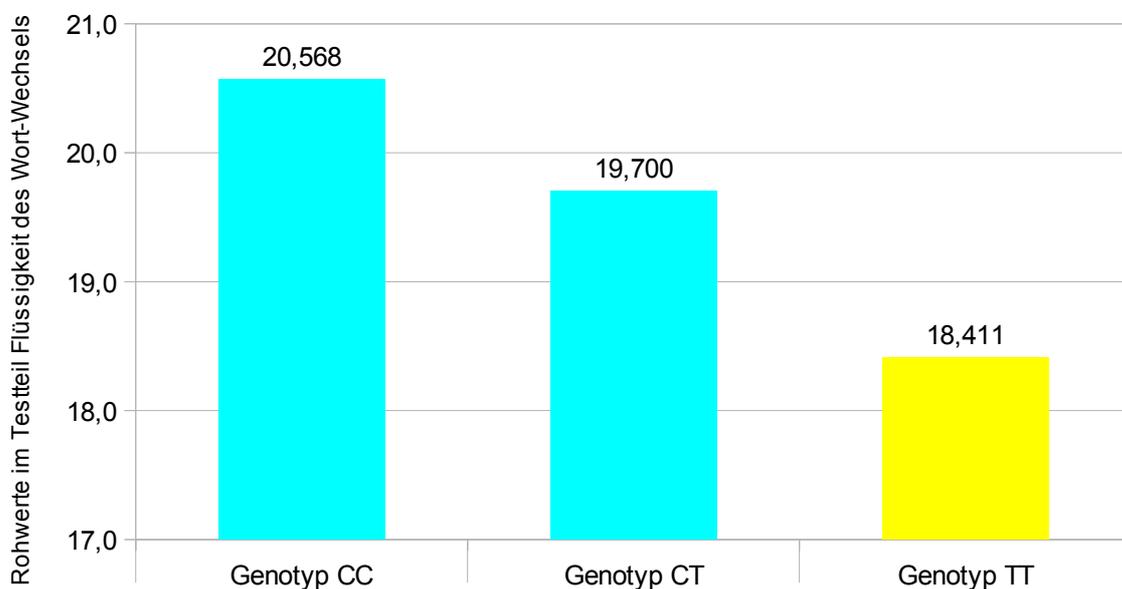
Tabelle 32: Ergebnisse der Multivarianzanalyse und Ergebnisse der vier Untertests des RWT, aufgeteilt nach den Genotypen CC, CT und TT des SNP rs802467

	F-Wert	df	p	Genotypen	Durchschnittliche Anzahl an richtigen Wörtern (n)	Standardabweichung (SD)
Fluency Words	1,171	2/832	0,311	CC	18,583	0,732
				CT	18,056	0,425
				TT	17,313	0,510
Fluency Words Switch	3,624	2/832	0,028	CC	20,568	0,711
				CT	19,700	0,413
				TT	18,411	0,496
Fluency Categories	4,212	2/832	0,015	CC	35,237	0,986
				CT	32,152	0,573
				TT	32,039	0,687
Fluency Categories Switch	6,635	2/832	0,001	CC	19,962	0,516
				CT	17,833	0,300
				TT	18,044	0,359

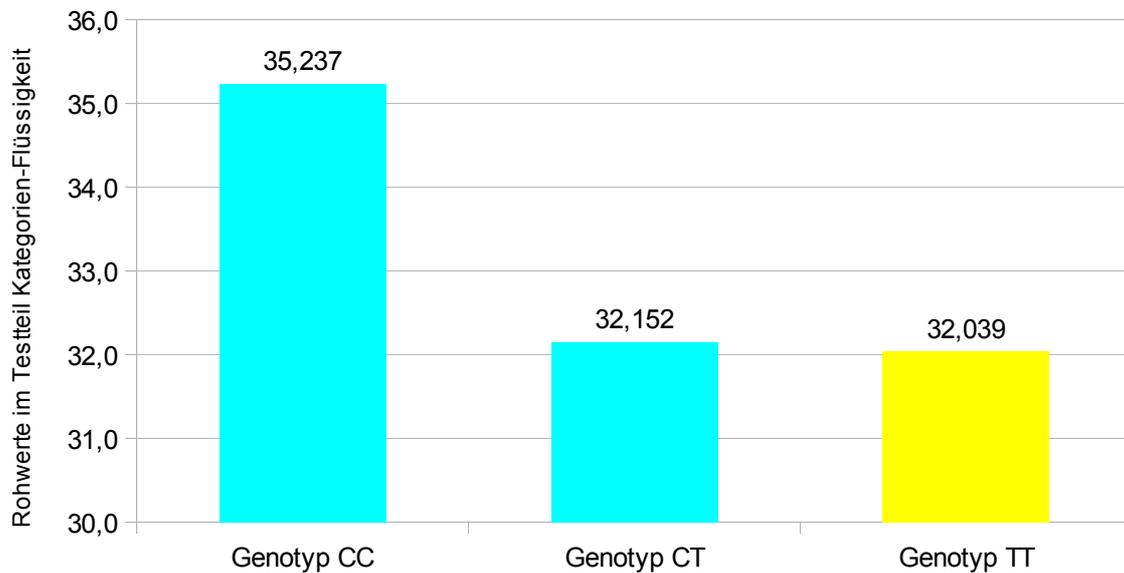
Es wurde im Hinblick auf den SNP rs802467 eine signifikant geringere Anzahl an richtigen Wörtern bei der Flüssigkeit des Wortwechsels ($p = 0,028$), bei der Kategorien-Flüssigkeit ($p = 0,015$), sowie

bei der Flüssigkeit des Kategorien-Wechsels bemerkt ($p = 0.001$). Der Testteil Wortflüssigkeit des RWT war nicht signifikant.

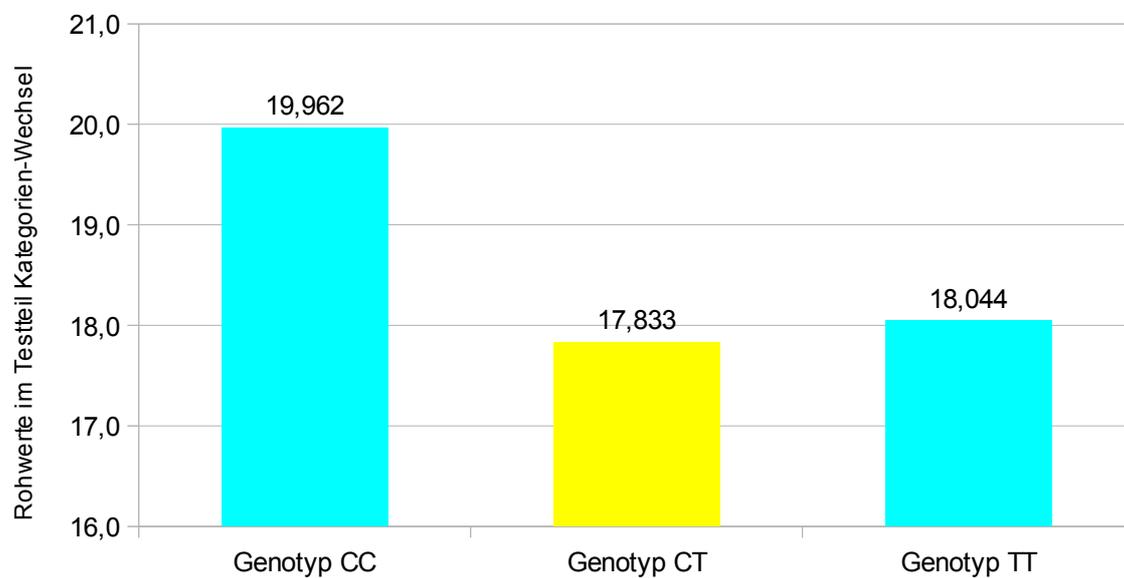
Um die Genotypen unterscheiden zu können, wurden die vier Untertests gesondert betrachtet im Bezug auf die unterschiedlichen Genotypen CC, CT und TT, wie in Tabelle 32, S. 74 und Grafik 8.1, 8.2, S.76 und 8.3, S.76 dargestellt ist.



Grafik 8.1: Darstellung der Ergebnisse (Rohwerte) im Testteil Flüssigkeit des Wort-Wechsels für die Genotypen CC, CT und TT



Grafik 8.2: Darstellung der Ergebnisse (Rohwerte) im Testteil Kategorien-Flüssigkeit für die Genotypen CC, CT und TT



Grafik 8.3: Darstellung der Ergebnisse (Rohwerte) im Testteil Kategorien-Wechsel für die Genotypen CC, CT und TT

Hier zeigte sich, dass Personen, die den Genotyp CC aufwiesen, weniger richtige Wörter sowohl bei der Aufgabenstellung Flüssigkeit des Wortwechsels, als auch bei der Kategorien-Flüssigkeit zu Protokoll geben konnten, als alle anderen Genotypen. Die Personen mit dem Genotyp CT erzielten eine geringere Anzahl an richtigen Wörtern in dem Testteil Flüssigkeit des Kategorien-Wechsels.

3.2.3.2 Allele und der Regensburger-Wortflüssigkeits-Test

Auch für den SNP rs802467 wurden gesondert die Allele C und T betrachtet. Das Ergebnis der Multivarianzanalyse ist in Tabelle 33 veranschaulicht.

Tabelle 33: Ergebnis der Multivarianzanalyse und Leistungen im RWT aufgelistet nach Allelen C und T des SNP rs802467

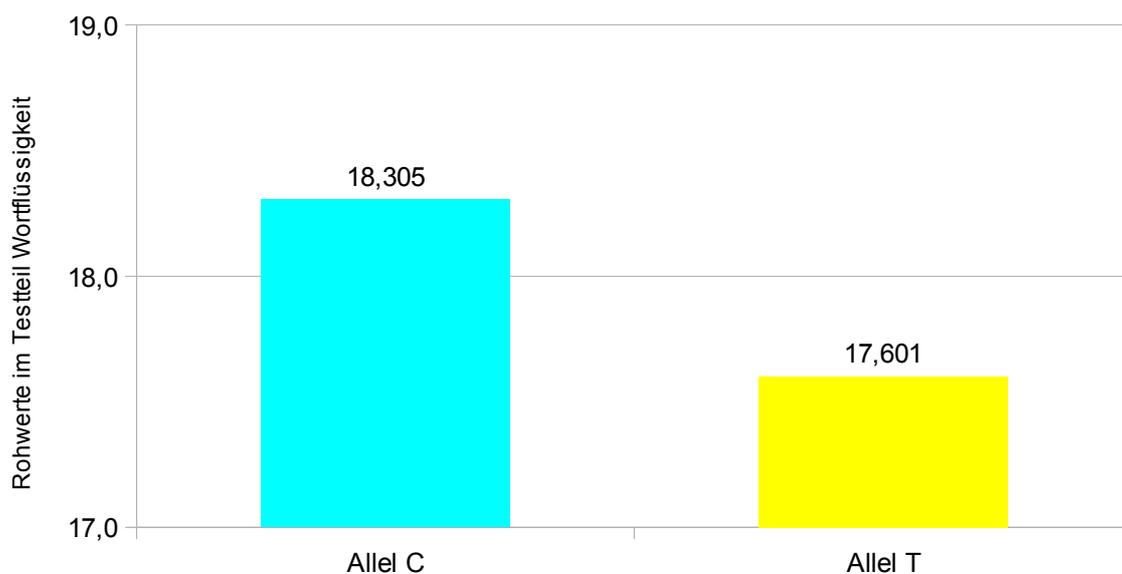
	F-Wert	df	p	Allel	Durchschnittliche Anzahl an richtigen Wörtern (n)	Standardabweichung (SD)
Fluency Words	2,769	1/851	0,096	C	18,305	0,324
				T	17,601	0,273
Fluency Words Switch	7,129	1/851	0,007	C	20,046	0,316
				T	18,942	0,266
Fluency Categories	5,548	1/851	0,019	C	33,425	0,438
				T	32,079	0,370
Fluency Categories Switch	6,231	1/851	0,013	C	18,718	0,230
				T	17,968	0,194

Auch hier konnten ein signifikante Ergebnisse verzeichnet werden in Bezug auf alle vier Testteile:

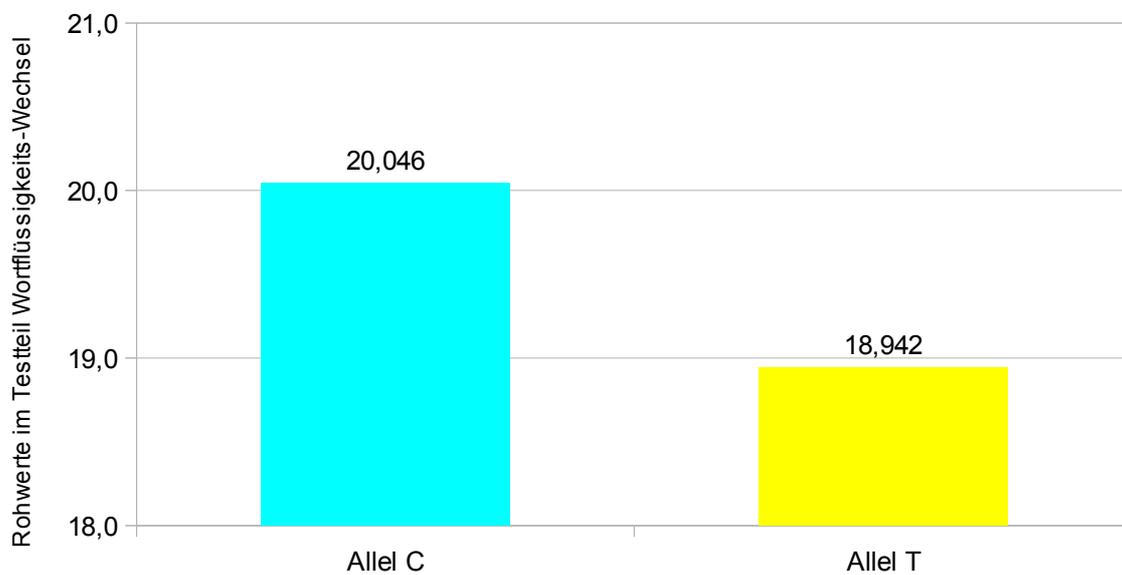
- Wort-Flüssigkeit (p = 0,096)
- Flüssigkeit des Wortwechsels (p = 0,007)
- Kategorien-Flüssigkeit (p = 0,019)
- Flüssigkeit des Kategorien-Wechsels (p = 0,013)

Es wurden in Assoziation mit dem SNP rs802467 signifikant weniger richtige Wörter zu Protokoll gegeben, wenn die Aufgabenstellung lautete, Wörter sowohl mit einem bestimmten Anfangsbuchstaben, als auch Wörter abwechselnden Anfangsbuchstaben zu nennen. Zudem würden weniger richtige Wörter genannt, bei der Aufgabe Wörter einer bestimmten Kategorie zu benennen und abwechselnd Wörter, zugehörig zu zwei abwechselnd unterschiedlichen Kategorien, aufzuzählen.

