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

Der Einfluss von Polymorphismen des FOXP2-Gens auf die Schizophrenie und die Wortflüssigkeit

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

vorgelegt von
Ann-Katrin Beate Schultz

aus Hamburg
2018

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dan Rujescu

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Thomas G. Schulze

Mitbetreuung durch die
promovierte Mitarbeiterin: PD Dr. rer. biol. hum. Ina Giegling

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

Tag der mündlichen Prüfung: 19.07.2018

Gewidmet meinen Eltern
&
meiner Patentante Christl

Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung 5

2. Einleitung 7

2.1. Definition der Schizophrenie 7

2.2. Historische Aspekte der Schizophrenie 7

2.3. Klassifikation und Diagnostik 8

2.4. Verlauf und Prognose 10

2.5. Epidemiologie 11

2.6. Ätiopathogenese 12

2.6.1. Risikofaktoren 12

2.6.2. Morphologische Veränderung des Zentralen Nervensystems 14

2.6.3. Genetische Faktoren 15

2.7. Kopplungsanalysen 17

2.8. Assoziationsstudien 18

2.9. Endophänotypen der Schizophrenie 23

2.9.1. Kognitive Defizite und der Endophänotyp Wortflüssigkeit 25

2.10. Forkhead-Box-Proteine 27

2.10.1. Aufbau und Funktion des FOXP2 28

2.10.2. FOXP2-Gen im Zusammenhang mit Schizophrenie 30

2.10.3. FOXP2-Gen im Zusammenhang mit Wortflüssigkeit 32

2.11. Fragestellung 34

3. Material und Methoden 36

3.1. Datengewinnung 36

3.2. Vorbedingung der Studie 36

3.3. Studienteilnehmer 37

3.3.1. Kontrollgruppe 37

3.3.2. Schizophreniepatienten 39

3.4. Regensburger Wortflüssigkeits-Test 40

3.4.1. Beschreibung 40

3.4.2. Durchführung 41

3.4.3. Auswertung 42

3.4.4. Interpretation 43

3.4.5. Objektivität und Zuverlässigkeit 43

3.5. Laborverfahren 44

3.5.1. DNA-Extraktion 44

3.5.2. DNA-Konzentrationsbestimmung 45

3.5.3. Genotypisierung 48
3.5.3.1 Polymerase-Kettenreaktion 49
3.5.3.2. Dephosphorylierung mit Shrimp Alkaline Phosphatase 50
3.5.3.3. iPLEX-Extensionsreaktion 51
3.5.3.4. MALDI-TOF Massenspektrometrie 52
3.6. Statistische Auswertung 53
4. Ergebnisse 55
4.1. Die Fall-Kontroll-Assoziationsstudie 55
4.1.1. Genotypverteilung des FOXP2-Gens 56
4.1.2. Genotypverteilung des FOXP2-Gens nach dem dominanten Modell 57
4.1.3. Genotypverteilung des FOXP2-Gens nach dem rezessiven Modell 59
4.1.4 Allelfrequenz des FOXP2-Gens 60
4.2. Zusammenhang der FOXP2-SNPs mit der Wortflüssigkeit 61
4.2.1. Analyse des Wortflüssigkeit Tests des RWT 62
4.2.2. Analyse des Wortflüssigkeit-Wechsel Tests des RWT 64
4.2.3. Analyse des Wortflüssigkeit-Kategorien Tests des RWT 67
4.2.4. Analyse des Wortflüssigkeit-Kategorien-Wechsel Tests des RWT 68
4.3. Die Haplotypblockstrukturen des FOXP2-Gens 69
4.3.1. Assoziation der Haplotypen mit Wortflüssigkeit 71
4.4. Zusammenfassung der Ergebnisse 73
5. Diskussion 77
5.1. Diskussion der Methodik 78
5.2. Zusammenfassung und inhaltliche Interpretation der Ergebnisse 83
5.3. Ausblick auf zukünftige Untersuchungen 94
6. Abkürzungsverzeichnis 96
7. Literaturverzeichnis 98
8. Danksagung 114
9. Lebenslauf 115
10. Eidesstattliche Erklärung 116

1. Zusammenfassung

Die Ätiologie der Schizophrenie gilt als multifaktoriell bedingt, dennoch besteht nach dem Stand der Forschung ein starker genetischer Einfluss. Zentraler Aspekt der aktuellen Forschung und der vorliegenden Untersuchung ist die Identifizierung möglicher Suszeptibilitätsgene. Die Erforschung der Pathogenese der Schizophrenie ermöglicht die Entwicklung neuer präventiver, diagnostischer und therapeutischer Maßnahmen.

