

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

Direktor: Herr Prof. Dr. med. Peter Falkai

Assoziationsuntersuchungen von Polymorphismen im GRM8-Gen mit exekutiven Funktionen und
Schizophrenie

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

vorgelegt von
Sabrina Weinreb

aus
München

2016

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dan Rujescu

Mitberichterstatterin: Priv. Doz. Dr. Rebecca Schennach

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hicke

Tag der mündlichen Prüfung: 22.02.2016

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung.....	13
2	Einleitung.....	15
2.1	Schizophrenie	15
2.1.1	Definition.....	15
2.1.2	Symptomatik und Klassifikation.....	15
2.1.3	Epidemiologie.....	16
2.1.4	Verlauf.....	17
2.1.5	Ätiopathogenese	19
2.1.5.1	Umweltbedingte Faktoren.....	19
2.1.5.2	Genetische Faktoren.....	21
2.1.5.3	Neuroanatomische Veränderungen	31
2.1.5.4	Neurobiochemische Veränderungen.....	31
2.2	Das Konzept der Endophänotypen.....	33
2.3	Exekutivfunktionen und der WCST bei Schizophrenie.....	35
2.4	Das glutamaterge System.....	40
2.4.1	Glutamat.....	40
2.4.2	Glutamatrezeptoren.....	41
2.4.3	Metabotrope Glutamatrezeptoren.....	43
2.4.3.1	Aufbau.....	43
2.4.3.2	Signaltransduktion	45
2.4.3.3	Vorkommen und Wirkung im ZNS	47
2.4.3.4	Kognitive Fähigkeiten.....	48
2.4.3.5	Der mGluR8 und Schizophrenie.....	50

2.5	GRM8	51
2.5.1	Genstruktur	51
2.5.2	Assoziation des GRM8-Gens mit Schizophrenie	52
2.5.3	Assoziation des GRM8-Gens mit kognitiven Domänen	55
3	Fragestellung	58
4	Material und Methoden	59
4.1	Vorbedingungen der Studiendurchführung	59
4.2	Studienteilnehmer	59
4.2.1	Verteilung nach Geschlecht	59
4.2.2	Verteilung nach Alter	60
4.2.3	Verteilung nach Schulbildung.....	60
4.3	Rekrutierung der Studienteilnehmer	61
4.3.1	Kontrollgruppe	61
4.3.2	Patientengruppe.....	62
4.4	Neuropsychologische Verfahren	64
4.4.1	Wisconsin-Card-Sorting-Test.....	64
4.4.1.1	Testaufbau	64
4.4.1.2	Testdurchführung	66
4.4.1.3	Testauswertung.....	66
4.4.1.4	Gütekriterien.....	69
4.5	Laborverfahren	70
4.5.1	DNA-Extraktion.....	70
4.6	Bestimmung der DNA-Konzentration.....	71
4.6.1	DNA-Konzentrationseinstellung.....	71
4.6.2	Initiale PCR-Reaktion	73
4.6.3	Dephosphorylierung der uninkorporierten Nukleotide.....	74

4.6.4	iPLEX-Reaktion.....	75
4.6.4.1	Messung der Extensionsprodukte im MALDI-TOF Massenspektrometer ..	77
4.7	Statistische Auswertung	77
5	Ergebnisse	79
5.1	Fall-Kontroll-Assoziationsstudie	79
5.1.1	Analyse des Markers rs6976644	79
5.1.1.1	Genotypverteilung	79
5.1.1.2	Allelverteilung	80
5.1.2	Analyse des Markers rs7797614	80
5.1.2.1	Genotypverteilung	80
5.1.2.2	Allelverteilung	81
5.1.3	Analyse des Markers rs17149799	81
5.1.3.1	Genotypverteilung	81
5.1.3.2	Allelverteilung	82
5.1.4	Analyse des Markers rs7806558	82
5.1.4.1	Genotypverteilung	82
5.1.4.2	Allelverteilung	83
5.2	Endophänotypenstudie zu präfrontaler Kognition.....	83
5.2.1	Analyse der Testleistungen im WCST	83
5.2.1.1	Analyse der Ergebnisse des SNPs rs6976644 im WCST bezogen auf die Genotypen.....	83
5.2.1.2	Analyse der Ergebnisse des SNPs rs6976644 im WCST bezogen auf die Allele	85
5.2.1.3	Analyse der Ergebnisse des SNPs rs7797614 im WCST bezogen auf die Genotypen.....	85
5.2.1.4	Analyse der Ergebnisse des SNPs rs7797614 im WCST bezogen auf die Allele	86

5.2.1.5	Analyse der Ergebnisse des SNPs rs17149799 im WCST bezogen auf die Genotypen.....	86
5.2.1.6	Analyse der Ergebnisse des SNPs rs17149799 im WCST bezogen auf die Allele	87
5.2.1.7	Analyse der Ergebnisse des SNPs rs7806558 im WCST bezogen auf die Genotypen.....	87
5.2.1.8	Analyse der Ergebnisse des SNPs rs7806558 im WCST bezogen auf die Allele	88
5.3	Zusammenfassung der Ergebnisse	89
5.3.1	Fall-Kontroll-Assoziationsstudie.....	89
5.3.2	Endophänotypenstudie	89
6	Diskussion.....	91
6.1	Interpretation und Implikation der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie	91
6.2	Interpretation und Implikation der Endophänotypenstudie	99
6.3	Ausblick.....	103
7	Abkürzungsverzeichnis.....	105
8	Literaturverzeichnis.....	109
9	Danksagung	137
10	Erklärung	138

1 Zusammenfassung

Die Schizophrenie ist eine schwerwiegende psychische Erkrankung, bei der das Lebenszeitrisiko bei ca. 1% liegt. Die Pathogenese der Schizophrenie ist multifaktoriell begründet, wobei man von einer starken genetischen Komponente ausgeht. Obwohl der Vererbungsmodus noch nicht hinreichend geklärt ist, geht man davon aus, dass mehrere Gene daran beteiligt sind. Außerdem besteht die Annahme, dass Risikogene bei verschiedenen Personen unterschiedlich stark vorhanden sind und einen individuell unterschiedlichen Risikofaktor darstellen. Bisher wurden mehrere Gene mit einer geringen Assoziation mit der Schizophrenie gefunden. Bis dato ist jedoch noch nicht bekannt wie viele prädisponierende Genloci vorhanden sind und wie stark ausgeprägt das Risiko der einzelnen Gene ist.

Die Schwierigkeit die Schizophrenie klinisch zu diagnostizieren liegt an den heterogenen Ursachen und an dem heterogenen Erscheinungsbild, was zu unterschiedlichen und schwer replizierbaren Ergebnissen führt. Mit Hilfe von Endophänotypen bzw. intermediären Phänotypen – zeitstabilen quantitativ messbaren neurobiologischen Korrelaten - können homogenere Subgruppen gebildet werden. Außerdem besteht die Annahme, dass Endophänotypen genetisch weniger komplex determiniert sind. Endophänotypen sind beispielsweise Exekutivfunktionen, höhere kognitive Leistungen, die bei der Schizophrenie häufig stark eingeschränkt sind.

Die Gruppe III der Glutamatrezeptoren befinden sich in den Nervenendigungen innerhalb der Synapse, an dem Ort, an dem die Glutamat Freisetzung verhindert wird. Bei Patienten, die an Schizophrenie leiden wurde eine verringerte Menge an Glutamat im Gehirn festgestellt. Deswegen wird das GRM-Gen, welches für den metabotropen Glutamatrezeptor 8, der der Gruppe III der mGluRs angehört, als Kandidatengen gesehen. Aufgrund des Zusammenhangs von Schizophrenie und Defiziten bei exekutiven Funktionen, könnte auch ein Zusammenhang zwischen dem GRM8 Gen und den exekutiven Funktionen bestehen.

In der vorliegenden Studie wird einerseits in einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie der Zusammenhang der intronischen Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) rs6976644, rs7797614, rs17149799, rs7806558 des GRM8-Gens mit der Schizophrenie und andererseits

im Rahmen einer Endophänotypenstudie der Einfluss auf Leistungen im Wisconsin-Card-Sorting-Test (WCST) , einem Test der Exekutivfunktionen erfasst, untersucht.

Die Genotypisierung der vier SNPs fand durch das iPLEX-Verfahren statt, woraufhin die Verteilung der Allele und Genotypen zwischen einer Patientengruppe mit kaukasischer Herkunft und einer deutschstämmigen Kontrollgruppe verglichen wurde. Daraufhin wurden die Exekutivfunktionen mit dem WCST erfasst und in Abhängigkeit mit den Allelen und Genotypen gestellt.

Es konnten keine signifikanten Assoziationen zwischen den vier SNPs und der Schizophrenie gezeigt werden. Im Rahmen der Endophänotypenstudie, in der die SNPs auf Assoziation mit Exekutiven Funktionen untersucht wurden, konnte in drei Fällen ein Effekt des Genotyps mit einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$ auf die Testvariablen gezeigt werden. Dabei war der homozygote Genotyp der DNA-Variante rs6976644 mit der Anzahl erfolgreich abgeschlossener Kategorien des WCST signifikant assoziiert. Der SNP rs7806558 zeigte gleich zwei signifikante Assoziationen, erstens mit den Perseverativen Fehlern und zweitens mit den erfolgreich abgeschlossenen Kategorien des WCST.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigten nur einen Zusammenhang zwischen zwei der vier untersuchten SNPs des GRM8-Gens mit exekutiven Funktionen und keine Assoziation mit der Diagnose Schizophrenie. Da die SNPs dieser Arbeit bis dato in keiner weiteren Studie im Zusammenhang mit der Schizophrenie oder exekutiven Funktionen veröffentlicht wurden, wären weitere Studien nötig um die Ergebnisse zu replizieren oder zu widerlegen. Auch die Untersuchung weiterer SNPs des GRM8-Gens wäre nötig um den Zusammenhang mit Schizophrenie und kognitiven Domänen genauer betrachten zu können

2 Einleitung

2.1 Schizophrenie

2.1.1 Definition

Die Schizophrenie ist eine schwerwiegende psychiatrische Erkrankung mit vielen Symptomen und einem heterogenen Erscheinungsbild. Sie wird zu den endogenen Psychosen gezählt. Der Begriff „Schizophrenie“ wurde durch den Schweizer Eugen Bleuler geprägt, der 1911 den Begriff „dementia praecox“ von Kraepelin (1919) ablöste. Schizophrenie wird aus einem Zusammenspiel von äußeren Einflüssen und genetischen Dispositionen verursacht. Der genaue Zusammenhang dieser beiden Faktoren sowie der Umfang, in dem diese das Krankheitsbild hervorrufen, sind noch nicht ausreichend geklärt worden (Tandon et al., 2008a).

2.1.2 Symptomatik und Klassifikation

Aufgrund ihrer Heterogenität umfasst die Schizophrenie eine große Anzahl an Symptomen. Dazu gehören beispielsweise Verzerrungen der Wahrnehmung und des Denkens, kognitive Beeinträchtigungen, motorische Anomalien, Apathie, Kommunikationsschwierigkeiten und Affektstörungen (Chen et al., 2000; Cohen et al., 2008; Docherty, 1996; Exner, 2003; Laws and Kondel, 1998; Raffard et al., 2013).

Der Begriff Schizophrenie beinhaltet Gruppen von Störungen, die Affekt- und Antriebsstörungen, Ich-Störungen sowie den Verlust sozialer Kompetenzen mit einschließen. Auch wenn die Schizophrenie schon seit Jahren ausgiebig erforscht wird, ist die klinische Klassifikation aufgrund ihrer Diversität immer noch schwierig (Tandon et al., 2008a). Kraepelin grenzte erstmalig die Schizophrenie, die er dementia praecox nannte, vom heutigen bipolaren Syndrom ab (Kraepelin, 1919). Er fand Zusammenhänge zwischen Katatonie, Hebephrenie und paranoider Demenz.

Den eigentlichen Begriff Schizophrenie prägte jedoch Bleuler im Jahre 1911 (Bleuler, 1911). Er betrachtete Halluzinationen und Wahn als Begleitsymptome und nicht mehr als die Grundvoraussetzung der Krankheit. Störungen des Gedankengangs, des Affektes, Vorhandensein von Ambivalenz und Autismus waren seiner Meinung nach die Kriterien für

eine Schizophrenie. Heute werden diese 4 Störungen unter dem Begriff „Negativsymptomatik“ zusammengefasst.

Kurt Schneider unterteilte die Symptome in solche ersten und zweiten Ranges (Schneider, 1976, 1959, 2007). Die Symptome des ersten Ranges umfassten akustische Halluzinationen wie beispielsweise kommentierende Stimmen, Ich-Störungen oder Wahnwahrnehmungen, zu den Symptomen des zweiten Ranges hingegen zählten unter anderem weitere akustische Halluzinationen, Halluzinationen auf anderen Sinnesgebieten, Wahneinfall und –gedanke (Hales et al., 2008).

Die Klassifikationen, die zurzeit aktuell sind und eine Vereinheitlichung ermöglichen, sind DSM-IV (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, der American Psychiatric Association APA) und ICD 10 (*International Classification of Diseases*, der Weltgesundheitsorganisation WHO).

Bei der DSM-IV Klassifikation gibt es fünf Schizophrenie-Subtypen, der paranoide Typ, der desorganisierte Typ, der katatone Typ, der undifferenzierte Typ und der residuale Typ. Die Unterteilung durch die diagnostischen Leitlinien nach ICD 10 erfolgt hingegen in acht Symptomgruppen zu denen beispielsweise katatone oder negative Symptome zählen. Voraussetzung bei beiden Klassifikationen ist, dass sie mindestens einen Monat vorhanden sind.

2.1.3 Epidemiologie

Das Durchschnittsalter, in dem die Erkrankung erstmals auftritt liegt zwischen dem 20. und 35. Lebensjahr (Häfner, 2003). Männern erkranken durchschnittlich früher als Frauen. Eine mögliche Erklärung dafür ist beispielsweise die unterschiedliche Wirkung von Östrogenen und Androgenen (Jablensky and Cole, 1997; Seeman, 1997).

Eine mittlere Inzidenzrate von 15,2/100.000 pro Jahr wurde bei einer Meta-Analyse ermittelt, die sich auf alle erfassten Daten zwischen 1965 und 2001 bezieht. Dabei lagen die Inzidenzraten zwischen 8-43/100.000 pro Jahr (McGrath et al., 2004). Es konnte ein Zusammenhang zwischen einer Stadtgeburt und dem Schizophrenie-Risiko beobachtet werden, wobei die genaue Ursache hierfür noch ermittelt werden muss (Kirkbride et al., 2006; Lewis et al., 1992). Eine Metaanalyse, die 18 Studien zwischen 1977 und 2003 umfasst, zeigt, dass Menschen mit Migrationshintergrund ein höheres Risiko haben an Schizophrenie

zu erkranken (Cantor-Graae and Selten, 2005). Bei ihnen liegt die Inzidenzrate durchschnittlich bei 0,7%, bzw. zwischen 0,3 und 2,0% (Saha et al., 2005).

Die 1-Jahres-Prävalenz lag 1996 in den USA bei 1,1% (Norquist and Regier, 1996). Die Prävalenz bei Migranten ist höher, genau wie bei höher entwickelten Ländern im Gegensatz zu weniger entwickelten Ländern. Bei Frauen und Männern, sowie bei Menschen, die in der Stadt und diejenigen, die auf dem Land leben, ist kein Unterschied hinsichtlich der Prävalenz gegeben (Saha et al., 2005).

2.1.4 Verlauf

Der Verlauf und die Prognose sind bei der Schizophrenie bei jedem Individuum sehr unterschiedlich. Die Schizophrenie kann in 4 Phasen eingeteilt werden: die prämorbid Phase, die Prodromalphase, die psychotische Phase und die stabile Phase (Abbildung 1; Tandon et al. 2009)

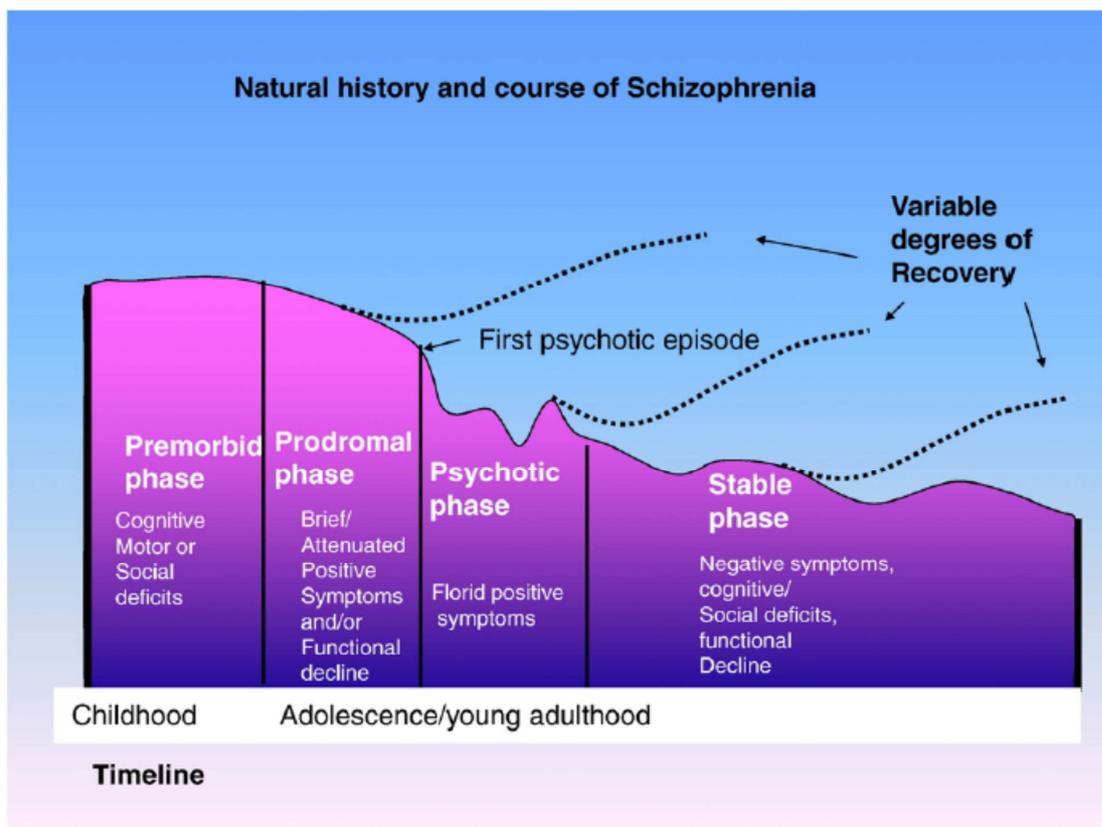


Abbildung 1: Phasen der Schizophrenie (Tandon et al. 2008)

Die Prämorbid Phase ist durch eine unterschwellige und unspezifische kognitive, motorische und soziale Dysfunktion gekennzeichnet (Schenkel and Silverstein, 2004). Zwei nordamerikanische Studien erfassten dabei eine mittlere Dauer von ca. 2 Jahren (McGorry et

al., 1995). Zu den häufigen Symptomen in dieser Phase zählen verminderte Konzentration und Aufmerksamkeit, verringerte Antriebskraft, Schlafstörungen, depressive Stimmung und Angstgefühle, sozialer Rückzug, verstärktes Misstrauen, Beeinträchtigung in der sozialen Anpassungsfähigkeit sowie Reizbarkeit (Yung and McGorry, 1996).

Als prodromale Phase wird die Zeit vor dem ersten Ausbruch einer Psychose bezeichnet. Charakteristisch für diese Phase sind unterschwellige psychotische Symptome und andere klinische Zeichen wie kognitive Defizite, negative Symptome, Stimmungsschwankungen und ein Funktionsabbau (Cornblatt et al., 1999; Donohoe et al., 2006; Fenton and McGlashan, 1994; Hemmingsen et al., 1999; Tandon et al., 2009).

Die psychotische Phase wird durch das Auftreten der klassischen Symptome der Schizophrenie nach DSM-IV oder ICD10 eingeleitet. Die Anzeichen für den Beginn dieser Phase stellen wiederholtes Auftreten einer Psychose mit unterschiedlichem Schweregrad mit Remissionsphasen und einer gesteigerten Verschlechterung der Allgemeinsituation bei jeder akuten Phase dar. Diese Phase geht schließlich in eine stabile Phase oder Plateauphase über, in der die Symptome nicht mehr ganz so ausgeprägt sind. Es wechseln sich Phasen der Remission und Phasen der Verschlechterung ab.

Es ist jedoch hervorzuheben, dass alle vier Phasen nicht starr einzeln zu betrachten sind, sondern diese vielmehr ineinander übergehen, was eine genaue Abgrenzung teilweise nur schwer bis nicht möglich macht (Tandon et al., 2009).

Nachdem der Verlauf der Schizophrenie in Phasen aufgeteilt wurde, stellt sich hierzu noch die Frage, inwieweit und ob eine Heilung oder zumindest Verbesserung dieser Krankheit möglich ist.

Die Häufigkeit einer symptomatischen Remission bei einer psychotischen Ersterkrankung wurde in den letzten Jahren in verschiedenen Studien untersucht. Dabei betrug die symptomatische Remission nach einem Jahr 17,0 – 78,0% (Boter et al., 2009; Cesková et al., 2007; Chang et al., 2013; Crespo-Facorro et al., 2011; Menezes et al., 2009; Schöttle and Naber, 2014; Ventura et al., 2011; Wunderink et al., 2007), nach zwei Jahren 23,6 – 55,7% (Addington and Addington, 2008; Cassidy et al., 2010; Emsley et al., 2006, 2007; Oosthuizen et al., 2006; Petersen et al., 2008; Verma et al., 2012), nach drei Jahren 47,2% (de Haan et al., 2008; Schöttle and Naber, 2014), nach vier Jahren 57,6% (Clarke et al., 2006; Schöttle and

Naber, 2014), nach fünf Jahren 28,8 – 59,3% (Bodén et al., 2009; de Haan et al., 2008; Schöttle and Naber, 2014; Üçok et al., 2011), nach sieben bis acht Jahren 49,3 – 59% (Crumlish et al., 2009; Henry et al., 2010; Schöttle and Naber, 2014) und nach 10 Jahren 48 – 53% (van Os et al., 2006; Schöttle and Naber, 2014). Für eine funktionelle Remission konnte bislang keine einheitliche Definition gefunden werden (Schöttle and Naber, 2014). Die Schwierigkeit besteht darin, dass der Funktionsstatus sowie affektive Symptome, Lebensqualität und kognitive Symptome sowohl aufgrund des Vorkommens bei anderen Erkrankungen als auch durch individuelle, gesellschaftliche und sozioökonomische Faktoren beeinflusst werden und außerdem zeitlich unterschiedlich verlaufen (Schöttle and Naber, 2014). In einigen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass Zusammenhänge zwischen einer symptomatischen Remission und Verbesserungen im sozialen Funktionsstatus (Helldin et al., 2007; van Os et al., 2006; Schöttle and Naber, 2014; Wunderink et al., 2007), bei kognitiven Fähigkeiten (Helldin et al., 2006; Schöttle and Naber, 2014) und in der Lebensqualität (Emsley et al., 2007; Schöttle and Naber, 2014) bestehen. Jedoch sind die Ergebnisse zu den Zusammenhängen heterogen und nicht eindeutig (Oorschot et al., 2012; Schöttle and Naber, 2014; Shrivastava et al., 2010).

2.1.5 Ätiopathogenese

Trotz zahlreicher neuer Erkenntnisse in den letzten Jahren sind die genaue Ursache sowie der genaue Verlauf der Schizophrenie weiterhin unbekannt. Im Folgenden sind die Faktoren aufgezählt, die zur Ätiopathogenese der Schizophrenie beitragen.

2.1.5.1 Umweltbedingte Faktoren

Es gibt eine Vielzahl an umweltbedingten Risikofaktoren, die im Zusammenhang mit der Schizophrenie eine große Rolle spielen. Dazu gehören sowohl biologische als auch psychosoziale Faktoren, die sich während der Entwicklung bzw. der pränatalen Phase, der perinatalen Phase, der frühen und späten Kindheit, der Jugend oder dem Erwachsenenalter manifestieren (Mäki et al., 2005). Die psychosozialen Faktoren umfassen beispielsweise ein instabiles Erziehungsumfeld („expressed emotions“), kritische/traumatische Lebensereignisse und niedrigen sozialökonomischen Stress (Boydell, 2003), die biologischen Faktoren sind u.a. Schädigungen des Gehirns oder Cannabiskonsum (Arseneault et al., 2002). Zu den Risikofaktoren, welche in Tabelle 1 dargestellt werden, zählen außerdem Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen wie Präeklampsie, perinatale

Hirnschädigungen, Rhesus-Inkompatibilität, unerwünschte Schwangerschaft, schwere Unterernährung der Mutter oder maternale Infektionen im ersten oder frühen zweiten Trimenon (Jones and Cannon, 1998; Meyer et al., 2007; Penner and Brown, 2007).

Tabelle 1: Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen als Risikofaktoren für Schizophrenie (Jones and Cannon, 1998)

Risikofaktoren	Relatives Risiko
Präeklampsie	9
Perinatale Hirnschädigung	7
Rhesus-Inkompatibilität	3
Unerwünschte Schwangerschaft	2
Schwere Unterernährung im 1. Trimenon	2
Mütterliche Influenza im 2. Trimenon	2

Bei Virusinfektionen während der Schwangerschaft wird am häufigsten die Influenza mit der Entstehung der Schizophrenie in Zusammenhang gebracht, aber auch andere Viren wie beispielsweise Rubella oder Toxoplasmose können zur Entwicklung der Erkrankung führen (Brown et al., 2001, 2005). Ein weiterer Risikofaktor für Schizophrenie besteht in einer anormalen Immunantwort der Mutter auf die genannten Virusinfektionen. Auch Zytokine spielen dabei eine Rolle, wobei der genaue Mechanismus noch nicht geklärt ist (Ashdown et al., 2006). Der Wert für Interleukin 8 (IL-8) ist bei Müttern von schizophrenen Kindern beinahe doppelt so hoch wie bei Müttern gesunder Kinder (Penner and Brown, 2007). Betrachtet man die Risikofaktoren der Schizophrenie, wird das Augenmerk meist auf die pränatale/perinatale Periode der Schwangerschaft gelegt und damit auf die Rolle der Mutter (Patterson, 2007). Studien zeigen aber auch, dass das Risiko für ein Kind, eine Schizophrenie zu entwickeln, fast doppelt so hoch ist, wenn der Vater ein höheres Alter hat, laut der Studie von Byrne et al. beispielsweise bei Vätern über 50 Jahren (Byrne et al., 2003; Malaspina et al., 2001; Wohl and Gorwood, 2007).

Bei Geburten, die in den späten Wintermonaten bzw. in den frühen Frühlingsmonaten stattfinden, ist die Wahrscheinlichkeit an Schizophrenie zu erkranken ungefähr um 5 – 8% höher (Davies et al., 2003; McGrath and Welham, 1999; Torrey et al., 1997). Mögliche Erklärungen dafür sind seasonspezifische Faktoren wie beispielsweise Infektionen, Vitamin D

Mangel oder zahlreiche meteorologische Einflüsse (Battle et al., 1999; Bradbury and Miller, 1985; Byrne et al., 2014; Cheng et al., 2013; McGrath and Welham, 1999; Torrey et al., 1997). Als zwei weitere wichtige Risikofaktoren für Schizophrenie gelten die Geburt und das Aufwachsen in der Stadt, sowie ein Migrationshintergrund (Cantor-Graae and Selten, 2005; Kirkbride et al., 2006; Lewis et al., 1992).

In den Jugendjahren wird der Konsum von Cannabis mit einer erhöhten Gefahr an Schizophrenie zu erkranken in Verbindung gebracht. Obwohl eine ursächliche Rolle wahrscheinlich ist, bezweifeln einige Experten die Ursachen-Grund-Verbindung. Diese vermuten dagegen, dass Cannabis ein auslösender Faktor bei bereits gefährdeten Personen ist, oder dass der Ausbruch der Krankheit zwar in irgendeiner Weise verändert wird, jedoch nicht das Erkrankungsrisiko erhöht (Burns, 2013).

Als psychosoziale Auslösefaktoren der Schizophrenie werden belastende Lebensereignisse, sog. „Life-Events“, häufig diskutiert. Es gibt Hinweise darauf, dass solche Ereignisse mit dem Ausbruch der Krankheit in Verbindung stehen, der genaue Zusammenhang ist jedoch bislang unbekannt (Chabungbam et al., 2007; Docherty et al., 2009; Horan et al., 2005). In Studien, in denen die Belastung durch stressreiche „Life-Events“ bei schizophrenen Patienten und bei anderen psychiatrisch Erkrankten (meist depressiven Patienten) verglichen wurde, wurde gezeigt, dass schizophrene Patienten geringeren Belastungen ausgesetzt waren. Wurden jedoch schizophrene Patienten mit Gesunden verglichen, ermittelte man bei einem Drittel der Studien signifikant mehr kritische Lebensereignisse. In weiteren Studien wurde festgestellt, dass sich die Symptomatik der Schizophrenie durch kritische Lebensereignisse signifikant verschlechtert (Norman and Malla, 1993).

2.1.5.2 Genetische Faktoren

Mit der Durchführung zahlreicher Familien-, Adoptions- und Zwillingsstudien konnte gezeigt werden, dass es eine genetische Komponente bei der Entwicklung einer Schizophrenie gibt (Gottesman and Shields, 1983; Sullivan et al., 2003). Obwohl der Vererbungsmodus noch ungeklärt ist, geht man davon aus, dass nicht ein einzelnes Gen für die Entstehung der Schizophrenie verantwortlich ist, sondern mehrere Gene (Jablensky, 2000; Pulver, 2000).

Familien-, Adoptions- und Zwillingsstudien

Das Erkrankungsrisiko für Schizophrenie ist bei Angehörigen schizophrener Patienten höher als bei der Allgemeinbevölkerung, bei der das Risiko bei 1% liegt (Bailer et al., 2002; Cardno and Gottesman, 2000; Purcell et al., 2009; Sullivan et al., 2003). Dabei liegt das Risiko für Verwandte ersten Grades bei 5-15%, bei Verwandten zweiten Grades bei 2-6%, bei Verwandten dritten Grades bei 2% (Gottesman, 1991). Bei Familienstudien muss jedoch beachtet werden, dass Verwandte häufig in ähnlichen familiären Verhältnissen aufwachsen. Ist das der Fall, ist es schwierig die genetische Komponente von den Umweltbedingungen zu trennen.

Zwillings- und Adoptionsstudien erweisen sich als äußerst nützlich, um den Zusammenhang zwischen Genetik, Umweltbedingungen und Schizophrenie untersuchen zu können. Da monozygote Zwillinge nahezu eine identische genetische Information besitzen, müsste bei einer rein genetischen Ursache der Schizophrenie eine Konkordanz von 100% gegeben sein. Das ist aber nicht der Fall, denn wenn ein Zwilling erkrankt ist, liegt das Erkrankungsrisiko für den anderen Zwilling bei 48%. Bei dizygoten Zwillingen, bei denen das genetische Material mit ca. 50% übereinstimmt, liegt das Erkrankungsrisiko für den anderen Zwilling nur bei 15%. Somit kann die Erkrankung nicht alleine auf die Genetik zurückgeführt werden, auch andere Faktoren müssen dabei eine Rolle spielen (Owen et al., 2005). Die Heritabilität der Schizophrenie liegt jedoch bei ungefähr 80% (Cardno and Gottesman, 2000; Kendler, 2001; Wong et al., 2005).

Adoptionsstudien eignen sich dafür, genetische Einflüsse und umweltbedingte Faktoren voneinander zu trennen. Ein möglicher Beweis dafür ist, dass Kinder, die im frühen Alter, d.h. ca. mit einem Jahr, adoptiert wurden, bei denen ein Adoptivelternteil erkrankt war, kein höheres Schizophrenierisiko besteht. Im Gegensatz dazu haben früh adoptierte Kinder, deren biologische Eltern an Schizophrenie leiden, aber nicht deren Adoptiveltern, weiterhin ein höheres Erkrankungsrisiko (Kety, 1988; Kety et al., 1994; Tienari et al., 2000). Daraus kann man schlussfolgern, dass die genetische Komponente den größten Anteil für das Erkrankungsrisiko ausmacht und im Vergleich dazu die Umweltbedingungen eine geringere Bedeutung haben.

Molekulargenetik der Schizophrenie

Zur Identifizierung von Krankheitsgenen, die zur Schizophrenie führen, findet die Molekulargenetik Anwendung. Bei der Schizophrenie liegt ein komplexer Vererbungsmechanismus vor (Schumacher et al., 2007), der nicht dem Erbgang mit Mendelschen Regeln folgt (McGue and Gottesman, 1989). Dabei geht man davon aus, dass eine Kombination aus häufig vorkommenden Allelen mit geringem Effekt und selten vorkommenden Allelen mit großem Effekt vorliegt. Es wird weiterhin angenommen, dass sich die prädisponierenden Genloci gegenseitig beeinflussen, wobei der genaue Mechanismus unbekannt ist (Craddock et al., 2007; Owen et al., 2009; Schumacher et al., 2007; Wang et al., 2005). Bei den einzelnen Individuen unterscheiden sich drei Millionen der über drei Milliarden Nukleotidbasen, aus denen die DNA-Sequenz zusammengesetzt ist. Für die phänotypische Variabilität und die Krankheitsdisposition sind Bereiche dieser variablen DNA-Sequenzen verantwortlich. Diese Polymorphismen werden auch als Marker genutzt, um sich im Genom zu orientieren. SNP's (Single nucleotide Polymorphism) stellen mit 90% den größten Anteil der genetischen Variabilität dar. Sie sind Mutationen einer einzelnen Base, dessen minores Allel (ein weniger häufiges Allel) bei mindestens einem Prozent der betrachteten Population vorkommt (Cichon et al., 2002).

Einzelne Gene, die an der Pathogenese der Schizophrenie beteiligt sind, können mit Hilfe von Kopplungs- und Assoziationsstudien identifiziert werden. Bei Kopplungsstudien werden genetische Informationen von Familien genutzt, bei denen möglichst viele Familienmitglieder an Schizophrenie leiden. Bei ihnen wird versucht, Regionen des Genoms zu identifizieren, welche mit der Krankheit gekoppelt sind, dabei werden vor allem chromosomale Marker gesucht, die bei den erkrankten Familienmitgliedern vorkommen, bei den gesunden Verwandten aber nicht.

Erste Kopplungsstudien mit positiven Ergebnissen waren nicht reproduzierbar, sodass genomweite Kopplungsstudien zur Anwendung kamen. Dabei wurden stark signifikante Kopplungen beobachtet, die ebenfalls nicht reproduzierbar waren (Rujescu, 2007). Insgesamt wurden mehr als 30 genomweite Studien und drei Meta-Analysen durchgeführt (Badner and Gershon, 2002; Lewis et al., 2003; Ng et al., 2009). In einer Studie von 2009 wurden zunächst 32 genomweite Kopplungsstudien beschrieben, welche später auf 22 reduziert wurden und ausschließlich europäische Teilnehmer umfasste (Ng et al., 2009). Die

Übereinstimmungen der drei Metaanalysen waren nicht groß und die Daten äußerst unterschiedlich. Bei Badner & Gershon (2002) wiesen die Ergebnisse auf Suszeptibilitätsgene, Gene mit einer genetisch bedingt erhöhten Erkrankungswahrscheinlichkeit (Asleh and Levy, 2005; Mullin et al., 2011; Yang et al., 2013), auf den Chromosomen 8p, 13q und 22q hin. Lewis et al. entdeckten 2003, dass die Chromosomenregionen 8p21-22 und 22q11-12 Risikogene für Schizophrenie beinhalten. Außerdem identifizierten sie folgende chromosomale Regionen als wahrscheinliche Suszeptibilitätsregionen: 2p12-q22, 5q23-q34, 3p25-p22, 11q22-q24, 6pter-p22, 2q22-q23, 1p13-q23, 22pter-q12, 8p22-p21, 6p22-p21, 20p20-p11, 14pter-q13, 16p13-q12, 18q22-qter, 10pter-p14, 1q23-q31, 15q21-q26, 6q15-q23 und 17q21-q24 (Tandon et al., 2008a). Eine weitere Kopplungsstudie bei Geschwisterpaaren identifizierte auch die Bereiche 10p15-p13, zweites Zentromer, und 22q12 (DeLisi et al., 2002; Tandon et al., 2008a). Bei dem Chromosomenabschnitt 2q wurde bei der Meta-Analyse von Ng et al. (2009), die 32 Studien umfasste, eine genomweite signifikante Kopplung entdeckt, nicht jedoch bei einer Stichprobe mit ausschließlich europäisch-stämmigen Teilnehmern. Bei der Gesamtstichprobe wurden ebenfalls Kopplungshinweise auf dem Chromosomenabschnitt 5q entdeckt, bei der europäischen Studie hingegen auf dem Chromosom 8p (Ng et al., 2009).

Mit Kopplungsstudien können jedoch keine Suszeptibilitätsgene selbst gefunden werden. Weitere Probleme der Kopplungsstudien stellen beispielsweise die Suche nach Familien, die zur Studie geeignet sind und gleichzeitig groß genug sind, sowie die geringe Menge an Stichproben dar, mit denen es nicht möglich ist, Gene zu finden, die nur einen geringen Effekt haben. Außerdem wird durch die genetische Heterogenität die Sensibilität der Kopplungsstudien herabgesetzt (Fanous and Kendler, 2005; Rujescu, 2007; Sawa and Snyder, 2002; Tandon et al., 2008b).

Assoziationsstudien erfassen durch den Vergleich einer Patienten- und Kontrollstichprobe den Zusammenhang zwischen speziellen Genvarianten und dem Schizophrenierisiko (Rujescu, 2007; Tandon et al., 2008a). Der Vorteil gegenüber Kopplungsstudien besteht darin, dass auch Gene mit einem nur geringen Effekt auf die Erkrankung detektiert werden können (Rujescu, 2007). Beim Vorliegen einer Assoziation zwischen einem Polymorphismus und der Erkrankung kann der Polymorphismus selbst die Ursache für die Erkrankung sein, oder sich in unmittelbarer räumlicher Nähe zum Gen befinden, welches direkt mit der

Krankheit in Verbindung steht. In letzterem Fall besteht die Assoziation über ein Kopplungsgleichgewicht. Das Problem von Assoziationsstudien besteht darin, dass häufig falsch-positive Ergebnisse entstehen, welche nicht replizierbar sind (Lohmueller et al., 2003). Durch Fortschritte in den Genotypisierungstechniken ist es möglich geworden, mehrere Millionen SNPs gleichzeitig bei einer Person zu genotypisieren, wodurch man zu hypothesenfreien Ansätzen, wie den genomweiten Assoziationsstudien (GWAS) tendiert. Dabei werden mehrere 100.000 SNPs einer Testperson analysiert, ohne dass diese zuvor auf ihre Relevanz bezüglich des Erkrankungsrisikos untersucht wurden. Die GWAS scheinen äußerst erfolgsversprechend zu sein (Visscher et al., 2012). Das Problem von früh veröffentlichten GWAs lag jedoch in der kleinen Stichprobengröße, die zwischen 178 und 871 Fällen umfasste (Kirov et al. 2009; Lencz et al. 2007; Need et al. 2009; Shifman et al. 2008; Sullivan et al. 2008; Schwab & Wildenauer 2013). Inzwischen hingegen umfassen die GWAs teilweise mehr als 30.000 Fälle (Smoller et al. 2013). Es wird zwischen Studien unterschieden die eine gepoolte Genotypisierung verwenden, und Studien die eine individuelle Genotypisierung analysieren. Bei der individuellen Genotypisierung werden die Allelhäufigkeiten spezieller SNPs mit Hilfe von DNA-Chips bei Patienten und gesunden Probanden verglichen. Die gepoolte Genotypisierung umfasst hingegen die Herstellung zweier DNA-Pools, einerseits einen Pool mit der DNA von Patienten, andererseits einen mit der DNA von Probanden. Die äquimolaren Anteile der individuellen DNA-Proben werden zu einem Pool zusammengefügt. Anschließend erfolgt die Bestimmung der Allelfrequenz in jeder gepoolten DNA-Probe. Werden unterschiedliche Allelfrequenzen in den Patienten- und Kontrollproben entdeckt, wird bei einer Person individuell genotypisiert und ausgewertet.

Zu den Studien, welche die gepoolte DNA verwenden, gehört beispielsweise die 2006 veröffentlichte Studie von (Mah et al., 2006). Diese beinhaltete 320 Personen mit Schizophrenie oder einer schizoaffektiven Störung, sowie 325 Kontrollprobanden, wobei mehr als 25.000 SNPs aus 14.000 Genen analysiert wurden. Dabei entdeckte man eine Assoziation zwischen dem Gen PLXNA2 auf Chromosom 1q32 und Schizophrenie bzw. schizoaffektiver Störung (Mah et al., 2006). Bei einer weiteren Studie, in der gepoolte DNA verwendet wurde, wurde durch eine Stichprobe mit aschkenasischen Juden herausgefunden, dass bei Frauen eine eingeschränkte Assoziation des Reelin-Gens auf Chromosom 7 mit Schizophrenie besteht. Dieser geschlechtsspezifische Zusammenhang konnte durch vier Replikationsstudien aus Großbritannien, Irland, den USA und China bestätigt werden

(Shifman et al., 2008). Schließlich zählt zu diesem Typ eine familienbasierte genomweite Assoziationsstudie, die Kirov et al. (2009) bei 2.327 Personen durchführte. Dabei ergab sich die stärkste Assoziation ($p=1.2 \times 10^{-6}$) zur Schizophrenie bei SNP rs11064768 im CCDC60-Gen auf Chromosom 12 (Kirov et al., 2009).