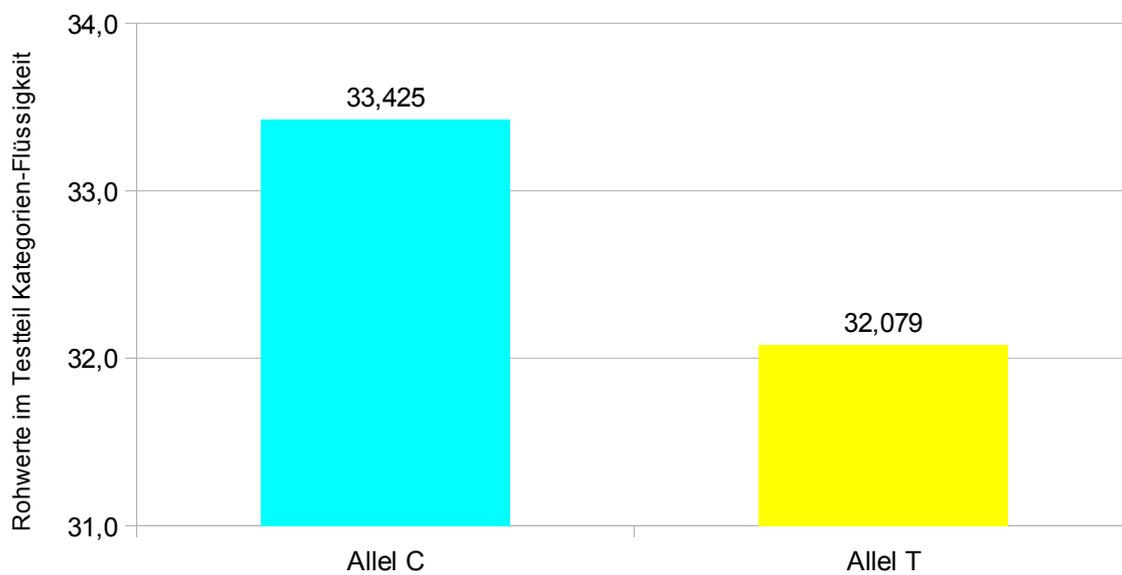
Es wurden gesondert die Leistungen in den jeweiligen Untertest betrachtet in Hinblick auf sowohl das Allel C, als auch auf das Allel T wie in Tabelle 33, S. 77 und Grafik 9.1, 9.2, 9.3 und 9.4, S. 78 ff zusammengefasst.



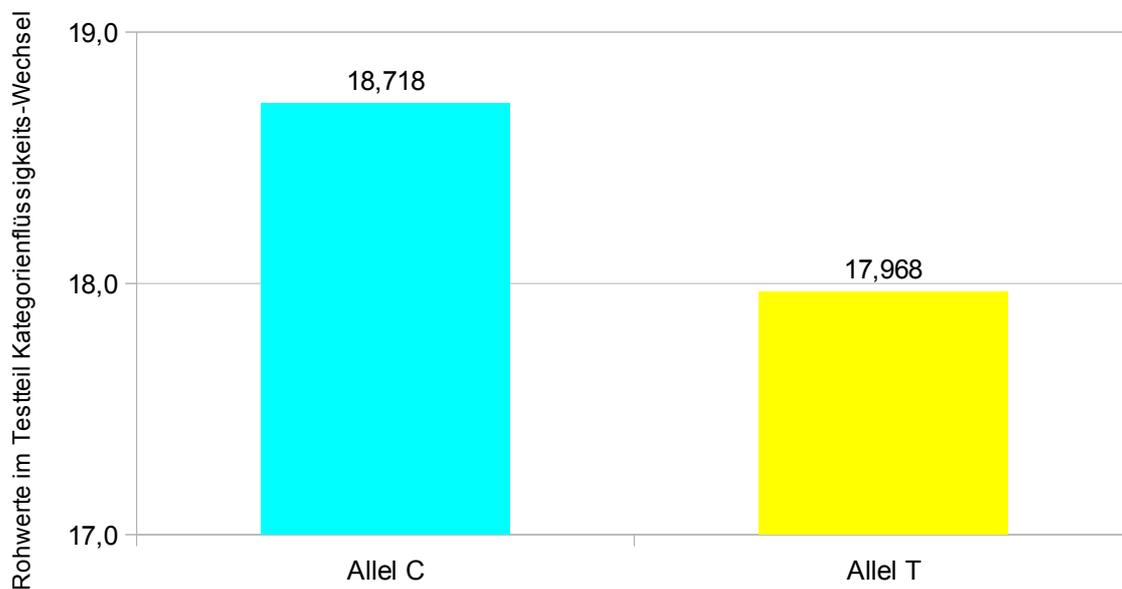
Grafik 9.1: Darstellung der Ergebnisse (Rohwerte) im Testteil Wortflüssigkeit für die Allele C und T



Grafik 9.2: Darstellung der Ergebnisse (Rohwerte) im Testteil Wortflüssigkeits-Wechsel für die Allele C und T



Grafik 9.3: Darstellung der Ergebnisse (Rohwerte) im Testteil Kategorien-Flüssigkeit für die Allele C und T



Grafik 9.4: Darstellung der Ergebnisse (Rohwerte) im Testteil Kategorienflüssigkeits-Wechsel für die Allele C und T

In allen vier Testteilen des RWT wurde eine signifikant geringere Anzahl an richtigen Wörtern wiedergegeben von Personen, die das Allel T des SNP rs802467 trugen.

Es konnten folglich sowohl der Personen mit Genotyp CT des SNP rs802467 eine geringere Anzahl an Wörtern bei der Aufgabenstellung Kategorie-Wechsel nennen, sowie Träger des Genotyps CC im Testabschnitt Wortflüssigkeits-Wechsel und Kategorien-Wechsel, als auch die Träger des Allels T in allen vier Testteilen.

4 Diskussion

4.1 Zusammenfassung und inhaltliche Interpretation der Ergebnisse

Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

Das Ziel dieser Arbeit war es zunächst, in einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie drei Polymorphismen des GRM-3 Gens auf ihren Zusammenhang mit der Schizophrenie hin zu untersuchen. Alle drei untersuchten SNPs befinden sich im Intron 1 des GRM-3 Gens auf dem langen Arm des Chromosoms 7 und liegen gemeinsam auf einem LD-Block (HapMap Project, 2011). Das GRM-3 Gen erstreckt sich von Position 86.111.166 bis 86.332.127 des Chromosoms 7, die genaue Position der SNPs ist folgende (HapMap Project, 2011):

- SNP rs13242038: 86.152.356
- SNP rs11772736: 86.153.858
- SNP rs802467 : 86.166.546

Keiner der drei untersuchten SNPs (rs13242038, rs11772736, rs802467) wies eine Assoziation mit der Schizophrenie auf. In drei Referenzstudien, deren Zielsetzung war, die Assoziation verschiedener anderer Polymorphismen des GRM-3 Gens mit der Schizophrenie zu analysieren, zeigten sich inkonsistente Ergebnisse (Chen et al., 2005; Fujii et al., 2003; Jonsson et al., 2009). Die Studien unterscheiden sich sowohl in Studiendesign, als auch hinsichtlich der untersuchten Bevölkerungsgruppen (vgl. Tabelle 34, S. 82).

In einer Studie aus dem Jahre 2010 wurde der SNP rs13242038 mit dem Ergebnis untersucht, dass schwere Geburtskomplikationen bei Vorliegen dieses Polymorphismus mit einem geringeren Hippocampusvolumen assoziiert waren, unabhängig davon, ob der Untersuchte an Schizophrenie litt oder gesund war. Ein spezieller Zusammenhang mit Schizophrenie wurde nicht festgestellt (Haukvik et al., 2010).

Tabelle 34: Überblick über die Ergebnisse der in Kandidatengenstudien und in der vorliegenden Studie untersuchten SNPs des GRM-3 Gens in Zusammenhang mit Schizophrenie ohne genomweite Studien

SNP	Chromosomale Position	Autor(en)	Ethnizität	Assoziation mit SZ		
rs187993	86101616	Jonsson et al.	Skandinavier	-		
rs802432	86122369					
rs802427	86134271					
rs13242038	86152356	Jonsson et al. Vorliegende Studie	Skandinavier Kaukasier	-		
rs11772736	86153858	Vorliegende Studie	Kaukasier	-		
rs802467	86166546					
rs1012973	86172064	Jonsson et al.	Skandinavier	-		
rs2214653	86183431			-		
rs2189812	86186935			-		
rs917071	86191717			-		
rs757656	86210820			-		
rs6943659	86233862			-		
rs6465084	86241411			-		
rs2237561	86245503			-		
rs10277739	86258176			-		
rs10234440	86258313			-		
rs2237562	86260168			Chen et al.	Chinesen	-
rs1468412	86271387			Jonsson et al.	Skandinavier	-
				Fuji et al.	Japaner	+
		Chen et al.	Chinesen	-		
rs17676277	86277676	Jonsson et al.	Skandinavier	-		
rs2299225	86285516	Chen et al.	Chinesen	+		
rs17126	86309849	Jonsson et al.	Skandinavier	-		

Fuji et al. genotypisierten im Jahr 2003 sowohl schizophrene Patienten (n = 100), als auch gesunde Probanden (n = 100) aus der japanischen Bevölkerung und untersuchten diese hinsichtlich sechs

verschiedener SNPs in der GRM-3 Region des Chromosoms 7 um eine mögliche Assoziation mit der Erkrankung nachzuweisen (Fujii et al., 2003). Diese Fall-Kontroll-Assoziations-Studie zeigte ein signifikantes Ergebnis bezüglich des SNP rs146812. Fuji et al. folgerten aus den Untersuchungsergebnissen, dass sich in der japanischen Bevölkerung mindestens ein Suszeptibilitätslocus auf dem GRM-3 Gen oder in unmittelbarer Nähe der GRM-3 Region befindet, der mit der Erkrankung Schizophrenie in Verbindung gebracht werden kann. Hinsichtlich des Studiendesigns und der Ergebnisse kann keine Übereinstimmung mit der vorliegenden Studie festgehalten werden. Die vorliegende Studie weist im Gegensatz zu der Vergleichsstudie von Fuji et al. keinen Zusammenhang eines SNPs auf dem GRM-3 Gen mit der Erkrankung nach. Ein weiterer Unterschied dieser Studien besteht in der Ethnizität der untersuchten Patienten und Probanden und in der Stichprobengröße. Fuji et al. erforschten die japanische Bevölkerung, wohingegen in der vorliegenden Studie Kaukasier untersucht wurden. Die Stichprobe aus der japanischen Bevölkerung umfasste insgesamt 200 Personen, die vorliegende Studie schloss 457 Kaukasier ein und ist somit erheblich größer.

Chen et al. knüpften 2005 an die Ergebnisse von Fuji et al. aus dem Jahre 2003 an und untersuchten eine Reihe von SNPs des GRM-3 Gens in der chinesischen Bevölkerung (Chen et al., 2005). Unter den sieben analysierten SNPs, darunter auch des SNP rs1468412, den Fuji et al. mit der Erkrankung assoziierten, stand lediglich ein SNP rs2299225 mit der Schizophrenie in Zusammenhang, die von Fuji et al. nachgewiesene Assoziation des SNP rs1468412 konnte jedoch nicht bestätigt werden. Die Gemeinsamkeit der beiden Studien besteht sowohl im Studiendesign (Fall-Kontroll-Assoziations-Studie), als auch in der Ethnizität der Bevölkerung (Asiaten), wobei Chen et al. einen möglichen genetischen Unterschied hinsichtlich der Abstammung der untersuchten Bevölkerung als Ursache der abweichenden Ergebnisse diskutieren (Chen et al., 2005). Die Stichprobengröße der Studie von Chen et al. aus dem Jahre 2005 ist mit insgesamt 1504 Personen weitaus umfangreicher, als die Größe der Studie von Fuji et al. mit insgesamt 200 eingeschlossenen Personen. Aus den Studienergebnissen folgerten Chen et al., dass sich möglicherweise mindestens ein Suszeptibilitätslocus für Schizophrenie zwischen oder nahe der Region, in der sich die SNPs rs2237562, rs1468412 und rs2299225 befinden, liegen könnte und dies weitere Untersuchungen erfordere (Chen et al., 2005). Die Tabelle 34, S.82 zeigt, dass die drei SNPs nahe beieinander auf dem Chromosom lokalisiert sind. Möglicherweise besteht eine Assoziation mit einem dazwischen

liegenden SNP, der in den bereits durchgeführten Studien nicht berücksichtigt wurde, was als Erklärung für die inkonsistente Ergebnislage in Betracht gezogen werden könnte.

Jonsson et al. analysierten 2009 neben einer Reihe anderer Suszeptibilitätsgene SNPs des GRM-3 Gens in drei voneinander unabhängigen skandinavischen Fall-Kontroll-Studien im Hinblick auf dessen Assoziation mit der Schizophrenie (Jonsson et al., 2009). Untersucht wurden erkrankte und gesunde Dänen (n = 1424), Norweger (n = 339) und Schweden (n = 547). Das Ergebnis der Studie zeigte eine signifikante Assoziation dreier SNPs des GRM-3 Gens mit der Erkrankung. Nach Korrigieren für multiples Testen zeigten sich jedoch keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Allele, Genotypen und Haplotypen zwischen Patienten und den Kontrollpersonen. Auch in der vorliegenden Studie konnten die drei untersuchten SNPs mit der Erkrankung nicht in Verbindung gebracht werden, hinsichtlich der Genotypen- und Allelverteilung wurde ebenfalls keine Signifikanz nachgewiesen. Diese Ergebnisse der skandinavischen Studie decken sich mit denen der vorliegenden Studie. Bei beiden Studien ist das Design vergleichbar, da es sich um Fall-Kontroll-Assoziations-Studien handelt, die sowohl an Schizophrenie erkrankte, als auch gesunde Personen gleicher ethnischer Abstammung beinhaltet. Die Aussagekraft der hier verglichen Studien ist hoch, da es sich in beiden Fällen um eine sehr große Stichprobe sowohl an Kontrollpersonen, als auch an Patienten handelt.

