

Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der
Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Professor Dr. med. Peter Falkai

Eine Assoziationsstudie zum DKK3-Gen und der Schizophrenie

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

vorgelegt von
Erika Roxana Klotz-Rödig

aus
San Carlos Sud, Argentinien
2015

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dan Rujescu

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Dr. h. c. Walter Ziegelmüller

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

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

Tag der mündlichen Prüfung: **23.04.2015**

Inhaltverzeichnis

1. Einleitung	5
1.1 Schizophrenie.....	5
1.1.1 Historische Aspekte der Schizophrenie	5
1.1.2 Symptome und Klassifikationssysteme.....	6
1.1.3 Subtypen.....	9
1.1.4 Beginn und Verlauf	10
1.1.5 Epidemiologie.....	10
1.1.6 Ätiopathogenese der Schizophrenie	11
1.1.6.1 Auslösende Faktoren	12
1.1.6.2 Prädisponierende Faktoren	13
1.2 Das Dickkopf-3-Gen	32
1.2.1 DKK Genfamilie.....	32
1.2.2 Der Wnt-Signaltransduktionsweg	33
1.2.3 Die Rolle der DKK-Proteine auf dem Wnt-Signaltransduktionsweg	36
1.2.4 Physiologische Bedeutung des Wnt-Signaltransduktionsweges	38
1.2.5 Beteiligung des DKK3-Gen an verschiedenen Erkrankungen	39
1.2.6 Veränderungen von Komponenten des Wnt-Signaltransduktionsweges bei der Schizophrenie	41
1.2.7 Das DKK3-Protein und die Schizophrenie.....	44
1.3 Fragestellung.....	45
2. Material und Methoden.....	46
2.1 Voraussetzungen der Studie.....	46
2.2 Studienteilnehmer.....	46
2.2.1 Kontrollprobanden.....	46
2.2.2 Schizophrene Patienten	48
2.3 Laborverfahren.....	51
2.3.1 DNA – Extraktion	51
2.3.2 Konzentrationsmessung der DNA	53
2.3.3 Genotypisierung	57
2.4 Statistische Auswertung	65
3. Ergebnisse	66
3.1 Analyse des SNPs rs3206824.....	66
3.2 Analyse des SNPs rs11022095.....	68
3.3 Analyse des SNPs rs7395522.....	69

3.4 Analyse des SNPs rs6485345	71
3.5 Analyse des SNPs rs11022105.....	73
3.6 Analyse des SNPs rs3750938	74
3.7 Analyse des SNPs rs3750940	77
4. Diskussion	80
4.1 Diskussion der Methoden.....	80
4.2 Diskussion der Ergebnisse.....	85
4.3 Ausblick.....	88
5. Zusammenfassung	90
6. Abkürzungen.....	92
7. Literaturverzeichnis.....	94
8. Danksagung	107
9. Eidesstattliche Versicherung	108

1.Einleitung

1.1 Schizophrenie

Die Schizophrenie ist eine der schwerwiegendsten psychiatrischen Erkrankungen des Menschen, und wird im Allgemeinen nomenklatorisch zur Gruppe der „endogenen Psychosen“ gezählt.

1.1.1 Historische Aspekte der Schizophrenie

Bereits 1893 fasste Emil Kraepelin diese Erkrankung als „Dementia Praecox“ zusammen, eine chronisch verlaufende Erkrankung, die zu schweren kognitiven Einbußen führte (Dementia) und bereits in der Jugend begann (Praecox) (Kraepelin, 1893). Er grenzte diese Erkrankung von anderen Erkrankungen des ZNS wie Depression oder Manie (das manisches depressives Irresein) ab. Die Dementia Praecox wurde in drei Subtypen eingeteilt, wobei jeder Subtyp ein eigenständiges Krankheitsbild darstellte (Kraepelin, 1913; Tölle, 2008).

1908 prägte Eugen Bleuler zum ersten Mal den Terminus „Schizophrenie“ in seiner Publikation (Bleuler, 1908). Der neue Begriff stellte sowohl den Begriff Dementia als auch Praecox in Frage: „Diese Erkrankung verläuft nicht immer mit Demenz und meistens handelt es sich nicht um Demenz, sondern um eine Denkstörung; außerdem erkranken nicht nur junge Patienten daran“. Bleuler beschrieb diese Erkrankung als eine Desintegration der sonst harmonisierenden psychischen Funktionen des Ichs, welche nicht unbedingt kognitive Einbußen mit sich bringt. Er unterschied Grundsymptome und akzessorische Symptome (nach der diagnostischen Wertigkeit) bzw. primäre und sekundäre Symptome (nach dem pathogenetischen Verständnis). Die Grundsymptome (z. B. Störung des Affektes, Ambivalenz, etc.) sollten für die Diagnosestellung stets vorhanden sein, die akzessorischen Symptome (z. B. Wahn, Halluzinationen, etc.) dagegen gaben lediglich einen Hinweis auf die Erkrankung Schizophrenie, diese mussten jedoch für die Diagnosestellung nicht unbedingt vorhanden sein (Tölle, 2008). Tabelle 1 zeigt beide Symptomgruppen vollständig.

Tabelle 1: Symptomgruppen nach Eugen Beuler

Grundsymptome	Akzessorische Symptome
Störung des Gedankenganges (Assoziation)	Wahn
Störung des Affektes	Halluzinationen
Ambivalenz	andere Störungen
Autismus (Entfernung von der Realität)	
Ich-Störung	

1939 stellte Kurt Schneider in seiner Publikation die Konzeption der Symptome 1. und 2. Ranges der Schizophrenie vor (Schneider, 1939). Laut seiner Beschreibung liegt eine Schizophrenie vor, wenn Symptome 1. Ranges, ohne das Vorhandensein einer organischen Störung, festgestellt werden. Liegen Symptome des 2. Ranges vor, dann ist die Diagnose Schizophrenie wahrscheinlich, nicht aber sicher zu stellen. Tabelle 2 stellt eine Übersicht der Symptome 1. und 2. Ranges dar.

Tabelle 2: Symptome der Schizophrenie nach Kurt Schneider

Symptome ersten Ranges	Symptome zweiten Ranges
Wahnwahrnehmung	Wahneinfall, Wahngedanke
Dialogisierende oder kommentierende Stimmen; Gedankenlautwerden; leibliche Halluzinationen	sonstige Halluzinationen (optisch, gustatorisch, olfaktorisch)
Gedankenentzug, Gedankeneingebung, Gedankenausbreitung	Affektveränderung
Andere Beeinflussungserlebnisse mit dem Charakter des Gemachten	

1.1.2 Symptome und Klassifikationssysteme

Nach dem heutigen Kenntnisstand ist die Schizophrenie eine Erkrankung, bei der sowohl das Erscheinungsbild als auch der Verlauf sehr vielfältig sein können. Es gibt daher keine pathognomonischen Symptome, sondern mehr oder weniger „charakteristische Symptome der Schizophrenie“.

Die Symptome der Schizophrenie werden seit den 1970er Jahren in „Positiv- und Negativsymptomatik“ unterteilt. Kay und Kollegen (Kay et al., 1986) entwickelten in den 80er Jahren die „Positive and Negative Syndrom Scale“ (PANSS). Dieses Instrument unterteilt häufig auftretende Symptome der Schizophrenie in drei

verschiedenen Subgruppen (Positivskala, Negativskala und Skala der Allgemeinpathologie). Tabelle 3 zeigt die Symptome aller Subgruppen.

Tabelle 3: Symptome der Positiv- und Negativ-Syndrom Skala (PANSS)

Positivskala	Negativskala	Skala der Allgemeinpathologie
P1 Wahnideen	N1 Affektverflachung	G1 Sorge um die Gesundheit
P2 Formale Denkstörungen	N2 emotionaler Rückzug	G2 Angst
P3 Halluzinationen	N3 mangelnder affektiver Rapport	G3 Schuldgefühle
P4 Erregung	N4 soziale Passivität und Apathie	G4 Anspannung
P5 Größenideen	N5 Schwierigkeiten beim abstrakten Denken	G5 Manierismen und unnatürliche Körperhaltung
P6 Misstrauen / Verfolgungsideen	N6 Mangel an Spontaneität und Flüssigkeit der Sprache	G6 Depression
P7 Feindseligkeit	N7 Stereotype Gedanken	G7 motorische Verlangsamung
		G8 unkooperatives Verhalten
		G9 ungewöhnliche Denkinhalte
		G10 Desorientiertheit
		G11 mangelnde Aufmerksamkeit
		G12 mangelnde Urteilsfähigkeit und Einsicht
		G13 Willensschwäche
		G14 mangelnde Impulskontrolle
		G15 Selbstbezogenheit
		G16 aktives soziales Vermeidungsverhalten
		G17 Wut
		G18 mangelnde Verzichtsfähigkeit
		G19 Affektlabilität

Zwei operationalisierte Diagnosesysteme, die in der Klinik oft zur Anwendung gebracht werden, setzen für die Diagnose Schizophrenie nicht nur das reine Vorhandensein der Symptome, sondern auch eine bestimmte Mindestdauer voraus.

Diese zwei Systeme sind:

das System der Weltgesundheitsorganisation (WHO), *International Classification of Diseases, tenth Edition (ICD-10)* und das System der American Psychiatric Association (APA), *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fourth Edition (DSM-IV)*.

Nach der ICD-10-Klassifikation sind bei der Diagnose Schizophrenie folgende Symptome charakteristisch:

- Kontrollwahn
- Beeinflussungswahn oder das Gefühl des Gemachten
- Wahnwahrnehmung
- Halluzinationen in allen Sinnesmodalitäten
- desorganisierte Sprechweise (Assoziationslockerung und Zerfahrenheit)
- katatone Symptome
- Apathie, Sprachverarmung
- Affektverflachung
- Affektverarmung und
- inadäquater Affekt.

Um die Diagnose Schizophrenie feststellen zu können, müssen einige dieser Symptome für mindestens 4 Wochen die meiste Zeit vorhanden sein. Des Weiteren dürfen diese Symptome nicht durch eine organische Erkrankung erklärbar sein (Weltgesundheitsorganisation, 2009).

Das andere Verfahren ist die DSM-IV-Klassifikation. Sie beschreibt folgende Symptome als charakteristisch für die Diagnose Schizophrenie:

- Wahn (Beziehungswahn, Verfolgungswahn, Eifersuchtwahn, etc.)
- Halluzinationen jeder Sinnesmodalität

-
- Zerfahrenheit oder häufiges Entgleisen
 - grob desorganisiertes oder katatonisches Verhalten
 - negative Symptome wie Willensschwäche, Alogie und flacher Affekt.

Die Zeichen des Störungsbildes müssen insgesamt mindestens 6 Monate bestehen, wobei die Vollausprägung der Symptome einer floriden Episode eine Dauer von mindestens 4 Wochen erfüllen sollte. Während der Initialphase (Prodromalphase) sowie während der Phase nach einer akuten Episode (Residualphase), können negative Symptome oder abgeschwächte Symptome einer floriden Phase bestehen. Differentialdiagnostisch müssen andere Erkrankungen ausgeschlossen sein. So darf die Symptomatik durch eine andere somatische Erkrankung (z. B. organische Erkrankung, Folge von Medikamenten- oder Drogenkonsum) oder eine andere psychiatrische Erkrankung (z. B. schizoaaffektive Störung, affektive Störung mit psychotischen Merkmalen) nicht besser erklärbar sein. Ein weiteres Kriterium für diese Diagnose ist die Beobachtung während der Episode von sozialen sowie beruflichen Leistungsbeeinträchtigungen. Für eine bedeutende Zeitspanne seit dem Beginn der Störung sind eine oder mehrere Funktionsbereiche wie Arbeit, zwischenmenschliche Beziehungen oder Selbstfürsorge deutlich unter dem Niveau, das vor dem Beginn erreicht wurde (Association, 1994).

1.1.3 Subtypen

Beide Diagnosesysteme klassifizieren die Subtypen der schizophrenen Erkrankung in ähnlicher Weise. Tabelle 4 zeigt die verschiedenen Subtypen der Schizophrenie in der ICD-10-Klassifikation und sein Korrelat, sofern dieses vorhanden ist, in der DSM-IV-Klassifikation.

Tabelle 4: Subtypen der Schizophrenie nach der ICD-10- und DSM-IV-Klassifikation

ICD-10	DSM-IV
Paranoide Schizophrenie (F20.0)	Paranoider Typus (295.30)
Hebephrene Schizophrenie (F20.1)	Desorganisierter Typus (295.10)
Undifferenzierte Schizophrenie (F20.3)	Undifferenzierter Typus (295.90)
Postschizophrene Depression (F20.4)	
Schizophrenes Residuum (F20.5)	Residualer Typus (295.60)
Schizophrenia Simplex (F20.6)	

1.1.4 Beginn und Verlauf

Die Beginn- und Verlaufsformen der Schizophrenie sind zahlreich. Diese beiden Aspekte zeigen während einer schizophrenen Episode eine hohe inter- und intraindividuelle Heterogenität (Riecher-Rossler et al., 1998).

Der Beginn der Erkrankung kann akut oder schleichend sein, wobei sich bei akuten Krankheitsmanifestationen das Vollbild einer Psychose oft innerhalb von Tagen oder Wochen aus vollkommener Gesundheit heraus entwickelt und bei schleichend beginnenden Schizophrenien vor dem Vollbild der Psychose ein im Wesentlichen durch Negativsymptome charakterisierter, gradueller geistiger Abbauprozess feststellbar ist (Prodromalphase). Diese Prodromalphase kann Monate bis Jahre andauern. (Bottlender et al., 2006).

Zu den Verlaufsformen werden der episodische sowie der chronische Verlauf gezählt. Nach dem episodischen Verlauf kann die Vollremission oder die Teilremission mit oder ohne Residualsymptomatik (in Form von negativen Symptomen) eintreten. Am häufigsten zeigen sich episodische Verläufe mit Restsymptomatik. Diese werden häufiger als einzelne Episoden ohne Restsymptomatik beobachtet (Watt et al., 1983).

1.1.5 Epidemiologie

Die Punktprävalenz bei der Schizophrenie wird auf 1.4 - 4.6/1000 Einwohner und die jährliche Punktprävalenz auf 0.46/1000 Einwohner eingeschätzt (Brown, 2011; Jablensky, 2000). Die jährliche Inzidenz berechnet sich auf 15/100.000 Einwohner, die mittlere Inzidenzrate auf 15.2/1000 Einwohner, mit einem Rang zwischen 7.7 und 43.0/1000 Einwohner (Brown, 2011; Engels et al., 2014; McGrath et al., 2008).

Inzidenz und Prävalenz variieren je nach Geschlecht. Während die Prävalenz in beiden Geschlechtern gleich hoch ist (Saha et al., 2005), ist die Inzidenz bei Männern höher als bei Frauen (1.4:1) (McGrath et al., 2008; McGrath et al., 2009).

Das Risiko eine Schizophrenie zu entwickeln liegt *lifetime* durchschnittlich bei ca. 0.7% (McGrath et al., 2008; Tandon et al., 2008). Die Mortalitätsrate bei schizophrenen Patienten wird *lifetime* mit 7.2/1000 Einwohner angegeben, (McGrath et al., 2008) und ist somit im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden um das Zwei-

bzw. Dreifache erhöht. Dabei ist Suizid die häufigste Todesursache (McGrath et al., 2008).

1.1.6 Ätiopathogenese der Schizophrenie

Die Schizophrenie ist multifaktoriell bedingt; das bedeutet, dass mehrere Aspekte für die Entwicklung der Erkrankung verantwortlich sind. Es gibt prädisponierende und auslösende Faktoren. Die wichtigsten prädisponierenden Faktoren der Schizophrenie sind Umwelteinflüsse, genetische sowie neurobiologische Faktoren (Tandon et al., 2008). Die Interaktion dieser prädisponierenden Faktoren führt bei den Betroffenen zu einer Vulnerabilität, die, unterstützt von Stressoren wie z. B. „Live-Events“ (im Sinne von schwierigen Lebenssituationen und mangelnden Bewältigungsstrategien wie z. B. Tod in der Familie, Arbeitsplatzverlust, Trennung, etc.) oder Drogenkonsum (v. a. Cannabis), zum Ausbruch der Erkrankung führen können (Abbildung 1).

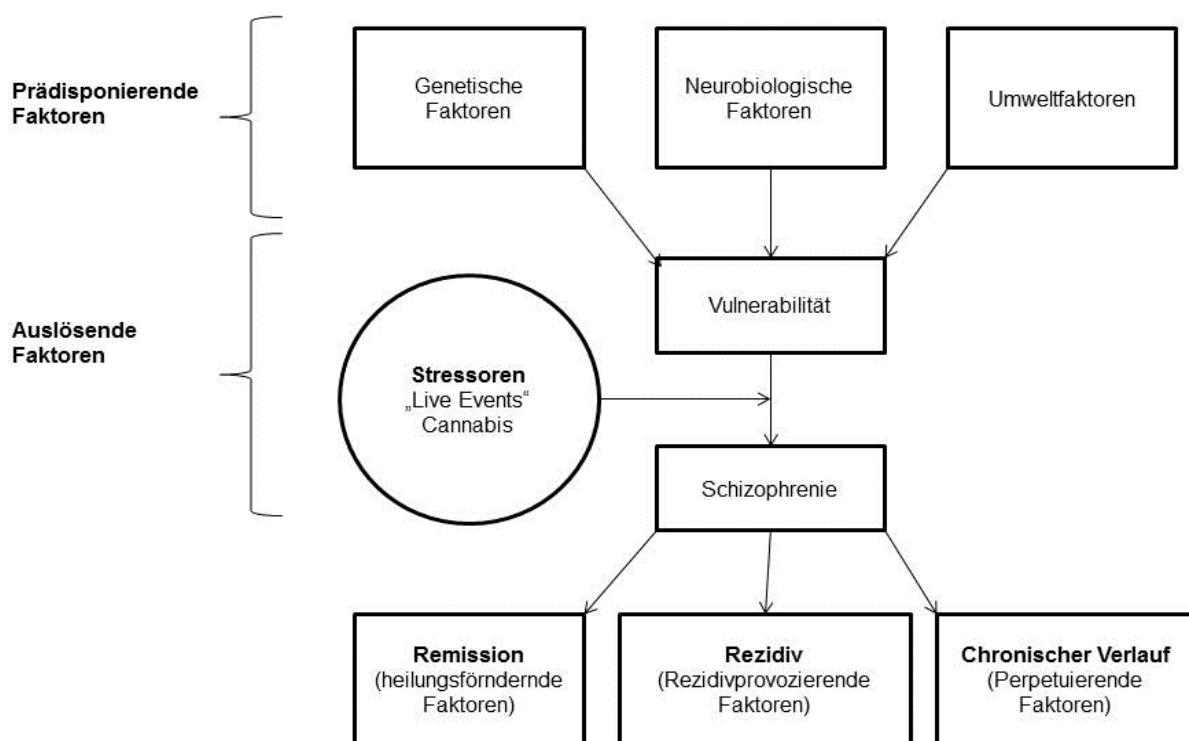


Abbildung 1: Vereinfachte Darstellung der multifaktoriellen Entstehung der Schizophrenie nach Möller (Möller et al., 2005).

1.1.6.1 Auslösende Faktoren

1.1.6.1.1 Cannabiskonsum

Der Drogenkonsum, vor allem Cannabiskonsum, ist ein wichtiger auslösender Faktor für die Schizophrenie. Aus der Tatsache, dass es auf der einen Seite viele Menschen gibt, die trotz Cannabiskonsums keine schizophrene Psychose entwickeln und es auf der anderen Seite solche gibt, die eine Schizophrenie ausbilden, ohne Drogen zu konsumieren, lässt sich schließen, dass der Cannabiskonsum an sich keine direkte schizophrene Psychose zur Folge hat, sondern vielmehr mit anderen wichtigen Faktoren interagieren muss (Radhakrishnan et al., 2014; Sewell et al., 2010).

Der Wirkstoff von Cannabis ist THC (delta 9-Tetrahydro-Cannabinol). Dieser Wirkstoff entfaltet seine Wirkung auf dem Cannabinoid 1-Rezeptor (CB1R) im zentralen Nervensystem, besonders in den Basalganglien, Kleinhirn, Hippocampus und Cortex und Cannabinoid 2-Rezeptor (CB2R) im peripheren Nervensystem. THC moduliert die Freisetzung von Neurotransmittern, vermindert die Funktion glutamaterger und steigert die Funktion dopaminerger Rezeptoren im mesolimbischen System (Bossong et al., 2014; Makkos et al., 2010).

Cannabiskonsum kann positive, negative und kognitive Symptome auslösen. Bei schizophrenen Patienten führt der Cannabiskonsum zu einer Exazerbation oder zu einem Rezidiv der Erkrankung und beeinflusst auf negative Weise ihre Entwicklung (Radhakrishnan et al., 2014; Sewell et al., 2010).

Aktuelle Studien zeigen, dass bei schizophrenen Patienten, die im frühen Alter Cannabis konsumiert haben, strukturelle und semistrukturelle Veränderungen im Gehirn zu beobachten sind. So wurde z. B. in einer Studie gezeigt, dass bei schizophrenen Patienten, die vor dem 17. Lebensjahr Cannabis konsumiert haben, Veränderungen in der weißen Substanz auftreten. Sie konnten vor allem auf beiden Fasciculi uncinati, in der vorderen Capsula interna und in den frontalen Lappen der corticalen Zonen des Gehirns festgestellt werden. Diese Modifikationen traten bei schizophrenen Patienten ohne Cannabiskonsum vor dem 17. Lebensjahr nicht auf (Peters et al., 2009). Eine andere Studie konnte demonstrieren, dass Cannabiskonsum bei schizophrenen Patienten eine Densitätsverminderung der grauen Substanz auslösen kann (Bangalore et al., 2008).

1.1.6.1.2 Kritische Lebensereignisse (Live Events)

Bei kritischen Lebensereignissen handelt es sich nicht direkt um schwierige Situationen, die im Leben eines Menschen vorkommen, sondern vielmehr um eine Störung bei der Auswahl von Bewältigungsstrategien bei Menschen, die eine Vulnerabilität für Schizophrenie entwickelt haben.

Solche kritische Lebensereignisse treten oft 3-4 Wochen vor dem Ausbruch der Erkrankung oder bei Exazerbation auf. Der Verlust eines nahestehenden Menschen (wegen Tod, Trennung, etc.), der Umzug in ein anderes Land oder eine andere Stadt und die fehlende oder gestörte Kommunikation in der Familie gehören zu den kritischen bzw. stressigen Lebensereignissen, die bei prädisponierten Patientengruppen eine Schizophrenie auslösen können (Lukoff et al., 1984). Der genaue Mechanismus der Auslösung einer Schizophrenie durch *live events* ist allerdings noch nicht bekannt.

1.1.6.2 Prädisponierende Faktoren

1.1.6.2.1 Umweltfaktoren

Ätiologisch können viele Umweltfaktoren ursächlich für eine Schizophrenie sein (Brown, 2011). Dabei handelt es sich sowohl um biologische, biotische als auch um psychologische Risikofaktoren, die während der prä- und perinatalen Phase sowie der Kindheit auftreten. Zu den prä- und perinatalen Risikofaktoren zählen Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen. Geddes und Kollegen untersuchten im Jahr 1999 die Assoziation zwischen Schizophrenie und diesen Risikofaktoren und konnten demonstrieren, dass eine signifikante Assoziation zwischen Schizophrenie und vorzeitigem Blasensprung, Geburt vor der 37. Schwangerschaftswoche, Reanimation des Säuglings während der Geburt und der Umlagerung des Säuglings in einen Inkubator bestand. Grenzwertig signifikant war die Assoziation zwischen Schizophrenie und Geburtsgewicht unter 2.500 g und Zangengeburt. Möglicherweise wäre eine Hypoxie die Konsequenz dieser Komplikationen, die als alleinige Ursache verantwortlich für die Entstehung der Schizophrenie wäre (Geddes et al., 1999). Eine weitere Studie untersuchte den Zusammenhang zwischen pränataler Tabakrauch-Exposition und der späteren Entwicklung einer Schizophrenie. Die Tabakrauch-Exposition erhöht durch Hypoxie, endokrine Dysregulation und neurologische

Fehlentwicklung des Fötus die Vulnerabilität für die spätere Entwicklung einer Schizophrenie mit schweren negativen Symptomen (Stathopoulou et al., 2013). Infektionen der Mutter während der Schwangerschaft sowie eine Mangelernährung (vor allem Unterernährung, Eisen-, Folsäure- und Vitamin D-Mangel) während des ersten und Anfang des zweiten Trimenons der Schwangerschaft wurden ebenfalls in Verbindung mit Schizophrenie gebracht (Brown, 2011; Kneeland et al., 2013; Penner et al., 2007; Tandon et al., 2008).

Die häufigste Infektion der Mutter während der Schwangerschaft wird durch das Influenza-Virus verursacht (Tandon et al., 2008). Brown und Kollegen zeigten in einer Studie, dass das Risiko für die Entwicklung einer Schizophrenie um das Siebenfache stieg, wenn die Mutter an einer Influenza-Infektion während des ersten Trimenons der Schwangerschaft erkrankte (Brown et al., 2004). Auch andere Infektionen der Mutter während der Schwangerschaft, wie z. B. *Toxoplasma gondii*, Herpes simplex-Virus, Rubella-Virus und andere, wurden mit einem erhöhten Risiko für die Entstehung der Schizophrenie in Verbindung gebracht (Brown, 2011; Krause et al., 2010; McGrath et al., 2009; Tandon et al., 2008). Eine Studie untersuchte den Zusammenhang zwischen Immunantwort- gemessen als Antikörpertiter - und der Entwicklung einer Schizophrenie. Sie zeigte, dass nicht infektiöse Erreger, sondern die resultierende Immunantwort durch Schädigung des zentralen Nervensystems die Entwicklung einer Schizophrenie fördern kann (Krause et al., 2010). Der saisonale Geburtszeitpunkt wird auch als Risikofaktor diskutiert, wobei die meisten schizophrenen Patienten im Herbst bzw. Winter geboren sind (Davies et al., 2003). Das hohe Alter des Vaters zum Zeitpunkt der Empfängnis erhöht ebenfalls signifikant das Risiko, eine Schizophrenie zu entwickeln (Dragomir et al., 2010; Svensson et al., 2013).

Des Weiteren können manche Umweltfaktoren während der Kindheit zur Entwicklung der Schizophrenie beitragen. Kindheitstraumata, im Sinne von traumatischen psychologischen Erlebnissen (z. B. Kindesmissbrauch), erhöhen die Stress-Sensibilität lebenslang und werden als Risikofaktor für die Entwicklung einer klinischen Schizophrenie betrachtet (Lardinois et al., 2011; Sideli et al., 2012).

Kopfverletzungen während der Kindheit wurden in einer Studie bei schizophrenen, depressiven und manischen Patienten sowie bei Kontrollprobanden untersucht,

wobei das Ergebnis eine deutlich gesteigerte Häufigkeit von Kopfverletzungen während der Kindheit bei schizophrenen Patienten zeigte (Wilcox et al., 1987).

Der Verlust eines Elternteils oder die Trennung der Eltern während der Kindheit ist mit einem erhöhtem Risiko für die Entwicklung einer Psychose assoziiert (Furukawa et al., 1998; Morgan et al., 2007).

Das soziale Umfeld, in dem ein Kind aufgewachsen ist, beeinflusst die spätere Entwicklung einer Schizophrenie. Kinder, die in schwierigen sozialen und finanziellen Familienverhältnissen aufgewachsen sind, entwickeln häufiger eine Schizophrenie im Erwachsenenalter (Morgan et al., 2010; Wicks et al., 2010a). Der Geburtsort sowie der Ort, an dem ein Kind aufgewachsen ist, beeinflussen die Vulnerabilität für eine spätere Schizophrenie. So wurden des Öfteren schizophrene Patienten beobachtet, die in großen Städten geboren bzw. aufgewachsen sind (Kelly et al., 2010; van Os et al., 2004). In diesem Zusammenhang konnte eine Studie demonstrieren, dass die Geburt in ländlichen Gebieten einen protektiven Effekt zeigt (Svensson et al., 2013). Kinder mit Migrationshintergrund zeigen eine erhöhte Tendenz für eine spätere Schizophrenie. Die soziale Benachteiligung, die sie während der Kindheit erleiden (im Sinne von Diskriminierung, Mobbing, Kommunikationsschwierigkeiten, etc.) scheint die Vulnerabilität einer Psychose zu steigern (Selten et al., 2007). All diese Faktoren unterstützen die soziogene Hypothese (auch social stagnation hypothesis genannt). Sie besagt, dass schizophrene Patienten prinzipiell aus unteren sozialen Schichten kommen und deshalb keinen sozialen Einstieg und somit keine soziale Entwicklung zeigen (Dunham, 1965). Im Gegensatz dazu beschreibt die „drift-hypothese“, dass schizophrene Patienten einen sozialen Abstieg erleiden, als Folge der Erkrankung (an der Heiden et al., 2000).

1.1.6.2 Neurobiologische Faktoren

Neurobiologische Faktoren sind prädisponierende Faktoren für die Entwicklung der Schizophrenie. Es wird angenommen, dass die neurobiologischen Veränderungen aus der Interaktion zwischen genetischen Faktoren und Umwelteinflüssen resultieren.

Neuroanatomische Veränderungen wurden bei Patienten und Kontrollprobanden in *post mortem*-Studien untersucht und mit Hilfe struktureller Bildgebung bestätigt. Die

Ergebnisse dieser Studien zeigen, dass vor allem die Temporal- und Frontallappen verändert sind (Wong et al., 2003). Es wurde hierbei eine Vergrößerung der Ventrikel (vor allem des Ventriculus tertius und der Ventriculi laterales) sowie des Cavum septi pellucidi festgestellt (Chance et al., 2003; Kempton et al., 2010; Shenton et al., 2001). Zudem wurden atrophische Veränderungen des Cortex cerebri bei schizophrenen Patienten beobachtet. Hier scheinen jeweils sowohl die graue als auch die weiße Substanz betroffen zu sein (Di et al., 2009; Glahn et al., 2008; Wright et al., 2000). Diese Veränderung wurde in den Temporallappen beobachtet. Hier sind besonders folgende Strukturen betroffen: der Hippocampus, die Amygdala und der Gyrus temporalis superior (Shenton et al., 2001; Yoshida et al., 2009). Ebenfalls atrophisch verändert sind der Cortex präfrontalis, der Thalamus (Konick et al., 2001), sowie der Cortex Orbitofrontalis (Nakamura et al., 2008), der Gyrus cinguli anterior (Baiano et al., 2007) und das Corpus callosum (Woodruff et al., 1995). Die Basalganglien (Hashimoto et al., 2009) und das Cerebellum (Rasser et al., 2010) können ebenfalls verändert sein. Viele dieser Studien erklären die Veränderungen als degenerative Prozesse, andere als Hirnentwicklungsstörungen. Ob eine dieser Theorien als einzige Erklärung dieser Veränderung gelten kann oder ob sich beide Ansätze ergänzen und gemeinsam die beschriebenen Veränderungen erklären, konnte bis heute abschließend nicht geklärt werden (Keshavan et al., 2008; Ross et al., 2006).

Störungen der kortikalen Neurotransmission bilden einen weiteren wichtigen neurobiologischen Faktor, der in den letzten Jahren immer mehr an Bedeutung gewonnen hat. Mit Hilfe der PET (Positronen-Emissions-Tomographie) und SPECT (Single-Photon-Emissionscomputertomographie) konnten diese Vorgänge besser demonstriert und fehlerhafte Funktionen deutlicher erkannt werden.

Das dopaminerge Neurotransmittersystem ist das am längsten und am meisten untersuchte und diskutierte System und in diesem Zusammenhang die älteste Theorie der Pathophysiologie der Schizophrenie (Crow et al., 1976; Laruelle et al., 1999; Meltzer et al., 1976; Murray et al., 2008; Seeman, 1987; van Kammen, 1979; van Kammen et al., 1991). Dopaminerge Bahnen verlaufen von der Substantia nigra und vom ventralen Tegmentum zu mesolimbischen, mesokortikalen und striatalen Regionen des Gehirns. Eine separate tuberoinfundibuläre Bahn erstreckt sich vom Hypothalamus zur Hypophyse. Die Familie der dopaminergen Rezeptoren unterteilt

sich in D1- (D1 und D5) und D2-Rezeptoren (D2, D3 und D4) (Arolt et al., 2006). Die direkte Messung des Dopamingehalts während der akuten Phase der Psychose im menschlichen Gehirn ist bis heute noch nicht möglich. Der Dopamingehalt im Gehirn wurde bisher lediglich indirekt durch den Effekt von Neuroleptika sowie durch den Effekt von Amphetaminen nachgewiesen (Arolt et al., 2006; Guillin et al., 2007; Laruelle et al., 1999). Laruelle und Kollegen provozierten in einer Studie die Dopamin-Freisetzung im Corpus striatum durch die Gabe von Amphetaminen bei schizophrenen Patienten sowie bei gesunden Kontrollprobanden und konnten dadurch demonstrieren, dass der Dopaminanstieg im Corpus striatum bei schizophrenen Patienten doppelt so hoch wie bei gesunden Kontrollprobanden war. Dieser Dopaminanstieg wurde sowohl bei medikamentös behandelten wie auch bei nie zuvor medikamentös behandelten Patienten beobachtet, während remittierte Patienten eine normale Dopaminantwort zeigten (Heinz, 2000; Laruelle et al., 1999; Laruelle et al., 1996). In einer weiteren Studie wurde eine Lateralisation der Hyperaktivität im Corpus striatum bei schizophrenen Patienten beobachtet. Dabei zeigte das linke Corpus striatum, besonders der Nucleus caudatus eine größere Dopamin-Aktivität als der rechte (Hsiao et al., 2003; Nozaki et al., 2009). Einige Hinweise deuten darauf hin, dass die Dopaminsteuerung in manchen Thalamus-Subregionen ebenfalls gestört ist. So wurden manche Subregionen des Thalamus bei schizophrenen Patienten in *post mortem*-Studien untersucht und es konnte ein Überschuss von Dopamin im Vergleich zu anderen Neurotransmittern festgestellt werden. Die Größe des Thalamus ist ebenfalls verändert, meistens im Sinne einer Verkleinerung, was manche klinische Symptome erklären würde (Cronenwett et al., 2010).