Das Forkhead Box Protein 2 (FOXP2)-Gen zählt zu den Kandidatengenen der Schizophrenie. Vorangegangene Studien zeigten, dass Mutationen des FOXP2-Gens direkten Einfluss auf mehrere Sprachentwicklungsstörungen haben. Da kognitive Defizite im Bereich der Wortflüssigkeit zu den Hauptsymptomen der Schizophrenie zählen, rückte das FOXP2-Gen in den Fokus der Forschung. Bisherige Assoziationsstudien von unterschiedlicher Stichprobengröße und Ethnizität wiesen vereinzelt eine signifikante Assoziation der Schizophrenie mit dem FOXP2-Gen hin. Molekularbiologische Untersuchungen bestätigten die Rolle des FOXP2-Gens als Transkriptionsfaktor in Prozessen der neuronalen Entwicklung, insbesondere der synaptischen Plastizität, axonalen Wegfindung und der Signaltransduktion. Außerdem bestärkte die Identifizierung des FOXP2-CNTNAP2-Pathways dessen Bedeutung in neuronalen Signalwegen.
Zur Testung des divergenten Denkens dient der Regensburger Wortflüssigkeits-Test (RWT). Hierbei wird in vier Untertests jeweils die formallexikalische und kategorial-semantische Wortflüssigkeit getestet. Vorherige Studien konnten Einschränkung der kognitiven Leistungen in Wortflüssigkeitstest bei schizophrenen Patienten bestätigen.

In der vorliegenden Fall-Kontroll-Assoziationsstudie wurden im Rahmen eines Hochdurchsatzgenotypisierungsprojekts 20 Einzelpolymorphismen des FOXP2-Gens auf eine Assoziation mit der Schizophrenie betrachtet.
Bei der Untersuchung von 929 schizophrenen Patienten und 2.288 gesunden Kontrollprobanden zeigten die drei Einzelpolymorphismen rs1852469, rs1456031 und rs1058335 eine signifikante Assoziation mit der Schizophrenie bezüglich der Allelfrequenz und Genotypverteilung. Diese Ergebnisse geben weitere Anhaltspunkte für den Einfluss des FOXP2-Gens auf die Heredität der Schizophrenie.

In der anschließenden Endophänotypen-Studie wurde der Einfluss der 20 Einzelpolymorphismen auf die Wortflüssigkeit untersucht. Für die sieben SNPs rs1852469, rs2106900, rs10269986, rs1229760, rs12705966, rs1005958 und rs4236599 konnten signifikante Unterschiede bezüglich der vier Untertests des Regensburger Wortflüssigkeits-Tests errechnet werden. Die zusätzlich durchgeführte Haplotypanalyse bestätigte einen Zusammenhang der Einzelpolymorphismen. Auffällig sind die häufigen Signifikanzen in den Untertests der formallexikalischen Wortflüssigkeit, diese liefern einen Hinweis auf die Bedeutung des FOXP2-Gens auf die Geschwindigkeit und Koordination der Abrufprozesse auf neuronaler Ebene.

Um die Rolle des FOXP2-Gens als Kandidatengen der Schizophrenie zu sichern, ist es notwendig, die vorliegenden Ergebnisse in Folgestudien zu bestätigen. In der aktuellen Literatur finden sich wenige Studien, die den Zusammenhang zwischen Einzelpolymorphismen des FOXP2-Gens und Sprachdefiziten im Vergleich zwischen Schizophreniepatienten und gesunden Probanden sowie in Gesamtstichprobe der untersuchten. Weitere Untersuchungen zur Funktionalität der beschriebenen Assoziation sind zur Kontrolle und Bestätigung notwendig. Eine Aufklärung der Rolle des Transkriptionsfaktors FOXP2 kann zu einem besseren Verständnis der Heredität der Schizophrenie und Pathophysiologie kognitiver Defizite führen.

2. Einleitung

2.1. Definition der Schizophrenie

Die Schizophrenie ist eine psychische Erkrankung aus dem Gruppe der endogenen Psychosen, die mit Einschränkungen im Bereich des Denkens und der Wahrnehmung einhergeht. Auch Affektabflachungen oder inadäquate Affekte sind zu beobachten. Dabei sind zu Beginn die intellektuellen Fähigkeiten und die Klarheit des Bewusstseins nicht beeinträchtigt, im Verlauf treten jedoch vermehrt kognitive Defizite auf. Zu den charakteristischen psychopathologischen Symptomen zählen akustische Halluzinationen in Form von Stimmen, Ich-Störungen wie Gedanken-lautwerden, Gedankenausbreitung und Gedankenentzug, Wahnwahrnehmungen und Wahngedanken sowie Denkstörungen und Negativsymptomatik (DIMDI, 2016). Die Erkrankung geht mit wesentlichen Einschränkungen der Lebensqualität und Leistungsfähigkeit einher, nur die Hälfte der Patienten erreicht nach Ausbruch der Erkrankung eine soziale Remission (Harrison et al., 2001).

2.2. Historische Aspekte der Schizophrenie

Die Geschichte der Schizophrenie reicht ins 19. Jahrhundert zurück. Erstmals beschrieb Emil Kraepelin im Jahre 1896 das komplexe Erscheinungsbild mit der Bezeichnung *Dementia praecox* (frühzeitige Verblödung) und wies damit auf den Beginn der Erkrankung im jungen Alter und deren chronischen Verlauf hin (Kraepelin, 1896).