Es besteht die Möglichkeit, dass die untersuchten SNPs des GRM-3 Gens doch einen Einfluss auf die Entstehung der Schizophrenie haben und es sich um falsch negative Ergebnisse handelt. Des Weiteren ist es denkbar, dass eine indirekte Assoziation zwischen den Allelen des GRM-3 Gens und der Schizophrenie besteht, indem sie gekoppelt an mindestens ein hier nicht untersuchtes Allel vererbt werden („linkage disequilibrium“ = LD). Das *Linkage Disequilibrium* beschreibt eine Assoziation benachbarter Genorte oder Polymorphismen zueinander. Folglich zeigen Allele zweier unterschiedlicher, gekoppelter Loci die Tendenz, gemeinsam häufiger vorzukommen, als zufällig erwartet (Guttmacher et al., 2002). Die SNPs, die in den Referenzstudien signifikant mit Schizophrenie assoziiert waren, liegen nicht auf einem gemeinsamen LD-Block mit den in dieser Studie untersuchten SNPs, was als Erklärungsversuch für die unterschiedlichen Ergebnisse dienen kann. Die hier untersuchten SNPs liegen mit einer Reihe anderer SNPs des GRM-3 Gens auf einem gemeinsamen LD-Block (HapMap Project, 2011). Es ist denkbar, dass diese hier nicht untersuchten Polymorphismen möglicherweise eine Assoziation mit der Erkrankung aufweisen, was in weiteren

Studien erforscht werden sollte, um eine präzise Aussage treffen zu können. Das Verteilungsmuster des *Linkage Disequilibrium* kann innerhalb der verschiedenen Populationen differieren (Goldstein et al., 2001), was zusätzlich als Erklärung für die Inkonsistenz der Ergebnisse aus Vergleichsstudien angeführt werden kann.

Eine Assoziation des GRM-3 Gens mit der Schizophrenie kann somit nicht abschließend geklärt werden. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, welche die Assoziation von drei SNPs eines Patientenkollektivs (n = 139) und eines Probandenkollektivs (n = 318) gegenübergestellt, wiesen nicht darauf hin. Auch in GWAS konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem GRM-3 Gen und der Schizophrenie nachgewiesen werden (Jonsson et al., 2009). Es sind weitere Untersuchungen notwendig, ebenso wie vergleichbare Studien, da die inkonsistente Ergebnislage noch immer Fragen bezüglich der Assoziation des GRM-3 Gens und der Schizophrenie aufwirft. Eine Assoziation des GRM-3 Gens mit der Schizophrenie scheint jedoch nicht sehr wahrscheinlich, da derzeit mehrheitlich negative Untersuchungsergebnisse, als positive vorliegen.

Endophänotypenstudie

Die drei Varianten des GRM-3 Gens wurden in einer Endophänotypenstudie hinsichtlich ihres Einflusses auf die Wortflüssigkeit von Probanden und Patienten analysiert.

In der Endophänotypenstudie hingegen konnte für den SNP rs13242038 im Untertest Kategorien-Flüssigkeit ein Trend zur Signifikanz festgestellt werden ($p = 0,07$). Ein tendenziell schlechteres Ergebnis wurde von Personen, die den Genotyp TT hatten, erzielt. Hinsichtlich der Allele wurde ein signifikantes Ergebnis ($p = 0,048$) bei Probanden, die das Allel T aufwiesen, gezeigt.

Für den SNP rs802467 zeigte sich im Untertest Flüssigkeit des Kategorienwechsels eine signifikante Abweichung im Sinne eines schlechteren Testergebnisses für Probanden des Genotyps CT ($p = 0,001$). In den Testteilen Flüssigkeit des Wortwechsels ($p = 0,028$) und Kategorienflüssigkeit ($p = 0,015$) zeigten sich signifikant schlechtere Testergebnisse für Probanden mit dem Genotyp TT. Im Hinblick auf die Allele konnte eine signifikante Abweichung mit einem schlechteren Ergebnis bei Trägern des Allels T für den Testteil Wortflüssigkeit ($p = 0,096$), Wort-

Flüssigkeits-Wechsel ($p = 0,007$), Kategorien-Flüssigkeit ($p = 0,019$) und Flüssigkeit des Kategorienwechsels ($p = 0,013$) festgehalten werden.

Bei dem SNP rs11772736 wurde im Testteil Kategorien-Wechsel ein signifikanter Unterschied bei der Genotypverteilung gefunden ($p = 0,033$). Probanden mit dem Genotyp GT erzielten hierbei die schlechtesten Ergebnisse. Hinsichtlich der Allele konnten hingegen kein Zusammenhang mit den Testergebnissen festgestellt werden.

Folglich konnten für alle drei in dieser Studie untersuchten Polymorphismen eine Assoziation mit der Wortflüssigkeit nachgewiesen werden.

Baune et al. untersuchten 14 SNPs des GRM-3 Gens auf deren Zusammenhang mit Perseverationsfehlern bei gesunden Individuen und konnten lediglich bei einem SNP eine signifikante Assoziation feststellen (Baune et al., 2010). Da bei dieser Studie nur ein kleines Kollektiv von gesunden Probanden ($n = 98$) untersucht wurde, muss diese wissenschaftliche Aussage durch weitere Studien untermauert werden. Marengo et al. konnten hingegen bei einem ebenfalls kleinen Kollektiv ($n = 54$) von gesunden Individuen keinen Zusammenhang seines untersuchten SNPs mit der Wortflüssigkeit beobachten (Marengo et al., 2006).

Weitere Untersuchungen mit größeren Probandengruppen können künftig zur Aufklärung beitragen und es bleibt abzuwarten, inwiefern SNPs des GRM-3 Gens die Wortflüssigkeit von Probanden beeinflussen. Tabelle 35, S. 87 zeigt eine Zusammenfassung der Ergebnisse der Referenzstudien und der vorliegenden Studie bezüglich der untersuchten SNPs des GRM-3 Gens im Hinblick auf deren Assoziation mit Wortflüssigkeit.

Tabelle 35: Ergebnisse der in Referenzstudien und der **vorliegenden Studie untersuchten SNPs des GRM-3 Gens bezüglich deren Assoziation mit Wortflüssigkeit**

SNP	Chromosomale Position	Assoziation mit Wortflüssigkeit	Autor
rs701332	86115570 -	-	Baune et al.
rs802422	86131629	-	
rs802427		-	
rs13242038	86152356 -	Wortflüssigkeit gesunder und an Schizophrenie erkrankter Personen beeinträchtigt	Vorliegende Studie
rs11772736	86153858		
rs724224	86163556	-	Baune et al.
rs802467	86166546	Wortflüssigkeit gesunder und an Schizophrenie erkrankter Personen beeinträchtigt	Vorliegende Studie
rs1405875	86168009 -	-	Baune et al.
rs2214653	86271187		
rs2237547			
rs6943659			
rs982339			
rs2282965			
rs1468412			
rs17676277	86277676		
rs2237565	86293472 -	-	
rs17126	103797503		
rs6465984			
		-	Marenco et al.

4.2 Diskussion der Methoden

Gesamtzahl, Alter und ethnische Abstammung der Studienteilnehmer

Die ethnische Abstammung der Teilnehmer ist von erheblicher Bedeutung für das Ergebnis der jeweiligen Studie. Die Genotypen und die Allele sind sehr unterschiedlich in den jeweiligen Populationen anzutreffen (NCBI, 2011d). Möglicherweise ist dies ein Hinweis darauf, dass die verschiedenen Genotypen unterschiedliche Auswirkungen haben.

In der europäisch-stämmigen Population kommt beispielsweise für den SNP rs13242038 das Allel T, welche in dieser Arbeit mit den schlechtesten Leistungen in der Kategorien-Flüssigkeit assoziiert

wurde, häufiger vor, als vergleichsweise in der asiatischen und afrikanischen Bevölkerung (NCBI, 2011c).

Bezüglich des SNP rs11772736 lässt sich feststellen, dass das Allel T unter Europäern häufiger zu finden ist, als bei den Asiaten. Bei Afrikanern wurde bislang ausschließlich das Allel T beobachtet (NCBI, 2011b). Die unterschiedliche Allelverteilung kann somit die Variation an Testergebnissen in Referenzstudien möglicherweise erklären, wenn davon ausgegangen wird, dass die Allele einen Einfluss auf die Wortflüssigkeit haben. Dies bedeutet, dass die verschiedenen ethnischen Gruppen nicht im direkten Vergleich miteinander herangezogen werden können.

Bezüglich des SNP rs802467, der in dieser Arbeit mit dem Kategorien-Wechsel assoziiert wurde, wird beobachtet, dass das Allel T in der europäischen Population häufiger als bei Asiaten gefunden wird. Hinsichtlich der Verteilung des Allels T, dessen Einfluss auf den Wortflüssigkeits-Wechsel sich als relevant herausstellte, da Träger dieses Allels durchschnittlich die schlechtesten Testergebnisse erzielten, ist das Allel T unter Afrikanern im Vergleich zu Europäern häufiger zu finden (NCBI, 2011a).

Folglich sind Populationen unterschiedlicher Ethnizität nicht direkt miteinander vergleichbar, da es aufgrund der unterschiedlichen Genotyp- bzw. Allelverteilung zu falsch-positiven Ergebnissen kommen kann. Besonders anfällig für falsch-positive Ergebnisse sind Assoziationsstudien, bei denen Patienten und Kontrollen aus verschiedenen Bevölkerungsgruppen stammen (Maier et al., 1999; Owen, 2000). In die vorliegende Studie wurden ausschließlich Personen kaukasischer Abstammung einbezogen, was zur Folge hat, dass die Aussage der vorliegenden Studie auf die kaukasische Bevölkerungsgruppe beschränkt ist.

Die Möglichkeit, Risikogene mit geringem Beitrag zur Krankheitsentstehung zu identifizieren, ist als Vorteil von Assoziationsstudien zu werten. Einen experimentellen Nachteil stellt die Notwendigkeit einer großen Anzahl von Markern dar, um das menschliche Genom systematisch zu durchsuchen (Maier et al., 1999).

Das im Jahre 2002 gegründete *International HapMap Project* (HapMap, 2006) verfolgt das Ziel, die genetischen Unterschiede in verschiedenen Bevölkerungsgruppen zu detektieren und zu katalogisieren. Es handelt sich hierbei um eine Zusammenarbeit von akademischen und nicht kommerziellen Forschungsgruppen sowie Unternehmen aus Japan, Großbritannien, Kanada, China,

Nigeria und den USA, die es Forschern weltweit ermöglichen möchte, sich über die Genotypen- und Allelverteilung der unterschiedlichen Bevölkerungsgruppen kostenlos Informationen zu verschaffen. Die unterschiedliche Verteilung der Genotypen und Allele des GRM-3 Gens werden in Tabelle 36 detailliert veranschaulicht.

Tabelle 36: Genotyp- und Allelfrequenzen der Polymorphismen des GRM-3 Gens der vorliegenden Studie im Vergleich zu unterschiedlichen Populationen untersucht durch HapMap (Fortsetzung auf der folgenden Seite).

rs13242038	CC	CT	TT	C	T
Vorliegende Studie (Kaukasier) (n = 449)	0,653	0,305	0,042	0,805	0,195
HapMap-CEU Einwohner aus Utah, USA mit Vorfahren aus Nord- und Westeuropa (n = 118)	0,576	0,390	0,034	0,771	0,229
HapMap-HCB Han Chinesen aus Beijing, China (n = 90)	0,867	0,133	-	0,933	0,067
HapMap-JPT Japaner aus Tokio (n = 90)	0,889	0,089	0,022	0,933	0,067
HapMap-YRI Yoruba aus Ibadan, Nigeria (n = 120)	0,650	0,333	0,017	0,817	0,183

rs11772736	GG	GT	TT	G	T
Vorliegende Studie (Kaukasier) (n = 457)	0,094	0,468	0,438	0,328	0,672
HapMap-CEU Einwohner aus Utah, USA mit Vorfahren aus Nord- und Westeuropa (n = 120)	0,100	0,417	0,483	0,308	0,692
HapMap-HCB Han Chinesen aus Beijing, China (n = 88)	0,455	0,500	0,045	0,705	0,295
HapMap-JPT Japaner aus Tokio (n = 90)	0,422	0,467	0,111	0,656	0,344
HapMap-YRI Yoruba aus Ibdan, Nigeria (n = 120)	-	-	1,000	-	1,000

rs802467	CC	CT	TT	C	T
Vorliegende Studie (Kaukasier) (n = 432)	0,169	0,465	0,366	0,402	0,598
HapMap-CEU Einwohner aus Utah, USA mit Vorfahren aus Nord- und Westeuropa (n = 224)	0,116	0,571	0,312	0,402	0,598
HapMap-HCB Han Chinesen aus Beijing, China (n = 84)	0,571	0,405	0,024	0,774	0,226
HapMap-JPT Japaner aus Tokio (n = 90)	0,578	0,378	0,044	0,767	0,233
HapMap-YRI Yoruba aus Ibdan, Nigeria (n = 226)	0,133	0,496	0,372	0,381	0,619

Eine Assoziation des GRM-3 Gens mit der Schizophrenie konnten einerseits asiatische Studien (Chen et al., 2005; Fujii et al., 2003), andererseits aber auch Studien mit Kaukasiern (Nicodemus et al., 2007) und größtenteils europäisch-stämmigen Amerikanern bestätigen (Egan et al., 2004).

In anderen Studien mit japanischen Teilnehmern (Albalushi et al., 2008; Nunokawa et al., 2008; Tochigi et al., 2006) konnte kein Zusammenhang des GRM-3 Gens mit der Erkrankung festgestellt werden, ebenso wie in Studien mit kaukasischen Teilnehmern (Marti et al., 2002; Norton et al., 2005) und Skandinaviern (Jonsson et al., 2009). In der vorliegenden Studie konnte keiner der drei untersuchten SNPs des GRM-3 Gens mit Schizophrenie assoziiert werden.

Unterschiede in der Genotypen- und Allelverteilung sind eine mögliche Erklärung für die bislang inkonsistente Ergebnislage. Bei allen genannten Studien wurden andere Polymorphismen des GRM-3 Gens, als in der vorliegenden Arbeit, untersucht. Daher sind sie auch nicht direkt im Vergleich zu bewerten. Dennoch spiegeln auch sie die abweichenden Ergebnisse wieder. Folglich wäre es sinnvoll, ethnisch homogenere Gruppen mithilfe von Studien, die dieselben SNPs des GRM-3 Gens untersuchen, miteinander zu vergleichen.

Möglicherweise lassen sich die inkonsistenten Ergebnisse auch durch die unterschiedliche Anzahl an Teilnehmern erklären, die ebenso bedeutend wie eine ethnische Heterogenität ist. Für die statistische Aussagekraft einer Studie ist die Anzahl der teilnehmenden Probanden von Bedeutung. Die Stichprobe der vorliegenden Studie umfasste insgesamt 457 Teilnehmer, darunter 139 Patienten und 318 Kontrollprobanden. Im Vergleich zu anderen Studien mit überwiegend größeren Stichproben ist diese Studie als relativ klein anzusehen. Dieser Stichprobenumfang ist dennoch ausreichend, um eine aussagekräftige Statistik über die Assoziation der untersuchten Marker mit der Schizophrenie zu erzielen.

Das Alter der Kontrollprobanden spielt ebenso eine Rolle. Das typische Erkrankungsalter bei Schizophrenie liegt zwischen dem 22. und dem 32. Lebensjahr (Hafner et al., 1999). Werden Patienten im Vergleich zu Kontrollen, die unterhalb dieser Altersgrenze liegen, betrachtet, besteht die Möglichkeit, dass bei diesen Probanden der Erkrankungsbeginn erst noch bevor steht. Folglich würden potentielle Patienten mit bereits erkrankten Personen verglichen werden, was das Ergebnis verfälschen würde.

