

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

Direktor: Herr Prof. Dr. med. Peter Falkai

**Assoziationsuntersuchung von Polymorphismen des DRD1-Gens mit
Schizophrenie und präfrontaler exekutiver Funktion**

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

vorgelegt von
Konstantin Hubert Tilgner

aus
Starnberg

2015

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. med. D. Rujescu
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. med. W. Fries
Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:	PD Dr. rer. biol. hum. I. Giegling
Dekan:	Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR
Tag der mündlichen Prüfung:	07.05.2015

Inhaltsverzeichnis

1 Zusammenfassung	6
2 Einleitung	8
2.1 Schizophrenie	8
2.1.1 Definition	8
2.1.2 Historisches	8
2.1.3 Epidemiologie	9
2.1.4 Symptomatik und Subtypen	10
2.1.5 Verlauf und Prognose	11
2.1.6 Ätiopathogenese	12
2.1.6.1 Umweltfaktoren	13
2.1.6.2 Genetische Faktoren	15
2.1.6.3 Hirnmorphologische Veränderungen	20
2.1.6.4 Neurobiochemische Veränderungen	21
2.2 Das Konzept der Endophänotypen	22
2.2.1 Kognitive Dysfunktion und neuropsychologische Endophänotypen	25
2.2.2 Präfrontale Dysfunktion bei Schizophrenie	25
2.2.3 Der WCST als Maß exekutiver Dysfunktion bei Schizophrenie	26
2.2.4 Die Eignung des WCST als Endophänotyp der Schizophrenie	28
2.3 Das dopaminerge System	29
2.3.1 Dopaminsynthese und -abbau	29
2.3.2 Vorkommen von Dopamin	29
2.3.3 Die Bedeutung von Dopamin für die Funktion des PFC	30
2.3.4 Einteilung, Struktur und Vorkommen der Dopamin-Rezeptoren	31
2.3.5 Der Dopamin-1-Rezeptor (DRD1)	33
2.3.5.1 Signalübertragung des Dopamin-1-Rezeptors	34
2.3.5.2 Die Bedeutung von DRD1 für die Funktion des PFC	34
2.3.5.3 Die Bedeutung von DRD1 für Schizophrenie	35
2.4 Das DRD1-Gen	35
2.4.1 Das DRD1-Gen und Schizophrenie	37
2.4.2 Das DRD1-Gen und der WCST	43
2.5 Fragestellung	44
3 Material und Methoden	46
3.1 Vorbedingungen der Studiendurchführung	46
3.2 Studienteilnehmer	46
3.2.1 Kontrollprobanden	46

3.2.2	Patienten	47
3.3	WCST:CV4 Research Edition	49
3.3.1	Allgemeine Beschreibung	49
3.3.2	Testaufbau	49
3.3.3	Durchführung.....	52
3.3.4	Testauswertung	52
3.3.5	Gütekriterien.....	55
3.4	Laborverfahren.....	56
3.4.1	DNA-Extraktion.....	56
3.4.2	Bestimmung der DNA-Konzentration	58
3.4.3	Genotypisierung	60
3.5	Statistische Auswertung	64
4	Ergebnisse	65
4.1	Fall-Kontroll-Assoziationsstudie	65
4.1.1	Analyse des DRD1-Polymorphismus rs4867798	65
4.1.2	Analyse des DRD1-Polymorphismus rs1508765	68
4.2	Endophänotypen-Studie.....	71
4.2.1	Assoziation zwischen rs4867798 und Testleistungen im WCST:CV4	71
4.2.2	Assoziation zwischen rs1508765 und Testleistungen im WCST:CV4	73
4.3	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	75
5	Diskussion	76
5.1	Interpretation der Ergebnisse der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie.....	76
5.2	Interpretation der Ergebnisse der Endophänotypen-Studie	80
5.3	Diskussion der Methoden.....	85
5.4	Ausblick auf zukünftige Untersuchungen.....	93
6	Abkürzungsverzeichnis.....	96
7	Literaturverzeichnis.....	98
8	Danksagung	113
9	Eidesstattliche Versicherung.....	114

1 Zusammenfassung

In der Ätiopathogenese der Schizophrenie wird einer genetisch bedingten Vulnerabilität große Bedeutung beigemessen. Die Suche nach genetischen Risikofaktoren der Schizophrenie gestaltet sich schwierig. Dafür wird die Tatsache verantwortlich gemacht, dass die klinische Diagnose der Schizophrenie möglicherweise eine Gruppe von ätiologisch heterogenen Krankheitsentitäten umfasst. Die Molekulargenetik benötigt vielleicht ätiologisch homogenere Subgruppen mit einer weniger komplexen Genetik. Diese Subgruppen sollen mithilfe von Endophänotypen geschaffen werden. Endophänotypen sind Teilaspekte einer Erkrankung, die messbar sind und von denen angenommen wird, dass sie einer weniger komplexen genetischen Determination unterliegen als die übergeordnete Erkrankung.

Das DRD1-Gen (Dopamin-1-Rezeptor-Gen) ist ein Kandidatengen der Schizophrenie. Mutationen des DRD1-Gens werden für eine veränderte Expression und damit eine gestörte Transmission am D1-Rezeptor verantwortlich gemacht. Eine gestörte dopaminerge Transmission im präfrontalen Kortex wird als Ursache für die kognitive Dysfunktion und die Negativsymptomatik schizophrener Patienten vermutet. Assoziationen von DRD1-Polymorphismen und der Schizophrenie wurden in mehreren Studien untersucht. Die Ergebnislage ist jedoch inkonsistent in Bezug auf risikoassoziierte Allele und Genotypen.

Die kognitive Dysfunktion schizophrener Patienten betrifft auch die exekutive Funktion. Der WCST (Wisconsin Card Sorting Test) ist ein neuropsychologischer Test, mit dessen Hilfe die präfrontale exekutive Funktion operationalisiert werden kann. In mehreren Studien konnten Assoziationen eines DRD1-Polymorphismus mit der Leistung im WCST gefunden werden.

In der vorliegenden Fall-Kontroll-Assoziationsuntersuchung wurde an einer Stichprobe von 298 gesunden Probanden und 126 schizophrenen Patienten eine Assoziation der DRD1-Polymorphismen rs4867798 und rs1508765 mit Schizophrenie untersucht. Für beide SNPs konnten signifikante Assoziationen gefunden werden. Zusammen mit anderen Veröffentlichungen liefert vorliegende Untersuchung damit einen Hinweis für den Beitrag, den der Dopamin-1-Rezeptor für die Pathophysiologie der Schizophrenie hat.

An derselben Stichprobe wurde eine Assoziation der beiden DRD1-Polymorphismen mit der Leistung im WCST untersucht. Der Polymorphismus rs4867798 war signifikant mit der Leis-

1 Zusammenfassung

tung in der Testvariable ‚Prozent nicht-perseverativer Fehler‘, der Polymorphismus rs1508765 signifikant mit der Leistung in der Testvariable ‚Anzahl vollständiger Kategorien‘ assoziiert. Zusammen mit Studien, in denen Assoziationen eines weiteren DRD1-Polymorphismus mit der Leistung im WCST gefunden werden konnten, untermauert vorliegende Untersuchung die Bedeutung des DRD1-Rezeptors für die präfrontale exekutive Funktion.

Die gefundenen Ergebnisse müssen in weiteren Studien repliziert und überprüft werden, bevor ihre Relevanz in Zusammenschau mit anderen Studienergebnissen beurteilt werden kann. Weitere Untersuchungen zur funktionellen Relevanz der gefundenen Assoziationen sind nötig. Ein besseres Verständnis der mit dem D1-Rezeptor assoziierten Pathophysiologie könnte zu einer besseren Diagnostik, Therapie und Prävention der Schizophrenie führen.

2 Einleitung

2.1 Schizophrenie

2.1.1 Definition

Die Schizophrenie bezeichnet eine Gruppe von schwerwiegenden psychiatrischen Erkrankungen, die bezüglich Ätiopathologie, Symptomatik und zeitlichem Verlauf sehr heterogen sein können. Die Symptomatik ist charakterisiert durch eine Mischung aus positiven, negativen, kognitiven, affektiven und psychomotorischen Symptomen, die sich bezüglich der Einzelsymptome und ihrer Intensität sowohl im zeitlichen Verlauf als auch zwischen Patienten erheblich unterscheiden können (Tandon et al., 2009).

2.1.2 Historisches

Lange schon beschäftigt sich die Medizin mit dem heute unter dem Begriff Schizophrenie bezeichneten Krankheitsbild sowie mit dessen Einteilung.

Emil Kraepelin, der seine Krankheitslehre vor allem an Krankheitsverlauf und Krankheitsausgang orientierte, bezeichnete die Erkrankung als „dementia praecox“ (Kraepelin, 1893). Diese sah Kraepelin durch einen frühen Beginn (praecox), einen chronisch-progressiven Verlauf und den Ausgang (eine andauernde und tiefgreifende intellektuelle Beeinträchtigung = dementia) gekennzeichnet (Tandon et al., 2009).

Eugen Bleuler (1911) stellte die Krankheitssymptome in den Mittelpunkt seiner Theorie und schlug den Terminus „Schizophrenie“ (*s'chizein* = *spalten* und *phrēn* = *Seele*) vor, da er die Abspaltung von psychischen Teilfunktionen als wesentlich für die Erkrankung erachtete. Diese Abspaltung führt Bleulers Theorie zufolge zu den sogenannten Grundsymptomen ‚Assoziationslockerung‘, ‚Affektstörungen‘, ‚Autismus‘ und ‚Ambivalenz‘ (die „4 As“). Laut Bleuler sind diese Grundsymptome bei allen Patienten vorhanden, während sogenannte akzessorische Symptome (Sinnestäuschungen, Wahnideen, katatone Symptome, Störungen von Schrift und Sprache) nicht vorhanden sein müssen.

Kurt Schneider versuchte auftretende Symptome im Hinblick auf ihre Wichtigkeit für die Diagnose Schizophrenie zu ordnen. Schneider unterschied Symptome 1. Ranges (u.a. das Hören von Stimmen, Wahnwahrnehmung, Gedankeneingebung, –entzug) von den Sympto-

2 Einleitung

men 2. Ranges (u.a. Affektveränderungen, nicht-akustische Halluzinationen, Wahneinfall) (Schneider, 1957).

Die derzeit gültigen Schizophreniekonzepte der ICD-10 (International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, 10th revision) und des DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition) stellen eine Weiterentwicklung der Ansätze Kraepelins, Bleulers und Schneiders dar (Tandon et al., 2009).

2.1.3 Epidemiologie

Die Lebenszeitprävalenz der Schizophrenie (Anteil der Personen einer Population, die zum Erhebungszeitpunkt an Schizophrenie erkrankt waren oder sind) wird auf einen Bereich von 0,16 bis 1,21% und einen Median von 0,4% geschätzt. Die Wahrscheinlichkeit, während des Lebens an Schizophrenie zu erkranken, wird mit 0,31 bis 2,71% und einem Median von 0,72% angegeben (Saha et al., 2005).

Die Inzidenz der Erkrankung (Anzahl der Neuerkrankungen) wird auf 0,015% pro Jahr geschätzt (McGrath et al., 2004). Die Inzidenzraten von verschiedenen Ländern mit unterschiedlichem ökonomischen Status unterscheiden sich nicht (Saha et al., 2006).

Lange Zeit galt die Annahme, dass Frauen und Männer gleich häufig an Schizophrenie erkranken (Hambrecht et al., 1994). Zwei Metaanalysen kamen jedoch zu dem Ergebnis, dass Männer ein etwa 1,4-fach höheres Erkrankungsrisiko aufweisen als Frauen (Aleman et al., 2003; McGrath et al., 2004).

Mehr als die Hälfte aller Patienten erkrankt zwischen der Pubertät und dem 30. Lebensjahr. Männer erkranken dabei signifikant früher an einer Schizophrenie als Frauen. In der von der Weltgesundheitsorganisation durchgeführten ‚Determinants of Outcome-Study‘ (Jablensky et al., 1992) fand sich ein durchschnittliches Ersterkrankungsalter der Männer von 26,7 Jahren im Vergleich zu einem durchschnittlichen Ersterkrankungsalter von 30,1 Jahren der Frauen (Hambrecht et al., 1992). Die Ursachen dafür sind bisher ungeklärt, es wird jedoch ein protektiver Effekt des Östrogens angenommen (Häfner, 2003).

Schizophrene Patienten werden häufiger in niedrigen sozialen Schichten gefunden. Dieser Befund kann entweder im Sinne eines ursächlichen Zusammenhangs (schlechtere Lebensbedingungen in niedrigen sozialen Schichten begünstigen die Manifestation einer Schizophrenie) oder gemäß einer sozialen Selektion (die Erkrankung hat das Abgleiten in niedrigere soziale Schichten zur Folge) interpretiert werden. Forschungsergebnisse sprechen für

2 Einleitung

letztenannten Erklärungsansatz, der als „*social-drift*“-Hypothese bezeichnet wird (Dohrenwend et al., 1992).

Es konnte auch gezeigt werden, dass die Inzidenzraten der Schizophrenie in urbanem Umfeld höher sind als in gemischt urban/ländlichen Gegenden. Dies kann auch im Sinne des „*social-drifts*“ interpretiert werden. Demnach könnten schizophrene Patienten Städte wegen billigerer Wohnmöglichkeiten und der größeren Anonymität bevorzugen (Tandon et al., 2008). Da aber gezeigt werden konnte, dass das Aufwachsen in einer Stadt mit höheren Inzidenzraten assoziiert ist, wird vermutet, dass bisher nicht näher bekannte Umweltfaktoren in Städten das Erkrankungsrisiko erhöhen (Lewis et al., 1992; Tandon et al., 2008).

2.1.4 Symptomatik und Subtypen

Die Schizophrenie ist durch ein breites Spektrum vielfältiger Symptome gekennzeichnet, die nahezu alle psychischen Funktionen beeinträchtigen können.

Eine Unterscheidung der Symptome ist zwischen Positiv- und Negativsymptomatik möglich. Positive Symptome sind gekennzeichnet durch eine Übersteigerung oder eine Verzerrung des Erlebens und Verhaltens, welche bei einem Gesunden nicht auftritt (Halluzinationen, Wahnphänomene, formale Denkstörungen, bizarres oder desorganisiertes Verhalten (Andreasen, 1982)). Negative Symptome hingegen beschreiben einen Mangel oder ein Fehlen psychischer Eigenschaften, die bei einem Nicht-Erkrankten vorhanden wären (Sprachverarmung, Affektverarmung, Apathie, Anhedonie, Aufmerksamkeitsstörungen (Andreasen, 1982)).

Im Unterschied zu den meisten diagnostischen Kategorien in der Psychiatrie gibt es keine pathognomonischen Symptome, die vorliegen müssen, um die Diagnose Schizophrenie zu stellen. Es lassen sich aber Hauptsymptome nennen. Diese sind unter anderem formale Denkstörungen, Wahn, Halluzinationen, Ich-Störungen, Störungen der Affektivität sowie psychomotorische Symptome.

Entsprechend bestimmter Symptomkonstellationen werden verschiedene Subtypen der Schizophrenie unterschieden. Diese sind in Tabelle 1 (Seite 11) aufgeführt.

2 Einleitung

Tabelle 1: Subtypen der Schizophrenie nach DSM-IV und ICD-10

DSM-IV	ICD-10
<ul style="list-style-type: none">• Paranoider Typ• Desorganisierter Typ• Katatoner Typ• Undifferenzierter Typ • Residualer Typ	<ul style="list-style-type: none">• Paranoide Schizophrenie• Hebephrene Schizophrenie• Katatone Schizophrenie• Undifferenzierte Schizophrenie• Postschizophrene Depression• Schizophrenes Residuum• Schizophrenia simplex

Aufgrund ihrer zeitlichen Instabilität sowie ihrer nicht zweifelsfrei geklärten Validität ist diese Unterteilung in Subtypen für die derzeit in Entstehung befindliche ICD-11 - übereinstimmend mit dem DSM-5 - nicht mehr geplant (Gaebel, 2012).

2.1.5 Verlauf und Prognose

In den meisten Fällen geht der Erstmanifestation der Schizophrenie eine Prodromalphase voraus, in der unspezifische Symptome auftreten wie kognitive Einbußen, depressive Verstimmtheit, Leistungseinbruch und sozialer Rückzug (Riecher-Rössler & Rössler, 1998). Diese Symptome nehmen im Verlauf zu. Die Dauer dieser Prodromalphase beträgt durchschnittlich 5 Jahre (Häfner & an der Heiden, 1999). Positive Symptome setzen später ein, gewinnen dann aber schneller an Intensität. Dies mündet in der ersten Episode, die durch floride psychotische Symptome gekennzeichnet ist. Nach einer Phase mit florider Positivsymptomatik verliert diese schneller an Intensität als negative Symptome (Tandon et al., 2009). Der Verlauf nach der ersten psychotischen Episode kann unterschiedlich ausfallen. Tabelle 2 (Seite 12) zeigt die Krankheitsverläufe, die nach ICD-10 unterschieden werden. Oft ist der weitere Krankheitsverlauf charakterisiert durch einen Wechsel aus Exazerbationen und Remissionen. Meist mündet die Erkrankung in eine Residualphase, in der die Positivsymptomatik nachlässt und kognitive Defizite sowie Negativsymptomatik im Vordergrund stehen (Tandon et al., 2009).

2 Einleitung

Tabelle 2: Klassifikation des Verlaufs schizophrener Erkrankungen nach ICD-10 (Olbrich et al., 2004)

- kontinuierlich
- episodisch, mit zunehmendem Residuum
- episodisch, mit stabilem Residuum
- episodisch remittierend
- unvollständige Remission
- vollständige Remission
- andere
- Beobachtungszeitraum weniger als ein Jahr

Als Prädiktoren für einen günstigen Krankheitsausgang sind u.a. akuter Krankheitsbeginn, weibliches Geschlecht, Ehe, gute soziale Anpasstheit und hohes Erkrankungsalter bekannt (Riecher-Rössler & Rössler, 1998). Weitere wichtige Faktoren für den Krankheitsverlauf sind die Dauer der unbehandelten Psychose, Krankheitseinsicht und die Dauer bis zum Ansprechen auf antipsychotische Medikation (Emsley et al., 2008).

2.1.6 Ätiopathogenese

Als Erklärungsmodell für die Ätiopathogenese der Schizophrenie wird ein multifaktorielles Modell angenommen. Diesem zufolge führt die Kombination einer genetischen Veranlagung mit zahlreichen Einflüssen wie z.B. neuroanatomischen und psychosozialen Ursachenfaktoren zu neurophysiologischen und biochemischen Veränderungen und damit in interindividuell unterschiedlichem Ausmaß zur Ausprägung einer erhöhten Vulnerabilität für die Manifestation der Erkrankung. In Abbildung 1 (Seite 13) ist dieses Modell mit dafür wichtigen Einflussfaktoren dargestellt. Vor dem Hintergrund einer so begründeten Krankheitsprädisposition wirken sich psychosoziale Einflüsse sowie Umweltfaktoren entweder risikosteigernd oder protektiv auf Ausbruch und Verlauf einer Erkrankung aus (Möller et al., 2008). Diese Interaktion aus vorbestehender Vulnerabilität und krankheitsmodulierenden Faktoren wird als Vulnerabilitäts-Stress-Modell bezeichnet.

2 Einleitung

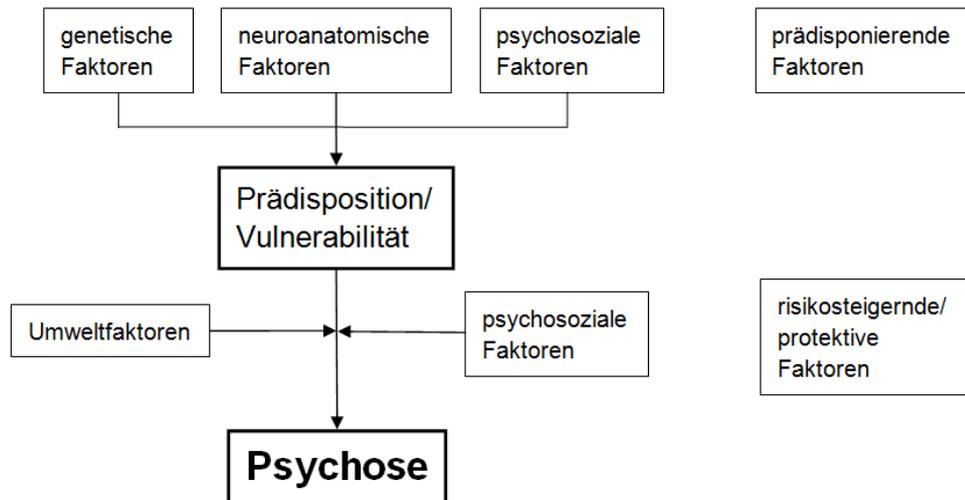


Abbildung 1: Modell der multifaktoriellen Ätiopathogenese der Schizophrenie (modifiziert nach Möller, 2005)

2.1.6.1 Umweltfaktoren

Umweltfaktoren wird sowohl eine krankheitsverursachende als auch eine –auslösende Rolle zugeschrieben. Dabei werden sowohl biologische als auch psychosoziale Risikofaktoren diskutiert.

Maternale Infektionen während der Schwangerschaft führen zu einem höheren Risiko an Schizophrenie zu erkranken (Brown, 2006), wobei das höchste Risiko bei einer Infektion während dem 1. Trimester zu bestehen scheint (Meyer et al., 2007). Ein Zusammenhang zwischen einer pränatalen Infektion und einem erhöhten Erkrankungsrisiko konnte unter anderem für Influenza (Murray et al., 1992), Rubella (Brown et al., 2001) und Toxoplasmose (Brown et al., 2005) gezeigt werden. Wodurch diese Risikosteigerung auf neurobiologischer Ebene bedingt ist, ist bislang ungeklärt. Vermutet wird, dass dies nicht durch einen direkten Effekt der Krankheitserreger auf das fetale Gehirn, sondern indirekt über die Immunreaktion der Mutter vermittelt wird (Ashdown et al., 2006).

Mangelernährung der Mutter sowie Stress während der Schwangerschaft stellen Risikofaktoren für Schizophrenie dar (Brown, 2011). Dies wurde unter anderem mit einem niedrigen Geburtsgewicht sowie Frühgeburtlichkeit in Zusammenhang gebracht (Khashan et al., 2008). Das erhöhte Erkrankungsrisiko könnte durch eine „Stress Sensibilisierung“ verursacht sein (Yui et al., 2007).

2 Einleitung

Geburtskomplikationen scheinen mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko verbunden zu sein. Es wird angenommen, dass dies vor allem auf eine fetale Hypoxie zurückzuführen ist (Byrne et al., 2007; Cannon et al., 2002).

Ebenfalls scheint das Alter des Vaters einen Risikofaktor darzustellen. Dieses wird mit einer erhöhten Mutationsrate bei der Spermatogenese in Verbindung gebracht (Malaspina et al., 2001).

Auch die Jahreszeit hat einen Einfluss auf das Erkrankungsrisiko. So ist eine Geburt im Winter oder Frühling mit einer 5-8% höheren Wahrscheinlichkeit verbunden, an Schizophrenie zu erkranken (Torrey et al., 1997). Neben der Hypothese der Mangelernährung der Mutter sowie der pränatalen Infektionen wird dafür ein jahreszeitlich erhöhtes Mutationsrisiko verantwortlich gemacht (Tandon et al., 2008).

Der Genuss von Cannabis während der Adoleszenz stellt einen weiteren Risikofaktor der Schizophrenie dar (Moore et al., 2007). Diskutiert wird, ob die Droge das Erkrankungsrisiko erhöht, aber auch, ob sie ein Auslöser der Erkrankung ist (Tandon et al., 2008).

Im Sinne des Vulnerabilitäts-Stress-Modells scheinen psychosoziale Faktoren als Stressoren und damit als auslösende Faktoren sowohl mit der Erstmanifestation als auch mit dem Verlauf der Erkrankung in Zusammenhang zu stehen.

Der Einfluss kritischer Lebensereignisse, also solcher, die von den Betroffenen als belastend erlebt werden, auf das Risiko, an Schizophrenie zu erkranken, wurde untersucht. Dabei konnten kritische Lebensereignisse nicht sicher als Krankheitsauslöser identifiziert werden. Es wird vermutet, dass im Prodromalstadium der Schizophrenie die Auseinandersetzungsfähigkeit mit Belastungen vermindert ist und kritische Lebensereignisse die Auseinandersetzungsfähigkeit weiter mindern und dadurch Prodromalsymptome fördern. Dieser Teufelskreis aus kritischen Lebensereignissen und Prodromalsymptomen soll somit zur Manifestation einer Erkrankung führen (Olbrich et al., 2004).

Auch ein Zusammenhang zwischen der „*expressed emotion*“ und dem Erkrankungsrisiko wurde untersucht. Das Konzept der „*expressed emotion*“ erfasst die in den Familien der Betroffenen vorherrschende emotionale Atmosphäre und kennzeichnet das Maß an Kritik, Feindseligkeit und emotionaler Überbehütung. Für Patienten in „*high expressed emotion*“-Familien konnte ein höheres Wiedererkrankungsrisiko aufgedeckt werden (Amaresha & Venkatasubramanian, 2012).

Die genannten Faktoren zeigen einen Einfluss der Umwelt auf die Entstehung der Schizophrenie. Auf welchen Mechanismen diese Einflüsse beruhen, ist weitgehend ungeklärt. Ent-

2 Einleitung

sprechend dem oben genannten multifaktoriellen Modell zur Ätiopathogenese der Schizophrenie wird vermutet, dass die Umwelt nur vor dem Hintergrund einer genetisch verankerten Disposition einen krankheitsmodulierenden Einfluss haben kann.

2.1.6.2 Genetische Faktoren

Eine genetische Grundlage der Schizophrenie gilt aufgrund familiärer Häufung als belegt. Um den Einfluss genetischer Faktoren von Umweltfaktoren, die auf ähnlichen Lebensbedingungen innerhalb von Familien beruhen, differenzieren zu können, können Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien herangezogen werden.

Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien

Das Risiko, im Lauf des Lebens an einer Schizophrenie zu erkranken, beträgt in der Allgemeinbevölkerung ca. 1 %. Dieses Erkrankungsrisiko nimmt mit dem Grad der genetischen Verwandtschaft zu einem schizophrenen Patienten zu. Es beträgt bei Verwandten 3. Grades ca. 2 %, bei Verwandten 2. Grades ca. 2-5 % und bei Verwandten 1. Grades ca. 6-15%. Eineiige Zwillinge haben Konkordanzraten von ca. 50%, im Gegensatz zu zweieiigen Zwillingen von ca. 14% (Gottesman, 1991). Besonders der Vergleich der Konkordanzraten mono- und dizygoter Zwillinge zeigt unter der Annahme möglichst ähnlicher Umweltbedingungen, dass das Erkrankungsrisiko mit dem Grad der genetischen Verwandtschaft assoziiert ist (Fabisch et al., 2005). Gottesman und Bertelsen (1989) konnten durch einen Vergleich monozygoter Zwillingspaare, bei denen nur ein Zwilling an Schizophrenie erkrankt war, zeigen, dass die Nachkommen des gesunden Zwillings das gleiche Erkrankungsrisiko tragen wie die Nachkommen des erkrankten Zwillings. Dieser Befund, dass die Suszeptibilität für eine Schizophrenie auch durch phänotypisch gesunde Personen vererbt werden kann, gilt als besonderer Hinweis für die Heritabilität der Schizophrenie (Fabisch et al., 2005).

Adoptionsstudien stellen eine wichtige Ergänzung zu Familien- und Zwillingsstudien dar, da in ihnen Umgebungsfaktoren variiert werden. Auf diese Weise kann besser zwischen genetischen und umweltbedingten Einflüssen differenziert werden. So konnte gezeigt werden, dass Kinder mit einem schizophrenen Elternteil, die in einer gesunden Adoptivfamilie aufwuchsen, dasselbe Erkrankungsrisiko aufweisen wie Kinder, die bei ihren leiblichen, erkrankten Eltern aufwuchsen. Außerdem zeigen Kinder gesunder Eltern, die in eine Familie mit schizophrenem Elternteil adoptiert wurden, kein erhöhtes Erkrankungsrisiko (Kendler et al., 1994; Kety

2 Einleitung

et al., 1994). Diese Befunde belegen die relativ geringe Bedeutung familiärer Umgebungsbedingungen und unterstreichen die Relevanz einer genetischen Disposition für die Entstehung der Schizophrenie.

Die Heritabilität der Schizophrenie wird auf Basis von Zwillingsstudien auf ca. 81% geschätzt (Sullivan et al., 2003). Dass monozygote Zwillinge trotz genetischer Identität keine vollständige Konkordanz aufweisen, erlaubt die Schlussfolgerung, dass neben einer genetischen Disposition nicht-genetische Faktoren an der Ätiopathogenese der Schizophrenie beteiligt sein müssen.

Molekulare Genetik

Psychiatrisch-epidemiologische Befunde belegen die starke Bedeutung einer genetischen Anlage der Schizophrenie. Dabei handelt es sich um eine genetisch komplexe Erkrankung, deren Vererbungsmuster nicht einem Mendelschen Erbgang folgt (Giusti-Rodriguez & Sullivan, 2013). Es wird angenommen, dass eine Vielzahl von Genen Risikoallele enthalten und die genetische Anlage durch eine Kombination von häufigen Allelen mit geringen Effekten und seltenen Allelen mit starken Effekten bedingt ist (Owen et al., 2009). Unklar ist, um wieviele risikosteigernde Genvarianten es sich handelt, wie diese miteinander interagieren und wie stark der risikosteigernde Beitrag der einzelnen Varianten ist (Owen, 2000). Außerdem wird angenommen, dass verschiedene Kombinationen verschiedener Genvarianten eine Erkrankung bedingen und sich so die Genkonstellationen zwischen verschiedenen Individuen unterscheiden (Harrison & Weinberger, 2005).

Ziel der molekulargenetischen Forschung ist die Identifizierung von Risikogenen bzw. -genvarianten. Einen Zugang dazu bietet die interindividuelle genetische Variabilität.

Genetische Variabilität: SNP und Haplotyp-Blockstruktur

Das menschliche Genom weist eine interindividuelle Übereinstimmung von 99,9% auf. Demzufolge müssen in den restlichen 0,1 Prozent, die die genetische Variabilität ausmachen, die genetischen Ursachen für die individuell unterschiedlichen Phänotypen und genetisch bedingten Krankheiten verborgen sein. 90% dieser genetischen Unterschiede werden durch SNPs (single nucleotide polymorphism) hervorgerufen. Ein SNP bezeichnet die Allelvariabilität einer einzelnen Base an einer definierten Stelle der DNA-Sequenz, deren minores Allel bei mindestens 1% der Bevölkerung zu finden ist (Cichon et al., 2002). Die Zahl der im menschlichen Genom vorkommenden SNPs wird auf mehrere Millionen geschätzt.

2 Einleitung

Sie sind mit einem durchschnittlichen Abstand von 100 bis 300 Basenpaaren im gesamten Genom - sowohl in kodierenden als auch in nicht-kodierenden Bereichen - zu finden (Rujescu, 2010). SNPs haben als Marker genetischer Variabilität einen hohen Stellenwert in der medizinischen Genetik, da sich insbesondere von der Identifizierung phänotypisch wirksamer SNPs ein besseres Verständnis für genetisch bedingte Erkrankungen erhofft wird (Cichon et al., 2002).

Nicht alle existenten SNPs müssen untersucht werden, um die für eine Erkrankung relevanten herauszufinden. Aufgrund der Haplotyp-Blockstruktur, einem Organisationsprinzip des menschlichen Genoms, kann die Zahl der zu untersuchenden SNPs reduziert werden. Für die Haplotyp-Blockstruktur ist das Prinzip der Kopplung bzw. das Kopplungsungleichgewicht wichtig. Kopplung bezeichnet das Phänomen, dass je näher Gene oder genetische Varianten auf einem Chromosom benachbart sind, die Wahrscheinlichkeit umso größer ist, dass sie miteinander vererbt werden, da eine Neukombination der Gene durch „*Crossing over*“ dadurch umso unwahrscheinlicher wird. Treten einzelne Sequenzvarianten abhängig von ihrer räumlichen Nähe gemeinsam auf, so wird dies als Kopplungsungleichgewicht bezeichnet. Das Kopplungsungleichgewicht macht es möglich, dass aufgrund der Kenntnis einer Sequenzvariante mit hoher Wahrscheinlichkeit auf das Vorliegen einer oder mehrerer gekoppelter Varianten geschlossen werden kann. Im menschlichen Genom gibt es DNA-Abschnitte, die als Blöcke bezeichnet werden, in denen ein ausgeprägtes Kopplungsungleichgewicht vorliegt. Aufgrund des Kopplungsungleichgewichts ist die Zahl der in diesen Blöcken auftretenden Allelkombinationen eingeschränkt. Die auftretenden Allelkombinationen werden als Haplotypen bezeichnet. Nach Identifikation eines Haplotypen reicht die Kenntnis charakteristischer SNPs aus, um mit hoher Wahrscheinlichkeit auf die DNA-Sequenz eines Blocks schließen zu können. Mithilfe der Haplotyp-Blockstruktur können so leichter DNA-Bereiche eingegrenzt werden, in denen sich krankheitsassoziierte Mutationen befinden (Freudenberg et al., 2002).

Zur Identifizierung von Dispositionsgenen und risikosteigernden Genvarianten werden in der molekulargenetischen Forschung zwei sich ergänzende Methoden angewandt: Kopplungs- und Assoziationsuntersuchungen.

Kopplungsuntersuchungen

In Kopplungsuntersuchungen wird nach überzufällig häufiger gemeinsamer Vererbung von einem beliebigen genetischen Marker - das ist eine DNA-Sequenz, deren chromosomale

2 Einleitung

Lage bekannt ist - mit einem Krankheitsphänotyp gesucht. Auf diese Weise können in der Nähe des Markers Regionen lokalisiert werden, in denen sich Krankheitsgene befinden. Untersucht werden Familien mit zwei oder mehr betroffenen, genetisch verwandten Mitgliedern. Idealerweise handelt es sich dabei um sogenannte Kernfamilien mit möglichst naher Verwandtschaft, da bei diesen die vermutete Homogenität genetischer Ursachen am größten ist (Maier et al., 1999). Es ist möglich, das gesamte menschliche Genom mithilfe einiger hundert in gleichmäßigem Abstand lokalisierter Marker auf das Vorhandensein solcher Regionen hin zu untersuchen, ohne dafür eine Kenntnis über die einer Erkrankung zugrundeliegenden Ursachen zu benötigen (Owen et al., 2004).

Bis heute wurden wenige Metaanalysen zu genomweiten Kopplungsuntersuchungen der Schizophrenie veröffentlicht.

Eine erste Metaanalyse von Badner und Gershon (2002) erbrachte starke Hinweise für schizophrenierelevante Genregionen auf 8p, 13q und 22q. Die Metaanalyse von Lewis et al. (2003) fand starke Hinweise für eine Kopplung der chromosomalen Loci 5q23.2-q34, 3p25.3-p22.1, 11q22.3-q24.1, 6pter-p22.3, 2q22.1-q23.3, 1p13.3-q23.3, 22pter-q12.3, 8p22-p21.1, 6p22.3-p21.1, 20p12.3-p11 und 14pter-q13.1. Außerdem konnte ein signifikanter genomweiter Kopplungsbefund der Region 2p12-q22.1 aufgedeckt werden. Übereinstimmende Ergebnisse zwischen den Analysen von Badner und Gershon (2002) und Lewis et al. (2003) konnten also bezüglich der Genregion auf 8p und 22q erzielt werden.