Der Begriff Schizophrenie (Bewusstseinsspaltung) wurde 1911 durch Eugen Bleuler eingeführt. Bleuler bezieht sich dabei auf das psychopathologische Querschnittsbild, in dem er die Symptome in Grundsymptome und akzessorische Symptome unterteilt. Zu den Grundsymptomen zählen Assoziations- und Affektstörungen, Ambivalenz der Gefühle sowie Autismus. Die akzessorischen Symptome umfassen Halluzinationen, Wahnideen, formale Denkstörungen und die Katatonie (Bleuler, 1911; Moskowitz und Heim, 2011).

Mitte des 20. Jahrhunderts gliederte Kurt Schneider die Krankheitszeichen in Symptome ersten und zweiten Ranges und schuf damit erstmals Kriterien, die zur

Diagnosestellung und Krankheitsgewichtung herangezogen werden konnten. Gedankenlautwerden, -entzug, -eingebung und -ausbreitung, Wahnwahrnehmung sowie akustische Halluzinationen gelten laut Schneider als Symptome ersten Ranges und damit als pathognomisch. Zu den Symptomen zweiten Ranges zählen Wahneinfall, Halluzinationen anderer Art und Veränderungen des Affekts (Schneider, 1950).

Kay und seine Mitarbeiter haben in den 1980er Jahren für die beschriebenen Symptome eine Klassifizierung in Positiv- und Negativsymptome aufgestellt. Zu den Positivsymptomen zählen Halluzinationen, formale Denkstörungen, Wahnvorstellungen und desorganisierte Verhaltensweisen. Im Gegensatz dazu gehören Affektabflachung, Antriebsarmut, Affektverarmung sowie Verarmung der Sprache zu den Negativsymptomen (Kay et al., 1987).

2.3. Klassifikation und Diagnostik

Zur Klassifikation der Erkrankung werden zwei unterschiedliche Systeme herangezogen, zum einen das ICD-10 (International Statistical Classification of Diseases and Realated Health Problems 10. Edition) und zum anderen das DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders IV). Das DSM-IV, von der American Psychiatric Organisation formuliert, befasst sich ausschließlich mit psychiatrischen Erkrankungen, es wird vorwiegend in der Forschung eingesetzt (Saß et al., 2003). Die American Psychiatric Organisation ist hat inzwischen das DSM-V herausgegeben, die Veröffentlichung eines überarbeiteten Kapitels zum Thema Schizophrenie ist im Jahr 2017 zu erwarten (Biedermann und Fleischhacker, 2016).

Das ICD-10, das im Krankenhausbetrieb und von den Krankenkassen verwendet wird, wurde von der WHO (World Health Organisation) definiert und deckt Erkrankungen und Störungen aller Fachrichtungen ab (DIMDI, 2015a). Die WHO verfolgt inzwischen die Herausgabe der 11. Revision in Form des ICD-11 im Jahr 2018 (DIMDI, 2015b).

Laut ICD-10 müssen die Hauptsymptome über einen Zeitraum von einem Monat bestehen. Zu diesen Symptomen zählen laut WHO Halluzinationen, Wahnvorstellungen sowie Verhaltensstörungen. Bei Diagnosestellung muss eine organische Ursache der Symptomatik ausgeschlossen werden. Bei akuter Entzugs-

symptomatik oder Intoxikation darf eine Schizophrenie nicht diagnostiziert werden (WHO, 2015). Das ICD-10-GM Version 2016 teilt die Schizophrenie in neun Subtypen ein, diese sind in Tabelle 1 dargestellt.

Das DSM-IV stellt folgende Diagnosekriterien auf. Zum einen müssen zwei der Hauptsymptome über einen Monat bestehen. Zu diesen Hauptsymptomen zählen: Halluzination, Wahnvorstellungen, gestörte Sprache, psychomotorische Störungen sowie Negativsymptome in Form von Affektabflachung, Verarmung der Sprache, Antriebsarmut. Ein weiteres Kriterium ist eine berufliche oder soziale Beeinträchtigung über einen signifikanten Zeitraum nach Eintreten der Erstsymptomatik. Charakteristisch ist eine mindestens sechs Monate lange Prodromalphase mit einer ausgeprägten Negativsymptomatik. Vor Diagnosestellung müssen laut DSM-IV schizoaffektive und affektive Störungen sowie Substanzmissbrauch, Entzugssymptomatik oder organische Störungen ausgeschlossen werden (American Psychiatric Association, 2000).

In der überarbeiteten Version DSM-V ist die Unterteilung in die Subtypen paranoider, desorganisierter, katatoner, undifferenzierter und residualer Schizophrenie aufgehoben. Es wird stattdessen eine Einstufung der Hauptsymptome vorgenommen, um die Heterogenität der Symptome und deren Schweregrad bei verschiedenen Patienten darzustellen (American Psychiatric Association, 2013)

Tabelle 1:Subtypen der Schizophrenie laut ICD-10-GM Version 2016 (DIMDI, 2016)