Der genaue Mechanismus der Fehlregulation von Dopamin ist bis heute noch nicht hinreichend geklärt. Eine Hypothese ist die Erhöhung von Dopamin-Rezeptoren bei schizophrenen Patienten in vielen Hirnregionen (Hess et al., 1987; Seeman et al., 1984). Diese Theorie wurde mittels *post mortem*-Studien etwas genauer erklärt. Diese Studien haben gezeigt, dass schizophrene Patienten eine erhöhte D2-Rezeptordichte aufweisen (Akiskal, 1985). Guillin und Kollegen beobachteten, dass die subkortikale limbische Hyperaktivität von D2-Rezeptoren mit Positivsymptomatik (v. a. Wahn und Halluzinationen) und die frontale und präfrontale kortikale Hypoaktivität von Dopaminrezeptoren mit kognitiven Einbußen sowie Negativsymptomatik (v. a. Verarmung des Denkens und der Sprache, Verminderung

der Motivation und des Antriebs) korreliert (Guillin et al., 2007). Andere Dopamin-Rezeptoren weisen ebenso eine veränderte Dichte auf. So wurde in einer Studie demonstriert, dass bei schizophrenen Patienten nicht nur die D2-Rezeptoren sondern auch die D3-Rezeptordichte in striatalen und extrastriatalen Regionen des Gehirns erhöht ist (Kegeles et al., 2010). Lahti und Kollegen konnten 1998 eine erhöhte D4-Rezeptordichte bei schizophrenen Patienten im entorhinalen Kortex (Brodmann Area 28) eine Struktur, die im medialen Temporallappen neben dem Hippocampus liegt, nachweisen (Lahti et al., 1998). Knable und Kollegen untersuchten die D1-Rezeptordichte bei schizophrenen Patienten und stellten eine nicht signifikante Erhöhung der Rezeptordichte im Bereich des Präfrontalkortex und des Gyrus cingulum fest (Knable et al., 1996). Eine Einteilung in hoch- und niedrigaffine D1-Rezeptoren sowie ein fehlendes Gleichgewicht der beiden Rezeptor-Subtypen bei schizophrenen Patienten wurde postuliert. Laut einer Studie besitzt der Nucleus caudatus von schizophrenen Patienten eine größere Menge hochaffiner D1-Rezeptoren (Mamelak et al., 1993).

Das glutamaterge Neurotransmittersystem ist ein weiteres Forschungsgebiet in der Neurobiologie der Schizophrenie. Glutamat ist ein Neurotransmitter der Pyramidenzellen, welcher in ca. 40 % der Synapsen nachgewiesen werden kann. Er kommt im gesamten Kortex sowie im Hippocampus vor. Das System projiziert auf das limbische System, die Basalganglien und den gesamten Kortex. Es gibt zwei Gruppen membranständiger Rezeptoren des glutamatergen Neurotransmittersystems: die metabotropen Rezeptoren, welche die Proteinlipase C und Adenylatzyklase regulieren und die ionotropen Rezeptoren, die durch Ionenveränderungen das Membranpotential regulieren. Die ionotropen Rezeptoren werden in 3 Hauptklassen unterteilt: die Ketamin-empfindlichen NMDA-, die AMPA- sowie die Kainarezeptoren. Für die Aktivierung der NMDA-Rezeptoren müssen gleichzeitig zwei Agonisten vorhanden sein: Glutamat und Glycin oder D-Serin (Arolt et al., 2006). Die ersten Studien über die Rolle des glutamatergen Systems bei Schizophrenie postulierten einen Mangel an Glutamat im Liquor (Kim et al., 1980). Diese Theorie konnte jedoch nicht verifiziert werden (Perry, 1982). In weiteren Studien konnte gezeigt werden, dass eine verminderte Anzahl an Glutamat-Rezeptoren, genauer N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptoren (NMDA-Rezeptoren), die Ursache für die Fehlfunktion des hemmenden glutamatergen Systems ist (Kinon, 2010; Moghaddam et al., 2003). Eine Studie postuliert, dass ein Glutathion-Defizit im

Gehirn die Ursache der verringerten Anzahl an NMDA-Rezeptoren ist (Do et al., 2009). Dies bewirkt eine erhöhte Freisetzung von Glutamat und Acetylcholin in der Hirnrinde (Olney et al., 1999).

Die Gabe von Glutamatrezeptor-Antagonisten löst bei gesunden Personen eine Psychose aus und führt bei schizophrenen Patienten zu einer Verschlechterung der psychotischen Symptomatik. Die Verabreichung des NMDA-Antagonisten Phencyclidin (PCP) oder des dissoziativen Anästhetikum Ketamin (ein chirales Cyclohexanol, verwandt mit Phencyclidin) führte bei Gesunden zu einer Psychose, die sich vor allem durch kognitive Einschränkungen und Verhaltensauffälligkeiten auszeichnet. Bei schizophrenen Patienten führt sie zu einer Exazerbation vorhandener schizophrener Symptomatik und bei remittierten Schizophrenen zu einem Wiederauftreten der psychotischen Symptome (Adler et al., 1999; Haenschel et al., 2000; Morris et al., 2005). In einer weiteren Studie konnte an Tieren gezeigt werden, dass nach der Verabreichung von MK-801 (einem weiteren NMDA-Antagonisten) strukturelle Hirnveränderungen folgen (beispielweise in der Expression von NR1 und NR2 Untereinheiten des NMDA-Rezeptors, Reduktion der Anzahl von GABAergen Interneuronen). Solche Veränderungen weisen Ähnlichkeiten zu den beobachteten Hirnmodifikationen bei schizophrenen Patienten in verschiedenen *post mortem*-Studien auf (Rujescu et al., 2006).

Ein wichtiger Aspekt des glutamatergen Systems ist die Interaktion mit anderen Neurotransmittersystemen, wie z. B. dem GABAergen-System und dem Dopaminsystem. Kortikofugale glutamaterge Neurone kontrollieren monoaminerge Neurone: Direkt verschaltet aktivieren sie dopaminerige, noradrenerge und serotonerige Neuronen. Wird jedoch ein GABAerges Interneuron zwischengeschaltet, wirkt Glutamat hemmend auf die monoaminergen Neurone (Arolt et al., 2006). Die GABAergen Interneurone sind im dem präfrontalen Kortex sowie im Hippocampus lokalisiert. Des Weiteren spielen sie eine wichtige Rolle bei der Hemmung von glutamatergen Pyramidenzellen. Diese GABAergen Interneurone besitzen NMDA-Rezeptoren und werden durch glutamaterge Afferenzen und Kollateralen stimuliert (Coyle, 2004). Bei schizophrenen Patienten zeigen die GABAergen Interneuronen eine verminderte Anzahl von NMDA-Rezeptoren, was wiederum eine verminderte Hemmung von glutamatergen Pyramidenzellen zur Folge hat. Diese Enthemmung der glutamatergen Pyramidenzellen bewirkt eine exzessive Glutamatfreisetzung. Die

Überstimulation von NMDA-Rezeptoren durch den erhöhten Glutamatgehalt im synaptischen Spalt führt zu einer gesteigerten Durchlässigkeit der Membran für Ca^{2+} - und Cl^- -Ionen, dies erhöht den osmotischen Druck in der Zelle und induziert somit die Zelllyse (Exzitotoxizität). Sollte die Zelle diese Veränderungen kompensieren, wird die Apoptose in Gang gesetzt. Dies weist auf eine progressive neuronale Degeneration und eine glutamaterge Hypofunktion hin (Konradi et al., 2003). Eine Interaktion mit dem dopaminergen System ist auch beschrieben worden. In einer Studie konnte gezeigt werden, dass subanästhetische Dosen von Ketamin zu einer Dopaminfreisetzung im Striatum führen, was die Symptomatik der Schizophrenie auslöst oder verstärkt (Smith et al., 1998). Abbildung 2 zeigt die Auswirkung der glutamatergen Hypofunktion auf die Schizophrenie.

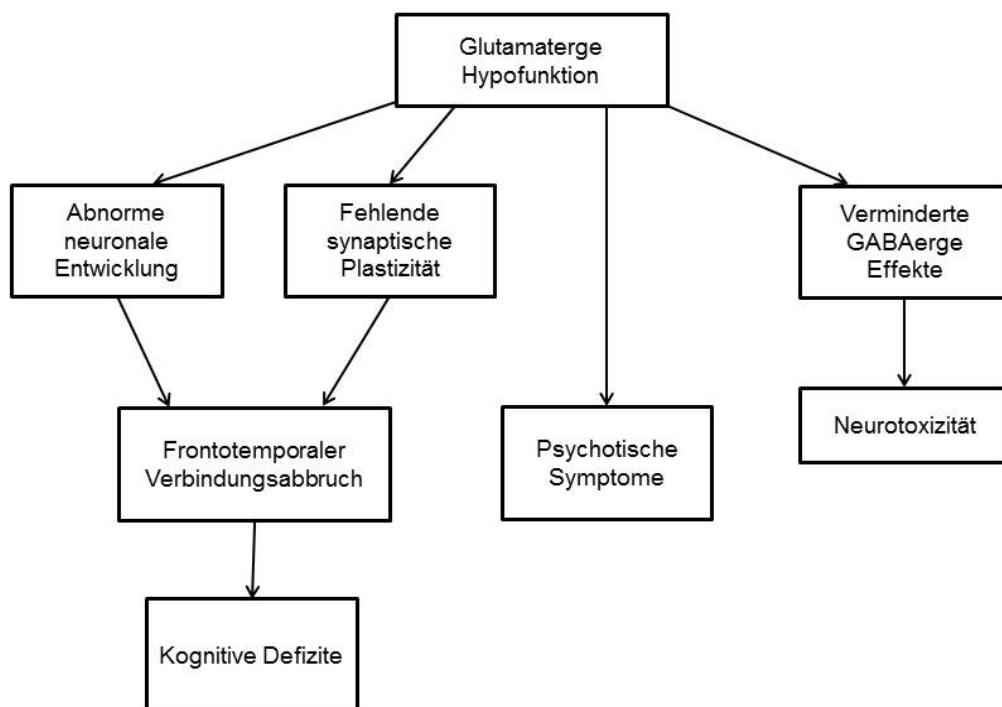


Abbildung 2: Auswirkung der glutamatergen Hypofunktion auf Schizophrenie (Konradi et al., 2003).

Das serotoninerge System könnte ebenfalls eine Rolle bei der Pathophysiologie der Schizophrenie spielen (Bleich et al., 1988). Diese Theorie basiert auf der Tatsache, dass der Drogenkonsum vom Typ 5HT-Agonisten, wie z. B. Lysergsäurediethylamin (LSD), psychotische Symptome hervorrufen kann, welche teilweise denen der

Schizophrenie ähnlich sind (Breier, 1995). Serotoninerge Neurone sind in den Raphekernen im Hirnstamm lokalisiert. Aus dem Hirnstamm verlaufen serotoninerge Verbindungen in den gesamten Kortex und in das Striatum. Es besteht eine ausgeprägte Verbindung über den Thalamus zum Hippocampus (Arolt et al., 2006). Es sind mittlerweile viele Serotoninrezeptoren-Subtypen beschrieben. Serotonin ist als 5-Hydroxytryptamin das biogene Amin der für den Menschen essentiellen Aminosäure Tryptophan – so lässt sich die Rezeptor-Nomenklatur „5-HT-Rezeptoren“ verstehen. Die Serotoninrezeptor-Subtypen sind: 5HT-1_{a,b,c,d,e,f}, 5HT-2_{a,b,c}, 5HT-3, 5HT-4, 5HT-5_{a,b}, 5HT-6 und 5HT-7 (Breier, 1995).

Die Dichte der Serotoninrezeptoren (hier v. a. die 5HT-2 Rezeptoren) in den verschiedenen Arealen des Gehirns könnte eine Rolle bei der Pathophysiologie der Schizophrenie spielen. Hier gehen die wissenschaftlichen Meinungen zum Teil jedoch weit auseinander. In *post mortem*-Studien konnte eine verminderte Dichte von 5-HT_{2A} Rezeptoren im präfrontalen Kortex nachgewiesen werden (Arora et al., 1991; Laruelle et al., 1993; Meltzer, 1994). Andere Studien widerlegen diese Theorie und sprechen von einer unveränderten 5HT-2 Rezeptordichte im frontalen Kortex (Joyce et al., 1993; Trichard et al., 1998). Auch Okubo und Kollegen konnten in einer PET-Studie demonstrieren, dass die 5HT-2-Rezeptordichte im präfrontalen Kortex von nicht medikamentös behandelten Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden keinen signifikanten Unterschied aufweist. Bei zuvor mit Neuroleptika behandelten Patienten wurde eine Tendenz zu einer Verminderung der 5HT-2-Rezeptoren beobachtet. Diese Tendenz spricht für die Theorie, dass die Behandlung mit Neuroleptika (hier vor allem die atypischen Neuroleptika) die 5HT-2-Rezeptordichte im Sinne einer Abnahme verändert (Dean, 2003; Okubo et al., 2000). Es wurde postuliert, dass auch die 5HT-1-Rezeptoren einen Einfluss auf die Pathophysiologie der Schizophrenie haben. Eine *post mortem*-Studie bestätigte eine erhöhte 5HT-1-Rezeptordichte in dem präfrontalen Kortex. Die Arbeitsgruppe konnte zeigen, dass die Stimulation von solchen Rezeptoren die Freisetzung von Dopamin im präfrontalen Kortex verursacht (was die negative Symptomatik verbessern könnte). Ihr Vorkommen in der Zellmembran von Pyramidenzellen deutet auf eine mögliche Interaktion von 5HT-1-Rezeptoren mit dem glutamatergen System hin (Bantick et al., 2001).

Obwohl es bis dato noch keinen direkten Nachweis für eine bedeutsame serotoninerge Fehlfunktion in der Ätiopathogenese der Schizophrenie gibt, sind die verschiedenen 5HT-Rezeptoren (vor allem 5HT-3- und 5HT-6-Rezeptoren) weiterhin von großem Interesse für die Forschung auf diesem Gebiet in der Medizin (Keshavan et al., 2008).

1.1.6.2.3 Genetische Faktoren

Genetische Epidemiologie der Schizophrenie

Genetische Faktoren haben in den letzten Jahren immer mehr an Bedeutung für die Ätiopathologie der Schizophrenie gewonnen. Familien-, Adoptions- und Zwillingsstudien gaben die ersten Hinweise auf eine genetische Prädisposition für Schizophrenie und auf den Einfluss von nicht genetischen Faktoren auf diese Erkrankung.

Familienstudien untersuchen die Phänotypverteilung bei Angehörigen derselben Familie, soweit diese „blutverwandt“ sind. Familienstudien treffen eine Aussage über die Häufung einer Diagnose bzw. Erkrankung in der Familie, sind jedoch für die Differenzierung von Ursachenfaktoren (genetische Faktoren, Umweltfaktoren) weitestgehend ungeeignet (Maier et al., 2008). Wie oben schon erwähnt beträgt die Prävalenz der Erkrankung bei der Allgemeinbevölkerung 1 %. Familienstudien haben gezeigt, dass Verwandte 1. Grades ein Risiko für Schizophrenie von 6-17 %, Verwandte 2. Grades ein Risiko von 4-6 % und Verwandte 3. Grades ein Risiko von 2-4 % aufweisen. Eineiige Zwillinge zeigen sogar ein Risiko von 48 % für diese Erkrankung (Gottesman et al., 2001).

Zwillingsstudien bestätigen im Allgemeinen die Relevanz genetischer Faktoren in der Schizophrenie. Sie vergleichen die Übereinstimmung (Konkordanzrate) zwischen eineiigen und zweieiigen Zwillingen. Die besondere Aussagekraft basiert auf der systematischen Variation des Ausmaßes genetischer Übereinstimmung bei weitgehend ähnlichen Umgebungsbedingungen der beiden Zwillinge. Der Unterschied in der Konkordanzrate zwischen eineiigen und zweieiigen Zwillingen gibt Auskunft über das Ausmaß der genetisch determinierten Varianz (Maier et al., 2008). Neuere Zwillingsstudien schätzen die Konkordanzrate bei Schizophrenie auf 41-65 % bei eineiigen Zwillingen und auf 0-28 % bei zweieiigen Zwillingen (Hilker et al., 2010).

Basierend auf diesen Daten wird die Heritabilität auf 80 % geschätzt (Mössner et al., 2009; Sullivan et al., 2003). Die Tatsache, dass die Konkordanzraten unter 100 % liegen, weist auf den Einfluss von nicht genetischen Faktoren (Umweltfaktoren) auf die Schizophrenie hin (Wong et al., 2005).

Adoptionsstudien ermöglichen die Unterscheidung zwischen genetischen und nicht genetischen Einflussfaktoren der Schizophrenie (Cantor-Graae et al., 2007; Kety et al., 1994; Wicks et al., 2010b). Bei Adoptionsstudien werden entweder die Prävalenzrate einer Erkrankung oder die Ausprägung einer Verhaltendifferenz zwischen wegadoptierten Kindern von Merkmalsträgern und wegadoptierten Kindern von Eltern ohne dieses Merkmal miteinander verglichen oder die Prävalenz der Erkrankung zwischen biologischen Eltern von erkrankten Adoptivkindern und biologischen Eltern von gesunden Adoptivkindern komparativ untersucht (Maier et al., 2008). Viele Adoptionsstudien zeigen, dass adoptierte Kinder, deren leibliche Eltern an Schizophrenie erkrankten, ein höheres Risiko für die Entwicklung dieser Erkrankung aufweisen als adoptierte Kinder, deren leibliche Eltern gesund sind (Hans et al., 2004; Tienari et al., 1987; Tienari et al., 1996; Wicks et al., 2010a). Wicks und Kollegen untersuchten in einer Studie den Einfluss von genetischen und nicht genetischen Faktoren auf die Entwicklung der Schizophrenie. Diese Studie zeigt, dass adoptierte Kinder ohne familiäre Vorbelastung für die Schizophrenie ein höheres Risiko für die Entwicklung dieser Erkrankung aufwiesen, wenn sie bei Adoptiveltern aufwuchsen, welche in schlechten sozioökonomischen Verhältnissen lebten (Arbeitslosigkeit, alleinerziehende Adoptiveltern, in Wohnung lebend) (Wicks et al., 2010b). Adoptierte Kinder, die ein hohes genetisches Risiko für die Schizophrenie tragen, reagieren empfindlicher auf positive sowie negative Erziehungsmaßnahmen als adoptierte Kinder, die ein niedriges genetisches Risiko für die Erkrankung aufweisen (Tienari et al., 2006). Eine andere Studie zeigt die Relevanz von aktuellen Familienverhältnissen auf die Entwicklung der Schizophrenie. Adoptierte Jugendliche, die in schwierigen Familienverhältnissen leben, haben ein höheres Risiko zur Entwicklung der Erkrankung. Undefiniert bleibt in dieser Studie, ob adoptierte Jugendliche vorbelastet für diese Erkrankung sind (Ierago et al., 2010).

Molekulargenetik der Schizophrenie

Die bis heute durchgeführten epidemiologischen, genetischen Studien haben gezeigt, dass die Heritabilität der Schizophrenie den Mendel-Regeln keine Folge leistet. Die Schizophrenie ist also keine monogen verlaufende bzw. entstehende Erbkrankheit. Vielmehr ist sie das Resultat eines komplexen genetischen Erbganges, an dem viele Gene beteiligt sind (Dispositionsgene). Es wird angenommen, dass eine Interaktion zwischen den Dispositionsgenen und der Umwelt stattfindet, was die Vulnerabilität für die Entwicklung der Schizophrenie erhöht. Das Erkennen dieser Dispositionsgene und die Analyse ihrer Interaktion mit der Umwelt stellen eine Herausforderung für die medizinische und populationsgenetische Wissenschaft dar (Knoblauch, 2007).

Mit Hilfe von Kopplungs- und Assoziationstudien wurden Gene identifiziert, die an der Entstehung der Schizophrenie beteiligt sind.

Kopplungsanalysen untersuchen innerhalb von Familien, ob bestimmte chromosomal Abschnitte (auch Kandidatenregionen bzw. Genloci genannt) zusammen mit einem phänotypischen Merkmal (z. B. Schizophrenie) übertragen werden (Kosegregation) (Knoblauch, 2007; Maier et al., 2008).

Die verschiedenen genomweiten Kopplungsstudien lieferten signifikante Ergebnisse über unterschiedliche Genloci, die, gekoppelt mit Schizophrenie, in Familien vererbt wurden. Erst die Durchführung von Metaanalysen, welche genomweite Kopplungsstudien miteinander vergleichen, konnte durch übereinstimmende signifikante Ergebnisse eine bessere Evidenz zu diesem Thema liefern.

Eine Metaanalyse, die im Jahr 2002 durchgeführt wurde, lieferte starke Hinweise in publizierten Studien auf eine signifikante Kopplung zwischen den Genloci 8p, 13q sowie 22q und Schizophrenie (Badner et al., 2002).

Lewis und Kollegen zeigten in einer Metaanalyse im Jahr 2003 eine Übereinstimmung in 20 publizierten und nicht publizierten Kopplungsstudien. Sie konnten eine signifikante Kopplung zwischen folgenden Chromosomen-Regionen feststellen: 2p, 2q, 5q, 3p, 11q, 6p, 1p, 1q, 22q11-12, 8p, 20p, und 14p-q13 und Schizophrenie. Auch andere Genloci waren involviert, allerdings waren diese nicht signifikant (Lewis et al., 2003).

Zwei weitere Studien beschreiben in ihrer Literatur eine starke Evidenz für folgende Chromosomen-Regionen: 6p24–p22, 1q21–q22, 13q32–q34 und eine vielversprechende Evidenz für folgende Chromosomen-Regionen: 8p21–p22, 6q21–q25, 22q11–q12, 5q21–q33, 10p15–p11 (Bulayeva et al., 2007; Knoblauch, 2007).

Eine Metaanalyse aus dem Jahre 2009, die 32 genomweite Kopplungsstudien miteinander verglich, stellte eine signifikante Kopplung der Genloci 1, 2q, 3q, 4q, 5q, 8p und 10q mit der schizophrenen Erkrankung des betroffenen Patienten bzw. der betroffenen Patientin fest. Weiterhin wurden in dieser Studie 22 Kopplungsstudien von Personen, mit ausschließlich europäischer Herkunft, miteinander verglichen. Hierbei konnte eine übereinstimmende Kopplung zwischen dem Chromosom 8p (16-33Mb) und Schizophrenie identifiziert werden (Ng et al., 2009).

Aus den in Kopplungsanalysen identifizierten chromosomalen Abschnitten werden in Assoziationsstudien Kandidatengene (auch Suszeptibilitäts- oder Vulnerabilitätsgene genannt) identifiziert. In diesen Genen werden Allele in ihrer Verteilung, bei nicht verwandten Erkrankten und Kontrollprobanden, in einer Fall-Kontroll-Studie untersucht. Falls eine signifikante Differenz bei der Allelverteilung zwischen Erkrankten und Kontrollprobanden identifizierbar ist, wird eine Assoziation mit der Erkrankung (z. B. Schizophrenie) definiert (Knoblauch, 2007; Rujescu, 2010; Schosser et al., 2004).

In Assoziationsstudien wurden bis heute Kandidatengene untersucht, von denen angenommen wird, dass ihre Produkte an der Entstehung der Erkrankung beteiligt sein könnten (Rujescu, 2010). Einige der bekanntesten Kandidatengene (Abbildung 3), die eine signifikante Assoziation mit Schizophrenie zeigen, sind:

- Das Neuregulin-1-Gen ist auf Chromosom 8p21-22 lokalisiert. Neuregulin und sein ERBB4 Rezeptor spielen eine zentrale Rolle in der neurologischen Entwicklung sowie in der Expression und Aktivierung von Neurotransmitterrezeptoren (u. a. Glutamat) (Giegling et al., 2010; Harrison et al., 2006; Hoefgen et al., 2004; Stefansson et al., 2003; Williams et al., 2003).
- Das Dysbindin-Gen befindet sich im Chromosom 6p22.3. Dieses Gen codiert für das Dystrobrevin bindende Protein 1 (DTNBP1) und ist bis dato das überzeugendste Suszeptibilitätsgen. Die Funktion von Dysbindin im Gehirn konnte bis heute noch nicht abschließend geklärt werden. Es wurde jedoch

ein Einfluss auf die glutamaterge Neurotransmission identifiziert (Norton et al., 2006; Numakawa et al., 2004; Ross et al., 2006; Straub et al., 2002).

- Das Gen für DAOA (D-Amino-Acid-Oxidase-Activator, früher als G72 bezeichnet) ist auf Chromosom 13q22-34 lokalisiert. Das Protein aktiviert DAO (D-Amino-Acid-Oxidase), die wiederum alpha-D-Serin oxidiert, ein Agonist des cerebralen NMDA-Glutamat-Rezeptors (Chumakov et al., 2002; Ross et al., 2006).
- Das COMT-Gen (Catechol-O-Methyltransferase) ist auf Chromosom 22q11 lokalisiert. Das Produkt dieses Gens ist ein Enzym, das am Abbau von Dopamin im synaptischen Spalt und somit an der Regulation der Neurotransmission im Gehirn beteiligt ist (Craddock et al., 2006; Ross et al., 2006).
- Das DISC1-Gen (Disrupted-In-Schizophrenia-1-Gen) ist auf Chromosom 1q42 lokalisiert. Dieses Gen scheint an der neurologischen Entwicklung beteiligt zu sein (Schurov et al., 2004).
- Das RGS4-Gen (Regulator of G-Protein signalling 4) befindet sich im Chromosom 1q21-22 und wurde erstmalig in einer Post-Mortem-Studie untersucht. Dieses Protein ist ein G-Protein gekoppelter negativer Modulator von Dopamin-, 5HT₂-, metabotropen Glutamat- und Muskarin-Rezeptoren (Chowdari et al., 2002; Harrison et al., 2005; Rujescu, 2010; Sobell et al., 2005).

Die Assoziation vieler Kandidatengene mit Schizophrenie ist noch nicht gesichert und wird in weiteren Studien untersucht. So publizierten z. B. Ingason und Kollegen im Jahr 2010 die Ergebnisse einer replizierten Assoziationsstudie in einer europäischen Population sowie einer Metaanalyse. In der replizierten Assoziationsstudie untersuchten sie die Signifikanz des Genlocus AHI1 (Abelson helper integration site 1), der auf Chromosom 6q23 lokalisiert ist. Dieser Genlocus besteht aus zwei Genen: AHI1 und C6orf217 und wurde durch eine Kopplungsanalyse identifiziert, wobei die Assoziation der Gene mit Schizophrenie bereits in anderen Studien untersucht worden ist. Die europäische Stichprobe dieser replizierten Assoziationsstudie bestand aus 3907 schizophrenen Patienten sowie 7429 Kontrollprobanden. Die zwei Gene wurden von ihnen anschließend in einer Metaanalyse untersucht. Hier wurden die Daten von 4496 schizophrenen Patienten und 18920 Kontrollprobanden bewertet. Beide Studien zeigten eine signifikante Überrepräsentation dieser Gene bei

schizophrenen Patienten. Beide Gene, sowie die angrenzende Phosphodiesterase 7B (PDE7B), könnten nach Ingason et al. als Kandidatengene bei der Ätiopathogenese der Schizophrenie eine wichtige Rolle spielen (Ingason et al., 2010).

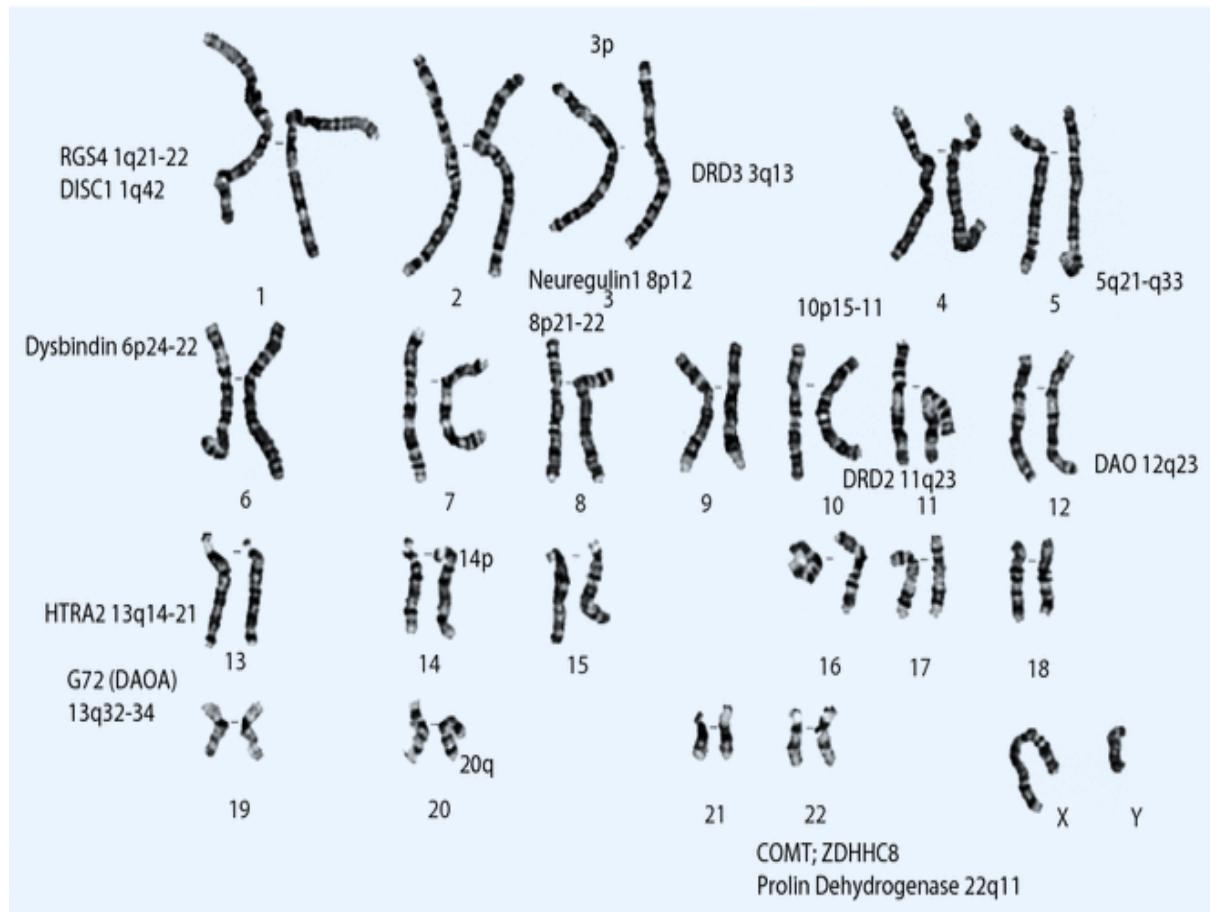


Abbildung 3: Genorte, die mit Schizophrenie gekoppelt sind, und Kandidatengene, die mit Schizophrenie assoziiert sind – in einem männlichen Chromosomensatz 46XY (Knoblauch, 2007).

Grundsätzlich wird bei allen Assoziationsstudien die Verteilung von SNPs (engl.: Single Nucleotide Polymorphisms) zwischen Erkrankten und Kontrollprobanden untersucht. Ein SNP ist ein einzelnes Nukleotid in der DNA-Sequenz, welches sich bei Sequenzvergleichen in mehreren Individuen als variabel herausgestellt hat. SNPs zeigen sich in Abständen von 100 – 300 Basen und treten sowohl in codierenden sowie in nicht codierenden DNA-Regionen auf. Nach der Veröffentlichung der gesamten DNA-Sequenz in Datenbanken wurden auch DNA-Variationen (SNPs) identifiziert und publiziert. Bis jetzt wurden mehr als eine Million SNPs im menschlichen Genom identifiziert (Rujescu, 2010). Im Vergleich zu Assoziationsstudien, bei denen die Kandidatengene oder -regionen zuerst mittels

Kopplungsstudien bekannt sein müssen, erlauben genomweite Assoziationsstudien (GWA) die Untersuchung des gesamten Genoms eines Menschen.