Die im folgenden genannten Studien folgen dem Prinzip der individuellen Genotypisierung. Die durch Lencz et al. durchgeführte Studie mit 178 Patienten mit einer schizophrenen Störung und 144 gesunden Kontrollprobanden, in welcher 500.000 SNPs der Patienten mit denen der Kontrollprobanden verglichen wurden, ermittelten eine Assoziation zwischen dem Gen CSF2RA (colony stimulating factor, receptor 2 alpha) und der Schizophrenie (Lencz et al., 2007). Bei einer Fall-Kontroll-Stichprobe, die von Sullivan et al. durchgeführt wurde, bei der beinahe 500.000 SNPs untersucht wurden, konnten hingegen keine signifikanten Assoziationen mit Schizophrenie erfasst werden. Die genomweite Assoziationsstudie von O'Donovan et al. wurde an einer Stichprobe mit 479 Patienten und 2.937 Kontrollprobanden durchgeführt. Die zwölf Loci, die am stärksten assoziiert waren ($p < 10^{-5}$), wurden in zwei multizentrisch rekrutierten Replikationsstichproben gemischter Abstammung ($n=16726$) analysiert. Eine signifikante Assoziation mit Schizophrenie befand sich auf drei Chromosomabschnitten 2q32.1, 11p14.1 und 16p13.12, wobei ZNF804A (2q32.1) am stärksten assoziiert war und auch eine Assoziation mit bipolaren Störungen gefunden wurde (O'Donovan et al., 2008).

Die Assoziation zwischen dem Locus ZNF804A (2q32.1) und Schizophrenie wurde durch das International Schizophrenia Consortium bestätigt, das ebenfalls eine genomweite Assoziationsstudie durchführte (Purcell et al., 2009). Weitere Assoziationen mit der Schizophrenie wurden mit einem SNP auf Chromosom 22 und über 450 SNPs in der MHC (*major histocompatibility complex*)-Region auf Chromosom 6 entdeckt (Purcell et al., 2009).

Bei einer weiteren GWAS von Shi et al. wurde keine genomweite Assoziation mit Schizophrenie entdeckt. Ausserdem führten Shi et al. eine Meta-Analyse durch, die die Daten dreier Studien auswertete, und zwar der Studie des International Schizophrenia Consortium (Purcell et al., 2009), der Meta-Analyse Molecular Genetics of Schizophrenia (MGS) und des Datensatzes des SGENE. Dabei wurden signifikante Zusammenhänge bei Kaukasiern zwischen Schizophrenie und der chromosomalen Region 6p22.1 ermittelt (Shi et al., 2009).

Stefansson et al. (2009) kombinierten ihre 1.500 besten Marker mit denen des International Schizophrenia Consortium (Purcell et al., 2009) und von Shi et al. (2009). Dabei eruierten sie eine genomweite Assoziation mit Markern aus der MHC-Region auf Chromosom 6p21.3-22.1, einem Marker der vor dem Neurogranin Gen (NRGN) liegt auf 11q42.2 und einem Marker auf dem Transkriptionsfaktor 4 (TCF4) auf 18q21.2 (Stefansson et al., 2009).

Bei einer GWAS in der chinesischen Han Population, die 2011 von Shi et al. durchgeführt wurde, konnte eine genomweite Assoziation bei den zwei SNPs rs16887244 und rs10489202 auf den Chromosomenabschnitten 8p12 und 1q24.2 gefunden werden (Shi et al., 2011).

Fünf neue Loci, die mit Schizophrenie assoziiert sind, wurden bei einer von Ripke et al. durchgeführten genomweiten Assoziationsstudie entdeckt. Diese war in zwei Stufen aufgeteilt, wobei die erste Stufe 21.856 Teilnehmer europäischer Abstammung und die zweite Stufe 29.839 unabhängige Testpersonen umfasste. Zusammen ergaben sie die fünf neuen Chromosomenabschnitte 1p21.32, 2q32.3, 8p23.2, 8q21.3 und 10q24.32-q24.33 und die beiden Chromosomenabschnitte 6p21.32-p22.1 und 18q21.2, dessen Zusammenhang mit Schizophrenie bereits zuvor bekannt war (Purcell et al., 2009; Shi et al., 2009; Stefansson et al., 2009). Dabei wies der SNP rs1625579 mit der chromosomalen Region 1p21.3 die stärkste Assoziation auf (Ripke et al., 2011).

Eine neue mehrphasige GWA basierte aus 5.001 Fällen aus Schweden. Dabei wurde eine Metaanalyse, mit den Ergebnissen von 8.832 Fällen von früheren GWAs und replizierten SNPs in 168 Genomregionen in unabhängigen Stichproben mit 7.413 Fällen, durchgeführt. Bei dieser Studie wurden 22 Loci identifiziert von denen 13 neu sind (Ripke et al., 2013; Schwab and Wildenauer, 2013).

Eine besonders groß angelegte genomweite Assoziationsstudie wurde von Ripke et al., 2014 mit 36.989 und 113.075 Kontrollen durchgeführt. Dabei wurden 128 unabhängige Assoziationen entdeckt, welche in 108 unabhängigen Loci mit genomweiter Signifikanz lokalisiert waren. Einige dieser Assoziationen könnten ganz neue Einblicke in die Ätiologie ergeben. Assoziationen wie DRD2 und viele weitere Gene, welche an der glutamergen Signaltransduktion beteiligt sind, wie GRIA1, GRIN2a, GRM3, heben bereits bekannte Moleküle mit potenzieller therapeutischer Relevanz für Schizophrenie hervor und stimmen mit gängigen pathophysiologischen Hypothesen überein (Ripke et al., 2014).

Kopplungs- und Assoziationsstudien haben einige Loci ermittelt, die an der Entstehung von Schizophrenie beteiligt sein könnten. Einige werden in der folgenden Tabelle 2 aufgeführt:

Tabelle 2: Verschiedene mit Schizophrenie assoziierte Genloci

Gen	Chromosom	Studien
AKT1 (V-AKT murine Thymoma viral oncogene homolog 1)	14q.32.32	(Nicodemus et al., 2010)
COMT (Catechol-O-Methyltransferase)	22q11.21	(Lewandowski, 2007; Owen et al., 2005)
DAAO (D-amino acid oxidase)	12q24	(Owen et al., 2005)
DISC1 (Disrupted in schizophrenia 1)	1q42.1	(Chubb et al., 2008; Owen et al., 2005)
DRD2 (Dopamine receptor D2)	11q23.2	(Ripke et al., 2014)
DRD3 (Dopamine receptor D3)	3q13.3	(Lochman et al., 2013; Urraca et al., 2011)
DTNBP1 (Dystrobrevin binding protein 1)	6p22.3	(Duan et al., 2007; Li and He, 2007; Owen et al., 2005)
G72/DAOA (D-amino acid oxidase activator)	13q34	(Owen et al., 2005)
GRM3	7q21.12	(Ripke et al., 2014)
GRIN2A	16p13.2	(Ripke et al., 2014)
GRIA1	5q33.2	(Ripke et al., 2014)
HTR2A (serotonin receptor 2A)	13q14-q21	(Gu et al., 2013)
NRG1 (Neuregulin 1)	8p21-p12	(Hänninen et al., 2008; Munafò et al., 2008; Nicodemus et al., 2010; Owen et al., 2005)
PRODH (Proline dehydrogenase 1)	22q11.21	(Alkelai et al., 2012)
RGS4 (Regulator of G-protein signaling 4)	1q23.3	(Owen et al., 2005)

Tabelle 3: mit Schizophrenie assoziierte SNPs

SNP	Chromosom	Studien
rs114002140	6	(Ripke et al., 2013)

rs7085104	10	(Ripke et al., 2013)
rs6461049	7	(Ripke et al., 2013)
rs1198588	1	(Ripke et al., 2013)
rs1006737	12	(Ripke et al., 2013)
rs17691888	10	(Ripke et al., 2013)
rs4129585	8	(Ripke et al., 2013)
rs10789369	1	(Ripke et al., 2013)
rs7940866	11	(Ripke et al., 2013)
rs17504622	5	(Ripke et al., 2013)
rs2905424	19	(Ripke et al., 2013)
rs2373000	2	(Ripke et al., 2013)
rs6878284	5	(Ripke et al., 2013)
rs4687552	3	(Ripke et al., 2013)
rs12991836	2	(Ripke et al., 2013)
rs2949006	2	(Ripke et al., 2013)
rs4801131	18	(Ripke et al., 2013)
rs778371	2	(Ripke et al., 2013)
rs14403	2	(Ripke et al., 2013)
rs11532322	12	(Ripke et al., 2013)
rs1538774	1	(Ripke et al., 2013)
rs11995572	8	(Ripke et al., 2013)
rs171748	5	(Ripke et al., 2013)
rs2910032	5	(Ripke et al., 2013)
rs142303836		(Sun and Zhang, 2014)
rs12759620		(Sun and Zhang, 2014)
rs76481776		(Sun and Zhang, 2014)
rs374455999		(Sun and Zhang, 2014)
rs370756213		(Sun and Zhang, 2014)
rs9631505		(Sun and Zhang, 2014)

Eine weitere Methode um Assoziationen mit Schizophrenie zu finden, wird beispielsweise in der Studie von O'Dushlaine C et al., 2015 aufgezeigt. Dabei wurde versucht biologische Signalwege aus GWA Daten zu identifizieren. Gängige Signalwege von den drei psychischen Störungen: Schizophrenie, Depressionen und bipolare Störungen, wurden dabei untersucht. In diesem Zusammenhang zeigten die Histon Methylierungsprozesse die stärksten Assoziationen. Diese Prozesse spielen auch im Hinblick auf Kognitionen eine wichtige Rolle. Desweiteren konnten starke Assoziationen bei immunologischen und neuronalen Signaltransduktionswegen sowie bei der postsynaptischen Dichte gezeigt werden. Die Studie konnte zeigen, dass sich Risikovarianten vor allem bei biologischen Signaltransduktionswegen häuften und dass diese sich bei den verschiedenen Störungen überlagerten.

Außerdem sind *Copy Number Variations (CNV)* zu erwähnen, die wie SNP Varianten im Hinblick auf die Schizophrenie erforscht werden. CNVs sind Deletionen oder Duplikationen der DNA, die von einer Kilobase (Kb) bis zu mehreren Megabasen (Mb) reichen. Die Kopienanzahl, in der die CNVs im Genom auftreten, variieren von Mensch zu Mensch. Es konnte gezeigt werden, dass CNVs das Schizophrenierisiko erhöhen. Eine Assoziation mit Schizophrenie konnte bei den Deletionen 1q21.1, 15q11.2, 15q13.3, 22q11.2, GLB1L3 auf 11q25, 3q26.1 und 3q29 sowie bei den Duplikation 16p13.1, 18q21, 16p13.2, 7q36.3, 11q25 ermittelt werden (Ikeda et al., 2010; Levinson et al., 2011; Need et al., 2009; Shi et al., 2009; Stefansson et al., 2008)

Neue technische Werkzeuge ermöglichen die Untersuchung der Ätiologie von Schizophrenie im Hinblick auf genetische Ursachen. Dennoch können SNPs oder Gene teilweise nicht repliziert werden (Brzustowicz et al., 2000; DeLisi, 2000; Li et al., 2011; Schanze et al., 2011; Schwab and Wildenauer, 2013; Sherrington et al., 1988; Zaharie et al., 2012). Dabei scheint vor allem die Heterogenität der Schizophrenie eine Rolle zu spielen. Manche Studien gehen davon aus, dass die Gene nicht für Schizophrenie an sich kodieren, sondern für allgemeinere klinische Symptome wie eine Psychose (Craddock et al., 2007; Kendler et al., 1998; Weiser et al., 2005) oder neurokognitive Störungen, die im Rahmen einer Schizophrenie auftreten (Toulopoulou et al., 2007; Whalley et al., 2005). Allgemein gibt es immer noch viele offene Fragen im Rahmen der Genetik der Schizophrenie, die weitere Forschung bedingen (Duan et al., 2010; Keshavan et al., 2011).

2.1.5.3 Neuroanatomische Veränderungen

Mittels Magnetresonanztomographie und Computertomographie konnten neue Erkenntnisse zu den anatomischen Strukturen und deren Veränderungen bei schizophrenen Patienten gewonnen werden. Auffällig ist, dass die graue Substanz und das gesamte Hirnvolumen bei Schizophrenie-Patienten reduziert sind. Dabei waren manche Bereiche besonders betroffen, wie der gesamte Temporallappen, der Hippocampus, die Amygdala, der parahippocampale Gyrus (Lawrie and Abukmeil, 1998; Nelson et al., 1998), der präfrontale Kortex, der Thalamus (Konick and Friedman, 2001) und das Corpus callosum (Woodruff et al., 1995). Bei schizophrenen Patienten ist außerdem auffällig, dass sie erweiterte Seitenventrikel und dritte Ventrikel besitzen (Daniel et al., 1991; Shenton et al., 2001; Steen et al., 2006; Ward et al., 1996; Wright et al., 2000).

Man geht davon aus, dass bei unterschiedlichen Patienten unterschiedliche Hirnareale verändert sind (DeLisi, 2008). Außerdem wurden veränderte Gehirnstrukturen bereits bei Personen entdeckt, bei denen die Schizophrenie noch nicht feststellbar war (DeLisi et al., 2006; Lymer et al., 2006). Ferner waren bei Verwandten, unabhängig davon ob sie erkrankt waren oder nicht, ebenfalls neuroanatomische Veränderungen vorhanden. Bei ihnen wurde ein vermindertes Volumen an grauer Substanz und des Thalamus, sowie eine Erhöhung des Volumens des Sulkus und Ventrikels gefunden (Cannon et al., 1998).

Zu der Frage, ob es sich bei den neuroanatomischen Veränderungen um eine Entwicklungsstörung oder einen degenerativen Prozess handelt, gibt es verschiedene Ansichten. Das Fehlen von Gliose im post-mortem Gewebe schizophrener Patienten ist ein Hinweis dafür, dass es sich nicht um einen neurodegenerativen Prozess handelt (Harrison, 1999). Andere Ergebnisse zeigen jedoch, dass ein Fortschreiten der neuroanatomischen Veränderungen vorhanden ist (Rapoport et al., 2012).

2.1.5.4 Neurobiochemische Veränderungen

Es gilt heutzutage als sicher, dass die Neurotransmitter eine Rolle bei der Schizophrenie spielen. Der genaue Aktionsmechanismus des Einflusses der Neurotransmitter in Bezug auf die Schizophrenie ist jedoch bislang weitgehend ungeklärt. Die Theorien, die die Neurotransmitter als Mitursache für Schizophrenie mit einschließen, wurden dadurch geprägt, dass sich durch die Gabe von Substanzen, welche die Neurotransmitterausschüttung beeinflussen, die Krankheitssymptome verändern, indem sie

sich entweder verbessern oder verschlechtern (Kaplan, 2005). Den verschiedenen Hypothesen ist gemein, dass es sich um ein Ungleichgewicht der Transmittersysteme handelt, nicht aber um eine simple Unter- oder Überaktivität (Carlsson et al., 1999). Die Neurotransmitter, die dabei am meisten diskutiert werden, sind Dopamin und Glutamat.

Die direkten Beweise für die Dopaminhypothese der Schizophrenie, welche den Zusammenhang zwischen Dopamin und Schizophrenie beschreibt und häufig aufgestellt sowie diskutiert wurde, sind rar (Carlsson, 1977; Carlsson and Carlsson, 2006). Es konnte jedoch gezeigt werden, dass Amphetamine, welche die Ausschüttung von Dopamin erhöhen, eine akute Psychose auslösen können (Laruelle et al., 1996). Durch Dopaminantagonisten hingegen kommt es zu einem antipsychotischen Effekt (Guillin et al., 2007). Positronen-Emissions-Tomographien (PET) zeigen bei postmortalen Aufzeichnungen, dass die Bindung und die Dichte der D₂-Rezeptoren bei schizophrenen Patienten stärker ausgeprägt ist, jedoch ist es schwierig zu sagen inwieweit antipsychotische Medikamente diese beeinflussen (Erritzoe et al., 2003; Laruelle, 1998; Zakzanis and Hansen, 1998).

Bei der Glutamathypothese wird davon ausgegangen, dass sich bei schizophrenen Personen zu wenig Glutamat im Liquor befindet. Es wurde die Theorie aufgestellt, dass eine mangelnde Glutamat-Ausschüttung an den N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptoren (NMDA-Rezeptoren) mit Schizophrenie in Zusammenhang steht. Diese Theorie wurde dadurch begründet, dass NMDA Rezeptor-Antagonisten, wie Ketamin und Phencyclidin (PCP), schizophrenoide Modellpsychosen auslösen (Adams and Moghaddam, 1998; Krystal et al., 1994; Moghaddam et al., 1997; Olney and Farber, 1995). Bei Studien, die postmortem bei Schizophrenie-Patienten durchgeführt wurden, konnte eine verminderte Expression der Glutamatrezeptoren festgestellt werden, v.a. der NMDA-Rezeptor-Untereinheit in verschiedenen Hirnregionen, besonders im präfrontalen Kortex und im Hippocampus (Harrison and Owen, 2003). Die Ergebnisse konnten jedoch nicht jedes Mal reproduziert werden (Lewis and Gonzalez-Burgos, 2006).

Schließlich wurde man auf das serotonerge System in Hinblick auf Schizophrenie aufmerksam, da die atypischen Neuroleptika, wie beispielsweise Clozapin, sowohl die dopaminergen Rezeptoren, als auch die Serotoninrezeptoren blockieren. Durch die Einnahme von Halluzinogenen wie beispielsweise Lysergsäurediethylamid (LSD), einem 5-HT-Antagonist, werden psychotische Symptome ausgelöst (Abi-Saab et al., 1998; Gouzoulis-

Mayfrank et al., 2006; Meltzer, 1987). Wie und in welcher Form Serotonin an der Entstehung der Schizophrenie beteiligt ist, ist noch nicht bekannt.

Die Forschung über Schizophrenie beschäftigte sich bislang hauptsächlich mit umweltbedingten oder genetischen Faktoren sowie neuroanatomischen und neurobiochemischen Veränderungen. Das Konzept der Endophänotypen soll dabei helfen, diese einzelnen Faktoren miteinander zu verbinden.

2.2 Das Konzept der Endophänotypen

Endophänotypen oder intermediäre Phänotypen stellen eine Verbindung zwischen dem klinischen Phänotyp (der Symptomebene) und dem Genotyp (der molekularen Ebene) der Schizophrenie her und sollen der weiteren molekulargenetischen Abklärung dienen (Rujescu, 2007; Schulze-Rauschenbach, 2007). Das Konzept der Endophänotypen wird angewendet um Suszeptibilitätsgene zu finden, wozu es wahrscheinlich auch besser geeignet ist, als die klinisch diagnostizierte Krankheit selbst, da man davon ausgeht, dass Endophänotypen genetisch weniger komplex sind (Schulze-Rauschenbach, 2007). Die genetischen Ursachen der Schizophrenie zu entschlüsseln ist deswegen so schwierig, da die Krankheit sehr heterogen ist und andere Wege, wie Assoziations- und Kopplungsstudien, nur schwer zu replizierbaren Ergebnissen geführt haben. Man geht davon aus, dass psychische Störungen nicht nur neurobiologische Korrelate aufweisen, sondern auch neurobiologische Ursachen haben. Dabei dienen die neurobiologischen Korrelate als Phänotypen, welche als Konzept der Endophänotypen von Gottesman und Shields (1972) zum ersten Mal besprochen wurden (Zobel and Maier, 2004). Auch bei Endophänotypen nimmt man an, dass sie die Endprodukte polymorpher Genorte sind, wobei jedoch eine stärkere Verbindung zur genetischen Basis besteht. Endophänotypen sollen durch weniger Gene, jedoch mit einer stärkeren Wirkung beeinflusst werden, und Umweltbedingungen sollen einen geringeren Einfluss auf Endophänotypen haben (Chan and Gottesman, 2008; Gottesman and Gould, 2003). Dabei geht man davon aus, dass die Genvarianten, die mit Endophänotypen in Verbindung stehen, auch Suszeptibilitätsgene für die Erkrankung sind.

Es müssen folgende fünf Aspekte zur Eignung als Endophänotyp erfüllt werden (Gottesman and Gould, 2003):

1. Der Endophänotyp muss mit der Erkrankung assoziiert sein.
2. Der Endophänotyp wird vererbt.
3. Der Endophänotyp ist vornehmlich stabil, d.h. er manifestiert sich unabhängig von der Krankheitsaktivität.
4. Der Endophänotyp kosegregiert innerhalb von Familien mit der Erkrankung.
5. Der bei betroffenen Familienmitgliedern vorliegende Endophänotyp tritt bei gesunden Angehörigen häufiger als in der Allgemeinbevölkerung auf.

Außerdem sollten Endophänotypen quantitativ und zuverlässig messbar sein und mit der untersuchten Krankheit stärker assoziiert sein als mit anderen Erkrankungen (Chan and Gottesman, 2008). Neurokognitive, neurophysiologische, biochemische, endokrinologische oder neuroanatomische Variablen und Alterationen der neuronalen Entwicklung, welche quantitativ messbar sein müssen, können als Endophänotypen verwendet werden. Um die genannten Parameter zu identifizieren werden Studien genutzt, die Schizophrenie relevante Funktionsdefizite, untersuchen (Braff et al., 2007). Psychologische und neurobiologische Normabweichungen wurden bei Verwandten von Patienten mit Schizophrenie gefunden, die selbst nie an einer psychiatrischen Erkrankung litten. Auf diese Weise konnten nicht nur mögliche Kandidaten für Endophänotypen überprüft werden, sondern auch andere Kriterien dafür (Zobel and Maier, 2004). Dabei zeigten sich einige Endophänotypen als geeignet für die Schizophrenie. Dazu zählen langsame Augenfolgebewegungen bei Schizophrenie (Holzman et al., 1977; Zobel and Maier, 2004), eine fehlende physiologische Abschwächung bei neurophysiologischen bzw. muskulären Reaktionen (z.B. eine P₅₀-Welle) bei einem Reiz, dem kurz zuvor eine Vorreiz vorgeschaltet war, strukturelle Charakteristika des Gehirns wie Volumenverminderungen, Amplitudenreduktion der P₃₀₀ im Odd-ball-Paradigma, Einschränkung der Daueraufmerksamkeit und der räumlich-visuellen Diskrimination. Sowohl bei Krankheiten wie dem spät beginnenden Alzheimer und dem Alkoholismus, als auch bei der Schizophrenie konnten mittels Endophänotypen-Konzept schon Erfolge bei der Identifikation von Krankheitsgenen gezeigt werden (Braff et al., 2008; Zobel and Maier, 2004). Das Endophänotypen-Konzept stellt einen Teil einer biologischen Klassifikation der Schizophrenie dar, wobei eine eindeutige Zuordnung der klinischen Krankheit zur

Neurobiologie fehlt, und die Erkrankung stattdessen in einzelne Komponenten zerlegt wird. (Zobel and Maier, 2004). Allgemein erwartet man sich von diesem Konzept eine Verbesserung der Diagnostik und Klassifikation psychischer Störungen sowie einen gezielteren Einsatz von präventiven und frühinterventiven Maßnahmen (Schulze-Rauschenbach, 2007).

Außerdem besteht die Annahme, dass Endphänotypen einen Teilaspekt der heterogenen Pathophysiologie einer Krankheit darstellen, jedoch nicht auf eine Krankheit beschränkt sein müssen (Zobel and Maier, 2004).

2.3 Exekutivfunktionen und der WCST bei Schizophrenie

Exekutivfunktionen dienen in dieser Arbeit als Endophänotyp. Alle fünf Aspekte, die zur Eignung als Endophänotyp nötig sind, werden erfüllt. Dazu zählen beispielsweise, dass Exekutivfunktionen mit Schizophrenie assoziiert sind und vererbt werden. Außerdem können sowohl bei schizophrenen Patienten, als auch bei nahen Verwandten eingeschränkte Leistungen bei Exekutivfunktionen nachgewiesen werden (Sitskoorn et al., 2004).

Unter Exekutivfunktionen versteht man kognitive Funktionen höherer Ordnung, die das Planen von Handlungen, die Kontrolle des Verhaltens und die flexible Umgebungssteuerung umfassen. Die Definition von Exekutivfunktionen stellt sich als schwierig dar und endet meist in einer Aufzählung von Beispielen (Elliott, 2003; Möller and Müller, 2004; Müller, 2009; Müller et al., 2004). Dabei gibt es verschiedene Einteilungsmöglichkeiten für Exekutivfunktionen. Man kann sie beispielsweise in drei kognitive Domänen einteilen. Erstens das Arbeitsgedächtnis, zweitens die geistige Umstellungsfähigkeit und drittens das planerische und problemlösende Denken (Gerlai, 1996; Möller and Müller, 2004; Müller, 2009). Eine weitere Einteilung, die von Smith und Jonides 1999 beschrieben wurde, unterteilt Exekutivfunktionen in fünf Komponenten:

1. Aufmerksamkeit und Inhibition:

Die Fokussierung der Aufmerksamkeit auf handlungsrelevante Informationen und Prozesse, sowie die Hemmung irrelevanter Informationen und Prozesse.

2. Ablauforganisation:

Das Erstellen eines Ablaufprotokolls für eine komplexe Handlung, die einen raschen Wechsel zwischen den beteiligten Komponenten erfordert.

3. Planen:

Planen der Abfolge von Handlungsschritten, um ein Ziel zu erreichen.

4. Überwachung:

Die fortlaufende Prüfung und Aktualisierung der Inhalte im Arbeitsgedächtnis zur Bestimmung des jeweils nächsten Schritts in einer Handlungsfolge.

5. Kodierung:

Die Kodierung von Repräsentationen im Arbeitsgedächtnis nach der Zeit und dem Ort ihres Auftretens.

Dabei geht man davon aus, dass die ersten beiden Punkte von besonderer Bedeutung sind (Smith and Jonides, 1999). Die Exekutivfunktionen umfassen folglich einerseits kognitive Leistungen wie Planung, Organisation und das Arbeitsgedächtnis, welches von besonderer Bedeutung ist, und andererseits Verhaltensmuster wie Selbstkontrolle oder Anpassungsfähigkeit (Müller, 2009; Müller et al., 2004; Smith et al., 1998).

Bei verschiedenen Krankheiten wurden Störungen der Exekutivfunktionen beschrieben, die generell auf Schädigungen am Frontalkortex, aber auch des Parietal- oder Schläfenlappens zurückgeführt werden können. Exekutive Funktionen wie Wortflüssigkeit, kognitive Umstellungsfähigkeit, Planung, Inhibition des Antwortverhaltens, organisatorische Fähigkeiten, Problemlösung oder abstraktes Denken werden in verschiedenen Studien mit dem dorsolateralen frontalen Kortex in Verbindung gebracht, der vor allem auf den dorsolateralen Kopf des Nucleus caudatus projiziert (Alvarez and Emory, 2006; Cummings, 1993; Duke and Kaszniak, 2000; Grafman and Litvan, 1999; Jonides et al., 1993; Milner, 1971; Stuss et al., 2000).

Um exekutive Funktionen mit aktivierten Hirnstrukturen miteinander in Beziehung stellen zu können, werden idealerweise neuropsychologische Testverfahren mit bildgebenden Verfahren kombiniert. Dabei dienen die Exekutivfunktionen als Endophänotyp. Dabei werden alle fünf Aspekte, die zur Eignung als Endophänotyp nötig sind, erfüllt. Ein Beispiel stellt die Vererbung dar. Es besteht auch die Möglichkeit, überprüfte Inhibitions- und Arbeitsgedächtnisprozesse mit Ergebnissen anderer Studien, in denen bildgebende Verfahren angewendet werden, zu verbinden (Goschke, 2002; Kubesch, 2006). Außerdem

konnte gezeigt werden, dass Personen mit einem geschädigten präfrontalen Kortex schlechter bei komplexen neuropsychologischen Tests abschneiden als gesunde Kontrollen.

Einer der am häufigsten durchgeführten Tests zur Untersuchung von Exekutivfunktionen ist der Wisconsin Card Sorting Test (WCST) (Alvarez and Emory, 2006; Baddeley, 1996; Barceló and Knight, 2002; Reitan and Wolfson, 1994; Spreen, 1998; Stuss and Levine, 2002). Während des Tests scheint es bei gesunden Probanden zu einer verstärkten Aktivität im dorsolateralen präfrontalen Kortex zu kommen. Zudem wurden erhöhte Aktivitäten in weiteren frontalen Hirnregionen festgestellt, vor allem im ventromedialen und im orbitofrontalen Kortex. Insgesamt scheinen die Ergebnisse einen bilateral intakten präfrontalen Kortex vorauszusetzen, insbesondere den dorsolateralen präfrontalen Kortex, um den WCST „normal“ gut abzuschließen. Weiterhin ungeklärt bleibt jedoch, ob der WCST den linken oder rechten präfrontalen Kortex aktiviert (Alvarez and Emory, 2006).

Außerdem werden einige Gehirnregionen aktiviert, die nicht frontal liegen. Dazu zählen der untere Parietalkortex (Berman et al., 1995; Nagahama et al., 1996, 1997; Tien et al., 1998), die Basalganglien (Mentzel et al., 1998), der temporo-parietale Assoziationskortex (Konishi et al., 1998) und okzipito-temporale, temporale sowie okzipitale Kortizes (Marenco et al., 1993; Nagahama et al., 1996; Ragland et al., 1998). Dank der Erkenntnis, dass mehrere Kortexareale bei der Durchführung des WCST aktiviert werden, lässt sich schlussfolgern, dass es sich um ein komplexes neuronales Netzwerk handelt. Exekutivfunktionen setzen sich aus mehreren funktionellen Fähigkeiten zusammen, die zum Teil vom Frontallappen gesteuert werden. Für höhergradige kognitive Tests, wie den WCST, sind ebenfalls subkortikale und kortikale Regionen, welche oft in Verbindung mit dem Frontallappen stehen, notwendig (Alvarez and Emory, 2006). Das zeigt unter anderem, dass exekutive Funktionen mit dem WCST erfasst werden können.

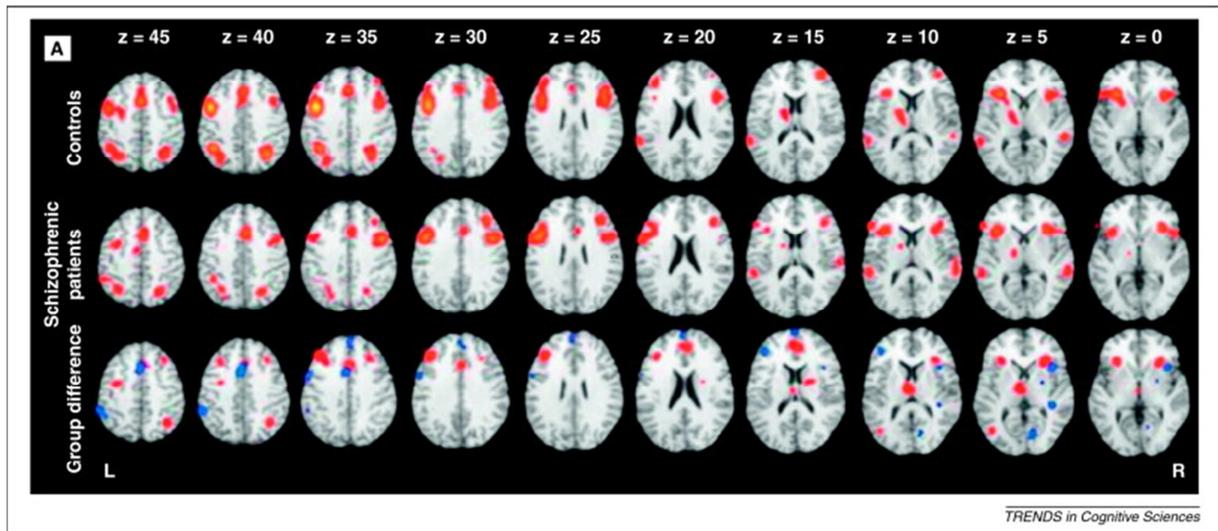


Abbildung 2: Gehirnregionen zeigen eine veränderte Aktivität während Exekutivfunktionen bei Patienten (Barch and Ceaser, 2012)

Zu den kognitiven Domänen gehören das verbale Gedächtnis, Aufmerksamkeit und Exekutivfunktionen (Sitskoorn et al., 2004). Diese sind bei der Schizophrenie stark eingeschränkt und verschlechtern sich im Verlauf der Krankheit meist noch. Jedoch kann bereits vor Ausbruch der Erkrankung eine Verschlechterung kognitiver Eigenschaften festgestellt werden (Banno et al., 2012; Simon et al., 2007). Einige Studien zeigen, dass schizophrene Patienten im Gegensatz zu gesunden Kontrollprobanden beim WCST mehr Fehler machen und unter anderem deswegen schlechter abschneiden (Bosch, 1992; Everett et al., 2001; Fey, 1951).

Beim WCST soll der Proband ein korrektes Zuordnungsprinzip von Karten, auf denen sich Motive befinden, welche sich in Form, Farbe und Zahl unterscheiden, durch Fehlerrückmeldungen finden und anwenden. Das Zuordnungsprinzip ändert sich nach zehn konsekutiv korrekten Zuordnungen, ohne dass der Proband darüber eine Information erhält (Heaton et al., 1993). Der WCST gilt als Messinstrument für exekutive Funktionen, abstraktes Denken, die Fähigkeit, zwischen kognitiven Strategien zu wechseln und die Fähigkeit, Problemlösungsstrategien bei wechselnden Stimulus-Bedingungen zu entwickeln und aufrecht zu erhalten (Gnys and Willis, 1991; Heaton et al., 1993; Kohli and Kaur, 2006; Welsh and Pennington, 1988). Des Weiteren wird der WCST als ein klinisches neuropsychologisches Instrument genutzt, um Gehirndysfunktionen, welche sich auf die Frontallappen auswirken, zu messen (Kohli and Kaur, 2006; Koren et al., 2004; Lezak, 2004; Marengo et al., 1993; Milner, 1963; Moritz et al., 2002; Robinson et al., 1980). Schlechte Testergebnisse des WCST

kann man darauf zurückführen, dass der Proband Schwierigkeiten hat, eine richtige Teststrategie zu entwickeln und sich an neue Situationen anzupassen (Wolf et al., 2002). Ein Proband gibt perseverative Antworten, wenn er entweder sein bisher richtiges Zuordnungsprinzip beibehält, obwohl Fehlermeldungen erscheinen, wenn er die richtige Strategie nicht fortsetzt, oder wenn er falsch rät (Wolf et al., 2002). Sortierungen im WCST setzen voraus, dass die zuvor erlernten, aber inzwischen nicht mehr aktuellen Einteilungskategorien im Arbeitsgedächtnis effektiv gehemmt werden. Diese Fähigkeit, überflüssig gewordene Kategorien von der Verhaltenskontrolle auszuschließen, wird als „Interferenzkontrolle“ (Nuechterlein et al., 2004), „Inhibitionskontrolle“ (Fuster, 2002) oder „kognitive Flexibilität“ (Hellman et al., 1998) bezeichnet (Waldorf, 2010a). Perseverative Fehler bzw. Sortierungsfehler nach obsoleten Regeln, gelten als Indikator einer Störung der wahrscheinlich frontal zu Grunde gelegten Interferenzkontrolle (Waldorf 2010). Diese Fehler können aber auch das Unvermögen, zu einer neuen Zuordnungsstrategie zu wechseln, oder eine bestimmte Zuordnung beizubehalten, zeigen (Wolf et al., 2002). Bei schizophrenen Patienten treten perseverative Antworten und Fehler im Gegensatz zu gesunden Kontrollprobanden häufiger auf (Abbruzzese et al., 1996; Dieci et al., 1997; Franke et al., 1992; Koren et al., 1998; Laws, 1999). Einige ältere Studien mit geringen Teilnehmerzahlen zeigten schlechtere Ergebnisse mit moderatem Effekt bei der Durchführung des WCST bei nicht erkrankten Verwandten von Schizophrenie-Patienten. Das wurde in drei Meta-Analysen gezeigt (Sitskoorn et al., 2004; Snitz et al., 2006; Szöke et al., 2005). Eine darauffolgende Studie mit einer größeren Teilnehmerzahl konnte hingegen ein Defizit der Ergebnisse des WCST bei Verwandten von Patienten mit Schizophrenie nicht bestätigen (Szöke et al., 2006). Eine weitere Studie zeigte sogar einen größeren Effekt mit mehr perseverativen Fehlern bei Verwandten von erstmals erkrankten Patienten (Ma et al., 2007). Aufgrund der gegensätzlichen Studienergebnisse bleibt unklar, ob Familienangehörige von Schizophrenie-Patienten schlechtere Ergebnisse beim WCST erzielen als gesunde Probanden (Lin et al., 2013). Obwohl in einer großen Studie von Lin et al. 2013 eine Häufung von schlechteren Ergebnissen des WCST bei Verwandten von Schizophrenie-Patienten nachgewiesen werden konnte, diese Häufung jedoch nur gering bis moderat ausfiel, besteht nur ein eingeschränkter Nutzen der Ergebnisse des WCST als endophänotypischer Marker für Schizophrenie-Suszeptibilitätsgene. Das muss jedoch nicht bedeuten, dass es generell keinen

genetischen Einfluss auf das Konstrukt der exekutiven Funktionen gibt. Inwiefern sich der Einfluss äußert, muss jedoch noch ausführlicher geklärt werden (Lin et al., 2013).

Eine gewisse Anzahl an nicht-perseverativen Fehlern stellt kein Defizit, sondern eine notwendige Erforschung der Regeln dar, da das nach einem Kategorienwechsel im WCST immer notwendig ist (Barceló and Knight, 2002).

Exekutivfunktionen, die bei Schizophrenie Patienten eingeschränkt sind, werden durch Ausschüttung von Glutamat positiv beeinflusst. Glutamatagonisten werden Schizophrenie Patienten als Medikation verabreicht, um deren Symptome zu verbessern (Spangaro et al. 2012).

2.4 Das glutamaterge System

2.4.1 Glutamat

Glutamat ist eine Aminosäure, welche eine wichtige Rolle als exzitatorischer Neurotransmitter im zentralen Nervensystem (ZNS) spielt und ist der am häufigsten im Gehirn vorkommende exzitatorische Neurotransmitter (Gasparini and Griffiths, 2013; Hayashi, 1954; Purves et al., 2001). Da Glutamat die Blut-Hirn-Schranke nicht durchqueren kann, muss es in Neuronen aus Glutamin synthetisiert werden (Gasparini and Griffiths, 2013; Purves et al., 2001). Nachdem Glutamat in die Synapse freigesetzt wird, wird es von Astrozyten aufgenommen und in Glutamin umgewandelt. Dieses wird zum präsynaptischen Neuron zurücktransportiert und zurück zu Glutamat transformiert (Sheng and Kim, 2002). Glutamat hat zahlreiche metabolische Funktionen, dazu zählen die Oxidation über den Zitratzyklus zur Energiegewinnung, die Inkorporation von Proteinen und die Synthese von Glutamin, γ -Aminobuttersäure (GABA) sowie Gluthation (McKenna, 2007). Der Begriff „glutamate excitotoxicity“, welcher von Olney vorgestellt wurde, beschreibt den toxischen Vorgang von Glutamat mit dem es den neuronalen Zelltod einleitet (Olney, 1969).

Eine Verbindung zwischen dem glutamatergen System und Schizophrenie wurde erstmals hergestellt, da die Beobachtung gemacht wurde, dass psychomimetische Mittel wie Phencyclidine (PCP) und Ketamin psychotische Symptome und neurokognitive Störungen ähnlich wie bei Schizophrenie hervorrufen, indem sie die Erregungsübertragung an den NMDA-Glutamat-Rezeptoren blockieren (Javitt, 2007).

2.4.2 Glutamatrezeptoren

Bei Glutamatrezeptoren werden zwei Gruppen unterschieden, die ionotropen Rezeptoren und die metabotropen Rezeptoren (Javitt, 2008). Der Unterschied zwischen ionotropen und metabotropen Rezeptoren besteht darin, dass ionotrope Rezeptoren Liganden-gesteuerte Ionenkanäle sind, metabotrope Rezeptoren hingegen G-protein-gekoppelte Rezeptoren, deren Aktivierung an eine intrazelluläre biochemische Kaskade gekoppelt ist, die wiederum zur Regulierung eines second messengers führt (Vikelis and Mitsikostas, 2007). Die ionotropen Rezeptoren werden in drei Gruppen unterteilt, welche N-methyl-D-aspartat (NMDA) Rezeptoren, α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionate (AMPA) und Kainate (KA) umfassen. Die Rezeptoren unterscheiden sich in ihrer DNA-Sequenz und werden durch unterschiedliche Glutamat Agonisten aktiviert, nach denen sie benannt sind (Gasparini and Griffiths, 2013; Vikelis and Mitsikostas, 2007). Veränderungen der Struktur und der zerebralen Dichte ionotroper Glutamatrezeptoren deuten auf eine gestörte glutamaterge Neurotransmission hin (Gallinat et al., 2008). Eine erhöhte präfrontale Dichte der Kainat-Rezeptoren und eine verminderte Dichte der Kainat- und AMPA-Rezeptoren im Hippocampus wurde bei schizophrenen Patienten bei post-mortem Untersuchungen gefunden. Änderungen der NMDA-Rezeptoren konnten jedoch nicht entdeckt werden (Harrison et al., 2003; Kerwin et al., 1990). Die Unterteilung der metabotropen Rezeptoren erfolgt in mindestens acht Gruppen, die wiederum in drei Gruppen zusammengefasst werden (Gasparini and Griffiths, 2013). Dabei sind alle drei Gruppen auf unterschiedlichen prä- und postsynaptischen Regionen von Neuronen, sowie auf Gliazellen lokalisiert (Gladding et al., 2009; Kim et al., 2008; Ribeiro et al., 2010).