Eine Metaanalyse von Ng et al. (2009) erbrachte übereinstimmend zu der Studie von Lewis et al. (2003) einen genomweiten Kopplungsbefund auf Chromosom 2q (118,7-152 Mb). Außerdem konnten Hinweise für eine Kopplung von 5q (141.8-167.7 Mb) und 2q (103.3-134 Mb) gefunden werden sowie in einer europäischstämmigen Subpopulation für 8p (15.7-32.7 Mb).

Die bisher aufgedeckten Kopplungsbefunde werden aufgrund ihrer geringen Kopplungsstärke zugunsten der Hypothese gewertet, dass eine genetisch bedingte Vulnerabilität durch eine Kombination vieler Mutationen mit geringem Beitrag zustande kommt (Fabisch et al., 2005). Eine methodische Schwäche der Kopplungsuntersuchungen ist, dass es mit ihnen nicht gelingt Genmutationen mit geringem Effekt direkt zu identifizieren. Es können lediglich Bereiche definiert werden, in denen mit großer Wahrscheinlichkeit Suszeptibilitätsloci liegen (Rujescu, 2010).

Dieser Nachteil kann durch die Kombination mit Assoziationsstudien verbessert werden, mit denen Suszeptibilitätsloci genauer lokalisiert werden können.

2 Einleitung

Assoziationsstudien

Mithilfe von Assoziationsuntersuchungen können genetische Risikofaktoren aufgedeckt werden. Risikofaktoren können Allele oder Genotypen von SNPs oder andere DNA-Varianten sein. Deren Häufigkeiten werden zwischen einer Patienten- und einer Kontrollgruppe verglichen und durch den Nachweis eines überzufällig häufigeren Vorkommens in der Patienten-Gruppe als Risikofaktoren identifiziert. Ein solcher Risikofaktor kann zum einen über eine veränderte Genexpression oder ein verändertes Genprodukt einen direkten Geneffekt haben, zum anderen kann er mit krankheitsrelevanten Polymorphismen gekoppelt sein (Propping et al., 1994). Untersucht werden dabei Gene, deren Genprodukte aufgrund hypothetischer Überlegungen an der Ätiopathogenese einer Erkrankung beteiligt sein könnten und/oder die in einem Bereich liegen, der sich in Kopplungsstudien als schizophrenerrelevant herausgestellt hat (Owen et al., 2004). Diese Gene werden entsprechend als funktionelle oder positionelle Kandidatengene bezeichnet.

Ein Vorteil der Assoziationsuntersuchungen ist, dass durch sie auch für Gene mit geringem Geneffekt Assoziationen zwischen einem Risikofaktor und einer komplexen Erkrankung gefunden werden können (Rujescu, 2010). Allerdings muss ausgeschlossen werden, dass sich in der Stichprobe einer Assoziationsuntersuchung genetisch verwandte Personen befinden. Ein Nachteil von Assoziationsuntersuchungen ist ihre Anfälligkeit für falsch-positive und falsch-negative Befunde. Da sich die Häufigkeiten genetischer Merkmale zwischen verschiedenen ethnischen Populationen unterscheiden, sollten die Untersuchungsstichproben denselben ethnischen Ursprung haben, da sich andernfalls falsch-positive Befunde ergeben können. Assoziationsbefunde können zudem populationsspezifisch sein (Propping et al., 1994). Ein weiterer Nachteil von Assoziationsstudien ist, dass sehr große Stichproben benötigt werden, um aussagekräftige Ergebnisse zu erzielen (Owen et al., 2004).

Da zur systematischen Untersuchung des gesamten Genoms mittels Assoziationsuntersuchungen die Genotypisierung mehrerer 100000 SNPs notwendig ist, war die Methodik der Assoziationsuntersuchung lange Zeit mit der Analyse von Kandidatengenen auf ein hypothesengerichtetes Vorgehen beschränkt (Williams et al., 2009). Aufgrund des technischen Fortschritts können heute gleichzeitig eine Million oder mehr SNPs bei einer einzelnen Person bestimmt werden (Rujescu, 2010), sodass mittlerweile genomweite Assoziationsuntersuchungen (GWA) realisiert werden können. In GWAs kann genomweit mit der hohen Empfindlichkeit einer Assoziationsuntersuchung nach Suszeptibilitätsloci gesucht werden. Die genomweite Suche ermöglicht zudem ein hypothesenfreies Vorgehen und über die Detektion unbekannter Kandidatengene Einsicht in bislang unbekannt pathophysiologische

2 Einleitung

Prozesse (Cichon et al., 2009).

Im Jahr 2014 wurden die Ergebnisse der bislang größten genomweiten Assoziationsstudie der Schizophrenie vorgelegt. Darin konnten Proben von bis zu 36989 Patienten und 113075 gesunden Kontrollprobanden analysiert werden. Auf diese Weise konnten 108 Loci als genomweit signifikant mit der Schizophrenie assoziiert identifiziert werden, von denen 83 erstmalig beschrieben wurden. Die gefundenen Assoziationen betrafen v.a. Gene, die im Gehirn exprimiert werden wie z.B. DRD2 sowie solche Gene, die an glutamaterger Transmission und synaptischer Plastizität beteiligt sind (z.B. GRM3, GRIN2A, SRR, GRIA1). Daneben konnten viele Assoziationen in Genen gefunden werden, die in Geweben exprimiert werden, die eine wichtige Rolle für das Immunsystem spielen (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014).

Die in GWAs zur Schizophrenie gefundenen Allele erklären nur einen kleinen Teil der Varianz des genetischen Erkrankungsrisikos (Doherty et al., 2012). Diese Tatsache passt zur Vorstellung von der Schizophrenie als komplexer Erkrankung mit polygener Vererbung. Es wird vermutet, dass ein Drittel oder mehr des genetischen Risikos, an Schizophrenie zu erkranken, von einer großen Anzahl weitverbreiteter Allele mit geringen Effektstärken vermittelt wird. Demzufolge könnten hunderte bis tausende SNPs zum Erkrankungsrisiko beitragen (Purcell et al., 2009). In Zukunft wird erwartet mit noch größeren Stichproben viele weitere dieser Loci zu finden (Bergen & Petryshen, 2012).

Neben dem Einfluss von genetischen Faktoren und Umweltfaktoren auf die Pathogenese der Schizophrenie sind bestimmte hirmorphologische und neurobiochemische Veränderungen bei schizophrenen Patienten bekannt.

2.1.6.3 Hirnmorphologische Veränderungen

Die Schizophrenie geht mit hirmorphologischen Veränderungen einher. Bei schizophrenen Patienten finden sich erweiterte Liquorräume sowie eine Verminderung sowohl des gesamten Hirnvolumens als auch insbesondere der grauen Substanz. Die Ventrikelerweiterungen sind besonders im Bereich der Seitenventrikel ausgeprägt (Wright et al., 2000). Substanzminderungen konnten für die medialen Temporallappen (Amygdala, Hippocampus und parahippocampaler Gyrus) (Wright et al., 2000), den präfrontalen Kortex (PFC (*prefrontal cortex*)) (Hirayasu et al., 2001), den Thalamus (Konick & Friedman, 2001) sowie das Corpus callosum (Woodruff et al., 1995) nachgewiesen werden. Eine Erklärung für diese Befunde

2 Einleitung

steht bislang noch aus. Es wird vermutet, dass die gefundenen Veränderungen zum Teil auf einer Störung der Hirnentwicklung beruhen, die sich lange vor dem Ausbruch der Erkrankung manifestiert und durch genetische und Umweltfaktoren verursacht wird (Rapoport et al., 2005). Gegen die Hypothese eines typischen neurodegenerativen Prozesses spricht das Fehlen von Gliose, die typischerweise mit neuronalen Schäden einhergeht (Harrison, 1999). Neuere Untersuchungen sprechen aber auch dafür, dass im Krankheitsverlauf progressive hirmorphologische Veränderungen auftreten (Jarskog et al., 2007).

2.1.6.4 Neurobiochemische Veränderungen

Bei schizophrenen Patienten finden sich charakteristische neurobiochemische Veränderungen. Vermutet werden Störungen verschiedener Neurotransmittersysteme.

Eine Fehlregulation des Dopaminstoffwechsels spielt in der Pathophysiologie der Schizophrenie eine zentrale Rolle (Abi-Dargham & Moore, 2003; Howes & Kapur, 2009). Diese Zusammenhänge werden in der sogenannten Dopaminhypothese der Schizophrenie zusammengefasst. Diese beruht auf einer Vielzahl von Beobachtungen.

Zunächst wurde bei schizophrenen Patienten eine dopaminerge Überaktivität als Ursache psychotischer Symptome angenommen. Gestützt wurde diese Hypothese durch die Wirkung von Neuroleptika, die über eine Blockade von Dopaminrezeptoren antipsychotisch wirken. Hinzu kommt, dass die klinische Wirksamkeit der Antipsychotika mit der Stärke ihres Dopamin-D2-Rezeptor-Antagonismus korreliert (Creese et al., 1976; Seeman, 1987; Seeman & Lee, 1975). Außerdem kann Amphetamin, das die synaptische Dopaminausschüttung fördert, bei Gesunden Schizophrenie-ähnliche Psychosen verursachen (Meltzer & Stahl, 1976).

Während erste Ansätze der Dopaminhypothese alleine eine Überaktivität des dopaminergen Systems als neurochemisches Korrelat der Schizophrenie postulierten, wird heute ein Ungleichgewicht in der Aktivität kortikaler und subkortikaler Strukturen angenommen. Derzeit wird die Positivsymptomatik mit einer Überstimulation von D2-Rezeptoren erklärt, die durch eine mesolimbische dopaminerge Überaktivität verursacht wird. Für die auftretenden kognitiven Störungen und die Negativsymptomatik wird eine verminderte Stimulation von D1-Rezeptoren im präfrontalen Kortex verantwortlich gemacht, die auf einer Unteraktivität mesokortikaler dopaminergere Projektionen beruht (Abi-Dargham & Moore, 2003).

2 Einleitung

Auch Störungen des glutamatergen Systems scheinen bedeutsam für die Pathophysiologie der Schizophrenie zu sein. Diskutiert wird eine Unteraktivität des glutamatergen Systems, die durch eine gestörte glutamaterge Transmission an NMDA-Rezeptoren verursacht wird (Laruelle et al., 2003). Diese Hypothese wird beispielsweise gestützt von der Beobachtung, dass Phencyclidin (PCP), ein nicht-kompetitiver NMDA-Antagonist, Schizophrenie-ähnliche Psychosen auslösen kann (Javitt et al., 2012).

Aufgrund der Wirkungsweise der atypischen Neuroleptika, die auch den Serotonin-Stoffwechsel beeinflussen, wird auch eine Beteiligung des serotonergen Systems an der Pathophysiologie der Schizophrenie vermutet (Meltzer & Massey, 2011).

Die Bedeutung der beschriebenen neurobiochemischen Veränderungen für die Entstehung der Schizophrenie ist bislang ungeklärt. Maßgebend könnten auch Dysbalancen und gestörte Interaktionen verschiedener Neurotransmittersysteme sein (Olbrich et al., 2004).

2.2 Das Konzept der Endophänotypen

Die Bedeutung genetischer Faktoren für die Pathophysiologie der Schizophrenie steht aufgrund ihrer familiären Häufung außer Frage. Es handelt sich bei der Schizophrenie um eine genetisch komplexe Erkrankung, bei der es weder Genvarianten zu geben scheint, die notwendig, noch solche die ausreichend für eine Erkrankung wären (Tandon et al., 2008). Es wird vermutet, dass bei der Schizophrenie eine Vielzahl von Genvarianten mit kleineren Effekten miteinander und mit Umweltfaktoren interagieren und individuell sehr unterschiedliche Konstellationen zu einer Erkrankung führen können (Meyer-Lindenberg & Weinberger, 2006). Dieser ätiologischen Heterogenität wird durch die im klinischen Alltag eingesetzten, auf psychopathologischen Symptomen beruhenden Diagnosesysteme nicht genügend Rechnung getragen (Gottesman & Gould, 2003). Vielmehr wird dieselbe Diagnose für Patienten gewählt, die sich im Bezug auf die beitragenden Ursachenfaktoren deutlich voneinander unterscheiden können (Zobel & Maier, 2004).

Auf diese Weise werden sehr heterogene Störungen, die durch eine Vielzahl von Genvarianten mit schwachen Effekten bedingt sind, unter einer Diagnose zusammengefasst. Moderne Verfahren der genetischen Forschung benötigen jedoch möglichst homogene Gruppen sowie wenige, starke Geneffekte (Meyer-Lindenberg & Weinberger, 2006).

Um dem Problem der ätiologischen Heterogenität Herr zu werden, werden andere Phänoty-

2 Einleitung

pen benötigt, die eine größere ätiologische Homogenität sowie weniger komplexe Vererbungsmuster aufweisen (Zobel & Maier, 2004). Dazu findet das Konzept der Endophänotypen Anwendung, das auf eine Arbeit von Gottesman und Shields aus dem Jahre 1967 zurückgeht (Gottesman & Shields, 1967).

Unter Zuhilfenahme dieses Konzepts werden psychiatrische Erkrankungen nicht auf der psychopathologischen Ebene betrachtet. Da psychiatrische Erkrankungen als Erkrankungen des Gehirns verstanden werden, liegt der Fokus auf der neurobiologischen Ebene. Auf dieser Ebene messbare Korrelate sind Ausdruck für gestörte Hirnfunktionen, die mit den psychiatrischen Erkrankungen assoziiert sind und wie diese genetischen Einflüssen unterliegen. Diese Krankheitskorrelate werden als Endophänotypen bezeichnet (Zobel & Maier, 2004). Während eine Erkrankung als Ganzes durch viele Dysfunktionen auf neurobiologischer Ebene gekennzeichnet ist, entspricht ein Endophänotyp einer dieser Dysfunktionen (Cannon & Keller, 2006).

Ein Endophänotyp als risikosteigernder Teilaspekt einer Erkrankung offenbart eine genetische Anfälligkeit für eine Erkrankung. Gene, die sich auf Endophänotypen und damit auf die Hirnfunktion auswirken, können auf diese Weise als Suszeptibilitätsgene für psychiatrische Erkrankungen aufgedeckt werden (Zobel & Maier, 2004).

Endophänotypen befinden sich auf der Ebene zwischen Suszeptibilitätsgenen und dem klinischen Phänotyp (Owen et al., 2005) (siehe Abbildung 2, Seite 24). Dadurch weisen sie einen direkteren Bezug zum zugrundeliegenden Genotyp auf und unterliegen dem Einfluss von weniger Genen als die übergeordneten Erkrankungen. Zudem werden sie von weniger nicht-genetischen Faktoren beeinflusst (Zobel & Maier, 2004). Auf diese Weise kann mithilfe der Endophänotypen die genetische Komplexität der Schizophrenie reduziert und die Effektstärke der beitragenden Gene erhöht werden (Chan & Gottesman, 2008; Meyer-Lindenberg & Weinberger, 2006).

Im Gegensatz zur Krankheitssymptomatik, die im Krankheitsverlauf unterschiedlich stark ausgeprägt ist, sind Dysfunktionen zeitlich stabiler und die ihnen zugrunde liegende Genetik ist damit besser zu untersuchen (Gur et al., 2007). Endophänotypen finden sich bereits vor Erkrankungsausbruch. Sogar unabhängig davon, ob eine Erkrankung ausbricht oder nicht, korrelieren Endophänotypen mit dem genetischen Erkrankungsrisiko. Aufgrund dieser Tatsache können auch klinisch unauffällige Verwandte betroffener Personen in genetische Untersuchungen eingeschlossen werden (Cannon & Keller, 2006).

2 Einleitung

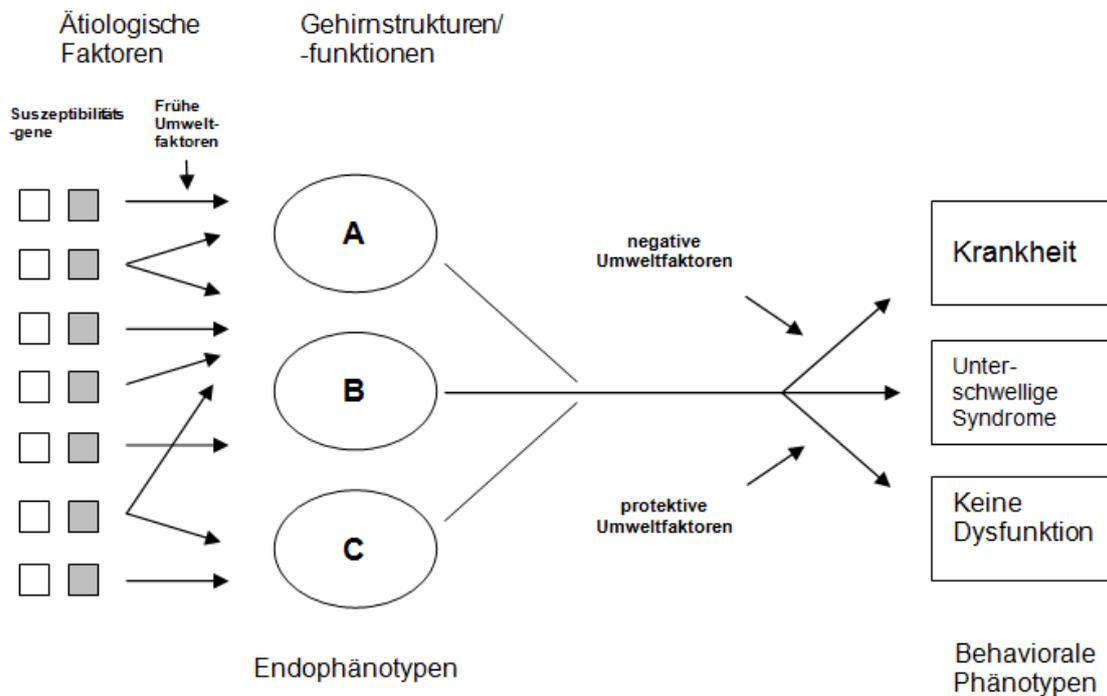


Abbildung 2: Darstellung des hypothetischen Zusammenhangs zwischen (Suszeptibilitäts-) Genen, Endophänotypen und behavioralen Phänotypen. Endophänotypen befinden sich auf einer Ebene zwischen Genen und behavioralen Phänotypen. Behaviorale Phänotypen bezeichnen das offen sichtbare Verhalten. Bei erkrankten Personen entsprechen behaviorale Phänotypen den über psychopathologische Symptome definierten Krankheitsdiagnosen. Die Pathophysiologie dieser liegt in gestörten Hirnstrukturen/funktionen begründet. Endophänotypen stellen Teile dieser zugrundeliegenden Pathophysiologie dar. Sie unterliegen weniger Umweltfaktoren und ihnen liegt eine weniger komplexe Genetik zugrunde als den übergeordneten behavioralen Phänotypen. Diesem Modell zufolge wird mithilfe von Endophänotypen eine stärkere genetische Homogenität erreicht. Dadurch fallen die einzelnen Gene stärker ins Gewicht und es werden Voraussetzungen für die erfolgreiche Anwendung genetischer Untersuchungen geschaffen. Es besteht die Hoffnung mithilfe von Endophänotypen die genetischen Grundlagen von Teilaspekten psychiatrischer Erkrankungen zu verstehen und auf diesem Weg auch die Genetik der übergeordneten Erkrankungen selbst (Abbildung modifiziert nach Zobel & Maier, 2004).

Jede neurobiologische Besonderheit kann als Endophänotyp fungieren, solange sie quantifizierbar ist und ein Zusammenhang mit der Genetik der übergeordneten Erkrankung besteht. Untersucht werden biochemische, endokrinologische, neurophysiologische, neuroanatomische oder neuropsychologische Parameter (Chan & Gottesman, 2008).

2 Einleitung

Um für die psychiatrische Genetik verwendbar zu sein, wurden von Gottesman und Gould (2003) Eigenschaften vorgeschlagen, die Endophänotypen besitzen sollen:

1. Der Endophänotyp ist mit der Erkrankung assoziiert.
2. Der Endophänotyp wird vererbt.
3. Der Endophänotyp ist überwiegend stabil, d.h. er manifestiert sich unabhängig von Krankheitsausbruch und/oder –aktivität.
4. Der Endophänotyp und die Erkrankung kosegregieren innerhalb von Familien.
5. Der bei betroffenen Familienmitgliedern vorzufindende Endophänotyp tritt bei nicht-betroffenen Familienmitgliedern häufiger auf als in der Allgemeinbevölkerung.

2.2.1 Kognitive Dysfunktion und neuropsychologische Endophänotypen

Kognitive Dysfunktion gilt als das größte Defizit der Schizophrenie (Goldman-Rakic et al., 2004). Sie betrifft in unterschiedlichem Ausmaß beinahe alle kognitiven Domänen (Heinrichs & Zakzanis, 1998). Die kognitiven Beeinträchtigungen lassen sich bei einem sehr hohen Anteil schizophrener Patienten nachweisen und sind weitgehend unabhängig von klinischen Symptomen (Keefe & Fenton, 2007). Sie können bereits vor Erkrankungsbeginn nachgewiesen werden (Johnstone et al., 2005), sind nicht auf antipsychotische Medikation zurückzuführen (Mohamed et al., 1999; Torrey, 2002) und gelten als im Zeitverlauf stabil (Caspi et al., 2003; Hoff et al., 2005). Gesunde Angehörige zeigen diese Defizite in schwächerer Ausprägung als ihre erkrankten Verwandten (Egan et al., 2001a). Als starker Hinweis auf Heritabilität der kognitiven Dysfunktion gilt die Beobachtung, dass unter gesunden Zwillingen schizophrener Patienten bei monozygoten Zwillingen eine stärkere Korrelation der kognitiven Defizite als bei dizygoten gefunden werden konnte (Cannon et al., 2000).

Da die kognitive Dysfunktion viele der von Gottesman und Gould (2003) geforderten Eigenschaften erfüllt, gilt sie als für die Schizophrenie besonders geeigneter Endophänotyp (Chan & Gottesman, 2008). Kognitive Defizite werden mittels neuropsychologischer Tests operationalisiert und deshalb als neuropsychologische Endophänotypen bezeichnet (Cannon & Keller, 2006).

2.2.2 Präfrontale Dysfunktion bei Schizophrenie

Die kognitiven Defizite schizophrener Patienten betreffen vor allem kognitive Prozesse, die durch den präfrontalen Kortex vermittelt werden (Arnsten, 2011; Owens et al., 2012). Der

2 Einleitung

PFC umfasst die neokortikalen Anteile des Frontallappens, die dessen rostral der prämotorischen Rinde gelegenes Ende bilden (Trepel, 2012).

Von besonderer Bedeutung ist der PFC insbesondere für das Arbeitsgedächtnis und Exekutivfunktionen (Arnsten & Li, 2005).

Das Arbeitsgedächtnis umfasst die Fähigkeit, Informationen, die aktuell nicht mehr in der Umgebung vorhanden sind, für eine kurze Zeit abzubilden, zu speichern und in Gedanken zu bearbeiten (Goldman-Rakic, 1995). Es gilt als Bindeglied zwischen Vergangenheit und Zukunft (Fuster, 2000) und bezeichnet aktives Wissen, das die Inhibition von unpassenden Denk- und Handlungsimpulsen sowie längerfristiges und zielorientiertes Handeln ermöglicht (Arnsten & Li, 2005). Diese Prozesse gelten auch als Grundlage der exekutiven Funktionen (Arnsten & Li, 2005).

Von exekutiven Funktionen wird angenommen, dass sie kognitive Funktionen sind, die bei schizophrenen Patienten besonders stark beeinträchtigt sind (Szöke et al., 2005). Exekutive Funktionen gelten als das Bindeglied zwischen Sensorik und Motorik (Ullsperger & von Cramon, 2006). Unter dem Begriff der exekutiven Funktionen oder Exekutivfunktionen werden kognitive Prozesse verstanden, die flexibles und zielorientiertes Handeln ermöglichen und mit denen das Verhalten von Menschen gemäß Situation, Emotion und Motivation angepasst wird (Ullsperger & von Cramon, 2006). Zu Exekutivfunktionen werden höhere kognitive Prozesse wie z.B. Problemlösen, Planen, Aufmerksamkeitsmodulation, die Integration von Rückmeldungen aus der Umgebung, die Beachtung aktueller sowie alternativer Umstände und Ziele, Handlungskontrolle, die Berücksichtigung möglicher Handlungsalternativen und die Anpassung von Verhalten anhand veränderter Anforderungen gezählt (Reichenberg, 2010; Ullsperger & von Cramon, 2006).

2.2.3 Der WCST als Maß exekutiver Dysfunktion bei Schizophrenie

Als einer der am häufigsten eingesetzten neuropsychologischen Tests zur Erfassung exekutiver Funktionen und damit der Funktion des PFC gilt der „Wisconsin Card Sorting Test“ (WCST) (Heaton et al., 1993; Kremen et al., 2007). Während des WCST bekommt die Versuchsperson die Aufgabe, Karten, die sich in mehreren Parametern unterscheiden, anderen, sogenannten Stimulus-Karten zuzuordnen. Nach jeder Zuordnung erhält die Versuchsperson unmittelbar eine Rückmeldung, sodass sie die gültige Zuordnungsregel anhand von Ausprobieren herausfinden und anwenden soll. Nach einer bestimmten Anzahl korrekter Zuordnungen wechselt die Zuordnungsregel ohne Ankündigung, sodass die Versuchsperson ihr Zu-

2 Einleitung

ordnungsverhalten anpassen muss (Monchi et al., 2001). Zur Leistungsbeurteilung können im Anschluss an die Testdurchführung verschiedene Testvariablen berechnet werden.

Der WCST erfordert Problemlösen, strategisches Vorgehen, die Fähigkeit, das Antwortverhalten aufgrund von Rückmeldungen anzupassen, sowie die Hemmung impulsiver Reaktionen (Demakis, 2003). Verminderte Testleistungen resultieren aus der Unfähigkeit, ein erfolgreiches Vorgehen abzuleiten und beizubehalten oder das Verhalten entsprechend anzupassen (Wolf et al., 2002).

In der Schizophrenieforschung gilt der WCST als einer der am häufigsten eingesetzten Tests (Kremen et al., 2007). Ein schlechteres Abschneiden von schizophrenen Patienten im Vergleich mit gesunden Kontrollprobanden konnte unter Berücksichtigung verschiedener WCST-Testvariablen nachgewiesen werden (Everett et al., 2001; Fey, 1951; Franke et al., 1992). Insbesondere ein perseveratives Antwortverhalten gilt als eines der robustesten Ergebnisse bei schizophrenen Patienten (Wolf et al., 2002). Perseveration beschreibt ein starres Antwortverhalten in Situationen, die flexible Reaktionen erfordern (Kolb & Whishaw, 1996). Im WCST tritt Perseveration bei den Zuordnungen auf, die gemäß einer Zuordnungsregel erfolgen, die vor Kurzem noch gültig war, dann aber wechselt (Kremen et al., 2007). Dies entspricht der Unfähigkeit, die Zuordnungsregel zu modifizieren oder impulsive Reaktionen zu unterdrücken (Wolf et al., 2002). Perseveratives Antwortverhalten wird im WCST in Form der Testvariablen ‚Perseverative Antworten‘ und ‚Perseverative Fehler‘ erfasst (Wolf et al., 2002). Bezogen auf diese Testvariablen konnte in mehreren Studien eine geringere Leistung von schizophrenen Patienten im Vergleich mit gesunden Kontrollprobanden nachgewiesen werden (Abbruzzese et al., 1996; Bornstein et al., 1990; Franke et al., 1992; McGrath et al., 1997).

Perseveration wird vor allem bei einer Beeinträchtigung des Frontalhirns beobachtet (Kolb & Whishaw, 1996). Für die Schizophrenie konnte während des WCST eine dorsolaterale-präfrontale Dysfunktion nachgewiesen werden (Weinberger et al., 1986). So konnten Weinberger und Kollegen (1986) bei schizophrenen Patienten während der Bearbeitung des WCST im Vergleich mit gesunden Kontrollprobanden mittels funktioneller Bildgebung eine verminderte Aktivierung des dorsolateralen präfrontalen Kortex (DLPFC) nachweisen. Die Leistungen schizophrener Patienten unterschieden sich in den Testvariablen ‚Prozent perseverativer Fehler‘ und dem ‚prozentualen Anteil an richtigen Zuordnungen, die in unmittelbarer Folge von mindestens 3 Stück erfolgt sind‘, signifikant von denen gesunder Probanden. Dass die Aktivität dieses Hirnareals bei schizophrenen Patienten außerdem mit der Leistung in diesen beiden Testvariablen korrelierte, werten Weinberger et al. (1986) als Hin-

2 Einleitung

weis darauf, dass die Funktion des DLPFC entscheidend für die Leistung im WCST ist.

2.2.4 Die Eignung des WCST als Endophänotyp der Schizophrenie

Der WCST wird als neuropsychologischer Endophänotyp der Schizophrenie eingesetzt, obwohl seine Eignung dazu kontrovers diskutiert wird. Um die Nützlichkeit von Endophänotypen zu beurteilen, sind Studien mit Angehörigen schizophrener Patienten ein wichtiger Ansatz. Auf diese Weise kann das von Gottesman und Gould (2003) formulierte Kriterium, nach dem ein Endophänotyp bei gesunden Angehörigen öfter gefunden werden sollte als in der Normalbevölkerung, überprüft werden. Im Einklang mit diesem Kriterium konnte für den WCST ein signifikant schlechteres Abschneiden von gesunden Erstgrad-Angehörigen verglichen mit Kontrollprobanden gefunden werden (Snitz et al., 2006; Szöke et al., 2005). In einer von Szöke et al. (2005) veröffentlichten Metaanalyse konnte dies für die Testvariablen ‚Anzahl vollständiger Kategorien‘ und ‚Perseverative Fehler‘ nachgewiesen werden. Eine Metaanalyse von Snitz et al. (2006) berichtet über signifikant schlechtere Leistungen in den Testvariablen ‚Anzahl vollständiger Kategorien‘, ‚Perseverative Fehler‘ und ‚Fehlertotalanzahl‘.

Um die Heritabilität als wichtiges Kriterium eines Endophänotypen abzuschätzen, können Zwillingsstudien herangezogen werden. Anokhin et al. (2003) fanden beim Vergleich monozygoter Zwillingspaare signifikante Korrelationen in mehreren Testvariablen, beim Vergleich dizygoter Zwillingspaare hingegen keine einzige. Auf Grundlage ihrer Studie schätzen Anokhin et al. (2003) die Heritabilität der Leistung im WCST in Abhängigkeit von der Testvariable auf 37-46%. Kremen et al. verglichen die Korrelationen der Leistungen mono- mit der dizygoter Zwillinge und fanden dabei keine signifikanten Unterschiede. Aufgrund mangelnder Heritabilität beurteilen sie den WCST als für einen Endophänotypen ungeeignet (Kremen et al., 2007).

Trotz seiner nicht zweifelsfrei geklärten Eignung wird der WCST in der Schizophrenieforschung als Endophänotyp eingesetzt (Kremen et al., 2007; Snitz et al., 2006).

2.3 Das dopaminerge System

2.3.1 Dopaminsynthese und -abbau

Dopaminsynthese

Dopamin gehört gemeinsam mit Noradrenalin und Adrenalin zur Gruppe der Katecholamine, einer Untergruppe der Monoamine. Monoamine sind niedermolekulare Neurotransmitter. Namensgebend bei Monoaminen ist die Tatsache, dass sie alle aus einer einzelnen Aminosäure entstehen (Pinel, 2003). Im Falle der Katecholamine handelt es sich um die Aminosäure Tyrosin. Tyrosin wird durch die Tyrosin-Hydroxylase in Dihydroxyphenylalanin (DOPA) und dieses durch die DOPA-Decarboxylase in Dopamin umgewandelt (Purves, 2001). Dopamin wird wie die anderen Katecholamine in den Nervenendigungen in speziellen elektronendichten Vesikeln gespeichert und nach Stimulation in den synaptischen Spalt freigesetzt (Scheschonka et al., 2007).

Dopaminabbau

Nach ihrer Ausschüttung erfolgt die Inaktivierung der Katecholamine primär durch Transporter-vermittelte Wiederaufnahme in die Axone. Ein Teil der Katecholamine wird dort in den Mitochondrien durch Monoaminoxidasen (MAO A und B) und Catechol-O-Methyltransferase (COMT) abgebaut (Scheschonka et al., 2007).

2.3.2 Vorkommen von Dopamin

Dopamin wirkt als Neurohormon im Hypothalamus und ist ein wichtiger Neurotransmitter im zentralen Nervensystems (ZNS) und in Teilen des vegetativen Nervensystems (Kirschbaum, 2008).

Im ZNS lassen sich im Wesentlichen vier dopaminerge Bahnsysteme abgrenzen. Als dopaminerg werden solche Bahnsysteme bezeichnet, in denen Dopamin der Neurotransmission dient. Diese dopaminergen Bahnsysteme des ZNS sind in Tabelle 3 (Seite 30) genauer dargestellt.

2 Einleitung

Tabelle 3: Die 4 wichtigsten dopaminergen Bahnsysteme (Genetic Science Learning Center; Wissenschaft Online)

Name	Beschreibung: Dopaminerge Projektionen von	Bedeutung
nigrostriatales System	Substantia nigra zum Striatum (Nucleus caudatus und Putamen)	Motorik (Bewegungsinitialisierung und –koordinierung)
mesolimbisches System*	Area tegmentalis ventralis zu <ul style="list-style-type: none">• Nucleus accumbens• Amygdala• Hippocampus	Lernen, Gedächtnis, Vermittlung motivationell-emotionaler Einflüsse, Belohnung, Sucht
mesokortikales System*	<ul style="list-style-type: none">• präfrontaler Kortex	
tuberoinfundibuläres System	Hypothalamus zur Hypophyse	Hormonregulation

* Eine Störung dieser Bahnsysteme wird bei der Schizophrenie angenommen.

Außerhalb des ZNS ist Dopamin unter anderem bedeutsam für den Geruch, das Sehen, das kardiovaskuläre System, die Nierenfunktion, den Gefäßtonus, die Mesenterialdurchblutung und die gastrointestinale Motilität (Beaulieu & Gainetdinov, 2011; Missale et al., 1998).

Neben der Schizophrenie wird eine Störung der dopaminergen Transmission u.a. bei Morbus Parkinson, Aufmerksamkeitsdefizit-/Hyperaktivitätsstörung (ADHS), Gilles-de-la-Tourette-Syndrom, Chorea Huntington, Hyperprolaktinämie sowie Suchterkrankungen angenommen (Beaulieu & Gainetdinov, 2011; Missale et al., 1998).