Die erste genomweite Assoziationsstudie (GWA) zur Schizophrenie wurde von Lencz und Kollegen im Jahr 2007 durchgeführt. Hierbei analysierten sie ca. 500.000 SNPs in einer Fall-Kontroll-Studie. Sie fanden eine signifikante Assoziation des SNPs rs4129148 in der angrenzenden Region des CSF2RA-Gens (colony stimulating factor, receptor 2 alpha) mit Schizophrenie (Lencz et al., 2007).

O'Donovan und Kollegen zeigten in einer GWA eine signifikante Assoziation zwischen dem SNP rs1344706 im ZNF804A-Gen (Zinc Finger Protein 804A), welches auf Chromosom 2q32.1 liegt, und Schizophrenie. Auch zwei andere Genloci zeigten eine Assoziation zu Schizophrenie: das RPGRIP1L-Gen auf Chromosom 16q12.2 und das OPCML auf Chromosom 11q25 (O'Donovan et al., 2008). In einer Replikation konnte die Assoziation des ZNF804A-Gens mit Schizophrenie nachvollzogen werden. Eine Überrepräsentation des A-Allels im SNP rs1344706 bei schizophrenen Patienten wurde beobachtet. Allerdings konnte diese Studie nur eine tendenzielle Assoziation zwischen dem RPGRIP1L-Gen und Schizophrenie konstatieren (Riley et al., 2009).

Das International Schizophrenia Consortium (ISC) fand in seiner GWA eine Assoziation zwischen Schizophrenie und einem SNP auf Chromosom 22, sowie mehr als 450 SNPs in der MHC-Region (major histocompatibility complex), die auf Chromosom 6 lokalisiert sind (Purcell et al., 2009).

Stefanson und Kollegen konnten 2009 eine signifikante Assoziation zwischen der Erkrankung Schizophrenie und einigen Markern des MHC, die auf dem Chromosom 6p21.3-22.1 lokalisiert sind, einem Marker in der Region 18q21.2 und einem Marker in der Region 11q24.2 demonstrieren (Stefansson et al., 2009).

Athanasiu und Kollegen publizierten im Jahr 2010 die Ergebnisse zweier genomweiter Assoziationsstudien. Diese wurden anschließend in einer Metaanalyse verglichen. In einer skandinavischen Stichprobe mit 506 schizophrene Patienten und Kontrollprobanden wurden insgesamt 572.888 Marker untersucht. In einem nächsten Schritt wurde diese Studie an einer europäischen Population mit 16.443 schizophrenen Patienten und Kontrollprobanden aus Deutschland, England,

Schottland, Italien, Finnland und Island 1.000 Marker untersucht, die in der erste Studie die niedrigsten Signifikanzwerte erreicht hatten. Die Analyse dieser beiden Studien ergab eine signifikante Assoziation zwischen den Markern: rs7045881 (im Gen PLAA auf Chromosom 9p21 lokalisiert), rs433598 (im Gen ACSM1 auf Chromosom 16p12 lokalisiert) sowie rs10761482 (im Gen ANK3 auf Chromosom 10q21 lokalisiert) und der Erkrankung Schizophrenie (Athansiu et al., 2010).

In einer von Ripke und Kollegen durchgeföhrten GWA konnte eine genomweit signifikante Assoziation zwischen Schizophrenie und 7 Loci festgestellt werden, wobei 5 Loci neu (1p21.3, 2q32.3, 8p23.2, 8q21.3 und 10q24.32-q24.33) und 2 Loci (6p21.32-p22.1 und 18q21.2) bereits bekannt waren (Ripke et al., 2011)

Fanous und Kollegen präsentierte 2012 die erste Studie, die eine genomweite Assoziation zu den Symptomgruppen der Schizophrenie darstellte. Positive, negative/desorganisierte und affektive Symptome wurden in zwei Stichproben (Molecular Genetic of Schizophrenia, MGA und Psychiatric GWAs Consortium, PGC) untersucht. Es konnte keine signifikante Assoziation zwischen den SNPs und den Symptomgruppen eruiert werden. Allerdings sind die SNPs, die eine Tendenz erzielten, bei der neuronalen Entwicklung, Neuroprotektion und Neurotransmission involviert. Die Studie konnte jedoch einen signifikanten Unterschied zwischen polygenetischen Faktoren und negative/desorganisierten Symptomen beider Stichproben demonstrieren (Fanous et al., 2012)

Genetische Varianten sind in der DNA jedoch nicht nur auf SNPs beschränkt. Hochauflösender genetischer Verfahren konnte in den letzten Jahren gezeigt werden, dass die Plastizität und Variabilität im menschlichen Genom, insbesondere durch Kopienzahl-Variationen (engl.: *Copy Number Variation*, abgekürzt CNV), bestimmt werden (Geigl et al., 2010). CNVs können auch im Rahmen von GWAs lokalisiert werden. Bei CNVs handelt es sich um Regionen im Genom, die verloren gegangen sind oder in einer höheren Kopienzahl vorliegen. Mit einer Größe von 1 Kb, oder auch größer sind sie DNA-Segmente, die eine variable Kopienzahl im Vergleich zu dem Referenzgenom aufweisen. Sie können durch nucleäre Deletionen, Insertionen oder Duplikationen entstehen. Translokationen und Inversionen haben zwar den gleichen Effekt wie Deletionen, Insertionen und Duplikationen, führen jedoch nicht zu einer Kopienzahl-Veränderung. Wie bei den SNPs ist bis dato noch

unklar, inwieweit CNVs den Phänotyp beziehungsweise das Auftreten einer Erkrankung beeinflussen (Geigl et al., 2010).

In der Zwischenzeit existieren viele Studien, in denen die CNVs mit Schizophrenie in Assoziation gebracht wurden (Derks et al., 2013; International Schizophrenia Consortium, 2008; Malhotra et al., 2011). Kirov et al. zeigten in einer Studie insgesamt 13 genetische Aberrationen bei schizophrenen Patienten. Zwei davon sind vermutlich für die schizophrene Erkrankung von großer Bedeutung. Bei der ersten Aberration handelt es sich um eine Deletion auf Chromosom 2p16.3 im NRXN1-Gen. Die zweite Aberration beschreibt eine de novo-Duplikation auf Chromosom 15q13.3 im APBA2-Gen. Beide Gene codieren für Proteine, die eine Rolle während der synaptischen Entwicklung spielen und eine Bedeutung für die synaptogene Funktion haben (Kirov et al., 2008). Walsh und Kollegen untersuchten die Gene von 150 schizophrene Patienten und 268 Kontrollprobanden auf das Vorhandensein von chromosomalen Aberrationen und fanden bei schizophrenen Patienten häufiger eine Deletion auf Chromosom 1q21.1 und 2p16.3 und eine Duplikation auf Chromosom 16q11.2 (Walsh et al., 2008). Rees und Kollegen konnten in einer Studie demonstrieren, dass bei schizophrenen Patienten eine Deletion auf Chromosom 16p12.1 und SLC1A1 sowie eine Duplikation auf Chromosom 1p36.33 und CGNL1 häufiger vorhanden ist als bei Kontrollen (Rees et al., 2014). Xu und Kollegen stellten in einer Studie häufigere Deletionen auf Chromosom 1q21.1 und 22q11.21 bei schizophrenen Patienten als bei Kontrollprobanden dar. Sie fanden *de Novo*-Kopienzahlvariationen bei 10 % der schizophrenen Patienten versus 1,3 % bei Kontrollprobanden (Xu et al., 2008). Stefansson und Kollegen zeigten in einer Studie eine Assoziation der Deletionen auf den Chromosomen 1q21.1, 15q13.3 und 15q11.2 und der klinischen Ausprägung einer Schizophrenie (Stefansson et al., 2008). Ähnliche Deletionen wurden von Stone und Kollegen gefunden. Sie zeigten in einer Studie eine Assoziation zwischen langen Deletionen auf den Chromosomen 15q13.3 und 1q21.1 und Schizophrenie (Stone et al., 2008). Kirov und Kollegen bestätigten 2009 die Assoziation zwischen der Deletion auf Chromosom 15q11.2 und Schizophrenie. Außerdem wurde eine Deletion auf dem Chromosom 22q11.2 bei schizophrenen Patienten festgestellt (Kirov et al., 2009). Need und Kollegen konnten eine Deletion auf Chromosom 1q21.1 und 22q11.2 bei schizophrenen Patienten demonstrieren (Need et al., 2009).

Tabelle 5 zeigt genomweite CNV-Studien.

Tabelle 5: Zusammenfassung von neuen genomweiten CNV-Studien der Schizophrenie (Duan et al., 2010). NV= nicht vorhanden, del= Deletion, dup= Duplikation

Studie	Stichprobe	Ergebnisse	CNVs in SCZ Patienten/Kontrollprobanden (Intervall in Mb und längste Intervall angegeben; NV= Daten nicht verfügbar)					
			1q21.1	2p16.3 (NRXN1)	15q11.2	15q13.2	16p11.2	22q11.21
Kirov 2008	93 SCZ-Trios	2 CNVs wahrscheinlich pathogen	NV	1 del (51.14–51.32)	NV	1 dup (26.94–28.01)	NV	NV
Walsh 2008	150 SCZ-Pat./268 Kontrollen; 92 SCZ Fälle mit erster Episode in der Kindheit	Seltene CNVs bei 15% SCZ-Pat. vs. 5% Kontrollen	1/0 del (144.94–146.29)	1/0 del (50.02–50.14)	NV	NV	2/0 dup (29.65–30.23)	NV
Xu 2008	359 SZ Trios (Screening) 152 SCZ-Pat./159 Kontrollen	<i>De novo</i> CNVs bei: 10% SCZ Pat. vs. 1,3% Kontrollen	1/0 del (144.32–144.44)	NV	NV	NV	NV	3/0 del (17.05–19.99)
Stefansson 2008	1433 SCZ-Pat. / 33250 Kontrollen 3 CNVs wurden in einer Stichprobe von 3285 SCZ-Pat. / 7951 Kontrollen untersucht	3 CNVs mit nominaler Assoziation (1q21.1, 15q11.2 und 15q13.3)	11/8 del (144.94–146.29)	0/2 del (50.95–51.16)	26/79 del (20.3–20.8)	7/8 del (28.72–30.30)	2/11 del (29.56–30.09)	8/0 del
ISC 2008	3391 SCZ-Pat. / 3181 Kontrollen	Seltene (<1%) und lange CNVs (>100 kb) häufiger in SCZ-Pat. Sig. Assoziation: 1.15-Bruch und die Regionen 1q21.1, 15q13.2, 22q11.21	10/1 del (143.72–146.95)	5/6 del (50.8–51.50)	26/11 del (20.3–20.8)	9/0 del (28.0–31.0)	NV	13/0 del (17.11–19.92)
Kirov 2009	471 SCZ-Pat. / 2792 Kontrollen	Lange CNVs (>1 Mb) 2.26 x häufiger SCZ-Pat.	0/2 del (144.9–146.3)	1/3 del	4/14 del (20.3–20.8)	0/0 del	NV	2/0 del (17.3–19.8)
Need 2009	1013 SCZ-Pat. / 1084 Kontrollen	Lange CNVs (>2 Mb) häufiger in SCZ-Pat.	1/0 del (144.1–146.3)	3/1 del	NV	NV	NV	4/0 del (16.4–19.8)
Häufigkeit der implizierten CNVs (SCZ-Pat. vs. Kontrollen)			0.23% vs. 0.02% (del)	0.17% vs. 0.03% (del)	0.65% vs. 0.22% (del)	0.18% vs. 0.02% (del)	0.19% vs. 0.003% (dup)	0.44% vs. 0% (del)

Ausgehend von den beschriebenen GWA- und CNV-Zusammenhängen zum Vorliegen einer klinischen Schizophrenie untersucht die vorliegende Dissertationsarbeit den Zusammenhang zwischen Vorliegen einer klinischen Schizophrenie und dem Phänomen einer differentiellen mRNA-Expression desjenigen Genes, das auf Chromosom 11p15.3 zu liegen kommt. Das in der vorliegenden Arbeit analysierte Gen stellt diesbezüglich ein Kandidatengen dar (das auf Chromosom 11p15.3 lokalisiert ist). 2005 ist der Zusammenhang des DKK3-Gen

mit Schizophrenie untersucht worden. Diese Studie zeigte eine verminderte DKK3-mRNA-Expression bei schizophrenen Patienten im Cortex temporalis superior, sowie eine unterschiedliche Genexpression in den verschiedenen Laminae des Isocortex. (Ftouh et al., 2005). Weiterhin codiert das DKK3-Gen für das gleichnamige Protein, das zur Familie der Dickkopf-Proteine gehört. DKK-Proteine sind wichtige Regulatoren des Wnt-Signaltransduktionsweges (Niehrs, 2006). Der Wnt-Signaltransduktionsweg spielt eine entscheidende Rolle bei der neuronalen Entwicklung, insbesondere für die Entwicklung von dopaminergen Neuronen (Toledo et al., 2008).

1.2 Das Dickkopf-3-Gen

1.2.1 DKK Genfamilie

Dickkopf-Proteine (DKK-Proteine) stellen eine Gruppe von extrazellulären Modulatoren, die den kanonischen WNT-Signaltransduktionsweg regulieren, dar. Bis dato sind 5 verschiedene, menschliche DKK-Gene und deren Genprodukte bekannt. Sie werden als DKK1-, DKK2-, DKK3-, DKK4- und DKKL1(auch Soggy, abgekürzt: sgy)-Gene und / oder -Proteine bezeichnet.

DKK1, 2 und 4 sind auf der Chromosomgruppe 4 / 5 / 8 / 10, auch paraloge Chromosomgruppe genannt, lokalisiert. Paraloge Gene weisen eine hohe Übereinstimmung in ihrer Basensequenz auf und kommen in ein und demselben Organismus vor. Genauer definiert, DKK1 liegt auf Chromosom 10q11, DKK2 auf Chromosom 4q25 und DKK4 auf Chromosom 8p11. Alle diese Gene, die die paraloge Region enthalten, wurden in der genetischen Evolution dupliziert. Das DKK3-Gen liegt auf Chromosom 11p15.3 und ist, genauso wie das DKKL1-Gen, kein Bestandteil der paralogen Chromosomengruppe (Niehrs, 2006).

Alle diese Proteine enthalten strukturelle Domänen, die reich an der semiessentiellen Aminosäure Cystein sind. Sie zeigen einen charakteristischen Abstand zwischen Cystein und andere Aminosäure. Zwei dieser Domänen sind bei den DKK1-4-Proteine gleich: das N-terminale (auch DKK-N) und das C-terminale (auch colipase fold) Domänenareal. Das DKK3-Protein enthält außer diesen zwei strukturellen Domänen, die Sgy-Domäne. Das DKKL1-Protein enthält nur die Sgy-Domäne (Niehrs, 2006)

Die Sequenz zwischen den 2 cysteinreichen Regionen ist signifikant länger in den Proteinen DKK1, DKK2 und DKK4 im Vergleich zum DKK3-Protein. Das DKKL1-Protein wurde später entdeckt und hat eine ähnliche Struktur wie das DKK3-Protein, weist jedoch keine Ähnlichkeit zu den anderen 3 DKK-Proteinen auf (Krupnik et al., 1999). Das Molekulargewicht der DKK1-, DKK2- und DKK4-Proteine liegt zwischen 24-29 kDa, beim DKK3-Protein bei 38 kDa (Nakamura et al., 2010; Niehrs, 2006).

Abbildung 4 zeigt einen Überblick über die DKK-Proteinfamilie mit ihren strukturellen Protein-Domänen.

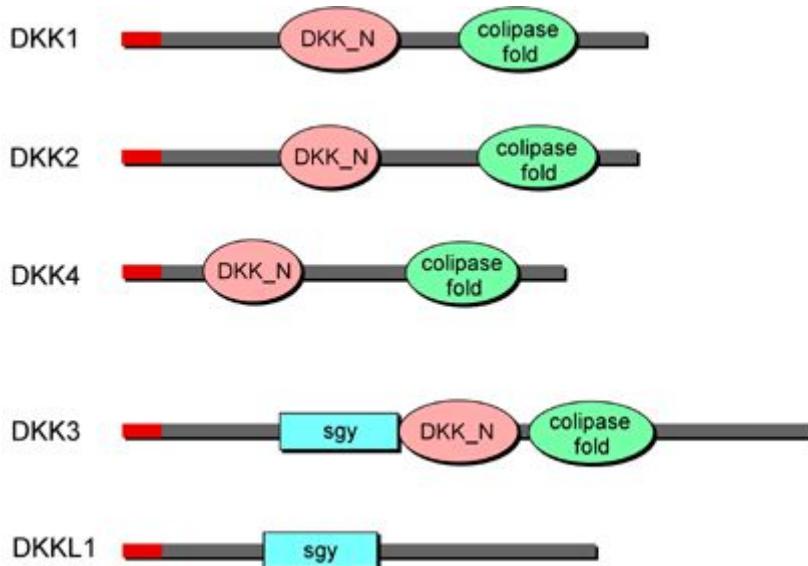


Abbildung 4: DKK-Proteinfamilie mit ihren strukturellen Proteindomänen. DKK-N= N-terminale Domäne, Colipase fold= C-terminale Domäne, Sgy= N-terminale Domäne. Die Sgy-Domäne kommt nur bei den DKK3- und DKKL1-Proteinen vor. (Niehrs, 2006).

1.2.2 Der Wnt-Signaltransduktionsweg

Der Wnt-Signaltransduktionsweg ist ein evolutionär altes und hoch konserviertes Regulationssystem, das zusammen mit einem Dutzend anderer Systeme, die Embryogenese und die Gewebehomöostase reguliert. Die grundlegenden Komponenten des Wnt-Signaltransduktionsweges sind seit 1990 bekannt. Das Wort Wnt ist eine Fusion zwischen „int-1“ (Integration-1, ein Protoonkogen) und „wingless“ (das homologe Protoonkogen in der Taufliege) (Wend et al., 2010).

Es gibt 3 verschiedene Wnt-Signaltransduktionswege:

1. Der kanonische Wnt / β -Catenin-Signaltransduktionsweg.

-
2. Der planare Zellpolaritätsweg (*PCP= planar cell polarity pathway*).
 3. Wnt / Ca^{2+} -Kaskade.

Diese Signaltransduktionswege werden von Wnt-Proteinen initiiert. Wnt-Proteine sind Glykoproteine, mit für sie typischen Cysteinresten. Sie werden, je nach der gezeigten Aktivität bei Untersuchungen in Zellkultur und *in vivo*-Zellen, in kanonisch und nicht kanonisch klassifiziert.

Der kanonische Wnt / β -Catenin-Signaltransduktionsweg wird durch die Isoformen der kanonischen Wnt-Proteine Wnt1, Wnt3A und Wnt8 in Gang gesetzt. Die anderen beiden Signaltransduktionswege arbeiten mit nicht kanonischen Wnt-Proteinen, den Isoformen Wnt4, Wnt5A und Wnt11 (Kawano et al., 2003).

Der kanonische Wnt / β -Catenin Signaltransduktionsweg ist eine autokrine und parakrine Signaltransduktionskaskade (Toledo et al., 2008). Er wird durch Proteine der äußeren Zellwand in Gang gesetzt (Abbildung 5). Zuerst bildet sich ein Rezeptorkomplex aus dem Wnt-Protein, einem Protein aus der Frizzled-Familie (Fz-Rezeptor) und dem Lrp5/6-Rezeptor (Lipoprotein receptor-related protein 5 / 6, ein Protein aus der LDL-Familie). Hierfür existieren zwei Alternativen:

1. In Abwesenheit des Komplexes wird das Schlüsselprotein dieses Signaltransduktionsweges (β -Catenin) im Zytoplasma in einem Enzymkomplex, welcher aus APC- (Adenomatous Polyposis Coli), GSK3- β - (Glycogen Synthetase Kinase 3 β) und CK1-Proteinen (Casein Kinase 1) sowie aus Axin besteht, aufgenommen. GSK3 und CK1 phosphorylieren die N-Terminal-Regionen (bestehend aus den Aminosäuren Serin und Threonin) des β -Catenins. Phosphoryliertes β -Catenin wird von β -Trcp (β -Transducin Repeat-Containing Protein) und E3-Ubiquitin erkannt und zum Proteasom geführt, wo das Molekül abgebaut wird. Somit kann das β -Catenin-Protein seine Funktion nicht entfalten (Abb. 5a).
2. Falls jedoch die Bildung des Wnt-enthaltenden Komplexes stattfindet, dann bindet dieser den Catenin enthaltenden Enzymkomplex durch das Protein „Dishevelled“ (Dsh) und β -Catenin wird freigesetzt (Abb. 5b). Folgend steigt die β -Catenin-Konzentration im Zytoplasma und im Nukleus, in dem es an zwei Transkriptionsfaktoren bindet (TCF = T-Cell-Factor und LEF= Lymphoid Enhancing Binding Factor). Diese Transkriptionsfaktoren hemmen im normalen

Zustand die Expression von Wnt / Wg Target-Genen, mit Hilfe anderer Proteine, wie beispielsweise dem Groucho-Protein. Durch die Bindung von β -Catenin an die Transkriptionsfaktoren fällt ihre Hemmwirkung auf diese Gene aus, eine RNA-Polymerase wird aktiviert und die Wnt-Target-Gene werden transkribiert. Sie sind für die Zelldifferenzierung und die Zellproliferation verantwortlich. Die Transkription von Wnt- / β -Catenin-Target-Genen wird außerdem durch Korepressoren sowie Koaktivatoren (zum Beispiel CBP-p300, TATA-Box bindendes Protein, Brg-1, Pontin, Reptin, etc.) reguliert (Brembeck et al., 2006; MacDonald et al., 2009; Nakamura et al., 2010).

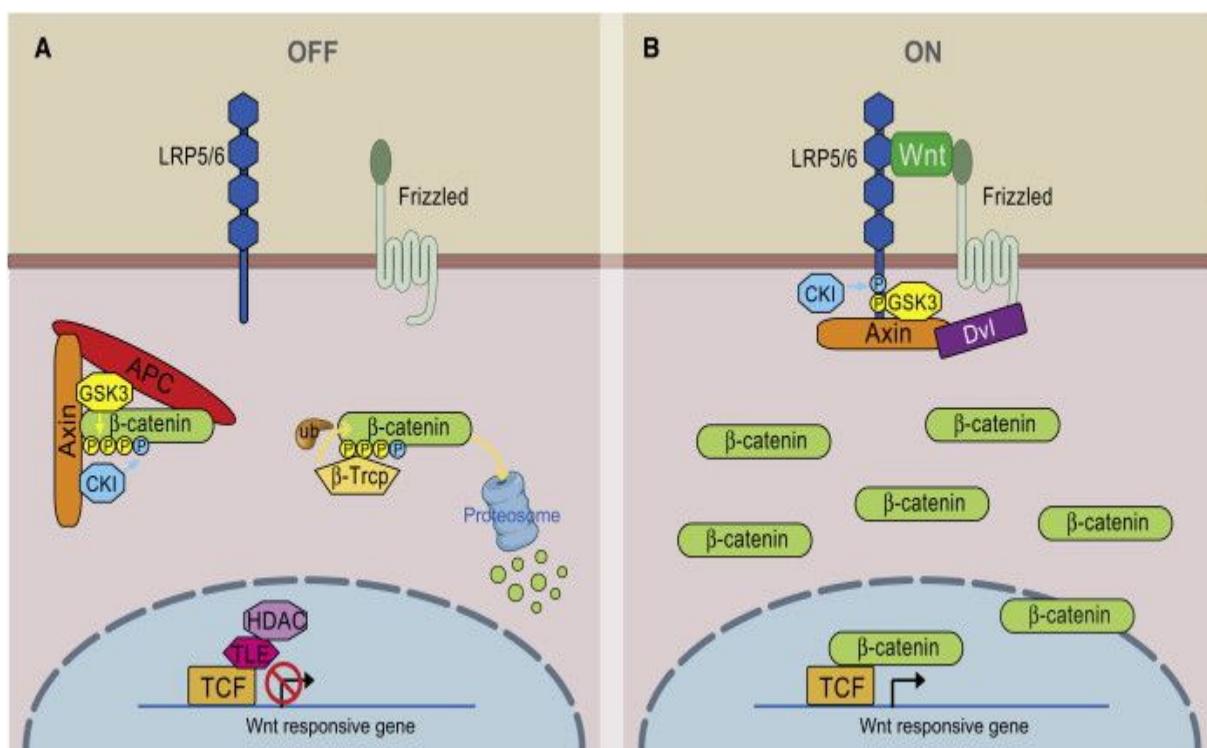


Abbildung 5: kanonischer Wnt-Signaltransduktionsweg. A: Abbau in Proteasomen von β -Catenin in Abwesenheit des Wnt-Frizzled-LRP5/6-Komplexes. B: Aktivierung des kanonischen Wnt-Signaltransduktionsweges erlaubt die Wanderung vom β -Catenin in den Nukleus; dieses Protein fördert im Anschluss die Expression der Wnt-Target-Gene (MacDonald et al., 2009).

Weiterhin gibt es Hinweise, dass der Frizzled-Rezeptor mit anderen Liganden interagieren kann und somit den Wnt-Signaltransduktionsweg in Gang setzt. Norrin, ein dem Wnt-Protein verwandtes Eiweiß, kann mit den Fz- und Lrp5/6-Rezeptoren interagieren und den Wnt-Signaltransduktionsweg aktivieren (Logan et al., 2004).

Des Weiteren ist β -Catenin an der Zellmembran in einem Komplex mit E-Cadherin und α -Catenin zu finden. Dieser Komplex ermöglicht das Wechselspiel zwischen der Zonula adhaerens und den Aktinfilamenten des Zytoskeletts. Zwei Regulationsmechanismen kontrollieren die Bindungsfähigkeit von β -Catenin an E-Cadherin und α -Catenin der Zellmembran und folglich die wichtige Zelladhäsionsfunktion. Bei diesen Regulationsprozessen werden zwei Tyrosin-Abschnitte des β -Catenin-Moleküls phosphoryliert: das Tyrosin an Position 654 (wichtig für die Bindung an E-Cadherin) und das Tyrosin auf Position 142 (wichtig für die Bindung an α -Catenin). Die Phosphorylierung von Tyrosin-142-Resten ermöglicht außerdem die Bindung von β -Catenin an den Cofaktor BCL-9 im Nucleus. Dieser Komplex (β -Catenin und der Cofaktor BCL-9) kann mit den Transkriptionsfaktoren LEF / TCF interagieren und somit schließlich die Transkription der Wnt-Target-Gene in Gang setzen (Brembeck et al., 2006).

1.2.3 Die Rolle der DKK-Proteine auf dem Wnt-Signaltransduktionsweg

DKK-Proteine sind extrazelluläre Modulatoren des Wnt-Signaltransduktionsweges. DKK 1, 2, 4 sollen den Wnt-Signaltransduktionsweg inhibieren. Es gibt Hinweise darauf, dass das DKK2-Protein den Wnt-Signaltransduktionsweg anregt. DKK3 und DKKL1-Proteine sollen den Wnt-Signaltransduktionsweg sogar stimulieren (Niehrs, 2006)

DKK1, 2 und 4 bilden zusammen mit dem Lrp5/6 und dem Krm1/2-Rezeptor (Kremen1/2-Rezeptoren) einen dreifachen Komplex und ermöglichen dadurch die Endozytose des Lrp5/6-Rezeptors. Daraus resultierend verschwindet der Lrp5/6-Rezeptor von der Oberfläche der Zellmembran und der kanonische Wnt-Signaltransduktionsweg wird gehemmt (Kikuchi et al., 2007).

Über die Rolle des DKK3-Proteins im kanonischen Wnt-Signaltransduktionsweg gehen die wissenschaftlichen Meinungen zur Zeit auseinander. Der genaue Einfluss dieses Proteins auf den Wnt-Signaltransduktionsweg ist noch immer ungewiss.

Bis dato wurde in vielen Studien über die negative Wirkung aller DKKs-Proteine auf den Wnt-Signaltransduktionsweg berichtet (Ftouh et al., 2005; Katase et al., 2008; Koppen et al., 2008; Kurose et al., 2004; Pannone et al., 2010; Zenzmaier et al.,

2009). Das Protein soll den kanonischen Wnt-Signaltransduktionsweg durch die Bildung eines dreifachen Komplexes mit den Rezeptoren Krm1/2 und Lrp5/6 in jeglichen Zellen, hemmen. Die Folge ist die Endozytose des Lrp5/6-Rezeptors und damit die Hemmung des Wnt-Signaltransduktionsweges (Ftouh et al., 2005; Katase et al., 2008; Koppen et al., 2008; Kurose et al., 2004; Pannone et al., 2010; Zenzmaier et al., 2009).

Andere Studien beschreiben jedoch eine positive Modulation des kanonischen Wnt-Signaltransduktionsweges durch die DKK2- und DKK3-Proteine (Diep et al., 2004; Nakamura et al., 2010; Proitsi et al., 2008; Wu et al., 2000). Eine Studie konnte zeigen, dass das DKK3-Protein zwar mit den Krm1/2-Rezeptoren aber nicht mit dem Lrp5/6-Rezeptor des kanonischen Wnt-Signaltransduktionsweges interagiert. Diese Interaktion findet in der Perinuklearregion der Zellmembran statt und verhindert die Expression der Kmr1/2-Rezeptoren. Die reduzierte Expression dieser Rezeptoren ermöglicht die Bindung der Wnt-Komplex-Liganden und erleichtert in der Folge die Aktivierung des Wnt-Signaltransduktionsweges. Das DKK1-Protein weist eine höhere Affinität zum Lrp5/6-Rezeptor als zum Krm1/2-Rezeptor auf. Die Dkk1-Proteinbindung an den Lrp5/6-Rezeptor und seine Endozytosis können auch in Abwesenheit des Krm1/2-Rezeptors stattfinden (Abbildung 6). Die Glykosylierung der Krm1/2-Rezeptoren verhindert nicht die Interaktion mit dem DKK-3-Protein (Logan et al., 2004; Nakamura et al., 2010).

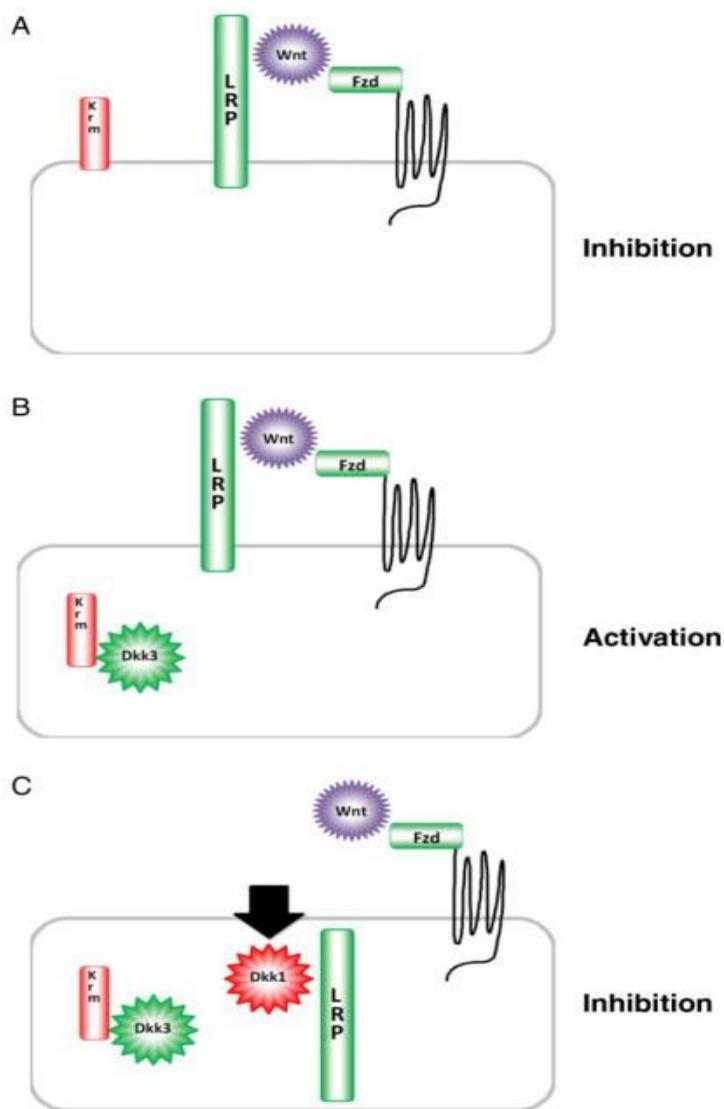


Abbildung 6: Rolle des DKK3-Proteins beim Wnt-Signaltransduktionsweg.
A: Inhibition durch die Kremen-1- und -2-Rezeptoren. B: Aktivierung durch den Einfluss des DKK3-Proteins. C: Inhibition des aktivierte
Signaltransduktionsweges durch das DKK1-Protein. Die Inhibitoren des
Wnt-Signaltransduktionweges (Krm und DKK1-Protein) sind in Rot
markiert. Im Gegensatz dazu sind die Stimulatoren des Wnt-
Signaltransduktionsweges (LRP und DKK3-Protein) in Grün markiert.
(Nakamura et al., 2010)

1.2.4 Physiologische Bedeutung des Wnt-Signaltransduktionsweges

Die Pleiotropie des Wnt-Signaltransduktionsweges schließt die mitogene Stimulation, die funktionelle Zellspezifikation sowie die Zelldifferenzierung ein (Logan et al., 2004).