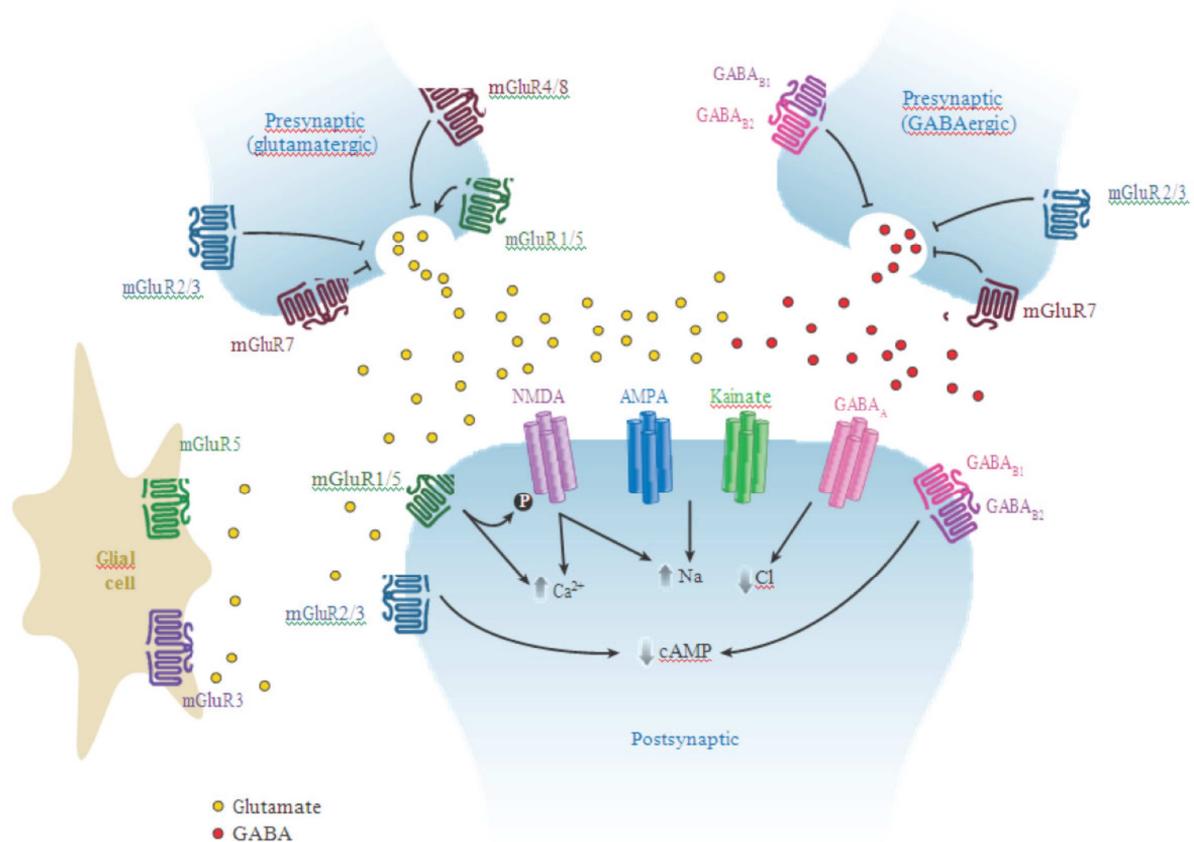


Abbildung 3: Schematische Darstellung metabotroper Glutamatrezeptoren an einer Synapse (Niswender & Conn, 2010)

Gruppe I (mGluR1 und mGluR5) sind vor allem für die Aktivierung der Phospholipase C verantwortlich, während Gruppe II (mGluR2 und mGluR3) und Gruppe III (mGluR4, mGluR7 und mGluR8) die Adenylatzyklase negativ regulieren (Nicoletti et al., 2011; Niswender and Conn, 2010). Aufgrund der schnellen exzitatorischen Erregungsübertragung modulieren die metabotropen Glutamatrezeptoren, im Gegensatz zu den ionotropen Rezeptoren, die Wirksamkeit und Regulation der Freisetzung von Glutamat in den Synapsen (Spooren et al., 2003). Tabelle 4 veranschaulicht die verschiedenen Unterteilungen der ionotropen sowie metabotropen Glutamatrezeptoren.

Tabelle 4: Einteilung der Glutamatrezeptoren und der codierenden Gene (Cherlyn et al., 2010)

Ionotrope Glutamatrezeptoren			
Untereinheiten	NMDA	AMPA	Kainate

	NR1 (GRIN1)	AMPA	GluR5 (GRIK1)
	NR2A (GRIN2A)	GluR1 (GRIA1)	GluR6 (GRIK2)
	NR2B (GRIN2B)	GluR2 (GRIA2)	GluR7 (GRIK3)
	NR2C (GRIN2C)	GluR3 (GRIA3)	KA1 (GRIK4)
	NR2D (GRIN2D)	GluR4 (GRIA4)	KA2 (GRIK5)
	NR3A (GRIN3A)		
	NR3B (GRIN3B)		
Metabotrope Glutamatrezeptoren			
Untereinheiten	Gruppe1	Gruppe2	Gruppe3
	mGluR1 (GRM1)	mGluR2 (GRM2)	mGluR4 (GRM4)
	mGluR5 (GRM5)	mGluR3 (GRM3)	mGluR6 (GRM6)
			mGluR7 (GRM7)
			mGluR8 (GRM8)
() entsprechende Gennamen			

2.4.3 Metabotrope Glutamatrezeptoren

Die metabotropen Glutamatrezeptoren (mGluRs) gehören zu den G-Protein-gekoppelten Rezeptoren, welche sowohl an der synaptischen Erregungsübertragung, als auch an der neuronalen Erregbarkeit über das gesamte zentrale Nervensystem beteiligt sind (Niswender and Conn, 2010). Aufgrund der weiträumigen Verteilung der mGluRs, sind diese Rezeptoren häufig ein Angriffspunkt für Drogen und eventuell auch für Medikamente. Kürzlich durchgeführte Studien setzten den Versuch fort, den therapeutischen Nutzen von mGluRs Liganden bei neurologischen und psychischen Erkrankungen zu beweisen (Niswender and Conn, 2010).

2.4.3.1 Aufbau

Metabotrope Glutamatrezeptoren sind, wie alle G-Protein-gekoppelten Rezeptoren, membrangebundene Proteine, die durch Licht oder Liganden wie Peptide sowie Neurotransmitter aktiviert werden. Intrazelluläre Signale werden dabei durch Interaktionen mit G-Proteinen übermittelt. Die Bindung des Liganden bewirkt eine Konformationsänderung der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren. Der Rezeptor besteht aus einem heterotrimeren Komplex mit einer α -, β - und γ -Untereinheit. Im inaktiven Zustand ist

Guanosin-5-diphosphat (GDP) an die α -Untereinheit des G-Proteins gebunden, durch dessen Aktivierung wird GDP durch Guanosin-5-triphosphat (GTP) ersetzt. Durch die Hydrolyse von GTP zu GDP, wird das G-Protein inaktiviert und das Heterotrimer wiederhergestellt (Niswender and Conn, 2010).

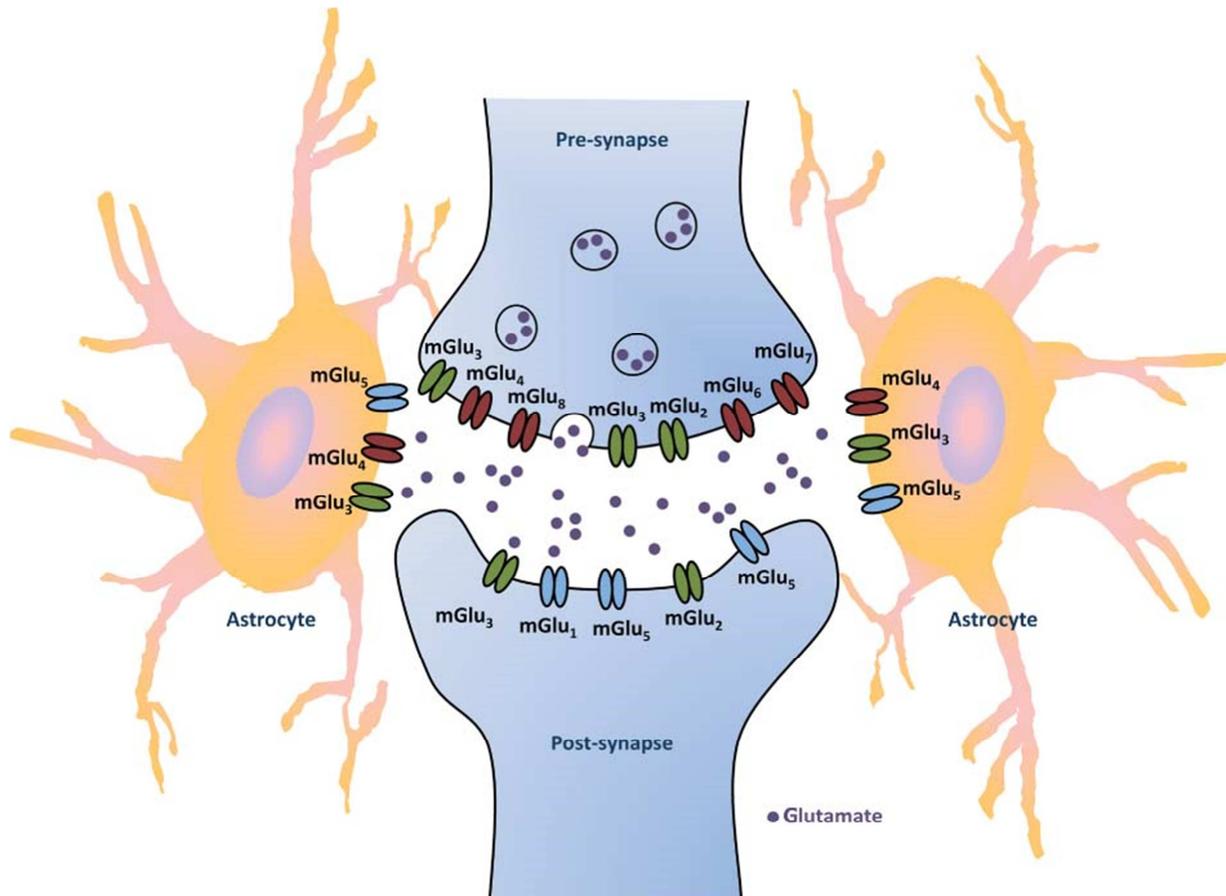


Abbildung 4: Schematische Darstellung eines metabotropen Glutamatrezeptors im zentralen Nervensystem (Loane et al., 2012)

Metabotrope Glutamatrezeptoren haben ein langes extrazelluläres N-terminales Ende, welches als *Venus flytrap domain* (VFD) bezeichnet wird und die Glutamatbindungsstelle enthält (Pin et al., 2003). Dabei besteht jedes VFD aus zwei aufeinanderliegenden Teilen, die Glutamat in einer Lücke zwischen ihnen binden (Kunishima et al., 2000; Muto et al., 2007; Tsuchiya et al., 2002). Sobald ein Agonist an eines oder beide VFDs bindet, bilden sie gemeinsam ein Dimer und ändern ihre Konformation (Jingami et al., 2003). Dabei werden drei Zustände unterschieden:

- Die inaktive offen-offen Konformation, welche durch Antagonisten stabilisiert wird.

- Die offen-geschlossen oder geschlossen-geschlossen Konformation, die durch die Ligandenbindung an ein oder zwei VFDs ausgelöst wird (Niswender and Conn, 2010).

Außer Glutamat können die VFDs auch bivalente Kationen wie Magnesium oder Kalzium binden, welche den Rezeptor potenzieren und aktivieren (Francesconi and Duvoisin, 2004; Kubo et al., 1998; Kunishima et al., 2000). Durch das Binden von Liganden an den Rezeptor kommt es zu einer Konformationsänderung, die vom VFD, über zysteinreiche Domänen (CRD) zur heptahelikalen Domäne (HD) bis zum C-terminalen Ende übertragen wird (Niswender and Conn, 2010). Dabei beinhalten die CRDs neun zysteinreiche Reste, von denen acht durch Disulfidbrücken verbunden sind (Muto et al., 2007).

Außerdem ist das C-terminale Ende der Glutamatrezeptoren nicht nur eine wichtige Region zur Regulierung der Kopplung des G-Proteins, sondern auch für das alternative Spleißen und die Regulierung durch Phosphorylierung sowie Protein-Interaktionen (Niswender and Conn, 2010).

2.4.3.2 Signaltransduktion

Durch das Binden von Glutamat an den Glutamat-Rezeptor wird darin eine Konformationsänderung ausgelöst, die zur Bindung von G-Proteinen an spezielle intrazelluläre Domänen des Rezeptors führt (Gerber et al., 2007). Daraus ergibt sich eine Stabilisierung der geschlossenen Konformation der extrazellulären Domäne. Das Resultat ist eine Aktivierung des G-Proteins, die von einer Disulfidbrücke abhängig ist, welche sich zwischen Zysteinresten in einer extrazellulären bindenden Schleife und der dritten Transmembrandomäne befindet (Kunishima et al., 2000; Rondard et al., 2006). Dabei ruft die Disulfidbrücke eine allosterische Interaktion zwischen der Glutamat bindenden Domäne und der heptahelikalen Domäne hervor und vermittelt dadurch eine Signaltransduktion innerhalb des Rezeptors (Rondard et al., 2006). Die Positionen der helikalen Domänen dieser dimeren Rezeptoren werden folglich verändert, um eine Aktivierung des G-Proteins zu ermöglichen (Gerber et al., 2007). Eine Konformationsänderung der zweiten und dritten Schleife scheint durch die Depolarisation aufzutreten und die Assoziation mit dem G-Protein zu verursachen. Im Gegenzug geht der Rezeptor in einen hochaffinen Zustand für Agonisten über, der durch die depolarisationsabhängige Änderung durch die Bindung des G-Proteins ausgelöst wurde. Auch wenn bei metabotropen G-Protein-gekoppelten Glutamatrezeptoren die Kaskade meist mit der Aktivierung des G-Proteins beginnt, wurden in einigen Studien auch andere Liganden

gefunden, die mit den Glutamatrezeptoren eine Verbindung eingehen (Hall et al., 1999). Durch Experimente, die zeigten, dass die Aktivierung von mGluR1 in hippocampalen Neuronen sowohl die G-Protein-abhängige als auch –unabhängige Signalübertragung auslöst um verschiedene Strömungen zu entwickeln, konnte bewiesen werden, dass mGluR auch auf diese Weise funktioniert (Gee and Lacaille, 2004; Heuss et al., 1999).

mGluRs sind konstitutive Dimere. Dabei wird die Frage, ob das Binden von Glutamat an nur einen einzigen Rezeptor ausreicht, um den ganzen Komplex zu aktivieren, kontrovers diskutiert. Beim GABA_B-Rezeptor, einem Heterodimer mit zwei Untereinheiten GABA_{B1} und GABA_{B2}, reicht die Bindung eines Liganden, zur Aktivierung des Rezeptors, aus (Galvez et al., 2000). Jedoch kann man diese Tatsache nicht automatisch auf mGluRs übertragen (Niswender and Conn, 2010). Eine Studie ergab beispielsweise, dass Glutamat das Dimer, welches sich aus einem Wild-Typ und einer Mutationsform von mGluR1 zusammensetzt, nicht aktivieren kann. Dadurch wurde gezeigt, dass die Bindung an einen Promotor nicht zur Aktivierung ausreicht (Kammermeier and Yun, 2005). Hingegen zeigte eine andere Studie, dass der mGluR5 Homodimer bereits durch ein Glutamat-Molekül aktiviert werden kann. Jedoch fand man auch heraus, dass die Besetzung mit zwei Liganden effektiver ist (Kniazeff et al., 2004).

Bei der Signalübertragung der mGluRs muss man zwischen den drei Gruppen, in die die metabotropen Glutamatrezeptoren unterteilt sind, unterscheiden. An die Gruppe I der mGluRs koppeln sich G_q und G₁₁, wodurch Phospholipase C_β aktiviert wird. Daraus resultiert die Hydrolyse von Phosphoinositiden und die Bildung von Inositol 1,4,5- Triphosphat (IP₃) sowie Diazyl-Glycerol. Dadurch kommt es zur Mobilisierung von Kalzium und der Aktivierung von Proteinkinase C (PKC). Es ist jedoch bekannt, dass diese Rezeptoren zusätzliche Signalübertragungswege modulieren können. Dazu gehören andere Kaskaden, die G_q nachgeschaltet sind sowie Wege, die von G_{i/o}, G_s, gehemmt werden sowie andere Moleküle, die unabhängig von G-Proteinen sind (Hermans and Challiss, 2001; Niswender and Conn, 2010). Die Gruppe I der mGluRs können eine Reihe von nachgeschalteten Rezeptoren, abhängig vom Zelltyp oder der neuronalen Population, aktivieren. Zu den nachgeschalteten Rezeptoren zählen Phospholipase D, Übertragungswege der Proteinkinase wie Casein Kinase 1, Zyklin abhängige Proteinkinase 5, Jun Kinase, Komponenten des Übertragungsweges der mitogen-aktivierten Proteinkinase/ extrazelluläre Rezeptorkinase (MAPK/ERK), und das

Säugetierziel von Rapamycin (MTOR)/ p70 S6 Kinase Übertragungsweg (Hou and Klann, 2004; Li et al., 2007; Page et al., 2006; Saugstad and Ingram, 2008). Man geht davon aus, dass bei der Regulation der synaptischen Veränderung durch die Gruppe I der mGluRs die Signalübertragungswege MAPK/ERK und MTOR/ p70 S6 Kinase eine wichtige Rolle spielen (Niswender and Conn, 2010).

Die Gruppen II und III der metabotropen Glutamatrezeptoren sind im Gegensatz zur Gruppe I an $G_{i/o}$ -Proteine gekoppelt. Diese Rezeptoren hemmen die Adenylatzyklase und regulieren Ionenkanäle direkt, sowie weiter abwärts liegende Signalpartner über die Freisetzung der $G_{\beta\gamma}$ -Untereinheit. Die Theorie, dass auch andere Signalübertragungswege, wie die Aktivierung von MAPK und der Phosphatidyl-Inositol 3-Kinase PI_3 -Übertragungsweg, an die Gruppen II und III der mGluRs gebunden sind, wird immer mehr akzeptiert (Iacovelli et al., 2002). Dadurch scheint die Regulation der synaptischen Übertragung durch die Rezeptoren komplexer zu sein als bisher angenommen (Niswender and Conn, 2010).

Die Hauptaufgabe der Gruppe III der metabotropen Glutamatrezeptoren scheint bei Neuronen in der Hemmung der Ca^{2+} -Kanäle oder Regulation der K^+ -Kanäle zu liegen (Pin et al., 2003). Bei manchen Arten von Neuronen wird durch die Kopplung an G_o -Proteine einigen dieser Rezeptoren die Aktivierung der Phospholipase C ermöglicht, wie es beispielsweise bei mGluR7-Rezeptoren in Neuronen des Kleinhirns entdeckt wurde (Perroy et al., 2000).

2.4.3.3 Vorkommen und Wirkung im ZNS

Die drei Gruppen der metabotropen Glutamatrezeptoren im zentralen Nervensystem (ZNS) müssen auch hinsichtlich Vorkommen und Wirkung unterschieden werden.

Der Gruppe I der mGluRs befindet sich v.a. im postsynaptischen Element des ZNS in der Umgebung der postsynaptischen Dichte der exzitatorischen glutamatergen Synapsen. Außerdem konnten auch präsynaptische Glutamatrezeptoren der Gruppe I nachgewiesen werden (Pin et al., 2003). Innerhalb des ZNS ist diese Gruppe bedeutend für die Regulierung schneller synaptischer Signalübertragungen mit Glutamat und an den synaptischen Umwandlungserscheinungen, welche die Langzeitpotenzierung und eine langanhaltende Depression beinhalten, beteiligt (Pin et al., 2003). Experimente zeigten, dass diese Rezeptoren eine wichtige Rolle bei der synaptischen Verformung im Zerebellum und im Hippocampus spielen (Aiba et al., 1994; Conquet et al., 1994; Kano et al., 1997; Lu et al.,

1997), sowie bei der Entwicklung einer Kokainabhängigkeit (Chiamulera et al., 2001). Des Weiteren wurde durch die Anwendung von selektiven Antagonisten herausgefunden, dass diese Rezeptoren auch am Schmerzempfinden (Bhave et al., 2001; Walker et al., 2001) und Angst beteiligt sind (Spooren et al., 2000).

Die metabotropen Glutamaterezeptoren der Gruppe II befinden sich hauptsächlich im Gehirn, sowohl auf den präsynaptischen als auch den postsynaptischen Zellen, die sich wiederum entweder auf glutamatergen oder GABAergen Synapsen finden. mGlu3Rs wurden auch in Gliazellen gefunden (Pin et al., 2003). Durch die Anwendung von selektiven Gruppe II mGluRs–Agonisten, wurde herausgefunden, dass diese Rezeptoren nützlich für die Behandlung von Drogensüchtigen (Helton et al., 1997), Angststörungen (Helton et al., 1998) und Schizophrenie sein können (Moghaddam and Adams, 1998). Bei synaptischen Verformungen im Hippokampus, wie bei langanhaltenden Depressionen, sollen Deletionen des mGlu2R-Gens involviert sein (Yokoi et al., 1996).

Der mGluR6-Rezeptor befindet sich nur in einem Zelltyp: den ON-bipolaren Zellen der Retina, wo er verantwortlich für die ON-Antwort ist. On-Zellen reagieren auf Licht mit einer Depolarisation und erregen nachfolgende Ganglienzellen (Masu et al., 1995; Pin et al., 2003). Die anderen Gruppe III mGluRs kommt v.a. an den Nervenendigungen innerhalb der Synapse vor, an dem Ort, an dem die Glutamat-Freisetzung verhindert wird. Mittels Deletionen der mGluR4 und mGluR7-Gene konnte gezeigt werden, dass deren Fehlen eine Rolle bei Epilepsie und schlechten motorischen Leistungen spielt (Pekhletski et al., 1996; Pin et al., 2003; Sansig et al., 2001; Snead et al., 2000).

2.4.3.4 Kognitive Fähigkeiten

Inwieweit die Gruppe III der metabotropen Glutamaterezeptoren mit den kognitiven Fähigkeiten eines Menschen assoziiert ist wurde bisher nur in einigen wenigen Studien erforscht. Bis vor kurzem stellten ereigniskorrelierte Potentiale die grundlegenden elektrophysiologischen Indizes für Kognition dar und ermöglichten wertvolle Einblicke in die Prozesse des menschlichen Gehirns (Rangaswamy and Porjesz, 2008). Inzwischen gibt es einige Literatur (Başar-Eroglu and Başar, 1991; Başar-Eroglu et al., 2001; Demiralp et al., 2001; Karakaş et al., 2000; Rangaswamy and Porjesz, 2008; Schürmann et al., 1995, 2001; Yordanova and Kolev, 1996) die zeigen soll, dass gewisse ereigniskorrelierte Potentiale, welche durch oszillatorische Veränderungen bedingt sind, durch sensorische und/oder

kognitive Prozesse auftreten. Diese Prozesse beeinflussen die Dynamik des Fortschreitens elektroenzephalographischer (EEG) Rhythmen verschiedener Frequenzen (Başar-Eroglu and Başar, 1991; Başar-Eroglu et al., 2001; Demiralp et al., 2001; Karakaş et al., 2000; Rangaswamy and Porjesz, 2008; Schürmann et al., 1995, 2001; Yordanova and Kolev, 1996). Die genannten Oszillationen stellen Verbindungen zu assoziativen und integrativen Gehirnfunktionen her (Rangaswamy and Porjesz, 2008). Spezielle Rhythmusfrequenzen der oszillativen Antworten unterliegen verschiedenen kognitiven Gehirnprozessen, wie beispielweise Delta der Signaldetektion und der Entscheidungsfindung sowie Theta der Bewusstseinswahrnehmung, dem Wiedererkennungsgedächtnisses und dem episodischen Wiederabfragen (Basar, 1980, 1998; Başar-Eroglu et al., 2001; Makeig et al., 2002). Neuere Studien konnten eine signifikante Rolle des Theta-Frequenz Zusammenhangs mit normalen und veränderten thalamokortikalen Interaktionen zeigen (Rangaswamy and Porjesz, 2008; Sarnthein and Jeanmonod, 2007; Sarnthein et al., 2005). Dabei wurde eine signifikante Kopplung auf Chromosom 7 beobachtet, jedoch keine signifikante Assoziation mit dem GRM8 Gen (Rangaswamy and Porjesz, 2008). Das GRM8 Gen liegt auf dem Kopplungsgipfel auf Chromosom 7, welcher durch Theta ereigniskorrelierte Oszillationen bedingt ist; deshalb ist es wahrscheinlich ein Kandidatengen zur Modulation elektrophysikalischer Netzwerke (Jones et al., 2004; Kirkbride et al., 2006; Rangaswamy and Porjesz, 2008), vor allem da das glutamaterge System auch in Theta-Oszillationen involviert ist. Familienbasierte Assoziationsanalysen von Theta Ereignis korrelierten Potentialen zeigten eindeutige Assoziationen mit verschiedenen SNPs. Außerdem reagierten diese Potenziale auf Stimuli der frontalen, zentralen und parietalen Regionen (Frodl-Bauch et al., 1999; Rangaswamy and Porjesz, 2008).

Durch den Gebrauch quantitativer Gehirnoszillationen als Endophänotypen können Suszeptibilitätsgene für Krankheiten leichter lokalisiert und charakterisiert werden als durch die Verwendung von diagnostischen Kriterien. Bei dem Versuch, die genetischen Prädispositionen und Risikofaktoren zu studieren, ging aus den quantitativen Phänotypen-Studien unter anderem ein Gen der metabotropen Glutamatrezeptoren (GRM8-Gen) hervor (Rangaswamy and Porjesz, 2008). Das bedeutet jedoch nicht, dass diese Gene vollständig für die Existenz der jeweiligen Gehirnoszillationen verantwortlich sind (Rangaswamy and Porjesz, 2008). Wahrscheinlicher ist, dass die einzelnen Variationen der Oszillationen das Ergebnis einer genetischen Variation des GRM8-Rezeptorgens sind und dass die veränderte

oszillatorische Aktivität das kognitive Korrelat dieser Variationen ist (Rangaswamy and Porjesz, 2008). Obwohl bisher keine funktionelle Variante auf molekularer Ebene gefunden wurde, welche die elektrophysiologischen Eigenschaften beeinflusst, gibt es eine große Anzahl an pharmakologischen Beweisen, welche die Relevanz dieser Rezeptoren hinsichtlich kognitiver Funktionen bezeugen (Rangaswamy and Porjesz, 2008).

2.4.3.5 Der mGluR8 und Schizophrenie

Ob und inwieweit der metabotrope Glutamatrezeptor 8 mit Schizophrenie in Verbindung steht, wurde in zwei Studien untersucht. Das glutamaterge System wurde bereits mit der Pathophysiologie der Schizophrenie in Verbindung gebracht (Bolonna et al., 2001). Ein erster Bericht zeigte eine verminderte Glutamatkonzentration in der zerebrospinalen Flüssigkeit von Patienten mit Schizophrenie (Kim et al., 1980). Dieser Bericht wurde durch Beobachtungen gestützt, dass Phencyclidin (PCP) – ein nicht-kompetitiver NMDA-Antagonist, einen psychomimetischen Effekt bei gesunden Probanden bewirkt, die den Symptomen einer Schizophrenie sehr stark ähneln (Domino and Luby, 1981). Die metabotropen Glutamatrezeptoren 7 und 8 werden durch ihre neuromodulatorische Rolle mit der Ätiologie der Schizophrenie in Verbindung gebracht (Bolonna et al., 2001). Sequenzvarianten dieser Gene scheinen die Rezeptorfunktion zu beeinflussen und dadurch die Modulation der Glutamataktivität (Bolonna et al., 2001). Tatsächlich könnten Änderungen in der glutamatergen Signalübertragung den Veränderungen unterliegen, welche im Hippocampus schizophrener Patienten beobachtet wurden und die auf einer Region liegen, auf der die mGluR7 stark exprimiert sind (Makoff et al., 1996; Ohishi et al., 1995; Shigemoto et al., 1997). Weder in der Studie von Bolonna et al. 2001, noch in der Studie von Takaki et al. 2004a konnte eine signifikante Assoziation des mGluR8 mit Schizophrenie gefunden werden. Diese Studien reichen jedoch nicht aus um schwache genetische Effekte des mGluR8 auf Schizophrenie auszuschließen (Bolonna et al., 2001).

Die Ergebnisse der Studie von Rangaswamy & Porjesz 2008 bedeuten nicht, dass Gene wie GRM8 vollständig für die Existenz von respektiven Gehirnoszillationen verantwortlich sind. Stattdessen ist es wahrscheinlicher, dass die individuellen Variationen der Oszillationen ein Produkt genetischer Variationen von Rezeptorgenen, u.a. GRM8, sind, und dass deren veränderte oszillative Aktivitäten dessen kognitive Korrelat ist. Komplementäre DNA, welche für den menschlichen mGluR8 kodiert, wurde aus dem menschlichen Zerebellum,

fetalem Gehirn oder der Retina aus cDNA Bibliotheken entnommen. Der mGluR8 Rezeptor ist 908 Aminosäurereste lang. Dabei stimmen 98,8% der menschlichen Aminosäuren mit denen der Maus überein (Wu et al., 1998).

2.5 GRM8

2.5.1 Genstruktur

Das GRM8 Gen, das für den mGluR8 codiert, wurde initial aus einer cDNA Sammlung der Maus-Retina isoliert. Dieser Rezeptor war damit der zweite entdeckte mGluR, der an retinalen Funktionen beteiligt ist (Scherer et al., 1997).

Die codierende Region des Gens umfasst nur 2,3kb, wobei das gesamte Gen schätzungsweise einen Abschnitt von 1000kb DNA mit einschließt, der sich an der Grenze von q31.3-q32.1 innerhalb des langen Arms auf Chromosoms 7 befindet (Scherer et al., 1996, 1997).



Abbildung 5: Chromosm 7 (GRM8 Gene - GeneCards | GRM8 Protein | GRM8 Antibody 2014)

Das GRM8-Gen beinhaltet 10 Exons, welche von 9 Introns unterbrochen werden (Abbildung 6) (EMBL-EBI, 2013).

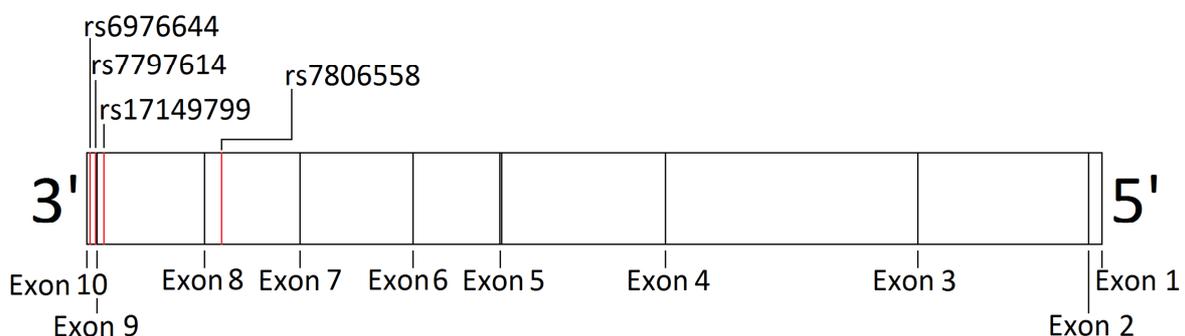


Abbildung 6: GRM8-Gen und die in dieser Arbeit behandelten SNPs

Der mGluR8 besteht aus 908 Aminosäuren (Wu et al., 1998). Durch alternatives Spleißen entstehen 15 verschiedene Transkripte. Sieben der Transkripte kodieren für Proteine, wobei

3 den 908 Aminosäuren langen mGluR8 translatieren (EMBL-EBI, 2013). Diese stellen die drei Isoformen des GRM8 Genproduktes dar (Serajee et al., 2003). Neuere Studien konnten die Lokalisation der Expression des GRM8-Gens präsynaptisch und in den Gliazellen in einigen Regionen des Gehirns zeigen, welche die graue Substanz, den lateralen retikulären Nukleus des Thalamus, den olfaktorischen Bulbus, und den pyriformen Cortex, sowie zu einem geringeren Maß den Hippokampus, den Kaudatus, das Zerebellum und den zerebralen Kortex umfasst (Malherbe et al., 1999; Serajee et al., 2003).

2.5.2 Assoziation des GRM8-Gens mit Schizophrenie

Um herauszufinden ob das GRM8-Gen mit Schizophrenie assoziiert ist wurden einige Studien erstellt, die erste von Bolonna et al., 2001 und eine weitere von Takaki et al. 2004a. Das glutamaterge System scheint an der Pathophysiologie der Schizophrenie beteiligt zu sein. Dabei identifiziert die neuromodulatorische Rolle von mGluR7 und 8 diese als Kandidaten, die an der Entstehung der Schizophrenie beteiligt sein könnten (Bolonna et al., 2001).

Die Studie von 2001 war eine Assoziationsstudie, in der die Polymorphismen Tyr433Phe (mGluR7) und 2846-C/T (mGluR8) erforscht wurden, die eine Anfälligkeit für Schizophrenie bewirken sollten (Bolonna et al., 2001). Dabei umfasste die ausgewählte Population weiße Kaukasier britischen Ursprungs mit einer DSM-III/IV diagnostizierten Schizophrenie. All diese Patienten sprachen nicht auf eine typische antipsychotische Therapie an und unterzogen sich im gesamten Zeitraum der Studie einer Clozapin-Therapie. Bei den Probanden, die nach ethnischen Gruppen eingeteilt wurden, durfte keine mentale Erkrankung vorliegen oder durchgemacht worden sein. In Assoziationsstudien wurden, wenn möglich, Stichproben angewendet. Die Stichprobe umfasste 181 Patienten und 91 Kontrollen für mGluR7 (Tyr433Phe)-Polymorphismen, sowie 105 Patienten und 108 Kontrollen für mGluR8 (2846-C/T). Bei der Kontrollgruppe war der Anteil an Frauen zu Männern ungefähr gleich (54%/46%) und das Durchschnittsalter betrug 40 Jahre. Der Männeranteil der Patientengruppe hingegen lag deutlich höher, bei 70%, und das Durchschnittsalter bei 55 Jahren.

Der 2846-C/T (mGluR8) Polymorphismus befindet sich 29bp hinter dem Stopkodon. Zwischen den Patienten und den Kontrollprobanden zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Verteilung der Allel- und Genotypfrequenzen des Polymorphismus. Es gab weniger Patienten die homozygot für 2846-T waren. Jedoch konnte

bei der Anwendung des T-dominanten und T-rezessiven Modells keine signifikante Assoziation gezeigt werden ($P=0.79$; $P=0.42$). Die Genotypfrequenzen der Patienten und Probanden erfüllen das Hardy-Weinberg-Equilibrium. Es wurde keine signifikante Assoziation zwischen dem Allel/Genotyp und dem Geschlecht zwischen der Kontroll- und der Patientengruppe gefunden. Die Stichprobengröße dieser Studie hat mit einer *odds ratio* von 2.5 eine 80%ige Aussagekraft über das Bestehen einer Assoziation. Aus diesem Grund kann ein moderater bis Haupteffekt der mGluR7- und mGluR8-Polymorphismen bezüglich der Suszeptibilität der Schizophrenie ausgeschlossen werden. Schwache Geneffekte konnten mit dieser Studie jedoch nicht gezeigt werden (Bolonna et al., 2001).

Bei der zweiten Studie handelt es sich ebenfalls um eine Assoziationsstudie mit dem GRM8-Gen. Dabei wurden 22 SNPs ausgewählt, die in einem 4,3kb großen Bereich in und um das GRM8-Gen liegen. Dadurch wurde das gesamte Gen mit SNPs abgedeckt (Takaki et al., 2004a). Dabei wurden 100 nicht untereinander verwandte Patienten, welche aus Krankenhäusern aus der japanischen Gegend Fukoka und Oita (mittleres Alter: 49,5; 44,0% Frauen) rekrutiert wurden, sowie 100 nicht untereinander verwandte Kontrollen aus der japanischen Region Fukoka (mittleres Alter: 51,2; 50% Frauen) Blut abgenommen. Eine Diagnose wurde bei allen Patienten mit dem DSM-IV gestellt.

Initial wurde beabsichtigt, gängige SNPs zu wählen, welche im Abstand von etwa 50kb im GRM8-Gen auftreten. Es wurden 68 Kandidaten-SNPs aus dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>) ausgewählt und deren Häufigkeiten bei 16 gesunden japanischen Individuen durch direktes Sequenzieren untersucht. Von diesen 68 SNPs wurden die folgenden 17 häufigen SNPs für weitere Analysen gewählt, die eine „*minor allele frequency*“ über 0,1 haben: SNP1, rs1419391; SNP3, rs886002; SNP4, rs2237797; SNP5, rs1361963; SNP7, rs2402851; SNP9, rs1419441; SNP12, rs1204579; SNP13, rs3948648; SNP14, rs1204520; SNP15, rs1946109; SNP16, rs2237765; SNP17, rs1008907; SNP18, rs2237748; SNP19, rs2299472; SNP20, rs2283066; SNP21, rs2078760; SNP22, rs1419460. Durch die LD Analyse wurde festgestellt, dass nicht das gesamte Gen durch die SNPs abgedeckt wurden und weiterhin größere Lücken ($D' < 0.3$) bestanden. Aus diesem Grund wurden zusätzlich 40 Kandidaten SNPs untersucht. Aus diesen wiederum wurden die folgenden fünf SNPs ausgewählt um die Analyse zu vervollständigen: SNP2, rs2106149; SNP6, rs2283094; SNP8, rs978874; SNP10, rs2283088; SNP11, rs2106189. Die

durchschnittlichen unteren Allelfrequenzen der 22 SNPs lagen bei 0,3 und das durchschnittliche Intervall bei 40,3.

Für alle statistischen Tests lag das Signifikanzlevel bei 0,05. Die Genotypisierung wurde für 100 Patienten, sowie 100 Probanden für 22 SNPs durchgeführt. Da die niedrigste Allelfrequenz 0,205 beträgt, liegt das erwartete Nachweisvermögen für diese Fall-Kontroll-Studie bei 0,74 für Suszeptibilitätsgene, dessen relatives Risiko für den Genotyp 1,8 ist (Ohashi et al., 2001; Takaki et al., 2004a).

Im Rahmen der Genotypisierung zeigte keiner dieser 22 SNPs eine signifikante Abweichung vom HWE. Bei zwei dieser SNPs, rs2237748 und rs2299472 konnte eine signifikante Assoziation mit Schizophrenie gezeigt werden (Allel: $P=0,0279$; Genotyp: $P=0,0124$, Allel: $P=0,0302$; Genotyp: $P=0,0127$) (Takaki et al., 2004b).

Es konnten für 30, der insgesamt 231 möglichen SNP-Paare signifikante Haplotyp-Assoziationen für Schizophrenie entdeckt werden. Die zwei einzelnen SNPs, SNP18 und SNP19, welche mit Schizophrenie positiv assoziiert sind, sind auch unter den 19 SNP-Paaren vertreten, welche ebenfalls eine signifikante Assoziation mit Schizophrenie aufweisen: SNP5-SNP18 ($P=0,0039$), SNP5-SNP19 ($P=0,002$), SNP13-SNP18 ($P=0,0031$), SNP14-SNP18 ($P=0,0367$), SNP15-SNP18 ($P=0,0207$), SNP15-SNP19 ($P=0,0298$), und SNP17-SNP18 ($P=0,0472$). Keine signifikante Assoziation mit Schizophrenie konnte jedoch gezeigt werden nachdem die Bonferroni-Korrektur durchgeführt wurde. Der niedrigste P-Wert wurde für SNP11-SNP18 gefunden ($P=0,002$), auch wenn das Ausmaß für LD zwischen SNP11 und SNP18 nicht hoch war. Bei SNP5-SNP6 von LD lag der zweitniedrigste P-Wert vor ($P=0,0004$, $D'=0.7604$). Wird der P-Wert von SNP5-SNP6 mit einer strikten Bonferroni-Korrektur ($N=231$) überarbeitet, ist dieser nur noch marginal ($P=0,0924$). Für zwei der drei-Locus Haplotypen wurden signifikante Assoziationen mit Schizophrenie gefunden: SNP4-SNP5-SNP6: $P=0,0075$; SNP5-SNP6-SNP7: $P=0,0011$. Bei diesen SNPs war die signifikante Assoziation auch nach der Bonferroni-Korrektur noch gegeben, da die P-Werte bei 0,015 und 0,0022 entsprechend der Korrektur lagen, jedoch mit der Annahme, dass alle Haplotyp-Assoziations-Tests dieser Studie unabhängig ($N=2$) sind.