2.3.3 Die Bedeutung von Dopamin für die Funktion des PFC

Das dopaminerge System ist insbesondere für die Funktion des PFC von großer Bedeutung (Seamans & Yang, 2004). Brozoski et al. (1979) konnten nachweisen, dass der pharmakologische Entzug von Dopamin aus dem PFC bei Affen die Leistung in einer PFC-abhängigen Aufgabe genauso einschränkt, als hätte man die Frontallappen entfernt.

Beim Menschen wurden vielfach Assoziationen zwischen der Funktion des PFC und Genen, die das dopaminerge System beeinflussen, untersucht. Ein solches Gen ist das der COMT. Aufgrund des relativen Mangels an Dopamin-Transportern im PFC wird der Dopaminstoffwechsel des PFC maßgeblich von dem Enzym COMT beeinflusst (Meyer-Lindenberg et al., 2006). Egan et al. (2001b) konnten eine Assoziation zwischen der Leistung

2 Einleitung

im WCST und dem Val158Met-Polymorphismus des COMT-Gens finden. Das Met-Allel des Val158Met-Polymorphismus des COMT-Gens kodiert ein weniger aktives Enzym und führt zu einer stärkeren dopaminergen Konzentration im präfrontalen Kortex als das Val-Allel (Chen et al., 2004). Da sich die Allele kodominant verhalten, liegt die Aktivität der COMT von heterozygoten zwischen denen homozygoter Allel-Träger (Tunbridge et al., 2006). In der Studie von Egan et al. (2001b) machten Val158-Homozygote mehr perseverative Fehler im WCST als Met158-Homozygote. Die Fehleranzahl Heterozygoter lag zwischen diesen beiden Gruppen. Außerdem wurde in derselben Studie das Val158-Allel signifikant häufiger von Eltern an schizophrene Kinder vererbt als das Met158-Allel.

2.3.4 Einteilung, Struktur und Vorkommen der Dopamin-Rezeptoren

Das Katecholamin Dopamin entfaltet seine Wirkung überwiegend an Dopamin-Rezeptoren. Das sind metabotrope G-Protein-gekoppelte Rezeptoren, von denen mindestens 5 verschiedene (D1 bis D5) bekannt sind (Scheschonka et al., 2007). Sie unterscheiden sich in ihrer Affinität für Dopamin, in ihrer Wirkung und in ihrer Sensitivität für Dopamin-Agonisten und Antagonisten (Missale et al., 1998).

Die Dopamin-Rezeptoren werden in zwei Gruppen eingeteilt, die D₁-artige und die D₂-artige Gruppe. Die D₁-artige Gruppe wird von D1- und D5-Rezeptoren gebildet, die D₂-artige umfasst D2-, D3- und D4-Rezeptoren. Diese Einteilung beruht auf der unterschiedlichen Wirkung auf die Adenylatcyclase (Beaulieu & Gainetdinov, 2011). Während die D₁-artige Gruppe über erregende G-Proteine primär zu einer Stimulierung der Adenylatcyclase führt, bewirkt die D₂-artige Gruppe über hemmende G-Proteine vor allem eine Inhibition der Adenylatcyclase (Missale et al., 1998).

Dopamin-Rezeptoren sind Membranproteine mit sieben membrandurchspannenden Segmenten und spezifischen Dopamin-Bindungsstellen (Missale et al., 1998). Die Primärstruktur der Dopamin-Rezeptoren ist in hohem Maße ähnlich (Beaulieu & Gainetdinov, 2011). Während das extrazelluläre NH₂-Ende bei allen Dopamin-Rezeptoren aus einer vergleichbaren Zahl von Aminosäuren besteht, ist das intrazelluläre COOH-Ende der D₁-artigen Gruppe ungefähr 7-mal länger als das der D₂-artigen (Missale et al., 1998). Im Gegensatz zu den Rezeptoren der D₂-artigen Gruppe, die eine lange dritte intrazelluläre Schleife besitzen, weist die D₁-artige Gruppe eine kurze dritte intrazelluläre Schleife auf (Missale et al., 1998). Abbil-

2 Einleitung

Tabelle 4: Vorkommen der Dopamin-Rezeptoren (Beaulieu & Gainetdinov, 2011)

Dopamin-Rezeptor	Vorkommen	Funktion
D1	Striatum, Nucleus accumbens, Substantia nigra, Bulbus olfactorius, Amygdala, Frontalkortex, Hippocampus, Cerebellum, Thalamus, Hypothalamus Niere	Fortbewegung (aktivierend), Verstärkung/Belohnung, Lernen/Gedächtnis Renin-Sekretion
D5	präfrontaler Kortex, prämotorischer Kortex, Cingulum, entorhinaler Kortex, Substantia nigra, Hypothalamus, Hippocampus, Gyrus dentatus	größtenteils unbekannte Funktion
D2	Striatum, Nucleus accumbens, Tuberculum olfactorium, Substantia nigra, ventrales Tegmentum, Hypothalamus, Amygdala, Hippocampus, kortikale Areale Area postrema Hypophyse Nebenniere	Fortbewegung (aktivierend/inhibierend), Verstärkung/Belohnung, Lernen/Gedächtnis Wahn Übelkeit Prolaktin-Sekretion Aldosteron-Sekretion
D3	Nucleus accumbens, Tuberculum olfactorium, Calleja-Inseln, Striatum, Substantia nigra pars compacta, ventrales Tegmentum, Hippocampus, kortikale Areale	Fortbewegung (inhibierend) Verstärkung/Belohnung
D4	Frontalkortex, Amygdala, Hippocampus, Hypothalamus, Globus pallidus, Substantia nigra pars reticulata, Thalamus	größtenteils unbekannte Funktion

2.3.5 Der Dopamin-1-Rezeptor (DRD1)

Der Dopamin-1-Rezeptor (D1-Rezeptor, DRD1) besteht aus 446 Aminosäuren (Beaulieu & Gainetdinov, 2011). Die Transmembran-Domänen des D1- und D5-Rezeptors sind zu 80% identisch (Missale et al., 1998). Der D1-Rezeptor ist wie alle Rezeptoren der D₁-artigen Gruppe ausschließlich auf der Postsynapse dopaminrezeptiver Zellen zu finden (Beaulieu & Gainetdinov, 2011).

2 Einleitung

2.3.5.1 Signalübertragung des Dopamin-1-Rezeptors

Es sind inzwischen mehrere Mechanismen der Signaltransduktion durch D1-Rezeptoren bekannt. So bewirkt die Aktivierung des D1-Rezeptors über G-Proteine der Familie $G_{\alpha_{s/olf}}$ die Stimulation der Adenylatcyclase. Diese führt über die Produktion des sekundären Botenstoffs cyclisches Adenosinmonophosphat (cAMP) zur Aktivierung der Proteinkinase A, die in der Folge Substrate wie z.B. DARPP-32 (32-kDa Dopamin- und cAMP-reguliertes Phosphoprotein) phosphoryliert (Beaulieu & Gainetdinov, 2011).

Über G-Proteine der Familie G_{α_q} können D1-Rezeptoren zudem die Phospholipase C stimulieren, die zur Produktion von Inositoltrisphosphat (IP3) und Diacylglycerol (DAG) führt. DAG aktiviert in der Folge die Proteinkinase C, IP3 mobilisiert intrazelluläres Calcium (Beaulieu & Gainetdinov, 2011).

Daneben sind auch direkte Interaktionen des D1-Rezeptors mit Calcium-Kanälen und glutamatergen NMDA-Rezeptoren beschrieben (Beaulieu & Gainetdinov, 2011).

Über Vorkommen und Bedeutung des D1-Rezeptors gibt Tabelle 4 (Seite 33) einen Überblick.

2.3.5.2 Die Bedeutung von DRD1 für die Funktion des PFC

Im ZNS ist der D1-Rezeptor der am häufigsten vorkommende Dopaminrezeptor (Missale et al., 1998). Dort ist er im PFC in besonderer Dichte vorzufinden (Hall et al., 1994). Es wird angenommen, dass die Wirkung von Dopamin am D1-Rezeptor entscheidend für die Funktion des PFC ist (Goldman-Rakic et al., 2000; Williams & Goldman-Rakic, 1995) und dass eine insuffiziente Signalübertragung an D1-Rezeptoren im PFC zu kognitiven Defiziten führt (Goldman-Rakic et al., 2004). Dabei scheint insbesondere das richtige Maß an dopaminergem Stimulation entscheidend für die Funktion des PFC zu sein (Floresco, 2013). So konnte zum Beispiel nachgewiesen werden, dass bei Ratten zu wenig (Sawaguchi & Goldman-Rakic, 1994) und zu viel (Zahrt et al., 1997) D1-Rezeptor-Stimulation die Funktion des PFC beeinträchtigt. Derselbe Sachverhalt wird auch für den Menschen angenommen (Arnsten & Li, 2005). Dieser Zusammenhang, nach dem sowohl zu wenig als auch zu viel D1-Stimulation eine nachteilige Wirkung auf die kognitive Leistung hat, wird als „umgedrehtes U“ (*inverted U*) bezeichnet (Arnsten & Li, 2005).

2 Einleitung

2.3.5.3 Die Bedeutung von DRD1 für Schizophrenie

Für die kognitiven Defizite und die Negativsymptomatik schizophrener Patienten wird eine Dysfunktion des PFC verantwortlich gemacht, als deren Ursache eine gestörte dopaminerge Transmission an D1-Rezeptoren im PFC angenommen wird (Abi-Dargham & Moore, 2003; Goldman-Rakic et al., 2004).

Okubo et al. (1997) konnten bei Medikations-freien und -naiven schizophrenen Patienten verglichen mit gesunden Kontrollprobanden eine verminderte Bindung eines D1-Rezeptor-sensitiven Radioliganden im PFC nachweisen. Die Radioliganden-Bindung war außerdem negativ mit der klinischen Einschätzung der Negativsymptomatik korreliert. Zudem fand sich unter den Patienten ein Zusammenhang zwischen der verminderten D1-Bindung und schlechter Leistung im WCST (Okubo et al., 1997).

Auch mithilfe von post-mortem-Untersuchungen von Hirngewebe konnten bei schizophrenen Patienten Veränderungen aufgedeckt werden, die den Dopamin-1-Rezeptor betreffen. So konnten Hess et al. (1987) bei diesen eine verringerte Dichte des D1-Rezeptors in Gewebeproben aus dem Striatum nachweisen. Kaalund et al. (2013) fanden eine verminderte Expression des DRD1-Transkripts im DLPFC von Schizophreniepatienten. Es existieren aber auch Untersuchungen, in denen bezüglich des Dopamin-1-Rezeptors keine Unterschiede zwischen Hirngewebe schizophrener und gesunder Probanden gefunden werden konnten (Joyce et al., 1988; Pearce et al., 1990; Reynolds & Czudek, 1988).

2.4 Das DRD1-Gen

Das Gen des Dopamin-1-Rezeptors befindet sich auf dem langen Arm von Chromosom 5 an Position 5q35.1 (Grandy et al., 1990) (Abbildung 4, Seite 36).

2 Einleitung

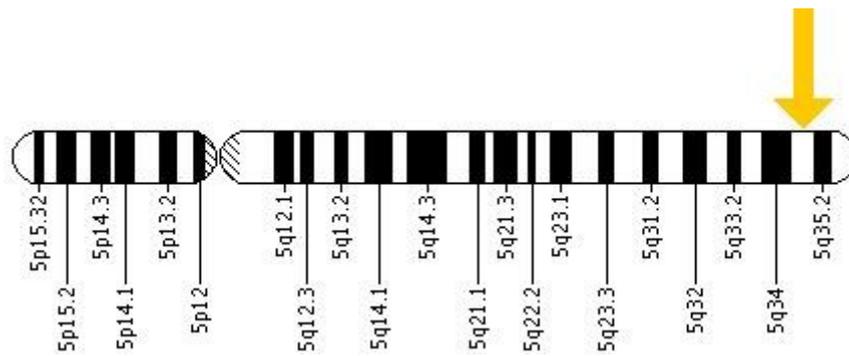


Abbildung 4: Der Pfeil markiert die chromosomale Lage des Dopamin-1-Rezeptor-Gens auf Chromosom 5 (Genetics Home Reference).

In der kodierenden Region des DRD1-Gens gibt es keine Introns (Sunahara et al., 1990). Die 5'UTR des DRD1-Gens umfasst einen 2.3 kb-langen Bereich, der sich von -2,571 bis -236 bp (bezogen auf das Adenosin des ersten Methionin-Codons) erstreckt (Minowa et al., 1992). In der 5'UTR befindet sich ein nicht-kodierendes Exon, das etwa 440 bp lang ist und das durch ein Intron von 116 bp vom kodierenden Exon getrennt ist. In dem Bereich von -1061 und -1040 liegen viele Transkriptionsinitiations-Stellen. In der Promotor-Region, in der keine TATA-Box und keine CCAAT-Box vorkommt, sind Guanin und Cytosin häufig vertreten und dort finden sich viele vermeintliche Bindungsstellen für den Transkriptions-Faktor Sp1s (Minowa et al., 1992).

Abbildung 5 (Seite 37) zeigt die Genstruktur des menschlichen DRD1-Gens, Abbildung 6 (Seite 37) veranschaulicht die Position der beiden in der vorliegenden Arbeit untersuchten SNPs im Bezug zum DRD1-Gen.

2 Einleitung

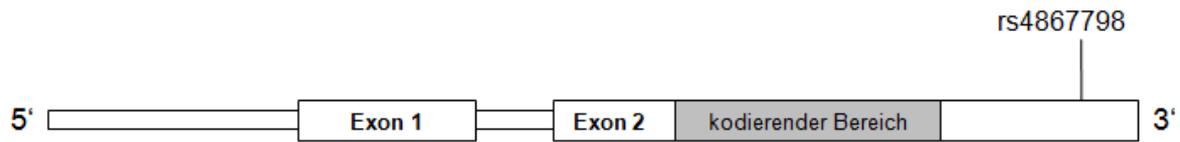


Abbildung 5: Genstruktur des menschlichen Dopamin-1-Rezeptors inklusive Position des in dieser Arbeit behandelten SNPs rs4867798 (Abbildung modifiziert nach Zhu et al., 2011).



Abbildung 6: Position der in der vorliegenden Arbeit untersuchten SNPs. rs1508765 liegt in der 5'-Intergenregion von DRD1 (Abbildung modifiziert nach National Center for Biotechnology Information).

2.4.1 Das DRD1-Gen und Schizophrenie

Aufgrund seiner chromosomalen Lage wird das DRD1-Gen als Suszeptibilitätsgen der Schizophrenie diskutiert.

Das DRD1-Gen liegt in einer chromosomalen Region, von der wiederholt Kopplungen mit Schizophrenie berichtet wurden. In einer Studie von Sklar et al. (2004) war die Region 5q31-5q35 mit Schizophrenie gekoppelt. Untersucht wurden betroffene Familien, die auf portugiesischen Inseln leben. Zheng et al. (2006) berichten über einen Kopplungsbefund in der Region 5q35 in einer Stichprobe betroffener chinesischer Familien. 5q35 war auch bei betroffenen Familien mexikanischen oder zentral-amerikanischen Ursprungs mit Schizophrenie gekoppelt (Escamilla et al., 2007).

Insbesondere aufgrund des großen Stellenwerts, der in der Pathophysiologie der Schizophrenie für den Dopamin-1-Rezeptor angenommen wird, kommt das DRD1-Gen als Suszeptibilitätsgen der Schizophrenie in Frage.

2 Einleitung

In mehreren Studien wurden Assoziationen von Polymorphismen des DRD1-Gens und der Schizophrenie untersucht (Tabellen 5 (Seite 41) und 6 (Seite 42)).

Lee et al. (2011) analysierten gepoolte DNA von 150 Patienten und 150 Kontrollen und identifizierten unter anderem den DRD1-Polymorphismus rs1799914 als interessant für eine Assoziationsuntersuchung. Anhand einer koreanischen Stichprobe von 270 schizophrenen Patienten und 350 Kontrollen konnten Lee et al. (2011) dann eine signifikante Assoziation von rs1799914 mit Schizophrenie nachweisen ($\chi^2=5,695$, $P=0,017$, $OR= 1,540$, 95%-KI: 1,078-2,199).

Zhu et al. (2011) untersuchten 9 DRD1-Polymorphismen (rs4867798, rs686, rs1799914, rs4532 rs5326, rs265981, rs10078714, rs10063995, rs10078866) sowie durch sie gebildete Haplotypen auf eine Assoziation mit Schizophrenie. Die Untersuchungsstichprobe bestand aus 285 schizophrenen Patienten und 350 Kontrollprobanden, die alle Han-chinesischen Ursprungs waren.

Signifikante Assoziationen konnten für rs686 und rs10063995 aufgedeckt werden. So war ein signifikant niedrigeres Risiko für Schizophrenie assoziiert mit dem G-Allel und dem A/G+G/G-Genotyp von rs686 ($OR_{G-Allel}=0,632$, 95%-KI $_{G-Allel}$: 0,470-0,849, $P=0,002$; $OR_{A/G+G/G-Genotyp}=0,578$, 95%-KI $_{A/G+G/G-Genotyp}$: 0,416-0,803, $P=0,001$) verglichen mit dem A-Allel und dem A/A-Genotyp. Ein signifikant erhöhtes Risiko für Schizophrenie war assoziiert mit dem T-Allel von rs10063995 ($OR=1,446$, 95%-KI: 1,125-1,859, $P=0,004$) verglichen mit dem G-Allel. Die Haplotypenanalyse erbrachte, dass der durch rs10078714 und rs10063995 gebildete Haplotyp G-T, der das T-Allel von rs10063995 enthielt, einen Risikofaktor für Schizophrenie darstellte ($OR=1,467$, 95%-KI: 1,123-1,917, $P=0,005$) (Zhu et al., 2011).

Hoenicka et al. (2010) analysierten in einer nach Geschlecht getrennten, spanisch-kaukasischen Stichprobe von 701 Personen, die aus 337 schizophrenen Patienten und 364 Kontrollen bestand, 5 DRD1-Polymorphismen (rs11746641, rs11749676, rs251937, rs12518222, rs4867798). Gegenstand der Untersuchungen waren Assoziationen zwischen diesen SNPs und Schizophrenie, Assoziationen zwischen den durch sie gebildeten Haplotypen und Schizophrenie und Interaktionen der SNPs und Haplotypen mit dem Val148Met-Polymorphismus der COMT.

Dabei stellte sich heraus, dass unter den Männern der Stichprobe die DRD1-Polymorphismen rs11746641 und rs11749676 mit Schizophrenie assoziiert waren. Bei der Haplotypenanalyse kamen Hoenicka et al. (2010) zu dem Ergebnis, dass der Haplotyp T-A-

2 Einleitung

T-C-T im Sinne eines protektiven Effekts unter den Kontrollprobanden überrepräsentiert war (40% vs. 30% bei Patienten; $\chi^2=7,03$; Haplotyp-spezifisches $P=0,008$). Der Haplotyp G-G-T-C-C hingegen war im Sinne eines Risikofaktors unter den Patienten tendenziell überrepräsentiert (25% vs. 17% bei Kontrollen; $\chi^2=6,31$; $P=0,012$). Signifikante Interaktionen zwischen DRD1-SNPs und COMT fanden Hoenicka et al. (2010) nur für rs11746641 und rs11749676. Untersucht auf Interaktionen zwischen den DRD1-assoziierten Haplotypen und COMT erwiesen sich nur für Val-Homozygote der Haplotyp G-G-T-C-C als Risiko-steigernd (11% vs. 27% bei Patienten; $\chi^2=7,39$; $df=1$; $P=0,006$) und T-A-T-C-T als protektiv (52% vs. 32% bei Patienten; $\chi^2=8,93$; $df=1$; $P=0,003$). Sämtliche Ergebnisse der Studie von Hoenicka et al. (2010) bezogen sich ausschließlich auf die Männer ihrer Stichprobe und konnten für die untersuchten Frauen nicht bestätigt werden.

Allen et al. (2008) untersuchten in einer Metaanalyse neben anderen Polymorphismen auch den DRD1-Polymorphismus rs4532. Bezogen auf diesen SNP konnten Daten mehrerer Studien (Cichon et al., 1994; Dmitrzak-Weglarz et al., 2006; Iwata et al., 2003; Kojima et al., 1999; Liu et al., 1995) zusammengefasst und auf diese Weise 725 schizophrene Patienten und 1075 Kontrollprobanden verschiedener Abstammung in die Analyse eingeschlossen werden. So ermittelten Allen et al. (2008) eine OR des SNP rs4532 von 1,18 (95%-KI: 1,01-1,38, $P=0,037$).

Bezogen auf den SNP rs4532 fällt auf, dass mehrere Studien mit Teilnehmern von zum Teil unterschiedlicher ethnischer Abstammung für sich alleine betrachtet keine signifikanten Ergebnisse erbrachten (Cichon et al., 1994; Dmitrzak-Weglarz et al., 2006; Iwata et al., 2003; Kojima et al., 1999; Liu et al., 1995). Eine Metaanalyse derselben Studien jedoch fand eine signifikante Assoziation von rs4532 mit Schizophrenie (Allen et al., 2008). Dies kann zum einen als Beleg dafür gewertet werden, dass größere Stichproben nötig sind um Assoziationen von Polymorphismen mit geringem Geneffekt aufzudecken. Zum anderen könnte dies ein Hinweis dafür sein, dass rs4532 in verschiedenen Populationen mit Schizophrenie assoziiert ist.

Trotzdem einige DRD1-Polymorphismen auf eine Assoziation mit Schizophrenie hin untersucht wurden und für mehrere eine solche nachgewiesen werden konnte, ist von den meisten DRD1-Polymorphismen nicht bekannt, ob und auf welche Weise sie pathogenetisch wirken. Diesbezüglich gibt es lediglich für die Polymorphismen rs4532 und rs686 hypothetische Überlegungen.

2 Einleitung

Von rs4532 wird vermutet, dass es die Gen- oder Proteinexpression beeinflussen könnte, da es in der 5'UTR von Exon 2 48 bp vor der Stelle lokalisiert ist, an der die Transkription beginnt (Allen et al., 2008).

Von dem Polymorphismus rs686 wird angenommen, dass er die Expression von DRD1 beeinflusst (Huang et al., 2008). Das G-Allel von rs686 behindert die Bindung von microRNA miR-504 an die 3'UTR von DRD1 und vermindert so die Rate der DRD1-Expression (Huang & Li, 2009).

2 Einleitung

Tabelle 5: Eigenschaften von Studien zu Assoziationen zwischen DRD1-Polymorphismen und Schizophrenie, die positive Befunde erbrachten.

Referenz	Ethnizität	untersuchte DRD1-Polymorphismen	Patienten	Kontrollen	Schizophrenie-Diagnose nach:
Lee et al. (2011)	koreanisch	rs1799914	270	350	DSM-IV
Zhu et al. (2011)	Han-chinesisch	rs4867798, rs686, rs1799914, rs4532 rs5326, rs265981, rs10078714, rs10063995, rs10078866	285	350	DSM-IV
Hoenicka et al. (2010)	kaukasisch	rs11746641, rs11749676,rs251937, rs12518222 und rs4867798	337	364	DSM-IV
Allen et al. (2008)*	gemischt	rs4532 (48A/G)	725	1075	DSM-IV, DSM-III-R
vorliegende Studie	kaukasisch	rs4867798	123	382	DSM-IV
		rs1508765	126	298	

*Metaanalyse

2 Einleitung

Tabelle 6: Zusammenfassung von Studien zu Assoziationen zwischen DRD1-Polymorphismen und Schizophrenie, in denen keine Assoziationen gefunden werden konnten.

Fall-Kontroll-Studien					
Referenz	Ethnizität	untersuchte DRD1-Polymorphismen	Patienten	Kontrollen	Schizophrenie-Diagnose nach:
Campion et al. (1994)	kaukasisch	DRD1/EcoR1	80	80	DSM-III
Cichon et al. (1994)	kaukasisch	rs5326 (-94G/A), rs4532 (48A/G), rs155417 (1263G/A), rs686 (1403T/C)	36	45	DSM-IIIR
Cichon et al. (1996)	kaukasisch	-2218T/C, rs10063995 (-2102C/A), -2030T/C, -1992G/A, rs35916350 (-1251G/C), rs265981 (-800T/C)	36	45	DSM-IIIR
Dmitrzak-Weglarz et al. (2006)	kaukasisch	rs4532 (48A/G)	407	399	DSM-IV
Dollfus et al. (1996)	kaukasisch	D1/EcoR1	49	161	DSM-IIIR
Hoogendoorn et al. (2005)	kaukasisch	DRD1_2bpSTR (Dwn55kb), DRD1_4bpSTR (Dwn57kb)	208	288	DSM-IV
Iwata et al. (2003)	japanisch	rs4532 (48A/G)	51 ¹	148	DSM-IV
Kojima et al. (1999)	japanisch	rs4532 (48A/G)	148	148	DSM-IV
Liu et al. (1995)	kaukasisch	rs4532 (48A/G), G198A (L66L), G1263A (S421S)	86	338	DSM-IIIR
Srivastava et al. (2010)	indisch	rs686, rs13306309, rs5331, rs5330	215	215	DSM-IV
Zhang et al. (2010)	Han-chinesisch	rs4532, rs5326, rs2168631, rs6882300, rs267418	373 ²	379	DSM-IV
Talkowski et al. (2008)	kaukasisch	rs265967, rs267416, rs267418	328	501	DSM-IV
Familien-basierte Studien					
Talkowski et al. (2008)	kaukasisch	rs265967, rs267416, rs267418	150 (150 Trios)	300	DSM-IV
Fallin et al. (2005)	aschkenasische-Juden	rs686 (1403T/C), rs4532 (48A/G)	274 (263 Trios)	548	DSM-IV

¹ Ersterkrankung vor dem 16. Lebensjahr; ² Ersterkrankung vor dem 18. Lebensjahr

2 Einleitung

Die Veränderungen im Dopamin-1-Rezeptor-System, die bei schizophrenen Patienten angenommen werden, werden vor allem für deren kognitive Defizite verantwortlich gemacht. Davon betroffen ist insbesondere eine gestörte präfrontale Funktion. Der WCST bietet die Möglichkeit, die präfrontale Funktion- genauer gesagt die präfrontale exekutive Funktion- zu operationalisieren.

2.4.2 Das DRD1-Gen und der WCST

Eine zumindest teilweise genetische Determination der Leistung im WCST konnte nachgewiesen werden. Diese Befunde sowie der angenommene hohe Stellenwert des D1-Rezeptors für die Funktion des präfrontalen Kortex legt die Untersuchung einer Assoziation zwischen dem DRD1-Gen und der Leistung im WCST nahe. Es besteht die Hoffnung, mit Hilfe des WCST als Endophänotyp die genetische Grundlage eines Teilaspekts der Schizophrenie, nämlich der Dysfunktion des PFC, aufzuklären.

In der Literatur finden sich mehrere Studien, die Assoziationen zwischen dem DRD1-Gen und der Leistung im WCST untersuchten. Alle bislang veröffentlichten Untersuchungen beschränkten sich auf den Polymorphismus 48A/G (rs4532).

Wilkosc et al. (2010) testeten 200 gesunde kaukasische Probanden mit der Computer-Version des WCST und berechneten die Testvariablen ‚Prozent perseverativer Fehler‘, ‚Prozent nicht-perseverativer Fehler‘, ‚prozentualer Anteil an richtigen Zuordnungen, die in unmittelbarer Folge von mindestens 3 Stück erfolgt sind‘, ‚Anzahl vollständiger Kategorien‘ und ‚Summe der Zuordnungen bis zum erfolgreichen Abschluss der ersten Kategorie‘. Die Versuchsteilnehmer waren zu je 50% Männer und Frauen.

Die Analyse des DRD1-Polymorphismus 48A/G zeigte, dass Frauen mit dem Genotyp A/A in der Testvariable ‚Summe der Zuordnungen bis zum erfolgreichen Abschluss der ersten Kategorie‘ eine signifikant schlechtere Leistung erzielten als Trägerinnen des Genotyps G/G, während Männer mit den Genotypen A/A und A/G in dieser Testvariable besser abschnitten als Träger des Genotyps G/G. Darüber hinaus zeigten Männer mit dem Genotyp A/A in den Testvariablen ‚Prozent nicht-perseverativer Fehler‘ und ‚prozentualer Anteil an richtigen Zuordnungen, die in unmittelbarer Folge von mindestens 3 Stück erfolgt sind‘, eine bessere Leistung als die Träger des Genotyps G/G.

Lane et al. (2008) untersuchten Assoziationen zwischen dem DRD1-SNP 48A/G und der Leistung im WCST an 216 gesunden Han-Chinesen. Dazu testeten sie diese mit der klassi-

2 Einleitung

schen Version des WCST und bestimmten die Testvariablen ‚Prozent perseverativer Fehler‘ und ‚Anzahl vollständiger Kategorien‘. Nachdem Lane et al. (2008) die Einflüsse des Geschlechts, des Alters, von Geschlechts-Alters-Interaktionen und dem Bildungsniveau auf die Testvariable ‚Prozent perseverativer Fehler‘ mit Hilfe einer multiplen Regressionsanalyse kontrollierten, konnten sie eine Assoziation zwischen 48A/G und dieser Testvariable feststellen. Im Vergleich mit den Trägern des Genotyps A/A machten Träger des Genotyps A/G 74% mehr perseverative Fehler ($p=0,042$, 95%-KI: 0,0214-1,0908) und Träger des Genotyps G/G 101% mehr perseverative Fehler ($p=0,008$, 95%-KI: 0,1865-1,2071).

Rybakowski et al. (2005) untersuchten einen Zusammenhang zwischen Polymorphismen von Genen mehrerer Dopamin-Rezeptoren und der Leistung im WCST bei schizophrenen Patienten. Sie führten die Computer-Version des WCST mit 138 schizophrenen Patienten durch, die zum Testzeitpunkt eine geringe oder mittlere Dosis antipsychotischer Medikamente erhielten ($\leq 200\text{mg}$ Chlorpromazin-Äquivalent). Als Testvariablen bestimmten sie ‚Prozent perseverativer Fehler‘, ‚Prozent nicht-perseverativer Fehler‘, ‚Anzahl vollständiger Kategorien‘, den ‚prozentualen Anteil an richtigen Zuordnungen, die in unmittelbarer Folge von mindestens 3 Stück erfolgt sind‘ und ‚Summe der Zuordnungen bis zum erfolgreichen Abschluss der ersten Kategorie‘. Bezüglich des DRD1-SNPs 48A/G schnitten Patienten mit dem Genotyp G/G in allen Testvariablen schlechter ab als Patienten mit den Genotypen A/A und A/G. Statistische Signifikanz erreichten diese Unterschiede in den Variablen ‚Anzahl vollständiger Kategorien‘ und ‚Summe der Zuordnungen bis zum erfolgreichen Abschluss der ersten Kategorie‘ ($P<0,02$).

2.5 Fragestellung

Obwohl bekannt ist, dass eine genetische Grundlage wesentlich für die Ätiopathogenese der Schizophrenie ist, konnte die genetische Komponente der Schizophrenie nicht ausreichend aufgeklärt werden. Verantwortlich gemacht für diesen Umstand wird die genetische Komplexität der Erkrankung. Als eine molekulargenetische Methode bieten Fall-Kontroll-Assoziationsstudien den Vorteil, dass mit ihrer Hilfe auch Suszeptibilitätsloci mit geringen Geneffekten gefunden werden können.

Dem Dopamin-1-Rezeptor-System wird eine große Bedeutung für die Pathophysiologie der Schizophrenie beigemessen. Zahlreiche Studienergebnisse bekräftigen die Annahme, dass das DRD1-Gen ein Suszeptibilitätsgen der Schizophrenie ist. Zum einen sind das Kopp-

2 Einleitung

lungsergebnisse in verschiedenen Populationen. Zum anderen konnten Assoziationen mehrerer DRD1-Polymorphismen mit Schizophrenie nachgewiesen werden. Die Ergebnislage ist jedoch insgesamt inkonsistent bezogen auf risikosteigernde Genvarianten.

Eine potenzielle Ursache dafür ist die ätiologische Heterogenität der Erkrankung, die durch die klinische Diagnose nicht genügend abgebildet wird. Für die erfolgreiche Anwendung molekulargenetischer Verfahren werden homogenere Gruppen mit direkterem Bezug zum Genotyp benötigt. Diese Bedingungen hofft man mit dem Konzept der Endophänotypen zu schaffen.

Der WCST ist ein neuropsychologischer Test, der die präfrontale exekutive Funktion erfassen soll, von der man annimmt, dass sie maßgeblich durch den Dopamin-1-Rezeptor beeinflusst wird. Der WCST wird als Endophänotyp der Schizophrenie verwendet, da eine Störung der präfrontalen exekutiven Funktion sowie eine dem zugrunde liegende Störung des Dopamin-1-Rezeptor-Systems bei schizophrenen Patienten vermutet wird und man davon ausgeht, dass diese Störung genetisch bedingt ist.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, entsprechend einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie Assoziationen zwischen zwei Polymorphismen des DRD1-Gens und der Schizophrenie zu untersuchen. Dazu wurden Allel- und Genotyp-Frequenzen von schizophrenen Patienten und Kontrollprobanden verglichen. Zudem absolvierten alle Studienteilnehmer den WCST:CV4. Dies diente dazu, dass in der Endophänotypen-Studie der vorliegenden Arbeit Assoziationen zwischen den beiden DRD1-Polymorphismen und der Leistung im WCST untersucht werden konnten.

3 Material und Methoden

3.1 Vorbedingungen der Studiendurchführung

Die Studie wurde mit Zustimmung der lokalen Ethikkommission durchgeführt. Nach ausführlicher Information über Inhalt und Zielsetzung der Studie sowie nach Aufklärung über die Anonymisierung aller erhobenen Daten geschah die Teilnahme auf freiwilliger Basis. Das Einverständnis der Probanden wurde durch Unterzeichnung einer Einverständniserklärung schriftlich festgehalten. Ohne Angabe von Gründen konnte das Einverständnis zu jedem Zeitpunkt der Studie widerrufen werden.

3.2 Studienteilnehmer

Studienteilnehmer waren 298 gesunde Kontrollprobanden und 126 an Schizophrenie erkrankte Patienten. Blutsverwandtschaft wurde unter allen Teilnehmern ausgeschlossen.

3.2.1 Kontrollprobanden

Die Rekrutierung der Kontrollprobanden erfolgte in mehreren Schritten. Mithilfe einer Zufallsstichprobe erhielten Personen aus dem Großraum München eine Einladung zur Studienteilnahme. Bestand daraufhin Interesse an einer Teilnahme, wurden mit einem standardisierten Telefonscreening die Teilnahmevoraussetzungen überprüft. Diese bestanden zum einen in einer kaukasischen Abstammung und zum anderen im Fehlen von psychiatrischen oder neurologischen Erkrankungen des Interessenten und seiner biologischen Verwandten. Wenn diese Kriterien erfüllt waren, wurden postalisch weitere Unterlagen zugesandt, mit denen eine ausführliche somatische und psychiatrische Anamnese sowohl des Interessenten selbst als auch seiner erst-, zweit- und drittgradigen biologischen Angehörigen erhoben wurde. Besondere Aufmerksamkeit wurde dabei erneut auf psychiatrische und neurologische Vorerkrankungen wie affektive Störungen, Angststörungen, Zwangserkrankungen, Essstörungen, Erkrankungen aus dem schizophrenen Formenkreis, Alkohol- und Drogenkonsum sowie Suizidalität des Interessenten und seiner Familienangehörigen gelegt. Daneben wurden biographische Angaben wie z.B. Schulbildung, Abstammung und Familienstand erfasst. Bestand

3 Material und Methoden

eine verwandtschaftliche Verbindung zu einem anderen Studienteilnehmer, so konnte keine Aufnahme in die Studie erfolgen.