Der Wnt-Signaltransduktionsweg spielt eine wichtige Rolle bei der Gewebehomöostase und der Embryonalentwicklung von Wirbeltieren, wie z. B. bei der axialen antero-posterioren Musterbildung, der Entwicklung der Extremitäten, der Bildung von Somiten und der embryofetalen Genese der Augen (Niehrs, 2006).

Insbesondere bei der Entwicklung des Nervensystems aus neuronalen Stammzellen spielt der kanonische Wnt-Signaltransduktionsweg eine zentrale Rolle. Er ist für die Entwicklung der Neuralleiste, der Melanozyten und der dopaminergen Neurone sowie für die neuronale Differenzierung verantwortlich. Weiterhin spielt er eine wichtige Rolle bezüglich der Synpatogenese während der Hirnentwicklung als auch im Erwachsenenalter (Toledo et al., 2008). Eine Fehlregulation des Wnt-Signaltransduktionsweges durch die DKK-Proteine kann somit während der neuronalen Entwicklung als auch im Erwachsenenalter einen negativen Einfluss auf die Entwicklung neurologischer und / oder psychiatrischer Veränderungen haben.

Der beschriebene Signaltransduktionsweg ist zudem von großer Bedeutung für die Differenzierung hämatopoetischer Stammzellen im Dottersack, für das Haarwachstum, für die Entwicklung der Haarstruktur und für eine reguläre Knochenfunktion (Toledo et al., 2008).

1.2.5 Beteiligung des DKK3-Gen an verschiedenen Erkrankungen

Das DKK3-Gen scheint an der Entstehung und an der Entwicklung einiger Tumorarten beteiligt zu sein (Barrantes et al., 2006; Gotze et al., 2010; Griffiths et al., 2010; Hermann et al., 2007; Hoang et al., 2004; Hsieh et al., 2004; Hwang et al., 2010; Jung et al., 2010; Katase et al., 2008; Kobayashi et al., 2002; Koppen et al., 2008; Kurose et al., 2004; Lee et al., 2009; Martin et al., 2008; Mizobuchi et al., 2008; Pei et al., 2009; Roman-Gomez et al., 2004; Valencia et al., 2009; Veeck et al., 2008; Veeck et al., 2009; Yang et al., 2010; Yue et al., 2008; Zenzmaier et al., 2009; Zenzmaier et al., 2008).

Generell wurde eine reduzierte Expression des DKK3-Gens in Tumorzellen beobachtet. Weiterhin konnte ein verminderter Zellwachstum von Tumorzellen bei einer Überexpression des DKK3-Gens nachgewiesen werden. Daher gilt dieses Gen als „Tumorsuppressorgen“. Als Folge wurde dieses Gen regelmäßig als REIC-Gen (für „reduced expression in immortalized cells“) bezeichnet (Barrantes et al., 2006).

Hsieh und Kollegen fanden heraus, dass die Expression des DKK3/REIC-Gens in Hepato-, Nephro-, Harnblasen-, Pankreas- und Lungenkarzinomen reduziert war (Hsieh et al., 2004; Kobayashi et al., 2002). Im Gegensatz zur Studie von Hsieh und Kollegen konnte in einer weiteren Studie gezeigt werden, dass bei Hepatoblastomen und Hepatozellulärkarzinomen regelmäßig eine Überexpression des DKK3-Gens nachweisbar ist (Pei et al., 2009). Eine weitere Studie belegt, dass die Hypermethylierung des DKK3-Gens ein prognostischer Indikator für die Entwicklung eines hepatzellulären Karzinoms ist / sein kann (Yang et al., 2010). Bei Lungentumoren wurde eine relative Inaktivität des DKK3-Gens beobachtet (Jung et al., 2010; Yue et al., 2008). Einige Studien konnten eine verminderte DKK3-Genexpression durch Methylierung des Promotors bei Mammakarzinomen demonstrieren (Veeck et al., 2008; Veeck et al., 2009). Bei Kopf- und Halsplattenepithelkarzinomen wurde die Deletion eines DKK3-Locus mit weniger Lymphknotenmetastasen sowie einer besseren Prognose dieser Karzinome in Verbindung gebracht (Katase et al., 2008). Eine weitere Studie zeigt eine verminderte DKK3-Genexpression bei Zervikaltumoren, aufgrund einer Hypermethylierung der Promotorregion in den Tumorzellen (Lee et al., 2009). Auch eine verminderte DKK3-Genexpression wurde beim epithelialen Ovarialkarzinom in einer Studie nachgewiesen (You et al., 2011). In malignen Gliomen wurde eine verminderte DKK3-Gen / Protein-Expression belegt. Das DKK3-Protein induziert die Apoptose maligner Tumorzellen, welche das maligne Zellwachstum kontrolliert (Gotze et al., 2010; Mizobuchi et al., 2008). Eine verminderte DKK3-Genexpression korreliert mit einer negativen Prognose bei Neuroblastomen. Diese Ausprägung ist umgekehrt proportional zu der Genexpression des Onkogens MYCN (Koppen et al., 2008). Eine Hypermethylierung der DKK3-Promoter konnte bei Patienten sowohl mit akuter lymphatischer Leukämie (ALL) als auch mit akuter myeloischer Leukämie (AML) demonstriert werden (Griffiths et al., 2010; Martin et al., 2008; Roman-Gomez et al., 2004; Valencia et al., 2009). Die DKK3-Genexpression wurde weiterhin bei benignen und malignen Prostataveränderungen beobachtet (Zenzmaier et al., 2008). Ebenfalls vermindert ist die DKK3/REIC- sowie die DKK1-Genexpression bei Nierenzellkarzinomen (Guo et al., 2014; Kurose et al., 2004). Bei Knochenerkrankungen, beispielsweise Osteosarkomen, scheint die DKK3-Genexpression ebenfalls eine Rolle zu spielen (Hoang et al., 2004). In einer Studie wurde nachgewiesen, dass die DKK3-Proteinkonzentration in β -Zellen der

pankreatischen Inseln allgemein sehr hoch ist (Hermann et al., 2007). Eine weitere Studie zeigt, dass das DKK3-Protein die pankreatische Tumorprogression fördert und für die Chemoresistenz verantwortlich ist (Hwang et al., 2010). Eine österreichische Arbeitsgruppe untersuchte die DKK3-Proteinkonzentration in Blut und Liquor bei Alzheimer-Patienten sowie bei gesunden Kontrollprobanden. Sie konnten feststellen, dass die DKK3-Proteinkonzentration in beiden Proben bei Alzheimer-Patienten erhöht war. Diese Ergebnisse sprechen für DKK3 als möglichen Biomarker der Alzheimer-Demenz (Zenzmaier et al., 2009).

1.2.6 Veränderungen von Komponenten des Wnt-Signaltransduktionsweges bei der Schizophrenie

Verschiedene Komponenten des Wnt-Signaltransduktionsweges wurden in Zusammenhang mit Schizophrenie untersucht.

Extrazelluläre Effektoren als wichtige Regulatoren des Wnt-Signaltransduktionsweges zeigten Veränderungen bei schizophrener Erkrankung. So wurde in einer *post mortem*-Studie die *Wnt1*-Genexpression im Hippocampus 10 schizophrener Patienten und 10 gesunder Kontrollprobanden untersucht. Die *Wnt1*-Proteinkonzentration war bei schizophrenen Patienten deutlich erhöht (Miyaoka et al., 1999). Eine Assoziationsstudie untersuchte 50 SNPs in 28 Genen des kanonischen Wnt-Signaltransduktionsweges. Die Genloci wurden zuerst in einer Kopplungsanalyse als Kandidatenregionen der Schizophrenie identifiziert. Diese Untersuchung wurde zunächst in Trios chinesischer Herkunft durchgeführt. Später wurde die Analyse in einer Fall-Kontroll-Studie in Hong-Kong repliziert. Ein SNP des *DKK4*-Gens zeigte eine signifikante Assoziation mit Schizophrenie (Proitsi et al., 2008). Die Ergebnisse konnten von Zhang und Kollegen in einer chinesischen Population repliziert werden (Zhang et al., 2011).

Ein weiterer Bestandteil des Wnt-Signaltransduktionsweges, der Frizzled 3-Membranrezeptor, wurde mehrmals auf einen Zusammenhang mit Schizophrenie untersucht. Das Gen ist in Position 8p21 (zusammen mit Calcineurin und Neuregulin-1-Gen) lokalisiert. Eine signifikante Kopplung zwischen diesem Gen-Locus und Schizophrenie wurde in mehreren Studien bestätigt (Katsu et al., 2003; Yang et al., 2003; Zhang et al., 2004). Allerdings konnten diese Ergebnisse in anderen Studien nicht repliziert werden (Hashimoto et al., 2005; Ide et al., 2004; Wei et al., 2004).

Ebenso wurde der Enzymkomplex des Wnt-Signaltransduktionsweges, der für den Abbau von β -Catenin verantwortlich ist, in Assoziation mit Schizophrenie untersucht. Eine Studie untersuchte den Zusammenhang zwischen dem Adenomatous polyposis Coli-Gen (APC-Gen) und Schizophrenie. Sie konnten einen signifikanten Unterschied zwischen schizophrenen Patienten und gesunden Kontrollprobanden feststellen. Die APC-Proteinkonzentration in Leukozyten schizophrener Patienten war im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden deutlich erhöht, unabhängig von der jeweiligen antipsychotischen Therapie (Cui et al., 2005). Eine zweite Studie stellte eine erhöhte APC-Genexpression im präfrontalen Kortex von schizophrenen Patienten fest (Glatt et al., 2005). Einige Studien analysierten den Zusammenhang zwischen Glykogen-Synthase-Kinase 3 (GSK-3)-Veränderungen und Schizophrenie. Die meisten stellten keine Veränderung oder lediglich eine minimale Enzymaktivität im frontalen Kortex bzw. Hippocampus bei schizophrenen Patienten fest (Beasley et al., 2001; Kozlovsky et al., 2000; Kozlovsky et al., 2001; Nadri et al., 2004); über eine reduzierte Enzymaktivität berichteten Kozlovsky und Kollegen (Kozlovsky et al., 2001). Im Gegensatz dazu berichtete eine andere Studie über eine Erhöhung der Enzymaktivität (Emamian et al., 2004). Fünf genetische Studien untersuchten die Assoziation zwischen Variationen im GSK3-Gen und Schizophrenie. Sie konnten jedoch keine signifikante Assoziation eruieren (Ikeda et al., 2005; Lee et al., 2006; Meng et al., 2008; Scassellati et al., 2004; Szczepankiewicz et al., 2006). Alle diese Hinweise deuten darauf hin, dass das GSK3-Gen keine zentrale Rolle bei der Entwicklung der Schizophrenie spielt (Kalkman, 2009). Obwohl keine direkte Veränderung des GSK3-Proteins bei der Schizophrenie beobachtet wurde, ändert sich seine Konzentration mit der Einnahme von Antipsychotika und somit die Phosphorylierung und Funktion des β -Catenin-Proteins. Das wurde in einer Studie untersucht, die bei Patienten unter einer dauerhaften Therapie mit Clozapin, Haloperidol, Risperidon und Racloprid eine erhöhte β -Catenin Konzentration registriert hat (Alimohamad et al., 2005; Kalkman, 2009).

Ein weiterer wichtiger Bestandteil des Wnt-Signaltransduktionsweges, der in Zusammenhang mit Schizophrenie untersucht wurde, ist das β -Catenin-Protein. Der Wnt-Signaltransduktionsweg ist an der normalen zerebralen Entwicklung wirbelloser Tiere und Wirbeltiere beteiligt und steuert die Zellregulation, die Zelladhäsion und die Zellproliferation. Da diese Signaltransduktionskaskade von zentraler Bedeutung für die Gehirnentwicklung und für die Entwicklung mancher ZNS-Erkrankungen ist,

wurde angenommen, dass sie auch eine wichtige Rolle bei der Entwicklung der Schizophrenie spielt. Das war der Hintergrund einer *post mortem*-Studie, die im Jahr 1998 publiziert wurde. Es konnte eine reduzierte Konzentration des β - und γ -Catenins im Zytoplasma hippocampaler Zellen festgestellt werden. Dies war die erste Studie, die β - und γ -Catenine in *post mortem*-Präparaten untersuchte und die erste Studie, die beobachtete, dass beide Catenin-Proteine intrazellulär in zwei Formen zu finden sind: diffus im Zytoplasma oder ringförmig gruppiert. Sie beobachteten außerdem, dass bei schizophrenen Patienten die diffuse Form beider Catenin-Proteine in der CA3-Subregion des Hippocampus wenig konzentriert, sowie dass die Konzentration der diffusen Form von β -Catenin in der CA4-Subregion des Hippocampus reduziert war. Diese Veränderungen könnten einige Symptome der schizophrenen Erkrankung erklären und bilden möglicherweise die Basis der neurobiologischen Hirnveränderungen der Schizophrenie (Cotter et al., 1998). Andere Studien konnten keine β -Catenin-Konzentrationsunterschiede zwischen schizophrenen Patienten und Kontrollprobanden feststellen (Beasley et al., 2002; Beasley et al., 2001; Benes et al., 2007).

BCL9 ist ein Helfer des β -Catenins bei der Transkription von Wnt Target-Genen und somit ein weiterer Bestandteil des Wnt-Signaltransduktionsweges. Varianten in der Kopienzahl bestimmter DNA-Segmente (Copy Number Variation (CNV)) wurden ebenfalls auf ihre Assoziation mit Schizophrenie untersucht. Stefansson und Kollegen konnten drei Deletionen auf Chromosom 1q21.1, 15q11.2 und 15q13.3 finden, die in Assoziation mit Schizophrenie stehen (Stefansson et al., 2008). Gerade das Chromosom 1q21.1 beinhaltet das BCL9-Gen (Fiedler et al., 2008). Es ist folglich denkbar, dass der Einfluss dieser Deletionen die Expression von BCL9 verhindert und dadurch die Transkription der Wnt/Wg-Target-Gene erschwert wird (Kalkman, 2009).

Die Phosphorylierung des Tyrosins 142 des β -Catenin-Moleküls ist durch das Rezeptor-Tyrosin-Phosphatase-Molekül (RPTP β und ζ) gewährleistet. Pleiotrophin ist ein natürlicher Hemmer der RPTP (Meng et al., 2000). In einer Studie wurde das olfaktorische Epithel schizophrener Patienten und Kontrollprobanden auf die Pleiotrophin-Expression untersucht. Schizophrene Patienten zeigten in Untersuchungen eine bis zu 50 % geringere Pleiotrophin-Expression als

Kontrollprobanden (McCurdy et al., 2006). Daraus resultiert eine verminderte Funktion des β -Catenin / Wnt-Signaltransduktionsweges (Kalkman, 2009).

1.2.7 Das DKK3-Protein und die Schizophrenie

Ftouh und Kollegen publizierten im Jahr 2005 die ersten Ergebnisse einer *post mortem*-Studie zum Thema kortikale DKK3-Genexpression bei schizophrenen Patienten und gesunden Kontrollprobanden. Ganz besonders wurde die Genexpression im Cortex temporalis superior (BA22), im Areal Cortex frontalis (BA10), im Cortex entorhinalis und im Hippocampus untersucht. Die angewendeten Methoden für diese Untersuchung umfassten die Hybridisierung von RNA (slot blot Hybridization) und die quantitative Echtzeit-PCR (real time PCR). Die Stichproben bestanden bei der Hybridisierung aus 6 schizophrenen Patienten (im Alter zwischen 61-89 Jahren) und 6 Kontrollprobanden (58-94 Jahre) und bei der quantitativen Echtzeit-PCR aus 11 schizophrenen Patienten (61-91 Jahre) und 12 Kontrollprobanden (41-94 Jahre).

Die Ergebnisse dieser Studie zeigten eine verminderte DKK3-mRNA-Expression bei schizophrenen Patienten im Cortex temporalis superior (je nach Methode 35 % bzw. 41 % verminderte DKK3-mRNA Expression bei schizophrenen Patienten). Außerdem konnte nachgewiesen werden, dass die DKK3-mRNA-Expression in den verschiedenen Laminae des Isokortex dieser Hirnregionen variiert. So registrierten sie das stärkste Signal der markierten DKK3-mRNA in den Laminae II und VI der Hirnregionen BA22 und BA10, ein moderates Signal in den Laminae III und V und das niedrigste Signal in den Laminae I und IV. Dieses Verteilungsmuster wiederholte sich nicht in dem entorhinalen Kortex. Hier wurde ein starkes Signal in den Laminae II/III sowie ein moderiertes Signal in den Laminae V/VI registriert. Eine unterschiedliche neuronale DKK3-mRNA-Konzentration, inklusive in den Pyramidenzellen, wird in dieser Studie postuliert. Das würde die unterschiedlichen Signale in den Laminae des Isocortex erklären. Die verminderte DKK3-mRNA-Expression im Cortex temporalis superior zusammen mit der unterschiedlichen DKK3-mRNA-Densität in den verschiedenen Laminae des Isokortex zeigen, dass dieses Gen eine wichtige Rolle in der Ätiopathologie der Schizophrenie spielen kann. Der Einfluss von Variablen wie z. B. die Wirkung von antipsychotischen Pharmaka war dabei jedoch nicht grundsätzlich auszuschließen (Ftouh et al., 2005).

1.3 Fragestellung

Genetische Faktoren tragen zur Ätiopathogenese der Schizophrenie bei. Trotz wissenschaftlicher Bemühungen, die genetischen Komponenten zu evaluieren, bleiben in diesem Forschungsbereich noch viele Fragen offen. Hierfür haben im letzten Jahrzehnt Fall-Kontroll-Assoziationsstudien zunehmend an Bedeutung gewonnen. Diese molekulargenetische Methode erlaubt die Suche nach Vulnerabilitätsgenen mit kleinen Effekten, welche möglicherweise an der Ätiopathogenese dieser komplexen Erkrankung beteiligt sein könnten.

Das DKK3-Gen ist auf Chromosom 11p15.3 lokalisiert, kodiert für ein Protein, das zur Dickkopfprotein-Familie gehört und spielt eine wichtige Rolle bei der Regulation des kanonischen Wnt-Signaltransduktionsweges. Dieser Signaltransduktionsweg reguliert die Zelldifferenzierung, die Zellproliferation und die Gewebehomöostase und ist unter anderem an der neurologischen Entwicklung von Wirbeltieren sowie an der Pathogenese einiger ZNS-Erkrankungen bei erwachsenen Menschen beteiligt. Eine Fehlfunktion des kanonischen Wnt- β -Catenin-Signaltransduktionsweges ist bei schizophrenen Patienten mehrmals untersucht und bestätigt worden. Die Fehlregulation durch extrazelluläre Effektoren, wie zum Beispiel durch den Einfluss des DKK3-Proteins, kann dazu beitragen.

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine Fall-Kontroll-Assoziationsstudie an einer kaukasischen Population. Hierbei werden Unterschiede in sieben Einzelnukleotidpolymorphismen des DKK3-Gens eruiert und der mögliche Zusammenhang mit Schizophrenie erläutert. Dabei werden die Allelfrequenz sowie die Genotypverteilung der sieben Polymorphismen des DKK3-Gens 507 schizophrener Patienten und 1322 gesunder Kontrollprobanden miteinander verglichen.

2. Material und Methoden

Die vorliegende Arbeit ist eine Fall-Kontroll-Assoziationsstudie. Es wurde eine Gruppe aus insgesamt 1829 Teilnehmern rekrutiert, welche aus 1322 Kontrollprobanden und 507 Patienten mit klinischer schizophrener Erkrankung bestand.

2.1 Voraussetzungen der Studie

Der Durchführung dieser Studie wurde im Vorfeld der Untersuchungen juristisch wirksam von der lokalen Ethikkommission zugestimmt.

Vor Beginn wurden alle Studienteilnehmer über das Ziel dieser Studie, die Risiken bei der Durchführung von Tests (inkl. Blutentnahme), die Anonymisierung der Daten und Blutproben sowie ihre freiwillige Teilnahme an der Studie sorgfältig aufgeklärt. Während der persönlich durchgeführten Patientenaufklärung wurden alle Teilnehmer darauf hingewiesen, dass sie sich jederzeit gegen die Teilnahme entscheiden durften, ohne dafür einen Grund angeben zu müssen.

Alle Studienteilnehmer unterzeichneten eine schriftliche Einverständniserklärung.

2.2 Studienteilnehmer

Tabelle 6 stellt eine Übersicht beider Stichproben dar.

Tabelle 6: Übersicht allen Studienteilnehmer

	Geschlecht (Jahre) Mittelwert (SD)	Alter n (%)		Gesamt n (%)
		Männlich	Weiblich	
Kontrollprobanden	46,25 (15,72)	606 (45,84)	716 (54,16)	1322 (100)
Patienten	36,77 (11,38)	329 (64,89)	178 (35,11)	507 (100)
Gesamt n (%)		935 (51,12)	894 (48,88)	1829 (100)

2.2.1 Kontrollprobanden

Von den insgesamt 1322 gesunden Kontrollprobanden waren 606 (45,84 %) männlich und 716 (54,16 %) weiblich. Sie waren alle kaukasischer Herkunft.

Das Alter der Kontrollprobanden reichte von 19 bis 79 Jahren. Der Mittelwert lag bei 46,25 Jahren. Aus einer vom Einwohnermeldeamt erstellten Liste, mit zufälligen ermittelten Einwohnern aus dem Raum München wurden nicht miteinander verwandte Personen randomisiert und per Schreiben, bestehend aus Informationen über die Grundlage, das Ziel sowie den Ablauf dieser Studie, persönlich eingeladen.

Im Fall positiver Rückmeldungen erfolgte ein standarisches Telefonscreening, um das Vorhandensein wichtiger Ausschlusskriterien zu überprüfen. Diese waren unter anderem: neurologische und psychiatrische Erkrankungen, Alkohol-, Drogen-, Medikamentenmissbrauch oder Abhängigkeit sowie Suizidalität oder Suizidversuche *lifetime* sowohl bei den potentiellen Kontrollprobanden als auch bei den biologischen Familienangehörigen. Die Ethnizität wurde ebenfalls überprüft, da nur deutschstämmige Personen in diese Studie aufgenommen werden sollten.

Bei unauffälligem Telefonscreening bekamen die potentiellen Kontrollprobanden einen ausführlichen Anamnesebogen per Post zugeschickt. Dieser Anamnesebogen ermöglichte einen Überblick über die somatische und psychiatrische Krankheitsgeschichte, sowohl bei den potentiellen Kontrollprobanden als auch bei ihren Verwandten ersten, zweiten und dritten Grades. Die psychiatrische Krankheitsgeschichte wurde detailliert abgefragt. Von besonderer Bedeutung waren psychiatrische und neurologische Vorerkrankungen und deren ambulante oder stationäre Behandlung, insbesondere affektive Störungen, Erkrankungen aus dem schizophrenen Spektrum, Ess-, Angst- und Zwangsstörungen, Suizidalität, Suizidversuche sowie Alkohol-, Drogen- oder Medikamentenkonsum, Missbrauch und / oder Abhängigkeit. Außerdem wurden mit Ermittlung möglicher Geburtskomplikationen, dem Rauchverhalten, der Schullaufbahn und der Schulleistungen, wichtiger Ereignisse der Kindheit und der Jugend, Partnerschaft und der aktuellen sozialen Situation andere wichtige Lebensaspekte erfragt und evaluiert. Fanden sich weiterhin keine Ausschlusskriterien bei den potentiellen Kontrollprobanden oder deren Angehörigen, wurden diese zu einem ausführlichen Interview eingeladen.

Dieses persönliche Interview fand im Universitätsklinikum – Nußbaumstraße 7, 80336 München – statt. Die Kontrollprobanden wurden mit Hilfe verschiedener Instrumente untersucht. Zuerst wurde das SKID (Strukturiertes Klinisches Interview nach DSM IV) angewandt (Wittchen et al., 1997). SKID ist ein semistrukturiertes

klinisches Interview, um psychische Erkrankungen gemäß der DSM IV–Klassifikation (Diagnostic and Statistical Manuals of Mental Disorders in seiner vierten Revision) zu diagnostizieren (Wittchen et al., 1996). Dieses Instrument besteht aus SKID I zur Erfassung von Achse I-Störungen (Psychopathologie) und aus SKID II zur Erfassung von Achse II-Störungen (Persönlichkeitsstörungen) (Wittchen et al., 1997). Zusätzlich wurden psychosoziale Belastungsfaktoren (Achse IV) erhoben sowie eine Einschätzung des globalen Funktionsniveaus (Achse V) durchgeführt. Das Vorliegen einer psychiatrischen Erkrankung bei den Familienangehörigen des Kontrollprobanden wurde mittels des *Family History Assessment-Module (FHAM)* noch einmal überprüft (Rice et al., 1995). Mit dem *Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI)* wurden belastende Lebensereignisse sowie deren Einfluss auf Lebensziele erfasst (Richter et al., 1996). Die allgemeine Leistungsfähigkeit wurde mittels des Hamburg-Wechsler-Intelligenztests in revidierter Form überprüft (HAWIE-R (Tewes, 1994)). Bei allen Teilnehmern über 60 Jahre wurden mit Hilfe des *Mini-Mental-Status-Tests (MMST)* die kognitiven Leistungen überprüft (Kessler et al., 1990).

Nur diejenigen Kontrollprobanden, die einen negativen neurologischen und psychiatrischen Befund sowie eine negative Familienanamnese aufwiesen und deren IQ-Gesamtwert über 80 und / oder MMST-Gesamtwert über 26 Punkten lag, wurden in diese Studie aufgenommen.

2.2.2 Schizophrene Patienten

Für diese Studie konnten insgesamt 507 schizophrene Patienten rekrutiert werden. 329 (64,49 %) waren männlich, 178 (35,51 %) waren weiblich. Wie bereits bei den Kontrollprobanden, waren auch die schizophrenen Patienten alle kaukasischer Herkunft.

Das Alter aller Patienten reichte von 18 bis 70 Jahren. Der Mittelwert lag bei 37,77 Jahren.

Rekrutiert wurden Patienten, bei denen eine Schizophrenie bereits diagnostiziert worden war. Sie wurden über das Ziel und den Ablauf dieser Studie informiert und im Anschluss zu einem persönlichen Gespräch in die Klinik eingeladen.

Im Rahmen des Termins wurde auch bei den schizophrenen Patienten eine Anamnese erhoben. Dabei wurden folgende Themata erfasst: Ethnizität, Geburtskomplikationen, Kinderkrankheiten, aktuelle somatische und psychiatrische Erkrankungen, aktuelle Medikamenteneinnahme, ambulante und stationäre psychiatrische Behandlungen über die gesamte Lebenszeit, stationäre Behandlungen wegen nicht psychiatrischen Erkrankungen, Suizidalität und / oder Suizidversuche, Rauchverhalten, Familienanamnese, Schullaufbahn, Schulleistungen, beruflicher Werdegang, auffällige Verhaltensweise und soziale Kontakte während der Kindheit/Jugend, Partnerschaft, Wohnsituation und finanzielle Situation. Bei der Familienanamnese waren die Erfassung psychiatrischer und neurologischer Erkrankungen, ambulanter und stationärer psychiatrischer Behandlungen, sowie Suizidalität und / oder Suizidversuche von Familienangehörigen von Bedeutung. Um Veränderungen der Leistungsfähigkeit während der Kindheit besser erfassen zu können, wurden drei Aspekte detailliert abgefragt: Leistungsabnahme während der Schulzeit, Klassenwiederholungen und deren Grund sowie Schulwechsel in absteigender Reihenfolge. Der erreichte Schulabschluss wurde registriert. Tabelle 7 zeigt die Verteilung der erreichten Schulabschlüsse in beiden Teilnehmergruppen.

Tabelle 7: Verteilung der erreichten Schulabschlüsse bei den Teilnehmergruppen

	Hauptschule n (%)	Realschule n (%)	Abitur n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollprobanden	298 (22,54)	444 (33,59)	580 (43,87)	1322 (100)
Patienten	221 (43,59)	135 (26,63)	151 (29,78)	507 (100)
Gesamt n (%)	519 (28,37)	579 (31,66)	731 (39,97)	1829 (100)

Des Weiteren wurde auch hier das SKID I in seiner klinischen Version mit dem Ziel, die Diagnose Schizophrenie nach DSM-IV-Klassifikation zu verifizieren sowie auch andere psychische Begleiterkrankungen festzustellen, eingesetzt. Für die Verifikation der Diagnose Schizophrenie wurden die Sektionen B und C des SKID durchgeführt. In der Sektion B wurde eine Serie von Symptomen erfasst, hierbei insbesondere: Wahnvorstellungen, Halluzinationen, desorganisierte Sprechweise, grob desorganisiertes oder katatonisches Verhalten sowie die negativen Symptome: Affektverflachung, Alogie und Antriebshemmung. Zwei von diesen fünf Symptomen sind laut der DSM-IV-Klassifikation für die Diagnose Schizophrenie erforderlich. Diese zwei Symptome müssen mindestens sechs Monate vorhanden sein, wobei die

akuten Symptome einer Episode für mindestens einen Monat bestehen müssen. Die Prodromal- sowie Residualsymptome sollten so gut wie möglich miterfasst werden. Weiterhin wurde der Subtyp der Erkrankung festgestellt. Diese Subtypen bestehen aus den Ausprägungen paranoid, kataton, hebephren bzw. desorganisiert oder undifferenziert. Anschließend erfolgte die chronologische Erfassung der Prodromalphase, Erstmanifestation, Anzahl der psychotischen Episoden sowie der aktuelle Remissionsgrad. In der Sektion C waren schizoaffektive Störungen, affektive Störungen mit psychotischen Merkmalen, schizophrenieartige Störungen, wahnhafte Störungen sowie kurze psychotische Störungen differentialdiagnostisch auszuschließen.

Ein wichtiges Ausschlusskriterium war die Feststellung einer Exazerbation der Erkrankung infolge des Konsums psychotroper Substanzen, z. B. Drogen und / oder Medikamente, sowie eine Schizophrenie als Folge einer neurologischen, endokrinen, autoimmunen oder anderen somatischen Erkrankung. Hierfür wurden Erkrankungen wie Epilepsie, Schädel-Hirn-Trauma, Lues, Enzephalopathie sowie intravenöser Heroinkonsum abgeklärt. War eine von diesen differentialdiagnostischen oder organischen Erkrankungen vorhanden, so wurde der Patient von dieser Studie ausgeschlossen.

Wichtige Begleiterkrankungen wurden mit Hilfe anderer Sektionen des SKID I abgeklärt. In der Sektion A wurden die affektiven Symptome erfasst, welche später in der Sektion D für die Differentialdiagnose affektiver Störungen von Nutzen waren. Mit Sektion E wurde der Konsum psychotroper Substanzen sowie Alkohol erfasst. Anschließend erfolgte die Einschätzung eines möglichen Missbrauchs oder einer Abhängigkeit. In Sektion F wurden Angststörungen abgeklärt. Diese wurde differenziert in Panikstörungen, Phobien, Zwangsstörungen, posttraumatische Belastungsstörungen und Anpassungsstörungen. Mit Hilfe der Sektion G konnten folgende somatoforme Störungen diagnostiziert werden: Somatisierungsstörungen, Hypochondrie und Körperwahrnehmungsstörungen. Abschließend wurden in Sektion H Essstörungen, wie Bulimia nervosa, Anorexia nervosa und Esssucht registriert.

Um das psychische, soziale und berufliche Funktionsniveau des Patienten feststellen zu können, wurde die Global Assessment Scale (GAS) eingesetzt. Mit Hilfe dieser Skala kann, durch die Vergabe von Punkten zwischen 0 und 100, die psychische Gesundheit des Patienten, subjektiv eingeschätzt werden. Diese Einschätzung

wurde zum Zeitpunkt des Interviews sowie zum Zeitpunkt der schlimmsten Episode registriert.

Als letztes Instrument kam die *Positive And Negative Syndrome-Scale (PANSS)* zur Anwendung. Dieses Instrument ist ein formalisiertes psychiatrisches Interview (Kay et al., 1986), mit dessen Hilfe insgesamt 30 Symptome erfragt werden können. Diese Symptome unterteilen sich in 7 positive, 7 negative und 16 allgemeine psychopathologische Symptome. Jedes Symptom wird in einer Skala zwischen 1 (nicht vorhanden) und 7 (extrem ausgeprägt) eingeschätzt. Es wurde versucht, eine Einschätzung zum Zeitpunkt des Interviews sowie während der schlimmsten Episode der Erkrankung zu geben.

2.3 Laborverfahren

Blutentnahme, DNA Extraktion, Konzentrationsbestimmung und Genotypisierung wurden in einem standardisierten Verfahren durchgeführt.

2.3.1 DNA – Extraktion

Tabelle 8 zeigt die verwendeten Materialien für die DNA – Extraktion.