Tabelle5: Geschätzte Haplotypfrequenzen

Region	Sequenz	Kontroll- Probanden	Patienten	Insgesamt	χ^2	p*
SNP5/SNP6	C-C	0,2161	0,1100	0,1615		
	C-T	0,0439	0,1200	0,0835	18,12	0,0004 (0,0924**)
	T-C	0,0789	0,1800	0,1310		
	T-T	0,6611	0,5900	0,6240		
SNP4/SNP5/SNP6	A-C-C	0,1182	0,0691	0,0942		
	A-C-T	0,0296	0,0016	0,0158		
	A-T-C	0,0367	0,1148	0,0764		
	A-T-T	0,0755	0,0645	0,0686	27,50	0,0075
	C-C-C	0,0975	0,0399	0,0673		
	C-C-T	0,0147	0,1194	0,0677		
	C-T-C	0,0426	0,0663	0,0546		
	C-T-T	0,5852	0,5244	0,5554		
SNP5/SNP6/SNP7	C-C-A	0,0697	0,0239	0,0460		
	C-C-G	0,1460	0,0875	0,1156		
	C-T-A	0,0217	0,0228	0,0226		
	C-T-G	0,0226	0,0957	0,0608	23,92	0,0011
	T-C-A	0,0664	0,0864	0,0785		
	T-C-G	0,0128	0,0922	0,0524		
	T-T-A	0,0922	0,0918	0,0905		
	T-T-G	0,5686	0,4996	0,5377		

* χ^2 Tests (df=2)

**P mit der Bonferroni-Korrektur (N=231)

2.5.3 Assoziation des GRM8-Gens mit kognitiven Domänen

Bei vielen Glutamatrezeptoren besteht eine Assoziation mit kognitiven Bereichen, wie Lernen und Erinnerung (Gerlai et al., 2002; Hölscher et al., 1999), dadurch kann man auch eine Assoziation des GRM8 Gens mit den Genen der kognitiven Domänen vermuten.

Inwieweit eine Assoziation zwischen dem GRM8 Gen und kognitiven Domänen besteht wurde bis dato nicht bei Menschen, sondern nur bei Mäusen untersucht.

Gerlai et al. 2002 analysierten die Konsequenzen einer Nullmutation des mGluR8-Genlocus bei Mäusen, welche durch die Anwendung einer homologen Rekombination mit embryonalen Stammzellen erzeugt wurde. Dabei wurde die Lernfähigkeit durch das Morris-Wasserlabyrinth (*Water Maze*) (MWM), sowie die Kontext- und die Hinweis-abhängige Angstkonditionierung (*Context and Cue dependent fear conditioning* (CFC)) von Mutanten und Wildtypkontrollen verglichen. Durch das Fehlen des mGluR8-Gens konnten keine eindeutigen Veränderungen der Gehirnentwicklung oder Gehirnfunktion gezeigt werden. Außer einer Sehstörung schienen die Mäuse im Großen und Ganzen gesund und normal zu sein. Das Morris-Wasserlabyrinth, welches das räumliche Lernen bei Nagetieren untersucht, zeigte jedoch Defizite bei der Durchführung. Zwar schnitten die Mäuse mit der Nullmutation schlechter bei dem Test ab als die Testmäuse, jedoch ist der Test bei diesen Mäusen auch schwer zu beurteilen, da die Mäuse aufgrund einer Sehstörung – ein Nebeneffekt der Nullmutation – benachteiligt sind. Jedoch konnten feine Unterschiede mit Hilfe anderer kognitiver Aufgaben, wie dem CFC, gezeigt werden, bei dem visuelle Hinweise keine Rolle spielen. Dabei schnitten die Mäuse mit der Nullmutation des mGluR8-Gens schlechter beim Erlernen und bei der Erinnerung ab, als die Kontrollmäuse (Adams et al., 2002; Gerlai et al., 2002). Im Gegensatz zu chirurgischen oder pharmakologischen Manipulationen ist es bei der Knock-Out Methode nicht möglich, die Veränderungen, die während der Entwicklung entstehen, von denen, die die Funktionstüchtigkeit des erwachsenen Gehirns beeinflussen, zu unterscheiden (Gerlai, 1996; Gerlai et al., 2002). Bei der pharmakologischen Herangehensweise besteht hingegen die Möglichkeit der Manipulation der mGluR Funktionen zu einem bestimmten Zeitpunkt, wodurch Studien mit interessanten Beobachtungen entstanden (Gerlai et al., 2002). Die Aktivierung der Gruppe III der metabotropen Glutamatrezeptoren – zu welchen womöglich der mGluR8 gehört – mit L-(+)-2-amino-4-phosphonobutyric Säure (L-AP4) in einer Konzentration, die zuvor in vivo die Induktion der Langzeit-Potenzierung (LTP) verringert hat (Gerlai et al., 2002; Manahan-Vaughan and Reymann, 1995), führte zu einer Beeinträchtigung des räumlichen Lernens bei Ratten in einer Schwingarm- und der Morris-Wasserlabyrinth-Aufgabe (Gerlai et al., 2002; Hölscher et al., 1996). Diese spezifische Störung des Lernens wird mit der Blockade der

Transmitterfreisetzung, welche durch die Gruppe III mGluRs vermittelt wird, in Verbindung gebracht. Welche Rolle der mGluR8 dabei genau spielt ist jedoch noch nicht geklärt (Gerlai et al., 2002; Herrero et al., 1992).

Eine weitere Studie beschäftigt sich nicht nur damit, inwieweit mGluR8 mit kognitiven Bereichen assoziiert ist, sondern untersucht auch, ob diese Assoziation geschlechtsabhängig ist (Duvoisin et al., 2010). Die Studie von Duvoisin et al. 2010 zeigt, dass einige Effekte, wie Veränderungen des Angstmaßes, des räumlichen Lernens und der Erinnerung, die durch das Fehlen des mGluR8-Gens ausgelöst werden, durch das Geschlecht beeinflusst werden. In einem Test, in dem das Hippokampus-abhängige Gedächtnis gemessen werden sollte, indem die neue Ortswiedererkennung geprüft wurde (Save et al., 1992), schnitten sowohl männliche als auch weibliche Mäuse, denen mGluR8 fehlt, schlechter ab. Bei der Beurteilung des räumlichen Lernens und der Erinnerung durch das Morris-Wasserlabyrinth war die kognitive Beeinträchtigung bei den weiblichen Mäusen stärker ausgeprägt als bei den männlichen. Die Hippokampus-abhängigen Einschränkungen des räumlichen Denkens, die bei weiblichen Mäusen im Morris-Wasserlabyrinth-Test gezeigt werden konnten, sind nicht nur bei einem Mangel von mGluR8 zu beobachten. Auch in anderen Bereichen, die nicht im Zusammenhang mit Glutamatrezeptoren stehen, zeigen weibliche Mäuse kognitive Defizite, wie beispielsweise bei der Alzheimer Krankheit (Duvoisin et al., 2010). Androgene können den altersabhängigen kognitiven Leistungsabfall und apoE-abhängige kognitive Einbußen antagonisieren (Benice and Raber, 2009; Raber et al., 2002). Deshalb könnten die geschlechtsabhängigen Einschränkungen des räumlichen Lernens bei Mäusen, denen mGluR8 fehlt, mit den vorhandenen Mengen an Androgenen in Verbindung stehen. Zusammenfassend konnte diese Studie ebenfalls zeigen, dass das Fehlen von mGluR8 zu kognitiven Einbußen führt, sowie dass diese bei weiblichen Mäusen stärker ausgeprägt sind als bei männlichen.

3 Fragestellung

Für Schizophrenie, welche durch ein heterogenes Erscheinungsbild geprägt ist, wurde bisher kein allein krankheitsauslösendes Gen gefunden. Darum wird auf molekulargenetischer Ebene nach mehreren Suszeptibilitätsgenen mit jeweils geringem Effekt geforscht. Assoziationsstudien scheinen eine sensitive Methode zur Erfassung dieser Suszeptibilitätsgene und exekutiven Funktionen darzustellen. Bisherige Studien haben gezeigt, dass das Arbeitsgedächtnis, ein Teilbereich exekutiver Funktionen, zumindest teilweise genetisch determiniert ist. Durch die Untersuchung dieser präfrontalen Kognitionen lassen sich Suszeptibilitätsgene der Schizophrenie leichter erforschen.

Glutamat ist ein Anion einer Aminosäure, welches im menschlichen Körper als Hormon fungiert. Dieses Hormon wird bei schizophrenen Patienten in geringerem Ausmaß in der zerebrospinalen Flüssigkeit ausgeschüttet, als bei Kontrollprobanden. Glutamatrezeptoren im Allgemeinen konnten bereits mit der Pathophysiologie der Schizophrenie in Verbindung gebracht werden. Über das GRM8-Gen selbst gibt es zurzeit nur wenige Studien, die keine Assoziation zwischen diesem Gen und der Schizophrenie nachweisen konnten. Eine Assoziation dieses Gens mit exekutiven Funktionen wurde bislang nicht untersucht. In diesem Zusammenhang wurde zu den Polymorphismen rs6976644, rs7797614, rs17149799, rs7806558 bisher noch keine Studie veröffentlicht.

Mit der vorliegenden Arbeit wird versucht, Assoziationen zwischen vier Polymorphismen des GRM8-Gens mit der Schizophrenie sowohl mit Hilfe einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie, als auch mit Leistungen eines Tests (WCST), die exekutive Funktionen erfassen, zu ermitteln. Die Stichprobe, welche sich aus insgesamt 423 Personen, dabei 295 Kontrollprobanden und 128 an Schizophrenie erkrankten Patienten, zusammensetzte, beschränkte sich auf die deutsche Population um ethnizitätsbegründete genetische Unterschiede zu minimieren. Zur Bestimmung der Allel- und Genotypfrequenzen der Polymorphismen kam eine MALDI-TOF basierte Methode zur Anwendung.

4 Material und Methoden

4.1 Vorbedingungen der Studiendurchführung

Die Studie wurde mit Zustimmung der lokalen Ethikkommission durchgeführt. Zunächst wurden die Patienten, die freiwillig teilnahmen, über den Rahmen, Art und Umfang und Ziel der Studie informiert. Auch über die Anonymisierung der Daten, inbegriffen der Blutproben, wurden die Studienteilnehmer aufgeklärt. Ihr Einverständnis wurde durch Unterzeichnung der schriftlichen Einverständniserklärung dokumentiert.

4.2 Studienteilnehmer

Die Zahl der Studienteilnehmer betrug insgesamt 423 Personen, welche sich aus 295 Kontrollprobanden und aus 128 an Schizophrenie erkrankten Patienten zusammensetzte. Zu der Kontrollgruppe gehörten gesunde, nicht verwandte und deutschstämmige Personen, die in München und Umgebung leben. Die Patientengruppe bestand aus Personen mit kaukasischer Ethnizität mit der nach DSM-IV-Kriterien gesicherten Diagnose Schizophrenie.

4.2.1 Verteilung nach Geschlecht

In der Kontrollgruppe befanden sich 144 Männer (48,8%), sowie 151 Frauen (51,2%). Die Patientengruppe umfasste 82 Männer (64,1%) und 46 Frauen (35,9%). Die Geschlechterverteilung beider Gruppen ist signifikant unterschiedlich ($\chi^2=8,432$; $OR=0,519$ ($CI=0,349-0,820$); $df=1$; $p=0,004$). Während das Geschlechterverhältnis bei den Kontrollprobanden beinahe ausgeglichen war, überwog bei der Patientengruppe das männliche Geschlecht mit 64,1%.

Tabelle 6: Geschlechterverteilung der Kontroll- und Patientengruppe

Gruppe	Geschlecht n (%)		Gesamt n
	männlich	weiblich	
Kontrollen	144 (48,8)	151 (51,2)	295
Patienten	82 (64,1)	46 (35,9)	128
Gesamt n (%)	226 (53,4)	197 (46,6)	423

4.2.2 Verteilung nach Alter

Das durchschnittliche Alter des Kontrollkollektivs lag bei 48,08 Jahren (SD=14,89). Das mittlere Alter der Patientengruppe betrug 39,28 Jahre (SD=10,39). Die Altersverteilung der beiden Gruppen war signifikant unterschiedlich ($T=6,969$; $df=338.251$; $p<0,001$). Das Durchschnittsalter der Probanden lag im Durchschnitt fast neun Jahre höher als das der Patienten.

Tabelle 7: Altersverteilung der Kontroll- und Patientengruppe

Gruppe	Alter M (SD)	Gesamt n (%)
Kontrollen	48,08 (14, 89)	295 (69,7%)
Patienten	39,28 (10,93)	128 (30,3%)
Gesamt n (%)		423 (100%)

4.2.3 Verteilung nach Schulbildung

Jeder Studienteilnehmer wurde nach seinem Grad der Schulbildung bzw. seinem höchsten erreichten Schulabschluss befragt. Auf diese Weise wurden die Teilnehmer entsprechend in einen niedrigen (maximal Volks- oder Hauptschule mit Abschluss bzw. Realschule ohne Abschluss), mittleren (maximal Realschule mit Abschluss bzw. gymnasiale Oberstufe ohne Abschluss) und hohen (Abitur) Bildungsgrad eingeteilt. Der Unterschied bei den Gruppen war weder signifikant, noch war ein Trend gegeben ($\chi^2=3,159$; $df=2$; $p=0,206$). Die größte Differenz bestand bei dem niedrigen Bildungsgrad, dabei war der Anteil des Patientenkollektivs um fast 8% höher als das der Kontrollgruppe. In Tabelle 8 wird die Verteilung des Bildungsgrades dargestellt.

Tabelle 8: Verteilung nach Bildungsgrad

	Bildungsgrad n (%)			Gesamt n
	niedrig	mittel	hoch	
Kontrollen	67 (22,7)	113 (38,3)	115 (39,0)	295
Patienten	39 (30,5)	41 (32,0)	48 (37,5)	128
Gesamt n (%)	106 (25,1)	154 (36,4)	163 (38,5)	423

4.3 Rekrutierung der Studienteilnehmer

4.3.1 Kontrollgruppe

Die Studienteilnehmer der Kontrollgruppe wurden mit Hilfe eines mehrstufigen Verfahrens rekrutiert. Die Vorauswahl wurde per Zufallsprinzip über das Zentralverwaltungsreferat der Stadt München getroffen. An die ausgewählten Personen wurde ein Einladungsschreiben gesendet, welches eine Aufklärung über die Studienziele enthielt. Wenn Interesse bestand wurde als zweiter Schritt ein Interview am Telefon durchgeführt, um zu überprüfen, ob folgende Eingangskriterien gegeben waren: die potenziellen Teilnehmer mussten deutscher Abstammung sein, es durften weder psychiatrische, neurologische oder hirnormale Erkrankungen vorliegen, noch Alkohol-, Medikamenten- oder Drogenabusus, oder Suizidalität, Suizide bzw. Suizidversuche in der Eigen- und Familienanamnese.

Wurden diese Kriterien erfüllt, bekam der ausgewählte Proband einen ausführlichen Anamnesebogen per Post zugeschickt. Damit wurde die somatische und psychiatrische Krankheitsgeschichte des Probanden selbst und seiner biologischen Verwandten ersten, zweiten und dritten Grades schriftlich erfasst. In den Bögen mussten Fragen zu etwaigen psychiatrischen und neurologischen Vorerkrankungen und deren ambulante oder stationäre Behandlung beantwortet werden. Besonderes Augenmerk wurde dabei auf das Vorliegen affektiver Störungen, Angst- und Panikstörungen, Zwangserkrankungen, Essstörungen, schizophrene Erkrankungen, Alkohol- und Drogenkonsum sowie suizidale Phasen oder Suizide gelegt.

Des Weiteren wurde eine ausführliche biographische Anamnese erhoben. Diese beinhaltete die Abstammung, Komplikationen während der Schwangerschaft der Mutter und bei der Geburt, den schulischen und beruflichen Werdegang, Familienstand und Lebenszufriedenheit.

Waren alle Kriterien erfüllt, wurden die Kontrollprobanden zu einem persönlichen Interview geladen. Dabei wurden das *Family History Assessment Module* (Rice et al., 1995), der Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene (HAWIE-R) (Tewes, 1991), das Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (Richter & Guthke, 1996) und die deutsche Version des strukturierten klinischen Interviews zur Exploration gemäß der Qualifikation des *Diagnostic*

and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV) der *American Psychiatric Association* (SKID) in seiner vierten Revision (Wittchen et al. , 1996, Wittchen et al. , 1997) durchgeführt.

Das *Family History Assessment Module* (Rice et al. 1995) wurde angewendet, um etwas über psychiatrische Diagnosen von Verwandten herauszufinden. Der Hamburger-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene in revidierter Form (HAWIE-R; Tewes 1994) und der Wortschatztest (Schmidt & Metzler 1992) wurden eingesetzt, um kognitive Fähigkeiten beurteilen zu können. Kritische Lebensereignisse und dessen Relevanz für die Lebensziele der Teilnehmer wurden in einem Gespräch mit dem Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (Richter & Guthke 1996) dokumentiert. Zur Erfassung und Diagnostik der Psychopathologie, welche im DSM-IV der Achse I zugeordnet wird, wurde das SKID I angewandt. Das SKID II wurde angewandt, um mehr über die Persönlichkeitsstörungen, die zur Achse II zählen, der Teilnehmer herauszufinden. Außerdem wurden die Probanden zu psychosozialen Beeinträchtigungen (Achse IV) befragt und deren Leistungsfähigkeit (Achse V) getestet. Der Mini-Mental-Status-Test (MMST; Kessler et al. 1990) kam bei Patienten zur Anwendung, die älter als 60 Jahre waren, um Einbußen bei der kognitiven Leistung zu erfassen.

Die Probanden wurden nur in die Studie aufgenommen, wenn die psychiatrische Familienanamnese negativ war und zusätzlich Störungen der Achse I und II, sowie relevante neurologische Erkrankungen nicht gegeben waren. Wurde der IQ-Gesamtwert von 80 (Hawie-R) oder MMST Wert mit 26 Punkten nicht erreicht, wurden die Probanden ebenfalls aus der Studie ausgeschlossen.

4.3.2 Patientengruppe

Patienten, bei denen die gesicherte Diagnose der Schizophrenie bestand, wurden im Rahmen der Rekrutierung kontaktiert. Beim ersten Gespräch wurden die Patienten über Ablauf, Hintergründe und Ziele der Studie informiert. Die Patienten, bei denen Interesse an der Studienteilnahme bestand, wurden zu einem persönlichen Interview in die Klinik eingeladen. Hausbesuche wurden vorgenommen, wenn es den Patienten nicht möglich war in die Klinik zu kommen.

Beim ersten Termin wurde eine ausführliche Anamnese erhoben, die einen somatischen und psychiatrischen Themenkomplex beinhaltete. Es wurde auf den Verlauf, den Zeitpunkt der

Erstmanifestation der Krankheit, das Auftreten von Prodromalsymptomatik, die Anzahl und Dauer der Krankheitsphasen, die stationären Klinikaufenthalte, aktuelle und frühere Medikation, Suizidversuche, Alkohol- und Drogenabusus, psychosoziale Auslösefaktoren und Erkrankungsfälle in der Familie geachtet. Auch nach begleitenden Erkrankungen wie Angststörungen, Zwangsstörungen, Essstörungen, somatoformen Störungen und Anpassungsstörungen wurde gefragt. Ein weiteres Thema war die Biographie des Patienten, die die schulische und berufliche Karriere umfasste, die Wohn- und Familiensituation, als auch Komplikationen während der Schwangerschaft oder bei der Geburt. Ferner wurden die Lebensgeschichten der biologischen Verwandten ersten, zweiten und dritten Grades, insbesondere psychiatrische und neurologische Erkrankungen erfasst. Für den gegenwärtigen Zeitraum und die Phase der Krankheit, die am stärksten ausgeprägt war, wurde die Positive und Negative Syndrome Scale (PANSS) (Kay et al. 1987) durchgeführt.

Im weiteren Verlauf wurde die klinische Version des SKID I angewendet, um die Diagnose Schizophrenie nach den DSM-IV-Richtlinien zu sichern. Außerdem wurden damit die Krankheitssymptomatik und der Krankheitsverlauf festgehalten. Um die Diagnose Schizophrenie zu verifizieren, müssen für den DSM-IV mindestens zwei der fünf Symptome Wahn, Halluzinationen, desorganisierte Sprache, massiv desorganisiertes Verhalten oder katatone Sprache und negative Symptome wie Affektverflachung, Apathie, Antriebshemmung oder Alogie über einen erheblichen Zeitraum eine Monats bestehen. Bei bizarren Wahnvorstellungen, sowie akustischen Halluzinationen mit kommentierenden oder dialogisierenden Stimmen, reicht ein Symptom zur Diagnosesicherung aus. Des Weiteren muss die Störung mindestens ein halbes Jahr bestehen und die Symptome wenigstens für einen Monat akut sein. Eine weitere Voraussetzung ist, dass beispielsweise die Leistungsfähigkeit im Berufsleben oder die soziale Kompetenz im Gegensatz zu früher für eine gewisse Zeitspanne deutlich eingeschränkt ist.

Schizoaffektive Störungen, affektive Störungen mit psychotischen Merkmalen, schizophrenieforme Störungen, wahnhaftige Störungen sowie kurze oder nicht näher zu bestimmende psychotische Störungen mussten differentialdiagnostisch ausgeschlossen werden. Da einige Krankheiten Symptome der Schizophrenie auslösen können, mussten zudem entzündliche, endokrine und neoplastische Erkrankungen oder Stoffwechselstörungen als Auslöser ausgeschlossen werden. Die Symptome durften auch

nicht direkt durch Alkohol- oder Drogenmissbrauch ausgelöst worden sein. Patienten, bei denen eine aktive Hepatitis B oder C, oder eine HIV-Erkrankung bestand, wurden ebenfalls nicht in die Studie mit eingeschlossen.

4.4 Neuropsychologische Verfahren

Sowohl bei den Kontrollprobanden als auch bei den schizophrenen Patienten wurden einige neuropsychologische Tests angewendet. Mit Hilfe dieser Testmethoden konnten die einzelnen kognitiven Bereiche wie Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit, Vigilanz, Exekutivfunktionen, Wortflüssigkeit, Arbeitsgedächtnis, visuelles und verbales Gedächtnis untersucht werden.

4.4.1 Wisconsin-Card-Sorting-Test

1948 entwickelten Grant und Berg den Wisconsin-Card-Sorting-Test (WCST). Damit werden Exekutivfunktionen erfasst, d.h. Leistungen des Gehirns wie abstraktes und flexibles Denken, Strategieentwicklung und planvolles Handeln.

4.4.1.1 Testaufbau

Der Test, welcher in der Computerversion 4 (WCST CV4D) durchgeführt wurde, beinhaltet vier verschieden bedruckte Karten (Schlüsselkarten), welche sich in Form, Farbe und Anzahl unterscheiden. Der Studienteilnehmer muss die sich wechselnden Strategien herausfinden, mit der die verschiedenen Grundkarten zuzuordnen sind. Abbildung 7 zeigt ein Beispiel der Computerversion.

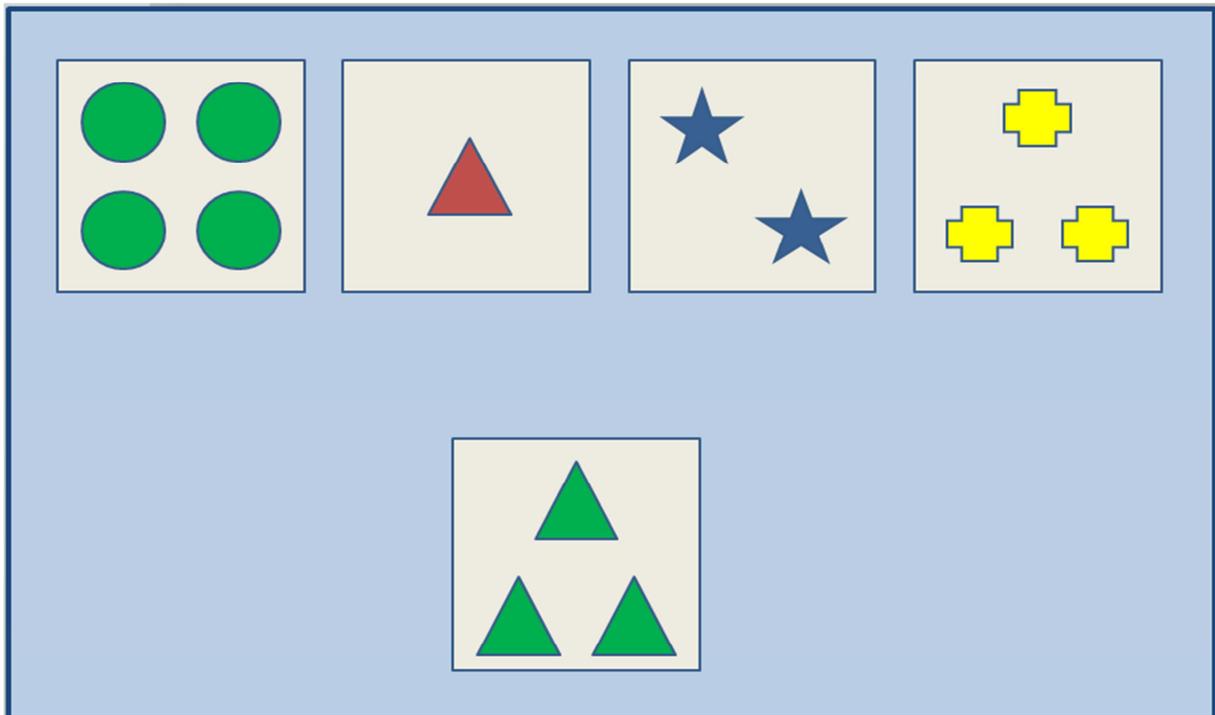


Abbildung 7: WCST

Auf dem oberen Bildschirmrand sind in horizontaler Anordnung die vier Schlüsselkarten angezeigt, auf denen sich jeweils eines der vier Motive Dreieck, Stern, Kreuz oder Punkt in der Anzahl eins bis vier in den Farben gelb, rot, grün oder blau befindet. Dabei dürfen sowohl Motiv, als auch Anzahl und Farbe in der jeweiligen Anordnung nur auf einer der vier Karten vorkommen. Jede Schlüsselkarte hat ein anderes Motiv. Während die Schlüsselkarten den ganzen Test über unverändert angezeigt werden, erscheint jeweils eine von insgesamt 128 Grundkarten nacheinander in der Mitte des unteren Bildschirmrandes. Auf den Grundkarten befindet sich ebenfalls jeweils eines der vier Motive (Dreieck, Stern, Kreuz oder Punkt) in der Anzahl (von eins bis vier) und in einer der Farben (gelb, rot, grün oder blau).

Der Proband hat die Aufgabe mit der Computermouse jede Grundkarte einer der vier Schlüsselkarten zuzuweisen. Die Grundkarte kann entsprechend des gleichen Motives, der gleichen Farbe oder der gleichen Anzahl der Motive den Schlüsselkarten zugeordnet werden. Beispielsweise kann also eine Grundkarte, auf der sich, wie in Abbildung 7 exemplarisch aufgezeigt, drei grüne Dreiecke befinden, der Schlüsselkarte, auf der sich das eine rote Dreieck befindet (gleiches Motiv), der Schlüsselkarte, auf der die vier grünen Punkte zu sehen sind (gleiche Farbe), sowie der Schlüsselkarte, die die drei gelben Kreuze zeigt (gleiche Anzahl) zugeordnet werden. Daraus ergeben sich drei verschiedene Zuordnungsprinzipien.

Nachdem eine Karte zugeordnet wurde, erscheint eine Fehlerrückmeldung. Weist der Proband zehnmal hintereinander, nach dem gleichen Prinzip, die Grundkarte der richtigen Schlüsselkarte zu, ändert sich das Zuordnungsprinzip ohne dass der Proband darüber in Kenntnis gesetzt wird. Mit den Fehlerrückmeldungen als Resonanz, muss der Proband nun das neu gewählte Zuordnungsprinzip entschlüsseln. Nach 10 konsekutiv zugeordneten Grundkarten ist eine Zuordnungskategorie abgeschlossen und es folgt die nächste Kategorie. Abgeschlossen ist der Test, wenn sechs Zuordnungsprinzipien, die willkürlich durch den Computer ausgewählt werden, erfolgreich erkannt wurden oder wenn alle 128 Grundkarten zugewiesen wurden. Es gibt keine zeitliche Begrenzung für den Test.

4.4.1.2 Testdurchführung

Der WCST wurde in standardisierter Form durchgeführt. Da die Computerversion 4 (WCST: CV4) verwendet wurde, konnte der Test automatisch verwaltet und ausgewertet werden. Angewendet wurde ein Notebook mit einem 15 Zoll Monitor. Unter einer anonymisierten Probandennummer wurde eine Datei für jeden Teilnehmer angelegt. In dieser Datei wurden die demographische Information, die Antwortliste und die Testergebnisse gespeichert. Eine Überprüfung des ausreichenden Sehvermögens und des Farbdiskriminationsvermögens erfolgten vor dem Test. Der Proband wurde in Augenhöhe vor dem Bildschirm platziert, und Daten wie Geschlecht, Alter sowie Dauer der Schul- und Berufsausbildung wurden in das Testprotokoll aufgenommen. Anschließend wurde ihm die Testdurchführung erläutert.

4.4.1.3 Testauswertung

Bei der automatischen Testauswertung der Computerversion 4 des WCST wurden folgende Kriterien beachtet:

Die Zuordnung jeder Grundkarte zu einer Schlüsselkarte wird in drei voneinander unabhängigen Dimensionen begutachtet.

Ob das richtige Zuordnungsprinzip angewendet wurde, also die Zuordnung richtig oder falsch ist, wird in der ersten Dimension erfasst. In der zweiten Dimension wird festgestellt, ob die Zuordnung eindeutig oder uneindeutig war. Stimmt die der Schlüsselkarte zugeordnete Grundkarte nur in einem Punkt, also Form, Farbe oder Anzahl überein, ist die Zuordnung eindeutig. Es besteht jedoch auch die Möglichkeit, dass Grundkarten und Schlüsselkarten in mehr als einem Punkt übereinstimmen, dann ist die Zuordnung nicht

eindeutig. Falls beispielsweise der Schlüsselkarte, auf der ein rotes Dreieck zu sehen ist, eine Grundkarte mit drei roten Dreiecken zugeordnet wird, kann nicht entschieden werden, ob der Grund für die Zuordnung die Farbe oder die Form war. In diesem Fall wird die Zuordnung als uneindeutig bezeichnet. In der dritten Dimension wird überprüft, ob das ausgesuchte Zuordnungsprinzip der Zuordnung immer wiederkehrend ist, wobei Form, Farbe und Anzahl unterschieden werden. Wird ein perseveratives Prinzip verfolgt, werden alle darauffolgenden Zuordnungen, die mit diesem ausgesuchten Prinzip übereinstimmen, als perseverativ gewertet. Ordnet der Proband jede erscheinende Grundkarte zum Beispiel immer entsprechend ihrer Farbe den Schlüsselkarten zu, geht er nach dem perseverativen Zuordnungsprinzip vor. Falls der Proband dagegen die Grundkarte einmal entsprechend ihrer Farbe und einmal entsprechend ihrer Form zuordnet, gelten die Zuordnungen als nicht perseverativ. Diese Auswertung erfolgt unabhängig davon, ob die Zuordnung richtig oder falsch ist. Liegt das nicht vor, gelten die Zuordnungen als nicht perseverativ. Außerdem müssen bei dem Perseverationsprinzip eindeutige von nicht eindeutigen Zuordnungen unterschieden werden.

Am Anfang des Tests nach einer eindeutig falschen Antwort kann ein perseveratives Prinzip entstehen. Jede falsche Antwort, die sich dieser anschließt und das gleiche Prinzip hat ist perseverativ. Dies gilt auch, wenn zwischendurch andere Zuordnungen mit einem anderen Prinzip erfolgen. Das liegt z.B. vor, wenn bei einem aktuell korrekten Zuordnungsprinzip, der Farbe, eine Grundkarte mit vier roten Dreiecken, der Schlüsselkarte mit drei gelben Dreiecken zugeordnet wird. Da hier nach der Form zugeordnet wurde, liegt ein klarer Fehler vor, der dem Perseverationsprinzip folgt. Jeder darauffolgende eindeutige Fehler wird als perseverativ gewertet bis sich das Perseverationsprinzip ändert.

Am häufigsten wurde das Perseverationsprinzip angewendet, wenn ein Zuordnungsprinzip abgeschlossen wurde, d.h. 10 aufeinanderfolgende Antworten richtig waren, und ein neue begann. Dabei wurde das bisher angewendete Prinzip fortgeführt, auch wenn es von nun an nicht mehr richtig war. Das zuvor richtige Zuordnungsprinzip wird dann zum Perseverationsprinzip. Ein eindeutiger perseverativer Fehler ist also die erste eindeutige Antwort mit dem neuen Perseverationsprinzip.

Wenn uneindeutige Zuordnungen dem gleichen Muster folgen sind sie perseverativ. Dabei muss die uneindeutige Zuordnung aber mit dem aktuellen Perseverationsprinzip

übereinstimmen und die nächste Zuordnung davor und danach perseverativ sein. Nur wenn das Prinzip der Perseveration in seiner Kontinuität nicht unterbrochen wird gelten mehrere uneindeutige aufeinanderfolgende Antworten als perseverativ. Das Perseverationsprinzip wird innerhalb einer Kategorie gewechselt, wenn drei eindeutige Fehler nach demselben Prinzip gemacht werden, die weder korrekt sind, noch dem gegenwärtigen Perseverationsprinzip entsprechen. Dafür wird vorausgesetzt, dass alle drei Fehler dasselbe Prinzip verfolgen.

Im Testablauf wird jede Zuordnung in allen drei Dimensionen betrachtet. Die Auswertung des WCST erfolgt mit Hilfe verschiedener Testvariablen, die zur Berechnung von Rohwerten dienen. Die Testvariablen sind folgende:

- *Total Number Correct* und *Total Number of Errors* beschreiben die gesamte Leistung im Test.
- Die Gesamtzahl perseverativer Antworten, also richtiger und falscher, wird durch *Perseverative Responses* ausgedrückt.
- Alle perseverativen Fehler werden durch *Perseverative Errors* widerspiegelt.
- Die Gesamtheit aller nichtperseverativen Fehler sind *Nonperseverative Errors*.
- Durch *Conceptual Level Responses* wird die Anzahl richtiger Zuordnungen, davon mindestens drei aufeinanderfolgende, angezeigt. Dabei wird vorausgesetzt, dass der Teilnehmer das Prinzip der Zuordnung zu einem gewissen Maß versteht, da bei mindestens drei aufeinanderfolgenden richtigen Antworten ein Zufall als unwahrscheinlich gilt.
- Die *Trials to Complete First Category* beschreibt die Fähigkeit zur ersten Konzepterstellung, bzw. die Anzahl der Zuordnungen, die dazu nötig sind, um die erste Kategorie mit Erfolg zu absolvieren.
- Mit *Failure to Maintain* wird der Fall beschrieben, dass, bevor eine Kategorie erfolgreich abgeschlossen wurde, ein Fehler nach mindestens fünf konsekutiv richtigen Zuordnungen gemacht wird. Das Prinzip, welches richtig erkannt und angewendet wurde, wurde nicht fortgesetzt. Das kann auf eine kognitive Instabilität hinweisen.
- Mit *Learning to Learn* wird der Lerneffekt wiedergegeben. Hierbei wird dargestellt, inwieweit der Proband aus dem im Test Erfahrenen im weiteren Verlauf des Tests

profitiert hat. Die Bestimmung dieses Wertes kann erst erfolgen, wenn mindestens drei Kategorien durchlaufen und beendet sind oder wenn die Situation vorliegt, dass mindesten zwei Kategorien abgeschlossen wurden und bei einer dritten Kategorie mindestens 10 Zuordnungen durchgeführt wurden. Zuerst wird von jeder absolvierten Kategorie ein Fehlerprozentwert erstellt und dieser vom Fehlerprozentwert der darauffolgenden Kategorie subtrahiert. Anschließend erfolgt die Bildung eines Mittelwertes aus allen Fehlerprozentdifferenzen, der den *Learning to Learn* Wert darstellt. Ein positiver Wert impliziert eine effizientere Bearbeitung der darauffolgenden Kategorien.

4.4.1.4 Gütekriterien

Objektivität

Dadurch, dass die Instruktion des Tests standardisiert durchgeführt wurde, kann man davon ausgehen, dass sie objektiv vonstattenging. Die Software des Programms wertet den Test automatisiert nach dem Testmanual nach Heaton (Heaton et al., 1993) aus. Durch die darin enthaltenen genauen Beurteilungskriterien gilt die Auswertung als objektiv.

Reliabilität

Die Retest-Reliabilität des WCST bei einer Stichprobe aus 29 unbehandelten Patienten mit Schlafapnoesyndrom wird bei Ingram (Ingram et al., 1999) im Mittel mit 0,64 angegeben. Dabei variierten die Reliabilitätskoeffizienten der einzelnen Variablen („scores“) zwischen 0,34 und 0,83.

Validität

Im klinischen und wissenschaftlichen Umfeld wurde der WCST häufig zur Überprüfung von Exekutivfunktionen eingesetzt (Milner, 1963; Nelson, 1976; Nyhus and Barceló, 2009; Spreen and Strauss, 1998; Stuss and Levine, 2002). Dabei liegen zahlreiche Ergebnisse im Bereich der Neurologie (u.a. zu M. Parkinson, Multipler Sklerose, strukturellen Läsionen des Gehirns) und Psychiatrie (u.a. mit Schizophrenie) vor (Lin et al., 2013; Liozidou et al., 2012; Nyhus and Barceló, 2009; Parmenter et al., 2007). Werden die Leistungen der Patientengruppe mit der Probandengruppe verglichen, so

zeigen sich spezifische und signifikante Unterschiede, was wiederum die Validität des Tests demonstriert (Heaton et al. 1993).

Um eine Verbindung zwischen den Leistungen im WCST und den jeweiligen Genotypen herzustellen, muss hochreine genomische DNA isoliert und anschließend genotypisiert werden.

4.5 Laborverfahren

4.5.1 DNA-Extraktion

Tabelle 9: Materialien zur DNA-Extraktion

<u>Material</u>	<u>Hersteller</u>
QIAamp Maxi Spin Röhrchen	Qiagen
Sammelröhrchen	Qiagen
Qiagen Protease	Qiagen
Puffer AL	Qiagen
Ethanol (96-100%)	Roth
Puffer (Guanidin-HCL)	Qiagen
Waschpuffer (ethanolhaltig)	Qiagen
Puffer AE (Tris-Puffer; pH>9,0)	Qiagen

Zur DNA-Extraktion wurde jedem Studienteilnehmer 7ml venösen Blutes entnommen. Dabei kamen EDTA-Monovetten zur Anwendung, um eine Gerinnung des Blutes zu vermeiden. Zur DNA-Extraktion wurde das Protokoll des Qiagen DNA Blood Maxi Kits (Qiagen 2005) verwendet. Das Vollblut wurde zentrifugiert und das Plasma vom Blutkuchen getrennt. Die Lagerung des Blutkuchens erfolgte bei -20°C, woraufhin er zum Gebrauch bei Raumtemperatur aufgetaut wurde. Außerdem wurde der Blutkuchen mit Hilfe von einem PBS (Phosphatebufferedsaline)-Puffer gemischt und auf 10ml gebracht. Zur Lyse wurden diese 10ml mit 500µl Quiagen Protease versetzt. Daraufhin wurden 12ml des Lysepuffers AL, welcher Guanidiniumhydrochlorid enthält, hinzugefügt und die Lösung 60s lang auf einem Vortexer (Scientific Industries, New York) vermengt. Guanidiniumhydrochlorid zählt zu den chaotropen Salzen, welche Proteine denaturieren und die Freisetzung der genomischen DNA

erleichtern. Die Mischung wurde für 30min bei 70°C inkubiert, um die Lyse zu optimieren und einen hohen DNA Gehalt zu erzielen. 10ml Ethanol (Carl Roth, Karlsruhe) wurden beigemischt und vermischt, um die DNA für die Bindung an die Silikagelmembran, durch die Entfernung der Hydrathülle, vorzubereiten. Die Lösung wurde auf die QIAamp Maxi Säule übertragen und für 3min bei 3000rpm (*revolutions per minute*) zentrifugiert. Dadurch wurde die DNA an die Silikagelmembran gekoppelt. Um die Lösung von Protein- und RNA-Resten zu befreien, wurde sie in einem Waschschrift mit 5ml Waschpuffer versehen und daraufhin bei 400rpm für 2min zentrifugiert. Für die quantitative Auswaschung der Guanidiniumhydrochloridsalze und die Vorbereitung der DNA-Elution wurde ein weiterer Waschschrift mit 5ml eines ethanolhaltigem Waschpuffers durchgeführt. Damit keinerlei Rückstände mehr vorhanden sind, wurde anschließend bei 4000rpm für 15min zentrifugiert. Die Silikagelmembran wurde daraufhin zur Elution zweimal mit 1,5ml trishaltigem AE Puffer für jeweils 5min bei Raumtemperatur inkubiert und daraufhin für 2min bei 5000rpm zentrifugiert.