Die für diese Studie rekrutierten Kontrollprobanden waren im Alter zwischen 22 und 74 Jahren. Trotz eingehender Exploration vor Testbeginn ist nicht gänzlich auszuschließen, dass ein zum Untersuchungszeitpunkt als gesund befundenes Individuum mit eventuell späterem

Krankheitsbeginn jenseits des 22. Lebensjahres, in das Kontrollprobandenkollektiv eingeschlossen wurde. Die Anzahl der unter 32-jährigen ist gemessen an der Stichprobengrösse insgesamt gering. Bei einer Prävalenz von 1% (WHO, 2012) ist die Anzahl der zufällig eingeschlossenen Personen, die später einen Erkrankungsausbruch erleiden so gering, dass bei einer polygenen Erkrankung kein Effekt sichtbar wird.

Bei der vorliegenden Endophänotypenstudie wurde keine Unterscheidung zwischen Patientenkollektiv und gesunden Probanden vorgenommen. Auch das Alter und ein möglicherweise noch bevorstehender Krankheitsausbruch spielen eine Rolle und wurden deshalb für diesen Teil der vorliegenden Studie als Kovariate verwendet.

Um jedoch das Risiko eines möglicherweise noch bevorstehenden Krankheitsausbruchs im Hinblick auf die Fall-Kontroll-Assoziationsstudie zu minimieren, wurden verschiedene Untersuchungsinstrumente angewandt, die in Folgenden genauer diskutiert werden.

Diagnoseverfahren und Auswahlkriterien

Zur Klassifikation wurde innerhalb dieser Studie die Einteilung nach den DSM-IV-Kriterien angewandt. Sie ist in der psychiatrischen Forschung weit verbreitet, da sie sehr präzise formuliert ist und strenge Richtlinien vorgibt (Giegling et al., 2008). In vergleichbaren Studien, in denen eine Assoziation des GRM-3 Gens mit der Schizophrenie untersucht wurde, kam ebenfalls die DSM-IV Klassifikation zur Anwendung (Albalushi et al., 2008; Chen et al., 2005; Jonsson et al., 2009; Nicodemus et al., 2007; Norton et al., 2005; Nunokawa et al., 2008; Tochigi et al., 2006).

Der SKID 1 und 2 ist ein geeignetes und in zahlreichen Schizophrenie-Studien angewandtes Untersuchungsinstrument, um sowohl Patienten (Barak et al., 2003; Fresan et al., 2007; McGirr et al., 2006; Placentino et al., 2007; Torchalla et al., 2004), als auch Kontrollprobanden (Arajärvi et al., 2006) zu explorieren.

Des Weiteren wurden die Probanden nicht nur in der Anamnese zu psychiatrischen Erkrankungen sowohl ihrer selbst, als auch in der Familie befragt, sondern zusätzlich mithilfe von SKID, LEBI

und FHAM (Rice et al., 1995; Richter et al., 1996; Wittchen, 1997) gescreent. So kann davon ausgegangen werden, dass das Probandenkollektiv möglichst gesund ist.

In der zum Vergleich herangezogenen Studie von Marti et al. wurden die Probanden nicht professionell mithilfe von psychiatrischen Untersuchungsinstrumenten gescreent, lediglich hinsichtlich der psychiatrischen Vorgeschichte ihrer selbst und ihrer Verwandten ersten Grades befragt, was wiederum die Vergleichbarkeit der Ergebnisse erschwert (Marti et al., 2002).

Bei dem Patientenkollektiv wurde darauf geachtet, dass es sich um keine substanzinduzierte, nichtorganische oder organische Störung handelte, um die Studienergebnisse nicht zu verfälschen und eine gemeinsame Grundlage zu schaffen.

Um bei dem teilnehmenden Patienten zusätzlich die Diagnose Schizophrenie abzusichern und die Ausprägung der Positiv- und Negativsymptomatik zu erfassen, wurde die PANSS (Kay et al., 1987) eingesetzt. Somit wurde ausgeschlossen, dass eine Störung des schizophrenen Spektrums in das Kollektiv der Schizophreniepatienten eingeschlossen wurde. Diese Abgrenzung ist nicht leicht, da die Schizophrenie durch ein sehr heterogenes Krankheitsbild gekennzeichnet ist. Van Praag geht sogar davon aus, dass es sich bei schizophrenen Psychosen um eine eigene Krankheitsentität handelt und nicht um eine Form der Schizophrenie (van Praag, 1976). Nicodemus et al. bezogen in die Studie nicht nur Schizophrene ein, sondern auch Patienten mit schizoaffektiven Störungen, nicht näher bezeichneten Psychosen, wahnhaften Störungen und schizoider, schizotypischer oder paronoider Persönlichkeitsstörung (Nicodemus et al., 2007). Egan et al. integrierten in das Patientenkollektiv auch Patienten mit Störungen des schizophrenen Spektrums (Egan et al., 2004), ebenso Jonsson et al., die schizophrene Patienten und andere ähnliche Psychosen einschlossen (Jonsson et al., 2009). Daraus resultiert zwar einerseits eine größere Patientengruppe, andererseits werden dadurch die Ergebnisse möglicherweise beeinflusst und sind nicht mehr exakt differenzierbar. Aus diesem Grund sollte eine Gegenüberstellung dieser Ergebnisse mit der vorliegenden Studie kritisch betrachtet werden.

Sowohl Patienten, als auch Kontrollen wurden stufenweise rekrutiert und mithilfe von Fragebögen wie FHAM, LEBI und einer ausführlichen Anamnese detailliert zu ihrer Lebens- und Krankengeschichte befragt, um eventuell vorliegende Ausschlusskriterien zu identifizieren und eine möglichst homogene Gruppe zu erhalten. Um eine gültige statistische Aussage treffen zu können,

postuliert Gaus eine möglichst gleiche Struktur der zu vergleichenden Gruppen (Gaus, 1991). Es müssen gleich strukturierte Gruppen miteinander verglichen werden, um eine statistische Vergleichbarkeit zu gewährleisten.

Da die Erkrankung Schizophrenie in den jeweiligen Referenzstudien mittels unterschiedlicher Kriterien diagnostiziert wurde, wird ein Vergleich zwischen Studien, die die Assoziation mit dem GRM-3 Gen bestätigen und Studien, die diese Ergebnisse nicht bestätigen können, erheblich erschwert. Zudem ist die Erkrankung multifaktoriell bedingt und nach heutigem Erkenntnisstand polygen beeinflusst (Andreasen, 2000; Owen, 2000), was eine Identifikation eines einzelnen Gens oder Polymorphismus sehr unwahrscheinlich erscheinen lässt. Vermutlich tragen bei unterschiedlichen Patienten jeweils unterschiedliche Gene zur Krankheitsentstehung bei, was ebenfalls ein Erklärungsversuch für die inkonsistenten Ergebnisse der verschiedenen Studien darstellt.

Es gilt zu beachten, dass sich der Einfluss eines einzigen Gens unter anderem auf mehrere Bereiche der Kognition erstrecken kann und viele kognitive Fähigkeiten miteinander interagieren. Zudem ist es möglich, dass nicht das untersuchte Allel an sich Einfluss auf die Erkrankung oder kognitive Fähigkeit nimmt, sondern dieses Allel mit einem anderen Schizophrenie- oder Wortflüssigkeitsrelevanten Merkmal gekoppelt vererbt wird (Goldberg et al., 2004).

Diagnostik neuropsychologischer Endophänotypen

In der vorliegenden Studie wurde zur Beurteilung der kognitiven Fähigkeit Wortflüssigkeit der RWT eingesetzt (Aschenbrenner et al., 2000). Werden die Güte- und Objektivitätskriterien dieses Tests betrachtet, kann davon ausgegangen werden, dass es sich um eine valides, objektives und ausreichend reliables Messinstrument handelt. Der Test wurde standardisiert durchgeführt und sowohl die Korrektur, als auch die Dateneingabe wurden von einer zweiten Person kontrolliert, um optimal objektive Ergebnisse zu erhalten und um Fehler seitens der Untersucher möglichst zu minimieren. In den Referenzstudien wurde die Wortflüssigkeit mithilfe von Buchstaben (Egan et al., 2004), des Mehrfachwahl-Wortschatz-Intelligenztests MWTB IQ (Baune et al., 2010) und mithilfe von Wörtern und Kategorien (Marenco et al., 2006) beurteilt.

Innerhalb eines bestimmten Tests können die Ergebnisse als vergleichbar angesehen werden, da der jeweilige Test für sich ein standardisiertes Verfahren zur Datenerhebung darstellt. Jedoch können beim Vergleich unterschiedlicher Testverfahren nicht einheitliche Normierungs-Skalen zugrunde liegen, sowie unterschiedliche Objektivitäts- und Gütekriterien, was wiederum zu nicht einheitlichen Auswertungen und Ergebnissen der verschiedenen Tests führt, einen direkten Vergleich der erhobenen Daten erschwert und die Inkonsistenz der Ergebnisse erklären kann. Zusätzlich ist zu beachten, dass die Verwendung unterschiedlicher Testbausteine in anderen Tests andere Gehirnregionen aktiviert und die dort vorhandene Regulation beeinflusst, wodurch wiederum ein direkter Vergleich von uneinheitlichen Testverfahren zur Wortflüssigkeit nicht sinnvoll ist.

Alle drei Referenzstudien untersuchten Personen kaukasischer Abstammung. Zwei der Studien bezogen sich auf Patienten, die dritte betrachtete gesunde Probanden im Vergleich zu Patienten (vgl. Tabelle 37).

Tabelle 37: Daten der Referenzstudien bezüglich der Assoziation von Wortflüssigkeit und des GRM-3 Gens

	Anzahl der Kontrollen	Anzahl der Patienten	Ethnizität	Assoziation der Wortflüssigkeit mit GRM-3 Gen ja/nein
Egan et al.	136	217	6,3 % afrikanische Amerikaner und 89,8% europäisch-stämmige Amerikaner	ja
Baune et al.	97	-	Kaukasier	ja
Marenco et al.	54	-	Europäisch-stämmige kaukasische Amerikaner	nein
Vorliegende Studie	318	139	Kaukasier	ja

Eine vergleichbare Studie, die die Wortflüssigkeit von Patienten und Kontrollen gleichermaßen mit dem GRM-3 Gen assoziiert, liegt derzeit nicht vor. Somit lassen sich die Ergebnisse nicht direkt mit der aktuell vorliegenden Studie abgleichen. Es handelt sich bei der vorliegenden Studie um eine mit

insgesamt 457 untersuchten Personen um eine relativ grosse Stichprobe, bei der eine hohe Aussagekraft angenommen werden kann.

In den angeführten Referenzstudien wurde eine Assoziation von Polymorphismen des GRM-3 Gens mit Wortflüssigkeit gefunden, in der vorliegenden Studie hingegen bezieht sich diese Assoziation auf ein Gesamtkollektiv aus Patienten und Gesunden, was darauf hinweist, dass Variationen im GRM-3 Gen möglicherweise mit dem Phänotyp Wortflüssigkeit in Verbindung stehen und weniger mit der Erkrankung Schizophrenie.

4.3 Ausblick auf zukünftige Untersuchungen

Bislang sind die spezifischen genetischen Einflüsse auf die Schizophrenie noch wenig bekannt. Es gilt aber als gesichert, dass eine starke genetische Komponente existiert. Wie sich diese jedoch gestaltet, ist weitgehend unbekannt. Das Ziel vieler Untersuchungen ist es, die pathogenetischen Faktoren, die zur Entstehung der Erkrankung beitragen detailliert zu erforschen, was sich bei einer vielgestaltigen Erkrankung als äußerst schwierig erweist. Die Schizophrenie unterliegt einer Reihe von exogenen und endogenen Einflüssen, die zusätzlich möglicherweise gegenseitig interagieren. Auch das Erkrankungsbild ist von Patient zu Patient unterschiedlich, so dass in letzter Zeit Überlegungen bezüglich einer Überarbeitung der gängigen Einteilung der Schizophrenie angestellt wurden (Möller, 2009).

Viele frühere Untersuchungen deuten auf einen Zusammenhang des GRM-3 Gens mit der Entstehung der Schizophrenie hin, welcher für die in dieser Studie untersuchten Polymorphismen nicht bestätigt werden konnte.

Der Einfluss eines einzelnen Polymorphismus auf die Entstehung einer komplexen Erkrankung sowie auf die Wortflüssigkeit ist möglicherweise quantitativ gering und wird erst in Wechselwirkung mit anderen SNPs deutlich. In den benannten Referenzstudien wurden jedoch analog zu der vorliegenden Studie isoliert einzelne Marker innerhalb des GRM-3 analysiert.

Die drei untersuchten SNPs rs13242038, rs11772736 und rs802467 konnten mit der kognitiven Domäne Wortflüssigkeit bei Kontrollen und Patienten in Verbindung gebracht werden. Nun stellt sich die Frage, ob eventuell auch andere Polymorphismen des GRM-3 Gens im Zusammenhang mit

dem Phänotyp Wortflüssigkeit stehen. Die vorliegende Studie sowie die Referenzstudien untersuchten ausschließlich Kaukasier. Es wäre interessant, vergleichbare Studien in anderen ethnischen Bevölkerungsgruppen durchzuführen, um diese dann mit den vorliegenden Ergebnissen vergleichen und Unterschiede eruieren zu können.

Ein eindeutiger molekulargenetischer Nachweis für einen Einfluss des GRM-3 Gens auf die Wortflüssigkeit konnte bis dato nicht erbracht werden. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie stellen dennoch einen interessanten Ausgangspunkt für zukünftige Forschungsprojekte mit möglichst großen Stichproben dar, um möglicherweise eine Assoziation des GRM-3 Gens bestätigen zu können. Insbesondere ist es notwendig, die funktionellen Zusammenhänge, beispielsweise durch Untersuchung funktioneller SNPs oder Signaltransduktionsweg-Analysen (*Pathway*-Analysen) näher zu betrachten.

5 Zusammenfassung

Die Schizophrenie ist eine schwerwiegende psychische Erkrankung, an der circa 1% der Bevölkerung leidet. Auf den Erkrankungsausbruch wirken multiple Einflussfaktoren, wobei exogen eine große Bandbreite nachgewiesen wurde. Als Schwerpunkt ist die endogene, genetische Komponente anzusehen, die jeden Betroffenen individuell für den Krankheitsausbruch prädisponiert. Auf der Suche nach den verantwortlichen molekulargenetischen Faktoren konnten bislang mehrere risikomodulierende Genloci identifiziert werden, das jeweilig übertragene Risiko ist unbekannt. Die Auswirkung einzelner Gene ist gering, doch wirken mehrere Gene mit vielerlei exogenen Faktoren zusammen, die genauen Entstehungsmechanismen sind noch ungeklärt.