Tabelle 8: verwendete Materialien für die DNA-Extraktion

Material, Reagenz oder Gerät	Verwendungszweck	Hersteller
10x PBS-Puffer: 80 g NaCl 2 g KCl 14,4 g Na ₂ HPO ₄ 2,4 g KH ₂ PO ₄ Ad 1 L mit Aqua destilliert mit NaOH auf pH 7,4	Herstellung des 1x PBS-Puffers	Reagenzien zur Eigenherstellung, Carl Roth, Hamburg
1x PBS-Puffer: 100 ml 10x PBS-Puffer 900 ml Aqua dest.	Resuspendierung des Blutkuchens	Eigene Herstellung
50 ml Zentrifugenröhre	Auffangen der Eluate	Sarstedt, Nürnbrecht
Sammelgefäß	Auffangen der DNA	Qiagen, Hilden
EDTA-Dinatriumsalz Dihydrat (Titrierkomplex III)	Herstellung des 10x PBS-Puffers	Carl Roth, Karlsruhe
EDTA Manovette	Blutentnahme	Sarstedt, Nürnbrecht
Eppendorf Research Pipette (100 - 1000 µl)	Pipettierung der DNA	Eppendorf, Hamburg
Ethanol Rotipuram > 99,8 % p.a.	Entfernung der Hydrathülle der DNA	Carl Roth, Karlsruhe
Kaliumchlorid, KCl	Herstellung des 10x PBS-Puffers	Carl Roth, Karlsruhe
Kaliumhydrogenphosphat, KH ₂ PO ₄	Herstellung des 10x PBS-Puffers	Carl Roth, Karlsruhe
Micro Schraubröhre, 2,0 ml	Lagerung der DNA	Sarstedt, Nürnbrecht
Natriumhydrogenphosphat, Na ₂ HPO ₄	Herstellung des 10x PBS-Puffers	Carl Roth, Karlsruhe
Natriumhydroxid, NaOH	Herstellung des 10x PBS-Puffers	Carl Roth, Karlsruhe
Puffer AE	Elution der DNA	Qiagen, Hilden
Puffer AL	Zelllyse	Qiagen, Hilden
Puffer AW1	Entfernung von Zellrückständen	Qiagen, Hilden
Puffer AW2	Entfernung von Zellrückständen	Qiagen, Hilden
QIAamp Maxi Spin Columns	Bindung der DNA	Qiagen, Hilden
Qiagen Protease	Abbau der Zellproteine	Qiagen, Hilden
Rotixa RP Standzentrifuge	Alle Zentrifugationsschritte	Hettich, Tuttlingen
Vortex Genie	Durchmischung der Blut-Puffer-Suspensionen	Scientific Industries, New York, USA
WB Wasserbad	Inkubation bei 70 °C der Blut-Puffer-Suspension	Memmert, Schwabhausen

Die Gewinnung von genomicscher DNA wurde mit Hilfe des *QIAamp Blood Maxi-Kit* durchgeführt. Es wurde nach dem entsprechenden Protokoll verfahren (Qiagen, 2005):

1. Freisetzung von DNA durch Zelllyse

Die Blutabnahme venösen Blutes erfolgte in *EDTA*-Manovetten, um Gerinnung zu vermeiden. Nach der Separierung des Blutplasmas wurde der Blutkuchen aus 5 – 10 ml Vollblut mit 1x PBS-Puffer auf ein Endvolumen von 10 ml gebracht und mit Proteinase K versetzt, um mit der Zelllyse und der Nukleinfreisetzung zu beginnen.

Zur Verstärkung der Enzymaktivität wurden 12 ml des Guanidin-HCL-haltigen Lysepuffers zugegeben und für 60 Sekunden auf einem Vortexer gründlich homogenisiert. Um optimale Lysebedingungen zu schaffen, wurde dieses Gemisch für 30 Minuten bei 70 °C im Wasserbad inkubiert.

2. Bindung der DNA an Silikagelmembran

Die DNA wurde zunächst durch Zugabe von 10 ml Ethanol aufgefüllt und mittels Vortexer gemischt, um diese für die Bindung an die Silikamembran vorzubereiten.

In der Folge wurde die DNA sukzessiv auf eine QIAamp-Säule überführt und bei Raumtemperatur für 3 Minuten und 3000 rpm zentrifugiert. An der Membran bleiben RNA und DNA-bindende Proteine ungebunden, lediglich die DNA bleibt adhaeriert.

3. Auswaschung des Puffers

Um die restliche Protein- und RNA-Kontaminationen zu entfernen, wurden 5 ml Guanidin-HCL-haltiger Puffer auf die Membran gegeben und bei Raumtemperatur bei 5000 rpm für 5 Minuten zentrifugiert. Anschließend wurden 5 ml ethanolhaltiger Puffer hinzugefügt und 15 Minuten bei Raumtemperatur und 5000 rpm zur Entfernung der Salze des vorherigen Puffers zentrifugiert.

4. Elution der DNA von der Silikagelmembran

Für die Elution der DNA wurden 1,5 ml Tris-haltiger AE-Puffer direkt auf die Silikagelmembran gegeben und bei Raumtemperatur für 5 Minuten inkubiert; anschließend bei 5000 rpm für 5 Minuten zentrifugiert. Die DNA-Lösung wurde in 2,0 ml Mikroschraubröhren bis zur Verwendung bei -80 °C gelagert.

2.3.2 Konzentrationsmessung der DNA

Tabelle 9 zeigt die notwendigen Materialien für die Konzentrationsmessung.

9: Verwendete Materialien für die Konzentrationsmessung

Material, Reagenz, Gerät	Verwendungszweck	Hersteller
20, 200 und 1000 µl Conductive Roborack Tips	Pipettierung der DNA und Reagenzien	Perkin Elmer Inc. Massachusetts, USA
96 Well Flat Bottom Plate Black	Vorlageplatte für Standard- und Proben DNA	Greiner Bio-one, Frickenhausen
Human genomic DNA (DNA-Standard) 100 ng / µl	Standardverdünnungsreihe	Firma Clontech, Mountain View, USA
Janus Automated Workstation	Durchführung aller Pipettierschritte	Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA
Micro Schrauberöhre, 2,0 ml	Lagerung DNA	Sarstedt, Nürnberg
Quant iT PicoGreen dsDNA reagent	Fluoreszenzmessung für DNA	Invitrogen GmbH, Karlsruhe
Thermo Fast 96 well plate	Vorverdünnung der Proben-DNA, Standard-verdünnungsreihe	ABgene, Hamburg
Victor 3 Multilabel Counter 1420	Fluoreszenzmessung der DNA	Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA
Wallac 1420 Workstation	Software zur Steuerung Victor 3 Multilabel Counters	Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA
WinPREP	Software zur Steuerung Janus Pipettierroboter	Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA
Optiplex GX620 Pentium 4 HT	Berechnung des Mittelwertes aus den Messergebnissen der wells	Dell

Um die Konzentration der DNA zu bestimmen, wurde ein fluoreszierendes Färbemittel angewendet (*PicoGreen*). *PicoGreen* ist ein Fluoreszenzfarbstoff, der an doppelsträngige DNA-Moleküle bindet. Dieser DNA-Farbstoff-Komplex kann Licht mit einer Wellenlänge von 520nm (grünes sichtbares Licht) emittieren. Dabei sind die emittierten Lichtquanten direkt proportional zur vorhandenen doppelsträngigen Proben-DNA. Mit Hilfe einer Eichkurve, berechnet aus dem genomischen DNA-Standard, kann die unbekannte DNA-Konzentration in der Folge bestimmt werden.

Vorverdünnung des genomischen DNA-Standards

Die DNA wurde im Verhältnis 1:2 verdünnt. Auf einer *Thermo fast 96 well plate* wurden in den Wells A bis H genomische DNA-Standards einpipettiert. In Vertiefung

A1 wurden 200 µl DNA-Standard einpipettiert. Die Vertiefungen B1 bis H1 wurden mit 100 µl Aqua bidest befüllt. Anschließend erfolgte die Verdünnung, indem mit einer Pipette aus der Vertiefung A1 100 µl Lösung entnommen und in die Vertiefung B1 einpipettiert wurde. Durch mehrmaliges Aufziehen mit der Pipette wurde die Lösung gemischt. Aus dieser Lösung der Vertiefung B1 wurden wiederum 100 µl entnommen und in die Vertiefung C1 einpipettiert und gemischt. Dieses Verfahren (Mischen, Entnehmen, Einpipettieren, Mischen) wurde bis zur Vertiefung G1 wiederholt. Die Vertiefung H enthielt keine genomische Standard-DNA und galt folglich als Referenzwert. Abschließend wurden die Platten beschriftet und bei 4 °C gelagert. Tabelle 10 zeigt die erreichten Konzentrationen der Verdünnungsreihe.

Tabelle 10: Schema der Verdünnungsreihe des genomischen DNA-Standards

Position	Volumen	Konzentration an genomischer DNA
A1	100 µl	100 ng/µl
B1	100 µl	50 ng/µl
C1	100 µl	25 ng/µl
D1	100 µl	12,5 ng/µl
E1	100 µl	6,25 ng/µl
F1	100 µl	3,125 ng/µl
G1	100 µl	1,5262 ng/µl
H1	100 µl	0

Vorverdünnung der zu messenden DNA-Lösung

Die zu messende DNA wurde in einer *Thermo fast 96 well plate* im Verhältnis 1:10 vorverdünnt. Dazu wurden 5 µl DNA (Stammlösung) und 45 µl *Aqua bidest* zugegeben.

Vorbereitung der Messplatte

In eine *96 well flat bottom plate* wurden 50 µl *Aqua bidest* in allen Vertiefungen vorgelegt; zu diesen wurden 5 µl der vorverdünnten Lösungen, bestehend aus dem genomischen DNA-Standard und den DNA-Proben, jeweils in Doppelreihen

hinzugefügt (Tabelle 11). Die Vorbereitung der Messplatte wurde mit der *Janus Automated Workstation* durchgeführt.

Tabelle 11: Messplattedesign für die DNA-Konzentrationsmessung

	1 DNA Std. ng/ μ l	2 DNA Std. ng/ μ l	3	4	5	6	7	8	9	10
A	100	100	DNA1	DNA1	DNA9	DNA9	DNA17	DNA17	DNA25	DNA25
B	50	50	DNA2	DNA2	DNA10	DNA10	DNA18	DNA18	DNA26	DNA26
C	25	25	DNA3	DNA3	DNA11	DNA11	DNA19	DNA19	DNA27	DNA27
D	12,5	12,5	DNA4	DNA4	DNA12	DNA12	DNA20	DNA20	DNA28	DNA28
E	6,25	6,25	DNA5	DNA5	DNA13	DNA13	DNA21	DNA21	DNA29	DNA29
F	3,125	3,125	DNA6	DNA6	DNA14	DNA14	DNA22	DNA22	DNA30	DNA30
G	1,5625	1,5625	DNA7	DNA7	DNA15	DNA15	DNA23	DNA23	DNA31	DNA31
H	BLIND	BLIND	DNA8	DNA8	DNA16	DNA16	DNA24	DNA24	DNA32	DNA32

Durchführung der Messung

In einem 50 ml fassenden Röhrchen wurde, bei möglichst geringem Lichteinfall und unmittelbar vor der Messung, das photosensible *PicoGreen* mit *Aqua bidest* 1:156 verdünnt. Jeweils 145 μ l dieser Verdünnung wurden zu der vorverdünnten Proben- bzw. der Standard-DNA gegeben. Die Endverdünnung des *PicoGreen* betrug dadurch 1:200. Die gefüllte Platte wurde durch einen Greifarm von der Janus Workstation in den Victor 3 *Multilabel Counter 1420* überführt.

Für die Anregung des *PicoGreens* wurde eine Wellenlänge von 485 nm und bei der Messung der Emissionen eine Wellenlänge von 520 nm verwendet. Mit Hilfe der Wallac 1420 Workstation-Software konnte die Fluoreszenzmessung online verfolgt werden. Die gemessenen Fluoreszenzmesswerte wurden an den Rechner Optiplex GX620 übermittelt, der die Konzentration der DNA-Lösung anhand der Fluoreszenzwerte berechnete. Die berechneten Messwerte wurden in einer Excel-Tabelle eingegeben und vor der Verdünnung gesichert.

Konzentrationseinstellung auf 50 ng / μ l

Die Einstellung der Konzentration wurde auf 50 ng / μ l mit Hilfe des *Janus Pipettierroboters* durchgeführt und verlief vollautomatisch. Das Endvolumen betrug 500 μ l. Die so entstandene Arbeitslösung wurde bei -80 °C gelagert und im Bedarfsfall bei 4 °C aufgetaut.

2.3.3 Genotypisierung

Für die Genotypisierung der SNPs, welche im Rahmen dieser Studie zwischen beiden Stichproben verglichen wurden, kam das *iPLEX*-Verfahren zum Einsatz. Das *iPLEX*-Verfahren beruht im Wesentlichen auf folgenden Schritten:

1. Eine konventionelle *PCR*-Reaktion zur Vervielfältigung des zu untersuchenden Genombereichs.
2. Die *iPLEX*-Reaktion, eine spezielle *PCR*-Reaktion, bei der für jedes Allel eines SNPs massenspezifische Produkte entstehen.
3. Die Messung der Massen in *MALDI-TOF MS* (*Matrix Assisted Laser Desorption / Ionisation Time Of Flight Mass Spectrometry*).

Die Genotypisierung wurde an 7 SNPs des Gens DKK3 durchgeführt (Tabelle 12).

Tabelle 12: Information über die zu untersuchenden SNPs

SNP-ID	Gen	Allele	Chromosom	Funktion	Chromosomposition
rs3206824	DKK3	A/G	11	G335R	11942637
rs11022095	DKK3	A/G	11	Intron	11943503
rs7395522	DKK3	C/T	11	Intron	11957354
rs6485345	DKK3	A/G	11	Intron	11966395
rs11022105	DKK3	C/T	11	Intron	11972306
rs3750938	DKK3	A/C	11	Intron	11976602
rs3750940	DKK3	A/G	11	Intron	11979474

Die Primer, welche für das *iPLEX*-Verfahren eingesetzt wurden, sind in Tabelle 13 dargestellt.

Tabelle 13: Eingesetzte Primers für das iPLEX-Verfahren

SNP-ID	Primer 1	Primer 2	Länge (bp)	Extensionsprimer
rs3206824	ACGTTGGATGA GAGGAGCCTGA CTGAAGAG	ACGTTGGATGT AAATCTCTTCCC CTCCCCAG	99	tGCGGCAGCCGC AGGCTCCC
rs11022095	ACGTTGGATGA GAAGACTGAGT AGAGGCTG	ACGTTGGATGT GAGGCTGCTGA GACTCCAT	117	ggcgGCTGAGAC TCCATGAGGCA
rs7395522	ACGTTGGATGA TACAGCAGCAG CTGTCAGG	ACGTTGGATGA ACTGTCTTACC CTTGTGTC	103	CAGGAAATGGA GGCTGGG
rs6485345	ACGTTGGATGC AGAGCAATGAG ATCTGAAC	ACGTTGGATGT CTACTCTTGGTC ACATCCC	111	GCAGACTATGG AAAAAATGA
rs11022105	ACGTTGGATGG TTCTAATTGCT GGTTCCC	ACGTTGGATGC TGTGGAGACCT TTCGCATC	101	CCCAGTCTCATG CCATTCTTTTTC
rs3750938	ACGTTGGATGA ATAGGTTACGC CTCCATGC	ACGTTGGATGT GAGATGGGCCA TGCAAATG	100	TGCAAATGACCA CTCAATTAAATT
rs3750940	ACGTTGGATGT GATCCATCTAAC TGAGCCC	ACGTTGGATGT TATGTGCCGTT GCCTTGAC	104	ctgttCCGTTGCCT TGACTATAAAG

2.3.3.1 iPLEX-Verfahren

1. Konventionelle PCR-Reaktion

Tabelle 14 zeigt eine Liste der Materialien, Geräte und Reagenzien, die für die *PCR*-Reaktion notwendig waren.

Tabelle 14: Verwendete Materialien für die konventionelle PCR-Reaktion

Material, Reagenz, Gerät	Verwendungszweck	Hersteller
Microlab 4000	Pipettierroboter	Hamilton, USA
Thermo Fast 96 well Plate	Vorbereitung des Mastermix	ABgene, Hamburg
Thermo Fast 384 well Plate	PCR-Reaktion	ABgene, Hamburg
Zentrifuge 5810	Zentrifugation der 96- und 384-well Platten	Eppendorf, Hamburg
Gene Amp PCR System 9700	Thermocycler für die PCR Reaktion	Applied Biosystems, Forster City, USA
Dan Klorix	Verhinderung der DNA-Kontamination	Colgate-Palmolive, Hamburg
Easy Peel Heat Sealing Foil	Verschluss der 96- und 384-well Platten	ABgene, Hamburg
Eppendorf Research Pipetten	Pipettierung der Reagenzien	Eppendorf, Hamburg
e.T.I.P.S Pipettenspitzen (0,5-20 µl; 2-200 µl; 50-1000 µl)	Pipettierung der Reagenzien	Eppendorf, Hamburg
Heat Sealer ALPS-300	Verschluss der 96- und 384-well Platten	ABgene, Hamburg
Mikrotestplatte 96 K	Pipettierung des PCR Mastermix	Sarstedt AG & Co., Nürnbrecht
Pipettierwanne für Mehrkanalpipetten	Pipettierung des PCR Mastermix	Firma Ratiolab, Dreieich
Purelab ultra	Reinstwasseranlage	ELGA, Celle
Spritzen 50 ml	Wasserfilterung	Qualilab, Olivet, Frankreich
Spritzenvorsatzfilter 0,22 µl	Wasserfilterung	Qualilab, Olivet, Frankreich
Autoklaviertes Wasser (1.850 µl)	Reagenz	Purelab ultra, ELGA, Celle
PCR Puffer mit MgCl ₂ (0.625 µl)	Reagenz	Qiagen, Hilden
MgCl ₂ (25 mM) (0.325 µl)	Reagenz	Qiagen, Hilden
dNTP Mix (25 mM) (0.100 µl)	Reagenz	ABgene, Hamburg
Primer Mix (jeweils 500 nM) (1.000 µl)	Reagenz	Qiagen, Hilden
Genomische DNA (5-10 ng / µl) (1.000 µl)	Reagenz	
HotStar Taq DNA Polymerase (5 U / µl) (0.100 µl)	Reagenz	Qiagen, Hilden

Zuerst wurden die in einer Konzentration von 50 ng / µl vorliegenden Arbeitslösungen auf eine Endkonzentration von 5 ng / µl verdünnt. Dazu wurde steril filtriertes Wasser verwendet. Mittels einer 50 ml Spritze wurde destilliertes Wasser aufgezogen und dann über einen Spritzenvorsatzfilter steril filtriert. Mit Hilfe des Pipettierroboters wurde in 96 well-Platten 90 µl destilliertes, steril filtriertes Wasser pro Vertiefung vorgelegt. In einem nächsten Schritt erfolgte die Einpipettierung von 10 µl der

Arbeitslösung mit einer 12-Kanalpipette. Durch mehrmaliges Aufziehen der Pipette wurde die Lösung in jeder Vertiefung gemischt. Die Platte wurde bei -20 °C gelagert. Dann wurde ein Mastermix erstellt. Dazu wurden die in gefrorenem Zustand gelieferten Primer vor Gebrauch bei Raumtemperatur aufgetaut und auf einem Vortex Genie2-Gerät gemischt. Die Reagenzien 10x PCR-Puffer, 25 mM MgCl₂, 25 mM dNTP Mix wurden ebenso aufgetaut. Die benötigten Mengen der einzelnen Reagenzien (Tabelle 15) wurden in einem 15 ml tiefen Röhrchen vorgelegt und gemischt. Die Taq-Polymerase wurde vorsichtig durch Umkippen gemischt und abzentrifugiert und ebenfalls dem Mastermix zugegeben.

Tabelle 15: Eingesetzte Volumina und Konzentrationen der einzelnen Reagenzien in der PCR-Reaktion

Reagenz	Konzentration in einer 5µl Reaktion	Volumen in einer Reaktion (Inkl. 25% Überhang)	Volumen für 384 Reaktionen (Inkl. 25% Überhang)
Wasser	NA	1,850 µl	888 µl
10xPCR- Puffer	1,25 x	0,625 µl	300 µl
MgCl ₂ 25 mM	1625 mM	0,325 µl	156 µl
dNTP Mix, 25 mM	500 µM	0,100 µl	480 µl
Primer Mix, 500 nM each	100 nM	1,000 µl	480 µl
Hotstar Taq Polymerase, 5 U / µl	0,5 U / Reaktion	0,100 µl	48 µl
Total	NA	4,000 µl	2400 µl

Der Mastermix wurde in eine Pipettierwanne gegeben und mit einer Mehrkanalpipette auf eine Mikrotestplatte 96K aliquotiert. Anschließend wurden, mit Hilfe des Pipettierroboters, 3 µl Mastermix und 2,5 µl der DNA-Lösungen in die Vertiefungen einer 384 well-Platte übertragen. Um DNA-Kontaminationen zu verhindern, wurden nach jedem Pipettierschritt alle DNA exponierten Teile des Roboters mit 2 %iger Hydrochlorid-Lösung (Dan Klorix) gespült.

Dann wurde die 384 well-Platte abzentrifugiert und mit *Heat Sealing* Folie verschweißt. Anschließend erfolgte die PCR-Reaktion im *Thermocycler*. Die DNA wurde auf 95 °C für 5 Minuten initial denaturiert (initiale Denaturierung). Danach wurden die Proben noch 20 Sekunden auf dieser Temperatur gehalten (Denaturierung). Im Anschluss wurden die Proben für 30 Sekunden auf 56 °C abgekühlt, so dass sich die Primer direkt an den Einzelstrang der DNA anlagern konnten (Annealing). Anschließend wurde die Temperatur für 1 Minute auf 72 °C erhöht, um die Aktivität der Taq-Polymerase zu ermöglichen (Elongation). Die Temperatur wurde abschließend noch weitere 3 Minuten auf 72 °C gehalten (finale Elongation) und die Proben danach auf 12 °C gekühlt. Die 3 Schritte dieser Prozedur (Denaturierung, Annealing, Elongation) wurden insgesamt 45 Mal wiederholt. Danach stand durch DNA-Amplifikation genügend Material für die Genotypisierung zur Verfügung.

2. SAP-Behandlung

Nach der PCR-Reaktion verbleiben einige Desoxynukleotidtriphosphate (dNTP) im Überschuss. Um die spätere Massenspektrometrie nicht zu stören, wurden sie mit Hilfe der *Shrimp Alkaline Phosphatase* (SAP) dephosphoryliert. Hierfür wurde ein SAP-Mix, bestehend aus 1,530 µl autoklaviertem Wasser, 0,170 µl SAP-Puffer (10x) und 0,300 µl SAP-Enzym in einer Konzentration von 1 U / µl, verwendet. Jede Probe wurde mit dieser SAP-Mischung versetzt und im Vortexer gemischt. Nach einer vierzigminütigen Inkubation der Proben auf 37 °C, wurde die Temperatur zur Deaktivierung der SAP auf 85 °C erhöht und 10 Minuten gehalten. Danach wurde die Temperatur auf 4 °C abgesenkt.

3. Die iPLEX-Reaktion

Bei der iPLEX-Reaktion wurden die Extensionsprimer (Tabelle 13, Seite 58) um jeweils eine Base verlängert (Einzelbasenextension oder *Single Base Extension* = SBE). Dabei wurden Primer verwendet, die direkt vor dem gesuchten SNP an die DNA hybridisieren. Da die Reaktionsmischung Didesoxynukleotidtriphosphate (ddNTP) statt Desoxynukleotidtriphosphate (dNTP) zugegeben wurden, konnte dieser Primer nur um ein Basennukleotid verlängern, das jeweils komplementär zu dem gesuchten SNP war. Das Massenspektrometer erkennt die unterschiedlichen

Massen aller vier Basen und kann hierdurch das spezifisch verlängerte Basennukleotid detektieren.

Tabelle 16: Verwendete Materialien für die iPLEX-Reaktion

Material, Reagenz, Gerät	Verwendungszweck	Hersteller
Multimek Pipettierroboter	Zugabe des Single Base Extension-Mix zum PCR-Produkt	Ratiolab, Dreieich
iPLEX Puffer 10x (0,200 µl)	Single Base Extension	Sequenom, San Diego, USA
iPLEX Termination Mix (0,200 µl)	Single Base Extension	Sequenom, San Diego, USA
Primer Mix (7 µM; 14 µM (0,800 µl)	Single Base Extension	Sequenom, San Diego, USA
iPLEX Enzyme (0,041 µ)	Single Base Extension	Sequenom, San Diego, USA

Die eingesetzten Konzentrationen und Volumina des iPLEX-Mix sind in der Tabelle 17 dargestellt.

Tabelle 17: Eingesetzte Volumina und Konzentrationen der einzelnen Reagenzien des iPLEX Mix

Reagenz	Konzentration in einer 9 µl Reaktion	Volumen in einer Reaktion (Inkl. Überhang)	Volumen für 384 Reaktionen (Inkl. Überhang)
Autoklaviertes Wasser	NA	0,755 l	362,40 µl
iPLEX Puffer Plus	0,222 x	0,200 µl	96,00 µl
iPLEX Termination Mix	1 x	0,200 µl	96 µl
Primer Mix (7 µl bis 14 µl)	0,625 µM bis 1,25 µM	0,804 µl	385,92 µl
iPLEX Enzym	1 x	0,041 µl	19,68 µl
Total		2,000 µl	960,00 µl

Zur Herstellung des iPLEX-Mix wurden die benötigten Materialien, mit Ausnahme des iPLEX-Enzyms, aufgetaut, in einem 15 ml Röhrchen (Firma Sarstedt, Nürnbrecht) gemischt und abzentrifugiert. Unmittelbar vor Gebrauch wurde das bei

-20 °C gelagerte iPLEX-Enzym gemischt, abzentrifugiert und die erforderliche Menge für die Reaktion dazu gegeben. Der iPLEX-Mix wurde aus einer Pipettierwanne mit einer Mehrkanalpipette in eine 96 Well Platte aufgeteilt und mit dem Multimek Pipettierroboter je 2 µl iPLEX-Mix zu den mit SAP behandelten Reaktionsprodukte gegeben. Der Reaktionsansatz wurde in einen Thermocycler gesetzt, in welchem die spezielle PCR-Reaktion des iPLEX-Verfahrens stattfinden sollte. Die initiale Denaturierung erfolgte für 30 Sekunden bei 94 °C. Anschließend folgten 40 Zyklen mit einer Denaturierung bei 94 °C für 5 Sekunden, Annealing für 5 Sekunden bei 52 °C, Elongation für weitere 2 Sekunden bei 80 °C, wobei Annealing und Elongation fünf Male wiederholt wurden, bevor eine erneute Denaturierung erfolgte. Insgesamt wurde so 200 Annealing- / Elongationszyklen durchlaufen. Anschließend wurde die Temperatur für 3 Minuten auf 72 °C gesenkt und schließlich bei 4 °C konstant gehalten.

4. Entsalzung der Extensionsprodukte

Um Störsignale (z. B. durch Natriumionen) bei der Massenspektrometrie-Messung zu vermeiden, werden die Extensionsprodukte mit *Clean Resin* (Firma *Sequenom*, San Diego, USA) und *Dimple Plates* (Firma *Sequenom*, San Diego, USA) entsalzt.

5. Messung der Extensionsprodukte im MALDI-TOF Massenspektrometer

Als geeigneter Probenträger für die Extensionsprodukte wurden Siliziumchips *SpectroCHIPS* der Firma *Sequenom* (San Diego, USA), verwendet. Die Probenübertragung von der 384 Well-Plate auf die 384 SpectroCHIPS erfolgte mit einem *MassARRAY POINT Nanodispenser* der Firma *Sequenom* (San Diego, USA).

Eine Mischung von Oligonukleotiden, deren Masse bekannt war, wurde für die Kalibrierung zum Analysesystem hinzugefügt. Durch eine Vakumschleuse wurden die Chips in das MALDI-TOF-Gerät eingeschleust und im Hochvakuum für einige Nanosekunden einem intensiven Laserpuls ausgesetzt. Dies führte zur Verdampfung und gleichzeitig zur Ionisierung der Proben. Die entstandenen Ionen wurden beschleunigt und ihre Flugdauer gemessen. Die gemessene Flugzeit entsprach der Masse der Einzelnucléotide. Die *TYPER Analyzer 3.3.0-Software* (*Sequenom*, San Diego, USA) konnte durch die Flugdauer auf die jeweiligen Nukleotide rückschließen, wobei sich die Geschwindigkeit der Ionen umgekehrt proportional zu ihrer Masse

verhält. Dadurch war die genaue Detektion der verschiedenen SNPs in der DNA-Sequenz möglich.

2.4 Statistische Auswertung

Mit Hilfe der SPSS-Software 15.0 (Statistical Package for Social Sciences 15.0, Inc. Chicago, 2005) wurde die statistische Auswertung der vorliegenden Arbeit durchgeführt.

Die Verteilung der Genotypen und Allele bei Kontrollprobanden und schizophrenen Patienten wurde hinsichtlich des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts geprüft.

Die Prüfung der Signifikanz der Unterschiede erfolgte mit dem Chi-Quadrat-Test.

Für alle statistischen Berechnungen wurde ein Signifikanzniveau von $p < 0.05$ und eine Tendenz von < 0.1 festgelegt.

3. Ergebnisse

Die in dieser Studie untersuchten Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNPs) des DKK3-Gens sind auf Chromosom 11 lokalisiert. Insgesamt wurden 7 SNPs des oben genannten Gens genotypisiert. Bei jedem Einzelnen wurde die Allel- und Genotypverteilung statistisch ausgewertet.

Für alle Polymorphismen wurde das HARDY-WEINBERG-Gleichgewicht berechnet. Die Berechnung dieser Werte zeigt Tabelle 18.

Tabelle 18: Berechnung des Hardy-Weinberg-Wertes für die SNPs des DKK3-Gens

SNP	p-Wert	df	F
rs3206824	p = 0.661305	1	F = -0.01024
rs11022095	p = 0.533243	1	F = -0.01482
rs7395522	p = 0.844636	1	F = -0.00468
rs6485345	p = 0.956273	1	F = 0.00129
rs11022105	p = 0.341717	1	F = 0.02225
rs3750938	p = 0.815337	1	F = -0.00556
rs3750940	p = 0.729159	1	F = 0.00825

Die Genotypen in den untersuchten Populationen befanden sich im HARDY-WEINBERG Equilibrium.

3.1 Analyse des SNPs rs3206824

Allelverteilung

Die statistische Auswertung der Allelverteilung bei Patienten und Kontrollprobanden ergab die in Tabelle 19 gezeigten Ergebnisse.

Tabelle 19: Allelverteilung rs3206824

	A-Allel n (%)	G-Allel n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	713 (26.97)	1931 (73.03)	2644 (100)
Patienten	276 (27.22)	738 (72.78)	1014 (100)
Gesamt	989 (27.04)	2669 (72.96)	3658 (100)

Diese Ergebnisse zeigen keine signifikant-unterschiedlich allelische Verteilung zwischen den Kontrollprobanden und den schizophrenen Patienten ($\chi^2 = 0.024$, OR= 0.987 (CI = 0.839 – 1.162), df = 1, p = 0.878).

Genotypverteilung

Tabelle 20 zeigt die Genotypverteilung sowohl bei Kontrollprobanden als auch bei schizophrenen Patienten.

Tabelle 20: Genotypverteilung des SNP rs3206824

	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	93 (7.04)	527 (39.86)	702 (53.10)	1322 (100)
Patienten	37 (7.30)	202 (39.84)	268 (52.86)	507 (100)
Gesamt	130 (7.11)	729 (39.86)	970 (53.03)	1829 (100)

Bei den Genotypfrequenzen war ebenfalls keine signifikant unterschiedliche Verteilung zwischen beiden Teilnehmergruppen erkennbar ($\chi^2 = 0.04$, df = 1, p = 0.98).

In einem weiteren Schritt wurden alle A-Allel-Träger mit den Homozygoten für das G-Allel miteinander verglichen. Tabelle 21 zeigt das Ergebnis.

Tabelle 21: Häufigkeit aller A-Allel-Träger in Vergleich mit den Homozygoten für das G-Allel

	Genotyp A/A und A/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	620 (46.90)	702 (53.10)	1322 (100)
Patienten	239 (47.14)	268 (52.86)	507 (100)
Gesamt	859 (46.97)	970 (53.03)	1829 (100)

Die Stichproben zeigten keine signifikante Diskrepanz bezüglich der Genotypverteilung in dieser Konstellation ($\chi^2 = 0.009$; OR = 0.990 (CI = 0.807-1.216); df = 1; p = 0.926).

Die Genotypen wurden außerdem durch die umgekehrte Gegenüberstellung analysiert. Alle G-Allel-Träger wurden mit den Homozygoten für das A-Allel miteinander verglichen. Das Ergebnis zeigt Tabelle 22.

Tabelle 22: Häufigkeit der Homozygoten für das A-Allel im Vergleich mit allen G-Allel-Trägern

	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/G und G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	93 (7.03)	1229 (92.97)	1322 (100)
Patienten	37 (7.30)	470 (92.70)	507 (100)
Gesamt	130 (7.11)	1699 (92.89)	1829 (100)

Diese Konstellation ließ keine signifikante Assoziation zur Schizophrenie erkennen ($\chi^2 = 0.038$; OR = 0.961 (CI = 0.647-1.428); df = 1; p = 0.845)/.

3.2 Analyse des SNPs rs11022095

Allelverteilung

Tabelle 23 zeigt die Allelverteilung des SNPs rs11022095 in beiden Stichproben.