Beim Fehlen relevanter Ausschlusskriterien wurden die Interessenten zu einem ausführlichen Interview in die Klinik eingeladen. Dabei kam die deutsche Version des strukturierten klinischen Interviews nach DSM-IV (SKID; Wittchen et al., 1996, 1997) als halbstandardisiertes Interview zum Einsatz. Das SKID I (Wittchen et al., 1997) dient zur Erfassung von Störungen, die laut DSM-IV der Achse I zugeordnet werden, also affektive Störungen, psychotische Störungen, Störungen durch psychotrope Substanzen, Angststörungen, somatoforme Störungen, Essstörungen und Anpassungsstörungen. Die der Achse 2 zugeschriebenen Persönlichkeitsstörungen wurden mithilfe des SKID II (Wittchen et al., 1997) erfasst.

Zur Beurteilung psychiatrischer Erkrankungen von Verwandten wurde das „Family History Assessment Module“ (FHAM; Rice et al., 1995) durchgeführt. Mithilfe des „Leipziger Ereignis- und Belastungsinventars“ (LEBI; Richter & Guthke, 1996) wurden erlebte, belastende Lebensereignisse erfasst.

Wenn auf diese Weise neurologische oder psychiatrische Erkrankungen des Interessenten und seiner biologischen Verwandten ausgeschlossen werden konnten, waren die Voraussetzungen für eine Studienteilnahme erfüllt.

3.2.2 Patienten

Die Auswahl der Patienten richtete sich auf Personen kaukasischen Ursprungs, die in ihrem Leben die Diagnose Schizophrenie nach DSM-IV erhalten hatten. Diese wurden kontaktiert und bei bestehendem Interesse zu einem Gespräch in die Klinik eingeladen. Analog zu den Kontrollprobanden wurde standardisiert eine somatische und psychiatrische Anamnese erhoben. Dabei wurden biographische Angaben, Krankheiten und Unfälle, stationäre und ambulante Therapien psychiatrischer und nicht-psychiatrischer Erkrankungen, Medikamenteneinnahme, Alkohol- und Drogenkonsum, Suizidversuche, schulischer und beruflicher Werdegang und die familiäre Situation abgefragt. Die Fragen richteten sich dabei sowohl auf den Patienten als auch auf seine erst-, zweit- und drittgradigen biologischen Angehörigen.

Mithilfe des SKID I wurden der Krankheitsverlauf und die aufgetretenen Symptome erfasst und die Diagnose der Schizophrenie überprüft. Das DSM-IV fordert für die Diagnose einer

3 Material und Methoden

Schizophrenie das Auftreten von Symptomen während eines Zeitraums von mindestens 6 Monaten. Davon ist mindestens ein Monat einer aktiven Phase mit wenigstens zwei der fünf Symptome Wahnvorstellungen, Halluzinationen, desorganisierte Sprechweise, grob desorganisiertes oder katatonisches Verhalten oder negative Symptome erforderlich. Lediglich ein Symptom ist ausreichend, sofern es sich dabei um bizarre Wahnvorstellungen oder akustische Halluzinationen in Form von kommentierenden oder dialogisierenden Stimmen handelt. In der restlichen Zeit reichen Negativsymptome aus.

Mithilfe des SKID I wurden außerdem wichtige Differentialdiagnosen überprüft, die ein Ausschlusskriterium für die Teilnahme an der Studie darstellten. Diese Differentialdiagnosen waren schizoaffective Störungen, affektive Störungen mit psychotischen Merkmalen, schizophreniforme Störungen oder nicht näher zu bezeichnende psychotische Störungen.

Teilnahmevoraussetzung für die Studie war des Weiteren, dass mögliche organische Ursachen der Schizophrenie ausgeschlossen werden konnten. Demzufolge konnten Patienten nicht zur Studie zugelassen werden, bei denen vor Auftreten der Schizophrenie z.B. Drogenkonsum, Epilepsie, Lues-II-Infektionen, schwere Schädel-Hirn-Traumata oder eine Enzephalopathie eruiert werden konnten.

Auch eine HIV- sowie eine Hepatitis-B oder -C Infektion oder früherer intravenöser Drogenkonsum des Patienten waren Ausschlusskriterien, um das Gefährdungspotential einer infektiösen Blutprobe zu vermeiden.

Die Patienten wurden gemäß dem SKID I einem der drei Subtypen der Schizophrenie, dem desorganisierten, dem katatonen oder dem paranoiden Typ, zugeordnet. Erfasst wurden das Alter bei Beginn prodromaler Symptome, das Alter bei Erstmanifestation, die Anzahl von Krankheitsepisoden sowie der zeitliche Verlauf der Erkrankung, besonders bezogen auf eventuelle Remissionen, verbliebene Residualsymptome oder Negativsymptomatik. Der Schweregrad der Symptome wurde zum aktuellen Zeitpunkt, aber auch hinsichtlich seiner jemals vorgelegenen maximalen Ausprägung eingeschätzt.

Die weiteren Sektionen des SKID I dienen zur Identifizierung möglicher Komorbiditäten wie z.B. affektive Störungen, Alkohol- bzw. Drogenmissbrauch oder -abhängigkeit, Angststörungen, somatoforme Störungen und Essstörungen. Eventuell zusätzlich vorliegende Persönlichkeitsstörungen konnten mithilfe des SKID II erfasst werden. Sofern keine Ausschlusskriterien vorlagen und die Diagnose einer Schizophrenie nach DSM-IV Kriterien bestätigt werden konnte, erfolgte die Aufnahme der Patienten in die Studie.

3.3 WCST:CV4 Research Edition

Im Rahmen einer umfangreichen Batterie neuropsychologischer Tests, die alle Studienteilnehmer an einem separaten Termin absolvierten, fand auch der WCST:CV4 (Wisconsin Card Sorting Test: Computer Version 4 Research Edition) Anwendung.

3.3.1 Allgemeine Beschreibung

Der WCST:CV4 ist die von Robert K. Heaton und der Firma PAR (Psychological Assessment Resources, Inc., 2003) entwickelte computergestützte Version des Wisconsin Card Sorting Tests (WCST). Der WCST geht zurück auf David A. Grant und Esta A. Berg (1948), deren Ziel es war, abstraktes Denken und die Fähigkeit der Anpassung kognitiver Strategien in Abhängigkeit von sich ändernden Umweltbedingungen zu bewerten (Strauss et al., 2006). Eine Standardisierung erfuhr der WCST durch Heaton (1981). Auf der von Heaton et al. im Jahr 1993 nochmals überarbeiteten Version basiert der WCST:CV4.

Der WCST gilt als Maß exekutiver Funktionen, da strategische Planung, organisiertes Suchen, die Anpassung von Problemlösestrategien anhand von Rückmeldungen aus der Umwelt, zielgerichtetes Handeln und die Kontrolle impulsiver Antworten benötigt werden (Heaton et al., 1993; Strauss et al., 2006).

Der WCST fordert von den Probanden das Erlernen von Regeln durch Ausprobieren sowie das so genannte ‚*Set Shifting*‘. Dies ist die Fähigkeit, Regeländerungen zu erkennen, sich auf neue Regeln einzustellen und gleichzeitig alte Regeln zu unterdrücken.

3.3.2 Testaufbau

Das Material des WCST:CV4 sind Karten, auf denen je ein bis vier identische Symbole (Dreiecke, Sterne, Kreise oder Kreuze) derselben Farbe (rot, grün, gelb oder blau) abgebildet sind.

Während des Tests werden im oberen Teil des Computerbildschirms in horizontaler Reihe 4 Karten gezeigt, die Stimulus-Karten genannt werden und die sich während des gesamten Tests nicht verändern. Auf den Stimulus-Karten befinden sich von links nach rechts ein rotes Kreuz, zwei grüne Sterne, drei gelbe Kreuze und vier blaue Kreise. Im unteren Teil des Bildschirms wird ein Stapel mit sogenannten Antwortkarten dargestellt (Abbildung 7a, Seite 50).

3 Material und Methoden

Die oben aufliegende Antwortkarte wird gezeigt und muss einer der Stimulus-Karten zugeordnet werden.

Hierzu wählt die Versuchsperson mit einer Computermaus die Stimulus-Karte aus, zu der ihrer Meinung nach die Antwortkarte passt und klickt auf sie bzw. in das Feld unter ihr. Daraufhin wandert die Antwortkarte in das Feld unter der ausgewählten Stimulus-Karte und wird dort abgelegt bzw. gestapelt (Abbildung 7b). Anschließend erscheint auf dem Bildschirm die Rückmeldung, ob die Zuordnung richtig oder falsch gewesen ist („RICHTIG“ (Abbildung 8a) oder „FALSCH“ (Abbildung 8b, Seite 51). Damit ist ein Durchgang abgeschlossen und eine Veränderung der Zuordnung ist nicht mehr möglich. Mit Erscheinen der nächsten Antwortkarte beginnt der nächste Durchgang. Es gibt keine zeitliche Begrenzung.

Die Versuchsperson bekommt lediglich die Anweisung, alle Antwortkarten des Stapels zuzuordnen. Weitere Erläuterungen zum Ablauf und zu den Zuordnungen erhält die Versuchsperson nicht.

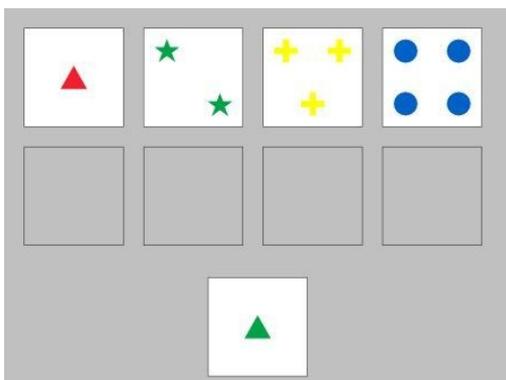


Abbildung 7a: Gezeigt ist ein ‚Screenshot‘ der Startkonfiguration des WCST:CV4. Im oberen Teil des Bildschirms sind die 4 Stimulus-Karten zu sehen, unten befindet sich ein Antwortkartenstapel, dessen oberste Karte aufgedeckt ist. Die Felder unter den Stimulus-Karten sind noch leer.

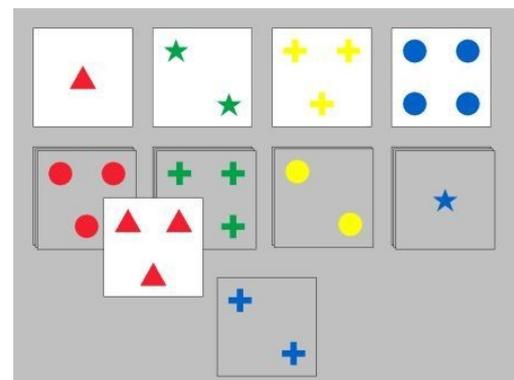


Abbildung 7b: Gezeigt ist ein ‚Screenshot‘ im Moment der Zuordnung. Zu sehen ist das Wandern einer Antwortkarte (drei rote Dreiecke) in das Feld unter der zugeordneten Stimulus-Karte (ein rotes Dreieck) sowie das Sichtbarwerden der nächsten Antwortkarte (zwei blaue Kreuze). Der Hintergrund abgelegter Antwortkarten wird dem Computerhintergrund angepasst.

Ob eine Zuordnung richtig oder falsch ist, richtet sich nach festgelegten Kategorien, die einem der drei Kriterien ‚Form‘, ‚Anzahl‘ oder ‚Farbe‘ entsprechen.

3 Material und Methoden

Bei Vorliegen der Kategorie ‚Anzahl‘ muss beispielsweise eine Antwortkarte mit drei roten Kreisen der Stimulus-Karte mit den 3 gelben Kreuzen zugeordnet werden. Die anderen zwei Kriterien spielen dabei keine Rolle.

Es kann vorkommen, dass Antwort- und Stimulus-Karte in zwei Kriterien, z.B. ‚Anzahl‘ und ‚Farbe‘, oder auch in drei Kriterien übereinstimmen, die Zuordnung orientiert sich aber immer nur an einem davon, entsprechend der gültigen Kategorie.

Die Versuchsperson wird nicht über die Kategorien informiert. Diese sollen von ihr durch Ausprobieren erkannt und so die Zuordnungsregeln abgeleitet werden. Hierzu dient die Rückmeldung nach jedem Durchgang.

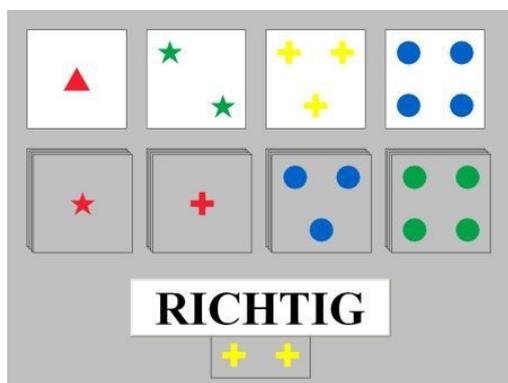


Abbildung 8a: ‚Screenshot‘ bei richtiger Zuordnung. Gezeigt ist das Erscheinen der Rückmeldung (RICHTIG).

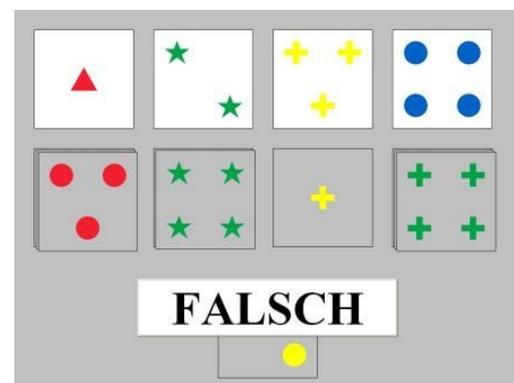


Abbildung 8b: ‚Screenshot‘ bei falscher Zuordnung. Gezeigt ist das Erscheinen der Rückmeldung (FALSCH).

Nach 10 aufeinanderfolgenden richtigen Durchgängen ist die bis dahin gültige Kategorie erfolgreich abgeschlossen und es folgt ein Kategorienwechsel. Es wird dann nach einem anderen Kriterium zugeordnet. Wurde z.B. nach ‚Anzahl‘ zugeordnet, wird dann z.B. nach ‚Farbe‘ zugeordnet.

Die bis zu diesem Zeitpunkt gültige Zuordnungsregel ist nach einem Kategorienwechsel also falsch. Die Versuchsperson wird nicht darüber in Kenntnis gesetzt, dass die Kategorien während des Tests wechseln.

Der Test ist abgeschlossen, wenn eine festgelegte Kategorienabfolge erfüllt ist oder bis nach 128 Durchgängen keine Antwortkarte mehr übrig ist.

3 Material und Methoden

3.3.3 Durchführung

Die Testdurchführung erfolgte auf einem Laptop der Firma BenQ (Mobile AMD Sempron, BenQ Corporation) mit einem Bildschirm der Größe 15“. Für jede Versuchsperson wurde unter Verwendung ihres zugehörigen Codes eine Datei angelegt. Nach Überprüfung des Seh- und Farbdiskriminationsvermögens folgte eine kurze, standardisierte und dem Handbuch entsprechende Erläuterung, bestehend aus mündlicher Instruktion sowie Demonstration der Verwendung der Computermaus. Dann absolvierten die Versuchsteilnehmer den Test selbstständig, bis der Computer dessen Ende signalisierte.

3.3.4 Testauswertung

Die Testauswertung des WCST:CV4 erfolgt automatisch durch das Computerprogramm. Dies geschieht unter Berücksichtigung der von Heaton et al. (1993) festgelegten Auswertungsregeln (Die hier beschriebene Testauswertung ist der genannten Quelle entnommen):

Jeder einzelne Durchgang und damit jede Zuordnung wird anhand von 3 verschiedenen Dimensionen bewertet. Diese sind

- richtig – falsch
- eindeutig – uneindeutig
- perseverativ – nicht-perseverativ

Richtig – falsch: Ob ein Durchgang richtig oder falsch ist, richtet sich danach, ob die Zuordnung der zum jeweiligen Zeitpunkt gültigen Kategorie entspricht oder nicht.

Eindeutig – uneindeutig: Ein Durchgang wird als eindeutig bewertet, wenn die Stimulus-Karte und die ihr zugeordnete Antwortkarte in lediglich einem Kriterium, also entweder ‚Farbe‘, ‚Form‘ oder ‚Anzahl‘, übereinstimmen. Jeder Durchgang, in dem Stimulus-Karte und zugeordnete Antwortkarte in zwei oder mehr Kriterien übereinstimmen, ist uneindeutig. Die Bewertung nach der Dimension eindeutig – uneindeutig erfolgt unabhängig davon, ob ein Durchgang richtig oder falsch ist.

Perseverativ – nicht-perseverativ: Folgen wiederholt Durchgänge aufeinander, in denen nach einer falschen Kategorie, also mehrfach nach demselben, falschen Kriterium zugeordnet wird, so wird dies als Perseverierungsprinzip („*perseverated-to principle*“ (Heaton et al., 1993)) bezeichnet. Sobald sich ein Perseverierungsprinzip entwickelt hat, werden Durchgänge, die diesem entsprechen, als perseverativ und solche, die diesem nicht entsprechen, als nicht-perseverativ bewertet. Dies erfolgt unabhängig davon, ob ein Durchgang richtig oder falsch ist.

3 Material und Methoden

Das Perseverierungsprinzip soll im Folgenden genauer beschrieben werden:

Ein Perseverierungsprinzip kann sich am Anfang des Tests ausbilden, wenn der Proband zum ersten Mal einen eindeutigen Fehler macht. Mit diesem ersten eindeutigen Fehler beginnt das Perseverierungsprinzip. Dieser Fehler wird nicht als perseverativ bewertet, aber alle nachfolgenden eindeutigen Fehler, die diesem Perseverierungsprinzip entsprechen. Die Fehler werden sogar dann als perseverativ bewertet, wenn zwischen ihnen Durchgänge erfolgen, die nicht mit dem Perseverierungsprinzip übereinstimmen. Demnach können perseverative Zuordnungen auftreten, bevor eine Kategorie erfolgreich abgeschlossen wurde. Das geschieht so lange, bis das Perseverierungsprinzip wechselt.

Am häufigsten treten perseverative Zuordnungen nach einem Kategorienwechsel, also nach 10 aufeinander folgenden richtigen Durchgängen auf. Nachdem dann nach einem anderen Kriterium zugeordnet werden muss, stellt ab diesem Zeitpunkt die zuvor gültige Kategorie ein Perseverierungsprinzip dar. Die erste Zuordnung, die diesem entspricht, gilt demzufolge als eindeutiger, perseverativer Fehler.

Auch eine oder mehrere uneindeutige Zuordnungen können als perseverativ bewertet werden, unabhängig davon, ob sie richtig oder falsch sind, solange sie Teil einer konsistenten Serie perseverativer Zuordnungen sind. Eine uneindeutige Zuordnung gilt dann als perseverativ, wenn sie dem zu diesem Zeitpunkt gültigen Perseverierungsprinzip entspricht und sich zwischen zwei eindeutigen, perseverativen Zuordnungen befindet. Befinden sich zwischen zwei eindeutigen perseverativen Zuordnungen mehrere uneindeutige Zuordnungen, so gelten sie dann auch als perseverativ, wenn sie ebenfalls dem Perseverierungsprinzip entsprechen und dieses durch keine Zuordnung unterbrochen wird.

Das Perseverierungsprinzip wechselt, wenn drei eindeutige Fehler nacheinander auftreten, die weder der aktuell gültigen Kategorie noch dem aktuell gültigen Perseverierungsprinzip entsprechen, und alle Zuordnungen, die sich zwischen den drei eindeutigen Fehlern befinden, diesem neuen Perseverierungsprinzip entsprechen. Ab dem zweiten dieser eindeutigen Fehler gelten dann Zuordnungen als perseverativ, wenn sie dem neuen Perseverierungsprinzip entsprechen.

Vom Computerprogramm werden alle Zuordnungen eines Tests nach den oben genannten Dimensionen bewertet und die Rohwerte mehrerer Testvariablen berechnet. Diese sind in Tabelle 7 (Seite 54) aufgeführt und werden darin genauer erläutert.

3 Material und Methoden

Tabelle 7: Testvariablen des WCST:CV4 und ihre Erläuterung. Adaptiert nach (Heaton et al., 1993).

Testvariable	Erläuterung
Number of Trials Administered	Summe der durchgeführten Durchgänge
Total Number Correct	Summe der richtigen Zuordnungen
Total Number of Errors	Summe der falschen Zuordnungen
Percent Errors	Prozentualer Anteil der falschen Zuordnungen an allen durchgeführten Durchgängen
Perseverative Responses	Summe perseverativer Zuordnungen
Percent Perseverative Responses	Prozentualer Anteil der perseverativen Zuordnungen an allen durchgeführten Durchgängen
Perseverative Errors	Summe der perseverativen Fehler
Percent Perseverative Errors	Prozentualer Anteil der perseverativen Fehler an allen durchgeführten Durchgängen
Nonperseverative Errors	Summe der nicht-perseverativen Fehler
Percent Nonperseverative Errors	Prozentualer Anteil der nicht-perseverativen Fehler an allen durchgeführten Durchgängen
Conceptual Level Responses	Summe der richtigen Zuordnungen, die in unmittelbarer Folge von mindestens 3 Stück erfolgt sind. Bei dieser Testvariable wird ein gewisses Verständnis für die richtige Zuordnungsregel angenommen, da eine zufällige Serie korrekter Zuordnungen dieser Länge unwahrscheinlich ist.
Percent Conceptual Level Responses	Prozentualer Anteil an ‚Conceptual Level Responses‘ an allen durchgeführten Durchgängen
Number of Categories Completed	Anzahl vollständiger Kategorien (0 bis 6)
Trials to Complete First Category	Summe der Zuordnungen bis zum erfolgreichen Abschluss der ersten Kategorie. Gibt einen Hinweis auf die Fähigkeit, initial ein Konzept zu erstellen, bevor später auch <i>set-shifting</i> erfordert wird.
Failure to Maintain Set	Summe der Fehler, die nach 5 aufeinanderfolgenden richtigen Zuordnungen vor dem Abschluss der Kategorie auftreten
Learning to Learn	Kann nur berechnet werden, wenn mindestens 3 Kategorien abgeschlossen wurden oder wenn zwei Kategorien abgeschlossen wurden und in einer weiteren mindestens 10 Zuordnungen durchgeführt wurden. Für jede Kategorie wird ein Fehlerprozentwert berechnet. Von den Fehlerprozentwerten jeder Kategorie wird derjenige der vorherigen Kategorie subtrahiert und ein Mittelwert über alle Differenzen gebildet. Diese Testvariable repräsentiert eine Leistungsverbesserung in aufeinander folgenden Kategorien und spiegelt somit einen Lerneffekt wider.

3 Material und Methoden

Die vorliegende Arbeit wurde auf die Testvariablen ‚Prozent perseverativer Fehler‘, ‚Prozent nicht-perseverativer Fehler‘ sowie ‚Anzahl vollständiger Kategorien‘ beschränkt.

Man geht davon aus, dass die Testvariable ‚Prozent perseverativer Fehler‘ die präfrontale Funktion am besten widerspiegelt (Egan et al., 2001b; Lane et al., 2008). ‚Prozent perseverativer Fehler‘ und ‚Anzahl vollständiger Kategorien‘ sollen die Fähigkeit, Konzepte zu bilden, die richtige Zuordnungsregel zu erkennen sowie flexibel von einer falschen zur richtigen Zuordnungsregel zu wechseln, abbilden. Diese Testvariablen gelten als Maß für das allgemeine exekutive Funktionsniveau. Die Testvariable ‚Prozent nicht-perseverativer Fehler‘ soll unzureichende Problemlösefähigkeit und eine ineffektive Strategie, Hypothesen zu testen, repräsentieren (Polgar et al., 2010).

3.3.5 Gütekriterien

Zu den Gütekriterien des WCST:CV4 ist wenig bekannt. Weitere Untersuchungen sind zu seiner Bewertung nötig. Die meisten Angaben zu Gütekriterien und Normen beziehen sich auf die revidierte Kartenversion des WCST von Heaton et al. (1993).

Objektivität

Aufgrund der einheitlichen, standardisierten Instruktion der Versuchsproubanden sowie der automatischen, computergestützten Durchführung und Auswertung des WCST:CV4 kann ein Höchstmaß an Objektivität angenommen werden.

Reliabilität

Auswertungsreliabilität: Da die Auswertung automatisch und computergesteuert erfolgt, kann davon ausgegangen werden, dass dies einheitlich und mit einer hohen Reliabilität erfolgt.

Retest-Reliabilität: Heaton et al. (1993) erreichten in einer Stichprobe von 46 gesunden Kindern und Jugendlichen, die mit einem Abstand von einem Monat zweimal mithilfe des WCST getestet wurden, Generalisierbarkeitskoeffizienten von 0,37 (‚Prozent perseverativer Fehler‘) bis 0,72 (‚Nicht-perseverative Fehler‘) und interpretieren die Werte der meisten Testvariablen als ausreichend bis gut. Lediglich die Variablen ‚Prozent perseverativer Antworten‘ (0,39) und ‚Prozent perseverativer Fehler‘ (0,37) waren demnach nur ausreichend reliabel (Heaton et al., 1993).

3 Material und Methoden

Validität

Der WCST wird häufig als Test für die Funktion des präfrontalen Kortex eingesetzt (Nyhus & Barcelo, 2009). In einigen Studien konnte die Sensitivität des WCST für Schäden des Frontallappens belegt werden (Drewe, 1974; Heaton et al., 1993; Milner, 1963). Es wird vermutet, dass die Leistung im WCST von der Funktion des PFC abhängt. Für schizophrene Patienten konnte im Vergleich mit gesunden Probanden beim WCST eine Dysfunktion des präfrontalen Kortex aufgedeckt werden, wobei die Leistung im WCST mit der Funktion des präfrontalen Kortex korrelierte (Weinberger et al., 1986).

Der WCST wird auch häufig zur Erfassung exekutiver Funktionen eingesetzt (Bowden et al., 1998; Heaton et al., 1993). Heaton et al. (1993) bezeichnen den WCST als valides Maß exekutiver Funktionen auch für klinische Stichproben und verweisen auf Studien mit u.a. Parkinson- oder Schizophreniepatienten.

Vergleichbarkeit

Es liegen keine Daten zur Äquivalenz der computergestützten Version des WCST:CV4 mit der klassischen Karten-Version des WCST vor. Somit kann nur schwer beurteilt werden, ob sich Ergebnisse, die mithilfe der Karten-Version des WCST erhoben wurden, auf den WCST:CV4 übertragen lassen.

3.4 Laborverfahren

3.4.1 DNA-Extraktion

Um die Genotypen der Probanden bestimmen zu können, wurde jedem Teilnehmer mittels EDTA-Monovetten Blut entnommen und daraus die zu untersuchende DNA gewonnen. Die Blutröhrchen wurden zur Wahrung der Anonymität mit einem dem Teilnehmer zugeordneten siebenstelligen alphanumerischen Code beklebt. Aus der Blutprobe wurde unter Zuhilfenahme des QIAamp DNA Blood Maxi Kit (Qiagen, Hilden, Germany, 2005) entsprechend der vom Hersteller vorgegebenen Anleitung die genomische DNA extrahiert. Eine Übersicht über die dazu verwendeten Materialien gibt Tabelle 8 (Seite 57).

3 Material und Methoden

Tabelle 8: Für die DNA-Extraktion verwendete Materialien

Material	Volumen	Hersteller
QIAamp Maxi Spin Röhrchen		Qiagen
Sammelröhrchen		Qiagen
Qiagen Protease	500 µl	Qiagen
Lysepuffer	12 µl	Qiagen
Ethanol (96-100%)	10 ml	Roth
Wasch-Puffer (Guanidin-HCl)	5 ml	Qiagen
Wasch-Puffer (ethanolhaltig)	5 ml	Qiagen
Elutionspuffer AE (Tris-Puffer, >9,0)	1 ml	Qiagen

Zellyse

Um die Leukozyten zu lysieren und die in ihnen enthaltene Nukleinsäure freizusetzen, wurden in einem ersten Schritt 500 µl Qiagen Protease zu je 5-10 ml Blut gegeben. Die hierdurch erfolgte Spaltung der Proteine ermöglichte eine leichtere Abtrennung der DNA. Daraufhin wurden 12 ml Guanidin-HCl-haltiger Lysepuffer zugegeben, um dadurch die spätere Bindung an die Silikagelmembran zu ermöglichen. Außerdem wurden dadurch zusätzlich die Reaktionsbedingungen der Qiagen Protease optimiert. Um die Zellyse zu verbessern, wurde die Lösung anschließend zwei Minuten lang auf dem Vortexer durchmischt und um den DNA-Ertrag zu maximieren, dann 30 Minuten lang in einem Wasserbad bei 70°C unter gleichmäßigem Schütteln inkubiert.

Adsorption der DNA an eine Silikagelmembran

Um die DNA aus der Lösung zu fällen, wurden im nächsten Schritt 10 ml Ethanol (96-100%) zugegeben und die Probe zwei Minuten lang auf dem Vortexer gemischt.

Im Anschluss wurde die Probe auf die Silikagelmembran gegeben und bei Raumtemperatur drei Minuten lang bei 3000 Umdrehungen pro Minute (rpm) zentrifugiert. Die im Lysat vorherrschenden pH- und Salzbedingungen ermöglichten die selektive Bindung der DNA an die Membran, während RNA und Nukleinsäure-bindende Proteine ungebunden blieben.

Reinigung der DNA

Zur Entfernung der noch verbliebenen RNA- und Proteinverunreinigungen wurden 5 ml Guanidin-HCl-haltiger Waschpuffer hinzugefügt und eine Minute lang mit 5000 rpm unter Raum-

3 Material und Methoden

temperatur zentrifugiert. Zur Entfernung der Guanidiniumsalze wiederum wurde 5 ml ethanolhaltiger Waschpuffer hinzugegeben und bei 5000 rpm 15 Minuten lang zentrifugiert.

Elution der DNA von der Silikagelmembran

Nach den Waschschrritten erfolgte die Elution der DNA von der Silikamembran durch Zugabe von 1,5 ml AE-Puffer (Tris-Puffer, pH>9,0). Der basische Puffer ermöglichte die Elution der zuvor im sauren Milieu gebundenen DNA. Um den DNA-Ertrag zu maximieren, wurde die Membran bei Raumtemperatur fünf Minuten lang inkubiert und anschließend fünf Minuten lang bei 5000 rpm zentrifugiert. Die so eluierte DNA wurde bei -80°C gelagert.

3.4.2 Bestimmung der DNA-Konzentration

Zur Bestimmung der DNA-Konzentration diente der Farbstoff PicoGreen. PicoGreen wird zum Nachweis von Doppelstrang-DNA verwendet, da er selektiv an diese bindet. Die Fluoreszenz des gebildeten DNA-Farbstoffkomplexes hängt in ihrer Intensität direkt von der gebundenen DNA-Menge ab. Nach Verdünnung der DNA-Proben mit PicoGreen im Verhältnis 1:200 wurde die Konzentrationsbestimmung anhand einer Eichkurve aus genomischer DNA (Standard-DNA) durchgeführt.

Tabelle 9: Für die Bestimmung der DNA-Konzentration verwendete Materialien und Geräte

Material	Hersteller
Verbrauchsmaterialien	
96well Platte, schwarz, flacher Boden	Greiner
50ml konische PP-Röhrchen	Sarstedt
Reagenzien	
PicoGreen dsDNA quantitation reagent	Molecular Probes (Cat# P-7581)
1 x TE (pH 7,4), Tris Base, EDTA	Roth
Clontech Human Genomic DNA 100 ng/µl	Clontech
Geräte	
Janus Automated Workstation	Perkin Elmer
Vortexer	Heidolph
Optiplex GX620 Pentium 4HT	Dell
Victor 3 Multilabelcounter 1420	Perkin Elmer

3 Material und Methoden

Herstellung der DNA-Verdünnungsreihe (Eichkurve)

Die Eichkurve wurde durch eine 1:2 Verdünnungsreihe eines DNA-Standards mit bekannter Konzentration (100ng/µl, Firma Clontech, Mountain View, USA) erstellt. Auf einer 96 well Platte wurden hierzu 200 µl dieses Standards in die Vertiefung A gegeben sowie 100 µl Aqua bidest in die Vertiefungen B bis H. Von der Vertiefung A wurden dann 100 µl in die Vertiefung B pipettiert und vermischt. Aus Vertiefung B wurden dann wieder 100 µl entnommen, in C gegeben und vermischt. Diese Schritte wiederholten sich von Vertiefung C bis G. Vertiefung H blieb unberührt und diente aufgrund des Fehlens von genomischer DNA als Referenzwert.

Vorbereitung der Messplatte

Die zu messenden DNA-Lösungen wurden im Verhältnis 1:10 vorverdünnt. Dazu pipettierte ein Roboter (Janus Automated Workstation, Perkin Elmer) in eine 96 *well* Platte (ABgene, Hamburg) je 5 µl DNA und 45 µl H₂O.

Nachdem das eingefrorene PicoGreen-Reagenz bei Raumtemperatur eine Stunde lang in einem lichtundurchlässigen Behälter aufgetaut worden war, folgte die Herstellung einer Verdünnung von PicoGreen mit Aqua bidest in einem Verhältnis von 1:156.

Die Messplatte wurde unter Zuhilfenahme der Janus Automated Workstation vorbereitet. Dazu wurden vom Roboter auf einer 96 *well flat bottom plate* je Vertiefung 50 µl H₂O vorgelegt. In Spalte 1 und 2 der Platte wurden, beginnend mit A1 und A2, Duplikate von 5µl der Standard-DNA-Verdünnungsreihe pipettiert. Daraufhin wurden, beginnend mit der Plattenposition A3 und A4, in Duplikaten je 5µl vorverdünnte DNA pipettiert. Es folgte die Zugabe von 145 µl der PicoGreen-Verdünnung je *well* zur Standard- bzw. Proben-DNA. Auf diese Weise wurde eine Endverdünnung des PicoGreens von 1:200 erreicht. Die so befüllte Messplatte wurde von einem Greifarm des Pipettierroboters zum Fluoreszenzmessgerät transportiert.

Durchführung der Messung

Für die Messung der DNA-Konzentration wurde der Viktor 3 Multilabelcounter 1420 (Wallac) verwendet. Um die Lösungen gut zu durchmischen, wurde die Platte im Messgerät zunächst 30 Sekunden lang in Doppellellipsen geschüttelt. Die Anregung des PicoGreens erfolgte mit Licht einer Wellenlänge von 485nm und die Emissionsmessung bei 520nm. Pro well betrug die Messzeit 0,1 Sekunden, woraufhin die Messergebnisse an einen Computer (Optiplex GX620 Pentium 4 HAT, Dell) übermittelt wurden, der die DNA-Konzentrationen der Proben aus dem Vergleich mit den Fluoreszenzwerten der Standardkurve berechnete. Bei der Qualitätsprüfung der zugrunde gelegten Eichkurve sollte sich mindestens ein Pearsonscher Korre-

3 Material und Methoden

lationskoeffizient von $r = 0,99$ ergeben. Der Computer berechnete außerdem die Mengen an DNA-Lösung und Aqua bidest, die nötig waren, um eine DNA-Konzentration von $50\text{ng}/\mu\text{l}$ in jeder Probe zu erreichen. Diese wurde vom Janus-Pipettierroboter automatisch in einer Arbeitslösung von $500\mu\text{l}$ eingestellt.