4.6 Bestimmung der DNA-Konzentration

4.6.1 DNA-Konzentrationseinstellung

Tabelle 10: Verwendete Materialien zur Konzentrationseinstellung

Material	Hersteller
Verbrauchsmaterialien	
96 well Platte	Greiner
Selbstklebende Aluminiumfolie	Eppendorf
50ml konische PP-Röhrchen	Sarstedt
Reagenzien	
PicoGreen dsDNA quantitation reagent	PicoGreen Molecular Probes
1x TE, pH 7,4, Tris Base, EDTA	Roth
Clontech Human Genomic DNA 100ng/μl	Clontech
Geräte	
Janus Automated Workstation 150	Perkin Elmer
Victor 1420 Multilabelcounter	Perkin Elmer
Optiplex GX620 Pentium 4 HT	Dell
Vortexer Reax	Heidolph

Zur Konzentrationsmessung der DNA wurde das PicoGreen Verfahren gewählt. PicoGreen ist ein Fluoreszenzfarbstoff, der nur an doppelsträngiger DNA bindet, mit dieser einen Komplex bildet und fluoresziert. Dabei ist die Intensität der Fluoreszenz abhängig von der in den Proben enthaltenen Menge DNA.

Um die DNA-Konzentration bestimmen zu können, musste als erstes eine 1:2 Verdünnungsreihe eines DNA-Standards der Konzentration 100ng/μl (Clontech) erstellt werden. Die Vertiefung A1 wurden mit 200μl genomischer DNA-bekannter Konzentration versehen und die Vertiefungen B1 bis H1 jeweils mit 100μl destilliertem Wasser. Mit einer Pipette wurden daraufhin 100μl aus Vertiefung A1 und B1 übertragen und gemischt, dann wiederum aus B1 in C1, so dass die in Tabelle 11 dargestellte Verdünnungsreihe bis zum well G1 entstand. Das well H1 beinhaltete nur destilliertes Wasser und diente als Nullwert.

Tabelle 11: DNA-Konzentration in den einzelnen Säulen

Position	Volumen	Konzentration
A1	100μl	100ng/ml
B1	100μl	50ng/μl
C1	100μl	25ng/μl
D1	100μl	12,5ng/μl
E1	100μl	6,25ng/μl
F1	100μl	3,125ng/μl
G1	200μl	1,5262ng/μl
H1	100μl	0

Daraufhin wurde die DNA, welche untersucht werden sollte, vorbereitet. Zuerst wurde die DNA 1:10 vorverdünnt. Dafür pipettierte der Roboter (Janus Automated Workstation 150, Perkin Elmer) auf einer ABgene 96 well Platte jeweils 5μl der zu untersuchenden DNA und 45μl H₂O (bidest).

Anschließend wurde mit Hilfe eines Pipettierroboters (Janus Automated Workstation 150, Perkin Elmer) die Messplatte hergestellt. Dafür wurde auf einer 96 well Platte je well 50μl H₂O (bidest) vorbereitet. Anschließend wurden in Spalte eins und zwei der 96 well Platte in Duplikaten je 5μl der Standardverdünnungsreihe pipettiert und in die darauf folgenden Spalten je 5μl der vorverdünnten DNA. Abschließend wurden pro Vertiefung 145μl Picogreen-Gemisch hinzugefügt.

Nachfolgend wurde die Messplatte mit Hilfe eines Grippers in das Fluoreszenzmessgerät gebracht, in dem die Messung der DNA-Konzentration durchgeführt wurde. Die Messplatte wurde daraufhin 30 Sekunden lang in Doppelkreisen geschüttelt. Im Anschluss erfolgte die Anregung des PicoGreen Fluoreszenzfarbstoffes mit einer Wellenlänge von 485nm, damit die Messung bei 535nm durchgeführt werden konnte. Pro well betrug die Messzeit 0,1 Sekunden. Die Messergebnisse wurden auf den Computer (Optiplex GX620, Dell) übertragen, der automatisch den Mittelwert aus den Doppelbestimmungen ausrechnet. Als letzter Schritt wurde die DNA-Konzentration auf die Arbeitskonzentration von 50ng/µl eingestellt und bis zur weiteren Verwendung bei -80°C gelagert.

4.6.2 Initiale PCR-Reaktion

Tabelle 12 zu PCR angewendete Geräte und Materialien

Materialien/Geräte	Hersteller
AssayDesign 3.1	Firma Sequenom, San Diego
96 well Platte	Greiner
Multimek Pipettierroboter	Beckmann, Fullerton, USA
384 well Platte	Firma ABgene, Hamburg
GeneAmp, PCR System 9700	Applied Biosystems

Die hier eingesetzte Genotypisierungsmethode, die es ermöglicht gleichzeitig mehrere SNPs zu untersuchen, benötigt drei Schritte. Erstens wird die den SNP flankierende Sequenz mittels Polymerase-Kettenreaktion amplifiziert, um eine ausreichende Konzentration der Zielsequenz für die iPLEX-Reaktion zu erlangen. Zweitens werden direkt vor dem SNP bindende Extensionsprimer um exakt eine dem polymorphen Locus entsprechende Base verlängert. Drittens werden die Extensionsprodukte mit Hilfe der MALDI-TOF (*Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation – Time of flight*) Massenspektrometrie (Sequenom) analysiert.

Mit der initialen PCR (*polymerase chain reaction*) wurden die genomischen Bereiche amplifiziert, welche die zu untersuchenden SNPs rs6976644, rs7797614, rs17149799 und rs7806558 enthalten (Tabelle 14, S. 75). Mit dem Programm AssayDesign 3.1 (Sequenom, San Diego) wurden die Primersets, welche aus zwei PCR-Primern und einem Extensionsprimer für die iPLEX-Reaktion bestanden, entworfen (Tabelle 15, S. 75).

Zunächst wurde mit einem Multimek Pipettierroboter (Beckmann, Fullerton, USA) eine Mastermix-Lösung für vier Mikrotiterplatten (96 well Platten) erstellt, welche jeweils 96 Vertiefungen (wells) haben. Anschließend wurde die gleiche Lösung auf alle Vertiefungen der vier 96 well Platten aufgeteilt (Tabelle 13). Daraufhin erfolgte die Übertragung in eine der 384 well Platten.

Tabelle 13: Reagenzien, Volumina und Hersteller der initialen PCR Reaktion

Reagenz	Volumen	Hersteller
Autoklaviertes Wasser	1,850µl	Purelab ultra, ELGA
PCR-Puffer mit MgCl ₂	0,625µl	Qiagen
MgCl ₂ , 25mM	0,325µl	Qiagen
dNTP Mix, 25mM	0,100µl	Abgene
Primer Mix, jeweils 300nM	1,000µl	Qiagen
Genomische DNA, 5ng/µl	2,500µl	
Hotstar Taq, 5U/µl	0,100µl	Qiagen

Die Anwendung der PCR erfolgte in einem Thermocycler (GeneAmp, PCR System 9700, Applied Biosystems), nachdem die 384 well Platte (ABgene, Hamburg) zentrifugiert wurde. Zur initialen Denaturierung wurde die doppelsträngige DNA für fünf Minuten auf 95°C erhitzt. Anschließend wurden die Proben für weitere 20 Sekunden bei 95°C belassen, um die DNA vollständig zu denaturieren. Beim sogenannten *Annealing*, wurde die DNA für 30 Sekunden auf 56°C heruntergekühlt, damit sich *forward*- und *reverse*-Primer an die Einzelstränge anlagern können. Im Zuge der Elongation wurde die Temperatur eine Minute lang auf 72°C erhöht, so dass die taq-Polymerase die Nukleotide an die Primer anfügen konnte. Die letzten drei Schritte wurden 45mal wiederholt. Zum Abschluss wurde die Temperatur weiterhin für drei Minuten auf 72°C gehalten. Nun war ausreichend amplifizierte DNA für das weitere Vorgehen vorhanden.

4.6.3 Dephosphorylierung der uninkorporierten Nukleotide

Da bei der PCR nicht alle Nukleotide verwendet werden und die nicht eingebauten Desoxynukleotidtriphosphate (dNTPs) die nachfolgende iPLEX-Reaktion stören würden, wurden diese durch Zugabe von Shrimp alkalischer Phosphatase dephosphoryliert (SAP,

Sequenom, San Diego). Hergestellt wurde eine Mischung aus 1,53µl autoklaviertem Wasser, 0,175µl SAP Puffer (10fach) und 0,3µl SAP Enzym in einer Konzentration von 1U/µl. Mit einem Multimek Pipettierroboter (Beckmann, Fullerton, USA) wurden 2µl dieser Mischung zu jeder PCR-Reaktion hinzugefügt, gemischt und abzentrifugiert. In einem Thermocycler (Applied Biosystems, Foster City) fand die Inkubation des Ansatzes bei 37°C für 20 Minuten statt und die folgende Inaktivierung des SAP Enzyms bei 85°C für fünf Minuten.

4.6.4 iPLEX-Reaktion

Nachdem bei der PCR genügend Material der zu untersuchenden Genombereiche vervielfältigt wurde, wird das iPLEX-Verfahren eingesetzt. Dabei handelt es sich um eine PCR mit anderen Bedingungen, bei der für jedes Allel eines SNPs massenspezifische Produkte entstehen.

Es wurden besondere Extendprimer entworfen, die so gestaltet sind, dass sie genau neben den SNP an das PCR-Produkt binden, welches untersucht wird. Zur Anwendung kommen vier Didesoxynukleotide, die nach Einbau einer Base einen Kettenabbruch bewirken. Damit die Massen besser unterschieden werden können, werden den vier Didesoxynukleotiden (ddATP, ddCTP, ddGTP, ddTTP) spezielle funktionelle Gruppen angehängt.

Tabelle 14: Polymorphismen

ID/Accession No.	Contig Position	Chromosom 7 Position	Position im Gen	Allel	Funktion
rs6976644	51264271	125867931	126080695	C/T	Intron
rs7797614	51267662	125871322	126084086	A/T	Intron
rs17149799	51275380	125879040	126091804	C/T	Intron
rs7806558	51369883	125973543	126186307	C/T	Intron

Tabelle 15: Primer

ID/Accession No.	Primer 1	Primer2	Extend Primer	Fragment -länge
rs6976644	ACGTTGGATGTACA GCATGTTACTGTCC TG	ACGTTGGATGCCTAC AAGCTCCATTCATAG	TATACAAATATCA TTGCATTACAA	183

rs7797614	ACGTTGGATGAGG TGAGTCTGAATGAC TGG	ACGTTGGATGCTTTT TTAGCAGCAATCCAG	CAACTTTATAAAA TATGGTTGCCAAA T	118
rs17149799	ACGTTGGATGGACT TGAAGGCAGTGAA GAG	ACGTTGGATGGGCT GATCTTGGAACATAC C	ATACCAGGCATGC TTC	102
rs7806558	ACGTTGGATGGTGC TTATAACAACCCCG TG	ACGTTGGATGATAGC TGTGTGATGTGATGC	TGCATATCAACTA CTGTTCT	115

Tabelle 16: Reagenzien, Volumina und Hersteller der iPLEX- Reaktion

Reagenz	Volumen	Hersteller
Autoklaviertes Wasser	0,755µl	Sequenom
iPLEX Puffer, 10fach	0,200µl	Sequenom
iPLEX Abbruch-Mix	0,200µl	Sequenom
Primer Mix, 7µM:14µM	0,800µl	Sequenom
iPLEX Enzyme	0,041µl	Sequenom

Alle Reagenzien der iPLEX-Reaktion wurden in den angegebenen Volumina der Tabelle 16 in jedes well pipettiert und die Durchführung der Reaktion erfolgte im Thermocycler. Bei der Initialen Denaturierung fand eine Erhitzung des Thermocyclers auf 94°C für 30 Sekunden statt. Die anschließende Denaturierung wurde 30 Sekunden lang bei 94°C ausgeführt. Darauf folgten das *Annealing* für fünf Sekunden bei 52°C und die Extension für fünf Sekunden bei 80°C, welche fünfmal wiederholt wurden. Im Anschluss erfolgte erneut eine Denaturierung für fünf Sekunden bei 94°C. Der Reaktionsablauf, der Denaturierung, Annealing und Primerextension beinhaltet, durchläuft 40 Zyklen. Abschließend steht die Extensionsreaktion für drei Minuten bei 72°C.

Da Ionen die Messung im Massenspektrometer stören können, müssen die Proben nach der iPLEX-Reaktion mit Clean Resin (Sequenom) unter Verwendung von *dimple plates* entsalzt werden.

4.6.4.1 Messung der Extensionsprodukte im MALDI-TOF Massenspektrometer

Zur Messung der Extensionsprodukte wird das MALDI-TOF System angewendet. Die Übertragung des Analysegemisches auf einen 384-Format SpectroCHIP (Sequenom) erfolgte mit dem MassARRAY Nanodispenser (Sequenom). Durch die Vakuumschleuse gelangt der Chip in das Massenspektrometer, in dem er im Hochvakuum (ca. 10^{-8} - 10^{-6} mbar) für einige Nanosekunden mit einem gepulsten N_2 -Laser ($\lambda=337\text{nm}$) beschossen wird. Das Probematerial wird dadurch zur gleichen Zeit verdampft und ionisiert. Von besonderer Bedeutung ist die Ionisation, da nur die Messung von geladenen Teilchen im MALDI-TOF möglich ist. Die Beschleunigung der entstandenen Ionen erfolgte im Vakuum, wobei die Zeit gemessen wurde, die die Ionen benötigten um den Flugkanal zu durchqueren. Dabei liegt folgender Zusammenhang zwischen Flugzeit (t), Masse (m) Und Ladung (z) der Teilchen:

$$t \sim \sqrt{\frac{m}{z}}$$

Die verschiedenen Flugzeiten der Extensionsprodukte wurden gemessen und mit der TYPER Analyzer 3.3.0 Software (Sequenom, San Diego) der Genotyp bestimmt.

4.7 Statistische Auswertung

Mit der IBM SPSS Statistics Software 19 (Statistical Package for Social Sciences), wurde die statistische Auswertung durchgeführt. Die Verteilung der Genotypen wurde unter Verwendung des Hardy-Weinberg-Equilibriums (HWE) überprüft. Lagen signifikante Abweichungen der SNPs vom HWE vor, wurden diese nicht für weitere Analysen verwendet, da Genotypisierungsfehler nicht ausgeschlossen werden konnten.

Besonders interessierten die Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollprobanden in Bezug auf die Häufigkeiten der Allele und Genotypen, welche mit dem exakten Test nach Fisher betrachtet wurden. Die Überprüfung dieser Unterschiede fand mit dem zweiseitigen χ^2 -Test statt.

Anschließend wurde durch die multivariante Varianzanalyse (MANOVA) geprüft, ob zwischen den Leistungen im WCST und den einzelnen SNPs Zusammenhänge bestehen. Zu den Testvariablen gehörten der prozentuale Anteil der perseverativen Fehler an der Gesamtzahl der Zuordnungen, *Percent Perseverative Errors* (PPE), der prozentuale Anteil der nicht perseverativen Fehler an der Gesamtzahl der Zuordnungen, *Percent Nonperseverative*

Errors (PNE) und die Anzahl der erfolgreich abgeschlossenen *Kategorien Number of Categories Completed* (NCC). Dabei stellen Status (Patienten vs. Kontrollprobanden), Geschlecht, Schulbildung und Alter Kovariablen dar und wurden in der Analyse mit einberechnet. Als unabhängige Variablen (UV) wurden die Genotypen und Allele mit einbezogen, als abhängige Variablen (AV) die einzelnen Skalen.

Das Signifikanzniveau von $p < 0,05$ wurde für alle statistischen Berechnungen festgelegt, während $p < 0,1$ als Trend gilt.

5 Ergebnisse

Mit der vorliegenden Arbeit wurde überprüft, inwieweit eine Assoziation zwischen den vier polymorphen Varianten des GRM8-Gens, rs6976644, rs7797614, rs17149799 und rs7806558, und dem Phänotyp Schizophrenie einerseits, sowie Exekutivfunktionen, wie abstraktes und flexibles Denken, andererseits, besteht. Dazu wurde bei allen Studienteilnehmern eine Genotypisierung der vier Einzelnukleotidpolymorphismen durchgeführt.

5.1 Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

Bei der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie wurden die Unterschiede der Allel- und Genotypverteilung zwischen der Patienten- und der Kontrollgruppe dargestellt. Die Verteilung der Allele und Genotypen wird im Anschluss aufgezeigt.

5.1.1 Analyse des Markers rs6976644

Zur Analyse des Markers rs6976644 wurden 418 Studienteilnehmer eingeschlossen. Die Teilnehmerzahl setzte sich aus der Kontrollgruppe mit insgesamt 293, sowie aus der Patientengruppe mit 125 Personen zusammen. Der prozentuale Anteil der Probanden betrug 70,1%, der der Patienten 29,9%.

5.1.1.1 Genotypverteilung

Die Genotypverteilung für die Gesamtstichprobe ($F=-0,030$; $df=1$; $p=0,533$) erfüllte das Hardy-Weinberg-Equilibrium (HWE).

Tabelle 17: Genotypverteilung des Polymorphismus rs6976644

Gruppe	Genotyp CC n (%)	Genotyp CT n (%)	Genotyp TT n (%)	Gesamt n
Kontrollen	108 (36,9)	144 (49,1)	41 (14,0)	293
Patienten	47 (37,6)	60 (48,0)	18 (14,4)	125
Gesamt	155 (37,1)	204 (48,8)	59 (14,1)	418

Zwischen dem Patienten- und dem Kontrollkollektiv für rs6976644 war kein signifikanter Unterschied gegeben ($\chi^2=0,047$; $df=2$; $p=0,977$).

5.1.1.2 Allelverteilung

Bei der Allelverteilung des SNPs rs6976644 des GRM8-Gens wurden in der statistischen Auswertung die Häufigkeiten, die in Tabelle 18 aufgezeigt sind, dargestellt.

Tabelle 18: Allelverteilung des Polymorphismus rs6976644

Gruppe	C-Allel n (%)	T-Allel n (%)	Gesamt n
Kontrollen	360 (61,4)	226 (38,6)	586
Patienten	154 (61,6)	96 (38,4)	250
Gesamt	514 (61,5)	322 (38,5)	836

Die Kontrollgruppe und die Patientengruppe haben sich in der Allelverteilung nicht signifikant unterschieden ($\chi^2=0,002$; $OR=0,933$ ($CI=0,732-1,346$); $df=1$; $p=0,964$).

5.1.2 Analyse des Markers rs7797614

Um den Marker rs7797614 zu analysieren wurden insgesamt 405 Personen in der Studie aufgenommen. Davon waren 279 bzw. 68,9% Probanden und 126 bzw. 31,1% Patienten.

5.1.2.1 Genotypverteilung

Die gesamte Genotypverteilung liegt im Hardy-Weinberg-Equilibrium ($F=0,052$; $df=1$; $p=0,294$).

Tabelle 19: Genotypverteilung des Polymorphismus rs7797614

Gruppe	Genotyp AA n (%)	Genotyp AT n (%)	Genotyp TT n (%)	Gesamt
Kontrollen	11 (3,9)	76 (27,2)	192 (68,8)	279
Patienten	3 (2,4)	30 (23,8)	93 (73,8)	126
Gesamt	14 (3,5)	106 (26,2)	285 (70,4)	405

Die Genotypverteilungen (Tabelle 19) der Kontroll- und der Patientengruppe zeigte keinen signifikanten Unterschied ($\chi^2=1,310$; $df=2$; $p=0,519$).

5.1.2.2 Allelverteilung

Die Allelverteilung des SNPs rs7797614 in Bezug auf die Patienten- und Kontrollgruppe wird in Tabelle 20 aufgezeigt.

Tabelle 20: Allelverteilung des Polymorphismus rs7797614

Gruppe	A-Allel n (%)	T-Allel n (%)	Gesamt n
Kontrollen	98 (17,6)	460 (82,4)	558
Patienten	36 (14,3)	216 (85,7)	252
Gesamt	134 (16,5)	676 (83,5)	810

Bei beiden Gruppen waren die Allele ungefähr gleich verteilt ($\chi^2 = 1,350$; $OR = 1,278$ ($CI = 0,844 - 1,935$); $df = 1$; $p = 0,245$).

5.1.3 Analyse des Markers rs17149799

Die Teilnehmeranzahl zur Analyse des SNPs rs17149799 betrug 417. Die Kontrollgruppe beinhaltete 289 Personen und damit 69,3%, die Patientengruppe 128 Personen, also 30,7%.

5.1.3.1 Genotypverteilung

Die Gesamtstichprobe der Genotypverteilung erfüllt das Hardy-Weinberg-Equilibrium ($F = 0,045$; $df = 1$; $p = 0,359$).

Tabelle 21: Genotypverteilung des SNPs rs17149799

Gruppe	Genotyp CC n (%)	Genotyp CT n (%)	Genotyp TT n (%)	Gesamt n
Kontrollen	12 (4,2)	110 (38,1)	167 (57,8)	289
Patienten	7 (5,5)	45 (35,2)	76 (59,4)	128
Gesamt	19 (4,6)	155 (37,2)	243 (58,3)	417

Zwischen der Kontroll- und der Patientengruppe war in Bezug auf die Genotypverteilung (Tabelle 21) kein signifikanter Unterschied zu erkennen ($\chi^2 = 0,577$; $df = 2$; $p = 0,749$).

5.1.3.2 Allelverteilung

Tabelle 22: Allelverteilung des SNPs rs17149799

Gruppe	C-Allel n (%)	T-Allel n (%)	Gesamt n
Kontrolle	134 (23,2)	444 (76,8)	578
Patienten	59 (23,0)	197 (77,0)	256
Gesamt	193 (23,1)	641 (76,9)	834

Bei der Allelverteilung ist zwischen dem Kontroll- und dem Patientenkollektiv kein signifikanter Unterschied gegeben ($\chi^2=0,002$; OR =1,008 (CI=0,711-1,429); df=1; p=0,966).

5.1.4 Analyse des Markers rs7806558

Zur Analyse des SNPs rs7806559 wurden insgesamt 423 Studienteilnehmer eingebracht. 295 Personen waren in der Kontrollgruppe, dementsprechend 69,7%, und 128 Personen in der Patientengruppe, demnach 30,3%.

5.1.4.1 Genotypverteilung

Die Genotypverteilung der Gesamtstichprobe des SNPs rs7806558 war im Hardy-Weinberg-Equilibrium ($F=-0,007$, df=1; p=0,882).

Tabelle 23: Genotypverteilung des SNPS rs7806558

Gruppe	Genotyp CC n (%)	Genotyp CT n (%)	Genotyp TT n (%)	Gesamt n
Kontrollen	31 (10,5)	138 (46,8)	126 (42,7)	295
Patienten	17 (13,3)	53 (41,4)	58 (45,3)	128
Gesamt	48 (11,3)	191 (45,2)	184 (43,5)	423

Es war kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und der Patientengruppe bezüglich der Genotypverteilung gegeben ($\chi^2=1,314$; df=2; p=0,518).

5.1.4.2 Allelverteilung

Tabelle 24: Allelverteilung des SNPS rs7806558

Gruppe	C-Allel n (%)	T-Allel n (%)	Gesamt n
Kontrolle	200 (30,9)	390 (66,1)	590
Patienten	87 (34,0)	169 (66,0)	256
Gesamt	287 (33,9)	559 (66,1)	846

Bei der Allelverteilung unterscheidet sich das Kontroll- vom Patientenkollektiv nicht signifikant ($\chi^2=0,001$; OR=0,996 (IR=0,731 -1,358); df=1; p=0,981).

5.2 Endophänotypenstudie zu präfrontaler Kognition

Bei der Assoziationsuntersuchung, welche auf dem Konzept der Endophänotypen basiert, wurde versucht herauszufinden, ob die Leistungen des WCST mit den Genotypen und Allelen der vier SNPs zusammenhängen. Dabei wurde untersucht, ob sich die Leistungen des Tests in Abhängigkeit der Genotypen und Allele unterscheiden.

5.2.1 Analyse der Testleistungen im WCST

Bei der Analyse der Testleistungen im WCST wurde überprüft, ob Assoziationen zwischen den Genotyp- und Allelvarianten der vier SNPs und gewissen Testvariablen gegeben sind. Zu den Testvariablen gehören der prozentuale Anteil der perseverativen Fehler an der Gesamtzahl der Zuordnungen, *Percent Perseverative Errors* (PPE), der prozentuale Anteil der nicht perseverativen Fehler an der Gesamtzahl der Zuordnungen, *Percent Nonperseverative Errors* (PNE) und die Anzahl der erfolgreich abgeschlossenen *Kategorien Number of Categories Completed* (NCC).

5.2.1.1 Analyse der Ergebnisse des SNPs rs6976644 im WCST bezogen auf die Genotypen

An der Analyse der Testleistungen des WCST in Bezug auf die Genotypen des SNPs rs6976644 waren 418 Personen beteiligt, von denen 293 Teilnehmer (70,1%) Kontrollprobanden und 125 (29,9%) Patienten waren. Bei der Stichprobe waren 226 (54,1%) Teilnehmer männlich und 192 (45,9%) Teilnehmer weiblich. Die Ergebnisse in Bezug auf die Genotypen werden in Tabelle 25 gezeigt.

Tabelle 25: Ergebnisse des SNPs rs6976644

Testvarianten	Genotyp M (SD)			F	p
	CC (n=155)	CT (n=204)	TT (n=59)		
PPE	13,679 (0,576)	12,590 (0,487)	14,768 (0,949)	2,469	0,086
PNE	14,263 (0,597)	12,713 (0,503)	14,507 (0,984)	2,558	0,079
NCC	4,932 (0,127)	5,239 (0,107)	4,721(0,209)	3,224	0,041

PPE=Percent Perseverative Errors, PNE=Percent Nonperseverative Errors; NCC=Number of Categories, M=Mittelwert, SD=Standardabweichung

Bei den einzelnen Genotypen konnte kein signifikanter Unterschied bei den Testleistungen gezeigt werden. Jedoch war bei dem prozentualen Anteil perseverativer Fehler (PPE) und bei dem Anteil nichtperseverativer Fehler (PNE) ein nichtsignifikanter Trend gegeben. Die Studienteilnehmer mit homozygoten Genotypen machten sowohl mehr perseverative Fehler als auch mehr nichtperseverative Fehler als die heterozygoten Träger (F=2,469; df=2/404; p=0,086). In Abbildung 8 wird der signifikante Unterschied bei der Anzahl der erfolgreich abgeschlossenen Kategorien aufgezeigt. Dabei erzielten die Träger der heterozygoten Genotypen bessere Ergebnisse als die Träger der homozygoten Genotypen.

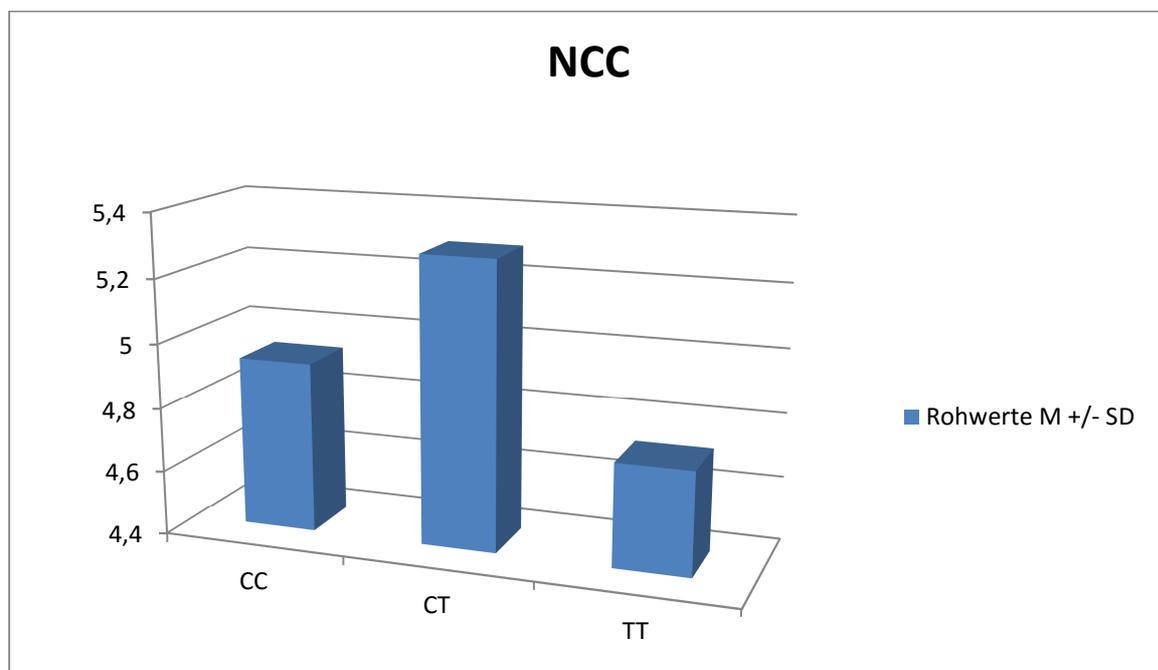


Abbildung 8 : Graphische Darstellung des signifikanten Unterschieds der Anzahl der erfolgreich abgeschlossenen Kategorien der heterozygoten Genotypen (M=Mittelwert, SD=Standardabweichung), (NCC= Number of Categories Completed)

5.2.1.2 Analyse der Ergebnisse des SNPs rs6976644 im WCST bezogen auf die Allele

An der Analyse der Testleistungen des WCST nahmen insgesamt 418 Personen teil, von denen 293 Teilnehmer (70,1%) gesunde Kontrollprobanden und 125 (29,9%) Schizophrenie-Patienten waren. Dabei wurden von jedem Teilnehmer jeweils beide Allele betrachtet. Insgesamt wurden 514 Allele von Männern (54,1%) und 322 Allele von Frauen (45,9%) untersucht. Die Ergebnisse der Testleistungen des WCST, welche sich auf die Allele beziehen, finden sich in Tabelle 26.

Tabelle 26: Ergebnisse des SNPs rs6976644 im WCST bezogen auf die Allele

Testvariablen	Allel M (SD)		F (df=1/826)	p
	C (n=514)	T (n=322)		
PPE	13,215 (0,309)	13,250 (0,387)	0,005	0,943
PNE	13,617 (0,320)	13,352 (0,401)	0,268	0,605
NCC	5,061 (0,068)	5,072 (0,085)	0,009	0,924

PPE=Percent Perserverative Errors, PNE=Percent Nonperseverative Errors, NCC=Number of Categories Completed, M=Mittewert, SD=Standardabweichung

Es zeigten sich weder signifikante Assoziationen noch ein Trend.

5.2.1.3 Analyse der Ergebnisse des SNPs rs7797614 im WCST bezogen auf die Genotypen

Die Ergebnisse des SNPs rs7797614 im WCST bezogen auf die Genotypen werden in Tabelle 27 dargestellt.

Tabelle 27: Ergebnisse des SNPs rs7797614 im WCST bezogen auf die Genotypen

Testvariablen	Genotyp M (SD)			F (df=2/391)	p
	AA (n=14)	AT (n=106)	TT (n=285)		
PPE	11,981 (2,163)	12,869 (0,682)	13,579 (0,481)	0,599	0,550
PNE	9,705 (2,257)	13,572 (0,712)	13,819 (0,436)	1,608	0,202
NCC	5,501 (0,480)	5,104 (0,151)	5,006 (0,093)	0,617	0,504

PPE=Percent Perserverative Errors, PNE=Percent Nonperseverative Errors, NCC=Number of Categories Completed, M=Mittewert, SD=Standardabweichung

Eine signifikante Assoziation oder ein Trend waren nicht gegeben.

5.2.1.4 Analyse der Ergebnisse des SNPs rs7797614 im WCST bezogen auf die Allele

Die Analyse der Ergebnisse des SNPs rs7797614 im WCST in Bezug auf die Allele wird in Tabelle 28 aufgezeigt.

Tabelle 28: Ergebnisse des SNPs rs7797614 im WCST bezogen auf die Allele

Testvariablen	Allel M (SD)		F (df=1/800)	p
	A (n=134)	T (n=676)		
PPE	12,707 (0,615)	13,434 (0,269)	0,005	0,943
PNE	13,617 (0,320)	13,352 (0,401)	0,268	0,605
NCC	5,061 (0,068)	5,072 (0,085)	0,009	0,924

PPE=Percent Perserverative Errors, PNE=Percent Nonperseverative Errors, NCC=Number of Categories Completed, M=Mittewert, SD=Standardabweichung

Es konnte keine signifikante Assoziation oder ein Trend festgestellt werden.

5.2.1.5 Analyse der Ergebnisse des SNPs rs17149799 im WCST bezogen auf die Genotypen

Insgesamt wurden 417 Teilnehmer bei der Analyse der Ergebnisse des SNPs rs17149799 mit einbezogen. Die Kontrollgruppe beinhaltete 289 Personen (69,3%) und die Patientengruppe 128 Personen (30,7%). Dabei waren 224 Studienteilnehmer männlich (53,7%) und 193 weiblich (46,3%). Bezogen auf die Genotypen zeigt Tabelle 29 die Ergebnisse der Testleistungen des WCST auf.

Tabelle 29: Ergebnisse des SNPs rs17149799 im WCST bezogen auf die Genotypen

Testvariablen	Genotyp M (SD)			F (df=2/403)	p
	CC (n=19)	CT (n=155)	TT (n=243)		
PPE	12,136 (1,617)	13,805 (0,611)	13,226 (0,437)	0,597	0,551
PNE	13,821 (1,683)	14,539 (0,636)	13,113 (0,455)	1,683	0,187
NCC	5,302 (0,359)	4,906 (0,136)	5,101 (0,097)	0,943	0,390

PPE=Percent Perserverative Errors, PNE=Percent Nonperseverative Errors, NCC=Number of Categories Completed, M=Mittewert, SD=Standardabweichung

Es konnte keine signifikante Assoziation festgestellt werden.

5.2.1.6 Analyse der Ergebnisse des SNPs rs17149799 im WCST bezogen auf die Allele

Tabelle 30 fasst die Analyse der Ergebnisse der beiden Allelvarianten des SNPs rs17149799, welche auf die Variablen des WCST bezogen sind, zusammen.

Tabelle 30: Ergebnisse des SNPs rs17149799 im WCST bezogen auf die Allele

Testvariablen	Allel M (SD)		F (df=1/824)	p
	C (n=134)	T (n=676)		
PPE	13,435 (0,528)	13,285 (0,272)	0,064	0,801
PNE	14,332 (0,549)	13,388 (0,283)	2,345	0,126
NCC	5,008 (0,117)	5,070 (0,060)	0,220	0,693

PPE=Percent Perserverative Errors, PNE=Percent Nonperseverative Errors, NCC=Number of Categories Completed, M=Mittewert, SD=Standardabweichung

Weder eine signifikante Assoziation, noch eine Trend konnten gezeigt werden.

5.2.1.7 Analyse der Ergebnisse des SNPs rs7806558 im WCST bezogen auf die Genotypen

In die Analyse des SNPs rs7806558 bezüglich Testleistungen des WCST wurden 423 Studienteilnehmer mit einbezogen, von denen 295 (69,7%) Personen der Kontrollgruppe angehörten und 128 (30,3%) Personen der Patientengruppe. Der männliche Anteil der Stichprobe umfasste 226 (53,4%) Personen, der weibliche Anteil 197 (46,6%) Personen. Die Ergebnisse in Abhängigkeit der Genotypen werden in Tabelle 31 dargestellt.

Tabelle 31: Ergebnisse des SNPS rs7806558 im WCST bezogen auf die Genotypen

Testvariablen	Genotyp M (SD)			F (df=2/409)	p
	CC (n=48)	CT (n=191)	TT (n=184)		
PPE	14,358 (0,965)	12,184 (0,512)	13,868 (0,504)	3,540	0,030
PNE	15,249 (1,001)	13,160 (0,531)	13,360 (0,523)	1,771	0,172
NCC	4,746 (0,210)	5,283 (0,112)	4,955 (0,110)	3,528	0,030

PPE=Percent Perserverative Errors, PNE=Percent Nonperseverative Errors, NCC=Number of Categories Completed, M=Mittewert, SD=Standardabweichung

Bei dem prozentualen Anteil der perseverativen Fehler (PPE), sowie bei der Anzahl erfolgreich abgeschlossener Kategorien (NCC) wurden signifikante Unterschiede beobachtet, die in Abbildung 9 dargestellt werden. Die Träger der homozygoten Genotypen machten tendenziell mehr perseverative Fehler ($F=3,540$; $df=2/409$; $p=0,030$), als die Träger der heterozygoten Genotypen und schlossen auch weniger Kategorien erfolgreich ab ($F=3,528$; $df=2/409$; $p=0,030$).

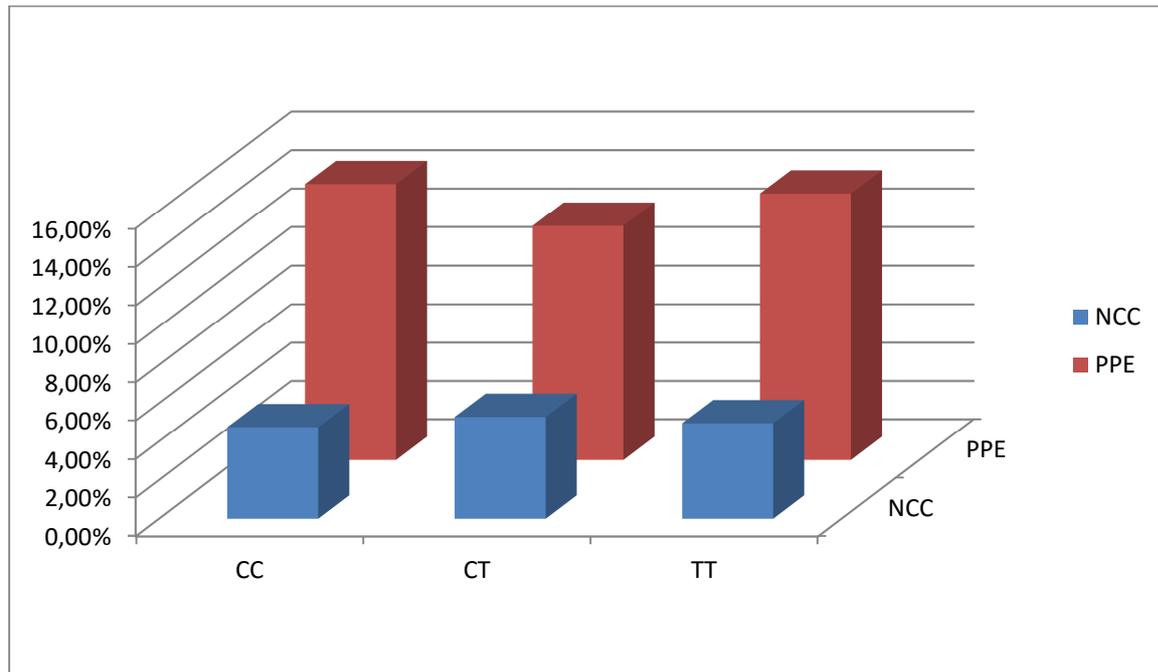


Abbildung 9: Graphische Darstellung der signifikanten Unterschiede des prozentualen Anteils Perseverativer Fehler und erfolgreich abgeschlossener Kategorien (NCC)

5.2.1.8 Analyse der Ergebnisse des SNPs rs7806558 im WCST bezogen auf die Allele

Die Analyse der Ergebnisse des Polymorphismus rs7806558 nach Allelen wird in Tabelle 32 dargestellt.

Tabelle 32: Ergebnisse des SNPs rs7806558 im WCST bezogen auf die Allele

Testvariablen	Allel M (SD)		F (df=1/836)	p
	C (n=287)	T (n=559)		
PPE	12,978 (0,407)	13,315 (0,292)	0,454	0,501
PNE	13,968 (0,422)	13,302 (0,3029)	1,656	0,199

NCC	5,088 (0,089)	5,061 (0,064)	0,063	0,802
------------	---------------	---------------	-------	-------

PPE=Percent Perserverative Errors, PNE=Percent Nonperseverative Errors, NCC=Number of Categories Completed, M=Mittewert, SD=Standardabweichung

Es konnte weder eine signifikante Assoziation, noch ein Trend gezeigt werden.

5.3 Zusammenfassung der Ergebnisse

5.3.1 Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

Bei der vorliegenden Fall-Kontroll-Assoziationsstudie wurde festgestellt, dass keine Unterschiede bei den SNPs rs6976644, rs7797614, rs17149799, rs7806558 des GRM8 Gens zwischen gesunden Kontrollprobanden und Teilnehmern, die an Schizophrenie erkrankt sind, gegeben sind. Außerdem wurden keine signifikanten Unterschiede bei den Frequenzen der Genotypen und Allele dieser SNPs zwischen den beiden Gruppen festgestellt. Folglich gab es keine Assoziation zwischen der Schizophrenie und den Genotypen sowie den Allelen.

5.3.2 Endophänotypenstudie

Bei der Endophänotypenstudie wurde ermittelt, ob eine Assoziation zwischen Polymorphismen und Exekutivfunktionen, welche mit dem WCST getestet wurden, bestehen. Bei den SNPs, bei denen die Genotypen und Allele analysiert wurden, handelte es sich um rs6976644, rs7797614, rs17149799 und rs7806558 des GRM8-Gens. Bei den Genotypen der SNPs rs6976644 und rs7806558 konnte eine Assoziation mit den abhängigen Testvariablen des WCST mit einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$ gefunden werden.

Beim Polymorphismus rs6976644 zeigte sich bei den Trägern der homozygoten Genotypen ein Trend zur höhere Fehlerquote bei den perseverativen Fehlern sowie den nicht perseverativen Fehlern als bei den heterozygoten. Bei den Allelen hingegen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Die CC- und die TT-Träger erzielten außerdem bei der Anzahl der erfolgreich abgeschlossenen Kategorien eine signifikant geringere Leistung als die CT-Träger.

Auch beim SNP rs7806558 machten die homozygoten Träger prozentual signifikant mehr perseverative Fehler und schlossen weniger Kategorien erfolgreich ab, als die heterozygoten Träger.