ICD-10	**Hauptcharakteristikum**
Paranoide Schizophrenie (F20.0)	Paranoide Wahnvorstellungen
Hebephrene Schizophrenie (F20.1)	Diagnosestellung bei Jugendlichen oder jungen Erwachsenen
Katatone Schizophrenie (F20.2)	psychomotorische Störung mit wechselnder Erregung und Stupor
Undifferenzierte Schizophrenie (F20.3)	keine charakteristische Symptomatik
Postschizophrene Depression (F20.4)	depressive Episode im Anschluss an Schizophrenie
Schizophrenes Residuum (F20.5)	Progredienz der Symptomatik
Schizophrenia simplex (F20.6)	Progredienz der Negativsymptomatik, keine psychotische Symptome
Sonstige Schizophrenie (F20.8)	
Schizophrenie, nicht näher bezeichnet (F20.9)	

2.4. Verlauf und Prognose

Die Schizophrenie präsentiert sich in unterschiedlichsten Verlaufsformen, so kann es im Laufe der Krankheit zu einer kontinuierlichen oder episodischen Zu- oder Abnahme von Symptomen kommen. Zusätzlich sind Voll- oder Teilremissionen beschrieben (DIMDI, 2016). Bei einem Drittel der Patienten zeigen sich wenige Monate bis zu fünf Jahre vor Ausbruch der Krankheit prodromale Symptome. Dabei präsentieren die Patienten kognitive Defizite, depressive Verstimmungen und erste Negativsymptome (Klosterkotter et al., 2008).

Klassischerweise ist der Verlauf durch Exazerbation und Remission der psychischen Symptome gekennzeichnet (Andreasen et al., 2005). Mit einem chronischen Verlauf ist bei etwa einem Drittel der Patienten zu rechnen, deutlich häufiger bleibt es bei einem schubartigen Verlauf (Häfner et al., 2013). Im Anschluss an die psychotische Phase zeigen über ein Drittel der Patienten einen postpsychotischen Anstieg der depressiven Symptomatik (Häfner et al., 2013). Nur ungefähr ein Viertel der Patienten erreicht eine vollständige psychopathologische Remission, nur die Hälfte erreicht eine soziale Remission (Harrison et al., 2001). Über den Verlauf lässt sich sagen, dass die Positivsymptome eher ab- und die Negativsymptome zunehmen, die kognitiven Defizite bleiben meist bestehen (Tandon et al., 2009).

Die Prognose wird nach dem vorherrschenden Symptombild gestellt. So kann bei Patienten mit paranoid-halluzinatorischen Symptomen und einer Negativsymptomatik häufig ein chronischer Verlauf verzeichnet werden (Andreasen et al., 2005; Möller et al., 2011). Die Positivsymptome unterliegen einer Hyperaktivität im dopaminergen System und sprechen gut auf die antipsychotischen Medikamente an (Keshavan et al., 2008). Die Pathophysiologie der Negativsymptomatik ist noch nicht ausreichend bekannt, sodass diese relativ therapierefraktär und chronisch bleibt (Stahl und Buckley, 2007). Eine Verschlechterung der Symptomatik ist zusätzlich davon abhängig, wie lange die Schizophrenie unbehandelt bleibt (Malla et al., 2006).

Die Mortalität der an Schizophrenie erkrankten Patienten ist deutlich erhöht (Saha et al., 2007; Seeman, 2007). Olfson et al. beschreiben eine 3,5fach erhöhte standardisierte Mortalitätsrate. Die Arbeitsgruppe dokumentiert eine erhöhte Mortalität für kardiovaskuläre Erkrankungen sowie Lungenkarzinome, die sie in Bezug mit einem vermehrten Nikotinkonsum unter schizophrenen Probanden bringen (Dickerson et al., 2015; Olfson et al., 2015). Ebenso ist die Lebenserwartung im

Vergleich zur allgemeinen Bevölkerung um 11-20 Jahre verringert (Laursen et al., 2013). Diese Zahlen lassen sich zum Teil dadurch erklären, dass die Suizidrate und das Unfallrisiko unter schizophrenen Patienten deutlich erhöht ist (Brown et al., 2000; Saha et al., 2007).

2.5. Epidemiologie

Die Verteilung einer Erkrankung kann durch Inzidenz, Prävalenz und Lebenszeitprävalenz beschrieben werden. Dabei steht die Inzidenz für die Anzahl der Neuerkrankungen in einem bestimmten Zeitraum, die Prävalenz für die Gesamtzahl der Erkrankten. Die Lebenszeitprävalenz beschreibt das Risiko, während des Lebens an der Schizophrenie zu erkranken.
Die WHO schätzt die weltweite Prävalenz auf über 21 Millionen, davon sind ungefähr 12 Millionen der Erkrankten männlich und nur 9 Millionen weiblich (WHO, 2015)
Eine von Saha et al. durchgeführte Metaanalyse im Jahre 2005 präsentierte eine Punktprävalenz von 4,6 Erkrankten auf 1.000 Einwohner mit einem Konfidenzintervall von 80% (Saha et al., 2005).
Die korrekte Einschätzung dieser Zahlen ist jedoch dadurch deutlich erschwert, dass es keine eindeutigen pathognomischen Merkmale zur Diagnosestellung der Schizophrenie gibt und das Krankheitsbild äußerst variabel ist (Eaton et al., 2007). Dennoch zeigte eine Metaanalyse aller von 1965 bis 2001 publizierten Studien eine mittlere jährliche Inzidenz von 15,2 Fällen auf 100.000, mit einem Konfidenzintervall von 80%. Die Daten wurden 55 Studien aus 33 Ländern entnommen (McGrath et al., 2004). Es konnte gezeigt werden, dass im Gegensatz zu vorherigen Annahmen die Inzidenzrate zwischen den unterschiedlichen Länder wenig variiert (Saha et al., 2006). Ein höheres Risiko an Schizophrenie zu erkranken präsentierte sich bei Patienten, die in Städten geboren und aufgewachsen waren. Die Faktoren, die dieses Risiko erklären, sind noch ungeklärt (March et al., 2008). Es werden jedoch zwei Hypothesen aufgestellt. Einerseits könnte das Aufwachsen im urbanen Umfeld zu der Erkrankung führen (*breeder hypothesis*), andererseits könnten an Schizophrenie erkrankte Personen bevorzugt in urbane Gebiet migrieren (*selection hypothesis*) (Tandon et al., 2008).