Tabelle 23: Allelverteilung des SNPs rs11022095

	A-Allel n (%)	G-Allel n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	1561 (61.51)	977 (38.49)	2538 (100)
Patienten	590 (59.12)	408 (40.88)	998 (100)
Gesamt	2151 (60.83)	1385 (39.17)	3536 (100)

Die Teilnehmergruppen zeigten keinen signifikanten Unterschied bezüglich ihrer Allelverteilung ($\chi^2 = 1.713$, OR = 1.105 (CI = 0.952-1.283), df = 1, p = 0.191).

Genotypverteilung

Die Genotypverteilungen in den Kontroll- und Patientengruppen sind aus Tabelle 24 ersichtlich.

Tabelle 24: Genotypverteilung des SNPs rs11022095

	Genotyp A/A	Genotyp A/G	Genotyp G/G	Gesamt
Kontrollprobanden	475 (37.43)	611 (48.15)	183 (14.42)	1269 (100)
Patienten	173 (34.67)	244 (48.90)	82 (16.43)	499 (100)
Gesamt	648 (36.65)	855 (48.36)	265 (14.99)	1768 (100)

Die Genotypverteilung der Teilnehmergruppen ergab keine signifikante Abweichung ($\chi^2 = 1.754$, df = 2, p = 0.416).

In Tabelle 25 wurden alle A-Allel-Träger mit den Homozygoten für das G-Allel verglichen.

Tabelle 25: Häufigkeit der A-Allel-Träger im Vergleich zu Homozygoten für das G-Allel

	Genotyp A/A und A/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	1086 (85.58)	183 (14.42)	1269 (100)
Patienten	417 (83.57)	82 (16.43)	499 (100)
Gesamt	1503 (85.01)	265 (14.99)	1768 (100)

Bei dieser Analyse zeigt sich zwischen beiden Stichproben ebenfalls keine signifikante Diskrepanz ($\chi^2 = 1.138$, OR = 1.167 (CI = 0.879-1.550), df = 1, p = 0.286).

Die umgekehrte Konstellation, Homozygotie für das A-Allel im Vergleich zu allen G-Allel-Trägern, wird aus Tabelle 26 ersichtlich.

Tabelle 26: Häufigkeit der Homozygoten für das A-Allel im Vergleich zu allen G-Allel-Trägern

	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/G und G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	475 (37.43)	794 (62.57)	1269 (100)
Patienten	173 (34.67)	326 (65.33)	499 (100)
Gesamt	648 (36.65)	1120 (63.35)	1768 (100)

Bei dieser Gegenüberstellung konnte zwischen beiden Teilnehmergruppen ebenfalls keine signifikante Assoziation zur Schizophrenie eruiert werden ($\chi^2 = 1.177$, OR = 1.127 (CI = 0.908-1.400), df = 1, p = 0.278).

3.3 Analyse des SNPs rs7395522

Allelverteilung

Die Allele C und T des SNPs rs7395522 waren, wie in Tabelle 27 beschrieben, auf beide Teilnehmergruppen verteilt.

Tabelle 27: Allelverteilung des SNPs rs7395522

	C-Allel n (%)	T-Allel n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	2013 (79.82)	509 (20.18)	2522 (100)
Patienten	771 (78.35)	213 (21.65)	984 (100)
Gesamt	2784 (79.41)	722 (20.59)	3506 (100)

Bezüglich der Allelverteilung konnte zwischen beiden Populationen keine signifikante Differenz registriert werden ($\chi^2 = 0.928$, OR = 1.093 (CI = 0.912-1.308), df = 1, p = 0.335).

Genotypverteilung

Tabelle 28 zeigt die Genotypverteilung bei Kontrollprobanden und schizophrenen Patienten.

Tabelle 28: Genotypverteilung des SNPs rs7395522

	Genotyp C/C n (%)	Genotyp C/T n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	803 (63.68)	407 (32.28)	51 (4.04)	1261 (100)
Patienten	301 (61.18)	169 (34.35)	22 (4.47)	492 (100)
Gesamt	1104 (62.98)	576 (32.86)	73 (4.16)	1753 (100)

Bei der Genotypverteilung zwischen beiden Teilnehmergruppen konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($\chi^2 = 0.970$, df = 2, p = 0.616).

In der Tabelle 29 wurden alle C-Allel-Träger mit den Homozygoten für das T-Allel miteinander verglichen.

Tabelle 29: Häufigkeit der C-Allel-Träger im Vergleich zu den Homozygoten für das T-Allel

	Genotyp C/C und C/T n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	1210 (95.96)	51 (4.04)	1261 (100)
Patienten	470 (95.53)	22 (4.47)	492 (100)
Gesamt	1680 (95.84)	73 (4.16)	1753 (100)

Die Genotypverteilung in dieser Gegenüberstellung ergab zwischen beiden Stichproben keinen signifikanten Zusammenhang zu der Erkrankung ($\chi^2 = 0.162$, OR = 1.111 (CI = 0.666-1.852), df = 1, p = 0.688).

Die umgekehrte Konstellation, Homozygote für das C-Allel im Vergleich mit allen T-Allel-Trägern wird in Tabelle 30 dargestellt.

Tabelle 30: Vergleich zwischen den Homozygoten für das C-Allel mit allen T-Allel-Trägern

	Genotyp C/C n (%)	Genotyp C/T und T/T n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	803 (63.68)	458 (36.32)	1261 (100)
Patienten	301 (61.18)	191 (38.82)	492 (100)
Gesamt	1104 (62.98)	649 (37.02)	1753 (100)

Die Populationen zeigten bei dieser Analyse keine signifikante Diskrepanz ($\chi^2 = 0.949$, OR = 1.113 (CI = 0.898-1.379), df = 1, p = 0.330).

3.4 Analyse des SNPs rs6485345

Allelverteilung

Die Allelverteilung des SNPs rs6485345 wurde folgendermaßen statistisch ausgewertet (Tabelle 31):

Tabelle 31: Allelverteilung des SNPs rs6485345

	A-Allel n (%)	G-Allel n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	1052 (40.18)	1566 (59.82)	2618 (100)
Patienten	396 (39.44)	608 (60.56)	1004 (100)
Gesamt	1448 (39.98)	2174 (60.02)	3622 (100)

Es konnte zwischen beiden Teilnehmergruppen keine signifikante Assoziation zur Schizophrenie eruiert werden ($\chi^2 = 0.166$, OR = 1.031 (CI = 0.889-1.197), df = 1, p = 0.684).

Genotypverteilung

Tabelle 32 zeigt die Genotypverteilung bei Kontrollprobanden und schizophrenen Patienten.

Tabelle 32: Genotypverteilung des SNPs rs6485345

	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	207 (15.81)	638 (48.74)	464 (35.45)	1309 (100)
Patienten	83 (16.53)	230 (45.82)	189 (37.65)	502 (100)
Gesamt	290 (16.01)	868 (47.93)	653 (36.06)	1811 (100)

Bezüglich der Genotypverteilung wurde zwischen beiden Stichproben kein signifikanter Zusammenhang zur Erkrankung registriert ($\chi^2 = 1.252$, df = 2, p = 0.535)

Die Genotypverteilung wurde bei diesem SNP in zwei Konstellationen analysiert. Als erstes wurden alle A-Allel-Träger mit den Homozygoten für das G-Allel verglichen (Tabelle 33).

Tabelle 33: Vergleich zwischen A-Allel-Trägern mit den Homozygoten für das G-Allel

	Genotyp A/A und A/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	845 (64.55)	464 (35.45)	1309 (100)
Patienten	313 (62.35)	189 (37.65)	502 (100)
Gesamt	1158 (63.94)	653 (36.06)	1811 (100)

Der genotypische Vergleich in dieser Konstellation ergab zwischen beiden Teilnehmergruppen keinen signifikanten Unterschied ($\chi^2 = 0.763$, OR = 1.100 (CI = 0.889-1.361), df = 1, p = 0.382)

Als nächstes wurden die Homozygoten für das A-Allel mit allen G-Allel-Trägern verglichen. Das Ergebnis lässt sich aus Tabelle 34 ablesen.

Tabelle 34: Vergleich zwischen den Homozygoten für das A-Allel mit allen G-Allel-Trägern

	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/G und G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	207 (15.81)	1102 (84.19)	1309 (100)
Patienten	83 (16.53)	419 (83.47)	502 (100)
Gesamt	290 (16.01)	1521 (83.99)	1811 (100)

Bei dieser Analyse konnte zwischen beiden Populationen keine signifikante Assoziation zur Schizophrenie ermittelt ($\chi^2 = 0.140$, OR = 0.948 (CI = 0.718-1.253), df = 1, p = 0.708)

3.5 Analyse des SNPs rs11022105

Allelverteilung

Die Verteilung der C- und T-Allele in beiden Stichproben wurde in Tabelle 35 zusammengefasst.

Tabelle 35: Allelverteilung des SNPs rs11022105

	C-Allel n (%)	T-Allel n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	839 (31.78)	1801 (68.22)	2640 (100)
Patienten	324 (32.02)	688 (67.98)	1012 (100)
Gesamt	1163 (31.85)	2489 (68.15)	3652 (100)

Die Allelverteilung dieses SNPs ergab keine signifikante Diskrepanz zwischen Kontrollprobanden und schizophrenen Patienten ($\chi^2 = 0.019$, OR = 0.989 (CI = 0.847-1.156), df = 1, p = 0.891).

Genotypverteilung

Tabelle 36 zeigt die Genotypverteilung vom SNP rs11022105.

Tabelle 36: Genotypverteilung des SNPs rs11022105

	Genotyp C/C n (%)	Genotyp C/T n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	144 (10.91)	551 (41.74)	625 (47.35)	1320 (100)
Patienten	50 (9.88)	224 (44.27)	232 (45.85)	506 (100)
Gesamt	194 (10.63)	775 (42.44)	857 (46.93)	1826 (100)

In Bezug auf die Allelverteilung zwischen beiden Teilnehmergruppen konnte keine signifikante Differenz nachgewiesen werden ($\chi^2 = 1.089$, df = 2, p = 0.580).

Alle C-Allel-Träger wurden zusammengefasst und mit den Homozygoten des T-Allels verglichen (Tabelle 37).

Tabelle 37: Häufigkeit der C-Allel-Träger in Vergleich mit den Homozygoten für das T-Allel

	Genotyp C/C und C/T n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	695 (52.65)	625 (47.35)	1320 (100)
Patienten	274 (54.15)	232 (45.85)	506 (100)
Gesamt	969 (53.07)	857 (46.93)	1826 (100)

Diese Konstellation ergab zwischen beiden Gruppen keinen signifikanten Zusammenhang zur Schizophrenie ($\chi^2 = 0.330$, OR = 0.942 (CI = 0.767-1.156), df = 1, p = 0.566).

Anschließend wurden die Homozygoten für das C-Allel mit allen T-Allel-Trägern verglichen (Tabelle 38).

Tabelle 38: Vergleich zwischen Homozygoten für das C-Allel mit allen T-Allel-Trägern

	Genotyp C/C n (%)	Genotyp C/T und T/T n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	144 (10.91)	1176 (89.09)	1320 (100)
Patienten	50 (9.88)	456 (90.12)	506 (100)
Gesamt	194 (10.62)	1632 (89.38)	1826 (100)

Diese Gegenüberstellung der beiden Gruppen ließ keine signifikante Assoziation zu der Erkrankung erkennen ($\chi^2 = 0.407$, OR = 1.117 (CI = 0.795-1.568), df = 1, p = 0.524)

3.6 Analyse des SNPs rs3750938

Allelverteilung

Das A- und C-Allel ist bei Kontrollprobanden und schizophrenen Patienten folgendermaßen verteilt (Tabelle 39).

Tabelle 39: Allelverteilung des SNPs rs3750938

	A-Allel n (%)	C-Allel n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	2016 (79.37)	524 (20.63)	2540 (100)
Patienten	778 (79.07)	206 (20.93)	984 (100)
Gesamt	2794 (79.28)	730 (20.72)	3524 (100)

Bezüglich der Allelverteilung zeigte sich zwischen den Kontrollprobanden und schizophrenen Patienten keine signifikante Differenz ($\chi^2 = 0.040$, OR = 1.019 (CI = 0.850-1.221), df = 1, p = 0.841).

Genotypverteilung

Tabelle 40 zeigt die Genotypverteilung der Kontrollprobanden und schizophrenen Patienten.

Tabelle 40: Genotypverteilung des SNPs rs3750938

	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/C n (%)	Genotyp C/C n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	792 (62.36)	432 (34.02)	46 (3.62)	1270 (100)
Patienten	314 (63.82)	150 (30.49)	28 (5.69)	492 (100)
Gesamt	1106 (62.77)	582 (33.03)	74 (4.20)	1762 (100)

Die Genotypverteilung dieses SNPs ergab zwischen beiden Stichproben eine tendenzielle Assoziation zur Erkrankung ($\chi^2 = 5.071$, df = 2, p = 0.079). Im Vergleich zu Kontrollprobanden kam bei schizophrenen Patienten der Genotyp C/C häufiger vor.

Eine graphische Darstellung der Genotypverteilung des SNPs rs370938 zeigt Abbildung 7.

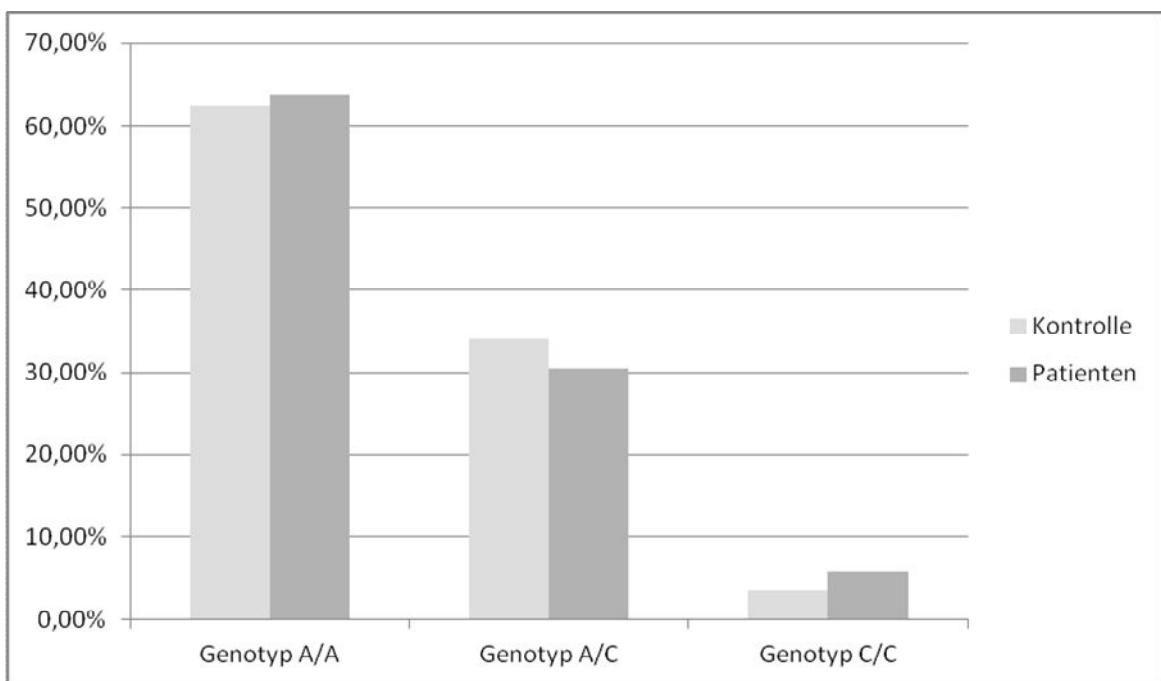


Abbildung 7: graphische Darstellung der Genotypverteilung des SNPs rs3750938.

Wie bei allen anderen Polymorphismen, wurden hier ebenfalls alle A-Allel-Träger mit den Homozygoten für das C-Allel verglichen (siehe Tabelle 41).

Tabelle 41: Vergleich zwischen allen A-Allel-Trägern mit den Homozygoten für das C-Allel

	Genotyp A/A und A/C n (%)	Genotyp C/C n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	1224 (96.38)	46 (3.62)	1270 (100)
Patienten	464 (94.31)	28 (5.69)	492 (100)
Gesamt	1688 (95.80)	74 (4.20)	1762 (100)

Bei dieser Gegenüberstellung konnte zwischen beiden Gruppen eine tendenzielle Assoziation zur Erkrankung eruiert werden ($\chi^2 = 3.773$, OR = 1.606 (CI = 0.992-2.600), df = 1, p = 0.052). Der Genotyp C/C ist im Vergleich zu A/C und A/A bei schizophrenen Patienten häufiger vorhanden als bei Kontrollprobanden. Abbildung 8 stellt dieses Ergebnis graphisch dar.

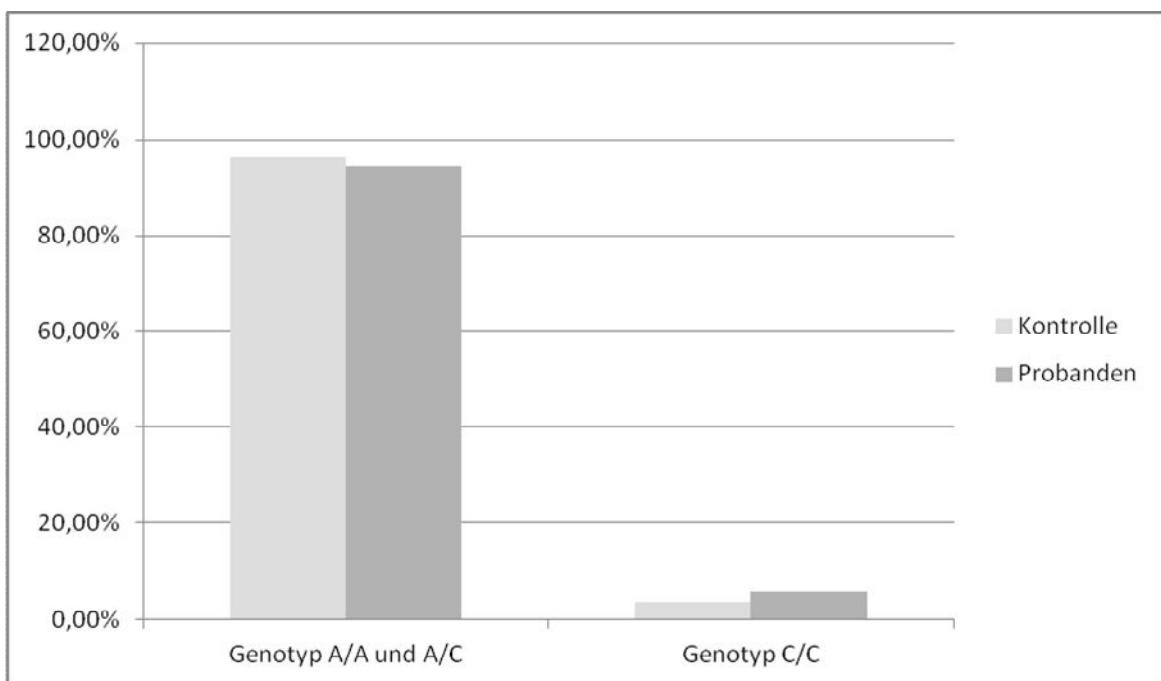


Abbildung 8: graphische Darstellung des Vergleiches zwischen allen A-Allelträgern und den Homozygoten für das C-Allel.

Die umgekehrte Konstellation, der Vergleich zwischen den Homozygoten für das A-Allel mit allen C-Allel-Trägern, wird in Tabelle 42 dargestellt.

Tabelle 42: Vergleich zwischen den Homozygoten für das A-Allel mit allen C-Allel-Trägern

	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/C und C/C n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	792 (62.36)	478 (37.64)	1270 (100)
Patienten	314 (63.82)	178 (36.18)	492 (100)
Gesamt	1106 (62.77)	656 (37.23)	1762 (100)

Der allelische Vergleich in dieser Gegenüberstellung erbrachte zwischen beiden Populationen keine signifikante Diskrepanz ($\chi^2 = 0.323$, OR = 0.939 (CI = 0.757-1.166), df = 1, p = 0.570).

3.7 Analyse des SNPs rs3750940

Allelverteilung

Tabelle 43 zeigt die Verteilung der A- und G-Allele bei Kontrollprobanden und schizophrenen Patienten.

Tabelle 43: Allelverteilung des SNPs rs3750940

	A-Allel n (%)	G-Allel n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	2114 (82.71)	442 (17.29)	2556 (100)
Patienten	805 (83.16)	163 (16.84)	968 (100)
Gesamt	2919 (82.83)	605 (17.17)	3524 (100)

Die Teilnehmergruppen ließen keine signifikante Differenz bezüglich ihrer Allelverteilung erkennen ($\chi^2 = 0.102$, OR = 0.968 (CI = 0.795-1.179), df = 1, p = 0.750).

Genotypverteilung

Die Genotypverteilung bei Kontrollprobanden und schizophrenen Patienten zeigt die Tabelle 44.

Tabelle 44: Genotypverteilung des SNPs rs3750940

	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	876 (68.54)	362 (28.33)	40 (3.13)	1278 (100)
Patienten	335 (69.21)	135 (27.89)	14 (2.90)	484 (100)
Gesamt	1211 (68.73)	497 (28.21)	54 (3.06)	1762 (100)

Die Genotypverteilung zwischen beiden Gruppen zeigte keinen signifikanten Zusammenhang zur Schizophrenie ($\chi^2 = 0.111$, df = 2, p = 0.946).

Die Genotypen A/A und A/G wurden zusammengefasst und dem homozygoten Genotyp G/G direkt gegenübergestellt. (Siehe Tabelle 45).

Tabelle 45: Vergleich zwischen allen A-Allel-Träger mit den Homozygoten für das G-Allel

	Genotyp A/A und A/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	1238 (96.87)	40 (3.13)	1278 (100)
Patienten	470 (97.11)	14 (2.89)	484 (100)
Gesamt	1708 (96.94)	54 (3.06)	1762 (100)

Diese Konstellation zeigte zwischen beiden Gruppen keinen signifikanten Unterschied ($\chi^2 = 0.067$, OR = 0.922 (CI = 0.497-1.710), df = 1, p = 0.796).

Die umgekehrte Gegenüberstellung, die Homozygoten für das A-Allel im Vergleich mit allen G-Allel-Trägern, zeigt Tabelle 46.

Tabelle 46: Vergleich zwischen Homozygoten für das A-Allel und allen G-Allel-Trägern

	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/G und G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	876 (68.54)	402 (31.46)	1278 (100)
Patienten	335 (69.21)	149 (30.79)	484 (100)
Gesamt	1211 (68.73)	551 (31.27)	1762 (100)

Bei dieser Gegenüberstellung konnte zwischen beiden Gruppen weiterhin kein statistisch signifikanter Unterschied demonstriert werden ($\chi^2 = 0.073$, OR = 0.969 (CI = 0.773-1.215), df = 1, p = 0.786.

4. Diskussion

Das DKK3-Gen kodiert für ein Protein, welches eine wichtige Rolle als Regulator des kanonischen Wnt-Signaltransduktionsweges einnimmt. Dieser Signaltransduktionsweg ist für die Zelldifferenzierung, Zellproliferation und Gewebehomöostase in vielen Organen essentiell. Er ist unter anderem an der neurologischen Entwicklung von Wirbeltieren sowie an der Pathogenese mancher ZNS-Erkrankungen mitbeteiligt. Eine Fehlfunktion des DKK3-Proteins könnte durch eine Dysregulation des Wnt-Signaltransduktionsweges an der Ätiopathogenese der Schizophrenie beteiligt sein (Logan et al., 2004; Niehrs, 2006).

Die vorliegende Studie analysierte die Assoziation von 7 Einzelnukleotidpolymorphismen des DKK3-Gens, welches auf Chromosom 11p15.3 lokalisiert ist, und der klinischen Ausprägung der Erkrankung Schizophrenie. Dabei wurde jeder einzelne SNP auf seine Allelfrequenz und Genotypverteilung in einer Stichprobe bestehend aus 507 schizophrene Patienten und 1322 Kontrollen untersucht.

Insgesamt konnte kein signifikanter Unterschied zwischen schizophrenen Patienten und gesunden Kontrollen in der Allelfrequenz und Genotypverteilung der 7 untersuchten SNPs des DKK3-Gens festgestellt werden.

Es konnte jedoch ein Trend des Polymorphismus rs3750938 eruiert werden. Die Tendenz wurde sowohl bei der Analyse der Genotypverteilung ($p = 0.079$) als auch bei der Untersuchung aller A-Allel-Träger im Vergleich zu Homozygoten für das C-Allel ($p = 0.052$) beobachtet. Der Genotyp C/C des SNPs rs3750938 tritt häufiger bei schizophrenen Patienten auf. Somit konnte eine tendenzielle Assoziation zwischen dem SNP rs3750938 des DKK3-Gens und dem Vorhandensein einer klinischen Schizophrenie festgestellt werden.

4.1 Diskussion der Methoden

Das für die vorliegende Arbeit ausgewählte Studiendesign ist eine Fall-Kontroll-Assoziationsstudie. Assoziationsstudien stellen fest, ob ein Allel eines Kandidatengens mit der Erkrankung assoziiert ist (Bickeböller et al., 2007b). Bei der

Studienplanung muss auf einige Variablen geachtet werden, um die Fehlerquote so gering wie möglich zu halten und damit die Aussagekraft der Ergebnisse zu erhöhen.

Eine wichtige Variable der Assoziationsstudien ist die Ethnizität. Verschiedene Populationen weisen unterschiedliche Krankheitshäufigkeiten und verschiedene Allelhäufigkeiten auf. Diese beiden Aspekte fungieren als „genetischer Confounder“ und können zu falschen Ergebnissen führen (Bickeböller et al., 2007a).

Athanasiu und Kollegen wählten zum Beispiel für ihre Studie eine Stichprobe aus skandinavischen Ländern aus – diese eignen sich gut für genetische Studien, da sie eine niedrige, nicht kaukasische Einwanderungsquote haben und somit eine weitestgehend homogene Population repräsentieren (Athanasiu et al., 2010).

Ethnizität wurde in dieser Arbeit berücksichtigt, und die registrierten Daten der für diese Studie ausgewählten Population wurden mit Daten von anderen Populationen verglichen (Tabellen 47). Die Daten der Vergleichspopulationen stammen aus der Veröffentlichung des HapMap-Project. Das internationale HapMap-Project (HapMap, 2011) hat als Ziel, die Erhebung und Veröffentlichung der Allelfrequenz und Genotypverteilung sowie die Erlangung von mehr Informationen über verschiedene Marker unterschiedlicher Populationen. Dadurch entsteht eine Art Kartographierung der Marker. Tabelle 47 zeigt einen Überblick über die Genotyp- und Allelfrequenzen der in dieser Studie analysierten 7 SNPs des DKK3-Gens in unterschiedlichen Populationen. Dabei ist zu erkennen, dass die Genotyp- und Allelfrequenzen aller SNPs nur geringfügige Unterschiede zwischen allen Populationen aufweisen. Dies ist ein Hinweis darauf, dass in anderen, nicht kaukasischen Populationen, auch eine tendenzielle Assoziation (oder sogar eine signifikante Assoziation) zwischen dem Polymorphismus rs3750938 des DKK3-Gens und der schizophrenen Erkrankung bestehen kann. Bei den in der Tabelle angegebenen Populationen handelt es sich um:

VS: Population der vorliegenden Studie (kaukasische Population).

CEU (C): Utah Population mit nord- und westeuropäischer Abstammung.

CHB (H): Population aus Peking, China.

JPT (J): Japaner in Tokyo, Japan.

YRI (Y): Yoruba in Ibadan, Nigeria.

Tabelle 47: Genotypfrequenzen in den verschiedenen Populationen

rs3206824	A/A (%)	G/A (%)	G/G (%)	A (%)	G (%)
CEU (n=226)	0.0	0.4	0.5	0.2	0.7
CHB (n=168)	0.0	0.3	0.6	0.2	0.7
JPT (n=172)	0.1	0.3	0.5	0.2	0.7
YRI (n=226)	0.0	0.2	0.7	0.1	0.8
VS (n=1829)	0.0	0.3	0.5	0.2	0.7
rs11022095	A/A (%)	A/G (%)	G/G (%)	A (%)	G (%)
CEU (n=114)	0.2	0.5	0.2	0.5	0.4
CHB (n=80)	0.3	0.4	0.2	0.5	0.4
JPT (n=86)	0.4	0.4	0.0	0.7	0.2
YRI (n=100)	0.4	0.4	0.1	0.6	0.3
VS (n=1768)	0.3	0.4	0.1	0.6	0.3
rs7395522	T/T (%)	C/T (%)	C/C (%)	T (%)	C (%)
CEU (n=120)	0.0	0.3	0.6	0.2	0.7
CHB (n=88)	0.0	0.3	0.5	0.2	0.7
JPT (n=88)	0.0	0.3	0.6	0.2	0.7
YRI (n=116)	0.0	0.1	0.8	0.0	0.9
VS (n=1753)	0.0	0.3	0.6	0.2	0.7
rs6485345	A/A (%)	A/G (%)	G/G (%)	A (%)	G (%)
CEU (n=226)	0.1	0.4	0.3	0.3	0.6
CHB (n=168)	0.0	0.2	0.6	0.1	0.8
JPT (n=172)	0.0	0.2	0.6	0.1	0.8
YRI (n=226)	0.0	0.1	0.7	0.1	0.8
VS (n=1811)	0.1	0.4	0.3	0.3	0.6
rs11022105	T/T (%)	C/T (%)	C/C (%)	T (%)	C (%)
CEU (n=226)	0.4	0.4	0.0	0.6	0.3
CHB (n=168)	0.3	0.5	0.0	0.6	0.3
JPT (n=172)	0.3	0.4	0.1	0.5	0.4
YRI (n=226)	0.3	0.5	0.1	0.6	0.3
VS (n=1826)	0.4	0.4	0.1	0.6	0.3
rs3750938	A/A (%)	A/C (%)	C/C (%)	A (%)	C (%)
CEU (n=226)	0.5	0.4	0.0	0.7	0.2
CHB (n=168)	0.3	0.5	0.1	0.6	0.3
JPT (n=172)	0.5	0.3	0.0	0.7	0.2
YRI (n=226)	0.2	0.4	0.2	0.4	0.5
VS (n=1762)	0.6	0.3	0.0	0.7	0.2
rs3750940	A/A (%)	A/G (%)	G/G (%)	A (%)	G (%)
CEU (n=226)	0.6	0.3	0.0	0.8	0.1
CHB (n=168)	0.7	0.2	0.0	0.8	0.1
JPT (n=172)	0.7	0.2	0.0	0.8	0.1

rs3750940	A/A (%)	A/G (%)	G/G (%)	A (%)	G (%)
YRI (n=226)	0.6	0.3	0.0	0.8	0.1
VS (n=1762)	0.6	0.2	0.0	0.8	0.1

Eine weitere Variable, die die Aussagekraft der Ergebnisse beeinflusst, ist der Stichprobenumfang. Zu den wesentlichen Voraussetzungen für die Aufklärung der genetischen Ursachen der Schizophrenie zählt unter anderem die Verfügbarkeit der DNA einer möglichst großen Anzahl von nicht miteinander verwandten schizophrenen Personen (Hoefgen et al., 2004). Die in der vorliegenden Arbeit untersuchte Stichprobegröße ist, im direkten Vergleich zu anderen vorliegenden Assoziationsstudien, mit 1322 Kontrollen und 507 schizophrenen Patienten, außerordentlich umfangreich (Chumakov et al., 2002; Numakawa et al., 2004; Stefansson et al., 2003; Williams et al., 2003).

Auch das Durchschnittsalter der schizophrenen Patienten beim Ausbruch der Erkrankung ist eine wichtige Variable, die das Studien-Ergebnis beeinflussen kann. Da die meisten schizophrenen Patienten erfahrungsgemäß im Alter von 15-29 Jahren erkranken (Hafner et al., 2013), ist für diese Studie von großer Bedeutung, dass die Patienten im Durchschnitt älter als 29 Jahre sind, um falsch negative Ergebnisse zu vermeiden. Die vorliegende Studie schließt Teilnehmer im Alter zwischen 18 bis 70 Jahren, mit einem Median von 37,77 Jahren, ein. Voraussetzung hierfür ist weiterhin die Feststellung der Diagnose Schizophrenie. Der Median liegt somit deutlich über dem erwünschten Durchschnittsalter.

Die verschiedenen Testverfahren für die Diagnosestellung bzw. für die Überprüfung der Ein- und Ausschlusskriterien können ebenso die Assoziationsergebnisse beeinflussen.

Der Anamnesebogen dient vor allem der besseren Auffassung vieler wichtigen Details des Lebens aller Teilnehmer. Dieses Instrument ist durch die leichte Durchführung gekennzeichnet und nimmt wenig Zeit in Anspruch. Die Schulbildung wurde während der Anamnese vor allem bei den schizophrenen Patienten detaillierter abgefragt. Fragen zum Thema Leistungsschwäche während der schulischen Laufbahn, Klassenwiederholung oder Schulwechsel in absteigender Richtung, in Bezug auf das Schulsystem, gaben starke Hinweise auf Veränderungen

der Leistungsfähigkeit und somit auf die psychosoziale Beeinträchtigung des Patienten seit dem klinischen Ausbruch der Erkrankung.