Einen Grund für die uneinheitlichen Ergebnisse vergangener Studien können Unterschiede in der Ethnizität der Probanden und die Heterogenität der klinisch-psychiatrischen Diagnose Schizophrenie darstellen. Das Konzept der Endophänotypen wurde entworfen, um ätiologisch einheitlichere Untergruppen hervorzubringen. Endophänotypen sind zeitlich betrachtet stabile, durch spezifische und standardisierte Tests quantitativ messbare neurobiologische Krankheitskorrelate, deren Ätiologie homogener und deren genetische Determination weniger komplex gestaltet ist, als die der klinischen Krankheitsphänotypen.

Der Schwerpunkt aktueller Forschungen sowie das Ziel der vorliegenden Studie liegt in der Suche nach möglichen Suszeptibilitätsgenen, die helfen sollen, die Pathogenese der Erkrankung zu entschlüsseln, um möglicherweise präventive Strategien herauszuarbeiten, die Erkrankung früher diagnostizieren zu können oder neue Therapiestrategien zu entwickeln.

Das auf Chromosom 7 lokalisierte GRM-3 Gen reguliert gekoppelt an G-Proteine die Glutamatlevel in Synapsen und konnte bisher in Fall-Kontroll-Studien mit der Schizophrenie in Verbindung gebracht werden. Ein Ungleichgewicht zwischen Glutamat und Dopamin im Organismus konnte in vielen Untersuchungen mit der Krankheitsentstehung assoziiert werden.

In dieser Arbeit konnte mithilfe einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie mit 139 Patienten und 318 Kontrollen für die SNPs rs13242038, rs11772736 und rs802467 des GRM-3 Gens ein Zusammenhang mit der Schizophrenie nicht bestätigt werden. Durch eine Endophänotypenstudie konnte festgestellt werden, dass diese drei untersuchten Polymorphismen jedoch Einfluss auf die Wortflüssigkeit von Probanden und Patienten haben könnten. Die Ergebnisse weichen teilweise von den Vergleichsstudien ab, weshalb es weiterer unabhängiger Studien bedarf, um eine Assoziation des GRM-3 Gens mit Schizophrenie und Wortflüssigkeit abzuklären.

6 Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Erläuterung
A	Adenosin
AMPA	α -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazolepropionic-Acid
ANA-1	Anamnese 1
ANA-2	Anamnese 2
AV	Abhängige Variable
C	Cytosin
CI	Confidential Interval / Sicherheitsinterwall
cM	Centimorgan
df	Degrees of Freedom (Freiheitsgrade)
ddNTPs	Didesoxynukleotidtriphosphate
dNTPs	Desoxynukleotidtriphosphate
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fourth Edition
DSM-V	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fifth Edition
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
F	F-Wert, Fischer-Verteilung
FHAM	Family History Assessment Module
G	Guanin
GRM-3	Glutamate Receptor Metabotropic 3
GWAS	Genomweite Assoziationsstudie
gDNA	Genomische Desoxyribonukleinsäure
HAWIE-R	Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991
HCl	Salzsäure
H ₂ O	Wasser

Abkürzung	Erläuterung
HWE	Hardy-Weinberg-Equilibrium
ICD-10	International Classification of Diseases, Tenth Edition
ICD-11	International Classification of Diseases, eleventh Edition
IQ	Intelligenzquotient
KA	Kainat
kDA	Kilodalton
LEBI	Leibziger Ereignis- und Belastungsinventar
LMU	Ludwig-Maximilian-Universität
MALDI-TOF MS	Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation Time Of Flight Mass Spectrometry
MANOVA	Multivariate Analyse der Varianz
MATRICES	Measurement and Treatment Research to Improve Cognition in Schizophrenia
mbar	Millibar
MCCB	MATRICES Consensus Cognitive Battery
mg	Milligramm
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
MHC	Major Histocompatibility Complex
ml	Milliliter
mM	Millimol
MMST	Mini-Mental-Status-Test
MRS	Magnet Resonanz Spektroskopie
MRT	Magnet Resonanz Tomographie
NAA	N-acetylaspartat
NCBI	National Center for Biotechnology Information
ng	Nanogramm
NIMH	the National Institutes of Mental Health
nM	Nanomol
nm	Nanometer

Abkürzung	Erläuterung
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
OR	Odds Ratio
p	Pearson
p-Wert	Signifikanz
PANSS	Positive And Negative Syndrome Scale
PCP	Phencyclidin ("angel dust")
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polymerasekettenreaktion)
RNA	Ribonukleinsäure
rpm	rounds per minute; Umdrehungen pro Minute
RWT	REgensburger-Wortflüssigkeits-Test
SAP	Shrimp Alkaline Phosphatase
SBE	Single Base Extension
SD	Standardabweichung
SKID	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV
SKID-F	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV Forschungsversion
SKID-K	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV Klinikversion
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
SZ	Schizophrenie
T	Thymin
TAQ	Thermophilus aquaticus
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan, Trometamol
UV	Unabhängige Variable
λ (lambda)	Wellenlänge
μM	Mikromol
μl	Mikroliter
μs	Mikrosekunde
WHO	Weltgesundheitsorganisation (World Health Organisation)

7 Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde in der Psychiatrischen Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München durchgeführt, dafür danke ich Herrn Prof. Dr. P. Falkai als dem Leiter dieser Klinik und Herrn Prof. Dr. H.-J. Möller als dem ehemaligen Klinikleiter.

Besonders danken möchte ich Herrn Prof. Dr. D. Rujescu und natürlich Frau Dr. rer. biol. hum. I. Giegling für die Auswahl und Vergabe des Themas, die Möglichkeit zur Durchführung dieser Arbeit in Herrn Prof. Dr. Rujescus Forschungsgruppe sowie ihre Betreuung, insbesondere aber auch für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung meiner Ergebnisse und bei der Korrektur.

Bei Frau Dr. rer. biol. hum. A. Hartmann möchte ich mich für die kompetente Unterstützung bezüglich des Laborteils und die hilfreichen Hinweise im Rahmen der Korrektur meiner Arbeit herzlich bedanken.

Besonderer Dank geht an Frau Dr. rer. biol. hum. Heike Konnerth für eine gründliche Einführung in die in dieser Arbeit angewandten Diagnose-Instrumente und dafür, dass sie für jede Frage und jeden Zweifel auch unter größtem Druck ein offenes Ohr hat.

Ein herzlicher Dank für die Zusammenarbeit während des praktischen Teils der Dissertation geht auch an alle Kolleginnen und Kollegen der Arbeitsgruppe Molekulare und Klinische Neurobiologie.

Mein ganz besonderer Dank gilt allen Patienten und Probanden, die an dieser Studie teilgenommen haben und diese Arbeit somit erst ermöglicht haben.

Bei meiner Familie bedanke ich mich für die finanzielle Unterstützung, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre, und insbesondere bei meinem Freund Christian für die kompetente Beratung in allen computertechnischen Fragen sowie für seine uneingeschränkte Unterstützung und Geduld. Besonders herzlich möchte ich an dieser Stelle bei meiner Freundin und Kollegin Dr. med. dent. Myrthe Eckart danken, sowohl für die stets verlässliche und kompetente Unterstützung während des Studiums, als auch für die moralische Unterstützung bei der Dissertation.

8 Eidesstattliche Erklärung

Sara Maria Karin Vogl, geboren am 22.10.1982 in München

Ich erkläre hiermit an Eides statt,
das ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

„Der Einfluss von Polymorphismen des GRM3-Gens auf die Schizophrenie und Endophänotypen“

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche erkenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Ort, Datum

Unterschrift Doktorandin

9 Literaturverzeichnis

- Aalto, S., Ihalainen, J., Hirvonen, J., Kajander, J., Scheinin, H., Tanila, H., Nagren, K., Vilkmann, H., Gustafsson, L. L., Syvalahti, E., & Hietala, J. (2005). Cortical glutamate-dopamine interaction and ketamine-induced psychotic symptoms in man. *Psychopharmacology (Berl)*, *182*(3), 375-383.
- Abbott Diagnostics. (2011, 22.07.2011). Laborlexikon. from <http://www.laborlexikon.de/Lexikon/Infoframe/c/Chromosomen-Analyse.htm>
- Akhondzadeh, S., Safarcherati, A., & Amini, H. (2005). Beneficial antipsychotic effects of allopurinol as add-on therapy for schizophrenia: a double blind, randomized and placebo controlled trial. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, *29*(2), 253-259.
- Albalushi, T., Horiuchi, Y., Ishiguro, H., Koga, M., Inada, T., Iwata, N., Ozaki, N., Ujike, H., Watanabe, Y., Someya, T., & Arinami, T. (2008). Replication study and meta-analysis of the genetic association of GRM3 gene polymorphisms with schizophrenia in a large Japanese case-control population. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, *147*(3), 392-396.
- Aleman, A., Kahn, R. S., & Selten, J. P. (2003). Sex differences in the risk of schizophrenia: evidence from meta-analysis. *Arch Gen Psychiatry*, *60*(6), 565-571.
- Allen, N. C., Bagade, S., McQueen, M. B., Ioannidis, J. P., Kavvoura, F. K., Khoury, M. J., Tanzi, R. E., & Bertram, L. (2008). Systematic meta-analyses and field synopsis of genetic association studies in schizophrenia: the SzGene database. *Nat Genet*, *40*(7), 827-834.
- Andreasen, N. C. (2000). Schizophrenia: the fundamental questions. *Brain Research Reviews*, *31*(2-3), 106-112.
- Andreasen, N. C., & Olsen, S. (1982). Negative v positive schizophrenia. Definition and validation. *Arch Gen Psychiatry*, *39*(7), 789-794.
- APA – American Psychiatric Association (Ed.). (2000). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders – DSM-IV-TR (4th edition, Text Revision)*. Washington DC: American Psychiatric Association.
- Arajärvi, R., Ukkola, J., Haukka, J., Suvisaari, J., Hintikka, J., Partonen, T., & Lonnqvist, J. (2006). Psychosis among "healthy" siblings of schizophrenia patients. *BMC Psychiatry*, *6*, 6.
- Aschenbrenner, D.-P. S., Tucha, D. O., & Lange, P. D. K. W. (2000). *Regenburger Wortflüssigkeits-Test (RWT)*. Göttingen.

- Balog, Z., Kiss, I., & Keri, S. (2011). ZNF804A may be associated with executive control of attention. *Genes Brain Behav*, 10(2), 223-227.
- Barak, Y., & Cohen, A. (2003). Characterizing the elderly homeless: a 10-year study in Israel. *Arch Gerontol Geriatr*, 37(2), 147-155.
- Baune, B. T., Suslow, T., Beste, C., Birosova, E., Domschke, K., Sehlmeier, C., & Konrad, C. (2010). Association between genetic variants of the metabotropic glutamate receptor 3 (GRM3) and cognitive set shifting in healthy individuals. *Genes Brain Behav*, 9(5), 459-466.
- Bleuler, E. (1911). *Dementia praecox oder Gruppe der Schizophrenien*.
- Boison, D., Singer, P., Shen, H. Y., Feldon, J., & Yee, B. K. (2011). Adenosine hypothesis of schizophrenia - Opportunities for pharmacotherapy. *Neuropharmacology*.
- Boog, G. (2004). Obstetrical complications and subsequent schizophrenia in adolescent and young adult offsprings: is there a relationship? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 114(2), 130-136.
- Boydell, J., Van Os, J., Lambri, M., Castle, D., Allardyce, J., McCreadie, R. G., & Murray, R. M. (2003). Incidence of schizophrenia in south-east London between 1965 and 1997. *Br J Psychiatry*, 182, 45-49.
- Braff, D. L., Freedman, R., Schork, N. J., & Gottesman, II. (2007). Deconstructing schizophrenia: an overview of the use of endophenotypes in order to understand a complex disorder. *Schizophr Bull*, 33(1), 21-32.
- Brans, R. G., van Haren, N. E., van Baal, G. C., Schnack, H. G., Kahn, R. S., & Hulshoff Pol, H. E. (2008). Heritability of changes in brain volume over time in twin pairs discordant for schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 65(11), 1259-1268.
- Bray, I., Waraich, P., Jones, W., Slater, S., Goldner, E. M., & Somers, J. (2006). Increase in schizophrenia incidence rates: findings in a Canadian cohort born 1975-1985. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*, 41(8), 611-618.
- Brown, A. S., Schaefer, C. A., Quesenberry, C. P., Jr., Liu, L., Babulas, V. P., & Susser, E. S. (2005). Maternal exposure to toxoplasmosis and risk of schizophrenia in adult offspring. *Am J Psychiatry*, 162(4), 767-773.
- Brunstein, M. G., Ghisolfi, E. S., Ramos, F. L., & Lara, D. R. (2005). A clinical trial of adjuvant allopurinol therapy for moderately refractory schizophrenia. *J Clin Psychiatry*, 66(2), 213-219.

- Byrne, M., Agerbo, E., Bennedsen, B., Eaton, W. W., & Mortensen, P. B. (2007). Obstetric conditions and risk of first admission with schizophrenia: a Danish national register based study. *Schizophr Res*, 97(1-3), 51-59.
- Cannon, M., Jones, P. B., & Murray, R. M. (2002). Obstetric complications and schizophrenia: historical and meta-analytic review. *Am J Psychiatry*, 159(7), 1080-1092.
- Cantor-Graae, E., & Selten, J. P. (2005). Schizophrenia and migration: a meta-analysis and review. *Am J Psychiatry*, 162(1), 12-24.
- Cardno, A. G., & Gottesman, II. (2000). Twin studies of schizophrenia: from bow-and-arrow concordances to star wars Mx and functional genomics. *Am J Med Genet*, 97(1), 12-17.
- Carlsson, A., & Lindqvist, M. (1963). Effect of Chlorpromazine or Haloperidol on formation of 3Methoxytyramine and Normetanephrine in mouse brain. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)*, 20, 140-144.
- Chan, R. C., & Gottesman, II. (2008). Neurological soft signs as candidate endophenotypes for schizophrenia: a shooting star or a Northern star? *Neurosci Biobehav Rev*, 32(5), 957-971.
- Chen, Q., He, G., Wu, S., Xu, Y., Feng, G., Li, Y., Wang, L., & He, L. (2005). A case-control study of the relationship between the metabotropic glutamate receptor 3 gene and schizophrenia in the Chinese population. *Schizophr Res*, 73(1), 21-26.
- Corti, C., Sala, C. F., Yang, F., Corsi, M., Xuereb, J. H., & Ferraguti, F. (2000). Genomic organization of the human metabotropic glutamate receptor subtype 3. *J Neurogenet*, 14(4), 207-225, 271.
- Corti, C., Xuereb, J. H., Corsi, M., & Ferraguti, F. (2001). Identification and characterization of the promoter region of the GRM3 gene. *Biochem Biophys Res Commun*, 286(2), 381-387.
- Crow, T. J. (1985). The two-syndrome concept: origins and current status. *Schizophr Bull*, 11(3), 471-486.
- David, H. N., Anseau, M., & Abbraini, J. H. (2005). Dopamine-glutamate reciprocal modulation of release and motor responses in the rat caudate-putamen and nucleus accumbens of "intact" animals. *Brain Res Brain Res Rev*, 50(2), 336-360.
- Davies, G., Welham, J., Chant, D., Torrey, E. F., & McGrath, J. (2003). A systematic review and meta-analysis of Northern Hemisphere season of birth studies in schizophrenia. *Schizophr Bull*, 29(3), 587-593.