Saha et al. schätzen die Lebenszeitprävalenz für Schizophrenie auf 0,3-2,0% mit einem Durchschnitt von 0,7% (Saha et al., 2005). Lange wurde angenommen, dass sich dieses Risiko zwischen Frauen und Männern nicht unterscheidet (Wyatt et al., 1988). In neueren Studien wird jedoch ein 1,4fach erhöhtes Risiko für das Auftreten der Erkrankung bei Männern mit einem früheren Krankheitsbeginn aufgezeigt (Abel et al., 2010; McGrath et al., 2004). Obwohl sich die Diagnosekriterien über die letzten Jahrzehnte immer wieder veränderten, ist die Beschreibung und das Vorkommen von Schizophrenie relativ stabil (Tandon et al., 2008).

2.6. Ätiopathogenese

2.6.1. Risikofaktoren

Die genaue Ätiologie der Schizophrenie ist bis dato nicht ausreichend geklärt, obwohl diese seit Jahrzehnten Thema der Forschung ist. Es kann jedoch, durch Studien erwiesen, von biologischen und psychosozialen Risikofaktoren ausgegangen werden, die das Auftreten der Schizophrenie begünstigen (Tandon et al., 2008).

In der pränatalen Periode werden mütterliche Infektionen, wie Influenzainfektionen, im ersten und frühen zweiten Trimenon mit einem erhöhten Auftreten der Schizophrenie in Verbindung gebracht (Meyer et al., 2007; Penner und Brown, 2007). Auch wenn die neurobiologischen Mechanismen nicht vollständig aufgeklärt sind, wird davon ausgegangen, dass die mütterliche Immunantwort auf die Infektion mit der Hirnentwicklung interferiert (Ashdown et al., 2006). Zusätzlich wirken sich der Mutter widerfahrene schwere Lebensereignisse und Mangelernährung, besonders während des ersten Trimenons, negativ auf das Erkrankungsrisiko aus. Es wird davon ausgegangen, dass die Sensibilisierung auf Stress während des ersten Trimenons Auswirkungen auf die Entwicklung des Gleichgewichts im glutaminergen und noradrenergen Systems hat und somit Einfluss auf die Entwicklung der Schizophrenie nimmt (Khashan et al., 2008; Picker und Coyle, 2005).
Eine 1999 von Geddes et al. durchgeführte Metaanalyse von 12 Studien zeigte eine signifikante Assoziation zwischen der Erkrankung an Schizophrenie und Geburtskomplikationen. Dazu zählten ein frühzeitiger Blasensprung, ein Geburtsalter

von unter 37 Wochen und der Gebrauch eines Brutkastens nach der Geburt (Geddes et al., 1999). Eine dänische Fall-Kontroll-Assoziationsstudie konnte 2007 weitere Geburtskomplikationen als Risikofaktoren identifizieren. Eine signifikant erhöhte Anzahl an Erkrankungen trat bei Kindern auf, deren Mütter an keinen pränatalen Untersuchungen teilnahmen, die ein Geburtsalter unter 37 Wochen hatten, bei mütterlicher Influenzainfektion, Präeklampsie, einer drohenden Frühgeburtlichkeit und Hämorrhagie während der Geburt (Byrne et al., 2007). Susser et al. beschreiben in ihrer Studie ein erhöhtes Erkrankungsrisiko für Kinder, die mit Anzeichen einer chronisch fetalen Hypoxie geboren wurden (Susser et al., 2011)

Als weitere Risikofaktoren zählen präpartale maternale Infektionen. So wurde in mehreren Studien ein erhöhtes Erkrankungsrisiko bei Nachkommen von Müttern mit präpartalen Influenza-Infektionen festgestellt (Cai et al., 2015; Meyer et al., 2007). Auch Nielsen et al. beschreiben eine signifikante Risikoerhöhung bei Kindern deren Mütter während des zweiten Trimenons aufgrund allgemeiner Infektionen hospitalisiert waren (Nielsen et al., 2013). Eine weitere Studie zeigte einen signifikanten Zusammenhang mit der Erhöhung von Zytomegalie-Virus-Antikörpern und Toxoplasmose gondii-Virus-Antikörpern bei Patienten, die akut an Schizophrenie erkrankten (Leweke et al., 2004). Die Erhöhung der IgG-Antikörper gegen Herpes-simplex-2 lässt sich auf eine präpartale Infektion der Mutter zurückführen, die in einer dänischen Studie mit einer signifikanten Risikoerhöhung um 50% assoziiert ist (Mortensen et al., 2010). Auch die Erhöhung der IgG-Antikörper gegen Toxoplasmose gondii aufgrund präpartaler oder peripartaler Infektionen der Patienten führt zu einem erhöhten Erkrankungsrisiko (Mortensen et al., 2007).