Für die Diagnosestellung Schizophrenie wurde das sogenannte Strukturierte Klinische Interview (SKID I und II) nach der DSM-IV-Klassifikation (Wittchen et al., 1997) ausgewählt. Vorteile dieses Testverfahrens sind die hohe Reliabilität, die kurze Durchführungszeit (30 Minuten bis maximal 1 Stunde), die gute Auffassungsmöglichkeit der Antworten durch gezielte Fragen und die einfache Auswertung und Interpretation der Antworten, was die Diagnosestellung insgesamt vereinfacht hat. Nachteile des Testverfahrens sind die vorausgesetzte Erfahrung des Interviewers sowie die notwendigen Kenntnissen der DSM-IV-Klassifikation. Diese Klassifikation wird bei anderen ähnlichen Studien verwendet, da sie eine einfache Diagnosestellung ermöglicht (Ftouh et al., 2005).

Die Positive And Negative Syndrome Scale (PANSS) (Kay et al., 1986) dient der Verifikation der Schizophrenie sowie der Auffassung des Vorhandenseins und des Ausmaßes von typischen Symptomen der Schizophrenie. Diese wurden in der Gegenwart und während der schlimmsten Episoden erfasst. Dieses Testverfahren nimmt wenig Zeit in Anspruch, erfordert aber eine gute Einschätzung und somit viel Erfahrung im Umgang mit schizophrenen Patienten von Seite des Interviewers. Der typische Anwendungsbereich dieses Testverfahrens zeigt sich in Langzeitstudien, die eine Überprüfung des Verlaufes der Erkrankung erfordern (z. B. bei Studien über die Wirkung von Psychopharmaka) (Lin et al., 2011; Potkin et al., 2011). Bei der vorliegenden Studie dient PANSS als Sicherstellung der Erkrankung sowie dem aktuellen Vorhandensein von psychotischen Symptome und der Einschätzung der Symptome während der klinisch schlimmsten Episode.

Da das Vorhandensein von psychischen oder neurologischen Erkrankungen bei Kontrollprobanden und deren Familienangehörigen ein Ausschlusskriterium darstellt, wurden diese mit Hilfe von LEBI (Richter et al., 1996), FHAM (Rice et al., 1995), HAWIE-R (Tewes, 1994) und MMST (Kessler et al., 1990) untersucht. Dadurch sind die Ein- und Ausschlusskriterien genauer abgegrenzt und die Kontrollgruppe besser definiert; sie sind jedoch sehr zeitaufwendig.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

Der Polymorphismus rs3750938, der in der vorliegenden Studie als einziger Polymorphismus eine tendenzielle Assoziation zur Schizophrenie zeigt, ist intronisch und liegt auf Chromosom 11 an Position 11976602. Introns sind nicht kodierende Teile des Gens und werden nach der Transkription aber vor der Translation im Nukleus aus der prä-mRNA gespleißt. Das bedeutet, dass das Genprodukt trotz Polymorphismus sehr wahrscheinlich funktionell unverändert bleibt (Haas, 2006). SNP rs3750938 hat beim regulären Spleißen keinen direkten Einfluss auf die Aktivität des DKK3-Proteins, und somit ist dieses Ergebnis nicht relevant für die Ausprägung einer schizophrenen Erkrankung. Trotzdem besteht die Möglichkeit, dass in manchen Zellen durch alternatives Spleißen dieses Intron beibehalten wird (*Intron retention*) und dadurch die Aktivität des DKK3-Proteins modifiziert wird. Alternativ könnte der SNP rs3750938 mit einer anderen, möglicherweise funktionellen Variante im Kopplungsungleichgewicht (*Linkage Disequilibrium*) liegen. Diese zwei Allele nahstehender aber unterschiedlicher Genloci könnten dann häufiger zusammen vererbt werden, als durch Zufall in einer Population zu erwarten wären. Die Anwesenheit eines bestimmten Allels des SNP rs3750938 könnte dann je nach Höhe des LDs mit einer bestimmten Wahrscheinlichkeit mit dem Auftreten einer funktionellen Variation gleichgesetzt werden, welche möglicherweise die Funktion des DKK3-Gen bzw. sein Produkt und auch den Wnt-Signaltransduktionsweg verändern, beeinflussen und an der Ausprägung einer Schizophrenie beteiligt sein kann.

Diese Überlegung und die von Ftouh und Kollegen untersuchte kortikale Genexpression des DKK3-Gens bei schizophrenen Patienten sprechen für eine nur untergeordnete Beteiligung dieses Gens an der Schizophrenie. Der physiologische und pathologische Wirkmechanismus des DKK3-Gens/-Proteins auf dem kanonischen Wnt-Signaltransduktionsweg sowie die Bedeutung einer Fehlregulation bzw. Fehlfunktion dieses Signaltransduktionsweges für die Entwicklung einer Schizophrenie bleiben bis dato eher unpräzise. Trotz unterschiedlicher Meinungen können zwei Hypothesen dargestellt werden: Es handelt sich um die Hyper- und die Hypoaktivitätstheorie.

Die Hyperaktivitätstheorie wird in vielen Studien regelmäßig postuliert. So sprechen viele Autoren von einer negativen physiologischen Wirkung des DKK3-Proteins auf den Wnt-Signaltransduktionsweg (Ftouh, Akbar, Hirsch, & de Belleroche, 2005; Katase et al., 2008; Koppen et al., 2008; Kurose et al., 2004; Pannone et al., 2010; Zenzmaier, Marksteiner, Kiefer, Berger, & Humpel, 2009). Wenn das DKK3-Protein im physiologischen Zustand den kanonischen Wnt-Signaltransduktionsweg hemmt und im pathologischen Zustand während der Embryonalentwicklung in manchen Hirnregionen weniger exprimiert wird bzw. durch das erhaltene Intron hypoaktiv ist, bedeutet dies, dass der kanonische Wnt-Signaltransduktionsweg in diesen Stammzellen weniger gehemmt wird und die Zelldifferenzierung bzw. Zellproliferation vermehrt stattfinden kann. Der Wnt-Signaltransduktionsweg kann jedoch durch andere externe Modulatoren weiterhin gehemmt werden.

Unter der Berücksichtigung und Annahme, dass der Wnt-Signaltransduktionsweg unter anderem an der Differenzierung von neuronalen Stammzellen zu dopaminergen Neuronen beteiligt ist (Toledo et al., 2008), kann die Schlussfolgerung gezogen werden, dass die abnorme Differenzierung und Proliferation von dopaminergen Neuronen die Entwicklung einer Schizophrenie in einem späteren Zeitpunkt ermöglichen kann.

Im Gegensatz dazu wird in unterschiedlichen Studien die Hypoaktivitätstheorie des kanonischen Wnt-Signaltransduktionsweges bei der Schizophrenie dargestellt. Darin sprechen die Autoren über eine positive physiologische Regulation des kanonischen Wnt-Signaltransduktionsweges durch das DKK3-Protein (Diep et al., 2004; Nakamura et al., 2010; Proitsi et al., 2008; Wu et al., 2000). Das bedeutet, dass das DKK3-Protein eine gegensätzliche Auswirkung als die anderen Proteine der DKK-Proteinfamilie auf den kanonischen Wnt-Signaltransduktionsweg hat. Diese Theorie könnte die Ergebnisse von Proitsi und Kollegen erklären.

Proitsi und Kollegen stellten eine Assoziation zwischen dem DKK4-Gen und der klinischen Ausprägung einer Schizophrenie dar (Proitsi et al., 2008).

Unter der Berücksichtigung, dass die Schizophrenie eine heterogene Erkrankung ist, bei der eine polygene Übertragung mehrerer beteiligter Gene angenommen wird (Gen-Gen Interaktion), kann der Zusammenhang dieser Ergebnisse nachvollzogen werden. Das DKK4-Protein spielt möglicherweise die gegensätzliche Rolle des

DKK3-Proteins. Das bedeutet, dass die in dieser Arbeit dargestellten Ergebnisse nicht als tendenzielle Assoziation einer SNP, sondern als kompensatorischer Versuch des DKK4-Genes das DKK3-Gen zu regulieren, betrachten werden kann. Diese kompensatorische Regulation könnte durch einen Basenaustausch verursacht sein - ähnlich wie bei den SNPs - und somit das Gen und ihre Expression beeinflussen. Diese Theorie könnte sogar die Hypothese der verminderten Genexpression in manchen Hirnregionen erklären (Ftouh et al., 2005). Das bedeutet insgesamt, dass die Funktion des DKK4-Proteins der des DKK3-Proteins überlegen ist und der kanonische Wnt-Signaltransduktionsweg in der Folge gehemmt wird.

Dies bestätigte auch die Überlegung von Kalkman und Kollegen: Sie postulierten in ihrer Arbeit eine Hypoaktivität des kanonischen Wnt-Signaltransduktionsweges. Aus dieser Hypoaktivität resultiert als Konsequenz eine unkontrollierte Zelldifferenzierung und / oder eine vorzeitige Differenzierung adulter Stammzellen (Kalkman, 2009). Die Hypoaktivitätstheorie bedeutet eine unkontrollierte Differenzierung von Stammzellen zu dopaminergen Neuronen während der Embryonalentwicklung, was in der Konsequenz im Erwachsenenalter die Entwicklung einer Schizophrenie zur Folge haben könnte.

4.3 Ausblick

Die Schizophrenie ist eine komplexe Erkrankung mit einer multikausalen Ätiopathogenese. Diese Tatsache erschwert den Fortschritt der wissenschaftlichen Forschung deutlich. Das medizinische Wissen basiert auf der Replizierbarkeit der Hypothesen – dieser bestehende wissenschaftliche Status quo darf momentan als die eigentliche Herausforderung für die Forschung auf diesem Gebiet.

Die vorliegende Arbeit ist eine Fall-Kontroll-Assoziationsstudie. Unter Berücksichtigung der Ethnizität, wurden die Probanden untersucht. Dabei wurden als Testverfahren ein Anamnesebogen, SKID nach der DSM-IV-Klassifikation und PANSS angewendet. Bei den Kontrollen wurden dazu andere Testverfahren durchgeführt, unter anderem FHAM, LEBI und MMST. Anschließend wurden die Blutproben aller Teilnehmer genetisch untersucht.

Bei der Blutprobenanalyse wurden 7 Polymorphismen des DKK3-Gens auf Unterschiede bezüglich der Genotyp- sowie bei der Allelverteilung zwischen Kontrollen und schizophrenen Patienten untersucht. Fast alle SNPs sind intronisch und somit Bestandteil der nichtcodierenden DNA. Der SNP rs3750938 zeigte eine tendenzielle Assoziation zur klinisch schizophrenen Erkrankung; SNP rs3750938 hat jedoch keine funktionelle Bedeutung für das DKK3-Protein beim regulären Spleißen. Möglicherweise wird dieses Intron allerdings durch alternatives Spleißen des DKK3-Proteins beibehalten. Dies könnte die Aktivität des Proteins modifizieren. Dieses Ergebnis weist jedoch darauf hin, dass dieser Polymorphismus des DKK3-Gens wohl nicht wesentlich an der Ätiopathologie der Schizophrenie in der kaukasischen Population beteiligt ist.

Für die Untersuchung auf eine Assoziation zwischen dem DKK3-Gen und klinischer Ausprägung einer Schizophrenie-Erkrankung in anderen Populationen wäre zukünftig die Abklärung verschiedener offener Fragen von großer Bedeutung: Es sollte erstens die genaue Beteiligung des kanonischen Wnt-Signaltransduktionsweges sowie die Rolle seiner verschiedenen Komponenten bei der Schizophrenie weiter untersucht bzw. repliziert werden. Zweitens ist es wichtig, die genaue Funktion des DKK3-Proteins und seine Bedeutung für den kanonischen Wnt-Signaltransduktionsweg in einer experimentellen Studie genauer festzustellen. Drittens sollte das DKK3-Gen in Bezug auf verschiedene Endophänotypen analysiert

werden oder aber die Assoziation des DKK3-Gens in verschiedenen Schizophrenie-Subgruppen untersucht werden, um eventuell die hier festgestellte tendenzielle Assoziation eines DKK3-SNPs nachvollziehen zu können. Wird postuliert, dass diese Anregungen in weiteren Untersuchungen umgesetzt werden, kann in der Folge an diese vorliegende Dissertations-Arbeit eine genaue Aussage über die Beteiligung des DKK3-Gens an der Ätiopathologie der Schizophrenie in anderen Populationen getroffen werden.

5. Zusammenfassung

Die Schizophrenie ist eine der schwerwiegendsten psychiatrischen Erkrankungen mit einer Lebenszeitprävalenz in der Allgemeinbevölkerung von ca. 1 %.

Die Ätiopathogenese der Schizophrenie ist noch immer unklar. Heute wird von der Präsenz verschiedener prädisponierender Faktoren ausgegangen, die zur Entwicklung einer gewissen Vulnerabilität beitragen. Diese Vulnerabilität kann durch auslösende Faktoren zu einem Ausbruch der Schizophrenie führen (Vulnerabilitätstheorie).

Einer dieser prädisponierenden Faktoren ist das Vorliegen genetischer Variationen. Mit Hilfe von Kopplungsanalysen sowie Assoziationsstudien wurden einige Suszeptibilitätsgene, die bei der Schizophrenie eine wichtige Rolle spielen, identifiziert.

Das DKK3-Gen befindet sich auf Chromosom 11p15.3. Es codiert für ein Protein, welches den kanonischen Wnt-Signaltransduktionsweg beeinflusst. Dieser ist u. a. an der neurologischen Entwicklung von Stammzellen, z. B. dopaminerger Neurone, während der Embryonalphase beteiligt und wurde bereits in Zusammenhang mit Schizophrenie gebracht. In der vorliegenden Studie wurde die Beteiligung des kanonischen Wnt-Signaltransduktionsweges sowie des DKK3-Proteins an der Schizophrenie untersucht.

Bei der vorliegenden Studie wurden die Assoziationen von sieben Einzelnukleotidpolymorphismen des DKK3-Gens mit der Erkrankung Schizophrenie analysiert. Dabei wurde jeder SNP auf seine Allelfrequenz und Genotypverteilung in einer kaukasischen Stichprobe, bestehend aus 507 schizophrenen Patienten und 1322 Kontrollpersonen, überprüft.

Die Diagnose Schizophrenie wurde bei den Patienten mittels SKID nach der DSM IV-Klassifikation verifiziert.

Es wurde in der vorliegenden Studie keine direkte Assoziation, lediglich eine Tendenz zur Assoziation bei der Genotypverteilung des SNPs rs3750938 festgestellt. Dieser SNP liegt innerhalb eines Introns und wird beim konstitutiven Spleißen im Nukleus aus der prä-mRNA entfernt. Somit bleibt die Aktivität des DKK3-Proteins unbeeinflusst. Inwieweit dieser SNP eine funktionelle Relevanz hat, beispielsweise

durch Lokalisation in einer regulatorischen Domäne, oder aber mittelbar über einen im Linkage Desequilibrium stehenden funktionellen SNP, muss in weiteren, sich an diese Arbeit anschließenden Untersuchungen abgeklärt werden. Des Weiteren ist es sinnvoll, eine Feinkartierung dieser Region in Hinblick auf eine Eingrenzung der assoziierten Region sowie eine Replikation in einer unabhängigen, möglichst großen Stichprobe durchzuführen. Möglicherweise ergeben sich dadurch weitere Hinweise auf die Beteiligung des DKK3-Gens an der Pathophysiologie und Ätiopathogenese der einer Schizophrenie und tragen so zur Etablierung der Grundlagen für die Entwicklung neuer – wirkungsvoller – therapeutischer Konzepte bei.

6. Abkürzungen

5-HT Rezeptor	5-Hydroxytryptaminrezeptor
A	Adenin
AaO	Age at Onset
ACSM1	Acyl-CoA-Synthetase medium chain family member 1
AHI1	Abelson helper integration site 1
AMPA-Rezeptor	α-Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazolepropionic-Acid-Rezeptor
ANK3	Ankyrin 3
APA	American Psychiatric Association
APC	adenomatous polyposis coli
BCL9-Protein	B-cell CLL / lymphoma 9 protein
C	Cytosin
Ca	Calzium
CBR	Cannabinoid Rezeptor
CI	Confidence Interval (Konfidenzintervall)
CK1	casein kinase 1
Cl ⁻	Chlorid
CNV	Copy Number Variation
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
CSF2RA	colony stimulating factor, receptor 2 alpha
DAOA	D amino acid oxidase activator
ddNTPs	Didesoxynukleotidtriphosphate
df	Freiheitsgrad
DISC1	Disrupted in schizophrenia 1
DKK	Dickkopf-Protein / Gen
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTPs	Desoxynukleotidtriphosphate
D-Rezeptor	Dopamin Rezeptor
Dsh	Dishevelled-Protein
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fourth Edition
DTNBP1	Dystrobrevin bindendes Protein 1
EDTA	Ethyldiamintetraessigsäure
ERBB4	Receptor Tyrosine-Protein-Kinase erbB-4
FHAM	Family History Assessment Module
G	Guanin
GABA	Gamma Aminobuttersäure
GAS	Global Assessment Scale
GSK3-β	Glycogen synthetase kinase 3β
GWA	Genomweite Assoziationsstudie
H ₂ O	Wasser
HAWIE-R	Hamburg-Wechsler Intelligenztest in revidierter Form
HCL	Salzsäure
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
HWE	Hardy-Weinberg-Equilibrium

ICD-10	International Classification of Diseases, tenth Edition
IQ	Intelligenz-Quotient
Kb	Kilo-Basenpaar
Krm-Rezeptor	Kremen-Rezeptor
LEBI	Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar
LEF	Lymphoid-Enhancing binding factor
Lrp5/6-Rezeptor	Lipoprotein receptor-releated protein 5/6
LSD	Lysergsäurediethylamin
MALDI-TOF MS	Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation Time Of Flight Mass Spectrometry
Mb	Mega-Basenpaar
MK-801	Dizocilpine
MMST	Mini-Mental-Status Test
NCBI	National Center for Biotechnology Information
nm	Nanometer
NMDA-Rezeptor	N-Methyl D-Aspartate-Rezeptor
OR	Odds Ratio
p	Signifikanzwert
PANSS	Positive and Negative Syndrome Scale
PCP	Phencyclidin
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polymerasekettenreaktion)
PDE7B	Phosphodiesterase 7B
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PLAA	Phosphilpase A activating protein
REIC-Gen	reduced expression in immortalized cells
RGS4	Regulator of G-Protein signalling 4
rpm	Revolution per minute (Umdrehungen pro Minute)
RPTP β und ζ	Rezeptor-Tyrosin-Phospatase β und ζ
SAP	Shrimp Alkaline Phosphatase
SBE	Single Base Extension
SKID	Strukturiertes Klinisches Interview nach DSM IV
SNP	Single Nucleotide Polymorphism (Einzelnukleotid-Polymorphismus)
SPECT	Single-Photon-Emissionscomputertomographie
β -Trcp	β -Transducin Repeat-Containing Protein
T	Thymidin
TCL	T-cell-factor
THC	delta 9-Tetrahydro-Cannabinol
WHO	World Health Organisation, Weltgesundheitsorganisation
ZNF804A	Zinc Finger-Protein 804A
μ^2	Chi Quadrat Wert
5-HT Rezeptor	5-Hydroxytryptaminrezeptor

7. Literaturverzeichnis

- Adler, C. M., et al. (1999). Comparison of ketamine-induced thought disorder in healthy volunteers and thought disorder in schizophrenia. *American Journal of Psychiatry*, 156(10), 1646-1649.
- Akiskal, H. S. (1985). THE BROKEN BRAIN - THE BIOLOGICAL REVOLUTION IN PSYCHIATRY - ANDREASEN,NC. [Book Review]. *American Journal of Psychiatry*, 142(5), 645-645.
- Alimohamad, H., et al. (2005). Antipsychotics alter the protein expression levels of [beta]-catenin and GSK-3 in the rat medial prefrontal cortex and striatum. *Biological Psychiatry*, 57(5), 533-542.
- an der Heiden, W., et al. (2000). The epidemiology of onset and course of schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 250(6), 292-303.
- Arolt, V., et al. (2006). Schizophrenie und verwandte Störungen — Neurobiologie. In H. Förstl, M. Hautzinger & G. Roth (Eds.), *Neurobiologie psychischer Störungen* (pp. 345-386): Springer Berlin Heidelberg.
- Arora, R. C., et al. (1991). SEROTONIN-2 (5-HT2) RECEPTOR-BINDING IN THE FRONTAL-CORTEX OF SCHIZOPHRENIC-PATIENTS. *Journal of Neural Transmission-General Section*, 85(1), 19-29.
- Association, A. P. (1994). Diagnostical and statistical manual of mental disorders 4th edition, revised. (DSM-IV-R). Washington, DC.
- Athanasiu, L., et al. (2010). Gene variants associated with schizophrenia in a Norwegian genome-wide study are replicated in a large European cohort. [Article]. *Journal of Psychiatric Research*, 44(12), 748-753.
- Badner, J. A., et al. (2002). Meta-analysis of whole-genome linkage scans of bipolar disorder and schizophrenia. [Article]. *Molecular Psychiatry*, 7(4), 405-411.
- Baiano, M., et al. (2007). Anterior cingulate volumes in schizophrenia: a systematic review and a meta-analysis of MRI studies. *Schizophr Res*, 93(1-3), 1-12.
- Bangalore, S. S., et al. (2008). Cannabis use and brain structural alterations in first episode schizophrenia - A region of interest, voxel based morphometric study. [Article]. *Schizophrenia Research*, 99(1-3), 1-6.
- Bantick, R. A., et al. (2001). The 5-HT1A receptor in schizophrenia: a promising target for novel atypical neuroleptics? [Review]. *Journal of Psychopharmacology*, 15(1), 37-46.
- Barrantes, I. D., et al. (2006). Generation and characterization of dickkopf3 mutant mice. *Molecular and Cellular Biology*, 26(6), 2317-2326.
- Beasley, C., et al. (2002). An investigation of the Wnt-signalling pathway in the prefrontal cortex in schizophrenia, bipolar disorder and major depressive disorder. *Schizophrenia Research*, 58(1), 63-67.
- Beasley, C., et al. (2001). Glycogen synthase kinase-3[beta] immunoreactivity is reduced in the prefrontal cortex in schizophrenia. *Neuroscience Letters*, 302(2-3), 117-120.
- Benes, F. M., et al. (2007). Regulation of the GABA cell phenotype in hippocampus of schizophrenics and bipolars. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(24), 10164-10169.
- Bickeböller, H., et al. (2007a). Assoziationsanalyse *Einführung in die Genetische Epidemiologie* (pp. 229-278): Springer Berlin Heidelberg.
- Bickeböller, H., et al. (2007b). Assoziationsanalyse

-
-
- Einführung in die Genetische Epidemiologie (pp. 229-278): Springer Berlin Heidelberg.
- Bleich, A., et al. (1988). The Role of Serotonin in Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 14(2), 297-315.
- Bleuler, E. (1908). Die Prognose der Dementia Praecox (Schizophrenien-Gruppen). *Allgemeine Zeitschrift Psychiatrie*.
- Bossong, M. G., et al. (2014). Role of the endocannabinoid system in brain functions relevant for schizophrenia: An overview of human challenge studies with cannabis or Δ9-tetrahydrocannabinol (THC). *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*, 52(0), 53-69.
- Bottlender, R., et al. (2006). Verlaufsuntersuchungen zur Schizophrenie. In H.-J. Möller & N. Müller (Eds.), *Aktuelle Aspekte der Pathogenese und Therapie der Schizophrenie* (pp. 43-54): Springer Vienna.
- Breier, A. (1995). Serotonin, schizophrenia and antipsychotic drug action. *Schizophrenia Research*, 14(3), 187-202.
- Brembeck, F. H., et al. (2006). Balancing cell adhesion and Wnt signaling, the key role of [beta]-catenin. *Current Opinion in Genetics & Development*, 16(1), 51-59.
- Brown, A. S. (2011). The environment and susceptibility to schizophrenia. *Progress in Neurobiology*, 93(1), 23-58.
- Brown, A. S., et al. (2004). Serologic-evidence of prenatal influenza in the etiology of schizophrenia. [Proceedings Paper]. *Archives of General Psychiatry*, 61(8), 774-780.
- Bulayeva, K. B., et al. (2007). Genome-wide linkage scan of schizophrenia: A cross-isolate study. *Genomics*, 89(2), 167-177.
- Cantor-Graae, E., et al. (2007). Risk for schizophrenia in intercountry adoptees: a Danish population-based cohort study. [Article]. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 48(11), 1053-1060.
- Chance, S. A., et al. (2003). Ventricular enlargement in schizophrenia: a primary change in the temporal lobe? *Schizophrenia Research*, 62(1-2), 123-131.
- Chowdari, K. V., et al. (2002). Association and linkage analyses of RGS4 polymorphisms in schizophrenia. [Article]. *Human Molecular Genetics*, 11(12), 1373-1380.
- Chumakov, I., et al. (2002). Genetic and physiological data implicating the new human gene G72 and the gene for D-amino acid oxidase in schizophrenia (vol 99, pg 13675, 2002). [Correction]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(26), 17221-17221.
- Cotter, D., et al. (1998). Abnormalities of Wnt signalling in schizophrenia--evidence for neurodevelopmental abnormality. *Neuroreport*, 9(7), 1379-1383.
- Coyle, J. T. (2004). The GABA-glutamate connection in schizophrenia: which is the proximate cause? *Biochemical Pharmacology*, 68(8), 1507-1514.
- Craddock, N., et al. (2006). The catechol-O-methyl transferase (COMT) gene as a candidate for psychiatric phenotypes: evidence and lessons. [Review]. *Molecular Psychiatry*, 11(5), 446-458.
- Cronenwett, W. J., et al. (2010). Thalamic pathology in schizophrenia. *Curr Top Behav Neurosci*, 4, 509-528.
- Crow, T. J., et al. (1976). DOPAMINE AND SCHIZOPHRENIA. *The Lancet*, 308(7985), 563-566.
- Cui, D. H., et al. (2005). The tumor suppressor adenomatous polyposis coli gene is associated with susceptibility to schizophrenia. [Article]. *Molecular Psychiatry*, 10(7), 669-677.

-
- Davies, G., et al. (2003). A Systematic Review and Meta-analysis of Northern Hemisphere Season of Birth Studies in Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 29(3), 587-593.
- Dean, B. (2003). The cortical serotonin2A receptor and the pathology of schizophrenia: a likely accomplice. *Journal of Neurochemistry*, 85(1), 1-13.
- Derkx, E. M., et al. (2013). A genome wide survey supports the involvement of large copy number variants in schizophrenia with and without intellectual disability. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 162b(8), 847-854.
- Di, X., et al. (2009). White matter reduction in patients with schizophrenia as revealed by voxel-based morphometry: An activation likelihood estimation meta-analysis. [Review]. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 33(8), 1390-1394.
- Diep, D. B., et al. (2004). Characterisation of the Wnt antagonists and their response to conditionally activated Wnt signalling in the developing mouse forebrain. *Developmental Brain Research*, 153(2), 261-270.
- Do, K. Q., et al. (2009). *Redox Dysregulation in Schizophrenia: Genetic Susceptibility and Pathophysiological Mechanisms*: Springer.
- Dragomir, B. I., et al. (2010). P.3.b.004 Advanced paternal age generates higher risk for schizophrenia than for alcohol addiction. *European Neuropsychopharmacology*, 20(Supplement 3), S454-S454.
- Duan, J., et al. (2010). Genome-wide approaches to schizophrenia. *Brain Research Bulletin*, 83(3-4), 93-102.
- Dunham, H. W. (1965). Community and Schizophrenia: An Epidemiological Analysis. [Book]. *Wayne State University Press*.
- Emamian, E. S., et al. (2004). Convergent evidence for impaired AKT1-GSK3[beta] signaling in schizophrenia. [10.1038/ng1296]. *Nat Genet*, 36(2), 131-137.
- Engels, G., et al. (2014). Clinical Pain in Schizophrenia: A Systematic Review. *The Journal of Pain*, 15(5), 457-467.
- Fanous, A. H., et al. (2012). Genome-wide association study of clinical dimensions of schizophrenia: polygenic effect on disorganized symptoms. *Am J Psychiatry*, 169(12), 1309-1317.
- Fiedler, M., et al. (2008). Decoding of Methylated Histone H3 Tail by the Pygo-BCL9 Wnt Signaling Complex. *Molecular Cell*, 30(4), 507-518.
- Ftouh, S., et al. (2005). Down-regulation of Dickkopf 3, a regulator of the Wnt signalling pathway, in elderly schizophrenic subjects. *Journal of Neurochemistry*, 94(2), 520-530.
- Furukawa, T., et al. (1998). Childhood parental loss and schizophrenia: evidence against pathogenic but for some pathoplastic effects. *Psychiatry Research*, 81(3), 353-362.
- Geddes, J. R., et al. (1999). Schizophrenia and complications of pregnancy and labor: An individual patient data meta-analysis. [Article]. *Schizophrenia Bulletin*, 25(3), 413-423.
- Geigl, J. B., et al. (2010). Prädiktive und prognostische genetische Biomarker. *Wiener klinische Wochenschrift Education*, 5(2), 49-71.
- Giegling, I., et al. (2010). Genetic findings in schizophrenia patients related to alterations in the intracellular Ca-homeostasis. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 34(8), 1375-1380.
- Glahn, D. C., et al. (2008). Meta-Analysis of Gray Matter Anomalies in Schizophrenia: Application of Anatomic Likelihood Estimation and Network Analysis. [Article]. *Biological Psychiatry*, 64(9), 774-781.

-
- Glatt, S. J., et al. (2005). Comparative gene expression analysis of blood and brain provides concurrent validation of SELENBP1 up-regulation in schizophrenia. [Article]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(43), 15533-15538.
- Gottesman, I. I., et al. (2001). Family and twin strategies as a head start in defining prodromes and endophenotypes for hypothetical early-interventions in schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 51(1), 93-102.
- Gotze, S., et al. (2010). Frequent promoter hypermethylation of Wnt pathway inhibitor genes in malignant astrocytic gliomas. *International Journal of Cancer*, 126(11), 2584-2593.
- Griffiths, E. A., et al. (2010). Acute myeloid leukemia is characterized by Wnt pathway inhibitor promoter hypermethylation. *Leukemia & Lymphoma*, 51(9), 1711-1719.
- Guillin, O., et al. (2007). Neurobiology of Dopamine in Schizophrenia. In A. Anissa & G. Olivier (Eds.), *International Review of Neurobiology* (Vol. Volume 78, pp. 1-39): Academic Press.
- Guo, C. C., et al. (2014). Decreased expression of Dkk1 and Dkk3 in human clear cell renal cell carcinoma. *Mol Med Rep*, 9(6), 2367-2373.
- Haas, O. A. (2006). Genetik und genetische Prädisposition
- Pädiatrische Hämatologie und Onkologie. In H. Gadner, G. Gaedicke, C. Niemeyer & J. Ritter (Eds.), (pp. 436-453): Springer Berlin Heidelberg.
- Haenschel, C., et al. (2000). Effect of ketamin on subcomponents of mismatch negativity: A case study. *Schizophrenia Research*, 41(1), 146-146.
- Hafner, H., et al. (2013). [Schizophrenia - a disorder in its own right?: results from 25 years of the ABC study]. *Nervenarzt*, 84(9), 1093-1094, 1096-1103.
- Hans, S. L., et al. (2004). Offspring of Parents With Schizophrenia: Mental Disorders During Childhood and Adolescence. *Schizophrenia Bulletin*, 30(2), 303-315.
- HapMap, P. (2011). www.hapmap.org.
- Harrison, P. J., et al. (2006). Neuregulin 1 and Schizophrenia: Genetics, Gene Expression, and Neurobiology. *Biological Psychiatry*, 60(2), 132-140.
- Harrison, P. J., et al. (2005). Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence (vol 10, pg 420, 2005). [Correction]. *Molecular Psychiatry*, 10(8), 804-804.
- Hashimoto, R., et al. (2009). Abnormal microstructures of the basal ganglia in schizophrenia revealed by diffusion tensor imaging. *World J Biol Psychiatry*, 10(1), 65-69.
- Hashimoto, R., et al. (2005). Association study of the frizzled-3 (FZD3) gene with schizophrenia and mood disorders. *Journal of Neural Transmission*, 112(2), 303-307.
- Heinz, A. (2000). Dopamine hypothesis of schizophrenia. New findings support a traditional theory. [Article]. *Nervenarzt*, 71(1), 54-57.
- Hermann, M., et al. (2007). Dickkopf-3 is expressed in a subset of adult human pancreatic beta cells. *Histochemistry and Cell Biology*, 127(5), 513-521.
- Hess, E. J., et al. (1987). DOPAMINE RECEPTOR SUBTYPE IMBALANCE IN SCHIZOPHRENIA. [Article]. *Life Sciences*, 40(15), 1487-1497.
- Hilker, R., et al. (2010). CONCORDANCE RATES AND EARLY RISK FACTORS IN SCHIZOPHRENIA; A TWIN STUDY. *Schizophrenia Research*, 117(2-3), 199-199.