3.4.3 Genotypisierung

Die Genotypisierung erfolgte an zwei SNPs des DRD1-Gens (Tabelle 10). Die Assays zur Untersuchung dieser SNPs wurden mithilfe der Spectro Designer Software (Sequenom, San Diego, CA) erstellt (Tabelle 11). Die dazu nötigen Informationen wurden der Datenbank des National Center of Biotechnology Information (NCBI) entnommen.

Tabelle 10: Untersuchte SNPs des DRD1-Gens

ID / Acession No.	Contig Position	Chromosom 5 Position	Allel	Funktion
rs4867798	19677485	174800505	C/T	3'UTR
rs1508765	19703727	174826747	C/T	intergenic

Tabelle 11: Für das iPLEX-Verfahren benötigte Primersequenzen

ID / Acession No.	Primer 1	Primer 2	Fragmentlänge	Extensionsprimer
rs4867798	ACGTTGGATGGG ACACAGATAAAT GCAAGG	ACGTTGGATGCC CTGGGAAAGTCA TTTGTC	157	TGAACACA GTAGTAGC TATACTTT
rs1508765	ACGTTGGATGCC ACATTTGTGCTTT GCCAG	ACGTTGGATGTA AGATGCAGACAG GAAGGG	119	GTCTTTCC TCCCTCCC

Für die Genotypisierung wurde das iPLEX-Verfahren (*Increased Plexing Efficiency and Flexibility for MassARRAY*) der Firma Sequenom verwendet. Dabei entstehen für jedes Allel eines SNPs spezifische Primerextensionsprodukte, deren Massen mittels MassARRAY Matrix gestützter Laser Ionisations/Desorptions-Flugzeitspektrometrie (MassARRAY MALDI-TOF MS) bestimmt werden können. Da die Massen spezifisch für das jeweilige Allel sind, können so die Genotypen der SNPs eindeutig identifiziert werden.

3 Material und Methoden

Das Besondere des iPLEX-Verfahrens ist, dass durch die Verwendung mehrerer verschiedener Primer in einer DNA-Probe mehrere SNPs zeitgleich untersucht werden können. Dies wird als Multiplex bezeichnet und ermöglicht die Genotypisierung im Hochdurchsatz.

Amplifikation mittels PCR

Damit für die spätere iPLEX-Reaktion genügend Material zur Verfügung stand, mussten in einem ersten Schritt die genomischen Bereiche vervielfältigt werden, die die zu untersuchenden SNPs enthielten.

Dies geschah mithilfe einer konventionellen PCR. Die PCR-Mischung (Tabelle 12) wurde von einem Pipettierroboter (Microlab 4000, Hamilton) in die Vertiefungen einer 384 well Platte pipettiert.

Tabelle 12: PCR-Mischung (pro well)

Reagenz	Volumen pro Reaktion	Hersteller
autoklaviertes H ₂ O	1,850 µl	Purelab ultra, ELGA
PCR Puffer mit MgCl ₂	0,625 µl	Qiagen
MgCl ₂ (25 mM)	0,325 µl	Qiagen
dNTP Mix (25 mM)	0,100 µl	Abgene
Primer Mix (je 500 nM)	1,000 µl	Qiagen
genomische DNA (5-10 ng/µl)	1,000 µl	
Hotstar Taq (5U/µl)	0,100 µl	Qiagen

Nach Zentrifugation der Platte lief die PCR in einem Thermocycler (GeneAmp, PCR System 9700, Applied Biosystems) ab.

Um die DNA zu denaturieren (initiale Denaturierung), wurden die Proben zunächst 15 Minuten lang auf 94°C erwärmt und dann 20 Sekunden auf dieser Temperatur gehalten. Ein 30-sekündiges Abkühlen auf 56° C führte dazu, dass sich die forward- und reverse-Primer (Primer 1 + 2, Tabelle 11) anlagern konnten (*Annealing*). Durch die anschließende Temperaturerhöhung auf 72° C für eine Minute konnte die Taq-Polymerase die Nukleotide an die Primer anfügen (*Elongation*). Diese Schritte wurden 45-mal wiederholt, damit in der Folge genügend DNA zur Verfügung stand. Abschließend wurde die Temperatur für die finale Extension 3 Minuten lang auf 72°C gehalten.

Um zu verhindern, dass die freien Nukleotide, die nicht von der Taq-Polymerase eingebaut wurden, die folgenden Reaktionen störten, mussten sie durch das Enzym SAP (Shrimp

3 Material und Methoden

Alkaline Phosphatase) dephosphoryliert werden. Hierzu wurde jeder Lösung eine SAP-Mischung (Tabelle 13) zugegeben.

Tabelle 13: SAP-Mischung

Reagenz	Volumen	Hersteller
autoklaviertes H ₂ O	1,53 µl	Sequenom
SAP Puffer 10x	0,17 µl	Sequenom
SAP Enzym (1U/µl)	0,30 µl	Sequenom

Die Lösungen wurden 20 Minuten lang bei 37°C inkubiert und um das SAP-Enzym im Anschluss wieder zu inaktivieren, wurde die Temperatur in der Folge 5 Minuten lang auf 85°C erhöht.

iPLEX-Reaktion

Mithilfe der iPLEX-Reaktion wurden nun für jedes Allel eines SNPs massenspezifische Extensionsprodukte generiert. Dabei wurden die Extensionsprimer (Tabelle 11, Seite 60) derart entworfen, dass sie sich unmittelbar neben die zu untersuchenden SNPs an die DNA anlagerten. Durch die Verwendung von Didesoxynukleotidtriphosphaten wurden die Primer nur um eine Base, gemäß dem SNP, verlängert („*single base extension*“). Um ihre Massen besser unterscheiden zu können, waren den Didesoxynukleotidtriphosphaten spezielle funktionelle Gruppen angehängt.

Die iPLEX-Reaktion wurde mithilfe eines Thermocyclers gesteuert. Zunächst wurde jeder PCR-Reaktion die iPLEX-Mischung zugegeben (Tabelle 14).

Tabelle 14: iPLEX-Mischung

Reagenz	Volumen pro Reaktion	Hersteller
autoklaviertes H ₂ O	0,755 µl	Sequenom
iPLEX Puffer (10x)	0,200 µl	Sequenom
iPLEX Abbruch-Mischung	0,200 µl	Sequenom
Primer Mix (7 µm:14µm)	0,804 µl	Sequenom
iPLEX Enzyme	2,000 µl	Sequenom

Die Proben wurden zunächst auf 94°C erhitzt und 30 Sekunden lang auf dieser Temperatur gehalten, um die DNA zu denaturieren (initiale Denaturierung). Eine Temperaturniedrigung auf 52° für 5 Sekunden ermöglichte die Anlagerung der Extensionsprimer (Annealing) sowie

3 Material und Methoden

daraufliegend eine Temperaturerhöhung auf 80°C für 5 Sekunden die Verlängerung der Primer um ein Didesoxynukleotid (Extension). Annealing und Extension wurden 5-mal wiederholt, bevor wieder eine Denaturierung bei 94°C 5 Sekunden lang folgte. Dieser Zyklus, bestehend aus Denaturierung (beim ersten Mal 30 Sekunden, bei jedem weiteren Mal 5 Sekunden lang) sowie 5-maliger Abfolge von Annealing und Extension, wurde 40-mal wiederholt. Es folgte abschließend eine 3-minütige Extension bei 72°.

Anschließend wurden die Proben unter Verwendung von „Clean Resin“ (Sequenom) entsalzt, damit nicht später z.B. Natriumionen die Messung im Massenspektrometer stören konnten.

Massenspektrometrische Analyse

Die massenspektrometrische Analyse der Primerextensionsprodukte wurde dann mithilfe des MALDI-TOF MS (Sequenom) durchgeführt.

Mittels eines MassARRAY Nanodispensers (Sequenom) wurden die Proben auf einen Siliziumchip mit 384 Matrix-Spots (Sequenom) übertragen. Die Matrix dieses Chips enthält 3-Hydroxypicolinsäure, die mit der zu untersuchenden DNA kokristallisiert.

Für die Kallibrierung des Analysesystems wurde zusätzlich eine Mischung von Oligonukleotiden bekannter Masse auf den Chip übertragen und analysiert.

Über eine Vakuumschleuse wurde der Chip in den Flugzeitmassenspektrometer eingeführt und dort im Hochvakuum einige Nanosekunden lang einem intensiven Laserpuls exponiert. Durch den Laser verdampft, wurde das Probenmaterial unter Ionisation in das Vakuum freigesetzt.

Die Massenanalyse erfolgte durch die sich anschließende Flugzeitanalyse (*Time-Of-Flight*). Die freigesetzten Ionen wurden dabei durch ein elektrostatisches Feld beschleunigt. Dann wurde die Zeit gemessen, die ein Ion benötigte, um eine feldfreie, definierte Driftstrecke zwischen einer Beschleunigungselektrode und einem Detektor zu durchfliegen. Die Zeit hing dabei von der Masse des Ions ab: je schwerer ein Ion war, umso mehr Zeit wurde von diesem benötigt. Mit Hilfe der TYPER Analyzer 3.3.0 Software (Firma Sequenom) konnten so über die Flugzeit die Massen der Primerextensionsprodukte und damit ihre Genotypen bestimmt werden.

3.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mithilfe der SPSS 14.0 Software (Statistical Package for the Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, 2005).

Die Verteilung der Genotypen wurde mit den nach dem Hardy-Weinberg-Gleichgewicht zu erwartenden Häufigkeiten verglichen. Variationen, die eine signifikante Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht aufwiesen, wurden aufgrund möglicher Genotypisierungsprobleme von der weiteren Auswertung ausgeschlossen.

Unterschiede in der Allel- und Genotypverteilung zwischen Patienten und Kontrollprobanden wurden mit dem zweiseitigen χ^2 -Test überprüft.

Mithilfe einer multivariaten Varianzanalyse (MANOVA) wurde überprüft, ob Zusammenhänge zwischen der Leistung in drei Testvariablen des WCST:CV4 (‚Prozent perseverativer Fehler‘, ‚Prozent nicht-perseverativer Fehler‘ und ‚Anzahl vollständiger Kategorien‘) und den SNPs vorliegen. Die Genotypen und Allele gingen als unabhängige Variablen (UV), die Rohwerte der drei oben genannten Testvariablen als abhängige Variablen (AV) in die Berechnung mit ein. Als Covariablen wurden der Status (Patient bzw. Kontrollproband), das Geschlecht, die Schulbildung und das Alter in den Berechnungen berücksichtigt.

Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0,05$ festgelegt. Als Trend zur Signifikanz wurde $p < 0,1$ gewertet.

4 Ergebnisse

4.1 Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

Um eine Assoziation von zwei SNPs (rs4867798 und rs1508765) des DRD1-Gens und der Schizophrenie aufzudecken, wurden diese SNPs bei gesunden Kontrollprobanden und schizophre- nen Patienten genotypisiert und ihre Genotyp- und Allelverteilungen verglichen.

4.1.1 Analyse des DRD1-Polymorphismus rs4867798

In die Analyse des SNPs rs4867798 gingen 283 Kontrollprobanden und 123 Schizophrenie- patienten ein.

Genotypverteilung

Die Genotypverteilung des SNP rs4867798 befand sich im Hardy-Weinberg-Equilibrium ($F=0.063$; $df=1$; $p=0.201$). Sie ist in Tabelle 15 dargestellt.

Tabelle 15: Verteilung der Genotypen des DRD1-Polymorphismus rs4867798

Gruppe	Genotyp C/C n (%)	Genotyp C/T n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt n
Kontrollen	27 (9,5)	120 (42,4)	136 (48,1)	283
Patienten	12 (9,8)	36 (29,3)	75 (61,0)	123
Gesamt	39 (9,6)	156 (38,4)	211 (52,0)	406

In der Genotypverteilung bestand ein signifikanter Unterschied zwischen der Patienten- und der Kontrollgruppe ($\chi^2 = 6,607$; $df = 2$; $p = 0,037$). In der Gruppe der Patienten kam der Ge- notyp T/T häufiger vor als in der Gruppe der Kontrollprobanden (Abbildung 9, Seite 66).

4 Ergebnisse

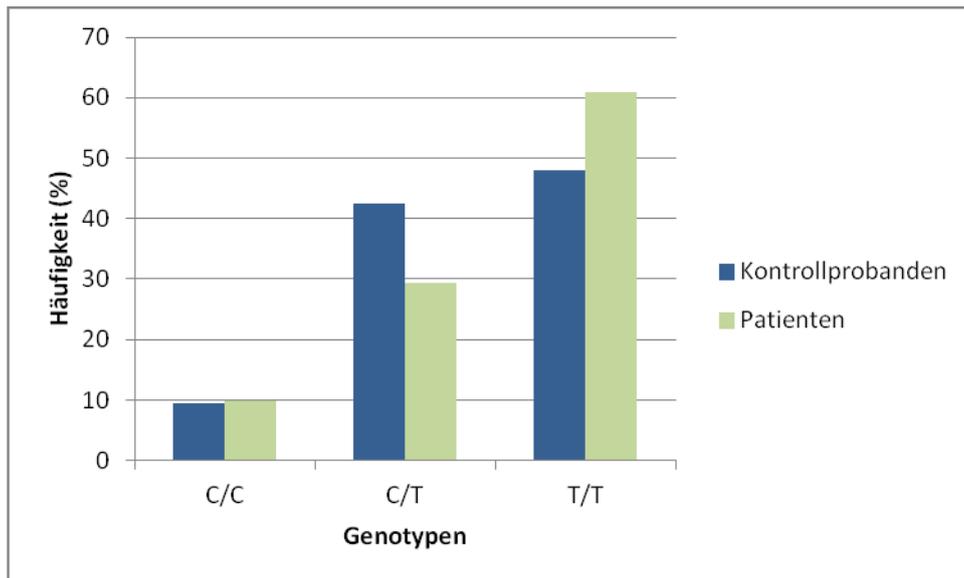


Abbildung 9: Graphische Darstellung der Genotypverteilung des SNP rs4867798

Den Vergleich der Genotypen C/C und C/T, also aller Träger des C-Allels, mit den homozygoten T-Allel-Trägern zeigt Tabelle 16.

Tabelle 16: Vergleich der C-Allel-Träger mit den homozygoten T-Trägern (rs4867798)

Gruppe	Genotypen C/C und C/T n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt n
Kontrollen	147 (51,9)	136 (48,1)	283
Patienten	48 (39,0)	75 (61,0)	123
Gesamt	195 (48,0)	211 (52,0)	406

Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der Verteilung der beiden Gruppen ($\chi^2 = 5,733$; OR = 1,689 (CI = 1,098 – 2,598); df = 1; p = 0,017). Unter den Patienten befanden sich häufiger homozygote T-Träger (Abbildung 10, Seite 67).

4 Ergebnisse

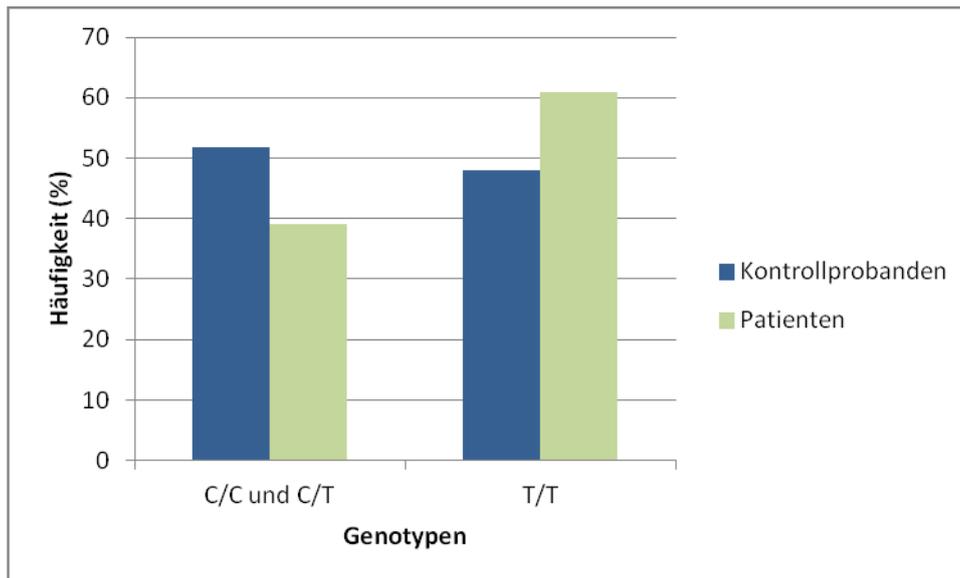


Abbildung 10: Graphische Darstellung der Verteilung der C-Allel-Träger und homozygoter T-Träger des SNP rs4867798

Die Gegenüberstellung aller T-Allel-Träger mit den homozygoten C-Allel-Trägern ist in Tabelle 17 dargestellt.

Tabelle 17: Vergleich der T-Allel-Träger mit den homozygoten C-Trägern (rs4867798)

Gruppe	Genotyp C/C n (%)	Genotypen C/T und T/T n (%)	Gesamt n
Kontrollen	27 (9,5)	256 (90,5)	283
Patienten	12 (9,8)	111 (90,2)	123
Gesamt	39 (9,6)	367 (90,4)	406

Es war kein Unterschied zwischen Patienten und Kontrollprobanden feststellbar ($\chi^2 = 0,005$; OR = 0,976 (CI = 0,477 – 1,995); df = 1; p=0,946).

Allelverteilung

Die statistische Auswertung der Allelverteilung des SNP rs4867798 in Kontroll- und Patientengruppe ergab die in Tabelle 18 (Seite 68) dargestellten Häufigkeiten.

4 Ergebnisse

Tabelle 18: Verteilung der Allele des DRD1 Polymorphismus rs4867798

Gruppe	C-Allel n (%)	T-Allel n (%)	Gesamt n
Kontrollen	174 (30,7)	392 (69,3)	566
Patienten	60 (24,4)	186 (75,6)	246
Gesamt	234 (28,8)	578 (71,2)	812

In der Allelverteilung zeigte sich die Tendenz zu einem Unterschied zwischen der Kontroll- und der Patientengruppe ($\chi^2 = 3,373$; OR = 1,376 (CI = 0,978 – 1,936); df = 1; p = 0,066). Das T-Allel kam bei den Patienten tendenziell gehäuft vor (Abbildung 11).

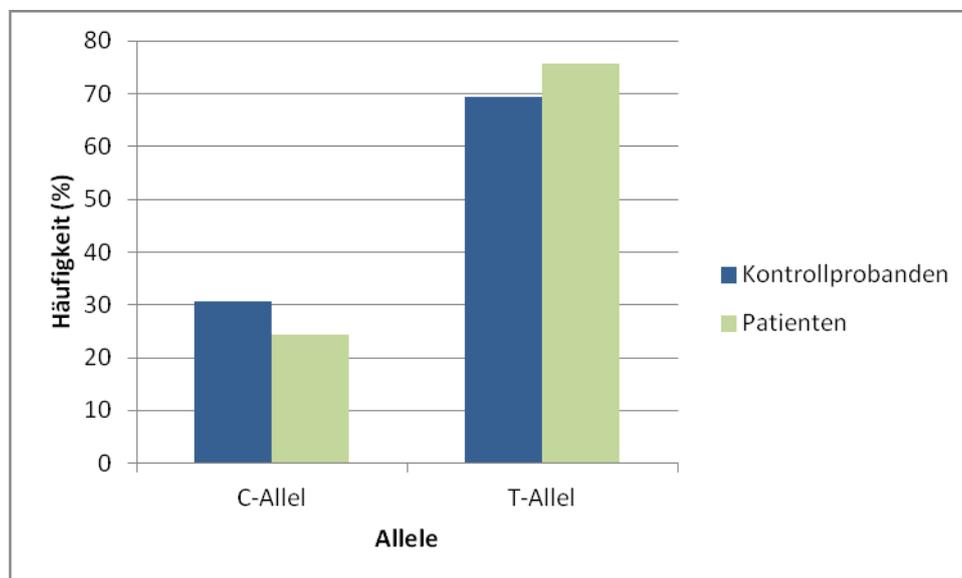


Abbildung 11: Graphische Darstellung der Allelverteilung des SNP rs4867798

4.1.2 Analyse des DRD1-Polymorphismus rs1508765

In die Analyse des SNPs rs1508765 wurden 298 Kontrollprobanden und 126 Schizophreniepatienten eingeschlossen.

Genotypverteilung

Die Genotypverteilung des SNPs rs1508765 war im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht ($F=0.011$; $df=1$; $p=0.822$). Sie ist in Tabelle 19 (Seite 69) dargestellt.

4 Ergebnisse

Tabelle 19: Verteilung der Genotypen des DRD1-Polymorphismus rs1508765

Gruppe	Genotyp C/C n (%)	Genotyp C/T n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt n
Kontrollen	55 (18,5)	152 (51,0)	91 (30,5)	298
Patienten	34 (27,0)	56 (44,4)	36 (28,6)	126
Gesamt	89 (21,0)	208 (49,1)	127 (30,0)	424

Die Genotypverteilung der Patienten- und der Kontrollgruppe wies keinen signifikanten Unterschied auf ($\chi^2 = 3,960$; $df = 2$; $p = 0,138$).

In Tabelle 20 sind alle C-Allel-Träger den homozygoten T-Allel-Trägern gegenübergestellt.

Tabelle 20: Vergleich der C-Allel-Träger mit den homozygoten T-Trägern (rs1508765)

Gruppe	Genotypen C/C und C/T n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt n
Kontrollen	207 (69,5)	91 (30,5)	298
Patienten	90 (71,4)	36 (28,6)	126
Gesamt	297 (70)	127 (30)	424

Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen Kontroll- und Patientengruppe ($\chi^2 = 0,163$; $OR = 0,910$ ($CI = 0,575 - 1,439$); $df = 1$; $p = 0,686$).

Auch die T-Allel-Träger wurden zusammengefasst und mit den homozygoten C-Allel-Trägern verglichen.

Tabelle 21: Vergleich der T-Allel-Träger mit den homozygoten C-Trägern (rs1508765)

Gruppe	Genotyp C/C n (%)	Genotypen C/T und T/T n (%)	Gesamt n
Kontrollen	55 (18,5)	243 (81,5)	298
Patienten	34 (27,0)	92 (73,0)	126
Gesamt	89 (21,0)	335 (79,0)	424

Es war ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen feststellbar ($\chi^2 = 3,883$; $OR = 0,612$ ($CI = 0,375 - 1,000$); $df = 1$; $p = 0,049$). In der Gruppe der Patienten kamen häufiger homozygote C-Träger vor (Abbildung 12, Seite 70).

4 Ergebnisse

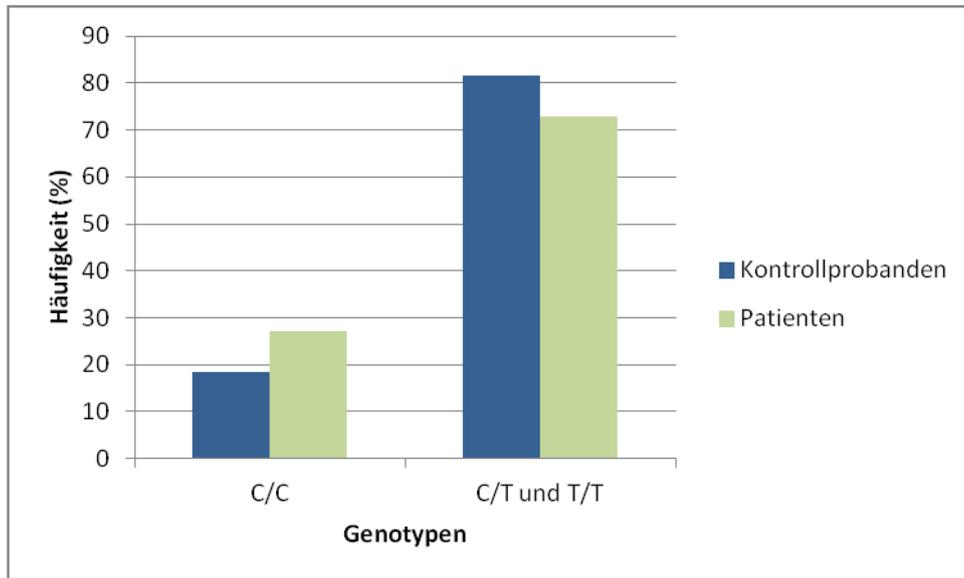


Abbildung 12: Graphische Darstellung der Verteilung der homozygoten C-Träger und der T-Allel-Träger des SNP rs1508765

Allelverteilung

Die Verteilung der Allele C und T des SNPs rs1508765 bei Kontrollprobanden und Patienten zeigt Tabelle 22.

Tabelle 22: Verteilung der Allele des DRD1-Polymorphismus rs1508765

Gruppe	C-Allel n (%)	T-Allel n (%)	Gesamt n
Kontrollen	262 (44,0)	334 (56,0)	596
Patienten	124 (49,2)	128 (50,8)	252
Gesamt	386 (45,5)	462 (54,5)	848

Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen ($\chi^2 = 1,966$; OR = 0,810 (CI = 0,603 – 1,088); df = 1; p = 0,161).

4 Ergebnisse

4.2 Endophänotypen-Studie

Um zu untersuchen, ob ein Zusammenhang zwischen den beiden DRD1-SNPs rs4867798 und rs1508765 und der Leistung im WCST:CV4 besteht, durchliefen alle Studienteilnehmer den WCST:CV4. Nach dessen Durchführung wurden die Rohwerte der Testvariablen ‚Prozent perseverativer Fehler‘, ‚Prozent nicht-perseverativer Fehler‘ und ‚Anzahl vollständiger Kategorien‘ berechnet.

Die ermittelten Testleistungen wurden mit Hilfe einer multivariaten Varianzanalyse (MANOVA) mit den Genotyp- und Allelhäufigkeiten der beiden SNPs verglichen.

4.2.1 Assoziation zwischen rs4867798 und Testleistungen im WCST:CV4

Es zeigte sich eine signifikante Assoziation der Leistung in der Variable ‚Prozent nicht-perseverativer Fehler‘ und den Allelen des SNP rs4867798 ($F = 5,785$; $df = 1/800$; $p = 0,016$). C-Allel-Träger machten prozentual mehr nicht-perseverative Fehler als T-Allel-Träger (Tabelle 23, Abbildung 13 (Seite 72)).

Tabelle 23: Zusammenhang zwischen den Testvariablen des WCST:CV4 und den Allelen des SNP rs4867798

WCST:CV4 (Testvariable)	C- Allel (n = 234)	T- Allel (n = 578)	F (df = 1/800)	p
	MW (SD)	MW (SD)		
Prozent perseverativer Fehler	12,81 (6,390)	12,51 (6,442)	0,818	0,366
Prozent nicht-perseverativer Fehler	13,17 (7,038)	12,48 (6,723)	5,785	0,016
Anzahl vollständiger Kategorien	5,21 (1,458)	5,24 (1,460)	0,983	0,322

4 Ergebnisse

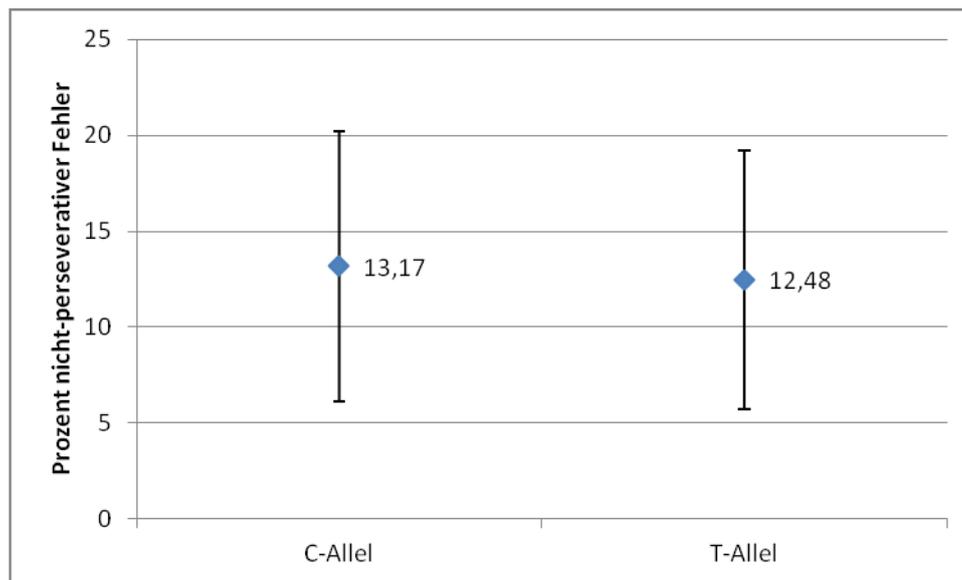


Abbildung 13: Graphische Darstellung der Leistung in der Testvariable ‚Prozent nicht-perseverativer Fehler‘ assoziiert mit den Allelen des SNP rs4867798

Bei derselben Testvariable (Prozent nicht-perseverativer Fehler) konnte eine signifikante Assoziation mit den Genotypen nachgewiesen werden ($F = 4,184$; $df = 2/390$; $p = 0,016$). Der Genotyp C/C zeigte eine schlechtere Leistung als die Genotypen C/T und T/T (Tabelle 24, Abbildung 14 (Seite 73)).

Tabelle 24: Zusammenhang zwischen den Testvariablen des WCST:CV4 und den Genotypen des SNP rs4867798

WCST:CV4 (Testvariable)	Genotyp C/C (n = 39)	Genotyp C/T (n = 156)	Genotyp T/T (n = 211)	F (df = 2/390)	p
	MW (SD)	MW (SD)	MW (SD)		
Prozent perserverativer Fehler	13,28 (6,561)	12,58 (6,333)	12,48 (6,496)	0,675	0,510
Prozent nicht-perseverativer Fehler	13,97 (7,693)	12,77 (6,705)	12,37 (6,742)	4,184	0,016
Anzahl vollständiger Kategorien	5,10 (1,553)	5,27 (1,416)	5,23 (1,479)	0,987	0,374

4 Ergebnisse

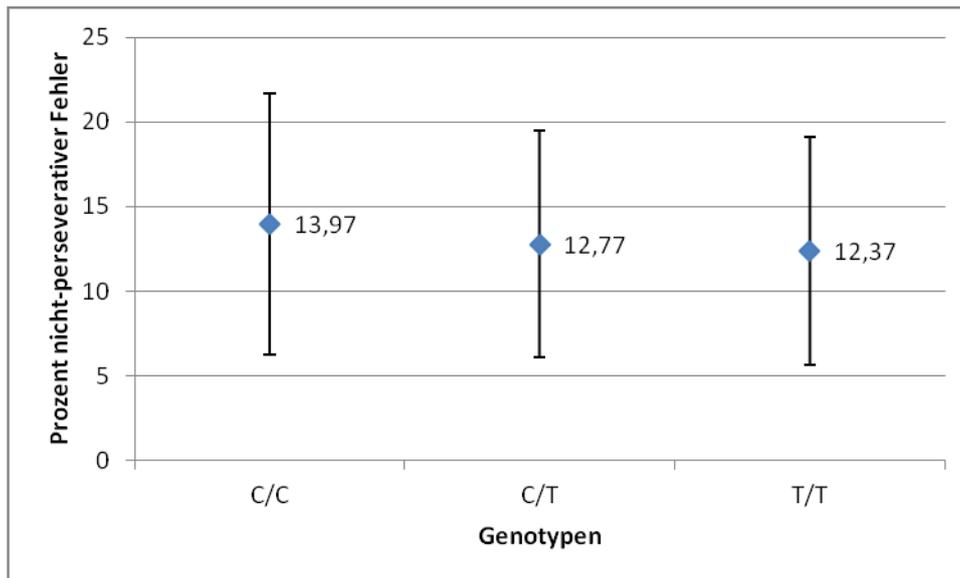


Abbildung 14: Graphische Darstellung der Leistung in der Testvariable ‚Prozent nicht-perserverativer Fehler‘ assoziiert mit den Genotypen des SNP rs4867798

4.2.2 Assoziation zwischen rs1508765 und Testleistungen im WCST:CV4

Die Allelverteilung des SNP rs1508765 war signifikant mit der Variable ‚Anzahl vollständiger Kategorien‘ assoziiert ($F = 3,877$; $df = 1/836$; $p = 0,049$). C-Allel-Träger schlossen mehr Kategorien ab als T-Allel-Träger (Tabelle 25, Abbildung 15 (Seite 74)).

Tabelle 25: Zusammenhang zwischen den Testvariablen des WCST:CV4 und den Allelen des SNP rs1508765

WCST:CV4 (Testvariable)	C- Allel (n = 386)	T- Allel (n = 462)	F (df = 1/836)	p
	MW (SD)	MW (SD)		
Prozent perserverativer Fehler	12,33 (6,121)	12,95 (6,841)	0,849	0,357
Prozent nicht-perserverativer Fehler	12,29 (6,609)	13,08 (7,205)	1,794	0,181
Anzahl vollständiger Kategorien	5,31 (1,365)	5,13 (1,560)	3,877	0,049

4 Ergebnisse

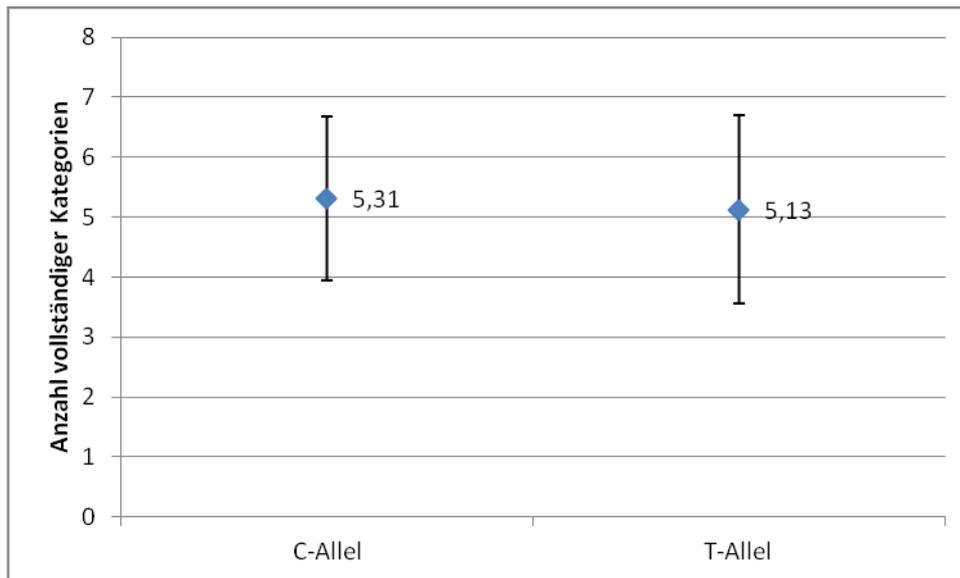


Abbildung 15: Graphische Darstellung der Leistung in der Testvariable ‚Anzahl vollständiger Kategorien‘ assoziiert mit den Allelen des SNP rs1508765

Bezüglich der Genotypverteilung des SNP rs1508765 zeigte sich kein Zusammenhang mit der Leistung in den Testvariablen des WCST:CV4 (Tabelle 26).