Neben den endogenen Faktoren spielen auch eine Reihe exogener Faktoren eine Rolle in der Entwicklung der Schizophrenie. Eine Metaanalyse von 18 Studien, die in dem Zeitraum von 1977 bis 2003 veröffentlicht wurden, konnte die Migration als einen Risikofaktor identifizieren. Das relative Risiko an Schizophrene zu erkranken lag bei 2,7% für Immigranten der ersten Generation und bei 4,5% ihrer Nachkommen, es ist somit signifikant erhöht (Cantor-Graae und Selten, 2005). Dealberto beschreibt in seiner Studie ein erhöhtes Risiko für Schizophrenie unter Immigranten, die vorwiegend durch die Risikoerhöhung bei afro-amerikanischen Individuen bedingt ist (Dealberto, 2010).

Tessner et al. untersuchten in einer Longitudinalstudie die Hypothese, psychosozialer Stress erhöhe das Erkrankungsrisiko. Dabei zeigte sich, dass die Anzahl an unabhängigen und unerwünschten Lebensereignissen mit dem Auftreten prodromaler Symptome korrelierte. Zudem zeigte sich ein Anstieg der positiven Symptomatik in Abhängigkeit zu einer erhöhten Anzahl an täglichen Stressoren (Tessner et al., 2011). Des Weiteren wird Cannabisabusus in der Jugend zu den Risikofaktoren gezählt (McGrath et al., 2010; Moore et al., 2007).
Maynard et al. fassen das Zusammenspiel der exogenen und endogenen Faktoren für den Krankheitsausbruch in ihrer *„two-hit"-Hypothese* zusammen. Diese besagt, dass es während der frühen Entwicklung zu einem *„first hit"* im Sinne einer Fehlentwicklung der zellulären Signalwege kommt, in dessen Folge die Vulnerabilität ansteigt. Ein *„second hit"* während der Adoleszenz, wie das Eintreten oben beschrieben exogener Risikofaktoren, führt demnach zum Auftreten der Erkrankung (Maynard et al., 2001).

2.6.2. Morphologische Veränderung des Zentralen Nervensystems

Durch die Entwicklung neuerer Bildgebungsverfahren wie der Computertomographie (CT) und der Magnetresonanztomographie (MRT) ist eine genauere Untersuchung der Hirnstrukturen *in vivo* möglich. Es konnte über Volumenänderungen spezifischer Hirnregionen berichtet werden. Diese Berichte überschneiden sich jedoch häufig mit Volumenanomalitäten bei Patienten anderer psychischer Erkrankungen (Harrison, 1999).
Durch mehrere Studien und Metaanalysen konnte gezeigt werden, dass sowohl das gesamte Hirnvolumen als auch das Volumen der grauen Substanz reduziert ist. Im Gegensatz dazu zeigt sich das Ventrikelsystem erweitert (Shenton et al., 2001; Steen et al., 2006). Die Reduktionen bestehen im Temporallappen im Bereich des Hippocampus, der Amygdala und des Gyrus temporalis superior (Nelson et al., 1998), im präfrontalen Cortex und im Thalamus (Konick und Friedman, 2001) sowie im Corpus callosum (Woodruff et al., 1997).
Eine von Shapleske et al. durchgeführte Metaanalyse von MRT-Bildern erwies eine Reduktion der Linksasymmetrie im Planum temporale. Gesunde Kontrollen präsentieren eine relative Vergrößerung des rechten Frontallappens und eine damit

einhergehende relative Verkleinerung des linken Temporallappens. Im Gegensatz dazu liegt bei den schizophrenen Probanden eine Vergrößerung des rechtsseitigen Areals vor. Das Planum temporale liegt im Gyrus cinguli superior und umfasst Teile des Wernicke-Sprachareals (Shapleske et al., 1999). Diese reduzierte Asymmetrie präsentiert sich in weiteren Studien relativ spezifisch für schizophrene Patienten (Falkai et al., 1995). Li et al. dokumentieren in einer fMRI-Studie, die eine Bildgebung mit einer lexikalische Entscheidungsaufgabe koppelt, eine signifikant verminderte Aktivität des bilateralen inferioren frontalen Lobus bei schizophrenen Patienten (Li et al., 2007). Mittels Voxel-basierter Morphometrie lässt sich die Dichte der grauen Substanz messen. Honea et al. fanden Reduktionen im Bereich der medialen Temporallappens und des Gyrus temporalis superior (Honea et al., 2005). Zudem zeigte eine weitere Metaanalyse eine signifikante Ventrikelvergrößerung bei affektiven Störungen, die Ventrikel bei schizophrenen Probanden waren darüber hinaus deutlich vergrößert (Falkai et al., 1995).
Eine weitere von Steen et al. durchgeführte Metaanalyse zeigt, dass strukturelle MRT-Veränderung ab Beginn der Erkrankung vorhanden sind (Steen et al., 2006) Des Weiteren sind schwerwiegendere strukturelle Anomalitäten mit einem früheren Ausbruch der Erkrankung assoziiert sind (Kyriakopoulos und Frangou, 2007). Außerdem zeigte eine *Follow-up* Studie bei Kontrollen mit hohem genetischen Risiko eine progressive Volumenreduktion in Bereichen der Amygdala, des Hippocampus und des Thalamus (Job et al., 2005)