- DeLisi, L. E., Boccio, A. M., Riordan, H., Hoff, A. L., Dorfman, A., McClelland, J., Kushner, M., Van Eyl, O., & Oden, N. (1991). Familial thyroid disease and delayed language development in first admission patients with schizophrenia. *Psychiatry Res*, 38(1), 39-50.
- Dilling, H. (2008). *Internationale Klassifikation psychischer Störungen ICD-10, Kapitel V (F) ; klinisch-diagnostische Leitlinien*
 –The ICD-10 classification of mental and behavioural disorders <dt.> (6., vollst. überarb. Aufl. unter Berücks. der Änderungen entsprechend ICD-10-GM 2004/2008 ed.). Bern [u.a.]: Huber.
- DIMDI. (2006). Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme 10. Revision. from <http://www.dimdi.de/dynamic/de/klassi/diagnosen/icd10/htmlamtl2006/fr-icd.htm>
- Eaton, Byrne, M., Ewald, H., Mors, O., Chen, C. Y., Agerbo, E., & Mortensen, P. B. (2006). Association of schizophrenia and autoimmune diseases: linkage of Danish national registers. *Am J Psychiatry*, 163(3), 521-528.
- Eaton, Mortensen, P. B., Agerbo, E., Byrne, M., Mors, O., & Ewald, H. (2004). Coeliac disease and schizophrenia: population based case control study with linkage of Danish national registers. *BMJ*, 328(7437), 438-439.
- Edwards, M. J. (2007). Hyperthermia in utero due to maternal influenza is an environmental risk factor for schizophrenia. *Congenit Anom (Kyoto)*, 47(3), 84-89.
- Egan, M. F., Straub, R. E., Goldberg, T. E., Yakub, I., Callicott, J. H., Hariri, A. R., Mattay, V. S., Bertolino, A., Hyde, T. M., Shannon-Weickert, C., Akil, M., Crook, J., Vakkalanka, R. K., Balkissoon, R., Gibbs, R. A., Kleinman, J. E., & Weinberger, D. R. (2004). Variation in GRM3 affects cognition, prefrontal glutamate, and risk for schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101(34), 12604-12609.
- Esslinger, C., Walter, H., Kirsch, P., Erk, S., Schnell, K., Arnold, C., Haddad, L., Mier, D., Opitz von Boberfeld, C., Raab, K., Witt, S. H., Rietschel, M., Cichon, S., & Meyer-Lindenberg, A. (2009). Neural mechanisms of a genome-wide supported psychosis variant. *Science*, 324(5927), 605.
- Fagni, L., Chavis, P., Ango, F., & Bockaert, J. (2000). Complex interactions between mGluRs, intracellular Ca²⁺ stores and ion channels in neurons. *Trends Neurosci*, 23(2), 80-88.
- Fatemi, S. H., Folsom, T. D., Rooney, R. J., Mori, S., Kornfield, T. E., Reutiman, T. J., Kneeland, R. E., Liesch, S. B., Hua, K., Hsu, J., & Patel, D. H. (2011). The viral theory of schizophrenia

revisited: Abnormal placental gene expression and structural changes with lack of evidence for H1N1 viral presence in placentae of infected mice or brains of exposed offspring. *Neuropharmacology*.

Folstein, M. F. (2000). *Mini-Mental-Status-Test*.

Fresan, A., Apiquian, R., Nicolini, H., & Cervantes, J. J. (2007). Temperament and character in violent schizophrenic patients. *Schizophr Res*, 94(1-3), 74-80.

Fruntes, V., & Limosin, F. (2008). Schizophrenia and viral infection during neurodevelopment: a pathogenesis model? *Med Sci Monit*, 14(6), RA71-77.

Fujii, Y., Shibata, H., Kikuta, R., Makino, C., Tani, A., Hirata, N., Shibata, A., Ninomiya, H., Tashiro, N., & Fukumaki, Y. (2003). Positive associations of polymorphisms in the metabotropic glutamate receptor type 3 gene (GRM3) with schizophrenia. *Psychiatr Genet*, 13(2), 71-76.

Gaus, W. (1991). *Medizinische Statistik und Informationsverarbeitung*. Stuttgart: Hippokrates Verlag.

Geddes, J. R., & Lawrie, S. M. (1995). Obstetric complications and schizophrenia: a meta-analysis. *Br J Psychiatry*, 167(6), 786-793.

Geddes, J. R., Verdoux, H., Takei, N., Lawrie, S. M., Bovet, P., Eagles, J. M., Heun, R., McCreadie, R. G., McNeil, T. F., O'Callaghan, E., Stober, G., Willinger, U., & Murray, R. M. (1999). Schizophrenia and complications of pregnancy and labor: an individual patient data meta-analysis. *Schizophr Bull*, 25(3), 413-423.

Gejman, P. V., Sanders, A. R., & Duan, J. (2010). The role of genetics in the etiology of schizophrenia. *Psychiatr Clin North Am*, 33(1), 35-66.

Giegling, I., Hartmann, A. M., Genius, J., Benninghoff, J., Moller, H. J., & Rujescu, D. (2008). Systems biology and complex neurobehavioral traits. *Pharmacopsychiatry*, 41 Suppl 1, S32-36.

Goff, D. C., & Coyle, J. T. (2001). The emerging role of glutamate in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 158(9), 1367-1377.

Goldberg, T. E., & Weinberger, D. R. (2004). Genes and the parsing of cognitive processes. *Trends Cogn Sci*, 8(7), 325-335.

Goldstein, D. B., & Weale, M. E. (2001). Population genomics: linkage disequilibrium holds the key. *Curr Biol*, 11(14), R576-579.

- 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. *Schizophr Res*, 51(1), 93-102.
- Gottesman, II, & Gould, T. D. (2003). The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *Am J Psychiatry*, 160(4), 636-645.
- Gottesman, II, McGuffin, P., & Farmer, A. E. (1987). Clinical genetics as clues to the "real" genetics of schizophrenia (a decade of modest gains while playing for time). *Schizophr Bull*, 13(1), 23-47.
- Graff-Guerrero, A., Redden, L., Abi-Saab, W., Katz, D. A., Houle, S., Barsoum, P., Bhathena, A., Palaparthi, R., Saltarelli, M. D., & Kapur, S. (2010). Blockade of [11C](+)-PHNO binding in human subjects by the dopamine D3 receptor antagonist ABT-925. *Int J Neuropsychopharmacol*, 13(3), 273-287.
- Guttmacher, A. E., & Collins, F. S. (2002). Genomic medicine--a primer. *N Engl J Med*, 347(19), 1512-1520.
- Hafner, H., & an der Heiden, W. (1999). The course of schizophrenia in the light of modern follow-up studies: the ABC and WHO studies. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 249 Suppl 4, 14-26.
- HapMap. (2006, 26.10.2006). The International HapMap Project. from <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/abouthapmap.html>
- HapMap Project. (2011). Darstellung 221 kbp von chr7, Position 86,111,166 bis 86,332,127. from http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/cgi-perl/gbrowse/hapmap3r2_B36/#search
- Harrison, P. J., Lyon, L., Sartorius, L. J., Burnet, P. W., & Lane, T. A. (2008). The group II metabotropic glutamate receptor 3 (mGluR3, mGlu3, GRM3): expression, function and involvement in schizophrenia. *J Psychopharmacol*, 22(3), 308-322.
- Hashimoto, R., Ohi, K., Yasuda, Y., Fukumoto, M., Iwase, M., Iike, N., Azechi, M., Ikezawa, K., Takaya, M., Takahashi, H., Yamamori, H., Okochi, T., Tanimukai, H., Tagami, S., Morihara, T., Okochi, M., Tanaka, T., Kudo, T., Kazui, H., Iwata, N., & Takeda, M. (2010). The impact of a genome-wide supported psychosis variant in the ZNF804A gene on memory function in schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 153B(8), 1459-1464.
- Hatzipetros, T., & Yamamoto, B. K. (2006). Dopaminergic and GABAergic modulation of glutamate release from rat subthalamic nucleus efferents to the substantia nigra. *Brain Res*, 1076(1), 60-67.

- Haukvik, U. K., Saetre, P., McNeil, T., Bjerkan, P. S., Andreassen, O. A., Werge, T., Jonsson, E. G., & Agartz, I. (2010). An exploratory model for G x E interaction on hippocampal volume in schizophrenia; obstetric complications and hypoxia-related genes. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, *34*(7), 1259-1265.
- Jablensky, A. (2000). Epidemiology of schizophrenia: the global burden of disease and disability. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, *250*(6), 274-285.
- Jablensky, A., Morar, B., Wiltshire, S., Carter, K., Dragovic, M., Badcock, J. C., Chandler, D., Peters, K., & Kalaydjieva, L. (2011). Polymorphisms associated with normal memory variation also affect memory impairment in schizophrenia. *Genes Brain Behav*, *10*(4), 410-417.
- Jentsch, J. D., & Roth, R. H. (1999). The neuropsychopharmacology of phencyclidine: from NMDA receptor hypofunction to the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, *20*(3), 201-225.
- Jonsson, E. G., Saetre, P., Vares, M., Andreou, D., Larsson, K., Timm, S., Rasmussen, H. B., Djurovic, S., Melle, I., Andreassen, O. A., Agartz, I., Werge, T., Hall, H., & Terenius, L. (2009). DTNBP1, NRG1, DAOA, DAO and GRM3 polymorphisms and schizophrenia: an association study. *Neuropsychobiology*, *59*(3), 142-150.
- Kay, S. R., Fiszbein, A., & Opler, L. A. (1987). The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr Bull*, *13*(2), 261-276.
- Kegeles, L. S., Abi-Dargham, A., Zea-Ponce, Y., Rodenhiser-Hill, J., Mann, J. J., Van Heertum, R. L., Cooper, T. B., Carlsson, A., & Laruelle, M. (2000). Modulation of amphetamine-induced striatal dopamine release by ketamine in humans: implications for schizophrenia. *Biol Psychiatry*, *48*(7), 627-640.
- Kendler, K. S., McGuire, M., Gruenberg, A. M., O'Hare, A., Spellman, M., & Walsh, D. (1993). The Roscommon Family Study. I. Methods, diagnosis of probands, and risk of schizophrenia in relatives. *Arch Gen Psychiatry*, *50*(7), 527-540.
- Khashan, A. S., Abel, K. M., McNamee, R., Pedersen, M. G., Webb, R. T., Baker, P. N., Kenny, L. C., & Mortensen, P. B. (2008). Higher risk of offspring schizophrenia following antenatal maternal exposure to severe adverse life events. *Arch Gen Psychiatry*, *65*(2), 146-152.
- Kim, J. S., Kornhuber, H. H., Schmid-Burgk, W., & Holzmüller, B. (1980). Low cerebrospinal fluid glutamate in schizophrenic patients and a new hypothesis on schizophrenia. *Neurosci Lett*, *20*(3), 379-382.

- Kinney, D. K., Teixeira, P., Hsu, D., Napoleon, S. C., Crowley, D. J., Miller, A., Hyman, W., & Huang, E. (2009). Relation of schizophrenia prevalence to latitude, climate, fish consumption, infant mortality, and skin color: a role for prenatal vitamin d deficiency and infections? *Schizophr Bull*, 35(3), 582-595.
- Kraepelin, E. (1898). *Psychiatrie*.
- Krystal, J. H., Abi-Saab, W., Perry, E., D'Souza, D. C., Liu, N., Gueorguieva, R., McDougall, L., Hunsberger, T., Belger, A., Levine, L., & Breier, A. (2005). Preliminary evidence of attenuation of the disruptive effects of the NMDA glutamate receptor antagonist, ketamine, on working memory by pretreatment with the group II metabotropic glutamate receptor agonist, LY354740, in healthy human subjects. *Psychopharmacology (Berl)*, 179(1), 303-309.
- Lara, D. R., & Souza, D. O. (2000). Schizophrenia: a purinergic hypothesis. *Med Hypotheses*, 54(2), 157-166.
- Laruelle, M., & Abi-Dargham, A. (1999). Dopamine as the wind of the psychotic fire: new evidence from brain imaging studies. *J Psychopharmacol*, 13(4), 358-371.
- Lewis, C. M., Levinson, D. F., Wise, L. H., DeLisi, L. E., Straub, R. E., Hovatta, I., Williams, N. M., Schwab, S. G., Pulver, A. E., Faraone, S. V., Brzustowicz, L. M., Kaufmann, C. A., Garver, D. L., Gurling, H. M., Lindholm, E., Coon, H., Moises, H. W., Byerley, W., Shaw, S. H., Mesen, A., Sherrington, R., O'Neill, F. A., Walsh, D., Kendler, K. S., Ekelund, J., Paunio, T., Lonnqvist, J., Peltonen, L., O'Donovan, M. C., Owen, M. J., Wildenauer, D. B., Maier, W., Nestadt, G., Blouin, J. L., Antonarakis, S. E., Mowry, B. J., Silverman, J. M., Crowe, R. R., Cloninger, C. R., Tsuang, M. T., Malaspina, D., Harkavy-Friedman, J. M., Svrakic, D. M., Bassett, A. S., Holcomb, J., Kalsi, G., McQuillin, A., Brynjolfson, J., Sigmundsson, T., Petursson, H., Jazin, E., Zoega, T., & Helgason, T. (2003). Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia. *Am J Hum Genet*, 73(1), 34-48.
- Löffler, W., & Hafner, H. (1999). Ecological pattern of first admitted schizophrenics in two German cities over 25 years. *Soc Sci Med*, 49(1), 93-108.
- Maier, W., Lichtermann, D., Rietschel, M., Held, T., Falkai, P., Wagner, M., & Schwab, S. (1999). [Genetics of schizophrenic disorders. New concepts and findings]. *Nervenarzt*, 70(11), 955-969.