Tabelle 26: Zusammenhang zwischen den Testvariablen des WCST:CV4 und den Genotypen des SNP rs1508765

WCST:CV4 (Testvariable)	Genotyp C/C (n = 89)	Genotyp C/T (n = 208)	Genotyp T/T (n = 127)	F (df = 2/410)	p
	MW (SD)	MW (SD)	MW (SD)		
Prozent perserverativer Fehler	12,03 (5,824)	12,58 (6,380)	13,25 (7,209)	0,449	0,638
Prozent nicht-perserverativer Fehler	11,94 (6,467)	12,59 (6,744)	13,49 (7,565)	0,933	0,394
Anzahl vollständiger Kategorien	5,37 (1,256)	5,26 (1,455)	5,02 (1,638)	1,772	0,171

4 Ergebnisse

4.3 Zusammenfassung der Ergebnisse

In der vorliegenden Fall-Kontroll-Assoziationsstudie konnten Assoziationen der DRD1-Polymorphismen rs4867798 und rs1508765 mit Schizophrenie gefunden werden.

Bezogen auf rs4867798 trat der Genotyp T/T sowohl im Vergleich mit den Genotypen C/T und C/C ($p = 0,037$) als auch im Vergleich mit den C-Allel-Trägern ($p = 0,017$) in der Patientengruppe signifikant häufiger auf. Außerdem war das T-Allel von rs4867798 tendenziell mit der Erkrankung assoziiert ($p = 0,066$).

Auch rs1508765 war mit Schizophrenie assoziiert. Der Genotyp C/C trat verglichen mit den T-Allel-Trägern unter Patienten signifikant häufiger auf ($p = 0,049$).

In der vorliegenden Studie konnten auch Assoziationen zwischen den beiden DRD1-Polymorphismen und der Leistung im WCST:CV4 gefunden werden.

Der Polymorphismus rs4867798 war signifikant mit der Leistung in der Testvariable ‚Prozent nicht-perseverativer Fehler‘ assoziiert. C-Allel-Träger erzielten eine signifikant schlechtere Leistung als T-Allel-Träger ($p = 0,016$) und Probanden mit dem Genotyp C/C eine signifikant schlechtere Leistung als Probanden mit den Genotypen C/T und T/T ($p = 0,016$).

Bezogen auf rs1508765 wurde eine Assoziation mit der Leistung in der Testvariable ‚Anzahl vollständiger Kategorien‘ gefunden. C-Allel-Träger zeigten eine signifikant bessere Leistung als T-Allel-Träger ($p = 0,049$).

5 Diskussion

5.1 Interpretation der Ergebnisse der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

Das Gen des Dopamin-1-Rezeptors (DRD1) stellt aufgrund seiner Position und aufgrund seiner Funktion ein Kandidatengen der Schizophrenie dar.

Zum einen ist das DRD1-Gen auf Chromosom 5 an Position 5q35.1 lokalisiert (Grandy et al., 1990). Für diese Region wurden in mehreren verschiedenen Populationen Kopplungsbefunde mit der Schizophrenie berichtet (Escamilla et al., 2007; Sklar et al., 2004; Zheng et al., 2006).

Vor allem aber aufgrund funktioneller Überlegungen kommt das DRD1-Gen als Kandidatengen der Schizophrenie in Frage.

In der Pathophysiologie der Schizophrenie wird eine Regulationsstörung des Dopaminstoffwechsels angenommen (Abi-Dargham & Moore, 2003; Howes & Kapur, 2009). Aus diesem Grund werden unter den Genen, die das dopaminerge System beeinflussen, Suszeptibilitätsgene der Schizophrenie vermutet (Talkowski et al., 2008). Einer aktuellen Hypothese zufolge tritt bei der Schizophrenie eine Hyperaktivität subkortikaler dopaminerge Strukturen zusammen mit einer Hypoaktivität dopaminerge Projektionen in den präfrontalen Kortex auf (Howes & Kapur, 2009). Die dopaminerge Transmission im präfrontalen Kortex wird vor allem durch den Dopamin-1-Rezeptor vermittelt. Der Dopamin-1-Rezeptor ist der im Neocortex am häufigsten vorkommende Dopamin-Rezeptor und in besonderer Dichte im präfrontalen Kortex zu finden (Hall et al., 1994). Es wird vermutet, dass Defizite der dopaminergen Transmission an D1-Rezeptoren im präfrontalen Kortex mit Negativsymptomen und kognitiven Defiziten schizophrener Patienten einhergehen (Goldman-Rakic et al., 2004; Okubo et al., 1997).

Da genetische Polymorphismen im DRD1-Gen einen Einfluss auf die Expression des D1-Rezeptors und die über ihn bedingte dopaminerge Transmission haben können, ist das DRD1-Gen ein mögliches Kandidatengen der Schizophrenie.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, Assoziationen von zwei DRD1-Polymorphismen mit der Erkrankung Schizophrenie zu untersuchen. Es handelt sich bei den Polymorphismen um rs4867798 und rs1508765. Für rs4867798 liegen negative Assoziationsbefunde aus einer asiatischen Stichprobe (Zhu et al., 2011) und einer kaukasischen Stichprobe (Hoenicka et al.,

5 Diskussion

2010) vor. Um diese Befunde zu überprüfen wurde dieser SNP in die vorliegende Studie aufgenommen. Der Polymorphismus rs1508765 wurde gewählt, um erstmalig seine Bedeutung als Risikofaktor für Schizophrenie zu evaluieren.

Dazu wurden in der vorliegenden Studie die Allel- und Genotyphäufigkeiten dieser beiden Polymorphismen von 123 schizophrenen Patienten und 283 gesunden Kontrollprobanden verglichen, um auf diese Weise mögliche Unterschiede aufzudecken.

So konnte in der vorliegenden Untersuchung eine Assoziation von rs4867798 mit Schizophrenie gefunden werden. Der Genotyp T/T fand sich sowohl im Vergleich mit den Genotypen C/T und C/C ($p = 0,037$) als auch im Vergleich mit den C-Allel-Trägern ($p = 0,017$) in der Patientengruppe signifikant häufiger als in der Kontrollgruppe. Auch das T-Allel war tendenziell mit der Erkrankung assoziiert ($p = 0,066$).

Auch der Polymorphismus rs1508765 war in der vorliegenden Untersuchung mit Schizophrenie assoziiert. Unter schizophrenen Patienten konnten, verglichen mit den T-Allel-Trägern, signifikant häufiger homozygote C-Allel-Träger gefunden werden als unter den Kontrollprobanden ($p = 0,049$).

Bislang wurden zwei Studien veröffentlicht, in denen auch eine Assoziation zwischen rs4867798 und Schizophrenie untersucht wurde (Hoenicka et al., 2010; Zhu et al., 2011).

Zhu et al. (2011) konnten in einer Stichprobe von Han Chinesen keine Assoziation des Polymorphismus rs4867798 mit Schizophrenie nachweisen. Auch ein Haplotyp, in dem rs4867798 enthalten war, war nicht mit Schizophrenie assoziiert.

Auch Hoenicka et al. (2010) fanden in ihrer Untersuchung an einer Stichprobe spanisch-kaukasischer Abstammung keine Assoziation von rs4867798 mit Schizophrenie. Sie konnten jedoch eine Assoziation eines Haplotypen, in dem rs4867798 vorkam, und Schizophrenie nachweisen. Der Haplotyp rs11746641-rs11749676-rs251937-rs12518222-rs4867798 mit der Allelsequenz T-A-T-C-T erwies sich als protektiv, die Allelsequenz G-G-T-C-C war ein tendenzieller Risiko-Faktor. Die Ergebnisse dieser Studie bezogen sich nur auf die männlichen Studienteilnehmer und konnten für das weibliche Geschlecht nicht gefunden werden.

Die Beurteilung einer Assoziation von rs4867798 mit Schizophrenie vor dem Hintergrund der bisher veröffentlichten Ergebnisse sowie der Daten der vorliegenden Studie muss kritisch erfolgen.

Die vorliegende Untersuchung unterscheidet sich von der von Hoenicka et al. (2010) darin, dass Hoenicka et al. (2010) nicht die Gesamtstichprobe auf Assoziationen hin überprüften,

5 Diskussion

sondern gezielt nach geschlechtsspezifischen Unterschieden suchten. Die separate Betrachtung von Männern und Frauen wurde in der vorliegenden Studie nicht durchgeführt, so dass die Daten daraus nicht direkt mit denen von Hoenicka et al. (2010) verglichen werden können. Geschlechtsspezifische Effekte von DRD1-Polymorphismen und anderen Kandidatengen der Schizophrenie sind ein interessanter Ansatzpunkt für weitere Studien. Dies wäre nützlich, um auf diese Weise Ursachen für die Unterschiede zu finden, die bezüglich Krankheitsmanifestation, -verlauf und -prognose zwischen männlichen und weiblichen Patienten bestehen (Koster et al., 2008).

Da in der vorliegenden Untersuchung keine Haplotypen untersucht wurden, ist ein Vergleich der Ergebnisse mit denen von Zhu et al. (2011) und Hoenicka et al. (2010) nur bedingt möglich. Haplotypenanalysen könnten als sinnvolle Erweiterung in zukünftigen Studien berücksichtigt werden.

In der Literatur findet sich bislang keine Studie, in der der SNP rs1508765 oder eine Assoziation dieses SNPs und Schizophrenie untersucht worden ist. Die vorliegende Untersuchung ist nach derzeitigem Kenntnisstand der erste Bericht über eine Assoziation von rs1508765 mit Schizophrenie.

Über die Funktion der beiden Polymorphismen rs4867798 und rs1508765 ist bisher nichts bekannt. In der 3'UTR gelegen wäre ein Einfluss von rs4867798 auf die Genexpression möglich (vergleiche Abbildung 5, Seite 37). Beispielsweise ist für rs686, ein Polymorphismus, der wie rs4867798 in der 3'UTR des DRD1-Gens liegt, eine Assoziation mit Schizophrenie (Zhu et al., 2011) und ein Einfluss auf die Expression von DRD1 beschrieben (Huang et al., 2008).

rs1508765 liegt außerhalb des kodierenden Bereichs in der 5'-Intergenregion von DRD1 (Vergleiche Abbildung 6, Seite 37). Da in der 5'-Region der Promotorbereich vermutet wird, könnte auch rs1508765 einen Einfluss auf die Genexpression haben. Bei einem Abstand von fast 23kb zwischen rs1508765 und DRD1 ist nicht ausgeschlossen, dass der Effekt von rs1508765 nicht über DRD1, sondern über ein anderes Gen vermittelt wird. So befindet sich rs1508765 mit ca. 11kb näher am 5'-Ende von SFXN1. Zu einer Assoziation zwischen SFXN1 und der Schizophrenie ist bislang nichts bekannt.

Eine weitere Hypothese zur Funktion der Polymorphismen rs4867798 und rs1508765 wäre, dass sich beide Polymorphismen mit einem oder mehreren anderen, bisher nicht identifizierten Polymorphismen in einem Kopplungsungleichgewicht befinden, auf die die risikosteigernden Effekte zurückgeführt werden können. Um dies zu klären, wären weitere molekular-

5 Diskussion

genetische Untersuchungen zur Funktion dieser Polymorphismen nützlich.

Ein methodischer Nachteil von Assoziationsuntersuchungen ist die Anfälligkeit für falsch-positive und falsch-negative Befunde (Propping et al., 1994). Um ausschließen zu können, dass die in der vorliegenden Studie gefundenen Unterschiede im Sinne falsch-positiver Befunde zustande gekommen sind, sind weitere Untersuchungen in verschiedenen Populationen nötig. Bis dahin haben insbesondere die zu rs1508765 vorliegenden Befunde explorativen Charakter. Festgehalten werden kann, dass in der Stichprobe der vorliegenden Untersuchung Assoziationen der beiden Polymorphismen rs4867798 und rs1508765 und Schizophrenie gefunden werden konnten.

Neben der vorliegenden Untersuchung konnten in den Fall-Kontroll-Assoziationsstudien von Hoenicka et al. (2010), Zhu et al. (2011) und Lee et al. (2011) sowie in einer Metaanalyse von Allen et al. (2008) Assoziationen von einzelnen oder mehreren Polymorphismen des DRD1-Gens und Schizophrenie gefunden werden (siehe Tabelle 5, Seite 41). Die Ergebnisse dieser Studien und die der vorliegenden Untersuchung stärken die Hypothese, dass das DRD1-Gen ein Suszeptibilitätsgen der Schizophrenie sein könnte. Außerdem liefern sie Hinweise dafür, dass der Dopamin-1-Rezeptor in der Pathophysiologie der Schizophrenie von Bedeutung ist.

Diesen positiven Assoziationsbefunden stehen jedoch Studien gegenüber, in denen sich kein Zusammenhang zwischen dem DRD1-Gen und Schizophrenie belegen ließ. So konnten einige Fall-Kontroll-Assoziationsstudien in verschiedenen Populationen (Campion et al., 1994; Cichon et al., 1994; Cichon et al., 1996; Dmitrzak-Weglarz et al., 2006; Dollfus et al., 1996; Hoogendoorn et al., 2005; Iwata et al., 2003; Kojima et al., 1999; Liu et al., 1995; Srivastava et al., 2010; Talkowski et al., 2008; Zhang et al., 2010) sowie Familien-basierte Assoziationsstudien (Fallin et al., 2005; Talkowski et al., 2008) keine Assoziationen zwischen DRD1-Polymorphismen und Schizophrenie finden (siehe Tabelle 6, Seite 42). Die Befundlage zu einem Zusammenhang zwischen dem DRD1-Gen und Schizophrenie ist inkonsistent.

Neben einer Assoziation der beiden DRD1-Polymorphismen mit Schizophrenie wurde in der vorliegenden Arbeit eine Assoziation dieser Polymorphismen mit der Leistung im WCST:CV4, einem Messinstrument für die präfrontale exekutive Funktion, untersucht. Dies geschah vor dem Hintergrund des Konzepts der Endophänotypen.

5.2 Interpretation der Ergebnisse der Endophänotypen-Studie

Insbesondere die kognitiven Prozesse sind bei schizophrenen Patienten beeinträchtigt, die von der Funktion des präfrontalen Kortex abhängig sind (Arnsten, 2011). Dies betrifft vor allem die exekutiven Funktionen (Arnsten & Li, 2005). Bei schizophrenen Patienten konnte während der Bearbeitung des WCST, einem Test zur Erfassung der präfrontalen exekutiven Funktion, eine verminderte Aktivität des dorsolateralen präfrontalen Kortex nachgewiesen werden. Außerdem korrelierte diese Aktivität mit der Leistung im WCST (Weinberger et al., 1986).

Für eine genetische Grundlage der exekutiven Funktion spricht der Befund, dass die verminderte Leistung im WCST auch bei gesunden Erstgrad-Angehörigen schizophrener Patienten gefunden werden konnte (Snitz et al., 2006; Szöke et al., 2005). Demzufolge wird die exekutive Funktion bzw. Dysfunktion, operationalisiert mithilfe des WCST, als Endophänotyp der Schizophrenie diskutiert (Everett et al., 2001; Kremen et al., 2007).

Ein modulierender Einfluss des dopaminergen Systems auf die Funktion des präfrontalen Kortex gilt als gesichert (Seamans & Yang, 2004). Egan et al. (2001b) konnten in einer Studie eine Assoziation des COMT-Val158Met-Polymorphismus mit der Leistung im WCST finden und damit einen Zusammenhang zwischen dem dopaminergen System und der präfrontalen exekutiven Funktion aufdecken. Die Met158-Form dieses COMT-Polymorphismus bewirkt über eine geringere Enzymaktivität eine höhere Konzentration von Dopamin als die Val158-Form (Chen et al., 2004). Egan et al. (2001b) fanden heraus, dass das Val-Allel dieses Polymorphismus mit mehr perseverativen Fehlern im WCST und einem leicht erhöhten Risiko, an Schizophrenie zu erkranken, verbunden ist. In der Studie von Egan et al. (2001b) erklärte der Val158Met-Polymorphismus 4% der Varianz der Häufigkeit perseverativer Fehler. Der Einfluss genetischer Faktoren auf die Leistung im WCST wird aber deutlich höher eingeschätzt (Anokhin et al., 2003). Dies rechtfertigt die Hoffnung, Assoziationen zwischen anderen Genen, die das dopaminerge System beeinflussen, und der Leistung im WCST zu finden.

Es gibt Hinweise dafür, dass für die optimale Funktion des präfrontalen Kortex insbesondere die dopaminerge Transmission an D1-Rezeptoren von Bedeutung ist (Goldman-Rakic et al., 2000; Williams & Goldman-Rakic, 1995). Bei schizophrenen Patienten konnte eine Korrelation zwischen einer veränderten D1-Rezeptordichte im präfrontalen Kortex und der Leistung im WCST nachgewiesen werden (Okubo et al., 1997). Ein Einfluss genetischer Polymorphismen des DRD1-Gens auf die Transmission an D1-Rezeptoren und damit auf die Funkti-

5 Diskussion

on des präfrontalen Kortex wäre denkbar. In der Literatur finden sich bisher wenige Studien, die eine Assoziation zwischen einem DRD1-Polymorphismus und der Leistung im WCST als Maß für die präfrontale exekutive Funktion gefunden haben (Lane et al., 2008; Rybakowski et al., 2005; Wilkosc et al., 2010).

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, Assoziationen zwischen den zwei oben genannten Polymorphismen rs4867798 und rs1508765 des DRD1-Gens und der Leistung im WCST zu untersuchen. Alle Studienteilnehmer, sowohl 283 gesunde Kontrollprobanden als auch 123 schizophrene Patienten, absolvierten dazu den WCST:CV4. Nach dessen Auswertung wurde überprüft, ob sich in Abhängigkeit von den einzelnen Genotypen und Allelen der beiden Polymorphismen Unterschiede in der erzielten Leistung zeigten.

Dabei fanden sich Assoziationen zwischen dem Polymorphismus rs4867798 und der Testvariable ‚Prozent nicht-perseverativer Fehler‘. C-Allel-Träger erzielten eine signifikant schlechtere Leistung als T-Allel-Träger ($p = 0,016$). In derselben Variable zeigten Probanden mit dem Genotyp C/C signifikant schlechtere Leistungen als die Genotypen C/T und T/T ($p = 0,016$). Diese Ergebnisse belegen in der vorliegenden Stichprobe einen Zusammenhang zwischen rs4867798 und der präfrontalen exekutiven Funktion. Da die Testvariable ‚Prozent nicht-perseverativer Fehler‘ als Indikator für unzureichende Problemlösefähigkeit und eine ineffektive Strategie, Hypothesen zu testen (Polgar et al., 2010), gilt, kann ein Effekt von rs4867798 insbesondere für diesen Teilaspekt der präfrontalen exekutiven Funktion angenommen werden.

Auch für den Polymorphismus rs1508765 konnte eine Assoziation mit der Leistung im WCST gefunden werden. C-Allel-Träger waren in der Testvariable ‚Anzahl vollständiger Kategorien‘ signifikant besser als T-Allel-Träger ($p = 0,049$). Aufgrund dieser Ergebnisse kann ein Zusammenhang zwischen dem Polymorphismus rs1508765 und dem mithilfe dieser Variable erfassten allgemeinen exekutiven Funktionsniveau (Polgar et al., 2010) angenommen werden.

Die Testvariable ‚Prozent perseverativer Fehler‘, die die präfrontale Funktion am besten widerspiegeln soll (Egan et al., 2001b), war weder mit rs4867798 noch mit rs1508765 assoziiert.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie überraschen. Allele oder Genotypen, die mit Schizophrenie assoziiert sind, sind demzufolge mit einer besseren Leistung im WCST assoziiert. So zeigten C-Allel-Träger des Polymorphismus rs4867798 in der Testvariable ‚Prozent nicht-

5 Diskussion

perseverativer Fehler' eine schlechtere Leistung als T-Allel-Träger und der Genotyp C/C schnitt schlechter ab als die Genotypen C/T und T/T, jedoch war der Genotyp T/T signifikant und das T-Allel tendenziell mit Schizophrenie assoziiert. Auch bezüglich des Polymorphismus rs1508765 schnitt das C-Allel in der Variable ‚Anzahl vollständiger Kategorien‘ besser ab als das T-Allel ab, während der Genotyp C/C verglichen mit den T-Allel-Trägern unter schizophrenen Patienten häufiger zu finden war.

Eine Ursache dieser inkonsistenten Befundlage könnte eine Heterogenität auf Allelebene sein. Demzufolge könnten unterschiedliche Allele beider Polymorphismen unabhängig voneinander mit Schizophrenie und der Leistung im WCST:CV4 assoziiert sein. Ebenso könnten Zufallseffekte als Erklärung in Frage kommen. Da derzeit nichts über die Funktion der beiden Polymorphismen bekannt ist, bleibt es unklar, wie die gefundenen Assoziationen auf molekulargenetischer Ebene erklärt werden können und ob eine Kopplung mit anderen Polymorphismen ursächlich in Frage kommt. Dies zu klären bleibt Aufgabe weiterer Studien.

In der Literatur finden sich keine mit der vorliegenden Untersuchung direkt vergleichbaren Studien. Bislang wurden 3 Studien veröffentlicht, die Assoziationen zwischen DRD1-Polymorphismen und der Leistung im WCST untersucht haben (Lane et al., 2008; Rybakowski et al., 2005; Wilkosc et al., 2010). Alle drei Studien untersuchten nur einen DRD1-Polymorphismus und beschränkten sich auf 48A/G (rs4532). Dieser befindet sich innerhalb von Exon 2 in der 5'UTR des DRD1-Gens.

Rybakowski et al. (2005) untersuchten einen Zusammenhang zwischen Polymorphismen von Genen mehrerer Dopamin-Rezeptoren und der Leistung im WCST bei schizophrenen Patienten. Dabei zeigten Patienten mit dem Genotyp G/G des DRD1-Polymorphismus 48A/G in allen untersuchten Testvariablen des WCST schlechtere Leistungen als Patienten mit den Genotypen A/A und A/G. Statistische Signifikanz erreichten die Unterschiede in den Testvariablen ‚Summe der Zuordnungen bis zum erfolgreichen Abschluss der ersten Kategorie‘ sowie ‚Anzahl vollständiger Kategorien‘.

Wilkosc et al. (2010) fanden in einer Studie über einen Zusammenhang zwischen 48A/G und der Leistung im WCST bei gesunden Probanden geschlechtsspezifische Unterschiede. Frauen mit dem Genotyp A/A des Polymorphismus 48A/G erzielten in der Testvariable ‚Summe der Zuordnungen bis zum erfolgreichen Abschluss der ersten Kategorie‘ signifikant schlechtere Leistungen als Frauen mit dem Genotyp G/G. In derselben Variable waren Männer mit den Genotypen A/A und A/G hingegen besser als die Träger des Genotyps G/G. Eine schlechtere Leistung der homozygoten G-Träger verglichen mit homozygoten A-Trägern zeigte sich bei Männern auch bei ‚Prozent nicht-perseverativer Fehler‘ sowie bei dem ‚pro-

5 Diskussion

zentualen Anteil an richtigen Zuordnungen, die in unmittelbarer Folge von mindestens 3 Stück erfolgt sind'.

Lane et al. (2008) entdeckten in einer Stichprobe gesunder Han Chinesen bezüglich des Polymorphismus 48A/G, dass Träger des Genotyps A/G 74% mehr perseverative Fehler und homozygote G-Träger 101% mehr perseverative Fehler machten als Probanden mit dem Genotyp A/A.

Die Ergebnisse der vorgestellten Studien sind mit der vorliegenden Untersuchung nur bedingt vergleichbar. Zwar konnten in allen Studien Assoziationen eines DRD1-Polymorphismus mit der Leistung in einzelnen Testvariablen des WCST gefunden werden, diese Testvariablen unterscheiden sich jedoch teilweise. Wilkosc et al. (2010) und Rybakowski et al. (2005) fanden Assoziationen zwischen dem DRD1-Polymorphismus 48A/G und der Leistung in der Testvariable ‚Summe der Zuordnungen bis zum erfolgreichen Abschluss der ersten Kategorie‘. Diese Testvariable wurde in der vorliegenden Studie nicht berücksichtigt. Dasselbe trifft auf die Testvariable des ‚prozentualen Anteils an richtigen Zuordnungen, die in unmittelbarer Folge von mindestens 3 Stück erfolgt sind‘, zu, zwischen deren Leistung und 48A/G Wilkosc et al. (2010) eine Assoziation aufdecken konnten.

Das von Rybakowski et al. (2005) gefundene schlechtere Abschneiden von Patienten mit dem Genotyp G/G verglichen mit den Trägern der Genotypen A/A und A/G von 48A/G in der Testvariable ‚Anzahl vollständiger Kategorien‘ entspricht dem in der vorliegenden Studie gefundenen verglichen mit den C-Allel-Trägern schlechteren Abschneiden der T-Allel-Träger des Polymorphismus rs1508765 in dieser Variable. Die von Wilkosc et al. (2010) unter den männlichen Studienteilnehmern gefundene schlechtere Leistung der homozygoten G-Träger verglichen mit den homozygoten A-Trägern von 48A/G in der Testvariable ‚Prozent nicht-perseverativer Fehler‘ ist teilweise im Einklang mit der zum Polymorphismus rs4867798 gefundenen schlechteren Leistung der C-Allel-Träger verglichen mit den T-Allel-Trägern, sowie mit dem schlechteren Abschneiden der Träger der Genotypen C/C verglichen mit den Trägern der Genotypen C/T und T/T. Allerdings wurden in der vorliegenden Arbeit im Gegensatz zu der Studie von Wilkosc et al. (2010) keine geschlechtsspezifischen Unterschiede untersucht. Die von Lane et al. (2008) gefundenen Unterschiede in der Testvariable ‚Prozent perseverativer Fehler‘ konnten weder beim Polymorphismus rs4867798 noch bei rs1508765 gefunden werden.

Der Sinn einer so differenzierten Betrachtung einzelner Testvariablen bleibt unklar. Es ist noch ungeklärt, ob und in welcher Güte die einzelnen Testvariablen des WCST verschiedene

5 Diskussion

Teilaspekte exekutiver Funktionen messen können (Strauss et al., 2006).

Hoenicke et al. (2010) fanden geschlechtsspezifische Assoziationen von 48A/G und der Leistung im WCST. Ein Vergleich mit der vorliegenden Untersuchung ist insofern nur eingeschränkt möglich, als die getrennte Betrachtung von Männern und Frauen nicht Gegenstand der vorliegenden Untersuchung war. Dies könnte insbesondere vor dem Hintergrund der von Hoenicke et al. gefundenen Ergebnisse eine sinnvolle Ergänzung für zukünftige Studien darstellen.

Die Ergebnisse der vorgestellten Studien und der vorliegenden Arbeit erhärten den Verdacht, dass Assoziationen zwischen DRD1-Polymorphismen und der präfrontalen exekutiven Funktion bestehen, und unterstützen die Hypothese, dass der D1-Rezeptor an der Funktion des präfrontalen Kortex beteiligt ist.

5.3 Diskussion der Methoden

Die inkonsistenten Ergebnisse der verschiedenen Studien könnten auf methodischen Unterschieden beruhen.

Ethnische Abstammung

Allel- und Genotyp-Frequenzen können sich zwischen verschiedenen Ethnizitäten unterscheiden. Da in Assoziationsstudien aufgrund von Stratifikationseffekten falsch-positive Befunde resultieren können, ist es wichtig, dass Fall- und Kontrollgruppe dieselbe ethnische Abstammung haben (Owen, 2000). Aus diesem Grund wurde die Teilnahme an vorliegender Untersuchung sowohl für Patienten als auch für Kontrollprobanden auf Personen mit kaukasischer Abstammung beschränkt.

Auch beim Vergleich verschiedener Studien sollte die Abstammung der Untersuchungsstichproben berücksichtigt werden, da sich die Ergebnisse aufgrund von populationsspezifischen genetischen Faktoren unterscheiden können. Die Stichproben der Studien, die im Hinblick auf eine Assoziation des DRD1-Gens und Schizophrenie durchgeführt wurden, stammen aus unterschiedlichen Ethnizitäten (siehe Tabelle 5 auf Seite 41 und Tabelle 6 auf Seite 42). Die Populationsabhängigkeit wäre eine mögliche Erklärung dafür, dass in der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie von Zhu et al. (2011) der Polymorphismus rs4867798 im Gegensatz zu der vorliegenden Untersuchung nicht mit Schizophrenie assoziiert war. Zhu et al. (2011) untersuchten eine Stichprobe von Han Chinesen. Die Populationsabhängigkeit kann jedoch nicht als Erklärung der unterschiedlichen Ergebnisse herangezogen werden, die sich zwischen der vorliegenden Studie und der Studie von Hoenicka et al. (2010) bezüglich rs4867798 ergeben haben. Hoenicka et al. (2010) fanden in einer kaukasischen Stichprobe keine Assoziation von rs4867798 mit Schizophrenie. In der vorliegenden Studie hingegen war rs4867798 in einer Stichprobe derselben ethnischen Abstammung mit Schizophrenie assoziiert.

Auch bei einem Vergleich der Referenzstudien, die eine Assoziation von DRD1-Polymorphismen und Schizophrenie untersucht haben, fällt auf, dass trotz gleicher ethnischer Herkunft der Stichproben keine einheitlichen Ergebnisse erzielt werden konnten. So war in zwei Studien mit kaukasischer Stichprobe das DRD1-Gen mit Schizophrenie assoziiert (Hoenicka et al., 2010, vorliegende Studie), während andere Studien trotz der gleichen Abstammung keine Assoziation finden konnten (Campion et al., 1994; Cichon et al., 1994; Cichon et al., 1996; Dmitrzak-Weglarczyk et al., 2006; Dollfus et al., 1996; Hoogendoorn et al., 2005; Liu et al., 1995; Talkowski et al., 2008). Auch Studien aus asiatischen Stichproben er-

5 Diskussion

brachten uneindeutige Ergebnisse. Einige Studien berichten positive Assoziationsbefunde (Lee et al., 2011; Zhu et al., 2011), wohingegen andere diese Zusammenhänge nicht finden konnten (Iwata et al., 2003; Kojima et al., 1999; Zhang et al., 2010). Als Ursache dieser uneinheitlichen Befundlage könnte eine Allelheterogenität der Schizophrenie vermutet werden.

Möglicherweise wurden aber auch keine einheitlichen Ergebnisse erzielt, da in den einzelnen Studien verschiedene SNPs untersucht wurden. Für den Polymorphismus rs4532, der in vielen Studien Gegenstand der Untersuchung war, konnte in einer durchgeführten Metaanalyse (Allen et al., 2008) trotz einer gemischten Population eine Assoziation mit Schizophrenie gefunden werden. Dieser Befund könnte ein Hinweis dafür sein, dass rs4532 in verschiedenen Ethnizitäten mit Schizophrenie assoziiert ist.

Von den Referenzstudien, die einen Zusammenhang zwischen DRD1-Polymorphismus und der Leistung im WCST untersuchten, kann im Bezug auf die Population der Studie von Wilkosc et al. (2010) von einer Vergleichbarkeit mit vorliegender Studie ausgegangen werden, da die Probanden kaukasischen Ursprungs waren. Rybakowski et al. (2005) nahmen keine Beschränkung ihrer Stichprobe in Bezug auf die Ethnizität vor. Bei den Teilnehmern handelte es sich um Patienten der Universitätsklinik von Posen (Polen). Eine kaukasische Herkunft kann vermutet werden, allerdings ist eine Vermischung mit Patienten anderer Ethnizitäten nicht ausgeschlossen. Die Tatsache, dass Rybakowski et al. (2005) genauso wie Lane et al. (2008) in einer chinesischen Stichprobe und Wilkosc et al. (2010) in einer kaukasischen Stichprobe Assoziationen von 48A/G und der Leistung im WCST fanden, könnte ein Hinweis dafür sein, dass in verschiedenen Ethnizitäten derselbe Genpolymorphismus mit der Leistung im WCST und somit mit der Funktion des präfrontalen Kortex assoziiert sein könnte. Da in der Metaanalyse von Allen et al. (2008), die Studien verschiedener Populationen analysierten, rs4532 (48A/G) auch mit Schizophrenie assoziiert war, könnte dieser Polymorphismus populationsübergreifend sowohl als Marker für die Vulnerabilität, an Schizophrenie zu erkranken, als auch als schizophrenierelevanter Endophänotyp geeignet sein.

Um einen Eindruck davon zu bekommen, welche Unterschiede zwischen den Allel- und Genotyp-Frequenzen verschiedener Ethnizitäten bestehen, können die Daten des International HapMap Projects (<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>) genutzt werden. Das Internationale HapMap Projekt, ein Großprojekt aus international zusammenarbeitenden Forscherteams, befasst sich mit der Katalogisierung der Variabilität des menschlichen Genoms. Seit 18. August 2010 steht das HapMap3-Sample für Vergleiche zur Verfügung (HapMap, 2010).

5 Diskussion

Der Vergleich der Allel- und Genotyp-Frequenzen von rs4867798 in der vorliegenden Arbeit mit denen in Stichproben anderer Ethnizitäten aus dem HapMap3-Sample ist in Tabelle 27, der von rs1508765 ist in Tabelle 28 (Seite 88) dargestellt. Dabei fallen deutliche Unterschiede auf. Bezogen auf den SNP rs4867798 unterscheidet sich die Verteilung der Allele und Genotypen der Stichprobe der vorliegenden Arbeit deutlich von der Stichprobe aus Tokyo und China. Die im Vergleich mit der kaukasischen Stichprobe der Bewohner aus Utah geringeren Abweichungen können als Hinweis für die Validität der Ergebnisse der vorliegenden Studie gewertet werden.

Tabelle 27: Allel- und Genotyp-Frequenzen des SNP rs4867798 in der vorliegenden Studie im Vergleich mit Stichproben verschiedener Populationen des HapMap3-Samples (HapMap, 2010)

rs4867798						
Population	n	Genotyp			Allel	
		CC	CT	TT	C	T
Vorliegende Studie	406	0,096	0,384	0,520	0,288	0,712
HapMap-CEU = Europäer (Bewohner Utahs mit nord- und westeuropäischer Herkunft)	226	0,053	0,478	0,496	0,292	0,708
HapMap-HCB = Han Chinesen (Beijing)	272	0,199	0,471	0,331	0,434	0,566
HapMap-JPT = Japaner (Tokyo)	226	0,221	0,558	0,221	0,5	0,5
HapMap-YRI = Afrikaner (Nigeria)	290	0,062	0,386	0,552	0,255	0,745

Auch bei rs1508765 zeigen sich deutliche Unterschiede, wobei wiederum bezüglich der kaukasischen Stichprobe aus Utah die größte Ähnlichkeit mit vorliegender Studie zu bestehen scheint.