2.6.3. Genetische Faktoren

Die Ätiologie der Schizophrenie ist deutlich komplizierter als die einer einfachen genetischen Störung nach Mendelschen-Gesetzen. Die Idee eines oder weniger Hauptgendefekte wurde in mehreren *Genom-Wide-Association-Studies* (GWAS) getestet. In diesen Untersuchungen konnten jedoch selten einzelne Gendefekte mit einer genomweiten Signifikanz als Ursache für das Auftreten der Schizophrenie ermittelt werden. Vielmehr kommt es zu einem Zusammentreffen vieler kleiner Effekte mit genomweiter Sifnifikanz, die im Zusammenspiel einen Einfluss auf das Auftreten und die Ausprägung der Schizophrenie nehmen. Es wird somit davon ausgegangen, dass es sich bei der Schizophrenie um eine multifaktorielle genetische

Störung handelt (Gejman et al., 2010). Es wird angenommen, dass mehrere Gene zur Vererbung beitragen und entsprechende exogene Risikofaktoren mit diesen interagieren und zum Auftreten der Erkrankung führen (Gejman et al., 2010). Nach dem Schwellenmodell von Sawa und Snyder kommt es erst zum Auftreten der Schizophrenie, wenn eine bestimmte Schwelle durch multifaktoriell bedingte Ereignisse überschritten wird (Sawa und Snyder, 2002).

Schon in den 60er Jahren konnte in einer Serie von Adoptionsstudien das Risiko an Schizophrenie zu erkranken untersucht werden. Dabei wurde das Erkrankungsrisiko von adoptierten Kindern untersucht, deren biologischen Eltern erkrankt waren. Es stellte sich heraus, dass das Risiko an Schizophrenie zu erkranken mit dem Auftretende der Erkrankung bei den biologischen Eltern korrelierte. Wurden Kinder biologisch gesunder Eltern von schizophrenen Eltern adoptiert, stieg das Erkrankungsrisiko nicht an (Heston, 1966; Kety et al., 1968).

In darauffolgenden Zwillingsstudien konnte eine dreifach erhöhte Konkordanz-Rate für die Erkrankung bei monozygoten gegenüber dizygoten Zwillingen festgestellt werden. Dizygote Zwillingen teilen zu ca. 50% ihr genetisches Material und zeigen ein Erkrankungsrisiko für den Zwilling von 10-15%. Das Erkrankungsrisiko für Geschwister schizophrener Patienten ist vergleichbar hoch, da diese auch 50% ihres genetischen Materials teilen. Im Gegensatz dazu zeigen monozygote Zwillinge schizophrener Patienten ein Erkrankungsrisiko von 40-50% (Gottesman et al., 1987; Sullivan et al., 2003). Dabei muss jedoch erwähnt werden, dass monozygote Zwillinge sich unter denselben intrauterinen Umständen entwickeln. Es wirken die gleichen Umweltfaktoren auf ihre Entwicklung und somit auch auf ihr Erkrankungsrisiko ein. Aufgrund einer von Sullivan et al. durchgeführten Metaanalyse von 12 Zwillingsstudien geht man heute davon aus, dass die Heritabilität der Schizophrenie bei ca. 81% liegt (Sullivan et al., 2003).

So beschreiben Gottesmann et al. in einer dänischen Kohortenstudie, dass das Erkrankungsrisiko für Kinder mit einem erkrankten Elternteil auf 7,0% bei zwei erkrankten Elternteilen auf 27,3% ansteigt. Es liegt somit deutlich über dem durchschnittlichen Erkrankungsrisiko der Bevölkerung von 1% und weißt auf die Vererbbarkeit der Schizophrenie hin (Gottesman et al., 2010).