- Makoff, A., Volpe, F., Lelchuk, R., Harrington, K., & Emson, P. (1996). Molecular characterization and localization of human metabotropic glutamate receptor type 3. *Brain Res Mol Brain Res*, 40(1), 55-63.
- Malaspina, D., Corcoran, C., Kleinhaus, K. R., Perrin, M. C., Fennig, S., Nahon, D., Friedlander, Y., & Harlap, S. (2008). Acute maternal stress in pregnancy and schizophrenia in offspring: a cohort prospective study. *BMC Psychiatry*, 8, 71.
- Marenco, S., Steele, S. U., Egan, M. F., Goldberg, T. E., Straub, R. E., Sharrief, A. Z., & Weinberger, D. R. (2006). Effect of metabotropic glutamate receptor 3 genotype on N-acetylaspartate measures in the dorsolateral prefrontal cortex. *Am J Psychiatry*, 163(4), 740-742.
- Marti, S. B., Cichon, S., Propping, P., & Nothen, M. (2002). Metabotropic glutamate receptor 3 (GRM3) gene variation is not associated with schizophrenia or bipolar affective disorder in the German population. *Am J Med Genet*, 114(1), 46-50.
- Martin, R. C., Loring, D. W., Meador, K. J., & Lee, G. P. (1990). The effects of lateralized temporal lobe dysfunction on formal and semantic word fluency. *Neuropsychologia*, 28(8), 823-829.
- Matrics Assessment Inc. (2009). MCCB Neuropsychological Assessment. from <http://www.matricsinc.org/>
- Maynard, T. M., Sikich, L., Lieberman, J. A., & LaMantia, A. S. (2001). Neural development, cell-cell signaling, and the "two-hit" hypothesis of schizophrenia. *Schizophr Bull*, 27(3), 457-476.
- McGirr, A., Tousignant, M., Routhier, D., Pouliot, L., Chawky, N., Margolese, H. C., & Turecki, G. (2006). Risk factors for completed suicide in schizophrenia and other chronic psychotic disorders: a case-control study. *Schizophr Res*, 84(1), 132-143.
- Meador-Woodruff, J. H., & Healy, D. J. (2000). Glutamate receptor expression in schizophrenic brain. *Brain Res Brain Res Rev*, 31(2-3), 288-294.
- Meltzer, H. Y. (1997). Treatment-resistant schizophrenia--the role of clozapine. *Curr Med Res Opin*, 14(1), 1-20.
- Meltzer, H. Y., & Stahl, S. M. (1976). The dopamine hypothesis of schizophrenia: a review. *Schizophr Bull*, 2(1), 19-76.
- Moghaddam, B., & Adams, B. W. (1998). Reversal of phencyclidine effects by a group II metabotropic glutamate receptor agonist in rats. *Science*, 281(5381), 1349-1352.

- Möller, H. J. (2005). Occurrence and treatment of depressive comorbidity/cosyndromality in schizophrenic psychoses: conceptual and treatment issues. *World J Biol Psychiatry*, 6(4), 247-263.
- Möller, H. J. (2009). Development of DSM-V and ICD-11: tendencies and potential of new classifications in psychiatry at the current state of knowledge. *Psychiatry Clin Neurosci*, 63(5), 595-612.
- Möller, H. J., Jager, M., Riedel, M., Obermeier, M., Strauss, A., & Bottlender, R. (2010). The Munich 15-year follow-up study (MUFUSSAD) on first-hospitalized patients with schizophrenic or affective disorders: comparison of psychopathological and psychosocial course and outcome and prediction of chronicity. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 260(5), 367-384.
- Möller, H. J., Schmid-Bode, W., Cording-Tommel, C., Wittchen, H. U., Zaudig, M., & von Zerssen, D. (1988). Psychopathological and social outcome in schizophrenia versus affective/schizoaffective psychoses and prediction of poor outcome in schizophrenia. Results from a 5-8 year follow-up. *Acta Psychiatr Scand*, 77(4), 379-389.
- Möller, H. J., Schmid-Bode, W., & von Zerssen, D. (1986). Prediction of long-term outcome in schizophrenia by prognostic scales. *Schizophr Bull*, 12(2), 225-234.
- Möller, H. J., von Zerssen, D., Werner-Eilert, K., & Wuschner-Stockheim, M. (1982). Outcome in schizophrenic and similar paranoid psychoses. *Schizophr Bull*, 8(1), 99-108.
- Monaghan, D. T., Bridges, R. J., & Cotman, C. W. (1989). The excitatory amino acid receptors: their classes, pharmacology, and distinct properties in the function of the central nervous system. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 29, 365-402.
- Morel, B. A. (1852). *Études cliniques: traité, théorique et pratique des maladies mentales*.
- Mortensen, P. B., Norgaard-Pedersen, B., Waltoft, B. L., Sorensen, T. L., Hougaard, D., Torrey, E. F., & Yolken, R. H. (2007). Toxoplasma gondii as a risk factor for early-onset schizophrenia: analysis of filter paper blood samples obtained at birth. *Biol Psychiatry*, 61(5), 688-693.
- Mossner, R., Schuhmacher, A., Schulze-Rauschenbach, S., Kuhn, K. U., Rujescu, D., Rietschel, M., Zobel, A., Franke, P., Wolwer, W., Gaebel, W., Hafner, H., Wagner, M., & Maier, W. (2008). Further evidence for a functional role of the glutamate receptor gene GRM3 in schizophrenia. *Eur Neuropsychopharmacol*, 18(10), 768-772.
- Mullis, K. B. (1990). The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Sci Am*, 262(4), 56-61, 64-55.

- Myers, T. W., & Gelfand, D. H. (1991). Reverse transcription and DNA amplification by a *Thermus thermophilus* DNA polymerase. *Biochemistry*, 30(31), 7661-7666.
- Nakanishi, S. (1992). Molecular diversity of glutamate receptors and implications for brain function. *Science*, 258(5082), 597-603.
- Narayan, V. M., Narr, K. L., Kumari, V., Woods, R. P., Thompson, P. M., Toga, A. W., & Sharma, T. (2007). Regional cortical thinning in subjects with violent antisocial personality disorder or schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 164(9), 1418-1427.
- NCBI. (2011a). Reference SNP(refSNP) Cluster Report: rs802467 from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=802467
- NCBI. (2011b). Reference SNP(refSNP) Cluster Report: rs11772736. from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=11772736
- NCBI. (2011c). Reference SNP(refSNP) Cluster Report: rs13242038 from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=13242038
- NCBI. (2011d). Single Nucleotide Polymorphism. from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>
- Ng, M. Y., Levinson, D. F., Faraone, S. V., Suarez, B. K., DeLisi, L. E., Arinami, T., Riley, B., Paunio, T., Pulver, A. E., Irmansyah, Holmans, P. A., Escamilla, M., Wildenauer, D. B., Williams, N. M., Laurent, C., Mowry, B. J., Brzustowicz, L. M., Maziade, M., Sklar, P., Garver, D. L., Abecasis, G. R., Lerer, B., Fallin, M. D., Gurling, H. M., Gejman, P. V., Lindholm, E., Moises, H. W., Byerley, W., Wijsman, E. M., Forabosco, P., Tsuang, M. T., Hwu, H. G., Okazaki, Y., Kendler, K. S., Wormley, B., Fanous, A., Walsh, D., O'Neill, F. A., Peltonen, L., Nestadt, G., Lasseter, V. K., Liang, K. Y., Papadimitriou, G. M., Dikeos, D. G., Schwab, S. G., Owen, M. J., O'Donovan, M. C., Norton, N., Hare, E., Raventos, H., Nicolini, H., Albus, M., Maier, W., Nimgaonkar, V. L., Terenius, L., Mallet, J., Jay, M., Godard, S., Nertney, D., Alexander, M., Crowe, R. R., Silverman, J. M., Bassett, A. S., Roy, M. A., Merette, C., Pato, C. N., Pato, M. T., Roos, J. L., Kohn, Y., Amann-Zalcenstein, D., Kalsi, G., McQuillin, A., Curtis, D., Brynjolfson, J., Sigmundsson, T., Petursson, H., Sanders, A. R., Duan, J., Jazin, E., Myles-Worsley, M., Karayiorgou, M., & Lewis, C. M. (2009). Meta-analysis of 32 genome-wide linkage studies of schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 14(8), 774-785.
- Nicodemus, K. K., Kolachana, B. S., Vakkalanka, R., Straub, R. E., Giegling, I., Egan, M. F., Rujescu, D., & Weinberger, D. R. (2007). Evidence for statistical epistasis between catechol-

- O-methyltransferase (COMT) and polymorphisms in RGS4, G72 (DAOA), GRM3, and DISC1: influence on risk of schizophrenia. *Hum Genet*, 120(6), 889-906.
- Nord, M., & Farde, L. (2011). Antipsychotic occupancy of dopamine receptors in schizophrenia. *CNS Neurosci Ther*, 17(2), 97-103.
- Norton, N., Williams, H. J., Dwyer, S., Ivanov, D., Preece, A. C., Gerrish, A., Williams, N. M., Yerassimou, P., Zammit, S., O'Donovan, M. C., & Owen, M. J. (2005). No evidence for association between polymorphisms in GRM3 and schizophrenia. *BMC Psychiatry*, 5, 23.
- Nunokawa, A., Watanabe, Y., Kitamura, H., Kaneko, N., Arinami, T., Ujike, H., Inada, T., Iwata, N., Kunugi, H., Itokawa, M., Ozaki, N., & Someya, T. (2008). Large-scale case-control study of a functional polymorphism in the glutamate receptor, metabotropic 3 gene in patients with schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci*, 62(2), 239-240.
- O'Donovan, M. C., Craddock, N., Norton, N., Williams, H., Peirce, T., Moskvina, V., Nikolov, I., Hamshere, M., Carroll, L., Georgieva, L., Dwyer, S., Holmans, P., Marchini, J. L., Spencer, C. C., Howie, B., Leung, H. T., Hartmann, A. M., Moller, H. J., Morris, D. W., Shi, Y., Feng, G., Hoffmann, P., Propping, P., Vasilescu, C., Maier, W., Rietschel, M., Zammit, S., Schumacher, J., Quinn, E. M., Schulze, T. G., Williams, N. M., Giegling, I., Iwata, N., Ikeda, M., Darvasi, A., Shifman, S., He, L., Duan, J., Sanders, A. R., Levinson, D. F., Gejman, P. V., Cichon, S., Nothen, M. M., Gill, M., Corvin, A., Rujescu, D., Kirov, G., Owen, M. J., Buccola, N. G., Mowry, B. J., Freedman, R., Amin, F., Black, D. W., Silverman, J. M., Byerley, W. F., & Cloninger, C. R. (2008). Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up. *Nat Genet*, 40(9), 1053-1055.
- Olney, J. W., & Farber, N. B. (1995). Glutamate receptor dysfunction and schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 52(12), 998-1007.
- Osby, U., Hammar, N., Brandt, L., Wicks, S., Thinsz, Z., Ekblom, A., & Sparen, P. (2001). Time trends in first admissions for schizophrenia and paranoid psychosis in Stockholm County, Sweden. *Schizophr Res*, 47(2-3), 247-254.
- Owen, M. J. (2000). Molecular genetic studies of schizophrenia. *Brain Res Brain Res Rev*, 31(2-3), 179-186.
- Ozawa, S., Kamiya, H., & Tsuzuki, K. (1998). Glutamate receptors in the mammalian central nervous system. *Prog Neurobiol*, 54(5), 581-618.

- Patterson, P. H. (2009). Immune involvement in schizophrenia and autism: etiology, pathology and animal models. *Behav Brain Res*, 204(2), 313-321.
- Pedersen, C. B., & Mortensen, P. B. (2001). Evidence of a dose-response relationship between urbanicity during upbringing and schizophrenia risk. *Arch Gen Psychiatry*, 58(11), 1039-1046.
- Pellicciari, R., & Costantino, G. (1999). Metabotropic G-protein-coupled glutamate receptors as therapeutic targets. *Curr Opin Chem Biol*, 3(4), 433-440.
- Perala, J., Suvisaari, J., Saarni, S. I., Kuoppasalmi, K., Isometsa, E., Pirkola, S., Partonen, T., Tuulio-Henriksson, A., Hintikka, J., Kieseppa, T., Harkanen, T., Koskinen, S., & Lonnqvist, J. (2007). Lifetime prevalence of psychotic and bipolar I disorders in a general population. *Arch Gen Psychiatry*, 64(1), 19-28.
- Pin, J. P., & Duvoisin, R. (1995). The metabotropic glutamate receptors: structure and functions. *Neuropharmacology*, 34(1), 1-26.
- Placentino, A., Rillosi, L., Papa, E., Foresti, G., Materzanini, A., Rossi, G., Tura, G. B., & Perez, J. (2007). Clinical characteristics in long-term care psychiatric patients: A descriptive study. *World J Biol Psychiatry*, 1-7.
- Qiagen. (2005). *QIAamp® DNA Blood Midi/Maxi Handbook* (2nd Edition ed.). Hilden, Germany.
- Redden, L., Rendenbach-Mueller, B., Abi-Saab, W. M., Katz, D. A., Goenjian, A., Robieson, W. Z., Wang, Y., Goss, S. L., Greco, N. t., & Saltarelli, M. D. (2011). A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Study of the Dopamine D3 Receptor Antagonist ABT-925 in Patients With Acute Schizophrenia. *J Clin Psychopharmacol*, 31(2), 221-225.
- Ribeiro, F. M., Paquet, M., Cregan, S. P., & Ferguson, S. S. (2010). Group I metabotropic glutamate receptor signalling and its implication in neurological disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 9(5), 574-595.
- Rice, J. P., Reich, T., Bucholz, K. K., Neuman, R. J., Fishman, R., Rochberg, N., Hesselbrock, V. M., Nurnberger, J. I., Jr., Schuckit, M. A., & Begleiter, H. (1995). Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res*, 19(4), 1018-1023.
- Richter, V., & Guthke, J. (1996). *Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI)*. Göttingen: Hogrefe.
- Riley, B., Thiselton, D., Maher, B. S., Bigdeli, T., Wormley, B., McMichael, G. O., Fanous, A. H., Vladimirov, V., O'Neill, F. A., Walsh, D., & Kendler, K. S. (2010). Replication of association