5 Diskussion

Tabelle 28: Allel- und Genotyp-Frequenzen des SNP rs1508765 in der vorliegenden Studie im Vergleich mit Stichproben verschiedener Populationen des HapMap3-Samples (HapMap, 2010)

rs1508765						
Population	n	Genotyp			Allel	
		CC	CT	TT	C	T
Vorliegende Studie	424	0,210	0,491	0,300	0,455	0,545
HapMap-CEU = Europäer (Bewohner Utahs mit nord- und westeuropäischer Herkunft)	128	0,188	0,562	0,250	0,469	0,531
HapMap-HCB = Han Chinesen (Beijing)	86	0,209	0,395	0,395	0,407	0,593
HapMap-JPT = Japaner (Tokyo)	82	0,171	0,488	0,341	0,415	0,585

Neben den genetischen Variationen unterscheiden sich auch die interagierenden Umweltfaktoren zwischen verschiedenen ethnischen Gruppen. Dies kann ebenfalls zu unterschiedlichen Assoziationen in verschiedenen Populationen führen.

Einschlusskriterien

Differierende Ergebnisse verschiedener Assoziationsstudien können zusätzlich durch unterschiedliche Einschlusskriterien und Diagnoseverfahren bedingt sein.

Die Teilnahme an vorliegender Studie wurde auf Patienten beschränkt, die die Kriterien einer Schizophrenie gemäß DSM-IV erfüllten. Die meisten Assoziationsstudien, die als Referenz für vorliegende Arbeit herangezogen wurden, wandten für die Auswahl der Patientengruppe die Kriterien des DSM-III (Campion et al., 1994), des DSM-III-R (Cichon et al., 1994; Cichon et al., 1996; Dollfus et al., 1996; Liu et al., 1995) oder des DSM-IV (Dmitrzak-Weglarz et al., 2006; Hoenicka et al., 2010; Hoogendoorn et al., 2005; Iwata et al., 2003; Kojima et al., 1999; Lee et al., 2011; Srivastava et al., 2010; Talkowski et al., 2008; Zhang et al., 2010; Zhu et al., 2011) an. Auch die Patienten der familienbasierten Assoziationsstudien (Fallin et al., 2005; Talkowski et al., 2008) erfüllten die DSM-IV-Kriterien. Die Metaanalyse von Allen et al. (2008) analysierte Studien, die DSM-III-R- oder DSM-IV-Kriterien voraussetzten.

Aufgrund vergleichbarer Diagnosekriterien in vorliegender Studie und sämtlichen Referenzstudien kann somit eine unterschiedliche Zusammensetzung der Patientenstichprobe als Erklärung für abweichende Ergebnisse verschiedener Studien ausgeschlossen werden.

5 Diskussion

Die Kontrollprobanden der vorliegenden Studie durchliefen vor einer Teilnahme SKID (Wittchen et al., 1997), FHAM (Rice et al., 1995) und LEBI (Richter & Guthke, 1996), um das Vorliegen neurologischer und psychiatrischer Erkrankungen sowie eine psychiatrische Familienanamnese ausschließen zu können. Dies diente dazu, den Patienten eine möglichst gesunde Vergleichsgruppe gegenüberstellen zu können. In vielen Assoziationsstudien wurden die Kontrollprobanden auch bezüglich psychiatrischer Erkrankungen des Teilnehmers oder eines Vorhandenseins in dessen Familie befragt (Campion et al., 1994; Cichon et al., 1994; Cichon et al., 1996; Dollfus et al., 1996; Iwata et al., 2003; Kojima et al., 1999). In anderen Studien wurde die Teilnahme auf das Fehlen psychiatrischer Erkrankungen lediglich bei den Probanden selbst beschränkt (Lee et al., 2011; Zhu et al., 2011), wobei Liu et al. (1995) dies mittels Studiums der Krankenakten überprüften. Wiederum andere Assoziationsstudien verwendeten als Kontrollgruppe Blutspender und das Klinikpersonal, Mitarbeiter oder Studenten (Dmitrzak-Weglarz et al., 2006; Hoogendoorn et al., 2005; Zhang et al., 2010) oder das Blut Neugeborener (Talkowski et al., 2008). Hoenicka et al. (2010) beschreiben ihre Kontrollgruppe neben der Angabe, dass es sich um gesunde Probanden handelt, nicht genauer.

Durch die Verwendung von anonymen Blutspendern ebenso wie durch eine unzureichende Prüfung der Gesundheit von Kontrollprobanden kann nicht ausgeschlossen werden, dass auch Blut von an Schizophrenie erkrankten Personen als Kontrolle herangezogen wird. Ebenso birgt die Verwendung des Bluts Neugeborener die Gefahr, dass Individuen, die die genetische Anlage für eine Schizophrenie tragen und diese gegebenenfalls später entwickeln werden, in die Kontrollgruppe eingeschlossen werden. Aufgrund der damit einhergehenden Angleichung genetischer Differenzen könnte dadurch die Detektion von Unterschieden erschwert werden. Gerade in Studien, in denen dies nicht explizit überprüft worden ist, könnten Probanden mit positiver Familienanamnese für Schizophrenie oder andere psychiatrische Erkrankungen eingeschlossen worden sein, die eine gleiche oder ähnliche genetische Mutation tragen könnten wie die erkrankte Vergleichsgruppe. Dies würde die Vergleichbarkeit der Studien einschränken und wäre eine Erklärung für abweichende Befunde der verschiedenen Studien.

Die Studien, die eine Assoziation des DRD1-Gens mit der Leistung im WCST untersuchten, überprüften die Gesundheit der Teilnehmer anhand von DSM-IV-Kriterien (Lane et al., 2008) oder DSM-IV und ICD-10-Kriterien (Wilkosc et al., 2010) bzw. im Falle von Rybakowski et al. (2005) die Schizophrenieerkrankung der Teilnehmer anhand von DSM-IV- und ICD-10-Kriterien. Somit ist aufgrund ähnlicher Einschlusskriterien eine Vergleichbarkeit dieser Studi-

5 Diskussion

en mit der vorliegenden Arbeit gegeben.

Die genannten Studien und vorliegende Arbeit unterscheiden sich in Hinblick auf die untersuchten Stichproben. In vorliegender Arbeit wurden gesunde Probanden und schizophrene Patienten zusammengefasst und somit über alle Studienteilnehmer hinweg die Allel- und Genotypen der analysierten DRD1-Polymorphismen auf eine Assoziation mit der Leistung im WCST:CV4 untersucht. Lane et al. (2008) und Wilkosc et al. (2010) testeten gesunde Probanden, Rybakowski et al. (2005) dagegen eine Gruppe schizophrener Patienten. Ein Einfluss von DRD1-Polymorphismen auf die Leistung im WCST kann somit sowohl für schizophrene Patienten als auch für gesunde Personen angenommen werden.

Stichprobengröße

Die Betrachtung der Stichprobengröße von Assoziationsstudien ist wichtig, da ein zu geringer Stichprobenumfang sowohl zu falsch-positiven als auch zu falsch-negativen Befunden und damit zu variierenden Ergebnissen führen kann (Propping et al., 1994). In der vorliegenden Untersuchung gingen in die Analyse von rs4867798 123 schizophrene Patienten und 283 Kontrollen und in die Analyse von rs1508765 126 schizophrene Patienten und 298 Kontrollen ein. Somit konnten alle Referenzstudien, in denen Assoziationen zwischen DRD1-Polymorphismen und Schizophrenie gefunden wurden, mehr Personen in ihre Analysen einschließen als die vorliegende Studie (vergleiche Tabelle 5 Seite 41). Verglichen mit der Teilnehmerzahl der Referenzstudien, in denen keine Assoziationen zwischen DRD1-Polymorphismen gefunden werden konnten, gab es sowohl Studien mit mehr als auch mit weniger Teilnehmern (vergleiche Tabelle 6 Seite 42).

Neuropsychologische Methoden

In vorliegender Arbeit und in den Studien von Wilkosc et al. (2010), Lane et al. (2008) und Rybakowski et al. (2005) wurde eine Assoziation des DRD1-Gens mit der Leistung im WCST untersucht. In der vorliegenden Arbeit kam dafür der WCST:CV4 (Heaton & PAR, 2003) zum Einsatz. Auch Wilkosc et al. (2010) und Rybakowski et al. (2005) verwendeten eine computergestützte Version des WCST, deren Programmversion aber nicht genauer beschrieben wurde. Es kann daher nicht ausgeschlossen werden, dass es sich in den Studien von Wilkosc et al. (2010), Rybakowski et al. (2005) und vorliegender Arbeit um unterschiedliche Computerversionen handelt. Da es keine Daten zur Äquivalenz verschiedener Computerversionen des WCST gibt, könnte die Vergleichbarkeit der genannten Studien eingeschränkt sein.

In der Studie von Lane et al. (2008) wurde die Kartenversion des WCST eingesetzt, die ein

5 Diskussion

höheres Risiko für Durchführungs- oder Auswertungsfehler birgt. Auch die Frage der Äquivalenz von Ergebnissen, die zum einen mit dem WCST:CV4 und zum anderen mit der Kartenversion erhoben wurden, ist ungeklärt. Denkbar wäre beispielsweise, dass manche, insbesondere ältere Probanden Schwierigkeiten im Umgang mit Computern haben könnten und sich deshalb die mithilfe einer Computerversion ermittelten Ergebnisse nicht mit denen vergleichen ließen, die mit einer Kartenversion erhoben wurden (Strauss et al., 2006).

Einige Studien verglichen andere Computer-Versionen als den WCST:CV4 mit der Kartenversion des WCST.

Artiola i Fortuny und Heaton (1996) beobachteten, dass mittels einer computergestützten Version des WCST bei 119 gesunden spanischen Probanden ähnliche Ergebnisse erzielt werden konnten wie mit der klassischen Karten-Version des WCST.

In einer Gruppe von 30 psychiatrischen Patienten konnten Hellman et al. (1992) keine signifikanten Unterschiede zwischen einer Computer-Version und der Standard-Version des WCST feststellen.

In einer Untersuchung von Feldstein et al. (1999) wurden mehrere unterschiedliche computergestützte Versionen mit der Standard-Version des WCST verglichen. Dabei konnte bezogen auf die erhobenen Daten keine der Computer-Versionen als der Standard-Version äquivalent befunden werden.

Ozonoff (1995) berichtet, dass autistische Kinder in einer Computer-Version weniger Fehler machten als in der Karten-Version.

In allen vorgestellten Untersuchungen kamen andere computergestützte Versionen des WCST zum Einsatz als der WCST:CV4. Dennoch scheint damit eine Skepsis gegenüber der Vergleichbarkeit von computergesteuerten Versionen des WCST mit der klassischen Kartenversion berechtigt.

Dies gilt es insbesondere bei einem Vergleich der Studie von Lane et al. (2008) mit vorliegender Studie zu beachten.

Aufgrund fehlender Daten zu Gütekriterien des WCST:CV4 ist die Aussagekraft und die Vergleichbarkeit der mit ihm erhobenen Daten eingeschränkt.

Auch in Hinblick auf die Kartenversion des WCST bestehen Zweifel an dessen Gütekriterien. Berücksichtigt werden muss, dass die in der vorliegenden Arbeit verwendete Testvariable ‚Prozent perseverativer Fehler‘ von Heaton et al. (1993) als nur ausreichend reliabel bewertet wird und dies die Aussagekraft der mit dieser Testvariable erzielten Ergebnisse in Frage stellt.

5 Diskussion

Obgleich der WCST mit Ausnahme einiger Testvariablen als reliabel bezeichnet wird (Heaton et al., 1993), muss angemerkt werden, dass die Standardmessfehler der einzelnen Testvariablen relativ groß sind (z.B. 10,28 für ‚Perseverative Fehler‘) (Strauss et al., 2006).

Außerdem existieren Studien, in denen schlechte Retest-Reliabilitäten des WCST gefunden wurden. So berichten Paolo et al. (1996) in einer Studie, in der sie 87 gesunde Erwachsene nach ca. einem Jahr erneut mit dem WCST testeten, von geringen Stabilitätskoeffizienten und einer deutlichen Verbesserung der Leistung beim Retest.

Auch Basso et al. (1999) testeten 50 gesunde Erwachsene mit Unterbrechung von 12 Monaten zweimal mit dem WCST und fanden signifikante Verbesserungen in beinahe allen Indizes. ‚Anzahl perseverativer Fehler‘ und ‚Anzahl perseverativer Antworten‘ fielen auf beinahe die Hälfte.

Laut Strauss et al. (2006) lassen die schlechten Retest-Reliabilitäten im Sinne zu großer Messfehler an der Brauchbarkeit des WCST zweifeln. Zugunsten des WCST kann argumentiert werden, dass bei gesunden Probanden möglicherweise Übungseffekte die schlechten Reliabilitätskoeffizienten bedingen. Gesunde Probanden könnten testspezifisches prozedurales Wissen behalten, beim Retest somit besser abschneiden, was zu einer schlechten Retest-Reliabilität führen würde. Demzufolge müssten Retest-Reliabilitäten in klinischen Stichproben aufgrund einer geringeren Beeinflussung durch Übungseffekte besser ausfallen (Strauss et al., 2006). Passend zu dieser Hypothese wurden verschiedene Studien veröffentlicht.

Ozonoff (1995) unterzog autistische und lernbehinderte Kinder zweimal dem WCST mit einem Abstand von zweieinhalb Jahren und fand dabei Generalisierbarkeitskoeffizienten, die größer als 0,90 waren.

Ingram et al. (1999) testeten Patienten mit unbehandeltem Schlafapnoesyndrom in einem Abstand von einem bis 71 Tagen zweimal und fanden Korrelationen von 0,34 bis 0,83 und einem Mittelwert von 0,64.

Greve et al. (2002) berichten bei Patienten mit schwerem Schädel-Hirn-Trauma in der Vorgeschichte und medianem Retest-Zeitpunkt nach 53,7 Wochen über ausreichende Generalisierbarkeitskoeffizienten.

Trotzdem der WCST als Maß für die Funktion des präfrontalen Kortex gilt, bestehen Zweifel an seiner Validität (Mountain & Snow, 1993; Nyhus & Barcelo, 2009). Zum einen konnte in klinischen Studien gezeigt werden, dass auch Hirnschäden, die andere Bereiche als den frontalen Kortex betreffen, Einfluss auf die Leistung des WCST haben können. Zum anderen offenbarten funktionelle Bildgebungsstudien mit gesunden Probanden während der Absolvie-

5 Diskussion

Die Aktivierung des WCST eine großflächige kortikale und subkortikale Aktivierung, die sowohl frontale als auch nicht-frontale Areale betrifft (Nyhus & Barcelo, 2009). Daher scheint der WCST als Test ungeeignet, der nur die Funktion des präfrontalen Kortex abbilden soll (Mountain & Snow, 1993).

Auch an der Validität des WCST als Messinstrument exekutiver Funktionen bestehen Zweifel. Zu beachten ist, dass das Konstrukt der exekutiven Funktionen aus vielen kognitiven Teilprozessen besteht, die je nach kontextueller Anforderung oder vorgelegtem Test unterschiedlich beansprucht werden. Deshalb bestehen Zweifel daran, dass ein Test als globales Maß für exekutive Funktionen ausreichen kann (Strauss et al., 2006).

Es ist ungeklärt, welchen Teilprozess der exekutiven Funktionen der WCST erfasst (Strauss et al., 2006). Für den WCST werden verschiedene Fähigkeiten benötigt. Diese sind unter anderem die Verarbeitung visueller und numerischer Informationen, das Erkennen der relevanten Stimulus-Eigenschaften, das Ableiten von Zuordnungsregeln, die Fähigkeit, die gültige Zuordnungsregel im Gedächtnis zu behalten, sowie das „*Set-Shifting*“. Auch die Motivation hat entscheidenden Einfluss. Zwar trägt das „*Set-Shifting*“ als exekutive Funktion signifikant zur Leistung im WCST bei (Miyake et al., 2000; Strauss et al., 2006). Aber auch Störungen in jeder der zuvor genannten oder einer anderen Komponente können die Leistung im WCST beeinflussen (Strauss et al., 2006). Demzufolge kann das gleiche Testergebnis aus unterschiedlichen Defiziten resultieren (Kremen et al., 2007).

Die vorgestellten Daten zu den Gütekriterien des WCST verbunden mit der Unklarheit darüber, wie gut sich diese Aussagen auf den WCST:CV4 übertragen lassen, begründen Bedenken gegenüber einem Einsatz des WCST:CV4.

5.4 Ausblick auf zukünftige Untersuchungen

In der vorliegenden Untersuchung konnten Assoziationen der Polymorphismen rs4867798 und rs1508765 des DRD1-Gens mit Schizophrenie gefunden werden. Außerdem waren die beiden Polymorphismen mit dem schizophrenierelevanten Endophänotyp der präfrontalen exekutiven Funktion assoziiert. Die vorliegende Untersuchung liefert damit Hinweise dafür, dass die beiden DRD1-Polymorphismen Suszeptibilitätsloci der Schizophrenie sein könnten. Werden jedoch alle bisher veröffentlichten Befunde zu Assoziationen von Polymorphismen des DRD1-Gens und Schizophrenie betrachtet, so zeigt sich eine inkonsistente Ergebnislage. Zu Assoziationen von DRD1-Polymorphismen und präfrontaler exekutiver Funktion liegen

5 Diskussion

nur wenige Studien vor.

Um die Relevanz der Einzelbefunde zu Assoziationen von Polymorphismen des DRD1-Gens und Schizophrenie beurteilen zu können, sind weitere Untersuchungen sowie Replikationsstudien nötig. Um methodische Schwächen ausgleichen zu können und um im Falle positiver Assoziationen Zufallseffekte ausschließen zu können, sollten zukünftigen Assoziationsstudien und GWAs unabhängige und größere Stichproben einschließen. Außerdem sollten diese Studien an Stichproben unterschiedlicher Herkunft durchgeführt werden, da auf diese Weise populationsspezifische Befunde aufgedeckt werden können.

In Ergänzung der vorliegenden Studie könnten weitere Endophänotypen auf einen Zusammenhang mit den DRD1-Polymorphismen rs4867798 und rs1508765 untersucht werden. Auch sollten DRD1-Polymorphismen, für die Assoziationen mit Schizophrenie gefunden werden konnten, auf eine Assoziation mit schizophrenierelevanten Endophänotypen untersucht werden. Auf diese Weise könnte der Einfluss genetischer Variationen auf Teilaspekte der Erkrankung besser eingegrenzt werden.

Das Risiko, an Schizophrenie zu erkranken, wird von vielen Faktoren beeinflusst. Beispielsweise wurden geschlechtsspezifische Assoziationen von DRD1-Polymorphismen mit dem Erkrankungsrisiko (Hoenicka et al., 2010) und mit der Leistung im WCST (Wilkosc et al., 2010) berichtet. Auch konnten bei Assoziationen von DRD1-Polymorphismen mit Schizophrenie Interaktionen mit dem Val148Met-Polymorphismus der COMT gefunden werden (Hoenicka et al., 2010). In weiteren Studien könnte untersucht werden, ob und wie Interaktionen zwischen DRD1-Polymorphismen und dem Geschlecht oder anderen Gen-Polymorphismen das Erkrankungsrisiko beeinflussen. Interaktionen zwischen verschiedenen Gen-Polymorphismen sind auch deshalb ein interessanter Ansatzpunkt, da vermutet wird, dass die genetisch bedingte Krankheitsdisposition durch eine Kombination vieler Genvarianten mit jeweils kleinen Geneffekten bedingt ist.

Neben der Identifikation von DRD1-SNPs, die mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko in Zusammenhang stehen, sind Untersuchungen zur Funktion dieser SNPs notwendig, um die Mechanismen aufzuklären, aufgrund derer die gefundenen Assoziationen zustande gekommen sind. Es bleibt zu klären, wie die einzelnen Allele und Genotypen die Gen- und Proteinexpression beeinflussen und sich so beispielsweise auf die dopaminerge Transmission auswirken. Auch Interaktionen mit anderen Neurotransmittersystemen sollten untersucht werden.

5 Diskussion

Dieses Wissen könnte in eine verbesserte Therapie der Schizophrenie münden. Da die dopaminerge Transmission des D1-Rezeptors für die kognitive Dysfunktion und die Negativsymptomatik schizophrener Patienten verantwortlich gemacht wird, könnte ein verbessertes Wissen helfen diese Krankheitsaspekte gezielt pharmakologisch zu beeinflussen.

Aufgrund eines besseren Grundlagenwissens wäre es theoretisch auch denkbar, die Schizophrenie-Diagnostik mittels einer Genanalyse erkrankter Personen zu verbessern. Außerdem könnte auch die Prävention schizophrener Erkrankungen verbessert werden. So könnte das Wissen um das Vorhandensein von risikosteigernden Polymorphismen sowie interagierenden Umweltfaktoren helfen, Umweltfaktoren und damit zugleich die (Erst-)Erkrankungswahrscheinlichkeit gezielt zu beeinflussen.

6 Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Erklärung
ADHS	Aufmerksamkeitsdefizit-/Hyperaktivitätsstörung
AV	abhängige Variable
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
DAG	Diacylglycerol
DARPP-32	32-kDa Dopamin- und cAMP-reguliertes Phosphoprotein
DLPFC	dorsolateraler präfrontaler Kortex
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphate
DOPA	Dihydroxyphenylalanin
DRD1	Dopamin-1-Rezeptor
dsDNA	Doppelstrang-DNA
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (Fourth Edition) der American Psychiatric Association
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
FHAM	Family History Assessment Module
G-Protein	Guaninnukleotid-bindendes Protein
GWA	Genomweite Assoziationsstudie
HCl	Hydrogenchlorid
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
ICD-10	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems (10 revision) der WHO
iPLEX	Increased Plexing Efficiency and Flexibility for MassARRAY
IP3	Inositoltrisphosphat
kb	Kilobase
LEBI	Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar
MALDI-TOF MS	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight Massenspektrometer
MANOVA	multivariate Varianzanalyse
MAO	Monoaminoxidase
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
mM	Millimol

6 Abkürzungsverzeichnis

NCBI	National Centre of Biotechnology Information
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
PAR	Psychological Assessment Resources
PCP	Phencyclidin
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PFC	präfrontaler Kortex
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration
RNA	Ribonukleinsäure
rpm	Umdrehungen pro Minute
SAP	Shrimp Alkaline Phosphatase
SD	Standardabweichung
SKID	strukturiertes klinisches Interview nach DSM-IV
SFXN1	Sideroflexin 1
SNP	single nucleotide polymorphism
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan, Trometamol
UV	unabhängige Variable
WCST	Wisconsin Card Sorting Test
WCST:CV4	Wisconsin Card Sorting Test: Computer Version 4 Research Edition
ZNS	zentrales Nervensystem
3'UTR	3'untranslatierter Bereich

7 Literaturverzeichnis

Abbruzzese, M., Ferri, S., Scarone, S. (1996). Performance on the Wisconsin Card Sorting Test in schizophrenia: perseveration in clinical subtypes. *Psychiatry Res*, 64(1), 27-33.

Abi-Dargham, A., Moore, H. (2003). Prefrontal DA transmission at D1 receptors and the pathology of schizophrenia. *Neuroscientist*, 9(5), 404-416.

Aleman, A., Kahn, R. S., Selten, J. P. (2003). Sex differences in the risk of schizophrenia: evidence from meta-analysis. *Arch Gen Psychiatry*, 60(6), 565-571.

Allen, N. C., Bagade, S., McQueen, M. B., Ioannidis, J. P., Kavvoura, F. K., Khoury, M. J., Tanzi, R. E., Bertram, L. (2008). Systematic meta-analyses and field synopsis of genetic association studies in schizophrenia: the SzGene database. *Nat Genet*, 40(7), 827-834.

Amaresha, A. C., Venkatasubramanian, G. (2012). Expressed emotion in schizophrenia: an overview. *Indian J Psychol Med*, 34(1), 12-20.

Andreasen, N. C. (1982). Negative symptoms in schizophrenia. Definition and reliability. *Arch Gen Psychiatry*, 39(7), 784-788.

Anokhin, A. P., Heath, A. C., Ralano, A. (2003). Genetic influences on frontal brain function: WCST performance in twins. *Neuroreport*, 14(15), 1975-1978.

Arnsten, A. F. (2011). Prefrontal cortical network connections: key site of vulnerability in stress and schizophrenia. *Int J Dev Neurosci*, 29(3), 215-223.

Arnsten, A. F., Li, B. M. (2005). Neurobiology of executive functions: catecholamine influences on prefrontal cortical functions. *Biol Psychiatry*, 57(11), 1377-1384.

Artiola i Fortuny, L., Heaton, R. K. (1996). Standard versus computerized administration of the Wisconsin Card Sorting Test. *The Clinical Neuropsychologist*, 10, 419-424.

Ashdown, H., Dumont, Y., Ng, M., Poole, S., Boksa, P., Luheshi, G. N. (2006). The role of cytokines in mediating effects of prenatal infection on the fetus: implications for schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 11(1), 47-55.

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

Basso, M. R., Bornstein, R. A., Lang, J. M. (1999). Practice effects on commonly used measures of executive function across twelve months. *The Clinical Neuropsychologist*, 13(3), 283-292.

Beaulieu, J. M., Gainetdinov, R. R. (2011). The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacol Rev*, 63(1), 182-217.

Bergen, S. E., Petryshen, T. L. (2012). Genome-wide association studies of schizophrenia: does bigger lead to better results? *Curr Opin Psychiatry*, 25(2), 76-82.

7 Literaturverzeichnis

- Bleuler, E. (1911). *Dementia praecox oder die Gruppe der Schizophrenien*. Leipzig: Franz Deuticke.
- Bornstein, R. A., Nasrallah, H. A., Olson, S. C., Coffman, J. A., Torello, M., Schwarzkopf, S. B. (1990). Neuropsychological deficit in schizophrenic subtypes: paranoid, nonparanoid, and schizoaffective subgroups. *Psychiatry Res*, 31(1), 15-24.
- Bowden, S. C., Fowler, K. S., Bell, R. C., Whelan, G., Clifford, C., Ritter, A. J., Long, C. M. (1998). The reliability and internal validity of the Wisconsin Card Sorting Test. *Neuropsychological Rehabilitation*, 8, 243-254.
- Brown, A. S. (2006). Prenatal infection as a risk factor for schizophrenia. *Schizophr Bull*, 32(2), 200-202.
- Brown, A. S. (2011). The environment and susceptibility to schizophrenia. *Prog Neurobiol*, 93(1), 23-58.
- Brown, A. S., Cohen, P., Harkavy-Friedman, J., Babulas, V., Malaspina, D., Gorman, J. M., Susser, E. S. (2001). A.E. Bennett Research Award. Prenatal rubella, premorbid abnormalities, and adult schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 49(6), 473-486.
- Brown, A. S., Schaefer, C. A., Quesenberry, C. P., Jr., Liu, L., Babulas, V. P., Susser, E. S. (2005). Maternal exposure to toxoplasmosis and risk of schizophrenia in adult offspring. *Am J Psychiatry*, 162(4), 767-773.
- Brozoski, T. J., Brown, R. M., Rosvold, H. E., Goldman, P. S. (1979). Cognitive deficit caused by regional depletion of dopamine in prefrontal cortex of rhesus monkey. *Science*, 205(4409), 929-932.
- Byrne, M., Agerbo, E., Bennedsen, B., Eaton, W. W., Mortensen, P. B. (2007). Obstetric conditions and risk of first admission with schizophrenia: a Danish national register based study. *Schizophr Res*, 97(1-3), 51-59.
- Campion, D., d'Amato, T., Bastard, C., Laurent, C., Guedj, F., Jay, M., Dollfus, S., Thibaut, F., Petit, M., Gorwood, P., et al. (1994). Genetic study of dopamine D1, D2, and D4 receptors in schizophrenia. *Psychiatry Res*, 51(3), 215-230.
- Cannon, M., Jones, P. B., Murray, R. M. (2002). Obstetric complications and schizophrenia: historical and meta-analytic review. *Am J Psychiatry*, 159(7), 1080-1092.
- Cannon, T. D., Huttunen, M. O., Lonnqvist, J., Tuulio-Henriksson, A., Pirkola, T., Glahn, D., Finkelstein, J., Hietanen, M., Kaprio, J., Koskenvuo, M. (2000). The inheritance of neuropsychological dysfunction in twins discordant for schizophrenia. *Am J Hum Genet*, 67(2), 369-382.
- Cannon, T. D., Keller, M. C. (2006). Endophenotypes in the genetic analyses of mental disorders. *Annu Rev Clin Psychol*, 2, 267-290.
- Caspi, A., Reichenberg, A., Weiser, M., Rabinowitz, J., Kaplan, Z., Knobler, H., Davidson-Sagi, N., Davidson, M. (2003). Cognitive performance in schizophrenia patients assessed before and following the first psychotic episode. *Schizophr Res*, 65(2-3), 87-94.

7 Literaturverzeichnis

- Chan, R. C., Gottesman, II. (2008). Neurological soft signs as candidate endophenotypes for schizophrenia: a shooting star or a Northern star? *Neurosci Biobehav Rev*, 32(5), 957-971.
- Chen, J., Lipska, B. K., Halim, N., Ma, Q. D., Matsumoto, M., Melhem, S., Kolachana, B. S., Hyde, T. M., Herman, M. M., Apud, J., Egan, M. F., Kleinman, J. E., Weinberger, D. R. (2004). Functional analysis of genetic variation in catechol-O-methyltransferase (COMT): effects on mRNA, protein, and enzyme activity in postmortem human brain. *Am J Hum Genet*, 75(5), 807-821.
- Cichon, S., Craddock, N., Daly, M., Faraone, S. V., Gejman, P. V., Kelsoe, J., Lehner, T., Levinson, D. F., Moran, A., Sklar, P., Sullivan, P. F. (2009). Genomewide association studies: history, rationale, and prospects for psychiatric disorders. *Am J Psychiatry*, 166(5), 540-556.
- Cichon, S., Freudenberg, J., Propping, P., Nöthen, M. M. (2002). Variabilität im menschlichen Genom: Bedeutung für die Krankheitsforschung. *Dtsch Arztebl*, 99(46), A-3091-3101.
- Cichon, S., Nothen, M. M., Rietschel, M., Korner, J., Propping, P. (1994). Single-strand conformation analysis (SSCA) of the dopamine D1 receptor gene (DRD1) reveals no significant mutation in patients with schizophrenia and manic depression. *Biol Psychiatry*, 36(12), 850-853.
- Cichon, S., Nothen, M. M., Stober, G., Schroers, R., Albus, M., Maier, W., Rietschel, M., Korner, J., Weigelt, B., Franzek, E., Wildenauer, D., Fimmers, R., Propping, P. (1996). Systematic screening for mutations in the 5'-regulatory region of the human dopamine D1 receptor (DRD1) gene in patients with schizophrenia and bipolar affective disorder. *Am J Med Genet*, 67(4), 424-428.
- Creese, I., Burt, D. R., Snyder, S. H. (1976). Dopamine receptor binding predicts clinical and pharmacological potencies of antischizophrenic drugs. *Science*, 192(4238), 481-483.
- Demakis, G. J. (2003). A meta-analytic review of the sensitivity of the Wisconsin Card Sorting Test to frontal and lateralized frontal brain damage. *Neuropsychology*, 17(2), 255-264.
- Dmitrzak-Weglarz, M., Rybakowski, J. K., Slopian, A., Czerski, P. M., Leszczynska-Rodziewicz, A., Kapelski, P., Kaczmarski, F., Hauser, J. (2006). Dopamine receptor D1 gene -48A/G polymorphism is associated with bipolar illness but not with schizophrenia in a Polish population. *Neuropsychobiology*, 53(1), 46-50.
- Doherty, J. L., O'Donovan, M. C., Owen, M. J. (2012). Recent genomic advances in schizophrenia. *Clin Genet*, 81(2), 103-109.
- Dohrenwend, B. P., Levav, I., Shrout, P. E., Schwartz, S., Naveh, G., Link, B. G., Skodol, A. E., Stueve, A. (1992). Socioeconomic status and psychiatric disorders: the causation-selection issue. *Science*, 255(5047), 946-952.
- Dollfus, S., Campion, D., Vasse, T., Preterre, P., Laurent, C., d'Amato, T., Thibaut, F., Mallet, J., Petit, M. (1996). Association study between dopamine D1, D2, D3, and D4 receptor genes and schizophrenia defined by several diagnostic systems. *Biol Psychiatry*, 40(5), 419-421.
- Drewe, E. A. (1974). The effect of type and area of brain lesion on Wisconsin Card Sorting Test performance. *Cortex*, 10, 159-170.

7 Literaturverzeichnis

Egan, M. F., Goldberg, T. E., Gscheidle, T., Weirich, M., Rawlings, R., Hyde, T. M., Bigelow, L., Weinberger, D. R. (2001a). Relative risk for cognitive impairments in siblings of patients with schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 50(2), 98-107.

Egan, M. F., Goldberg, T. E., Kolachana, B. S., Callicott, J. H., Mazzanti, C. M., Straub, R. E., Goldman, D., Weinberger, D. R. (2001b). Effect of COMT Val108/158 Met genotype on frontal lobe function and risk for schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98(12), 6917-6922.

Emsley, R., Chiliza, B., Schoeman, R. (2008). Predictors of long-term outcome in schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry*, 21(2), 173-177.

Escamilla, M. A., Ontiveros, A., Nicolini, H., Raventos, H., Mendoza, R., Medina, R., Munoz, R., Levinson, D., Peralta, J. M., Dassori, A., Almasry, L. (2007). A genome-wide scan for schizophrenia and psychosis susceptibility loci in families of Mexican and Central American ancestry. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 144B(2), 193-199.

Everett, J., Lavoie, K., Gagnon, J. F., Gosselin, N. (2001). Performance of patients with schizophrenia on the Wisconsin Card Sorting Test (WCST). *J Psychiatry Neurosci*, 26(2), 123-130.

Fabisch, H., Kroisel, P. M., Fabisch, K. (2005). [Genetic risk factors in schizophrenia]. *Fortschr Neurol Psychiatr*, 73 Suppl 1, S44-50.

Fallin, M. D., Lasseter, V. K., Avramopoulos, D., Nicodemus, K. K., Wolyniec, P. S., McGrath, J. A., Steel, G., Nestadt, G., Liang, K. Y., Haganir, R. L., Valle, D., Pulver, A. E. (2005). Bipolar I disorder and schizophrenia: a 440-single-nucleotide polymorphism screen of 64 candidate genes among Ashkenazi Jewish case-parent trios. *Am J Hum Genet*, 77(6), 918-936.

Feldstein, S. N., Keller, F. R., Portman, R. E., Durham, R. L., Klebe, K. J., Davis, H. P. (1999). A comparison of computerized and standard versions of the Wisconsin Card Sorting Test. *Clin Neuropsychol*, 13(3), 303-313.

Fey, E. T. (1951). The performance of young schizophrenics and young normals on the Wisconsin Card Sorting Test. *J Consult Psychol*, 15(4), 311-319.

Floresco, S. B. (2013). Prefrontal dopamine and behavioral flexibility: shifting from an "inverted-U" toward a family of functions. *Front Neurosci*, 7, 62.

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

Freudenberg, J., Cichon, S., Nöthen, M. M., Propping, P. (2002). Blockstruktur des menschlichen Genoms: Ein Organisationsprinzip der genetischen Variabilität. *Dtsch Arztebl*, 99(47), A-3190-3195.