- Hoang, B. H., et al. (2004). Dickkopf 3 inhibits invasion and motility of Saos-2 osteosarcoma cells by modulating the Wnt-beta-catenin pathway. *Cancer Research*, 64(8), 2734-2739.
- Hoefgen, B., et al. (2004). Genetische Grundlagen der Schizophrenie. *psychoneuro*, 30(11), 603,605.
- Hsiao, M.-C., et al. (2003). Dopamine transporter change in drug-naïve schizophrenia: an imaging study with 99mTc-TRODAT-1. *Schizophrenia Research*, 65(1), 39-46.
- Hsieh, S.-Y., et al. (2004). Dickkopf-3//REIC functions as a suppressor gene of tumor growth. *Oncogene*, 23(57), 9183-9189.
- Hwang, R. F., et al. (2010). Stroma-derived Dickkopf-3 (DKK3) promotes pancreatic tumor progression and chemoresistance with cell-context dependent Wnt activity. *Proceedings of the American Association for Cancer Research Annual Meeting*, 51, 341.
- Ide, M., et al. (2004). Genetic and expression analyses of FZD3 in schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 56(6), 462-465.
- Ierago, L., et al. (2010). Adoption, family relations and psychotic symptoms among Palauan adolescents who are genetically at risk for developing schizophrenia. [Comparative Study; ; Research Support, N.I.H., Extramural]. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*, 45(12), 1105-1114.
- Ikeda, M., et al. (2005). No association of GSK3 β gene (GSK3B) with Japanese schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 134B(1), 90-92.
- Ingason, A., et al. (2010). A large replication study and meta-analysis in European samples provides further support for association of AHI1 markers with schizophrenia. [Article]. *Human Molecular Genetics*, 19(7), 1379-1386.
- International Schizophrenia Consortium. (2008). Rare chromosomal deletions and duplications increase risk of schizophrenia. *Nature*, 455(7210), 237-241.
- Jablensky, A. (2000). Epidemiology of schizophrenia: the global burden of disease and disability. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 250(6), 274-285.
- Joyce, J. N., et al. (1993). SEROTONIN UPTAKE SITES AND SEROTONIN RECEPTORS ARE ALTERED IN THE LIMBIC SYSTEM OF SCHIZOPHRENICS. *Neuropsychopharmacology*, 8(4), 315-336.
- Jung, I. L., et al. (2010). Knockdown of the Dickkopf 3 gene induces apoptosis in a lung adenocarcinoma. *International Journal of Molecular Medicine*, 26(1), 33-38.
- Kalkman, H. O. (2009). Altered growth factor signaling pathways as the basis of aberrant stem cell maturation in schizophrenia. *Pharmacology & Therapeutics*, 121(1), 115-122.
- Katase, N., et al. (2008). Deletion at Dickkopf (Dkk)-3 Locus (11p15.2) Is Related With Lower Lymph Node Metastasis and Better Prognosis in Head and Neck Squamous Cell Carcinomas. *Oncology Research*, 17(6), 273-282.
- Katsu, T., et al. (2003). The human frizzled-3 (FZD3) gene on chromosome 8p21, a receptor gene for Wnt ligands, is associated with the susceptibility to schizophrenia. *Neuroscience Letters*, 353(1), 53-56.
- Kawano, Y., et al. (2003). Secreted antagonists of the Wnt signalling pathway. [Article]. *Journal of Cell Science*, 116(13), 2627-2634.
- Kay, S. R., et al. (1986). Positive And Negative Syndrome Scale (PANSS) - Bewertungsleitfaden.

-
- Kegeles, L. S., et al. (2010). Striatal and Extrastriatal Dopamine D-2/D-3 Receptors in Schizophrenia Evaluated With F-18 fallypride Positron Emission Tomography. [Article]. *Biological Psychiatry*, 68(7), 634-641.
- Kelly, B. D., et al. (2010). Schizophrenia and the city: A review of literature and prospective study of psychosis and urbanicity in Ireland. *Schizophrenia Research*, 116(1), 75-89.
- Kempton, M. J., et al. (2010). Progressive lateral ventricular enlargement in schizophrenia: A meta-analysis of longitudinal MRI studies. *Schizophrenia Research*, 120(1-3), 54-62.
- Keshavan, M. S., et al. (2008). Schizophrenia, "just the facts": What we know in 2008: Part 3: Neurobiology. *Schizophrenia Research*, 106(2-3), 89-107.
- Kessler, J., et al. (1990). MMST. Mini-mental-Status Test. Deutschsprachige Fassung. Weinheim: Beltz.
- Kety, S. S., et al. (1994). MENTAL-ILLNESS IN THE BIOLOGICAL AND ADOPTIVE RELATIVES OF SCHIZOPHRENIC ADOPTEES - REPLICATION OF THE COPENHAGEN STUDY IN THE REST OF DENMARK. [Article]. *Archives of General Psychiatry*, 51(6), 442-455.
- Kikuchi, A., et al. (2007). Multiplicity of the interactions of Wnt proteins and their receptors. *Cellular Signalling*, 19(4), 659-671.
- Kim, J. S., et al. (1980). LOW CEREBROSPINAL-FLUID GLUTAMATE IN SCHIZOPHRENIC-PATIENTS AND A NEW HYPOTHESIS ON SCHIZOPHRENIA. [Article]. *Neuroscience Letters*, 20(3), 379-382.
- Kinon, B. J. (2010). CLINICAL ASPECTS OF MODULATION OF GLUTAMATERGIC MECHANISMS IN THE TREATMENT OF SCHIZOPHRENIA. *Drugs of the Future*, 35(7), 557-566.
- Kirov, G., et al. (2009). Support for the involvement of large copy number variants in the pathogenesis of schizophrenia. [Article]. *Human Molecular Genetics*, 18(8), 1497-1503.
- Kirov, G., et al. (2008). Comparative genome hybridization suggests a role for NRXN1 and APBA2 in schizophrenia. [Article]. *Human Molecular Genetics*, 17(3), 458-465.
- Knable, M. B., et al. (1996). A postmortem study of frontal cortical dopamine D1 receptors in schizophrenics, psychiatric controls, and normal controls. [Article]. *Biological Psychiatry*, 40(12), 1191-1199.
- Kneeland, R. E., et al. (2013). Viral infection, inflammation and schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 42, 35-48.
- Knoblauch, H. (2007). Schizophrenie, Humangenetik und genetische Beratung. *Der Nervenarzt*, 78(3), 243-252.
- Kobayashi, K., et al. (2002). Reduced expression of the REIC/Dkk-3 gene by promoter-hypermethylation in human tumor cells. *Gene*, 282(1-2), 151-158.
- Konick, L. C., et al. (2001). Meta-analysis of thalamic size in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 49(1), 28-38.
- Konradi, C., et al. (2003). Molecular aspects of glutamate dysregulation: implications for schizophrenia and its treatment. *Pharmacology & Therapeutics*, 97(2), 153-179.
- Koppen, A., et al. (2008). Dickkopf-3 expression is a marker for neuroblastic tumor maturation and is down-regulated by MYCN. *International Journal of Cancer*, 122(7), 1455-1464.
- Kozlovsky, N., et al. (2000). Low GSK-3 β Immunoreactivity in Postmortem Frontal Cortex of Schizophrenic Patients. *Am J Psychiatry*, 157(5), 831-833.

-
-
- Kozlovsky, N., et al. (2001). Low GSK-3 activity in frontal cortex of schizophrenic patients. *Schizophrenia Research*, 52(1-2), 101-105.
- Kraepelin, E. (1893). Psychiatrie. Ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte. *Barth, Leipzig*, 4.
- Kraepelin, E. (1913). Psychiatrie. Ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte. *Barth, Leipzig, 8. Band 3. Teil 2*.
- Krause, D., et al. (2010). The association of infectious agents and schizophrenia. *World J Biol Psychiatry*, 11(5), 739-743.
- Krupnik, V. E., et al. (1999). Functional and structural diversity of the human Dickkopf gene family. *Gene*, 238(2), 301-313.
- Kurose, K., et al. (2004). Decreased expression of REIC/Dkk-3 in human renal clear cell carcinoma. [Article]. *Journal of Urology*, 171(3), 1314-1318.
- Lahti, R. A., et al. (1998). Direct determination of dopamine D-4 receptors in normal and schizophrenic postmortem brain tissue: a H-3 NGD-94-1 study. [Article]. *Molecular Psychiatry*, 3(6), 528-533.
- Lardinois, M., et al. (2011). Childhood trauma and increased stress sensitivity in psychosis. [Article]. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 123(1), 28-35.
- Laruelle, M., et al. (1999). Increased dopamine transmission in schizophrenia: relationship to illness phases. *Biological Psychiatry*, 46(1), 56-72.
- Laruelle, M., et al. (1993). SELECTIVE ABNORMALITIES OF PREFRONTAL SEROTONINERGIC RECEPTORS IN SCHIZOPHRENIA - A POSTMORTEM STUDY. *Archives of General Psychiatry*, 50(10), 810-818.
- Laruelle, M., et al. (1996). Single photon emission computerized tomography imaging of amphetamine-induced dopamine release in drug-free schizophrenic subjects. [Article]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(17), 9235-9240.
- Lee, E. J., et al. (2009). Dkk3, downregulated in cervical cancer, functions as a negative regulator of beta-catenin. *International Journal of Cancer*, 124(2), 287-297.
- Lee, K. Y., et al. (2006). No association of two common SNPs at position -1727 A/T, -50 C/T of GSK-3 beta polymorphisms with schizophrenia and bipolar disorder of Korean population. *Neuroscience Letters*, 395(2), 175-178.
- Lencz, T., et al. (2007). Converging evidence for a pseudoautosomal cytokine receptor gene locus in schizophrenia. [Article]. *Molecular Psychiatry*, 12(6), 572-580.
- Lewis, C. M., et al. (2003). Genome Scan Meta-Analysis of Schizophrenia and Bipolar Disorder, Part II: Schizophrenia. *The American Journal of Human Genetics*, 73(1), 34-48.
- Lin, S. K., et al. (2011). Aripiprazole and Dehydroaripiprazole Plasma Concentrations and Clinical Responses in Patients With Schizophrenia. [Article]. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 31(6), 758-762.
- Logan, C. Y., et al. (2004). The Wnt signaling pathway in development and disease. [Review]. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 20, 781-810.
- Lukoff, D., et al. (1984). Life Events, Familial Stress, and Coping in the Developmental Course of Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 10(2), 258-292.
- MacDonald, B. T., et al. (2009). Wnt/[beta]-Catenin Signaling: Components, Mechanisms, and Diseases. *Developmental Cell*, 17(1), 9-26.
- Maier, W., et al. (2008). Genetik psychischer Störungen. In H.-J. Möller, G. Laux & H.-P. Kapfhammer (Eds.), *Psychiatrie und Psychotherapie* (pp. 71-108): Springer Berlin Heidelberg.

-
- Makkos, Z., et al. (2010). P.3.a.038 Cannabis-induced psychosis: new entity? *European Neuropsychopharmacology*, 20(Supplement 3), S450-S451.
- Malhotra, D., et al. (2011). High frequencies of de novo CNVs in bipolar disorder and schizophrenia. *Neuron*, 72(6), 951-963.
- Mamelak, M., et al. (1993). HIGH-AFFINITY AND LOW-AFFINITY STATES OF DOPAMINE D(1) RECEPTORS IN SCHIZOPHRENIA. [Note]. *European Journal of Pharmacology*, 233(1), 175-176.
- Martin, V., et al. (2008). Methylation status of Wnt signaling pathway genes affects the clinical outcome of Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Science*, 99(9), 1865-1868.
- McCurdy, R. D., et al. (2006). Cell cycle alterations in biopsied olfactory neuroepithelium in schizophrenia and bipolar I disorder using cell culture and gene expression analyses. *Schizophrenia Research*, 82(2-3), 163-173.
- McGrath, J., et al. (2008). Schizophrenia: A Concise Overview of Incidence, Prevalence, and Mortality. [Article]. *Epidemiologic Reviews*, 30(1), 67-76.
- McGrath, J. J., et al. (2009). New directions in the epidemiology of schizophrenia. *Medical Journal of Australia*, 190(4), S7-S9.
- Meltzer, H. Y. (1994). Serotonin mechanisms in schizophrenia. *European Neuropsychopharmacology*, 4(3), 197-197.
- Meltzer, H. Y., et al. (1976). THE DOPAMINE HYPOTHESIS OF SCHIZOPHRENIA A REVIEW. [Article]. *Schizophrenia Bulletin*, 2(1), 19-76.
- Meng, J., et al. (2008). No significant association between the genetic polymorphisms in the GSK-3 β gene and schizophrenia in the Chinese population. *Journal of Psychiatric Research*, 42(5), 365-370.
- Meng, K., et al. (2000). Pleiotrophin signals increased tyrosine phosphorylation of β -catenin through inactivation of the intrinsic catalytic activity of the receptor-type protein tyrosine phosphatase β/ζ . *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(6), 2603-2608.
- Miyaoka, T., et al. (1999). Increased expression of Wnt-1 in schizophrenic brains. *Schizophrenia Research*, 38(1), 1-6.
- Mizobuchi, Y., et al. (2008). REIC/Dkk-3 induces cell death in human malignant glioma. *Neuro-Oncology*, 10(3), 244-253.
- Moghaddam, B., et al. (2003). Glutamatergic animal models of schizophrenia. In B. Moghaddam & M. Wolf (Eds.), *Glutamate and Disorders of Cognition and Motivation* (Vol. 1003, pp. 131-137). New York: New York Acad Sciences.
- Möller, H.-J., et al. (2005). Schizophrenie. [Book]. *Duale Reihe: Psychiatrie und Psychotherapie. Stuttgart: Georg Thieme Verlag*.
- Morgan, C., et al. (2010). The social determinants of psychosis in migrant and ethnic minority populations: a public health tragedy. [Editorial Material]. *Psychological Medicine*, 40(5), 705-709.
- Morgan, C., et al. (2007). Parental separation, loss and psychosis in different ethnic groups: a case-control study. [Article]. *Psychological Medicine*, 37(4), 495-503.
- Morris, B. J., et al. (2005). PCP: from pharmacology to modelling schizophrenia. *Current Opinion in Pharmacology*, 5(1), 101-106.
- Mössner, R., et al. (2009). Neue Erkenntnisse zur Genetik der Schizophrenie. *Der Nervenarzt*, 80(1), 6-11.
- Murray, R. M., et al. (2008). Schizophrenia: From developmental deviance to dopamine dysregulation. *European Neuropsychopharmacology*, 18(Supplement 3), S129-S134.

- Nadri, C., et al. (2004). GSK-3 parameters in postmortem frontal cortex and hippocampus of schizophrenic patients. *Schizophrenia Research*, 71(2-3), 377-382.
- Nakamura, et al. (2010). Analysis of Dickkopf3 interactions with Wnt signaling receptors. [Article]. *Growth Factors*, 28(4), 232-242.
- Nakamura, M., et al. (2008). Orbitofrontal volume deficit in schizophrenia and thought disorder. *Brain*, 131(Pt 1), 180-195.
- Need, A. C., et al. (2009). A Genome-Wide Investigation of SNPs and CNVs in Schizophrenia. *Plos Genetics*, 5(2).
- Ng, M. Y. M., et al. (2009). Meta-analysis of 32 genome-wide linkage studies of schizophrenia. [Article]. *Molecular Psychiatry*, 14(8), 774-785.
- Niehrs, C. (2006). Function and biological roles of the Dickkopf family of Wnt modulators. *Oncogene*, 25, 7469-7481.
- Norton, N., et al. (2006). An update on the genetics of schizophrenia. [Article]. *Current Opinion in Psychiatry*, 19(2), 158-164.
- Nozaki, S., et al. (2009). Regional dopamine synthesis in patients with schizophrenia using L-[β -11C]DOPA PET. *Schizophrenia Research*, 108(1-3), 78-84.
- Numakawa, T., et al. (2004). Evidence of novel neuronal functions of dysbindin, a susceptibility gene for schizophrenia. *Hum Mol Genet*, 13(21), 2699-2708.
- O'Donovan, M. C., et al. (2008). Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up. [10.1038/ng.201]. *Nat Genet*, 40(9), 1053-1055.
- Okubo, Y., et al. (2000). Serotonin 5-HT2 receptors in schizophrenic patients studied by positron emission tomography. *Life Sciences*, 66(25), 2455-2464.
- Olney, J. W., et al. (1999). NMDA receptor hypofunction model of schizophrenia. *Journal of Psychiatric Research*, 33(6), 523-533.
- Pannone, G., et al. (2010). WNT pathway in oral cancer: epigenetic inactivation of WNT-inhibitors. *Oncol Rep*, 24(4), 1035-1041.
- Pei, Y. H., et al. (2009). Overexpression of Dickkopf 3 in hepatoblastomas and hepatocellular carcinomas. *Virchows Archiv*, 454(6), 639-646.
- Penner, J. D., et al. (2007). Prenatal infectious and nutritional factors and risk of adult schizophrenia. [; Research Support, N.I.H., Extramural; Research Support, Non-U.S. Gov't; Review]. *Expert Rev Neurother*, 7(7), 797-805.
- Perry, T. L. (1982). NORMAL CEREBROSPINAL-FLUID AND BRAIN GLUTAMATE LEVELS IN SCHIZOPHRENIA DO NOT SUPPORT THE HYPOTHESIS OF GLUTAMATERGIC NEURONAL DYSFUNCTION. [Article]. *Neuroscience Letters*, 28(1), 81-85.
- Peters, B. D., et al. (2009). Recent-Onset Schizophrenia and Adolescent Cannabis Use: MRI Evidence for Structural Hyperconnectivity? [Article]. *Psychopharmacology Bulletin*, 42(2), 75-88.
- Potkin, S. G., et al. (2011). Double-blind comparison of the safety and efficacy of lurasidone and ziprasidone in clinically stable outpatients with schizophrenia or schizoaffective disorder. [Article]. *Schizophrenia Research*, 132(2-3), 101-107.
- Proitsi, P., et al. (2008). Positional Pathway Screen of wnt Signaling Genes in Schizophrenia: Association with DKK4. *Biological Psychiatry*, 63(1), 13-16.
- Purcell, S. M., et al. (2009). Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. [Article]. *Nature*, 460(7256), 748-752.
- Qiagen. (2005). QIAamp DNA Blood Midi/Maxi Handbook. 2nd Edition.
- Radhakrishnan, R., et al. (2014). Chapter Fourteen - Cannabis, Cannabinoids, and the Association with Psychosis. In B. Madras & M. Kuhar (Eds.), *The Effects of*

Drug Abuse on the Human Nervous System (pp. 423-474). Boston: Academic Press.

- Rasser, P. E., et al. (2010). Cerebellar grey matter deficits in first-episode schizophrenia mapped using cortical pattern matching. *Neuroimage*, 53(4), 1175-1180.
- Rees, E., et al. (2014). CNV analysis in a large schizophrenia sample implicates deletions at 16p12.1 and SLC1A1 and duplications at 1p36.33 and CGNL1. *Hum Mol Genet*, 23(6), 1669-1676.
- Rice, J. P., et al. (1995). Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res*, 19(4), 1018-1023.
- Richter, V., et al. (1996). Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI). Göttingen: Hogrefe.
- Riecher-Rossler, A., et al. (1998). The course of schizophrenic psychoses: what do we really know? A selective review from an epidemiological perspective. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 248(4), 189-202.
- Riley, B., et al. (2009). Replication of association between schizophrenia and ZNF804A in the Irish Case-Control Study of Schizophrenia sample. *Mol Psychiatry*, 15(1), 29-37.
- Ripke, S., et al. (2011). Genome-wide association study identifies five new schizophrenia loci. *Nat Genet*, 43(10), 969-976.
- Roman-Gomez, J., et al. (2004). Transcriptional silencing of the Dickkopfs-3 (Dkk-3) gene by CpG hypermethylation in acute lymphoblastic leukaemia. *British Journal of Cancer*, 91(4), 707-713.
- Ross, C. A., et al. (2006). Neurobiology of Schizophrenia. *Neuron*, 52(1), 139-153.
- Rujescu, D. (2010). Neue Ergebnisse in der genetischen Forschung bei schizophrenen Psychosen. In H. J. Möller & N. Müller (Eds.), *Schizophrenie — Zukunftsperspektiven in Klinik und Forschung* (pp. 133-141): Springer Vienna.
- Rujescu, D., et al. (2006). A pharmacological model for psychosis based on N-methyl-D-aspartate receptor hypofunction: Molecular, cellular, functional and Behavioral abnormalities. *Biological Psychiatry*, 59(8), 721-729.
- Saha, S., et al. (2005). A systematic review of the prevalence of schizophrenia. *PLoS Med*, 2(5), e141.
- Scassellati, C., et al. (2004). Association Study of -1727 A/T, -50 C/T and (CAA)_n Repeat GSK-3β Gene Polymorphisms with Schizophrenia. *Neuropsychobiology*, 50(1), 16-20.
- Schneider, K. (1939). Psychiatrischer Befund und psychiatrische Diagnose. *Thieme, Leipzig*.
- Schosser, A., et al. (2004). In search of susceptibility genes for schizophrenia. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 116(24), 827-833.
- Schurov, I. L., et al. (2004). Expression of disrupted in schizophrenia 1 (DISC1) protein in the adult and developing mouse brain indicates its role in neurodevelopment. [Article]. *Molecular Psychiatry*, 9(12), 1100-1110.
- Seeman, P. (1987). DOPAMINE-RECEPTORS AND THE DOPAMINE HYPOTHESIS OF SCHIZOPHRENIA. [Review]. *Synapse*, 1(2), 133-152.
- Seeman, P., et al. (1984). BIMODAL DISTRIBUTION OF DOPAMINE RECEPTOR DENSITIES IN BRAINS OF SCHIZOPHRENICS. [Article]. *Science*, 225(4663), 728-731.
- Selten, J. P., et al. (2007). Migration and schizophrenia. [Article]. *Current Opinion in Psychiatry*, 20(2), 111-115.

-
- Sewell, R. A., et al. (2010). Behavioral, cognitive and psychophysiological effects of cannabinoids: relevance to psychosis and schizophrenia. [Article]. *Revista Brasileira De Psiquiatria*, 32, S15-S30.
- Shenton, M. E., et al. (2001). A review of MRI findings in schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 49(1-2), 1-52.
- Sideli, L., et al. (2012). Do child abuse and maltreatment increase risk of schizophrenia? *Psychiatry Investig*, 9(2), 87-99.
- Smith, G. S., et al. (1998). Glutamate modulation of dopamine measured in vivo with positron emission tomography (PET) and C-11-raclopride in normal human subjects. *Neuropsychopharmacology*, 18(1), 18-25.
- Sobell, J. L., et al. (2005). Failure to confirm association between RGS4 haplotypes and schizophrenia in Caucasians. [Article]. *American Journal of Medical Genetics Part B-Neuropsychiatric Genetics*, 139B(1), 23-27.
- Stathopoulou, A., et al. (2013). Prenatal tobacco smoke exposure, risk of schizophrenia, and severity of positive/negative symptoms. *Schizophr Res*, 148(1-3), 105-110.
- Stefansson, H., et al. (2009). Common variants conferring risk of schizophrenia. *Nature*, 460(7256), 744-747.
- Stefansson, H., et al. (2008). Large recurrent microdeletions associated with schizophrenia. [10.1038/nature07229]. *Nature*, 455(7210), 232-236.
- Stefansson, H., et al. (2003). Association of Neuregulin 1 with Schizophrenia Confirmed in a Scottish Population. *The American Journal of Human Genetics*, 72(1), 83-87.
- Stone, J. L., et al. (2008). Rare chromosomal deletions and duplications increase risk of schizophrenia. [Article]. *Nature*, 455(7210), 237-241.
- Straub, R. E., et al. (2002). Genetic variation in the 6p22.3 gene DTNBP1, the human ortholog of the mouse dysbindin gene, is associated with schizophrenia. [Article]. *American Journal of Human Genetics*, 71(2), 337-348.
- Sullivan, P. F., et al. (2003). Schizophrenia as a complex trait - Evidence from a meta-analysis of twin studies. [Article]. *Archives of General Psychiatry*, 60(12), 1187-1192.
- Svensson, E., et al. (2013). Schizophrenia susceptibility and age of diagnosis — A frailty approach. *Schizophrenia Research*, 147(1), 140-146.
- Szczepankiewicz, A., et al. (2006). Association Analysis of the <i>GSK-3</i> β T-50C Gene Polymorphism with Schizophrenia and Bipolar Disorder. *Neuropsychobiology*, 53(1), 51-56.
- Tandon, R., et al. (2008). Schizophrenia, "Just the Facts" What we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology. *Schizophrenia Research*, 102(1-3), 1-18.
- Tewes, U. (1994). Hamburg-Wechsler Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991 Bern, Göttingen, Toronto, Seattle: Huber.
- Tienari, P., et al. (1987). Genetic and Psychosocial Factors in Schizophrenia: The Finnish Adoptive Family Study. *Schizophrenia Bulletin*, 13(3), 477-484.
- Tienari, P., et al. (2006). Finnish Adoption Study of Schizophrenia: Implications for Family Interventions. *Families, Systems & Health*, 24(4), 442-451.
- Tienari, P., et al. (1996). Schizophrenics and their adopted-away offspring. The finnish adoptive family study of schizophrenia. *European Psychiatry*, 11(Supplement 4), 229s-230s.
- Toledo, E. M., et al. (2008). Wnt signaling in neuroprotection and stem cell differentiation. *Progress in Neurobiology*, 86(3), 281-296.

-
- Tölle, R. (2008). Eugen Bleuler (1857–1939) und die deutsche Psychiatrie. *Der Nervenarzt*, 79(1), 90-98.
- Trichard, C., et al. (1998). No serotonin 5-HT2A receptor density abnormality in the cortex of schizophrenic patients studied with PET. *Schizophrenia Research*, 31(1), 13-17.
- Valencia, A., et al. (2009). Wnt signaling pathway is epigenetically regulated by methylation of Wnt antagonists in acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 23(9), 1658-1666.
- van Kammen, D. P. (1979). The dopamine hypothesis of schizophrenia revisited. *Psychoneuroendocrinology*, 4(1), 37-46.
- van Kammen, D. P., et al. (1991). Dopamine and norepinephrine activity in schizophrenia: An integrative perspective. *Schizophrenia Research*, 4(2), 173-191.
- van Os, J., et al. (2004). Confirmation of synergy between urbanicity and familial liability in the causation of psychosis. [Article]. *American Journal of Psychiatry*, 161(12), 2312-2314.
- Veeck, J., et al. (2008). Wnt signalling in human breast cancer: expression of the putative Wnt inhibitor Dickkopf-3 (DKK3) is frequently suppressed by promoter hypermethylation in mammary tumours. *Breast Cancer Research*, 10(5).
- Veeck, J., et al. (2009). Prognostic relevance of Wnt-inhibitory factor-1 (WIF1) and Dickkopf-3 (DKK3) promoter methylation in human breast cancer. *Bmc Cancer*, 9.
- Walsh, T., et al. (2008). Rare structural variants disrupt multiple genes in neurodevelopmental pathways in schizophrenia. [Article]. *Science*, 320(5875), 539-543.
- Watt, D. C., et al. (1983). The natural history of schizophrenia: a 5-year prospective follow-up of a representative sample of schizophrenics by means of a standardized clinical and social assessment. *Psychol Med*, 13(3), 663-670.
- Wei, J., et al. (2004). Lack of a genetic association between the frizzled-3 gene and schizophrenia in a British population. *Neuroscience Letters*, 366(3), 336-338.
- Weltgesundheitsorganisation. (2009). Internationale Klassifikation psychischer Störungen. ICD-10 Kapitel V (F). Klinisch-diagnostische Leitlinien. Huber, Bern.
- Wend, P., et al. (2010). Wnt signaling in stem and cancer stem cells. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 21(8), 855-863.
- Wicks, S., et al. (2010a). Social risk or genetic liability for psychosis? A study of children born in Sweden and reared by adoptive parents. *Am J Psychiatry*, 167(10), 1240-1246.
- Wicks, S., et al. (2010b). Social Risk or Genetic Liability for Psychosis? A Study of Children Born in Sweden and Reared by Adoptive Parents. [Article]. *American Journal of Psychiatry*, 167(10), 1240-1246.
- Wilcox, J. A., et al. (1987). Childhood head trauma and psychosis. *Psychiatry Research*, 21(4), 303-306.
- Williams, N. M., et al. (2003). Support for genetic variation in neuregulin 1 and susceptibility to schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 8(5), 485-487.
- Wittchen, H.-U., et al. (1996). Diagnostisches und Statistisches Manuel Psychiatrischer Störungen DSM-IV. Göttingen, Bern, Toronto, Seattle: Hogrefe

Wittchen, H.-U., et al. (1997). Strukturiertes klinisches Interview für DSM-IV Achse I und II. Göttingen, Bern, Toronto, Seattle: Hogrefe

- Wong, A. H. C., et al. (2005). Phenotypic differences in genetically identical organisms: the epigenetic perspective. [Review]. *Human Molecular Genetics*, 14, R11-R18.
- Wong, A. H. C., et al. (2003). Schizophrenia: from phenomenology to neurobiology. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 27(3), 269-306.
- Woodruff, P. W., et al. (1995). Meta-analysis of corpus callosum size in schizophrenia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 58(4), 457-461.
- Wright, I. C., et al. (2000). Meta-analysis of regional brain volumes in schizophrenia. [Article]. *American Journal of Psychiatry*, 157(1), 16-25.
- Wu, W., et al. (2000). Mutual antagonism between dickkopf1 and dickkopf2 regulates Wnt/[beta]-catenin signalling. *Current Biology*, 10(24), 1611-1614.
- Xu, B., et al. (2008). Strong association of de novo copy number mutations with sporadic schizophrenia. [Article]. *Nature Genetics*, 40(7), 880-885.
- Yang, B., et al. (2010). Methylation of Dickkopf-3 as a prognostic factor in cirrhosis-related hepatocellular carcinoma. *World Journal of Gastroenterology*, 16(6), 755-763.
- Yang, J., et al. (2003). Association study of the human FZD3 locus with schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 54(11), 1298-1301.
- Yoshida, T., et al. (2009). A prospective longitudinal volumetric MRI study of superior temporal gyrus gray matter and amygdala-hippocampal complex in chronic schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 113(1), 84-94.
- You, A., et al. (2011). Expression of the Wnt antagonist DKK3 is frequently suppressed in sporadic epithelial ovarian cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*, 137(4), 621-627.
- Yue, W., et al. (2008). Downregulation of Dkk3 activates beta-catenin/TCF-4 signaling in lung cancer. *Carcinogenesis*, 29(1), 84-92.
- Zenzmaier, C., et al. (2009). Dkk-3 is elevated in CSF and plasma of Alzheimer's disease patients. *J Neurochem*, 110(2), 653-661.
- Zenzmaier, C., et al. (2008). Dysregulation of Dkk-3 expression in benign and malignant prostatic tissue. *Prostate*, 68(5), 540-547.
- Zhang, L. H., et al. (2011). Association of the schizophrenia susceptible gene DKK4 with brain volume in Chinese populations. *Dongwuxue Yanjiu*, 32(1), 62-65.
- Zhang, Y., et al. (2004). Positive association of the human frizzled 3 (FZD3) gene haplotype with schizophrenia in Chinese Han population. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 129B(1), 16-19.

8. Danksagung

Diese Dissertation entstand an der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität in München.

Ich möchte an dieser Stelle allen, die zur Fertigstellung dieser Dissertation beigetragen haben, meinen herzlichen Dank aussprechen.

Bei Herrn *Prof. Dr. Möller*, dem ehemaligen Leiter und *Prof. Dr. med. Falkai*, dem aktuellen Leiter dieser Klinik, möchte ich mich für die Erlaubnis, diese Dissertation durchführen zu dürfen, bedanken.

Besonderen Dank möchte ich meinem Doktorvater und Gruppenleiter *Prof. Dr. Rujescu* für die Überlassung des Themas sowie für seine Unterstützung aussprechen.

Bei Frau *Dr. Giegling* möchte ich mich ganz herzlich für ihre Unterstützung bei der statistischen Auswertung bedanken.

Ein herzlicher Dank geht an Frau *Dr. Konnerth* für ihre gründliche Betreuung während des praktischen Teils dieser Arbeit.

Bei Frau *Dr. Hartmann* möchte ich mich für ihre Hilfestellung und Betreuung während des Schreibens sowie für die Korrektur dieser Arbeit ganz herzlich bedanken.

Bei dem *Laborpersonal* bedanke ich mich für die Analyse der Blutproben.

Ein herzlicher Dank geht an die Mitdoktoranden.

Ausdrücklich möchte ich mich an dieser Stelle bei Frau *Medea Seyder* bedanken für ihre Unterstützung bei dem Aufbau des Literaturverzeichnisses.

Bedanken möchte ich mich auch bei allen *Probanden und Patienten*, die an dieser Studie teilgenommen haben, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Abschließend möchte ich mich bei meinem Mann für die grammatischen Korrekturen dieser Arbeit und für seine unendliche Unterstützung, bei meiner Tochter für ihre Begleitung sowie bei meinen Eltern, die trotz großer Entfernung eine enorme Unterstützung für mich waren, bedanken.

9. Eidesstattliche Versicherung

Ich, Erika Klotz-Rödig, erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

„Eine Assoziationsstudie zum DKK3-Gen und der Schizophrenie“

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

Doktorandin