- between schizophrenia and ZNF804A in the Irish Case-Control Study of Schizophrenia sample. *Mol Psychiatry*, 15(1), 29-37.
- Rimol, L. M., Hartberg, C. B., Nesvag, R., Fennema-Notestine, C., Hagler, D. J., Jr., Pung, C. J., Jennings, R. G., Haukvik, U. K., Lange, E., Nakstad, P. H., Melle, I., Andreassen, O. A., Dale, A. M., & Agartz, I. (2010). Cortical thickness and subcortical volumes in schizophrenia and bipolar disorder. *Biol Psychiatry*, 68(1), 41-50.
- Rosenfarb, I. S., Bellack, A. S., Aziz, N., Kratz, K. M., & Sayers, S. (2004). Race, family interactions, and patient stabilization in schizophrenia. *J Abnorm Psychol*, 113(1), 109-115.
- Rössler, W., & Theodoridou, A. (2006). Neue Versorgungsmodelle in der PSchosebehandlung. *Nervenarzt*, 77(Supplement 2), 111-120.
- Rzezak, P., Fuentes, D., Guimaraes, C. A., Thome-Souza, S., Kuczynski, E., Guerreiro, M., & Valente, K. D. (2009). Executive dysfunction in children and adolescents with temporal lobe epilepsy: is the Wisconsin Card Sorting Test enough? *Epilepsy Behav*, 15(3), 376-381.
- Saiki, R. K., Gelfand, D. H., Stoffel, S., Scharf, S. J., Higuchi, R., Horn, G. T., Mullis, K. B., & Erlich, H. A. (1988). Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 239(4839), 487-491.
- Sakoglu, U., Upadhyay, J., Chin, C. L., Chandran, P., Baker, S. J., Cole, T. B., Fox, G. B., Day, M., & Luo, F. (2011). Paradigm shift in translational neuroimaging of CNS disorders. *Biochem Pharmacol*.
- Salokangas, R. K., Helminen, M., Koivisto, A. M., Rantanen, H., Oja, H., Pirkola, S., Wahlbeck, K., & Joukamaa, M. (2010). Incidence of hospitalised schizophrenia in Finland since 1980: decreasing and increasing again. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*.
- Sandyk, R. (1994). Improvement in word-fluency performance in patients with multiple sclerosis by electromagnetic fields. *Int J Neurosci*, 79(1-2), 75-90.
- Saß, H. (1998). *Diagnostische Kriterien des Diagnostischen und statistischen Manuals psychischer Störungen, DSM-IV; Diagnostic criteria from DSM-IV <dt.>*. Göttingen [u.a.]: Hogrefe, Verl. für Psychologie.
- Scherer, S. W., Duvoisin, R. M., Kuhn, R., Heng, H. H., Belloni, E., & Tsui, L. C. (1996). Localization of two metabotropic glutamate receptor genes, GRM3 and GRM8, to human chromosome 7q. *Genomics*, 31(2), 230-233.
- Schizophrenia Research Forum. (2010, 21. December 2010). SZGene Stats. from <http://www.szgene.org/>

- Schneider, K. (1959). *Klinische Psychopathologie*.
- Schoepp, D. D., Johnson, B. G., & Monn, J. A. (1992). Inhibition of cyclic AMP formation by a selective metabotropic glutamate receptor agonist. *J Neurochem*, *58*(3), 1184-1186.
- Schwab, S., Plummer, C., Doyle, A., Albus, M., Borrmann-Hassenbach, M., Maier, W., & Wildenauer, D. (2006). Association with schizophrenia in three candidate genes: GRM-3, AKT-1 and NRG-1. *Am J Med Genet*, *141*(B), 718-719.
- Schweizer, T. A., Alexander, M. P., Susan Gillingham, B. A., Cusimano, M., & Stuss, D. T. (2010). Lateralized cerebellar contributions to word generation: a phonemic and semantic fluency study. *Behav Neurol*, *23*(1-2), 31-37.
- Semple, D. M., McIntosh, A. M., & Lawrie, S. M. (2005). Cannabis as a risk factor for psychosis: systematic review. *J Psychopharmacol*, *19*(2), 187-194.
- Shi, J., Levinson, D. F., Duan, J., Sanders, A. R., Zheng, Y., Pe'er, I., Dudbridge, F., Holmans, P. A., Whitemore, A. S., Mowry, B. J., Olincy, A., Amin, F., Cloninger, C. R., Silverman, J. M., Buccola, N. G., Byerley, W. F., Black, D. W., Crowe, R. R., Oksenberg, J. R., Mirel, D. B., Kendler, K. S., Freedman, R., & Gejman, P. V. (2009). Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia. *Nature*, *460*(7256), 753-757.
- Shields, J., & Gottesman, II. (1972). Cross-national diagnosis of schizophrenia in twins. The heritability and specificity of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, *27*(6), 725-730.
- Smith, G. S., Schloesser, R., Brodie, J. D., Dewey, S. L., Logan, J., Vitkun, S. A., Simkowitz, P., Hurley, A., Cooper, T., Volkow, N. D., & Cancro, R. (1998). Glutamate modulation of dopamine measured in vivo with positron emission tomography (PET) and 11C-raclopride in normal human subjects. *Neuropsychopharmacology*, *18*(1), 18-25.
- Snyder, S. H. (1981). Dopamine receptors, neuroleptics, and schizophrenia. *Am J Psychiatry*, *138*(4), 460-464.
- Sorensen, H. J., Mortensen, E. L., Reinisch, J. M., & Mednick, S. A. (2009). Association between prenatal exposure to bacterial infection and risk of schizophrenia. *Schizophr Bull*, *35*(3), 631-637.
- Stefansson, H., Ophoff, R. A., Steinberg, S., Andreassen, O. A., Cichon, S., Rujescu, D., Werge, T., Pietilainen, O. P., Mors, O., Mortensen, P. B., Sigurdsson, E., Gustafsson, O., Nyegaard, M., Tuulio-Henriksson, A., Ingason, A., Hansen, T., Suvisaari, J., Lonnqvist, J., Paunio, T., Borglum, A. D., Hartmann, A., Fink-Jensen, A., Nordentoft, M., Hougaard, D., Norgaard-Pedersen, B., Bottcher, Y., Olesen, J., Breuer, R., Moller, H. J., Giegling, I., Rasmussen, H.

- B., Timm, S., Mattheisen, M., Bitter, I., Rethelyi, J. M., Magnusdottir, B. B., Sigmundsson, T., Olason, P., Masson, G., Gulcher, J. R., Haraldsson, M., Fossdal, R., Thorgeirsson, T. E., Thorsteinsdottir, U., Ruggeri, M., Tosato, S., Franke, B., Strengman, E., Kiemenev, L. A., Melle, I., Djurovic, S., Abramova, L., Kaleda, V., Sanjuan, J., de Frutos, R., Bramon, E., Vassos, E., Fraser, G., Ettinger, U., Picchioni, M., Walker, N., Touloupoulou, T., Need, A. C., Ge, D., Yoon, J. L., Shianna, K. V., Freimer, N. B., Cantor, R. M., Murray, R., Kong, A., Golimbet, V., Carracedo, A., Arango, C., Costas, J., Jonsson, E. G., Terenius, L., Agartz, I., Petursson, H., Nothen, M. M., Rietschel, M., Matthews, P. M., Muglia, P., Peltonen, L., St Clair, D., Goldstein, D. B., Stefansson, K., & Collier, D. A. (2009). Common variants conferring risk of schizophrenia. *Nature*, *460*(7256), 744-747.
- Sullivan, P. F., Kendler, K. S., & Neale, M. C. (2003). Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. *Arch Gen Psychiatry*, *60*(12), 1187-1192.
- Suvisaari, J. M., Haukka, J. K., Tanskanen, A. J., & Lonnqvist, J. K. (1999). Decline in the incidence of schizophrenia in Finnish cohorts born from 1954 to 1965. *Arch Gen Psychiatry*, *56*(8), 733-740.
- SZ Gene. (2011, 15. April 2011). SZGene (SchizophreniaGene) Field Synopsis of Genetic Association Studies in SZ from <http://www.szgene.org/>
- SZGene. (2010). Chromosome 7 : Location of Published Candidate Genes for Schizophrenia from <http://www.szgene.org/chromo.asp?c=7>
- Taconnat, L., Baudouin, A., Fay, S., Raz, N., Bouazzaoui, B., El-Hage, W., Isingrini, M., & Ergis, A. M. (2010). Episodic memory and organizational strategy in free recall in unipolar depression: the role of cognitive support and executive functions. *J Clin Exp Neuropsychol*, *32*(7), 719-727.
- Tahara, R. (2001). Schizophrenia : youth's greatest disabler from http://whqlibdoc.who.int/searo/2001/SEA_Ment_117.pdf
- Takeshi, K., Nemoto, T., Fumoto, M., Arita, H., & Mizuno, M. (2010). Reduced prefrontal cortex activation during divergent thinking in schizophrenia: a multi-channel NIRS study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, *34*(7), 1327-1332.
- Tanabe, Y., Nomura, A., Masu, M., Shigemoto, R., Mizuno, N., & Nakanishi, S. (1993). Signal transduction, pharmacological properties, and expression patterns of two rat metabotropic glutamate receptors, mGluR3 and mGluR4. *J Neurosci*, *13*(4), 1372-1378.

- Tandon, R., Keshavan, M. S., & Nasrallah, H. A. (2008). Schizophrenia, "just the facts" what we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology. *Schizophr Res*, 102(1-3), 1-18.
- Tessner, K. D., Mittal, V., & Walker, E. F. (2011). Longitudinal study of stressful life events and daily stressors among adolescents at high risk for psychotic disorders. *Schizophr Bull*, 37(2), 432-441.
- Tewes, U. (1994). *HAWIE-R, Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991 ; Handbuch und Testanweisung; Manual for the Wechsler adult intelligence scale <dt.>* (2., korr. Aufl. ed.). Bern [u.a.]: Huber.
- Thaker, G. K. (2007). Schizophrenia endophenotypes as treatment targets. *Expert Opin Ther Targets*, 11(9), 1189-1206.
- Tienari, P., Wynne, L. C., Moring, J., Lahti, I., Naarala, M., Sorri, A., Wahlberg, K. E., Saarento, O., Seitamaa, M., Kaleva, M., & et al. (1994). The Finnish adoptive family study of schizophrenia. Implications for family research. *Br J Psychiatry Suppl*(23), 20-26.
- Tochigi, M., Suga, M., Ohashi, J., Otowa, T., Yamasue, H., Kasai, K., Kato, T., Okazaki, Y., Kato, N., & Sasaki, T. (2006). No association between the metabotropic glutamate receptor type 3 gene (GRM3) and schizophrenia in a Japanese population. *Schizophr Res*, 88(1-3), 260-264.
- Torchalla, I., Albrecht, F., Buchkremer, G., & Langle, G. (2004). [Homeless women with psychiatric disorders -- a field study]. *Psychiatr Prax*, 31(5), 228-235.
- Tsuang, M. T., Stone, W. S., & Faraone, S. V. (2001). Genes, environment and schizophrenia. *Br J Psychiatry Suppl*, 40, s18-24.
- Valentino, P., Cerasa, A., Chiriaco, C., Nistico, R., Pirritano, D., Gioia, M., Lanza, P., Canino, M., Del Giudice, F., Gallo, O., Condino, F., Torchia, G., & Quattrone, A. (2009). Cognitive deficits in multiple sclerosis patients with cerebellar symptoms. *Mult Scler*, 15(7), 854-859.
- van Erp, T. G., Saleh, P. A., Rosso, I. M., Huttunen, M., Lonnqvist, J., Pirkola, T., Salonen, O., Valanne, L., Poutanen, V. P., Standertskjold-Nordenstam, C. G., & Cannon, T. D. (2002). Contributions of genetic risk and fetal hypoxia to hippocampal volume in patients with schizophrenia or schizoaffective disorder, their unaffected siblings, and healthy unrelated volunteers. *Am J Psychiatry*, 159(9), 1514-1520.
- van Praag, H. M. (1976). About the impossible concept of schizophrenia. *Compr Psychiatry*, 17(4), 481-497.
- Volkenandt, M., Lohr, M., & Dicker, A. P. (1990). [Gene amplification by the polymerase chain reaction]. *Dtsch Med Wochenschr*, 115(17), 670-676.

- Vollenweider, F. X., Vontobel, P., Oye, I., Hell, D., & Leenders, K. L. (2000). Effects of (S)-ketamine on striatal dopamine: a [¹¹C]raclopride PET study of a model psychosis in humans. *J Psychiatr Res*, 34(1), 35-43.
- Walter, H., Schnell, K., Erk, S., Arnold, C., Kirsch, P., Esslinger, C., Mier, D., Schmitgen, M. M., Rietschel, M., Witt, S. H., Nothen, M. M., Cichon, S., & Meyer-Lindenberg, A. (2011). Effects of a genome-wide supported psychosis risk variant on neural activation during a theory-of-mind task. *Mol Psychiatry*, 16(4), 462-470.
- Walters, J. T., Corvin, A., Owen, M. J., Williams, H., Dragovic, M., Quinn, E. M., Judge, R., Smith, D. J., Norton, N., Giegling, I., Hartmann, A. M., Moller, H. J., Muglia, P., Moskvina, V., Dwyer, S., O'Donoghue, T., Morar, B., Cooper, M., Chandler, D., Jablensky, A., Gill, M., Kaladjieva, L., Morris, D. W., O'Donovan, M. C., Rujescu, D., & Donohoe, G. (2010). Psychosis susceptibility gene ZNF804A and cognitive performance in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 67(7), 692-700.
- Warner, R. (1995). *Epidemiology of mental disorders and psychosocial problems*: WHO Library Cataloguing in Publication Data.
- WHO. (2004). Global Burden of Diseases 2004 Update. from http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/GBD_report_2004update_full.pdf
- WHO. (2007). International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th Revision from <http://apps.who.int/classifications/apps/icd/icd10online/>
- WHO. (2012). What is Schizophrenia. from http://www.who.int/mental_health/management/schizophrenia/en/
- Williams, H. J., Norton, N., Dwyer, S., Moskvina, V., Nikolov, I., Carroll, L., Georgieva, L., Williams, N. M., Morris, D. W., Quinn, E. M., Giegling, I., Ikeda, M., Wood, J., Lencz, T., Hultman, C., Lichtenstein, P., Thiselton, D., Maher, B. S., Malhotra, A. K., Riley, B., Kendler, K. S., Gill, M., Sullivan, P., Sklar, P., Purcell, S., Nimgaonkar, V. L., Kirov, G., Holmans, P., Corvin, A., Rujescu, D., Craddock, N., Owen, M. J., & O'Donovan, M. C. (2011). Fine mapping of ZNF804A and genome-wide significant evidence for its involvement in schizophrenia and bipolar disorder. *Mol Psychiatry*, 16(4), 429-441.
- Wittchen, H.-U. (1997). *Strukturiertes klinisches Interview für DSM-IV, Achse I und II, SKID; SCID-1 <dt.>. - SCID-2<dt.>*. Göttingen [u.a.]: Hogrefe.
- Wohl, M., & Gorwood, P. (2007). Paternal ages below or above 35 years old are associated with a different risk of schizophrenia in the offspring. *Eur Psychiatry*, 22(1), 22-26.

- Wolf, T. J., Stift, S., Connor, L. T., Baum, C., & Cognitive Rehabilitation Research, G. (2010). Feasibility of using the EFPT to detect executive function deficits at the acute stage of stroke. *Work*, 36(4), 405-412.
- Xiao, J., Buka, S. L., Cannon, T. D., Suzuki, Y., Viscidi, R. P., Torrey, E. F., & Yolken, R. H. (2009). Serological pattern consistent with infection with type I *Toxoplasma gondii* in mothers and risk of psychosis among adult offspring. *Microbes Infect*, 11(13), 1011-1018.
- Yasuda, Y., Hashimoto, R., Ohi, K., Fukumoto, M., Umeda-Yano, S., Yamamori, H., Okochi, T., Iwase, M., Kazui, H., Iwata, N., & Takeda, M. (2011). Impact on schizotypal personality trait of a genome-wide supported psychosis variant of the ZNF804A gene. *Neurosci Lett*, 495(3), 216-220.