Fuster, J. M. (2000). Executive frontal functions. *Exp Brain Res*, 133(1), 66-70.

Gaebel, W. (2012). Status of psychotic disorders in ICD-11. *Schizophr Bull*, 38(5), 895-898.

Genetic Science Learning Center. Beyond the Reward Pathway Retrieved 2013/08/22, from <http://learn.genetics.utah.edu/content/addiction/reward/pathways.html>

7 Literaturverzeichnis

Genetics Home Reference. Retrieved 2013/09/06, from <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/NPM1>

Giusti-Rodriguez, P., Sullivan, P. F. (2013). The genomics of schizophrenia: update and implications. *J Clin Invest*, 123(11), 4557-4563.

Goldman-Rakic, P. S. (1995). Cellular basis of working memory. *Neuron*, 14(3), 477-485.

Goldman-Rakic, P. S., Castner, S. A., Svensson, T. H., Siever, L. J., Williams, G. V. (2004). Targeting the dopamine D1 receptor in schizophrenia: insights for cognitive dysfunction. *Psychopharmacology (Berl)*, 174(1), 3-16.

Goldman-Rakic, P. S., Muly, E. C., 3rd, Williams, G. V. (2000). D(1) receptors in prefrontal cells and circuits. *Brain Res Brain Res Rev*, 31(2-3), 295-301.

Gottesman, II. (1991). Schizophrenia genesis: The origins of madness. A series of books in psychology. New York, US: W H Freeman/Times Books/ Henry Holt & Co.

Gottesman, II, Bertelsen, A. (1989). Confirming unexpressed genotypes for schizophrenia. Risks in the offspring of Fischer's Danish identical and fraternal discordant twins. *Arch Gen Psychiatry*, 46(10), 867-872.

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

Gottesman, II, Shields, J. (1967). A polygenic theory of schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 58(1), 199-205.

Grandy, D. K., Zhou, Q. Y., Allen, L., Litt, R., Magenis, R. E., Civelli, O., Litt, M. (1990). A human D1 dopamine receptor gene is located on chromosome 5 at q35.1 and identifies an EcoRI RFLP. *Am J Hum Genet*, 47(5), 828-834.

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

Greve, K. W., Love, J. M., Sherwin, E., Mathias, C. W., Houston, R. J., Brennan, A. (2002). Temporal stability of the Wisconsin Card Sorting Test in a chronic traumatic brain injury sample. *Assessment*, 9(3), 271-277.

Gur, R. E., Calkins, M. E., Gur, R. C., Horan, W. P., Nuechterlein, K. H., Seidman, L. J., Stone, W. S. (2007). The Consortium on the Genetics of Schizophrenia: neurocognitive endophenotypes. *Schizophr Bull*, 33(1), 49-68.

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

Häfner, H., an der Heiden, W. (1999). The course of schizophrenia in the light of modern follow-up studies: the ABC and WHO studies. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 249 Suppl 4, 14-26.

7 Literaturverzeichnis

- Hall, H., Sedvall, G., Magnusson, O., Kopp, J., Halldin, C., Farde, L. (1994). Distribution of D1- and D2-dopamine receptors, and dopamine and its metabolites in the human brain. *Neuropsychopharmacology*, 11(4), 245-256.
- Hambrecht, M., Maurer, K., Hafner, H., Sartorius, N. (1992). Transnational stability of gender differences in schizophrenia? An analysis based on the WHO study on determinants of outcome of severe mental disorders. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 242(1), 6-12.
- Hambrecht, M., Riecher-Rossler, A., Fatkenheuer, B., Louza, M. R., Hafner, H. (1994). Higher morbidity risk for schizophrenia in males: fact or fiction? *Compr Psychiatry*, 35(1), 39-49.
- HapMap. (2010). The International HapMap Project Retrieved 2014/07/27, from http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/cgi-perl/gbrowse/hapmap28_B36/
- Harrison, P. J. (1999). The neuropathology of schizophrenia. A critical review of the data and their interpretation. *Brain*, 122 (Pt 4), 593-624.
- Harrison, P. J., Weinberger, D. R. (2005). Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Mol Psychiatry*, 10(1), 40-68; image 45.
- Heaton, R. K. (1981). Wisconsin Card Sorting Test. Odessa, Florida: Psychological Assessment Resources, Inc.
- Heaton, R. K., Chelune, G. J., Talley, J. L., Kay, G. G., Curtiss, G. (1993). Wisconsin Card Sorting Test (WCST) manual: Revised and Expanded. Odessa, Florida: Psychological Assessment Resources, Inc.
- Heaton, R. K., PAR. (2003). Wisconsin Card Sorting Test: Computer Version 4 Research Edition. Odessa, Florida: Psychological Assessment Resources, Inc.
- Heinrichs, R. W., Zakzanis, K. K. (1998). Neurocognitive deficit in schizophrenia: a quantitative review of the evidence. *Neuropsychology*, 12(3), 426-445.
- Hellman, S. G., Green, M. F., Kern, R. S., Christenson, C. D. (1992). Comparison of card and computer versions of the Wisconsin Card Sorting Test for psychotic patients. *International Journal of Methods in Psychiatric Research*, 2, 151-155.
- Hess, E. J., Bracha, H. S., Kleinman, J. E., Creese, I. (1987). Dopamine receptor subtype imbalance in schizophrenia. *Life Sci*, 40(15), 1487-1497.
- Hirayasu, Y., Tanaka, S., Shenton, M. E., Salisbury, D. F., DeSantis, M. A., Levitt, J. J., Wible, C., Yurgelun-Todd, D., Kikinis, R., Jolesz, F. A., McCarley, R. W. (2001). Prefrontal gray matter volume reduction in first episode schizophrenia. *Cereb Cortex*, 11(4), 374-381.
- Hoenicka, J., Garrido, E., Ponce, G., Rodriguez-Jimenez, R., Martinez, I., Rubio, G., Jimenez-Arriero, M. A., Palomo, T. (2010). Sexually dimorphic interaction between the DRD1 and COMT genes in schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 153B(4), 948-954.
- Hoff, A. L., Svetina, C., Shields, G., Stewart, J., DeLisi, L. E. (2005). Ten year longitudinal study of neuropsychological functioning subsequent to a first episode of schizophrenia. *Schizophr Res*, 78(1), 27-34.

7 Literaturverzeichnis

- Hoogendoorn, M. L., Bakker, S. C., Schnack, H. G., Selten, J. P., Otten, H. G., Verduijn, W., van der Heijden, F. M., Pearson, P. L., Kahn, R. S., Sinke, R. J. (2005). No association between 12 dopaminergic genes and schizophrenia in a large Dutch sample. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 134B(1), 6-9.
- Howes, O. D., Kapur, S. (2009). The dopamine hypothesis of schizophrenia: version III--the final common pathway. *Schizophr Bull*, 35(3), 549-562.
- Huang, W., Li, M. D. (2009). Differential allelic expression of dopamine D1 receptor gene (DRD1) is modulated by microRNA miR-504. *Biol Psychiatry*, 65(8), 702-705.
- Huang, W., Ma, J. Z., Payne, T. J., Beuten, J., Dupont, R. T., Li, M. D. (2008). Significant association of DRD1 with nicotine dependence. *Hum Genet*, 123(2), 133-140.
- Ingram, F., Greve, K. W., Ingram, P. T., Soukup, V. M. (1999). Temporal stability of the Wisconsin Card Sorting Test in an untreated patient sample. *Br J Clin Psychol*, 38 (Pt 2), 209-211.
- Iwata, Y., Matsumoto, H., Minabe, Y., Osada, N., Nakamura, K., Sekizawa, T., Suzuki, K., Sekine, Y., Takei, N., Mori, N. (2003). Early-onset schizophrenia and dopamine-related gene polymorphism. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 116B(1), 23-26.
- Jablensky, A., Sartorius, N., Ernberg, G., Anker, M., Korten, A., Cooper, J. E., Day, R., Bertelsen, A. (1992). Schizophrenia: manifestations, incidence and course in different cultures. A World Health Organization ten-country study. *Psychol Med Monogr Suppl*, 20, 1-97.
- Jarskog, L. F., Miyamoto, S., Lieberman, J. A. (2007). Schizophrenia: new pathological insights and therapies. *Annu Rev Med*, 58, 49-61.
- Javitt, D. C., Zukin, S. R., Heresco-Levy, U., Umbricht, D. (2012). Has an angel shown the way? Etiological and therapeutic implications of the PCP/NMDA model of schizophrenia. *Schizophr Bull*, 38(5), 958-966.
- Johnstone, E. C., Ebmeier, K. P., Miller, P., Owens, D. G., Lawrie, S. M. (2005). Predicting schizophrenia: findings from the Edinburgh High-Risk Study. *Br J Psychiatry*, 186, 18-25.
- Joyce, J. N., Lexow, N., Bird, E., Winokur, A. (1988). Organization of dopamine D1 and D2 receptors in human striatum: receptor autoradiographic studies in Huntington's disease and schizophrenia. *Synapse*, 2(5), 546-557.
- Kaalund, S. S., Newburn, E. N., Ye, T., Tao, R., Li, C., Deep-Soboslay, A., Herman, M. M., Hyde, T. M., Weinberger, D. R., Lipska, B. K., Kleinman, J. E. (2013). Contrasting changes in DRD1 and DRD2 splice variant expression in schizophrenia and affective disorders, and associations with SNPs in postmortem brain. *Mol Psychiatry*.
- Keefe, R. S., Fenton, W. S. (2007). How should DSM-V criteria for schizophrenia include cognitive impairment? *Schizophr Bull*, 33(4), 912-920.

7 Literaturverzeichnis

- Kendler, K. S., Gruenberg, A. M., Kinney, D. K. (1994). Independent diagnoses of adoptees and relatives as defined by DSM-III in the provincial and national samples of the Danish Adoption Study of Schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 51(6), 456-468.
- Kety, S. S., Wender, P. H., Jacobsen, B., Ingraham, L. J., Jansson, L., Faber, B., Kinney, D. K. (1994). Mental illness in the biological and adoptive relatives of schizophrenic adoptees. Replication of the Copenhagen Study in the rest of Denmark. *Arch Gen Psychiatry*, 51(6), 442-455.
- Khashan, A. S., Abel, K. M., McNamee, R., Pedersen, M. G., Webb, R. T., Baker, P. N., Kenny, L. C., Mortensen, P. B. (2008). Higher risk of offspring schizophrenia following antenatal maternal exposure to severe adverse life events. *Arch Gen Psychiatry*, 65(2), 146-152.
- Kirschbaum, C. (2008). Biopsychologie von A bis Z: Springer Medizin Verlag Heidelberg.
- Kojima, H., Ohmori, O., Shinkai, T., Terao, T., Suzuki, T., Abe, K. (1999). Dopamine D1 receptor gene polymorphism and schizophrenia in Japan. *Am J Med Genet*, 88(2), 116-119.
- Kolb, B., Whishaw, I. Q. (1996). Neuropsychologie
Fundamentals of human neuropsychology <dt.> (2. ed.). Heidelberg [u.a.]: Spektrum, Akad. Verl.
- Konick, L. C., Friedman, L. (2001). Meta-analysis of thalamic size in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 49(1), 28-38.
- Koster, A., Lajer, M., Lindhardt, A., Rosenbaum, B. (2008). Gender differences in first episode psychosis. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*, 43(12), 940-946.
- Kraepelin, E. (1893). Psychiatrie. Ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte (Vol. 4.). Leipzig: Abel.
- Kremen, W. S., Eisen, S. A., Tsuang, M. T., Lyons, M. J. (2007). Is the Wisconsin Card Sorting Test a useful neurocognitive endophenotype? *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 144B(4), 403-406.
- Lane, H. Y., Liu, Y. C., Huang, C. L., Hsieh, C. L., Chang, Y. L., Chang, L., Chang, Y. C., Chang, W. H. (2008). Prefrontal executive function and D1, D3, 5-HT2A and 5-HT6 receptor gene variations in healthy adults. *J Psychiatry Neurosci*, 33(1), 47-53.
- Laruelle, M., Kegeles, L. S., Abi-Dargham, A. (2003). Glutamate, dopamine, and schizophrenia: from pathophysiology to treatment. *Ann N Y Acad Sci*, 1003, 138-158.
- Lee, K. Y., Joo, E. J., Ji, Y. I., Kim, D. H., Park, J. B., Chung, I. W., Lee, S. I., Joo, Y. H., Ahn, Y. M., Song, J. Y., Kim, Y. S. (2011). Associations between DRDs and schizophrenia in a Korean population: multi-stage association analyses. *Exp Mol Med*, 43(1), 44-52.
- Lewis, C. M., Levinson, D. F., Wise, L. H., DeLisi, L. E., Straub, R. E., Hovatta, I., Williams, N. M., Schwab, S. G., Pulver, A. E., Faraone, S. V., Brzustowicz, L. M., Kaufmann, C. A., Garver, D. L., Gurling, H. M., Lindholm, E., Coon, H., Moises, H. W., Byerley, W., Shaw, S. H., Mesen, A., Sherrington, R., O'Neill, F. A., Walsh, D., Kendler, K. S., Ekelund, J., Paunio, T., Lonnqvist, J., Peltonen, L., O'Donovan, M. C., Owen, M. J., Wildenauer, D. B., Maier, W.,

7 Literaturverzeichnis

- Nestadt, G., Blouin, J. L., Antonarakis, S. E., Mowry, B. J., Silverman, J. M., Crowe, R. R., Cloninger, C. R., Tsuang, M. T., Malaspina, D., Harkavy-Friedman, J. M., Svrakic, D. M., Bassett, A. S., Holcomb, J., Kalsi, G., McQuillin, A., Brynjolfson, J., Sigmundsson, T., Petursson, H., Jazin, E., Zoega, T., Helgason, T. (2003). Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia. *Am J Hum Genet*, 73(1), 34-48.
- Lewis, G., David, A., Andreasson, S., Allebeck, P. (1992). Schizophrenia and city life. *Lancet*, 340(8812), 137-140.
- Liu, Q., Sobell, J. L., Heston, L. L., Sommer, S. S. (1995). Screening the dopamine D1 receptor gene in 131 schizophrenics and eight alcoholics: identification of polymorphisms but lack of functionally significant sequence changes. *Am J Med Genet*, 60(2), 165-171.
- Maier, W., Lichtermann, D., Rietschel, M., Held, T., Falkai, P., Wagner, M., Schwab, S. (1999). [Genetics of schizophrenic disorders. New concepts and findings]. *Nervenarzt*, 70(11), 955-969.
- Malaspina, D., Harlap, S., Fennig, S., Heiman, D., Nahon, D., Feldman, D., Susser, E. S. (2001). Advancing paternal age and the risk of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 58(4), 361-367.
- McGrath, J., Saha, S., Welham, J., El Saadi, O., MacCauley, C., Chant, D. (2004). A systematic review of the incidence of schizophrenia: the distribution of rates and the influence of sex, urbanicity, migrant status and methodology. *BMC Med*, 2, 13.
- McGrath, J., Scheldt, S., Welham, J., Clair, A. (1997). Performance on tests sensitive to impaired executive ability in schizophrenia, mania and well controls: acute and subacute phases. *Schizophr Res*, 26(2-3), 127-137.
- Meltzer, H. Y., Massey, B. W. (2011). The role of serotonin receptors in the action of atypical antipsychotic drugs. *Curr Opin Pharmacol*, 11(1), 59-67.
- Meltzer, H. Y., Stahl, S. M. (1976). The dopamine hypothesis of schizophrenia: a review. *Schizophr Bull*, 2(1), 19-76.
- Meyer-Lindenberg, A., Nichols, T., Callicott, J. H., Ding, J., Kolachana, B., Buckholtz, J., Mattay, V. S., Egan, M., Weinberger, D. R. (2006). Impact of complex genetic variation in COMT on human brain function. *Mol Psychiatry*, 11(9), 867-877, 797.
- Meyer-Lindenberg, A., Weinberger, D. R. (2006). Intermediate phenotypes and genetic mechanisms of psychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci*, 7(10), 818-827.
- Meyer, U., Yee, B. K., Feldon, J. (2007). The neurodevelopmental impact of prenatal infections at different times of pregnancy: the earlier the worse? *Neuroscientist*, 13(3), 241-256.
- Milner, B. (1963). Effects of different brain lesions on card sorting. *Archives of Neurology*, 9, 90-100.
- Minowa, M. T., Minowa, T., Monsma, F. J., Jr., Sibley, D. R., Mouradian, M. M. (1992). Characterization of the 5' flanking region of the human D1A dopamine receptor gene. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 89(7), 3045-3049.

7 Literaturverzeichnis

Missale, C., Nash, S. R., Robinson, S. W., Jaber, M., Caron, M. G. (1998). Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev*, 78(1), 189-225.

Miyake, A., Emerson, M. J., Friedman, N. P. (2000). Assessment of executive functions in clinical settings: problems and recommendations. *Semin Speech Lang*, 21(2), 169-183.

Mohamed, S., Paulsen, J. S., O'Leary, D., Arndt, S., Andreasen, N. (1999). Generalized cognitive deficits in schizophrenia: a study of first-episode patients. *Arch Gen Psychiatry*, 56(8), 749-754.

Möller, H. J. (2005). Schizophrenie. In H. J. Möller, G. Laux & A. Deister (Eds.), *Psychiatrie und Psychotherapie* (Vol. 3). Stuttgart: Georg Thieme Verlag.

Möller, H. J., Deister, A., Schaub, A., Riedel, M. (2008). Schizophrene Psychosen. In H.-J. Möller, G. Laux & H.-P. Kapfhammer (Eds.), *Psychiatrie und Psychotherapie* (pp. 1255-1358): Springer Berlin Heidelberg.

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

Moore, T. H., Zammit, S., Lingford-Hughes, A., Barnes, T. R., Jones, P. B., Burke, M., Lewis, G. (2007). Cannabis use and risk of psychotic or affective mental health outcomes: a systematic review. *Lancet*, 370(9584), 319-328.

Mountain, M. A., Snow, G. (1993). Wisconsin Card Sorting Test as a measure of frontal pathology: A review. *The Clinical Neuropsychologist*, 7, 108-118.

Murray, R. M., Jones, P., O'Callaghan, E., Takei, N., Sham, P. (1992). Genes, viruses and neurodevelopmental schizophrenia. *J Psychiatr Res*, 26(4), 225-235.

National Center for Biotechnology Information. Database of Short Genetic Variations Retrieved 2012/05/12, from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/index.html>

Ng, M. Y., Levinson, D. F., Faraone, S. V., Suarez, B. K., DeLisi, L. E., Arinami, T., Riley, B., Paunio, T., Pulver, A. E., Irmansyah, Holmans, P. A., Escamilla, M., Wildenauer, D. B., Williams, N. M., Laurent, C., Mowry, B. J., Brzustowicz, L. M., Maziade, M., Sklar, P., Garver, D. L., Abecasis, G. R., Lerer, B., Fallin, M. D., Gurling, H. M., Gejman, P. V., Lindholm, E., Moises, H. W., Byerley, W., Wijsman, E. M., Forabosco, P., Tsuang, M. T., Hwu, H. G., Okazaki, Y., Kendler, K. S., Wormley, B., Fanous, A., Walsh, D., O'Neill, F. A., Peltonen, L., Nestadt, G., Lasseter, V. K., Liang, K. Y., Papadimitriou, G. M., Dikeos, D. G., Schwab, S. G., Owen, M. J., O'Donovan, M. C., Norton, N., Hare, E., Raventos, H., Nicolini, H., Albus, M., Maier, W., Nimgaonkar, V. L., Terenius, L., Mallet, J., Jay, M., Godard, S., Nertney, D., Alexander, M., Crowe, R. R., Silverman, J. M., Bassett, A. S., Roy, M. A., Merette, C., Pato, C. N., Pato, M. T., Roos, J. L., Kohn, Y., Amann-Zalcenstein, D., Kalsi, G., McQuillin, A., Curtis, D., Brynjolfson, J., Sigmundsson, T., Petursson, H., Sanders, A. R., Duan, J., Jazin, E., Myles-Worsley, M., Karayiorgou, M., Lewis, C. M. (2009). Meta-analysis of 32 genome-wide linkage studies of schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 14(8), 774-785.

Nyhus, E., Barcelo, F. (2009). The Wisconsin Card Sorting Test and the cognitive assessment of prefrontal executive functions: a critical update. *Brain Cogn*, 71(3), 437-451.

7 Literaturverzeichnis

Okubo, Y., Suhara, T., Suzuki, K., Kobayashi, K., Inoue, O., Terasaki, O., Someya, Y., Sassa, T., Sudo, Y., Matsushima, E., Iyo, M., Tateno, Y., Toru, M. (1997). Decreased prefrontal dopamine D1 receptors in schizophrenia revealed by PET. *Nature*, 385(6617), 634-636.

Olbrich, H. M., Leucht, S., Fritze, J., Lanczik, M. H., Vauth, R. (2004). Schizophrenien und andere psychotische Störungen. In M. Berger (Ed.), *Psychische Erkrankungen - Klinik und Therapie* (2., vollst. neu bearb. und erw. Aufl. ed., pp. 451-540). Munich: Urban & Fischer.

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

Owen, M. J., Craddock, N., O'Donovan, M. C. (2005). Schizophrenia: genes at last? *Trends Genet*, 21(9), 518-525.

Owen, M. J., Williams, H. J., O'Donovan, M. C. (2009). Schizophrenia genetics: advancing on two fronts. *Curr Opin Genet Dev*, 19(3), 266-270.

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

Owens, S. F., Picchioni, M. M., Ettinger, U., McDonald, C., Walshe, M., Schmechtig, A., Murray, R. M., Rijdsdijk, F., Touloupoulou, T. (2012). Prefrontal deviations in function but not volume are putative endophenotypes for schizophrenia. *Brain*, 135(Pt 7), 2231-2244.

Ozonoff, S. (1995). Reliability and validity of the Wisconsin Card Sorting Test in studies of autism. *Neuropsychology*, 9, 491-500.

Paolo, A. M., Axelrod, B. N., Troster, A. I. (1996). Test-retest stability of the Wisconsin Card Sorting Test. *Assessment*, 3, 137-143.

Pearce, R. K., Seeman, P., Jellinger, K., Tourtellotte, W. W. (1990). Dopamine uptake sites and dopamine receptors in Parkinson's disease and schizophrenia. *Eur Neurol*, 30 Suppl 1, 9-14.

Pinel, J. P. J. (2003). *Biopsychology* (5. ed. ed.). Boston [u.a.]: Allyn and Bacon.

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

Propping, P., Nothen, M. M., Korner, J., Rietschel, M., Maier, W. (1994). [Genetic association in psychiatric diseases. Concepts and findings]. *Nervenarzt*, 65(11), 725-740.

Purcell, S. M., Wray, N. R., Stone, J. L., Visscher, P. M., O'Donovan, M. C., Sullivan, P. F., Sklar, P. (2009). Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Nature*, 460(7256), 748-752.

Purves, D. (2001). *Neuroscience* (2. ed.). Sunderland, Mass.: Sinauer.

QIAamp. (2005). *DNA Blood Midi/Maxi Handbook* (2nd ed.). Hilden: Qiagen GmbH.

7 Literaturverzeichnis

- Rapoport, J. L., Addington, A. M., Frangou, S., Psych, M. R. (2005). The neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2005. *Mol Psychiatry*, 10(5), 434-449.
- Reichenberg, A. (2010). The assessment of neuropsychological functioning in schizophrenia. *Dialogues Clin Neurosci*, 12(3), 383-392.
- Reynolds, G. P., Czudek, C. (1988). Status of the dopaminergic system in post-mortem brain in schizophrenia. *Psychopharmacol Bull*, 24(3), 345-347.
- Rice, J. P., Reich, T., Bucholz, K. K., Neuman, R. J., Fishman, R., Rochberg, N., Hesselbrock, V. M., Nurnberger, J. I., Jr., Schuckit, M. A., Begleiter, H. (1995). Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res*, 19(4), 1018-1023.
- Richter, V., Guthke, J. (1996). Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI). Göttingen: Hogrefe.
- Riecher-Rössler, A., Rössler, W. (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.
- 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*. Vienna: Springer-Verlag.
- Rybakowski, J. K., Borkowska, A., Czerski, P. M., Kapelski, P., Dmitrzak-Weglarz, M., Hauser, J. (2005). An association study of dopamine receptors polymorphisms and the Wisconsin Card Sorting Test in schizophrenia. *J Neural Transm*, 112(11), 1575-1582.
- Saha, S., Chant, D., Welham, J., McGrath, J. (2005). A systematic review of the prevalence of schizophrenia. *PLoS Med*, 2(5), e141.
- Saha, S., Welham, J., Chant, D., McGrath, J. (2006). Incidence of schizophrenia does not vary with economic status of the country: evidence from a systematic review. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*, 41(5), 338-340.
- Sawaguchi, T., Goldman-Rakic, P. S. (1994). The role of D1-dopamine receptor in working memory: local injections of dopamine antagonists into the prefrontal cortex of rhesus monkeys performing an oculomotor delayed-response task. *J Neurophysiol*, 71(2), 515-528.
- Scheschonka, A., Betz, H., Becker, C.-M. (2007). Nervensystem. In G. Löffler, P. C. Heinrich & P. E. Petrides (Eds.), *Biochemie und Pathobiochemie*: Springer Medizin Verlag Heidelberg.
- Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium. (2014). Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature*, 511(7510), 421-427.
- Schneider, K. (1957). Primäre und sekundäre Symptome bei der Schizophrenie. *Fortschr Neurol Psychiatr*, 25(9), 487-490.
- Seamans, J. K., Yang, C. R. (2004). The principal features and mechanisms of dopamine modulation in the prefrontal cortex. *Prog Neurobiol*, 74(1), 1-58.

7 Literaturverzeichnis

- Seeman, P. (1987). Dopamine receptors and the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Synapse*, 1(2), 133-152.
- Seeman, P., Lee, T. (1975). Antipsychotic drugs: direct correlation between clinical potency and presynaptic action on dopamine neurons. *Science*, 188(4194), 1217-1219.
- Sklar, P., Pato, M. T., Kirby, A., Petryshen, T. L., Medeiros, H., Carvalho, C., Macedo, A., Dourado, A., Coelho, I., Valente, J., Soares, M. J., Ferreira, C. P., Lei, M., Verner, A., Hudson, T. J., Morley, C. P., Kennedy, J. L., Azevedo, M. H., Lander, E., Daly, M. J., Pato, C. N. (2004). Genome-wide scan in Portuguese Island families identifies 5q31-5q35 as a susceptibility locus for schizophrenia and psychosis. *Mol Psychiatry*, 9(2), 213-218.
- Snitz, B. E., Macdonald, A. W., 3rd, Carter, C. S. (2006). Cognitive deficits in unaffected first-degree relatives of schizophrenia patients: a meta-analytic review of putative endophenotypes. *Schizophr Bull*, 32(1), 179-194.
- Srivastava, V., Deshpande, S. N., Thelma, B. K. (2010). Dopaminergic pathway gene polymorphisms and genetic susceptibility to schizophrenia among north Indians. *Neuropsychobiology*, 61(2), 64-70.
- Strauss, E., Sherman, E. M. S., Spreen, O. (2006). A compendium of neuropsychological tests: Administration, norms, and commentary (3. ed.). Oxford [u.a.]: Oxford Univ. Press.
- Sullivan, P. F., Kendler, K. S., Neale, M. C. (2003). Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. *Arch Gen Psychiatry*, 60(12), 1187-1192.
- Sunahara, R. K., Niznik, H. B., Weiner, D. M., Stormann, T. M., Brann, M. R., Kennedy, J. L., Gelernter, J. E., Rozmahel, R., Yang, Y. L., Israel, Y., et al. (1990). Human dopamine D1 receptor encoded by an intronless gene on chromosome 5. *Nature*, 347(6288), 80-83.
- Szöke, A., Schurhoff, F., Mathieu, F., Meary, A., Ionescu, S., Leboyer, M. (2005). Tests of executive functions in first-degree relatives of schizophrenic patients: a meta-analysis. *Psychol Med*, 35(6), 771-782.
- Talkowski, M. E., Kirov, G., Bamne, M., Georgieva, L., Torres, G., Mansour, H., Chowdari, K. V., Milanova, V., Wood, J., McClain, L., Prasad, K., Shirts, B., Zhang, J., O'Donovan, M. C., Owen, M. J., Devlin, B., Nimgaonkar, V. L. (2008). A network of dopaminergic gene variations implicated as risk factors for schizophrenia. *Hum Mol Genet*, 17(5), 747-758.
- Tandon, R., Keshavan, M. S., Nasrallah, H. A. (2008). Schizophrenia, "just the facts" what we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology. *Schizophr Res*, 102(1-3), 1-18.
- Tandon, R., Nasrallah, H. A., Keshavan, M. S. (2009). Schizophrenia, "just the facts" 4. Clinical features and conceptualization. *Schizophr Res*, 110(1-3), 1-23.
- Torrey, E. F. (2002). Studies of individuals with schizophrenia never treated with antipsychotic medications: a review. *Schizophr Res*, 58(2-3), 101-115.
- Torrey, E. F., Miller, J., Rawlings, R., Yolken, R. H. (1997). Seasonality of births in schizophrenia and bipolar disorder: a review of the literature. *Schizophr Res*, 28(1), 1-38.

7 Literaturverzeichnis

- Trepel, M. (2012). *Neuroanatomie: Struktur und Funktion* (5. ed.). München: Elsevier, Urban & Fischer.
- Tunbridge, E. M., Harrison, P. J., Weinberger, D. R. (2006). Catechol-o-methyltransferase, cognition, and psychosis: Val158Met and beyond. *Biol Psychiatry*, 60(2), 141-151.
- Ullsperger, M., von Cramon, D. I. (2006). Funktionen frontaler Strukturen. In H.-O. Karnath & P. Thier (Eds.), *Neuropsychologie* (2. ed., pp. 763). Heidelberg: Springer.
- Weinberger, D. R., Berman, K. F., Zec, R. F. (1986). Physiologic dysfunction of dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia. I. Regional cerebral blood flow evidence. *Arch Gen Psychiatry*, 43(2), 114-124.
- Wilkosc, M., Hauser, J., Tomaszewska, M., Dmitrzak-Weglarz, M., Skibinska, M., Szczepankiewicz, A., Borkowska, A. (2010). Influence of dopaminergic and serotonergic genes on working memory in healthy subjects. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*, 70(1), 86-94.
- Williams, G. V., Goldman-Rakic, P. S. (1995). Modulation of memory fields by dopamine D1 receptors in prefrontal cortex. *Nature*, 376(6541), 572-575.
- Williams, H. J., Owen, M. J., O'Donovan, M. C. (2009). Schizophrenia genetics: new insights from new approaches. *Br Med Bull*, 91, 61-74.
- Wissenschaft Online. Online-Lexikon der Neurowissenschaft. *Dopaminerge Systeme* Retrieved 2013/08/22, from <http://www.wissenschaft-online.de/abo/lexikon/neuro/2963>
- Wittchen, H.-U., Saß, H., Zaudig, M. (1996). *Diagnostisches und Statistisches Manual Psychiatrischer Störungen DSM-IV*. Göttingen, Bern, Toronto, Seattle: Hogrefe.
- Wittchen, H.-U., Zaudig, M., Fydrich, T. (1997). *SKID Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV Achse I und II*. Göttingen, Bern, Toronto, Seattle: Hogrefe.
- Wolf, L. E., Cornblatt, B. A., Roberts, S. A., Shapiro, B. M., Erlenmeyer-Kimling, L. (2002). Wisconsin Card Sorting deficits in the offspring of schizophrenics in the New York High-Risk Project. *Schizophr Res*, 57(2-3), 173.
- Woodruff, P. W., McManus, I. C., David, A. S. (1995). Meta-analysis of corpus callosum size in schizophrenia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 58(4), 457-461.
- Wright, I. C., Rabe-Hesketh, S., Woodruff, P. W., David, A. S., Murray, R. M., Bullmore, E. T. (2000). Meta-analysis of regional brain volumes in schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 157(1), 16-25.
- Yui, K., Suzuki, M., Kurachi, M. (2007). Stress sensitization in schizophrenia. *Ann N Y Acad Sci*, 1113, 276-290.
- Zahrt, J., Taylor, J. R., Mathew, R. G., Arnsten, A. F. (1997). Supranormal stimulation of D1 dopamine receptors in the rodent prefrontal cortex impairs spatial working memory performance. *J Neurosci*, 17(21), 8528-8535.

7 Literaturverzeichnis

Zhang, C., Fang, Y., Xie, B., Cheng, W., Du, Y., Wang, D., Yu, S. (2010). No genetic association between dopamine D1 receptor gene and [early onset] schizophrenia. *Psychiatry Res*, 177(3), 350-353.

Zheng, Y., Wang, X., Gu, N., Feng, G., Zou, F., Qin, W., Zhang, J., Lin, W., Tao, R., Qian, X., He, L. (2006). A two-stage linkage analysis of Chinese schizophrenia pedigrees in 10 target chromosomes. *Biochem Biophys Res Commun*, 342(4), 1049-1057.

Zhu, F., Yan, C. X., Wang, Q., Zhu, Y. S., Zhao, Y., Huang, J., Zhang, H. B., Gao, C. G., Li, S. B. (2011). An association study between dopamine D1 receptor gene polymorphisms and the risk of schizophrenia. *Brain Res*, 1420, 106-113.

Zobel, A., Maier, W. (2004). [Endophenotype--a new concept for biological characterization of psychiatric disorders]. *Nervenarzt*, 75(3), 205-214.

8 Danksagung

Allen voran möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Dan Rujescu, dem Leiter der Sektion molekulare und klinische Neurobiologie dafür bedanken, dass ich die vorliegende Arbeit in seiner Abteilung durchführen durfte.

Herrn Prof. Dr. med. Hans-Jürgen Möller danke ich dafür, dass ich diese Arbeit in der von ihm zur Zeit meiner praktischen Tätigkeit geleiteten Klinik für Psychiatrie und Psychiatrie der Ludwig-Maximilians-Universität realisieren konnte.

Frau Privatdozentin Dr. rer. biol. hum. Ina Giegling möchte ich besonders für die Hilfe bei der statistischen Auswertung sowie für das Korrekturlesen dieser Arbeit danken.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. rer. biol. hum. Annette Hartmann die als primäre Ansprechpartnerin während der schriftlichen Ausarbeitung durch ihre engmaschige Betreuung, zahlreichen Hinweise sowie das Korrekturlesen wesentlich zur Fertigstellung dieser Arbeit beigetragen hat.

Für die gute Betreuung während des praktischen Teils dieser Arbeit möchte ich mich insbesondere bei Frau Dr. rer. biol. hum. Heike Konnerth bedanken.

Ein herzlicher Dank für die gute und konstruktive Zusammenarbeit geht an alle weiteren Mitarbeiter der Abteilung molekulare und klinische Neurobiologie.

Zuletzt möchte ich allen Patienten und Probanden danken, ohne deren Studienteilnahme die vorliegende Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

9 Eidesstattliche Versicherung

Ich, Konstantin Tilgner, erkläre hiermit an Eides statt,
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

„Assoziationsuntersuchung von Polymorphismen des DRD1-Gens mit Schizophrenie und präfrontaler exekutiver Funktion“

selbstständig 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

Unterschrift