Nur bei zwei der vier SNPs, rs6876644 und rs7806558, zeigten sich Assoziationen mit den Testleistungen des WCST. Auffällig ist auch, dass nur bei den Genotypen, nicht aber bei den Allelen eine Assoziation mit diesen Leistungen bestand. Bei den Variablen des WCST waren nur bei der Anzahl perseverativer Fehler und der Anzahl erfolgreich abgeschlossener Kategorien signifikante Assoziationen vorhanden, nicht aber bei der Anzahl nicht perseverativer Fehler.

6 Diskussion

6.1 Interpretation und Implikation der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

Schizophrenie wird einerseits durch Genetik, andererseits durch äußere Einflüsse verursacht (Tandon et al., 2008a). Man schätzt die genetische Komponente auf ungefähr 80% (Cardno and Gottesman, 2000; Kendler, 2001; Wong et al., 2005). Obwohl der Vererbungsmodus noch nicht ausreichend geklärt ist, geht man davon aus, dass nicht ein einzelnes Gen für Schizophrenie verantwortlich ist, sondern eine Kombination aus mehreren Genen. Das GRM8-Gen codiert für den Glutamatrezeptor 8, und Glutamat scheint eine bedeutende Rolle in der Ätiopathogenese der Schizophrenie zu spielen. In Post mortem Untersuchungen von Schizophrenie-Patienten wurden weniger Glutamatrezeptoren als bei gesunden Kontrollprobanden gefunden (Eastwood et al., 1995; Harrison et al., 1991; Porter et al., 1997; Takaki et al., 2004b). Deswegen scheinen die Gene, welche für Glutamatrezeptoren kodieren, starke Kandidaten-Gene zu sein (Takaki et al., 2004b).

Die Glutamatrezeptoren werden in ionotrope und metabotrope Rezeptoren unterteilt (Gasparini and Griffiths, 2013). Der Glutamatrezeptor 8 gehört zur Gruppe III der metabotropen Glutamatrezeptoren, die die Wirksamkeit und Regulation der Freisetzung von Glutamat in den Synapsen modulieren (Spooren et al., 2003). Aufgrund dieser neuromodulatorischen Wirkung wird die Rezeptorengruppe mit der Ätiologie der Schizophrenie in Verbindung gebracht (Bolonna et al., 2001). Ein Zusammenhang zwischen exekutiven Funktionen und dem Glutamatrezeptor 8 wurde bisher noch nicht untersucht.

Das GRM8-Gen umfasst einen ungefähr 1000kb langen DNA-Abschnitt, wobei die codierende Region nur 2,3kb lang ist. Das Gen liegt an der Grenze von q31.3-q32.1 auf dem langen Arm des Chromosoms 7 (Scherer et al., 1996, 1997). Zu diesem Gen gibt es wenige Studien die sich mit der Verbindung zu Schizophrenie beschäftigen. In der Studie von Bolonna et al. 2001, einer Assoziationsstudie, beschäftigte man sich mit der Frage, inwieweit eine Assoziation zwischen dem mGluR8 (2846-C/T) und der Schizophrenie besteht. Dabei konnte keine signifikante Assoziation gezeigt werden (Bolonna et al., 2001). Bei der Studie von Takaki et al. 2004 wurde nicht nur eine Assoziation zwischen dem GRM8-Gen und der

Schizophrenie gesucht, sondern es wurde auch versucht, für 22 weit verbreitete SNPs eine Assoziation mit Schizophrenie zu finden. Leider liegen bis jetzt keine GWAs zum GRM8-Gen vor. In der 2014 veröffentlichte GWA von Ripke et. al. wurden zwar 83 neue Loci mit genomweiter Assoziationen mit Schizophrenie gefunden, das GRM8-Gen war jedoch nicht darunter. In dieser Studie konnte weder zwischen dem Gen und der Schizophrenie, noch zwischen den SNPs und Schizophrenie eine signifikante Assoziation gefunden werden (Takaki et al., 2004a).

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht herauszufinden, ob eine Assoziation zwischen vier Polymorphismen im GRM8-Gen und Schizophrenie besteht. Die vier Polymorphismen rs6976644, rs7797614, rs17149799 und rs7806558 wurden zu diesem Zeitpunkt noch nicht erforscht. Der Polymorphismus rs6976644 liegt in einer nichtkodierenden Region auf Intron 9 nahe des 3'-Endes, rs7797614 liegt ebenfalls auf Intron 9 in unmittelbarer Nachbarschaft zum Exon 9, rs17149799 und rs7806558 befinden sich auf Intron 8 bzw. auf Intron 7. In SNP rs6976644 ist die Base Cytosin durch Thymin ersetzt, ein Austausch von Thymin zu Adenin findet beim SNP rs7797614 statt. Sowohl bei SNP rs17149799, als auch bei SNP rs7806558 ist Thymin durch Cytosin substituiert. Ein Aminosäureaustausch findet bei keinem der SNPs statt. Diese vier Marker wurden gewählt, da zu ihnen nur unzureichende Befunde vorliegen. Eine positive Assoziation zwischen diesen Polymorphismen und Schizophrenie könnte durch mehrere Gründe erklärt werden. Beispielsweise könnten die Varianten eine direkte risikosteigernde Relevanz haben, oder eine im Kopplungsgleichgewicht gegebene weitere Variante könnte einen indirekten Effekt auslösen. Introns sind nicht kodierende DNA-Abschnitte, die angrenzende Exons voneinander trennen. Sie werden zwar transkribiert, aber nicht translatiert, da sie vorher aus der prä-mRNA herausgespleißt werden. Jedoch besteht die Möglichkeit, dass intronische SNPs indirekt Einfluss auf Gene und deren Funktion nehmen. Zunächst können diese SNPs im Kopplungsungleichgewicht mit einer echten funktionellen Variante liegen. Außerdem besteht die Möglichkeit, dass intronische Polymorphismen das Spleißen der mRNA beeinflussen oder zu alternativem Spleißen führen. Ferner können sie eine veränderte Sekundärstruktur der DNA im Bereich des SNPs nach sich ziehen oder veränderte Bindungen von Transkriptionsfaktoren mit sich bringen. Überdies kann es zu veränderten DNA-Methylierungen kommen, wodurch eine veränderte Genexpression ausgelöst werden kann.

In der Assoziationsuntersuchung der SNPs rs6976644, rs7797614, rs17149799 und rs7806558 mit Schizophrenie wurde ein Vergleich der Verteilung der Allele und Genotypen dieser SNPs zwischen der Patienten- und Kontrollgruppe angestellt. Für keinen der vier Polymorphismen konnte ein signifikanter Unterschied der Allel- und Genotypfrequenzen zwischen den Gruppen gefunden werden. Folglich kann man in dieser Stichprobe nicht von einer Assoziation mit Schizophrenie ausgehen und somit auch nicht eines durch die vier SNPs mit einhergehenden erhöhten Erkrankungsrisikos.

Tabelle 33: Darstellung der Ergebnisse der vorliegenden Assoziationsstudie

Marker	Allele und Genotypen	Verteilung
rs6976644	Genotypen (C/C; C/T; T/T)	$\chi^2=0,047$; df=2; p=0,977
	Allele (C; T)	$\chi^2=0,002$, df=1; p=0,964
rs7797614	Genotypen (A/A; A/T; T/T)	$\chi^2=1,310$; df=2; p=0,519
	Allele (A; T)	$\chi^2=1,350$; df=1; p=0,245
rs17149799	Genotypen (C/C; C/T; T/T)	$\chi^2=0,577$; df=2; p=0,749
	Allele (C; T)	$\chi^2=0,002$; df=1; p=0,966
rs7806559	Genotypen (C/C; C/T; T/T)	$\chi^2=1,314$; df=2; p=0,518
	Allele (C; T)	$\chi^2=0,001$; df=1; p=0,981

In bisherigen Studien konnte keine Assoziation zwischen dem GRM8-Gen und Schizophrenie gezeigt werden (Bolonna et al., 2001; Takaki et al., 2004a). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit stimmen damit überein. Bis zu diesem Zeitpunkt wurden die vier genannten Polymorphismen noch nicht untersucht, jedoch untersuchten Takaki et al. 2004 22 andere Polymorphismen, welche ebenfalls keine signifikante Assoziation mit Schizophrenie aufwiesen.

Jedoch konnte in der Studie von Takaki et al. 2004, welche ausschließlich japanische Teilnehmer umfasste, bei der Betrachtung der Haplotypen eine Assoziation mit Schizophrenie nachgewiesen werden. In der genannten Studie wurden die SNPs nummeriert und rs886002 als SNP 3, rs2237797 als SNP 4, rs1361963 als SNP 5 und rs2283094 als SNP 6 bezeichnet. Ein Haplotyp setzte sich aus diesen vier SNPs zusammen. Es wurde beobachtet, dass die SNPs 5 und 6 häufiger bei schizophrenen Patienten als bei den gesunden

Kontrollprobanden vorkommen. Daraus kann man schließen, dass eine Assoziation dieser beiden SNPs mit Schizophrenie möglich ist. Auch bei der Kombination der SNPs 4, 5 und 6 wurden die A-T-C und C-C-T-Haplotypen häufiger in der Patientengruppe als in der Kontrollgruppe gefunden, wodurch auch hier eine Assoziation mit Schizophrenie vermutet werden kann. Aus diesen Beobachtungen kann geschlossen werden, dass sich mindestens ein Suszeptibilitätslokus in der Region von SNP 4 bis SNP 6 im GRM8-Gen in Japan befinden muss. Diese positiven Assoziationen mehrerer Haplotypen in der GRM8-Region können aber nicht automatisch auf andere ethnische Populationen übertragen werden. Ob diese Assoziation auch bei anderen Ethnizitäten gegeben ist, muss mit weiteren Studien erforscht werden.

Man könnte annehmen, dass der Grund für die negativen Ergebnisse die fehlende direkte Auswirkung der vier Polymorphismen auf Schizophrenie ist, da die vier SNPs rs6976644, rs7797614, rs17149799 und rs7806558 auf den intronischen Bereichen des GRM8-Gens liegen.

Die Studie von Bolonna et al. 2001 ist der vorliegenden Assoziationsstudie in der Zusammensetzung der Studienteilnehmer ähnlicher als die von Takaki et al. 2004. Während in der Studie von Bolonna Kaukasier britischen Ursprungs als Teilnehmer gewählt wurden, sind in der vorliegenden Studie die Teilnehmer ausschließlich deutscher Abstammung, welche jedoch ebenfalls zur Kategorie der Kaukasier gezählt werden. Die Stichprobe von Bolonna umfasst 105 Patienten, bei denen mit Hilfe der DSMIII oder DSMIV-Kriterien Schizophrenie diagnostiziert wurde, sowie 108 Kontrollprobanden. Die vorliegende Stichprobe besteht aus insgesamt 423 Teilnehmern, welche sich aus 285 gesunden Probanden und 128 an Schizophrenie erkrankten Patienten zusammensetzt. Dabei wurde die Schizophrenie der Patienten nach DSMIV-Kriterien ermittelt. Bei dem Vergleich der vorliegenden Studie und der Studie von Bolonna wird die unterschiedliche Größe der Studien deutlich. Die Zahl der Kontrollprobanden ist bei der vorliegenden Studie mehr als doppelt so groß und die Zahl der Patienten um beinahe 1/5 grösser als in der Studie von Bolonna. Bei den Stichprobengrößen beider Studien muss in Erwägung gezogen werden, dass diese zu klein sind, um mögliche Assoziationen zu finden. Gerade bei dem Krankheitsbild der Schizophrenie, bei dem man davon ausgeht, dass es kein einzelnes Gen gibt, welches für

Schizophrenie verantwortlich ist, sondern mehrere Gene, die jeweils einen geringen Effekt haben, wäre eine weitaus größere Stichprobe von Vorteil.

Aufgrund von Populationsstratifikationen, welche zu falsch positiven oder falsch negativen Ergebnissen führen können, müssen die Ergebnisse von genetischen Studien mit Teilnehmern unterschiedlicher ethnischer Herkunft kritisch betrachtet werden. Das kommt jedoch bei keiner der drei genannten Studien vor. Um Stratifikationseffekte zu minimieren und somit das Studiendesign zu verbessern, müssten familienbasierte Kontrollen durchgeführt werden. Das bedeutet beispielsweise, dass die Eltern von erkrankten Kindern oder der nicht erkrankte Geschwisterteil eines an Schizophrenie erkrankten Zwillings als Kontrollprobanden dienen. Da in keiner der drei Studien derartige familienbasierte Kontrollen durchgeführt wurden, können Stratifikationseffekte nicht ausgeschlossen werden.

Weder in der Studie von Bolonna, die mit Studienteilnehmern britischen Ursprungs, noch in der Studie von Takaki, die mit Studienteilnehmern japanischer Herkunft arbeitete, wurden positive Assoziationen zwischen dem GRM8-Gen und Schizophrenie gefunden. Diese Ergebnisse können jedoch nicht unbedingt auf andere Ethnizitäten übertragen werden. Wären hierzu die Ergebnisse zwischen den einzelnen Studien unterschiedlich, könnte man die Unterschiede auf die ethnische Zusammensetzung der einzelnen Studien zurückführen. Dabei müssten die Ergebnisse von Takaki am meisten von der vorliegenden Studie abweichen. Diese setzt sich einzig aus japanischen Teilnehmern zusammen. Sowohl die Zahl der Patienten als auch die Zahl der Probanden beträgt dabei 100. Die Patienten stammen aus Krankenhäusern aus der Gegend von Fukoka und Oita, wohingegen die Probanden nur aus der Region Fukoka kommen.

In Populationen unterschiedlicher Herkunft können deutliche Unterschiede bezüglich Allel- und Genotypfrequenzen gegeben sein. Dadurch können positive Assoziationsbefunde entstehen, obwohl als Ursache kein biologischer Zusammenhang besteht. Dieser Fall kann zum Beispiel vorliegen, wenn die Stichprobe aus Teilnehmern mit gemischter Ethnizität besteht. Da die Teilnehmer der besprochenen drei Studien jeweils nur einer Ethnizität angehörten, kann man diesen Grund für positive Assoziationsbefunde ausschließen.

Das internationale HapMap Projekt, an dem Forscher aus den USA, Japan, China, Großbritannien, Nigeria und Kanada arbeiten, vergleicht populationsabhängige, genetische Variabilitäten einzelner Marker in verschiedenen Bevölkerungsgruppen. Die Genotypen- und Allelverteilungen wurden dabei zum Vergleich mit der vorliegenden Studie herangezogen, die in Tabelle 34 aufgezeigt werden. Besonders auffallend sind die großen Unterschiede zwischen den verschiedenen Ethnien.

Tabelle 34: Genotypenverteilung von SNPs in der vorliegenden Arbeit im Vergleich zu anderen Populationsstichproben

rs6976644	CC	CT	TT
HapMap-CEU (n=116)	46,6%	50,0%	3,4%
HapMap-HCB (n=84)	35,7%	47,6%	16,7%
HapMap-JPT (n=88)	38,6%	50,0%	11,4%
HapMap-YRI (n=116)	70,0%	29,3%	0,0%
Vorliegende Studie (n=418)	37,1%	48,8%	14,1%
rs7797614	AA	AT	TT
HapMap-CEU (n=120)	1,5%	28,3%	66,7%
HapMap-HCB (n=90)	4,4%	48,9%	46,7%
HapMap-JPT (n=90)	2,2%	28,9%	68,9%
HapMap-YRI (n=118)	5,1%	45,8%	49,2%
Vorliegende Studie (n=405)	3,5%	26,2%	70,4%
rs17149799	CC	CT	TT
HapMap-CEU (n=226)	7,1%	37,2%	55,8%
HapMap-HBC (n=86)	2,3%	39,5%	58,1%
HapMap-JPT (n=172)	14,0%	47,7%	38,4%
HapMap-YRI (n=226)	0,9%	8,0%	91,2%
Vorliegende Studie (n=417)	4,6%	37,2%	58,3
rs7806558	CC	CT	TT
HapMap-CEU (n=226)	15,0%	48,7%	36,6%
HapMap-HBC (n=86)	2,3%	25,6%	72,1%
HapMap-JPT (n=170)	4,7%	18,8%	76,5
HapMap-YRI (n=226)	26,5%	54,8%	18,6%
Vorliegende Studie (n=423)	11,3%	45,2%	43,5%

In der Studie von Bolonna wurde der 2846-C/T Polymorphismus, der sich 29 Basenpaare hinter dem Stopkodon befindet, untersucht. Dabei zeigte die Allel- und Genotypverteilung zwischen Kontrollen und Patienten keine Signifikanz. Jedoch konnte eine verminderte Anzahl an Patienten gezeigt werden, welche homozygot für 2846-T sind (0,24 im Gegensatz zu 0,28). Trotz der Anwendung des T-dominanten und T-rezessiven Modells konnte keine signifikante Assoziation gezeigt werden ($\chi^2=0,07$, $df=1$, $p=0,79$; $\chi^2=0,66$, $p=0,42$, $OR=2,5$). Die Genotypfrequenzen der Patienten und Probanden waren im Hardy-Weinberg-Equilibrium enthalten. Es konnte keine signifikante Assoziation zwischen Allelen/Genotypen und dem Geschlecht in der Kontroll- und der Patientengruppe dargestellt werden. Mit dem Odds Ratio von 2,5 kann ein Haupteffekt des mGluR8-Polymorphismus als Suszeptibilitätsgen für Schizophrenie ausgeschlossen werden, geringe Geneffekte können damit jedoch nicht detektiert werden (Bolonna et al., 2001).

In der vorliegenden Studie konnte ebenfalls kein signifikanter Unterschied bezüglich der Allel- und Genotypverteilung zwischen Probanden und Patienten gezeigt werden.

Bei Betrachtung der drei genannten Studien fällt auf, dass in der Patientengruppe die Schizophrenie immer nach den Kriterien von DSMIII oder DSMIV diagnostiziert wurde. Da sich die diagnostischen Kriterien von DSMIII und DSMIV stark ähneln, können unterschiedliche Ergebnisse nicht dadurch erklärt werden. Jedoch ist bei den Studien nichts darüber bekannt, wie qualifiziert die Studiendurchführenden sind. Es ist ebenfalls nichts darüber bekannt, ob und falls ja wie stark sich eine fehlende Qualifikation auf die Studien auswirken würde.

Eine Besonderheit der Studie von Bolonna et al. 2004 ist, dass die Schizophrenie-Patienten nicht auf die übliche Therapie ansprechen. Während der Studiendurchführung wurden sie einer Clozapintherapie unterzogen.

Für diese Studien sind aber nicht nur die Auswahl der Patienten, sondern auch die der gesunden Kontrollprobanden von großer Bedeutung. Dabei ist es wichtig, dass Personen, bei denen selber oder im näheren Verwandtenkreis eine psychische Erkrankung vorliegt, als Kontrollprobanden ausgeschlossen werden. Bei diesen Personen könnten genetische Variationen des GRM8-Gens vorliegen, die für Schizophrenie risikosteigernd oder gar damit assoziiert sind.

Die Kontrollprobanden wurden in der vorliegenden Arbeit mit einem mehrstufigen Verfahren ausgewählt, um psychiatrische Achse I und II Störungen nach DSMIV- Kriterien auszuschließen. Dazu wurde ein strukturiertes klinisches Interview (SKID I und II) bei einem persönlichen Termin vorgenommen. Nur Personen, bei denen keine psychiatrische Erkrankung sowie eine negative psychiatrische Familienanamnese bis zum dritten Verwandtschaftsgrad vorlagen, wurden in die Studie aufgenommen.

In der Studie von Takaki et al. 2004 werden keinerlei Kriterien für den Einschluss in die Studie als Kontrollproband genannt. Deswegen kann man davon ausgehen, dass nichts über die psychische Vorgeschichte der Probanden und ihrer Verwandten bekannt ist, und dass auch kein psychiatrisches Screening durchgeführt wurde.

Bei der Studie von Bolonna et al. 2001 wird nur angegeben, dass die Kontrollprobanden an keinen psychischen Krankheiten leiden, jedoch sind die Einschlusskriterien für die Kontrollprobanden nicht näher beschrieben. Man weiß also nicht, welcher Untersuchung die Probanden unterzogen wurden um psychische Krankheiten auszuschließen, und wie genau die Untersuchung erfolgte. Außerdem kann man nicht davon ausgehen, dass die Probanden über eventuelle Verwandte mit Schizophrenie befragt wurden, und dass somit familiär auftretende Schizophrenie als Ausschlusskriterium gewählt wurde. Auch hier können verfälschte Ergebnisse vorliegen.

Daher können in den Studien von Bolonna et al. und Takaki et al. fälschlicherweise Suszeptibilitätsgene für Schizophrenie in den Kontrollgruppen vorliegen, da die Ausschlusskriterien weniger stringent waren, als in der vorliegenden Studie. In der vorliegenden Arbeit hingegen können Verfälschungen dieses Ursprungs aufgrund der strengen Einschlusskriterien ausgeschlossen werden.

Bei dem Vergleich der asiatischen mit den europäischen Studien lassen sich die geringen Unterschiede in den Ergebnissen wahrscheinlich auf die unterschiedliche Studiendurchführung zurückführen. Jedoch besteht auch die Möglichkeit, dass in verschiedenen Ethnizitäten unterschiedliche DNA-Varianten vorkommen. Letzteres würde auch die Theorie stützen, dass die Schizophrenie genetisch äußerst heterogen ist. Die Patientengruppen der dargelegten Fall-Kontroll-Assoziationsstudien wurden mit Hilfe einer breiten diagnostischen Klassifikation rekrutiert. Da die Schizophrenie jedoch in viele

Subtypen unterteilt werden kann, die wiederum unterschiedliche klinische Formen aufweisen, geht man auch von variierenden genetischen Risikofaktoren aus. Folglich wird die genetische Heterogenität als Hauptproblem angesehen, um Risikovarianten für Schizophrenie zu finden. Eine weitere Möglichkeit, genetische Risikovarianten zu identifizieren, besteht darin neurobiologische Korrelate der Erkrankung zu finden, was in der Endophänotypenstudie dieser Arbeit realisiert wurde.

6.2 Interpretation und Implikation der Endophänotypenstudie

Endophänotypen werden angewendet, um eine Verbindung zwischen dem klinischen Phänotyp und dem Genotyp der Schizophrenie herzustellen. Mit diesem Konzept der Endophänotypen wird versucht, Suszeptibilitätsgene zu finden.

Die kognitiven Domänen des Gehirns, wie beispielsweise das verbale Gedächtnis oder Exekutivfunktionen, sind bei Personen, die an Schizophrenie erkrankt sind, stark eingeschränkt und können sich im Verlauf der Krankheit noch verschlechtern (Sitskoorn et al., 2004). Personen mit einem geschädigten präfrontalen Kortex, der mit kognitiven Domänen in Verbindung gebracht wird, schneiden bei neuropsychologischen Tests, welche Exekutivfunktionen erfassen, schlechter ab als gesunde Kontrollen. Des Weiteren stellt sich die Frage, ob das GRM8-Gen bzw. der mGluR8 in irgendeiner Weise mit kognitiven Bereichen in Verbindung steht. Bei Versuchen mit Mäusen konnte gezeigt werden, dass das Fehlen von mGluR8 mitunter zu Einschränkungen des räumlichen Denkens und der Erinnerung, sowie von Teilbereichen der Kognition, führt (Duvoisin et al., 2010; Gerlai et al., 2002). Jedoch müssen diese Assoziationen noch beim Menschen verifiziert werden. In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob Assoziationen zwischen Varianten der Genotypen und Allelen der vier SNPs rs6976644, rs7797614, rs17149799 und rs7806558 des GRM8-Gens und gewissen Testvariablen des WCST, einem Test zur Untersuchung von Exekutivfunktionen, bestehen.

Der Polymorphismus rs6976644 zeigte einen nichtsignifikanten Trend im WCST hinsichtlich des prozentualen Anteils perseverativer Fehler (PPE). Dabei zeigten die homozygoten Genotypen CC und TT die schlechteren Ergebnisse im Gegensatz zum heterozygoten Genotyp. Bei den Allelen des rs6976644 konnte bei den PPEs weder eine signifikante

Assoziation noch ein Trend gefunden werden. Weder bei den Genotypen noch bei den Allelen der Polymorphismen rs7797614 und rs17149799 bezüglich der PPEs konnten Trends oder Assoziationen aufgeführt werden. Die homozygoten Genotypen CC und TT des Polymorphismus rs7806558 zeigten eine höhere Fehlerquote hinsichtlich dem prozentualen Anteil der perseverativen Fehler als die heterozygoten Träger. Die Allele hingegen zeigten keine Trends oder Assoziationen. Perseverative Fehler stellen einen Störungsindikator der wahrscheinlich frontal zugrunde gelegten Interferenzkontrolle dar (Waldorf, 2010b). Da die Interferenzkontrolle einen Teil exekutiver Funktionen darstellt, kann man aus den gezeigten Ergebnissen schlussfolgern, dass die Polymorphismen rs6976644 und rs7806558 Einfluss auf diese Funktionen haben.

Bei der zweiten Testvariablen des WCST, dem prozentualen Anteil nichtperseverativer Fehler (PNE), konnte keinem der vier Polymorphismen eine signifikante Assoziation zugeordnet werden. Für den Polymorphismus rs6976644 wurde jedoch ein nichtsignifikanter Trend gefunden. Dabei machten die Träger der homozygoten Genotypen CC und TT im Gegensatz zu den heterozygoten Trägern mehr nichtperseverative Fehler. Durch diesen Trend des Polymorphismus rs6976644 wird der Effekt auf exekutive Funktionen, der bereits oben erwähnt wurde, nochmals gezeigt und dadurch verstärkt.

Signifikante Assoziationen konnten bei der dritten und letzten Testvariablen, der Anzahl erfolgreich abgeschlossener Kategorien (NCC), detektiert werden. Sowohl beim Polymorphismus rs6976644 als auch beim Polymorphismus rs7806558 schlossen die heterozygoten Genotypen CT mehr Kategorien erfolgreich ab als die homozygoten Genotypen. Diese Ergebnisse bestätigen, dass die homozygoten Genotypen der Polymorphismen rs6976644 und rs7806558 einen negativen Effekt auf exekutive Funktionen haben, während die heterozygoten Genotypen einen positiven Effekt haben.

Bei Betrachtung der gegenwärtigen Literatur lassen sich nur folgende wenige Veröffentlichungen zum GRM8-Gen in Verbindung mit kognitiven Domänen finden: Duvoisin et al., 2010, Gerlai et al., 2002, sowie Rangaswamy & Porjesz, 2008. Jedoch nutzt keine dieser drei Veröffentlichungen den WCST um die kognitiven Fähigkeiten der Studienteilnehmer zu messen. In den Studien von Gerlai et al. 2002 und Duvoisin et al. 2010 werden Wildtypmäuse mit Knockout-Mäusen verglichen und unter anderem dem Morris-Wasserlabyrinth-Test (MWM) unterzogen, um kognitive Domänen zu testen. Bei der Studie

von Gerlai et al. 2002 wird außerdem der *Cue Dependent fear Conditioning* Test (CFC) zur Überprüfung der Kognition herangezogen. Rangashwamy et al. 2008 untersuchten Gehirnoszillationen, welche mit Kognitionen assoziiert sind. Gerlai et al. 2002 konnten mit dem Morris-Wasserlabyrinth-Test zeigen, dass die Mäuse mit der Nullmutation des mGluR8-Rezeptor-Gens schlechter abschneiden, als die Wildtypmäuse; jedoch ist dieser Test schwer zu beurteilen, da die Mäuse mit Nullmutation aufgrund einer Sehstörung, welche einen Nebeneffekt dieser Mutation darstellt, benachteiligt sind oder sogar nicht in der Lage sind den Test korrekt durchzuführen. Schwache kognitive Einbußen der Mäuse mit Nullmutation konnten ebenfalls mit dem CFC gezeigt werden, welche nicht durch die Sehschwäche beeinträchtigt wurden. In der Studie von Duvoisin et al. 2010 wurden mittels MWM und einem Test zur Ortswiedererkennung, kognitive Eigenschaften untersucht. Dabei wurden Mäuse mit einer Nullmutation des mGluR8-Gens mit den Kontrollmäusen verglichen, und zusätzlich das Geschlecht der Mäuse berücksichtigt. Als zusammenfassendes Ergebnis konnte dabei nicht nur gezeigt werden, dass durch das Fehlen von mGluR8 kognitive Defizite entstehen, sondern auch, dass diese bei weiblichen Mäusen stärker ausgeprägt sind. Bei allen genannten Studien konnte demnach eine Assoziation des mGluR8-Rezeptorgens mit Kognition gezeigt werden, auch wenn die Assoziation teilweise nur gering ausfiel.

Inwieweit es möglich ist, diese Studien mit der vorliegenden Arbeit zu vergleichen, ist schwer zu beurteilen. Erstens handelt es sich bei den Studien von Gerlai et al. 2002 und Duvoisin et al. 2010 um Versuche an Mäusen, bei der vorliegenden Arbeit hingegen um eine Studie mit Menschen, wodurch die Ergebnisse nicht einfach übernommen werden können. In allen drei Studien wurden kognitive Einbußen gezeigt, welche mit dem mGluR8-Gens assoziiert sind, gezeigt, somit bestätigen sie sich gegenseitig. In der Studie von Gerlai et al. 2002 waren diese Defizite jedoch nur gering ausgeprägt. Eine Assoziation mit kognitiven Domänen konnte in der vorliegenden Studie nur bei gewissen Testvariablen und auch dabei nur bei den Genotypen bei zwei von vier Polymorphismen des GRM8-Gens festgestellt werden. Davon waren nur drei signifikante Assoziationen gegeben und zwei nichtsignifikante Trends. Interessant wäre es, wenn man die Studie von Duvoisin et al 2010 mit einer Studie mit Menschen vergleichen würde, in der ebenfalls nicht nur der Zusammenhang zwischen Kognition und dem GRM8-Gen betrachtet wird, sondern auch, inwieweit dabei ein Unterschied zwischen den Geschlechtern besteht.

Zweitens stellt sich beim Vergleich der Studien die Frage, ob man kognitive Leistungen miteinander vergleichen kann, obwohl unterschiedliche Testmethoden zum Einsatz kamen. Ferner wurden in der vorliegenden Arbeit Exekutivfunktionen betrachtet, welche einen Oberbegriff für kognitive Funktionen darstellen oder gar als höhere kognitive Leistungen definiert sind, wohingegen in anderen Studien kognitive Bereiche erfasst wurden. Wahrscheinlich wäre es also nötig, weitere kognitive Untersuchungen zum GRM8-Gen durchzuführen, um Exekutivfunktionen erfassen und somit mit der vorliegenden Studie vergleichen zu können. Von Vorteil wäre es sicherlich auch, wenn man die Exekutivfunktionen unterteilt und einzeln testet, um zu sehen, bei welchen kognitiven Domänen Einbußen im Zusammenhang mit dem GRM8-Gen bestehen.

Zu den Polymorphismen rs6976644, rs7797614, rs17149799 und rs7806558 des GRM8-Gens, die in der vorliegenden Studie im Zusammenhang mit Exekutivfunktionen erfasst werden, liegen keine weiteren veröffentlichten Studien vor. Um die Ergebnisse dieser Arbeit ausreichend zu untermauern wären jedoch weitere Studien nötig, die die gleichen Polymorphismen betrachten. Eventuell wäre es auch von Vorteil, andere Testmethoden anzuwenden, welche kognitive Domänen erfassen, um die vorliegenden Ergebnisse zu bestätigen oder abzuschwächen.

Bei Betrachtung des Studiendesigns der vorliegenden Arbeit und des Reviews von Rangashwamy et al. 2008 zeigten sich die Schwierigkeiten des Vergleichs. Das Review fasste mehrere Studien zusammen, wohingegen die vorliegende Arbeit nur eine Studie umfasst und dadurch starke Unterschiede bei den Teilnehmerzahlen vorhanden sind. Jedoch wurden darin nur Studien mit Teilnehmern kaukasischer Abstammung zusammengefasst, was der vorliegenden Studie sehr nahe kommt. Diese Studie setzt sich nämlich aus einer Gruppe mit 293 Probanden, welche ausschließlich deutschstämmig und nicht verwandt sind, sowie aus einer Gruppe mit 125 an Schizophrenie erkrankten Patienten kaukasischen Ursprungs zusammen.

Da in dieser Studie die genetischen Effekte von DNA-Varianten im GRM8-Gen bezüglich exekutiver Funktionen betrachtet wurden, kommt des Weiteren die Frage auf, inwieweit die vier Polymorphismen die Rezeptorfunktion beeinflussen und wie genau diese Effekte übermittelt werden. Dazu gibt es jedoch noch keine vorliegenden Studien um Genaueres auszumachen.

Zusammenfassend kann man sagen, dass eine Assoziation zwischen kognitiven Domänen und dem GRM8-Gen besteht, jedoch konnte in der vorliegenden Stichprobe bisher noch keine Assoziation zwischen dem Gen und der Schizophrenie gefunden werden.

6.3 Ausblick

Um genetische Risikofaktoren der Schizophrenie ausfindig zu machen, wurden verschiedene Methoden auf molekularbiologischer Ebene durchgeführt. Dazu wurden einerseits Kopplungsstudien und andererseits Fall-Kontroll-Assoziationsstudien angewendet. Diese Studien ermöglichten, dank technischer Fortschritte, die Durchführung eines genomweiten Screenings. Jedoch konnten damit bis heute noch keine einheitlichen und eindeutig replizierten positiven Befunde aufgezeigt werden. Das gilt auch für die in dieser Arbeit angewandten Polymorphismen rs6976644, rs7797614, rs17149799 und rs7806558 des GRM8-Gens, bei denen in einem deutschen Kollektiv keine Assoziation mit der Diagnose Schizophrenie eruiert werden konnte.

Es ist nachgewiesen, dass die Entstehung von Schizophrenie mitunter genetisch bedingt ist; die genetische Komponente scheint dabei eine relativ große Rolle zu spielen. Inwieweit Risikogene funktionelle Auswirkungen sowie Auswirkungen auf die Pathophysiologie haben, und in welchen Zusammenhängen diese stehen, muss noch geklärt werden. Derartige Zusammenhänge sollen mit Hilfe von molekularbiologischen Forschungen ermittelt werden, um die Möglichkeit einer kausalen Therapie, oder zumindest eine Grundlage dafür, zu schaffen.

Dafür ist es nötig Risikogene ausfindig zu machen. Eine Herausforderung besteht in der genetischen Heterogenität der Krankheit Schizophrenie. Um diese Problematik zu umgehen, besteht die Möglichkeit, in Assoziationsstudien den Krankheitsphänotyp durch einen Endophänotyp zu ersetzen, der genetisch weniger komplex zu sein scheint. Das soll dazu führen, dass Risikovarianten des Krankheitsphänotyps zur gleichen Zeit Krankheitsmarker darstellen.

Bislang gibt es noch wenige veröffentlichte Studien, die diesen Ansatz nutzen. Die vorliegende Studie konnte jedoch damit eine Assoziation zwischen den zwei DNA-Varianten rs6976644 und rs7806558 und exekutiven Funktionen mit dem WCST als Testmethode

aufzeigen. Allerdings ist eine Replikation mit Teilnehmern kaukasischer Ethnizität notwendig, um die Assoziation zu bestätigen und somit eventuelle falsch-positive Befunde auszuschließen. Außerdem wäre es von Vorteil, weitere Untersuchungen mit anderen SNPs des GRM8-Gens einerseits auf Assoziationen mit der Schizophrenie, andererseits mit exekutiven Funktionen durchzuführen. Des Weiteren wäre es sinnvoll, Analysen, welche allel- und genotypabhängig sind, an zusätzlichen neurokognitiven und neurophysiologischen Endophänotypen auszuführen.

Wurde ein Risikogen identifiziert, ist es ferner von Wichtigkeit, mehr über die funktionellen Auswirkungen herauszufinden. Darüber gibt es hinsichtlich des GRM8-Gens noch keinerlei Erkenntnisse. In weiteren Studien sollte untersucht werden, wie SNPs im Gen auf epigenetische Mechanismen und die Signaltransduktion wirken, um eventuelle kausale Faktoren zu finden.

Das Ziel in der Identifizierung der Risikovarianten, ihrer funktionellen Auswirkungen sowie der Pathophysiologie liegt darin, Personen mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko zu erfassen und Methoden zu entwickeln, die den Krankheitsausbruch verzögern oder gar verhindern. Mit einer spezifischen Pharmakotherapie könnte dann möglicherweise auf die individuellen Risikovarianten eingegangen werden.

7 Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Erläuterung
A	Adenin
Abb.	Abbildung
AKT 1	V-AKT murine thymoma viral oncogene homolog 1
ATP	Adenosintriphosphat
Bp	Basenpaar
C	Cytosin
Ca ²⁺	Kalzium-Ion
CCDC60	Coiled-coil domain containing 60
COMT	Catechol-O-methyltransferase
CSF2RA	Colony stimulating factor 2 receptor, alpha, low-affinity (granulocyte-macrophage)
DAAO	D-amino acid oxidase
DISC 1	Disrupted in schizophrenia 1
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxynukleotidtriphosphat
DRD 3	Dopamin receptor 3
DSMIV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders IV
DTNBP 1	Dystrobrevin binding protein 1
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EEG	Elektroenzephalografie
Fa.	Firma
Fig.	Figur/Abbildung
G	Guanin
GABA	γ-Aminobuttersäure
gDNA	Genomische Desoxyribonukleinsäure
GDP	Guanosindiphosphat

GTP	Guanosintriphosphat
GWAS	Genomweite Assoziationsstudien
HAWIE-R	Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, revidierte Version
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
ICD 10	International Statistical Classification of Diseases, Version 10
IP ₃	Inositol-(1,4,5)-trisphosphat
ISC	International Schizophrenia Consortium
LSD	Lysergsäurediethylamid
MALDI-TOF MS	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight Massenspektrometer
MANOVA	Multivariate Analyse der Varianz
Met	Methionin
Mg	Milligramm
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
mGluR	metabotroper Glutamatrezeptor
MGS	Molecular Genetics of Schizophrenia Consortium
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex
min	Minute
ml	Milliliter
mM	Millimol pro Liter
mRNA	Messenger-Ribonukleinsäure
MRZ	Mittlere Reaktionszeit
N	Anzahl
NCC	Number of categories completed
ng	Nanogramm
Nm	Nanometer
nM	Nanomol pro Liter
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
No.	Nummer
NRG1	Neuregulin 1
NRGN	Neurogranin

PANSS	Positive and negative syndrome scale
PCR	Polymerasekettenreaktion
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
pH	Negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration
PI	Phosphatidylinositol
PIP ₂	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat
PLC	Phospholipase C
PNE	Percent nonperseverative errors
PPE	Percent perseverative errors
PRODH	Prolin dehydrogenase 1
Rez.	Rezeptor
RGS4	Regulator of G-Protein signaling 4
RNA	Ribonukleinsäure
rpm	Umdrehungen pro Minute
s	Sekunde
SAP	Shrimp Alkaline Phosphatase
SKID I	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV, Achse I Störungen
SKID II	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV, Achse II Störungen
SNP	Einzelnukleotidpolimorphismus
T	Thymin
Tab.	Tabelle
TCF4	Transkriptionsfaktor 4
TE	Tris-EDTA-Puffer
Thr	Threonin
TRIS	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
Tyr	Tyrosin
U	Unit
WCST	Wisconsin Card Sorting Test
WHO	Weltgesundheitsorganisation
ZNF 804A	Zinc finger protein 804A
ZNS	Zentrales Nervensystem

μl	Mikroliter
μs	Mikrosekunde
5-HT	5-Hydroxytryptamin
°C	Grad Celsius

8 Literaturverzeichnis

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

Abi-Saab, W.M., D'Souza, D.C., Moghaddam, B., and Krystal, J.H. (1998). The NMDA antagonist model for schizophrenia: promise and pitfalls. *Pharmacopsychiatry* *31 Suppl 2*, 104–109.

Adams, B., and Moghaddam, B. (1998). Corticolimbic Dopamine Neurotransmission Is Temporally Dissociated from the Cognitive and Locomotor Effects of Phencyclidine. *J. Neurosci.* *18*, 5545–5554.

Adams, B., Fitch, T., Chaney, S., and Gerlai, R. (2002). Altered performance characteristics in cognitive tasks: comparison of the albino ICR and CD1 mouse strains. *Behav. Brain Res.* *133*, 351–361.

Addington, J., and Addington, D. (2008). Symptom remission in first episode patients. *Schizophr. Res.* *106*, 281–285.

Aiba, A., Kano, M., Chen, C., Stanton, M.E., Fox, G.D., Herrup, K., Zwingman, T.A., and Tonegawa, S. (1994). Deficient cerebellar long-term depression and impaired motor learning in mGluR1 mutant mice. *Cell* *79*, 377–388.

Alkelai, A., Lupoli, S., Greenbaum, L., Kohn, Y., Kanyas-Sarner, K., Ben-Asher, E., Lancet, D., Macciardi, F., and Lerer, B. (2012). DOCK4 and CEACAM21 as novel schizophrenia candidate genes in the Jewish population. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* *15*, 459–469.

Alvarez, J.A., and Emory, E. (2006). Executive function and the frontal lobes: a meta-analytic review. *Neuropsychol. Rev.* *16*, 17–42.

Arseneault, L., Cannon, M., Poulton, R., Murray, R., Caspi, A., and Moffitt, T.E. (2002). Cannabis use in adolescence and risk for adult psychosis: longitudinal prospective study. *BMJ* *325*, 1212–1213.

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

Asleh, R., and Levy, A.P. (2005). In vivo and in vitro studies establishing haptoglobin as a major susceptibility gene for diabetic vascular disease. *Vasc. Health Risk Manag.* *1*, 19–28.

Baddeley, A. (1996). Exploring the Central Executive. *Q. J. Exp. Psychol. Sect. A* *49*, 5–28.

- Badner, J.A., and Gershon, E.S. (2002). Meta-analysis of whole-genome linkage scans of bipolar disorder and schizophrenia. *Mol. Psychiatry* 7, 405–411.
- Bailer, U., Aschauer, H., and Kasper (2002). Genetik der Schizophrenie. *J. Für Neurol. Neurochir. Und Psychiatr.* 3, 25–31.
- Banno, M., Koide, T., Aleksic, B., Okada, T., Kikuchi, T., Kohmura, K., Adachi, Y., Kawano, N., Iidaka, T., and Ozaki, N. (2012). Wisconsin Card Sorting Test scores and clinical and sociodemographic correlates in Schizophrenia: multiple logistic regression analysis. *BMJ Open* 2.
- Barceló, F., and Knight, R.T. (2002). Both random and perseverative errors underlie WCST deficits in prefrontal patients. *Neuropsychologia* 40, 349–356.
- Barch, D.M., and Ceaser, A. (2012). Cognition in schizophrenia: core psychological and neural mechanisms. *Trends Cogn. Sci.* 16, 27–34.
- Basar, E. (1980). *EEG-Brain Dynamics: Relation Between EEG and Brain Evoked Potentials* (Amsterdam: Elsevier Science Ltd).
- Basar, E. (1998). *Brain Function and Oscillations. Vol. II: Integrative brain function, neurophysiology and cognitive processes* (Berlin: Springer).
- Başar-Eroglu, C., and Başar, E. (1991). A compound P300-40 Hz response of the cat hippocampus. *Int. J. Neurosci.* 60, 227–237.
- Başar-Eroglu, C., Demiralp, T., Schürmann, M., and Başar, E. (2001). Topological distribution of oddball “P300” responses. *Int. J. Psychophysiol.* 39, 213–220.
- Battle, Y.L., Martin, B.C., Dorfman, J.H., and Miller, L.S. (1999). Seasonality and infectious disease in schizophrenia: the birth hypothesis revisited. *J. Psychiatr. Res.* 33, 501–509.
- Benice, T.S., and Raber, J. (2009). Testosterone and dihydrotestosterone differentially improve cognition in aged female mice. *Learn. Mem.* 16, 479–485.
- Berman, K.F., Ostrem, J.L., Randolph, C., Gold, J., Goldberg, T.E., Coppola, R., Carson, R.E., Herscovitch, P., and Weinberger, D.R. (1995). Physiological activation of a cortical network during performance of the Wisconsin Card Sorting Test: a positron emission tomography study. *Neuropsychologia* 33, 1027–1046.
- Bhave, G., Karim, F., Carlton, S.M., and Gereau, R.W. (2001). Peripheral group I metabotropic glutamate receptors modulate nociception in mice. *Nat. Neurosci.* 4, 417–423.
- Bleuler, E. (1911). *Dementia praecox, oder Gruppe der Schizophrenien.* (Leipzig: Deuticke).
- Bodén, R., Sundström, J., Lindström, E., and Lindström, L. (2009). Association between symptomatic remission and functional outcome in first-episode schizophrenia. *Schizophr. Res.* 107, 232–237.

Bolonna, A.A., Kerwin, R.W., Munro, J., Arranz, M.J., and Makoff, A.J. (2001). Polymorphisms in the genes for mGluR types 7 and 8: association studies with schizophrenia. *Schizophr. Res.* 47, 99–103.

Bosch, R. Van Den (1992). WHAT DETERMINES WISCONSIN CARD SORTING PERFORMANCE IN SCHIZOPHRENIA ? *Clin. Psychol. Rev.* 12, 567–583.

Boter, H., Peuskens, J., Libiger, J., Fleischhacker, W.W., Davidson, M., Galderisi, S., and Kahn, R.S. (2009). Effectiveness of antipsychotics in first-episode schizophrenia and schizophreniform disorder on response and remission: an open randomized clinical trial (EUFEST). *Schizophr. Res.* 115, 97–103.

Boydell, J. (2003). Incidence of schizophrenia in south-east London between 1965 and 1997. *Br. J. Psychiatry* 182, 45–49.

Bradbury, T.N., and Miller, G.A. (1985). Season of birth in schizophrenia: a review of evidence, methodology, and etiology. *Psychol. Bull.* 98, 569–594.

Braff, D.L., Freedman, R., Schork, N.J., and Gottesman, I.I. (2007). Deconstructing schizophrenia: an overview of the use of endophenotypes in order to understand a complex disorder. *Schizophr. Bull.* 33, 21–32.

Braff, D.L., Greenwood, T.A., Swerdlow, N.R., Light, G.A., and Schork, N.J. (2008). Advances in endophenotyping schizophrenia. *World Psychiatry* 7, 11–18.

Brown, A.S., Cohen, P., Harkavy-Friedman, J., Babulas, V., Malaspina, D., Gorman, J.M., and Susser, E.S. (2001). A.E. Bennett Research Award. Prenatal rubella, premorbid abnormalities, and adult schizophrenia. *Biol. Psychiatry* 49, 473–486.

Brown, A.S., Schaefer, C.A., Quesenberry, C.P., Liu, L., Babulas, V.P., and Susser, E.S. (2005). Maternal exposure to toxoplasmosis and risk of schizophrenia in adult offspring. *Am. J. Psychiatry* 162, 767–773.

Brzustowicz, L.M., Hodgkinson, K.A., Chow, E.W., Honer, W.G., and Bassett, A.S. (2000). Location of a major susceptibility locus for familial schizophrenia on chromosome 1q21-q22. *Science* 288, 678–682.

Burns, J.K. (2013). Pathways from Cannabis to Psychosis: A Review of the Evidence. *Front. Psychiatry* 4, 128.

Byrne, E.M., Raheja, U.K., Stephens, S.H., Heath, A.C., Madden, P.A.F., Vaswani, D., Nijjar, G. V, Ryan, K.A., Youssufi, H., Gehrman, P.R., et al. (2014). Seasonality shows evidence for polygenic architecture and genetic correlation with schizophrenia and bipolar disorder. *J. Clin. Psychiatry*.

Byrne, M., Agerbo, E., Ewald, H., Eaton, W.W., and Mortensen, P.B. (2003). Parental age and risk of schizophrenia: a case-control study. *Arch. Gen. Psychiatry* 60, 673–678.

- Cannon, T.D., van Erp, T.G., Huttunen, M., Lönqvist, J., Salonen, O., Valanne, L., Poutanen, V.P., Standertskjöld-Nordenstam, C.G., Gur, R.E., and Yan, M. (1998). Regional gray matter, white matter, and cerebrospinal fluid distributions in schizophrenic patients, their siblings, and controls. *Arch. Gen. Psychiatry* 55, 1084–1091.
- Cantor-Graae, E., and Selten, J.-P. (2005). Schizophrenia and migration: a meta-analysis and review. *Am. J. Psychiatry* 162, 12–24.
- Cardno, A.G., and Gottesman, I.I. (2000). Twin studies of schizophrenia: from bow-and-arrow concordances to star wars Mx and functional genomics. *Am. J. Med. Genet.* 97, 12–17.
- Carlsson, A. (1977). Does dopamine play a role in schizophrenia? *Psychol. Med.* 7, 583–597.
- Carlsson, A., and Carlsson, M.L. (2006). A dopaminergic deficit hypothesis of schizophrenia: the path to discovery. *Dialogues Clin. Neurosci.* 8, 137–142.
- Carlsson, A., Waters, N., and Carlsson, M.L. (1999). Neurotransmitter interactions in schizophrenia-therapeutic implications. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 249 Suppl , 37–43.
- Cassidy, C.M., Norman, R., Manchanda, R., Schmitz, N., and Malla, A. (2010). Testing definitions of symptom remission in first-episode psychosis for prediction of functional outcome at 2 years. *Schizophr. Bull.* 36, 1001–1008.
- Cesková, E., Radovan, P., Tomáš, K., and Hana, K. (2007). One-year follow-up of patients with first-episode schizophrenia (comparison between remitters and non-remitters). *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 3, 153–160.
- Chabungbam, G., Avasthi, A., and Sharan, P. (2007). Sociodemographic and clinical factors associated with relapse in schizophrenia. *Psychiatry Clin. Neurosci.* 61, 587–593.
- Chan, R.C.K., and Gottesman, I.I. (2008). Neurological soft signs as candidate endophenotypes for schizophrenia: a shooting star or a Northern star? *Neurosci. Biobehav. Rev.* 32, 957–971.
- Chang, W.C., Chan, T.C.W., Chen, E.S.M., Hui, C.L.M., Wong, G.H.Y., Chan, S.K.W., Lee, E.H.M., and Chen, E.Y.H. (2013). The concurrent and predictive validity of symptomatic remission criteria in first-episode schizophrenia. *Schizophr. Res.* 143, 107–115.
- Chen, E.Y., Kwok, C.L., Au, J.W., Chen, R.Y., and Lau, B.S. (2000). Progressive deterioration of soft neurological signs in chronic schizophrenic patients. *Acta Psychiatr. Scand.* 102, 342–349.
- Cheng, C., Loh, E.-W., Lin, C.-H., Chan, C.-H., and Lan, T.-H. (2013). Birth seasonality in schizophrenia: effects of gender and income status. *Psychiatry Clin. Neurosci.* 67, 426–433.

- Cherlyn, S.Y.T., Woon, P.S., Liu, J.J., Ong, W.Y., Tsai, G.C., and Sim, K. (2010). Genetic association studies of glutamate, GABA and related genes in schizophrenia and bipolar disorder: a decade of advance. *Neurosci. Biobehav. Rev.* *34*, 958–977.
- Chiamulera, C., Epping-Jordan, M.P., Zocchi, A., Marcon, C., Cottiny, C., Tacconi, S., Corsi, M., Orzi, F., and Conquet, F. (2001). Reinforcing and locomotor stimulant effects of cocaine are absent in mGluR5 null mutant mice. *Nat. Neurosci.* *4*, 873–874.
- Chubb, J.E., Bradshaw, N.J., Soares, D.C., Porteous, D.J., and Millar, J.K. (2008). The DISC locus in psychiatric illness. *Mol. Psychiatry* *13*, 36–64.
- Cichon, S., Freudenberg, J., Propping, P., and Nöthen, M. (2002). *variabilität im menschlichen genom.pdf*.
- Clarke, M., Whitty, P., Browne, S., McTigue, O., Kamali, M., Gervin, M., Kinsella, A., Waddington, J.L., Larkin, C., and O'Callaghan, E. (2006). Untreated illness and outcome of psychosis. *Br. J. Psychiatry* *189*, 235–240.
- Cohen, A.S., Alpert, M., Nienow, T.M., Dinzeo, T.J., and Docherty, N.M. (2008). Computerized measurement of negative symptoms in schizophrenia. *J. Psychiatr. Res.* *42*, 827–836.
- Conquet, F., Bashir, Z.I., Davies, C.H., Daniel, H., Ferraguti, F., Bordi, F., Franz-Bacon, K., Reggiani, A., Matarese, V., and Condé, F. (1994). Motor deficit and impairment of synaptic plasticity in mice lacking mGluR1. *Nature* *372*, 237–243.
- Cornblatt, B., Obuchowski, M., Roberts, S., Pollack, S., and Erlenmeyer-Kimling, L. (1999). Cognitive and behavioral precursors of schizophrenia. *Dev. Psychopathol.* *11*, 487–508.
- Craddock, N., O'Donovan, M.C., and Owen, M.J. (2007). Phenotypic and genetic complexity of psychosis. Invited commentary on ... Schizophrenia: a common disease caused by multiple rare alleles. *Br. J. Psychiatry* *190*, 200–203.
- Crespo-Facorro, B., Pérez-Iglesias, R., Mata, I., Caseiro, O., Martínez-García, O., Pardo, G., Ramirez-Bonilla, M., Pelayo-Terán, J.M., and Vázquez-Barquero, J.L. (2011). Relapse prevention and remission attainment in first-episode non-affective psychosis. A randomized, controlled 1-year follow-up comparison of haloperidol, risperidone and olanzapine. *J. Psychiatr. Res.* *45*, 763–769.
- Crumlish, N., Whitty, P., Clarke, M., Browne, S., Kamali, M., Gervin, M., McTigue, O., Kinsella, A., Waddington, J.L., Larkin, C., et al. (2009). Beyond the critical period: longitudinal study of 8-year outcome in first-episode non-affective psychosis. *Br. J. Psychiatry* *194*, 18–24.
- Cummings, J.L. (1993). Frontal-subcortical circuits and human behavior. *Arch. Neurol.* *50*, 873–880.
- Daniel, D.G., Goldberg, T.E., Gibbons, R.D., and Weinberger, D.R. (1991). Lack of a bimodal distribution of ventricular size in schizophrenia: a Gaussian mixture analysis of 1056 cases and controls. *Biol. Psychiatry* *30*, 887–903.

- Davies, G., Welham, J., Chant, D., Torrey, E.F., and McGrath, J. (2003). A systematic review and meta-analysis of Northern Hemisphere season of birth studies in schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 29, 587–593.
- DeLisi, L. (2000). Critical overview of current approaches to genetic mechanisms in schizophrenia research. *Brain Res. Rev.* 31, 187–192.
- DeLisi, L.E. (2008). The concept of progressive brain change in schizophrenia: implications for understanding schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 34, 312–321.
- DeLisi, L.E., Shaw, S.H., Crow, T.J., Shields, G., Smith, A.B., Larach, V.W., Wellman, N., Loftus, J., Nanthakumar, B., Razi, K., et al. (2002). A genome-wide scan for linkage to chromosomal regions in 382 sibling pairs with schizophrenia or schizoaffective disorder. *Am. J. Psychiatry* 159, 803–812.
- DeLisi, L.E., Szulc, K.U., Bertisch, H., Majcher, M., Brown, K., Bappal, A., Branch, C.A., and Ardekani, B.A. (2006). Early detection of schizophrenia by diffusion weighted imaging. *Psychiatry Res.* 148, 61–66.
- Demiralp, T., Ademoglu, A., Istefanopulos, Y., Başar-Eroglu, C., and Başar, E. (2001). Wavelet analysis of oddball P300. *Int. J. Psychophysiol.* 39, 221–227.
- Dieci, M., Vita, A., Silenzi, C., Caputo, A., Comazzi, M., Ferrari, L., Ghiringhelli, L., Mezzetti, M., Tenconi, F., and Invernizzi, G. (1997). Non-selective impairment of Wisconsin Card Sorting Test performance in patients with schizophrenia. *Schizophr. Res.* 25, 33–42.
- Docherty, N.M. (1996). Affective reactivity of symptoms as a process discriminator in schizophrenia. *J. Nerv. Ment. Dis.* 184, 535–541.
- Docherty, N.M., St-Hilaire, A., Aakre, J.M., and Seghers, J.P. (2009). Life events and high-trait reactivity together predict psychotic symptom increases in schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 35, 638–645.
- Domino, E.F., and Luby, E.. (1981). Abnormal mental states induced by phencyclidine as a model of schizophrenia. In: Domino, E.F. (Ed.), *PCP (Phencyclidine): Historical and Current Perspectives*.
- Donohoe, G., Corvin, A., and Robertson, I.H. (2006). Evidence that specific executive functions predict symptom variance among schizophrenia patients with a predominantly negative symptom profile. *Cogn. Neuropsychiatry* 11, 13–32.
- Duan, J., Martinez, M., Sanders, A.R., Hou, C., Burrell, G.J., Krasner, A.J., Schwartz, D.B., and Gejman, P. V (2007). DTNBP1 (Dystrobrevin binding protein 1) and schizophrenia: association evidence in the 3' end of the gene. *Hum. Hered.* 64, 97–106.
- Duan, J., Sanders, A.R., and Gejman, P. V (2010). Genome-wide approaches to schizophrenia. *Brain Res. Bull.* 83, 93–102.

- Duke, L.M., and Kaszniak, A.W. (2000). Executive control functions in degenerative dementias: a comparative review. *Neuropsychol. Rev.* *10*, 75–99.
- Duvoisin, R.M., Villasana, L., Pfankuch, T., and Raber, J. (2010). Sex-dependent cognitive phenotype of mice lacking mGluR8. *Behav. Brain Res.* *209*, 21–26.
- Eastwood, S.L., McDonald, B., Burnet, P.W., Beckwith, J.P., Kerwin, R.W., and Harrison, P.J. (1995). Decreased expression of mRNAs encoding non-NMDA glutamate receptors GluR1 and GluR2 in medial temporal lobe neurons in schizophrenia. *Brain Res. Mol. Brain Res.* *29*, 211–223.
- Elliott, R. (2003). Executive functions and their disorders. *Br. Med. Bull.* *65*, 49–59.
- EMBL-EBI (2013). Ensembl.
- Emsley, R., Oosthuizen, P.P., Kidd, M., Koen, L., Niehaus, D.J.H., and Turner, H.J. (2006). Remission in first-episode psychosis: predictor variables and symptom improvement patterns. *J. Clin. Psychiatry* *67*, 1707–1712.
- Emsley, R., Rabinowitz, J., and Medori, R. (2007). Remission in early psychosis: Rates, predictors, and clinical and functional outcome correlates. *Schizophr. Res.* *89*, 129–139.
- Erritzoe, D., Talbot, P., Frankle, W.G., and Abi-Dargham, A. (2003). Positron emission tomography and single photon emission CT molecular imaging in schizophrenia. *Neuroimaging Clin. N. Am.* *13*, 817–832.
- Everett, J., Lavoie, K., Gagnon, J.F., and Gosselin, N. (2001). Performance of patients with schizophrenia on the Wisconsin Card Sorting Test (WCST). *J. Psychiatry Neurosci.* *26*, 123–130.
- Exner, J. (2003). *The Rorschach comprehensive system - basic foundations and principles of interpretation*. 4. John Wiley & Sons; Hoboken, NJ: 2003.
- Fanous, A.H., and Kendler, K.S. (2005). Genetic heterogeneity, modifier genes, and quantitative phenotypes in psychiatric illness: searching for a framework. *Mol. Psychiatry* *10*, 6–13.
- Fenton, W.S., and McGlashan, T.H. (1994). Antecedents, symptom progression, and long-term outcome of the deficit syndrome in schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* *151*, 351–356.
- Fey, E.T. (1951). The performance of young schizophrenics and young normals on the Wisconsin Card Sorting Test. *J. Consult. Psychol.* *15*, 311–319.
- Francesconi, A., and Duvoisin, R.M. (2004). Divalent cations modulate the activity of metabotropic glutamate receptors. *J. Neurosci. Res.* *75*, 472–479.
- Franke, P., Maier, W., Hain, C., and Klingler, T. (1992). Wisconsin Card Sorting Test: an indicator of vulnerability to schizophrenia? *Schizophr. Res.* *6*, 243–249.

- Frodl-Bauch, T., Bottlender, R., and Hegerl, U. (1999). Neurochemical substrates and neuroanatomical generators of the event-related P300. *Neuropsychobiology* 40, 86–94.
- Fuster, J.M. (2002). Frontal lobe and cognitive development. *J. Neurocytol.* 31, 373–385.
- Gallinat, J., Gudlowski, Y., and Mitte, C. (2008). Die Glutamathypothese der Schizophrenie. *Nervenheilkunde* 317–325.
- Galvez, T., Urwyler, S., Prézeau, L., Mosbacher, J., Joly, C., Malitschek, B., Heid, J., Brabet, I., Froestl, W., Bettler, B., et al. (2000). Ca²⁺ requirement for high-affinity gamma-aminobutyric acid (GABA) binding at GABA(B) receptors: involvement of serine 269 of the GABA(B)R1 subunit. *Mol. Pharmacol.* 57, 419–426.
- Gasparini, C.F., and Griffiths, L.R. (2013). The biology of the glutamatergic system and potential role in migraine. *Int. J. Biomed. Sci.* 9, 1–8.
- Gee, C.E., and Lacaille, J.-C. (2004). Group I metabotropic glutamate receptor actions in oriens/alveus interneurons of rat hippocampal CA1 region. *Brain Res.* 1000, 92–101.
- Gerber, U., Gee, C.E., and Benquet, P. (2007). Metabotropic glutamate receptors: intracellular signaling pathways. *Curr. Opin. Pharmacol.* 7, 56–61.
- Gerlai, R. (1996). Gene-targeting studies of mammalian behavior: is it the mutation or the background genotype? *Trends Neurosci.* 19, 177–181.
- Gerlai, R., Adams, B., Fitch, T., Chaney, S., and Baez, M. (2002). Performance deficits of mGluR8 knockout mice in learning tasks: the effects of null mutation and the background genotype. *Neuropharmacology* 43, 235–249.
- Gladding, C.M., Fitzjohn, S.M., and Molnár, E. (2009). Metabotropic glutamate receptor-mediated long-term depression: molecular mechanisms. *Pharmacol. Rev.* 61, 395–412.
- Gnys, J., and Willis, W.G. (1991). Validation of executive function task with young children. *Dev Neuropsychol.* 7, 487–501.
- Goschke, T. (2002). Volition und kognitive Kontrolle. Müsseler J, Prinz W Allg. Psychol. 270–3535.
- Gottesman (1991). The origins of madness. In *Schizophrenia Genesis* (New York).
- Gottesman, I., and Shields, J. (1983). *Schizophrenia: The Epigenetic Puzzle*. Cambridge Univ. Press 1983 13, 690.
- Gottesman, I.I., and Gould, T.D. (2003). The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *Am. J. Psychiatry* 160, 636–645.

- Gouzoulis-Mayfrank, E., Heekeren, K., Neukirch, A., Stoll, M., Stock, C., Daumann, J., Obradovic, M., and Kovar, K.-A. (2006). Inhibition of return in the human 5HT_{2A} agonist and NMDA antagonist model of psychosis. *Neuropsychopharmacology* *31*, 431–441.
- Grafman, J., and Litvan, I. (1999). Importance of deficits in executive functions. *Lancet* *354*, 1921–1923.
- Gu, L., Long, J., Yan, Y., Chen, Q., Pan, R., Xie, X., Mao, X., Hu, X., Wei, B., and Su, L. (2013). HTR_{2A}-1438A/G polymorphism influences the risk of schizophrenia but not bipolar disorder or major depressive disorder: a meta-analysis. *J. Neurosci. Res.* *91*, 623–633.
- Guillin, O., Abi-Dargham, A., and Laruelle, M. (2007). Neurobiology of dopamine in schizophrenia. *Int. Rev. Neurobiol.* *78*, 1–39.
- De Haan, L., Nimwegen, L. van, Amelsvoort, T. van, Dingemans, P., and Linszen, D. (2008). Improvement of subjective well-being and enduring symptomatic remission, a 5-year follow-up of first episode schizophrenia. *Pharmacopsychiatry* *41*, 125–128.
- Häfner, H. (2003). Gender differences in schizophrenia. *Psychoneuroendocrinology* *28*, 17–54.
- Hales, R., Yudofsky, S., and Gabbard, G. (2008). *Textbook of psychiatry* (Arlington: American Psychiatric Pub).
- Hall, R.A., Premont, R.T., and Lefkowitz, R.J. (1999). Heptahelical receptor signaling: beyond the G protein paradigm. *J. Cell Biol.* *145*, 927–932.
- Hänninen, K., Katila, H., Saarela, M., Rontu, R., Mattila, K.M., Fan, M., Hurme, M., and Lehtimäki, T. (2008). Interleukin-1 beta gene polymorphism and its interactions with neuregulin-1 gene polymorphism are associated with schizophrenia. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* *258*, 10–15.
- 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., and Owen, M.J. (2003). Genes for schizophrenia? Recent findings and their pathophysiological implications. *Lancet* *361*, 417–419.
- Harrison, P., McLaughlin, D., and Kerwin, R. (1991). Decreased hippocampal expression of a glutamate receptor gene in schizophrenia. *Lancet* *337*, 450–452.
- Harrison, P.J., Law, A.J., and Eastwood, S.L. (2003). Glutamate receptors and transporters in the hippocampus in schizophrenia. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* *1003*, 94–101.
- Hayashi, T. (1954). Effects of sodium glutamate on the nervous system. *Keio J. Med.* 192–193.

- Heaton, R.K., Chelune, G.J., Talley, J.L., Kay, G.G., and G., C. (1993). Wisconsin Card Sorting Test Manual: Revised and Expanded. Psychol. Assess. Resour.
- Helldin, L., Kane, J.M., Karilampi, U., Norlander, T., and Archer, T. (2006). Remission and cognitive ability in a cohort of patients with schizophrenia. *J. Psychiatr. Res.* *40*, 738–745.
- Helldin, L., Kane, J.M., Karilampi, U., Norlander, T., and Archer, T. (2007). Remission in prognosis of functional outcome: a new dimension in the treatment of patients with psychotic disorders. *Schizophr. Res.* *93*, 160–168.
- Hellman, S.G., Kern, R.S., Neilson, L.M., and Green, M.F. (1998). Monetary reinforcement and Wisconsin Card Sorting performance in schizophrenia: why show me the money? *Schizophr. Res.* *34*, 67–75.
- Helton, D.R., Tizzano, J.P., Monn, J.A., Schoepp, D.D., and Kallman, M.J. (1997). LY354740: a metabotropic glutamate receptor agonist which ameliorates symptoms of nicotine withdrawal in rats. *Neuropharmacology* *36*, 1511–1516.
- Helton, D.R., Tizzano, J.P., Monn, J.A., Schoepp, D.D., and Kallman, M.J. (1998). Anxiolytic and side-effect profile of LY354740: a potent, highly selective, orally active agonist for group II metabotropic glutamate receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* *284*, 651–660.
- Hemmingsen, R., Madsen, A., Glenthøj, B., and Rubin, P. (1999). Cortical brain dysfunction in early schizophrenia: secondary pathogenetic hierarchy of neuroplasticity, psychopathology and social impairment. *Acta Psychiatr. Scand. Suppl.* *395*, 80–88.
- Henry, L.P., Amminger, G.P., Harris, M.G., Yuen, H.P., Harrigan, S.M., Prosser, A.L., Schwartz, O.S., Farrelly, S.E., Herrman, H., Jackson, H.J., et al. (2010). The EPPIC follow-up study of first-episode psychosis: longer-term clinical and functional outcome 7 years after index admission. *J. Clin. Psychiatry* *71*, 716–728.
- Hermans, E., and Challiss, R.A. (2001). Structural, signalling and regulatory properties of the group I metabotropic glutamate receptors: prototypic family C G-protein-coupled receptors. *Biochem. J.* *359*, 465–484.
- Herrero, I., Miras-Portugal, M.T., and Sánchez-Prieto, J. (1992). Positive feedback of glutamate exocytosis by metabotropic presynaptic receptor stimulation. *Nature* *360*, 163–166.
- Heuss, C., Scanziani, M., Gähwiler, B.H., and Gerber, U. (1999). G-protein-independent signaling mediated by metabotropic glutamate receptors. *Nat. Neurosci.* *2*, 1070–1077.
- Hölscher, C., McGlinchey, L., and Rowan, M.J. (1996). L-AP4 (L-(+)-2-amino-4-phosphonobutyric acid) induced impairment of spatial learning in the rat is antagonized by MAP4 ((S)-2-amino-2-methyl-4-phosphonobutanoic acid). *Behav. Brain Res.* *81*, 69–79.

- Hölscher, C., Gigg, J., and O'Mara, S.M. (1999). Metabotropic glutamate receptor activation and blockade: their role in long-term potentiation, learning and neurotoxicity. *Neurosci. Biobehav. Rev.* *23*, 399–410.
- Holzman, P.S., Kringlen, E., Levy, D.L., Proctor, L.R., Haberman, S.J., and Yassillo, N.J. (1977). Abnormal-pursuit eye movements in schizophrenia. Evidence for a genetic indicator. *Arch. Gen. Psychiatry* *34*, 802–805.
- Horan, W.P., Ventura, J., Nuechterlein, K.H., Subotnik, K.L., Hwang, S.S., and Mintz, J. (2005). Stressful life events in recent-onset schizophrenia: reduced frequencies and altered subjective appraisals. *Schizophr. Res.* *75*, 363–374.
- Hou, L., and Klann, E. (2004). Activation of the phosphoinositide 3-kinase-Akt-mammalian target of rapamycin signaling pathway is required for metabotropic glutamate receptor-dependent long-term depression. *J. Neurosci.* *24*, 6352–6361.
- Iacovelli, L., Bruno, V., Salvatore, L., Melchiorri, D., Gradini, R., Caricasole, A., Barletta, E., De Blasi, A., and Nicoletti, F. (2002). Native group-III metabotropic glutamate receptors are coupled to the mitogen-activated protein kinase/phosphatidylinositol-3-kinase pathways. *J. Neurochem.* *82*, 216–223.
- Ikeda, M., Aleksic, B., Kirov, G., Kinoshita, Y., Yamanouchi, Y., Kitajima, T., Kawashima, K., Okochi, T., Kishi, T., Zaharieva, I., et al. (2010). Copy number variation in schizophrenia in the Japanese population. *Biol. Psychiatry* *67*, 283–286.
- Ingram, F., Greve, K.W., Ingram, P.T., and 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.
- Jablensky, A. (2000). Epidemiology of schizophrenia: the global burden of disease and disability. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* *250*, 274–285.
- Jablensky, A., and Cole, S.W. (1997). Is the earlier age at onset of schizophrenia in males a confounded finding? Results from a cross-cultural investigation. *Br. J. Psychiatry* *170*, 234–240.
- Javitt, D.C. (2007). Glutamate and schizophrenia: phencyclidine, N-methyl-D-aspartate receptors, and dopamine-glutamate interactions. *Int. Rev. Neurobiol.* *78*, 69–108.
- Javitt, D.C. (2008). Glutamate Involvement in Schizophrenia : Focus on N-methyl- D - aspartate Receptors Model of Schizophrenia. *13*, 38–46.
- Jingami, H., Nakanishi, S., and Morikawa, K. (2003). Structure of the metabotropic glutamate receptor. *Curr. Opin. Neurobiol.* *13*, 271–278.
- Jones, P., and Cannon, M. (1998). The new epidemiology of schizophrenia. *Psychiatr. Clin. North Am.* *21*, 1–25.

- Jones, K.A., Porjesz, B., Almasy, L., Bierut, L., Goate, A., Wang, J.C., Dick, D.M., Hinrichs, A., Kwon, J., Rice, J.P., et al. (2004). Linkage and linkage disequilibrium of evoked EEG oscillations with CHRM2 receptor gene polymorphisms: implications for human brain dynamics and cognition. *Int. J. Psychophysiol.* 53, 75–90.
- Jonides, J., Smith, E.E., Koeppe, R.A., Awh, E., Minoshima, S., and Mintun, M.A. (1993). Spatial working memory in humans as revealed by PET. *Nature* 363, 623–625.
- Kammermeier, P.J., and Yun, J. (2005). Activation of metabotropic glutamate receptor 1 dimers requires glutamate binding in both subunits. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 312, 502–508.
- Kano, M., Hashimoto, K., Kurihara, H., Watanabe, M., Inoue, Y., Aiba, A., and Tonegawa, S. (1997). Persistent multiple climbing fiber innervation of cerebellar Purkinje cells in mice lacking mGluR1. *Neuron* 18, 71–79.
- Kaplan, H.I. (2005). *Comprehensive Textbook of Psychiatry/VI, 30th Anniversary Edition (2 Volume set)* (Williams & Wilkins).
- Karakaş, S., Erzenin, O.U., and Başar, E. (2000). The genesis of human event-related responses explained through the theory of oscillatory neural assemblies. *Neurosci. Lett.* 285, 45–48.
- Kendler, K.S. (2001). Twin studies of psychiatric illness: an update. *Arch. Gen. Psychiatry* 58, 1005–1014.
- Kendler, K.S., Karkowski, L.M., and Walsh, D. (1998). The structure of psychosis: latent class analysis of probands from the Roscommon Family Study. *Arch. Gen. Psychiatry* 55, 492–499.
- Kerwin, R., Patel, S., and Meldrum, B. (1990). Quantitative autoradiographic analysis of glutamate binding sites in the hippocampal formation in normal and schizophrenic brain post mortem. *Neuroscience* 39, 25–32.
- Keshavan, M.S., Nasrallah, H.A., and Tandon, R. (2011). Schizophrenia, “Just the Facts” 6. Moving ahead with the schizophrenia concept: from the elephant to the mouse. *Schizophr. Res.* 127, 3–13.
- Kety, S.S. (1988). Schizophrenic illness in the families of schizophrenic adoptees: findings from the Danish national sample. *Schizophr. Bull.* 14, 217–222.
- Kety, S.S., Wender, P.H., Jacobsen, B., Ingraham, L.J., Jansson, L., Faber, B., and 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, 442–455.
- Kim, C.H., Lee, J., Lee, J.-Y., and Roche, K.W. (2008). Metabotropic glutamate receptors: phosphorylation and receptor signaling. *J. Neurosci. Res.* 86, 1–10.

- Kim, J.S., Kornhuber, H.H., Schmid-Burgk, W., and Holzmüller, B. (1980). Low cerebrospinal fluid glutamate in schizophrenic patients and a new hypothesis on schizophrenia. *Neurosci. Lett.* *20*, 379–382.
- Kirkbride, J.B., Fearon, P., Morgan, C., Dazzan, P., Morgan, K., Tarrant, J., Lloyd, T., Holloway, J., Hutchinson, G., Leff, J.P., et al. (2006). Heterogeneity in incidence rates of schizophrenia and other psychotic syndromes: findings from the 3-center AeSOP study. *Arch. Gen. Psychiatry* *63*, 250–258.
- Kirov, G., Zaharieva, I., Georgieva, L., Moskvina, V., Nikolov, I., Cichon, S., Hillmer, A., Toncheva, D., Owen, M.J., and O'Donovan, M.C. (2009). A genome-wide association study in 574 schizophrenia trios using DNA pooling. *Mol. Psychiatry* *14*, 796–803.
- Kniazeff, J., Bessis, A.-S., Maurel, D., Ansanay, H., Prézeau, L., and Pin, J.-P. (2004). Closed state of both binding domains of homodimeric mGlu receptors is required for full activity. *Nat. Struct. Mol. Biol.* *11*, 706–713.
- Kohli, A., and Kaur, M. (2006). Wisconsin Card Sorting Test: Normative data and experience. *Indian J. Psychiatry* *48*, 181–184.
- Konick, L.C., and Friedman, L. (2001). Meta-analysis of thalamic size in schizophrenia. *Biol. Psychiatry* *49*, 28–38.
- Konishi, S., Nakajima, K., Uchida, I., Kameyama, M., Nakahara, K., Sekihara, K., and Miyashita, Y. (1998). Transient activation of inferior prefrontal cortex during cognitive set shifting. *Nat. Neurosci.* *1*, 80–84.
- Koren, D., Seidman, L.J., Harrison, R.H., Lyons, M.J., Kremen, W.S., Caplan, B., Goldstein, J.M., Faraone, S. V, and Tsuang, M.T. (1998). Factor structure of the Wisconsin Card Sorting Test: dimensions of deficit in schizophrenia. *Neuropsychology* *12*, 289–302.
- Koren, D., Seidman, L.J., Poyurovsky, M., Goldsmith, M., Viksman, P., Zichel, S., and Klein, E. (2004). The neuropsychological basis of insight in first-episode schizophrenia: a pilot metacognitive study. *Schizophr. Res.* *70*, 195–202.
- Kraepelin, E. (1919). *Dementia praecox and paraphrenia* (Livingstone).
- Krystal, J.H., Karper, L.P., Seibyl, J.P., Freeman, G.K., Delaney, R., Bremner, J.D., Heninger, G.R., Bowers, M.B., and Charney, D.S. (1994). Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. *Arch. Gen. Psychiatry* *51*, 199–214.
- Kubesch, S. (2006). *Das bewegte Gehirn Exekutive Funktionen und körperliche Aktivität* (Ulm).
- Kubo, Y., Miyashita, T., and Murata, Y. (1998). Structural basis for a Ca²⁺-sensing function of the metabotropic glutamate receptors. *Science* *279*, 1722–1725.

- Kunishima, N., Shimada, Y., Tsuji, Y., Sato, T., Yamamoto, M., Kumasaka, T., Nakanishi, S., Jingami, H., and Morikawa, K. (2000). Structural basis of glutamate recognition by a dimeric metabotropic glutamate receptor. *Nature* *407*, 971–977.
- Laruelle, M. (1998). Imaging dopamine transmission in schizophrenia. A review and meta-analysis. *Q. J. Nucl. Med.* *42*, 211–221.
- Laruelle, M., Abi-Dargham, A., van Dyck, C.H., Gil, R., D'Souza, C.D., Erdos, J., McCance, E., Rosenblatt, W., Fingado, C., Zoghbi, S.S., et al. (1996). Single photon emission computerized tomography imaging of amphetamine-induced dopamine release in drug-free schizophrenic subjects. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *93*, 9235–9240.
- Lawrie, S.M., and Abukmeil, S.S. (1998). Brain abnormality in schizophrenia. A systematic and quantitative review of volumetric magnetic resonance imaging studies. *Br. J. Psychiatry* *172*, 110–120.
- Laws, K.R. (1999). A meta-analytic review of Wisconsin Card Sort studies in schizophrenia: general intellectual deficit in disguise? *Cogn. Neuropsychiatry* *4*, 1–30; discussion 31–35.
- Laws, K.R., and Kondel, T.K. (1998). Variability in cognitive deterioration in schizophrenia. *Br. J. Psychiatry* *172*, 187–188.
- Lencz, T., Morgan, T. V, Athanasiou, M., Dain, B., Reed, C.R., Kane, J.M., Kucherlapati, R., and Malhotra, A.K. (2007). Converging evidence for a pseudoautosomal cytokine receptor gene locus in schizophrenia. *Mol. Psychiatry* *12*, 572–580.
- Levinson, D.F., Duan, J., Oh, S., Wang, K., Sanders, A.R., Shi, J., Zhang, N., Mowry, B.J., Olincy, A., Amin, F., et al. (2011). Copy number variants in schizophrenia: confirmation of five previous findings and new evidence for 3q29 microdeletions and VIPR2 duplications. *Am. J. Psychiatry* *168*, 302–316.
- Lewandowski, K.E. (2007). Relationship of catechol-O-methyltransferase to schizophrenia and its correlates: evidence for associations and complex interactions. *Harv. Rev. Psychiatry* *15*, 233–244.
- Lewis, D.A., and Gonzalez-Burgos, G. (2006). Pathophysiologically based treatment interventions in schizophrenia. *Nat. Med.* *12*, 1016–1022.
- 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, et al. (2003). Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia. *Am. J. Hum. Genet.* *73*, 34–48.
- Lewis, G., David, A., Andréasson, S., and Allebeck, P. (1992). Schizophrenia and city life. *Lancet* *340*, 137–140.
- Lezak, M. (2004). *Neuropsychological assessment* 4 Ed.

- Li, D., and He, L. (2007). Association study between the dystrobrevin binding protein 1 gene (DTNBP1) and schizophrenia: a meta-analysis. *Schizophr. Res.* *96*, 112–118.
- Li, M., Luo, X., Xiao, X., Shi, L., Liu, X., Yin, L., Diao, H., and Su, B. (2011). Allelic differences between Han Chinese and Europeans for functional variants in ZNF804A and their association with schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* *168*, 1318–1325.
- Li, X.-M., Li, C.-C., Yu, S.-S., Chen, J.-T., Sabapathy, K., and Ruan, D.-Y. (2007). JNK1 contributes to metabotropic glutamate receptor-dependent long-term depression and short-term synaptic plasticity in the mice area hippocampal CA1. *Eur. J. Neurosci.* *25*, 391–396.
- Lin, S.-H., Liu, C.-M., Hwang, T.-J., Hsieh, M.H., Hsiao, P.-C., Faraone, S. V, Tsuang, M.T., Hwu, H.-G., and Chen, W.J. (2013). Performance on the Wisconsin Card Sorting Test in families of schizophrenia patients with different familial loadings. *Schizophr. Bull.* *39*, 537–546.
- Liozidou, A., Potagas, C., Papageorgiou, S.G., and Zalonis, I. (2012). The role of working memory and information processing speed on wisconsin card sorting test performance in Parkinson disease without dementia. *J. Geriatr. Psychiatry Neurol.* *25*, 215–221.
- Loane, D.J., Stoica, B.A., and Faden, A.I. (2012). Metabotropic glutamate receptor-mediated signaling in neuroglia. *Wiley Interdiscip. Rev. Membr. Transp. Signal.* *1*, 136–150.
- Lochman, J., Balcar, V.J., Štátný, F., and Serý, O. (2013). Preliminary evidence for association between schizophrenia and polymorphisms in the regulatory Regions of the ADRA2A, DRD3 and SNAP-25 Genes. *Psychiatry Res.* *205*, 7–12.
- Lohmueller, K.E., Pearce, C.L., Pike, M., Lander, E.S., and Hirschhorn, J.N. (2003). Meta-analysis of genetic association studies supports a contribution of common variants to susceptibility to common disease. *Nat. Genet.* *33*, 177–182.
- Lu, Y.M., Jia, Z., Janus, C., Henderson, J.T., Gerlai, R., Wojtowicz, J.M., and Roder, J.C. (1997). Mice lacking metabotropic glutamate receptor 5 show impaired learning and reduced CA1 long-term potentiation (LTP) but normal CA3 LTP. *J. Neurosci.* *17*, 5196–5205.
- Lymer, G.K.S., Job, D.E., William, T., Moorhead, J., McIntosh, A.M., Owens, D.G.C., Johnstone, E.C., and Lawrie, S.M. (2006). Brain-behaviour relationships in people at high genetic risk of schizophrenia. *Neuroimage* *33*, 275–285.
- Ma, X., Wang, Q., Sham, P.C., Liu, X., Rabe-Hesketh, S., Sun, X., Hu, J., Meng, H., Chen, W., Chen, E.Y.H., et al. (2007). Neurocognitive deficits in first-episode schizophrenic patients and their first-degree relatives. *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet.* *144B*, 407–416.
- Mah, S., Nelson, M.R., Delisi, L.E., Reneland, R.H., Markward, N., James, M.R., Nyholt, D.R., Hayward, N., Handoko, H., Mowry, B., et al. (2006). Identification of the semaphorin receptor PLXNA2 as a candidate for susceptibility to schizophrenia. *Mol. Psychiatry* *11*, 471–478.

Makeig, S., Westerfield, M., Jung, T.P., Enghoff, S., Townsend, J., Courchesne, E., and Sejnowski, T.J. (2002). Dynamic brain sources of visual evoked responses. *Science* 295, 690–694.

Mäki, P., Veijola, J., Jones, P.B., Murray, G.K., Koponen, H., Tienari, P., Miettunen, J., Tanskanen, P., Wahlberg, K.-E., Koskinen, J., et al. (2005). Predictors of schizophrenia--a review. *Br. Med. Bull.* 73-74, 1–15.

Makoff, A., Pilling, C., Harrington, K., and Emson, P. (1996). Human metabotropic glutamate receptor type 7: molecular cloning and mRNA distribution in the CNS. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 40, 165–170.

Malaspina, D., Harlap, S., Fennig, S., Heiman, D., Nahon, D., Feldman, D., and Susser, E.S. (2001). Advancing paternal age and the risk of schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry* 58, 361–367.

Malherbe, P., Kratzeisen, C., Lundstrom, K., Richards, J.G., Faull, R.L.M., and Mutel, V. (1999). Cloning and functional expression of alternative spliced variants of the human metabotropic glutamate receptor 8.

Manahan-Vaughan, D., and Reymann, K.G. (1995). Regional and developmental profile of modulation of hippocampal synaptic transmission and LTP by AP4-sensitive mGluRs in vivo. *Neuropharmacology* 34, 991–1001.

Marenco, S., Coppola, R., Daniel, D.G., Zigun, J.R., and Weinberger, D.R. (1993). Regional cerebral blood flow during the Wisconsin Card Sorting Test in normal subjects studied by xenon-133 dynamic SPECT: comparison of absolute values, percent distribution values, and covariance analysis. *Psychiatry Res.* 50, 177–192.

Masu, M., Iwakabe, H., Tagawa, Y., Miyoshi, T., Yamashita, M., Fukuda, Y., Sasaki, H., Hiroi, K., Nakamura, Y., and Shigemoto, R. (1995). Specific deficit of the ON response in visual transmission by targeted disruption of the mGluR6 gene. *Cell* 80, 757–765.

McGorry, P.D., McFarlane, C., Patton, G.C., Bell, R., Hibbert, M.E., Jackson, H.J., and Bowes, G. (1995). The prevalence of prodromal features of schizophrenia in adolescence: a preliminary survey. *Acta Psychiatr. Scand.* 92, 241–249.

McGrath, J.J., and Welham, J.L. (1999). Season of birth and schizophrenia: a systematic review and meta-analysis of data from the Southern Hemisphere. *Schizophr. Res.* 35, 237–242.

McGrath, J., Saha, S., Welham, J., El Saadi, O., MacCauley, C., and 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.

McGue, M., and Gottesman, I.I. (1989). Genetic linkage in schizophrenia: perspectives from genetic epidemiology. *Schizophr. Bull.* 15, 453–464.

- McKenna, M.C. (2007). The glutamate-glutamine cycle is not stoichiometric: fates of glutamate in brain. *J. Neurosci. Res.* *85*, 3347–3358.
- Meltzer, H.Y. (1987). Biological studies in schizophrenia. *Schizophr. Bull.* *13*, 77–111.
- Menezes, N.M., Malla, A.M., Norman, R.M., Archie, S., Roy, P., and Zipursky, R.B. (2009). A multi-site Canadian perspective: examining the functional outcome from first-episode psychosis. *Acta Psychiatr. Scand.* *120*, 138–146.
- Mentzel, H.J., Gaser, C., Volz, H.P., Rzanny, R., Häger, F., Sauer, H., and Kaiser, W.A. (1998). Cognitive stimulation with the Wisconsin Card Sorting Test: functional MR imaging at 1.5 T. *Radiology* *207*, 399–404.
- Meyer, U., Yee, B.K., and Feldon, J. (2007). The neurodevelopmental impact of prenatal infections at different times of pregnancy: the earlier the worse? *Neuroscientist* *13*, 241–256.
- Milner, B. (1963). Effects of Different Brain Lesions on Card Sorting: The Role of the Frontal Lobes. *Arch. Neurol.* *9*, 90–100.
- Milner, B. (1971). Interhemispheric differences in the localization of psychological processes in man. *Br. Med. Bull.* *27*, 272–277.
- Moghaddam, B., and Adams, B.W. (1998). Reversal of phencyclidine effects by a group II metabotropic glutamate receptor agonist in rats. *Science* *281*, 1349–1352.
- Moghaddam, B., Adams, B., Verma, A., and Daly, D. (1997). Activation of Glutamatergic Neurotransmission by Ketamine: A Novel Step in the Pathway from NMDA Receptor Blockade to Dopaminergic and Cognitive Disruptions Associated with the Prefrontal Cortex. *J. Neurosci.* *17*, 2921–2927.
- Möller, H.-J., and Müller, N. (2004). *Schizophrenie Langzeitverlauf und Langzeittherapie* (Vienna: Springer Verlag Wien New York).
- Moritz, S., Birkner, C., Kloss, M., Jahn, H., Hand, I., Haasen, C., and Krausz, M. (2002). Executive functioning in obsessive-compulsive disorder, unipolar depression, and schizophrenia. *Arch. Clin. Neuropsychol.* *17*, 477–483.
- Müller, S.V. (2009). *Störungen der Exekutivfunktionen - Wenn die Handlungsplanung zum Problem wird: Ein Ratgeber für Angehörige, Betroffene und Fachleute* (Schulz-Kirchner Verlag GmbH).
- Müller, S. V, Hildebrandt, H., and Münte, T.F. (2004). *Kognitive Therapie bei Störungen der Exekutivfunktionen: Ein Therapiemanual*.
- Mullin, A.P., Gokhale, A., Larimore, J., and Faundez, V. (2011). Cell biology of the BLOC-1 complex subunit dysbindin, a schizophrenia susceptibility gene. *Mol. Neurobiol.* *44*, 53–64.

Munafò, M.R., Attwood, A.S., and Flint, J. (2008). Neuregulin 1 genotype and schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 34, 9–12.

Muto, T., Tsuchiya, D., Morikawa, K., and Jingami, H. (2007). Structures of the extracellular regions of the group II/III metabotropic glutamate receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 3759–3764.

Nagahama, Y., Fukuyama, H., Yamauchi, H., Matsuzaki, S., Konishi, J., Shibasaki, H., and Kimura, J. (1996). Cerebral activation during performance of a card sorting test. *Brain* 119 (Pt 5), 1667–1675.

Nagahama, Y., Fukuyama, H., Yamauchi, H., Katsumi, Y., Magata, Y., Shibasaki, H., and Kimura, J. (1997). Age-related changes in cerebral blood flow activation during a Card Sorting Test. *Exp. Brain Res.* 114, 571–577.

Need, A.C., Ge, D., Weale, M.E., Maia, J., Feng, S., Heinzen, E.L., Shianna, K. V, Yoon, W., Kasperaviciūte, D., Gennarelli, M., et al. (2009). A genome-wide investigation of SNPs and CNVs in schizophrenia. *PLoS Genet.* 5, e1000373.

Nelson, H.E. (1976). A modified card sorting test sensitive to frontal lobe defects. *Cortex.* 12, 313–324.

Nelson, M.D., Saykin, A.J., Flashman, L.A., and Riordan, H.J. (1998). Hippocampal volume reduction in schizophrenia as assessed by magnetic resonance imaging: a meta-analytic study. *Arch. Gen. Psychiatry* 55, 433–440.

Ng, M.Y.M., Levinson, D.F., Faraone, S. V, Suarez, B.K., DeLisi, L.E., Arinami, T., Riley, B., Paunio, T., Pulver, A.E., Irmansyah, et al. (2009). Meta-analysis of 32 genome-wide linkage studies of schizophrenia. *Mol. Psychiatry* 14, 774–785.

Nicodemus, K.K., Law, A.J., Radulescu, E., Luna, A., Kolachana, B., Vakkalanka, R., Rujescu, D., Giegling, I., Straub, R.E., McGee, K., et al. (2010). Biological validation of increased schizophrenia risk with NRG1, ERBB4, and AKT1 epistasis via functional neuroimaging in healthy controls. *Arch. Gen. Psychiatry* 67, 991–1001.

Nicoletti, F., Bockaert, J., Collingridge, G.L., Conn, P.J., Ferraguti, F., Schoepp, D.D., Wroblewski, J.T., and Pin, J.P. (2011). Metabotropic glutamate receptors: from the workbench to the bedside. *Neuropharmacology* 60, 1017–1041.

Niswender, C.M., and Conn, P.J. (2010). Metabotropic glutamate receptors: physiology, pharmacology, and disease. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 50, 295–322.

Norman, R.M., and Malla, A.K. (1993). Stressful life events and schizophrenia. I: A review of the research. *Br. J. Psychiatry* 162, 161–166.

Norquist, G.S., and Regier, D.A. (1996). The epidemiology of psychiatric disorders and the de facto mental health care system. *Annu. Rev. Med.* 47, 473–479.

- Nuechterlein, K.H., Barch, D.M., Gold, J.M., Goldberg, T.E., Green, M.F., and Heaton, R.K. (2004). Identification of separable cognitive factors in schizophrenia. *Schizophr. Res.* *72*, 29–39.
- Nyhus, E., and Barceló, F. (2009). The Wisconsin Card Sorting Test and the cognitive assessment of prefrontal executive functions: a critical update. *Brain Cogn.* *71*, 437–451.
- O'Donovan, M.C., Craddock, N., Norton, N., Williams, H., Peirce, T., Moskva, V., Nikolov, I., Hamshere, M., Carroll, L., Georgieva, L., et al. (2008). Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up. *Nat. Genet.* *40*, 1053–1055.
- O'Dushlaine C, Rossin, L., Lee, P., Duncan, L., Parikshak, N., Newhouse, S., Ripke, S., Neale, B., Purcell, S., Posthuma, D., et al. (2015). Psychiatric genome-wide association study analyses implicate neuronal, immune and histone pathways. *Nat. Neurosci.* *18*, 199–209.
- Ohashi, J., Yamamoto, S., Tsuchiya, N., Hatta, Y., Komata, T., Matsushita, M., and Tokunaga, K. (2001). Comparison of statistical power between 2 * 2 allele frequency and allele positivity tables in case-control studies of complex disease genes. *Ann. Hum. Genet.* *65*, 197–206.
- Ohishi, H., Akazawa, C., Shigemoto, R., Nakanishi, S., and Mizuno, N. (1995). Distributions of the mRNAs for L-2-amino-4-phosphonobutyrate-sensitive metabotropic glutamate receptors, mGluR4 and mGluR7, in the rat brain. *J. Comp. Neurol.* *360*, 555–570.
- Olney, J.W. (1969). Brain lesions, obesity, and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. *Science* *164*, 719–721.
- Olney, J.W., and Farber, N.B. (1995). Glutamate receptor dysfunction and schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry* *52*, 998–1007.
- Oorschot, M., Lataster, T., Thewissen, V., Lardinois, M., van Os, J., Delespaul, P.A.E.G., and Myin-Germeys, I. (2012). Symptomatic remission in psychosis and real-life functioning. *Br. J. Psychiatry* *201*, 215–220.
- Oosthuizen, P., Emsley, R., Niehaus, D., Koen, L., and Chiliza, B. (2006). The relationships between depression and remission in first-episode psychosis. *World Psychiatry* *5*, 172–176.
- Van Os, J., Drukker, M., à Campo, J., Meijer, J., Bak, M., and Delespaul, P. (2006). Validation of remission criteria for schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* *163*, 2000–2002.
- Owen, M.J., Craddock, N., and O'Donovan, M.C. (2005). Schizophrenia: genes at last? *Trends Genet.* *21*, 518–525.
- Owen, M.J., Williams, H.J., and O'Donovan, M.C. (2009). Schizophrenia genetics: advancing on two fronts. *Curr. Opin. Genet. Dev.* *19*, 266–270.
- Page, G., Khidir, F.A.L., Pain, S., Barrier, L., Fauconneau, B., Guillard, O., Piriou, A., and Hugon, J. (2006). Group I metabotropic glutamate receptors activate the p70S6 kinase via both mammalian target of rapamycin (mTOR) and extracellular signal-regulated kinase (ERK 1/2)

signaling pathways in rat striatal and hippocampal synaptoneuroosomes. *Neurochem. Int.* *49*, 413–421.

Parmenter, B.A., Zivadinov, R., Kerenyi, L., Gavett, R., Weinstock-Guttman, B., Dwyer, M.G., Garg, N., Munschauer, F., and Benedict, R.H.B. (2007). Validity of the Wisconsin Card Sorting and Delis-Kaplan Executive Function System (DKEFS) Sorting Tests in multiple sclerosis. *J. Clin. Exp. Neuropsychol.* *29*, 215–223.

Patterson, P.H. (2007). Neuroscience. Maternal effects on schizophrenia risk. *Science* *318*, 576–577.

Pekhletski, R., Gerlai, R., Overstreet, L.S., Huang, X.P., Agopyan, N., Slater, N.T., Abramow-Newerly, W., Roder, J.C., and Hampson, D.R. (1996). Impaired cerebellar synaptic plasticity and motor performance in mice lacking the mGluR4 subtype of metabotropic glutamate receptor. *J. Neurosci.* *16*, 6364–6373.

Penner, J.D., and Brown, A.S. (2007). Prenatal infectious and nutritional factors and risk of adult schizophrenia. *Expert Rev. Neurother.* *7*, 797–805.

Perroy, J., Prezeau, L., De Waard, M., Shigemoto, R., Bockaert, J., and Fagni, L. (2000). Selective blockade of P/Q-type calcium channels by the metabotropic glutamate receptor type 7 involves a phospholipase C pathway in neurons. *J. Neurosci.* *20*, 7896–7904.

Petersen, L., Thorup, A., Øqhlenschlaeger, J., Christensen, T.Ø., Jeppesen, P., Krarup, G., Jørrgensen, P., Mortensen, E.L., and Nordentoft, M. (2008). Predictors of remission and recovery in a first-episode schizophrenia spectrum disorder sample: 2-year follow-up of the OPUS trial. *Can. J. Psychiatry.* *53*, 660–670.

Pin, J.-P., Galvez, T., and Prézeau, L. (2003). Evolution, structure, and activation mechanism of family 3/C G-protein-coupled receptors. *Pharmacol. Ther.* *98*, 325–354.

Porter, R.H., Eastwood, S.L., and Harrison, P.J. (1997). Distribution of kainate receptor subunit mRNAs in human hippocampus, neocortex and cerebellum, and bilateral reduction of hippocampal GluR6 and KA2 transcripts in schizophrenia. *Brain Res.* *751*, 217–231.

Pulver, A.E. (2000). Search for schizophrenia susceptibility genes. *Biol. Psychiatry* *47*, 221–230.

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

Purves, D., Augustine, G., and Fitzpatrick, D. (2001). Excitatory and Inhibitory Postsynaptic Potentials.

Qiagen (2005). QIAamp DNA Blood Midi/Maxi Handbook. (Quiagen),.

- Raber, J., Bongers, G., LeFevour, A., Buttini, M., and Mucke, L. (2002). Androgens protect against apolipoprotein E4-induced cognitive deficits. *J. Neurosci.* *22*, 5204–5209.
- Raffard, S., Esposito, F., Boulenger, J.-P., and Van der Linden, M. (2013). Impaired ability to imagine future pleasant events is associated with apathy in schizophrenia. *Psychiatry Res.*
- Ragland, J.D., Gur, R.C., Glahn, D.C., Censits, D.M., Smith, R.J., Lazarev, M.G., Alavi, A., and Gur, R.E. (1998). Frontotemporal cerebral blood flow change during executive and declarative memory tasks in schizophrenia: a positron emission tomography study. *Neuropsychology* *12*, 399–413.
- Rangaswamy, M., and Porjesz, B. (2008). Uncovering genes for cognitive (dys)function and predisposition for alcoholism spectrum disorders: a review of human brain oscillations as effective endophenotypes. *Brain Res.* *1235*, 153–171.
- Rapoport, J.L., Giedd, J.N., and Gogtay, N. (2012). Neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2012. *Mol. Psychiatry* *17*, 1228–1238.
- Reitan, R.M., and Wolfson, D. (1994). A selective and critical review of neuropsychological deficits and the frontal lobes. *Neuropsychol. Rev.* *4*, 161–198.
- Ribeiro, F.M., Paquet, M., Cregan, S.P., and Ferguson, S.S.G. (2010). Group I metabotropic glutamate receptor signalling and its implication in neurological disease. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets* *9*, 574–595.
- Rice, J.P., Reich, T., Bucholz, K.K., Neuman, R.J., Fishman, R., Rochberg, N., Hesselbrock, V.M., Nurnberger, J.I., Schuckit, M.A., and Begleiter, H. (1995). Comparison of Direct Interview and Family History Diagnoses of Alcohol Dependence. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* *19*, 1018–1023.
- Ripke, S., Sanders, A., Kendler, K.S., Levinson, D.F., Sklar, P., Holmans, P.A., Lin, D.-Y., Duan, J., Ophoff, R.A., Andreassen, O.A., et al. (2011). Genome-wide association study identifies five new schizophrenia loci. *Nat. Genet.* *43*, 969–976.
- Ripke, S., O’Dushlaine, C., Chambert, K., Moran, J.L., Kähler, A.K., Akterin, S., Bergen, S.E., Collins, A.L., Crowley, J.J., Fromer, M., et al. (2013). Genome-wide association analysis identifies 13 new risk loci for schizophrenia. *Nat. Genet.* *45*, 1150–1159.
- Ripke, S., Neale, B.M., Corvin, A., Walters, J.T.R., Farh, K.-H., Holmans, P.A., Lee, P., Bulik-Sullivan, B., Collier, D.A., Huang, H., et al. (2014). Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature* *511*, 421–427.
- Robinson, A.L., Heaton, R.K., Lehman, R.A., and Stilson, D.W. (1980). The utility of the Wisconsin Card Sorting Test in detecting and localizing frontal lobe lesions. *J. Consult. Clin. Psychol.* *48*, 605–614.
- Rondard, P., Liu, J., Huang, S., Malhaire, F., Vol, C., Pinault, A., Labesse, G., and Pin, J.-P. (2006). Coupling of agonist binding to effector domain activation in metabotropic glutamate-like receptors. *J. Biol. Chem.* *281*, 24653–24661.

- Rujescu, D.A.N. (2007). Genetik der Schizophrenie. *BIOSpektrum* 13, 727–729.
- Saha, S., Chant, D., Welham, J., and McGrath, J. (2005). A systematic review of the prevalence of schizophrenia. *PLoS Med.* 2, e141.
- Sansig, G., Bushell, T.J., Clarke, V.R., Rozov, A., Burnashev, N., Portet, C., Gasparini, F., Schmutz, M., Klebs, K., Shigemoto, R., et al. (2001). Increased seizure susceptibility in mice lacking metabotropic glutamate receptor 7. *J. Neurosci.* 21, 8734–8745.
- Sarnthein, J., and Jeanmonod, D. (2007). High thalamocortical theta coherence in patients with Parkinson's disease. *J. Neurosci.* 27, 124–131.
- Sarnthein, J., Morel, A., von Stein, A., and Jeanmonod, D. (2005). Thalamocortical theta coherence in neurological patients at rest and during a working memory task. *Int. J. Psychophysiol.* 57, 87–96.
- Saugstad, J., and Ingram, S. (2008). *The glutamate receptors* (Humana Press).
- Save, E., Poucet, B., Foreman, N., and Buhot, M.C. (1992). Object exploration and reactions to spatial and nonspatial changes in hooded rats following damage to parietal cortex or hippocampal formation. *Behav. Neurosci.* 106, 447–456.
- Sawa, A., and Snyder, S.H. (2002). Schizophrenia: diverse approaches to a complex disease. *Science* 296, 692–695.
- Schanze, D., Ekici, A.B., Gawlik, M., Pfuhlmann, B., Reis, A., and Stöber, G. (2011). Evaluation of risk loci for schizophrenia derived from genome-wide association studies in a German population. *Am. J. Med. Genet. Part B, Neuropsychiatr. Genet.* 156, 198–203.
- Schenkel, L.S., and Silverstein, S.M. (2004). Dimensions of premorbid functioning in schizophrenia: a review of neuromotor, cognitive, social, and behavioral domains. *Genet. Soc. Gen. Psychol. Monogr.* 130, 241–270.
- Scherer, S., Duvoisin, R., Kuhn, R., Heng, H., Belloni, E., and Tsui, L. (1996). Localization of Two Metabotropic Glutamate Receptor Genes, GRM3 and GRM8, to Human Chromosome 7q. *Genomics* 31, 8–11.
- Scherer, S.W., Soder, S., Duvoisin, R.M., Huizenga, J.J., and Tsui, L. (1997). The Human Metabotropic Glutamate Receptor 8 (GRM8) Gene: A Disproportionately Large Gene Located at 7q31.3 – q32.1. *Genomics* 44, 232–236.
- Schneider, H. (1976). Drogenmissbrauch und Schizophrenie. *Arch. Psychiatr. Nervenkr.* 222, 267–279.
- Schneider, K. (1959). *Klinische Psychopathologie* (New York/ Stuttgart: Georg Thieme Verlag).
- Schneider, K. (2007). *Klinische Psychopathologie* (Georg Thieme Verlag).

- Schöttle, D., and Naber, D. (2014). [Remission and recovery: new hopes--realistic aims in the therapy for schizophrenia]. *Fortschr. Neurol. Psychiatr.* 82, 220–227.
- Schulze-Rauschenbach, S. (2007). Neuropsychologische Endophänotypen der Schizophrenie. *D-Nb.info* 150.
- Schumacher, J., Cichon, S., and Nöthen, M. (2007). Genetik schizophrener und affektiver störungen.pdf.
- Schürmann, M., Başar-Eroglu, C., Kolev, V., and Başar, E. (1995). A new metric for analyzing single-trial event-related potentials (ERPs): application to human visual P300 delta response. *Neurosci. Lett.* 197, 167–170.
- Schürmann, M., Başar-Eroglu, C., Kolev, V., and Başar, E. (2001). Delta responses and cognitive processing: single-trial evaluations of human visual P300. *Int. J. Psychophysiol.* 39, 229–239.
- Schwab, S.G., and Wildenauer, D.B. (2013). Genetics of psychiatric disorders in the GWAS era: an update on schizophrenia. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 263 *Suppl* , S147–S154.
- Seeman, M. V. (1997). Psychopathology in Women and Men: Focus on Female Hormones. *Am. J. Psychiatry* 154, 1641–1647.
- Serajee, F., Zhong, H., Nabi, R., and Huq, A. (2003). The metabotropic glutamate receptor 8 gene at 7q31: partial duplication and possible association with autism. 1–6.
- Sheng, M., and Kim, M.J. (2002). Postsynaptic signaling and plasticity mechanisms. *Science* 298, 776–780.
- Shenton, M.E., Dickey, C.C., Frumin, M., and McCarley, R.W. (2001). A review of MRI findings in schizophrenia. *Schizophr. Res.* 49, 1–52.
- Sherrington, R., Brynjolfsson, J., Petursson, H., Potter, M., Dudleston, K., Barraclough, B., Wasmuth, J., Dobbs, M., and Gurling, H. (1988). Localization of a susceptibility locus for schizophrenia on chromosome 5. *Nature* 336, 164–167.
- Shi, J., Levinson, D.F., Duan, J., Sanders, A.R., Zheng, Y., Pe'er, I., Dudbridge, F., Holmans, P.A., Whittemore, A.S., Mowry, B.J., et al. (2009). Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia. *Nature* 460, 753–757.
- Shi, Y., Li, Z., Xu, Q., Wang, T., Li, T., Shen, J., Zhang, F., Chen, J., Zhou, G., Ji, W., et al. (2011). Common variants on 8p12 and 1q24.2 confer risk of schizophrenia. *Nat. Genet.* 43, 1224–1227.
- Shifman, S., Johannesson, M., Bronstein, M., Chen, S.X., Collier, D.A., Craddock, N.J., Kendler, K.S., Li, T., O'Donovan, M., O'Neill, F.A., et al. (2008). Genome-wide association identifies a common variant in the reelin gene that increases the risk of schizophrenia only in women. *PLoS Genet.* 4, e28.

- Shigemoto, R., Kinoshita, A., Wada, E., Nomura, S., Ohishi, H., Takada, M., Flor, P.J., Neki, A., Abe, T., Nakanishi, S., et al. (1997). Differential presynaptic localization of metabotropic glutamate receptor subtypes in the rat hippocampus. *J. Neurosci.* *17*, 7503–7522.
- Shrivastava, A., Johnston, M., Shah, N., and Bureau, Y. (2010). Redefining outcome measures in schizophrenia: integrating social and clinical parameters. *Curr. Opin. Psychiatry* *23*, 120–126.
- Simon, A.E., Cattapan-Ludewig, K., Zmilacher, S., Arbach, D., Gruber, K., Dvorsky, D.N., Roth, B., Isler, E., Zimmer, A., and Umbricht, D. (2007). Cognitive functioning in the schizophrenia prodrome. *Schizophr. Bull.* *33*, 761–771.
- Sitskoorn, M.M., Aleman, A., Ebisch, S.J.H., Appels, M.C.M., and Kahn, R.S. (2004). Cognitive deficits in relatives of patients with schizophrenia: a meta-analysis. *Schizophr. Res.* *71*, 285–295.
- Smith, E.E., and Jonides, J. (1999). Storage and Executive Processes in the Frontal Lobes. *283*, 1657–1661.
- Smith, E.E., Jonides, J., Marshuetz, C., and Koeppel, R. a (1998). Components of verbal working memory: evidence from neuroimaging. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *95*, 876–882.
- Smoller, J., Kendler, K., Craddock, N., Committee, W., Smoller, J.W. (lead), Lee, P.H., Neale, B.M., M, B., Nurnberger, B.M., Ripke, S., et al. (2013). Identification of risk loci with shared effects on five major psychiatric disorders: a genome-wide analysis. *Lancet* *381*, 1371–1379.
- Snead, O.C., Banerjee, P.K., Burnham, M., and Hampson, D. (2000). Modulation of absence seizures by the GABA(A) receptor: a critical role for metabotropic glutamate receptor 4 (mGluR4). *J. Neurosci.* *20*, 6218–6224.
- Snitz, B.E., Macdonald, A.W., and Carter, C.S. (2006). Cognitive deficits in unaffected first-degree relatives of schizophrenia patients: a meta-analytic review of putative endophenotypes. *Schizophr. Bull.* *32*, 179–194.
- Spangaro, M., Bosia, M., Zanoletti, A., Bechi, M., Cocchi, F., Pirovano, A., Lorenzi, C., Bramanti, P., Benedetti, F., Smeraldi, E., et al. (2012). Cognitive dysfunction and glutamate reuptake: effect of EAAT2 polymorphism in schizophrenia. *Neurosci. Lett.* *522*, 151–155.
- Spooren, W., Ballard, T., Gasparini, F., Amalric, M., Mutel, V., and Schreiber, R. (2003). Insight into the function of Group I and Group II metabotropic glutamate (mGlu) receptors: behavioural characterization and implications for the treatment of CNS disorders. *Behav. Pharmacol.* *14*, 257–277.
- Spooren, W.P., Vassout, A., Neijt, H.C., Kuhn, R., Gasparini, F., Roux, S., Porsolt, R.D., and Gentsch, C. (2000). Anxiolytic-like effects of the prototypical metabotropic glutamate receptor 5 antagonist 2-methyl-6-(phenylethynyl)pyridine in rodents. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* *295*, 1267–1275.

- Spree, O. (1998). A compendium of neuropsychological tests : administration, norms, and commentary (New York: Oxford University Press).
- Spree, O., and Strauss, e. (1998). A Compendium of Neuropsychological Tests: Administration, Norms, and Commentary (Oxford University Press).
- Steen, R.G., Mull, C., McClure, R., Hamer, R.M., and Lieberman, J.A. (2006). Brain volume in first-episode schizophrenia: systematic review and meta-analysis of magnetic resonance imaging studies. *Br. J. Psychiatry* *188*, 510–518.
- Stefansson, H., Rujescu, D., Cichon, S., Pietiläinen, O.P.H., Ingason, A., Steinberg, S., Fossdal, R., Sigurdsson, E., Sigmundsson, T., Buizer-Voskamp, J.E., et al. (2008). Large recurrent microdeletions associated with schizophrenia. *Nature* *455*, 232–236.
- Stefansson, H., Ophoff, R.A., Steinberg, S., Andreassen, O.A., Cichon, S., Rujescu, D., Werge, T., Pietiläinen, O.P.H., Mors, O., Mortensen, P.B., et al. (2009). Common variants conferring risk of schizophrenia. *Nature* *460*, 744–747.
- Stuss, D.T., and Levine, B. (2002). Adult clinical neuropsychology: lessons from studies of the frontal lobes. *Annu. Rev. Psychol.* *53*, 401–433.
- Stuss, D.T., Levine, B., Alexander, M.P., Hong, J., Palumbo, C., Hamer, L., Murphy, K.J., and Izukawa, D. (2000). Wisconsin Card Sorting Test performance in patients with focal frontal and posterior brain damage: effects of lesion location and test structure on separable cognitive processes. *Neuropsychologia* *38*, 388–402.
- Sullivan, P.F., Kendler, K.S., and Neale, M.C. (2003). Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. *Arch. Gen. Psychiatry* *60*, 1187–1192.
- Sun, X., and Zhang, J. (2014). Identification of putative pathogenic SNPs implied in schizophrenia-associated miRNAs. *BMC Bioinformatics* *15*, 194.
- Szöke, A., Schürhoff, F., Mathieu, F., Meary, A., Ionescu, S., and Leboyer, M. (2005). Tests of executive functions in first-degree relatives of schizophrenic patients: a meta-analysis. *Psychol. Med.* *35*, 771–782.
- Szöke, A., Schürhoff, F., Golmard, J.-L., Alter, C., Roy, I., Méary, A., Etain, B., Bellivier, F., and Leboyer, M. (2006). Familial resemblance for executive functions in families of schizophrenic and bipolar patients. *Psychiatry Res.* *144*, 131–138.
- Takaki, H., Kikuta, R., Shibata, H., Ninomiya, H., Tashiro, N., and Fukumaki, Y. (2004a). Positive associations of polymorphisms in the metabotropic glutamate receptor type 8 gene (GRM8) with schizophrenia. *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet.* *128B*, 6–14.
- Takaki, H., Kikuta, R., Shibata, H., Ninomiya, H., Tashiro, N., and Fukumaki, Y. (2004b). Positive associations of polymorphisms in the metabotropic glutamate receptor type 8 gene (GRM8) with schizophrenia. *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet.* *128B*, 6–14.

- Tandon, R., Keshavan, M.S., and Nasrallah, H.A. (2008a). Schizophrenia, “just the facts” what we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology. *Schizophr. Res.* *102*, 1–18.
- Tandon, R., Keshavan, M.S., and Nasrallah, H.A. (2008b). Schizophrenia, “Just the Facts”: what we know in 2008 part 1: overview. *Schizophr. Res.* *100*, 4–19.
- Tandon, R., Nasrallah, H.A., and Keshavan, M.S. (2009). Schizophrenia, “just the facts” 4. Clinical features and conceptualization. *Schizophr. Res.* *110*, 1–23.
- Tien, A.Y., Schlaepfer, T.E., Orr, W., and Pearlson, G.D. (1998). SPECT brain blood flow changes with continuous ligand infusion during previously learned WCST performance. *Psychiatry Res.* *82*, 47–52.
- Tienari, P., Wynne, L.C., Moring, J., Läksy, K., Nieminen, P., Sorri, A., Lahti, I., Wahlberg, K.E., Naarala, M., Kurki-Suonio, K., et al. (2000). Finnish adoptive family study: sample selection and adoptee DSM-III-R diagnoses. *Acta Psychiatr. Scand.* *101*, 433–443.
- Torrey, E.F., Miller, J., Rawlings, R., and Yolken, R.H. (1997). Seasonality of births in schizophrenia and bipolar disorder: a review of the literature. *Schizophr. Res.* *28*, 1–38.
- Toulopoulou, T., Picchioni, M., Rijdsdijk, F., Hua-Hall, M., Ettinger, U., Sham, P., and Murray, R. (2007). Substantial genetic overlap between neurocognition and schizophrenia: genetic modeling in twin samples. *Arch. Gen. Psychiatry* *64*, 1348–1355.
- Tsuchiya, D., Kunishima, N., Kamiya, N., Jingami, H., and Morikawa, K. (2002). Structural views of the ligand-binding cores of a metabotropic glutamate receptor complexed with an antagonist and both glutamate and Gd³⁺. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *99*, 2660–2665.
- Üçok, A., Serbest, S., and Kandemir, P.E. (2011). Remission after first-episode schizophrenia: results of a long-term follow-up. *Psychiatry Res.* *189*, 33–37.
- Urraca, N., Camarena, B., Aguilar, A., Fresán, A., Apiquián, R., Orozco, L., Carnevale, A., and Nicolini, H. (2011). Association study of DRD3 gene in schizophrenia in Mexican sib-pairs. *Psychiatry Res.* *190*, 367–368.
- Ventura, J., Subotnik, K.L., Guzik, L.H., Helleman, G.S., Gitlin, M.J., Wood, R.C., and Nuechterlein, K.H. (2011). Remission and recovery during the first outpatient year of the early course of schizophrenia. *Schizophr. Res.* *132*, 18–23.
- Verma, S., Subramaniam, M., Abdin, E., Poon, L.Y., and Chong, S.A. (2012). Symptomatic and functional remission in patients with first-episode psychosis. *Acta Psychiatr. Scand.* *126*, 282–289.
- Vikelis, M., and Mitsikostas, D.D. (2007). The role of glutamate and its receptors in migraine. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets* *6*, 251–257.
- Visscher, P.M., Brown, M.A., McCarthy, M.I., and Yang, J. (2012). Five years of GWAS discovery. *Am. J. Hum. Genet.* *90*, 7–24.

- Waldorf, M. (2010a). Krankheitseinsicht, dynamisch getestete Exekutivfunktionen und defensive Bewältigung bei Schizophrenie.pdf.
- Waldorf, M. (2010b). Krankheitseinsicht, dynamisch getestete Exekutivfunktionen und defensive Bewältigung bei Schizophrenie (Osnabrück).
- Walker, K., Reeve, A., Bowes, M., Winter, J., Wotherspoon, G., Davis, A., Schmid, P., Gasparini, F., Kuhn, R., and Urban, L. (2001). mGlu5 receptors and nociceptive function II. mGlu5 receptors functionally expressed on peripheral sensory neurones mediate inflammatory hyperalgesia. *Neuropharmacology* 40, 10–19.
- Wang, W.Y.S., Barratt, B.J., Clayton, D.G., and Todd, J.A. (2005). Genome-wide association studies: theoretical and practical concerns. *Nat. Rev. Genet.* 6, 109–118.
- Ward, K.E., Friedman, L., Wise, A., and Schulz, S.C. (1996). Meta-analysis of brain and cranial size in schizophrenia. *Schizophr. Res.* 22, 197–213.
- Weiser, M., van Os, J., and Davidson, M. (2005). Time for a shift in focus in schizophrenia: from narrow phenotypes to broad endophenotypes. *Br. J. Psychiatry* 187, 203–205.
- Welsh, M., and Pennington, B. (1988). Assessing frontal lobe functioning in children: Views from developmental psychology. *Dev Psychol.* 199–230.
- Whalley, H.C., Whyte, M.-C., Johnstone, E.C., and Lawrie, S.M. (2005). Neural correlates of enhanced genetic risk for schizophrenia. *Neuroscientist* 11, 238–249.
- Wohl, M., and Gorwood, P. (2007). Paternal ages below or above 35 years old are associated with a different risk of schizophrenia in the offspring. *Eur. Psychiatry* 22, 22–26.
- Wolf, L.E., Cornblatt, B.A., Roberts, S.A., Shapiro, B.M., and Erlenmeyer-Kimling, L. (2002). Wisconsin Card Sorting deficits in the offspring of schizophrenics in the New York High-Risk Project. *Schizophr. Res.* 57, 173.
- Wong, A.H.C., Gottesman, I.I., and Petronis, A. (2005). Phenotypic differences in genetically identical organisms: the epigenetic perspective. *Hum. Mol. Genet.* 14 *Spec No*, R11–R18.
- Woodruff, P.W., McManus, I.C., and David, A.S. (1995). Meta-analysis of corpus callosum size in schizophrenia. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 58, 457–461.
- Wright, I.C., Rabe-Hesketh, S., Woodruff, P.W., David, A.S., Murray, R.M., and Bullmore, E.T. (2000). Meta-analysis of regional brain volumes in schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* 157, 16–25.
- Wu, S., Wright, R.A., Rockey, P.K., Burgett, S.G., Arnold, J.S., Rosteck, P.R., Johnson, B.G., Schoepp, D.D., and Belagaje, R.M. (1998). Group III human metabotropic glutamate receptors 4, 7 and 8: Molecular cloning, functional expression, and comparison of pharmacological properties in RGT cells. *Mol. Brain Res.* 53, 88–97.

- Wunderink, L., Nienhuis, F.J., Sytema, S., and Wiersma, D. (2007). Predictive validity of proposed remission criteria in first-episode schizophrenic patients responding to antipsychotics. *Schizophr. Bull.* 33, 792–796.
- Yang, Y., Xie, Y., and Xian, L. (2013). Breast cancer susceptibility gene 1 (BRCA1) predict clinical outcome in platinum- and taxal-based chemotherapy in non-small-cell lung cancer (NSCLC) patients: a system review and meta-analysis. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 32, 15.
- Yokoi, M., Kobayashi, K., Manabe, T., Takahashi, T., Sakaguchi, I., Katsuura, G., Shigemoto, R., Ohishi, H., Nomura, S., Nakamura, K., et al. (1996). Impairment of hippocampal mossy fiber LTD in mice lacking mGluR2. *Science* 273, 645–647.
- Yordanova, J., and Kolev, V. (1996). Brain theta response predicts P300 latency in children. *Neuroreport* 8, 277–280.
- Yung, A.R., and McGorry, P.D. (1996). The prodromal phase of first-episode psychosis: past and current conceptualizations. *Schizophr. Bull.* 22, 353–370.
- Zaharie, A., Ergul, E., Ozel, M.D., Miclutia, I.V., Stanculete, M.F., and Sazci, A. (2012). ZNF804A rs1344706 variant and schizophrenia in a Romanian population from Cluj Napoca. *Genet. Test. Mol. Biomarkers* 16, 1135–1137.
- Zakzanis, K.K., and Hansen, K.T. (1998). Dopamine D2 densities and the schizophrenic brain. *Schizophr. Res.* 32, 201–206.
- Zobel, A., and Maier, W. (2004). [Endophenotype--a new concept for biological characterization of psychiatric disorders]. *Nervenarzt* 75, 205–214.
- (2014). GRM8 Gene - GeneCards | GRM8 Protein | GRM8 Antibody.

9 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt dem Leiter der Arbeitsgruppe, Herrn Prof. Dr. med. Dan Rujescu, der es mir ermöglichte, diese Promotionsarbeit in seiner Abteilung durchzuführen.

Bei Herrn Prof. Dr. med. Peter Falkai bedanke ich mich, für die Möglichkeit der Durchführung dieser Arbeit, in der von ihm geleiteten Psychiatrischen Universitätsklinik der Ludwig-Maximilian-Universität.

Frau PD Dr. Ina Giegling danke ich für ihre umfassende Betreuung und ganz besonders für ihre Hilfestellung bei der statistischen Auswertung, sowie für das Korrekturlesen.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Frau Dr. Annette Hartmann für die vielen Erklärungen, Tipps und Tricks, geduldigen Antworten auf meine zahlreichen Fragen, sowie das Korrekturlesen.

Frau Dr. Heike Konnerth danke ich für ihre umfassende und engagierte Hilfe beim praktischen Teil dieser Promotionsarbeit.

Außerdem möchte ich allen Mitarbeitern und Doktoranden der Arbeitsgruppe Molekulare und Klinische Neurobiologie danken.

Meiner Schwester möchte ich dafür danken, dass sie immer für mich da ist und auf jede Frage eine passende Antwort hat, ohne sie wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Meinen Eltern möchte ich dafür danken, dass sie mich immer unterstützt und in jeder Situation für mich da waren.

Zuletzt möchte ich mich bei meinem Freund, für seine Unterstützung und seine geduldige, liebevolle Art bedanken.

10 Erklärung

Erklärung gemäß 2 Abs. 2 bis 4 der Promotionsordnung für die medizinische Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München vom 01. Juni 1983 in der Fassung der neunten Änderungssatzung vom 11. August 2011

Hiermit erkläre ich diese Dissertation selbstständig angefertigt zu haben, mich außer der angegebenen Hilfsmittel 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 zu haben.

Bisher habe ich an keiner Doktorprüfung teilgenommen.

Die hier vorgelegte Dissertation wurde nicht in gleicher oder ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht.

München, den 31.08.2015

Sabrina Weinreb