Da eine genetische Komponente sicherlich zur Erkrankung beträgt, die genetischen Mechanismen jedoch noch nicht vollständig geklärt sind, entwickelten Allen et al. die Online-Datenbank *Szgene*. Genomweite Assoziationsstudien haben etliche

chromosomale Regionen identifiziert, die mit der Schizophrenie assoziiert sind und jährlich werden über 150 neue Studien veröffentlicht (Allen et al., 2008). Ein besonderes Problem stellt daher die Sammlung und Interpretation der Ergebnisse dar. Allen und ihre Mitarbeiter dokumentierten in der Metaanalyse von 118 Assoziationsstudien 24 Genvarianten auf 16 verschiedenen Genen mit einem signifikanten Effekt auf das Erkrankungsrisiko für Schizophrenie. Bis zu einer letzten Aktualisierung Ende 2011 wurden insgesamt 1008 Gene und 8.788 Polymorphismen untersucht (Allen et al., 2008). Die vorhandenen Daten können durch Analyse und Zusammenführung mit aktuellen Forschungsergebnissen neue Erkenntnisse im Bereich der genetischen Epidemiologie der Schizophrenie erbringen.

2.7. Kopplungsanalysen

Kopplungsanalysen werden in Familien eingesetzt, in denen mehrere Angehörige an Schizophrenie erkrankt sind. Es werden einzelne Regionen oder das gesamte Genom untersucht, um einen Zusammenhang mit der Erkrankung festzustellen. Es wird beispielsweise danach gesucht, welche chromosomalen Veränderungen nur bei den erkrankten Angehörigen auftreten (Tandon et al., 2008).

Bei schizophrenen Probanden konnte vermehrt über strukturelle Chromosomenaberrationen berichtet werden. Diese Ergebnisse implizieren, dass sich in diesen Regionen potentielle Risikogene befinden. Zu diesen Aberrationen zählen eine Deletion des Chromosom 22q11, eine balancierte reziproke Translokation 1q42/11q14 und eine das X-Chromosom betreffende Mutation (Blackwood et al., 2001; DeLisi et al., 1994; Williams et al., 2006). In einer Metaanalyse von 20 genomweiten Scans konnten Lewis und seine Mitarbeiter folgende Chromosomenregionen identifizieren, die Suszeptibilitätsgene enthalten: 1p13-q23, 1q23-q31, 2p12-q22, 2pter-q12, 2q22-q23, 3p25-p22, 5q23-q34, 6p22-p21, 6pter-p22, 6q15-q23, 8p22-p21, 10pter-p14, 11q22-q24, 14pter-q13, 15q21-q26, 16p13-q12, 17q21-q24, 18q22-qter und 20p20-p11 (Lewis et al., 2003). Eine genomweiter Scan bei Geschwistern konnte noch folgende Regionen detektieren: 10p15-p13, Centromer 2 und 22q12 (DeLisi et al., 2002).

Ng et al. führten 2009 eine Metaanalyse an 32 genomweiten Kopplungsanalysen durch. Eine Analyse von 3.255 Familien mit 7.413 an Schizophrenie erkrankten

Angehörigen ergab eine signifikante Assoziation folgender chromosomaler Loci mit der Schizophrenie: 1p32.2-31.1, 1p13.2-q23.3, 2q12.1-21.2, 2q21.2-31.1, 2q33.3-36.3, 3p14.1-q13.32, 5q31.3-35.1, 5q35.1-35.3, 6p21.31-12.1, 8p22-12 und 10q26.12-26.3, 16p13.12-q12.2 (Ng et al., 2009).
In einer genomweiten Kopplungsanalyse untersuchten Ryu et al. die Assoziation mehrdimensionaler Phänotypen bei schizophrenen Probanden mit chromosomalen Regionen. Dafür genotypisierte die Arbeitsgruppe 6008 Einzelpolymorphismen in 56 Familien mit insgesamt 123 erkrankten Angehörigen. Es ergab sich ein Hinweis auf eine Kopplung zwischen dem Symptomkomplex prodromaler Einschränkungen und den Chromosomregionen 7q31.1 (korrigierter p-Wert=0,006) und 2p.24.3 (korrigierter p-Wert=0,009) (Ryu et al., 2013). Eine vorausgegangene Studie errechnete eine Assoziation zwischen der kindlichen und jugendlichen Soziabilität und der Schizophrenie für einen SNP im RELN-Gen, das sich auch auf dem Chromosom 7q31.1 befindet (Liu et al., 2010).

Kopplungsanalysen können jedoch nicht die Risikogene an sich, sondern nur die chromosomalen Regionen, in denen diese liegen, identifizieren. Hinzukommt, dass die statistische *Power* solche Kopplungen zu erkennen von der Stichprobengröße abhängt und Gene mit relativ geringen Effekten übersehen werden. Zudem gibt es Schwierigkeiten große Familien mit einer adäquaten Anzahl an erkrankten Familienmitgliedern zu finden.
Die Sensitivität wird durch die genetische Heterogenität und die Anwesenheit etlicher unabhängiger Risikogene zusätzlich reduziert (Sawa und Snyder, 2002).

2.8. Assoziationsstudien

Assoziationsstudien funktionieren im Sinne von Fall-Kontroll-Studien und beurteilen die Beziehung zwischen bestimmten Genvarianten und dem Auftreten einer Erkrankung. Diese Studien eignen sich, um Gene mit relativ geringen Effekten zu detektieren, da geprüft wird, ob eine Veränderung überzufällig häufig auftritt. Mit Hilfe von genomweiten Assoziationsstudie (GWAS) konnten mehrere Suszeptibilitätsgene detektiert werden.

Eine vom International Schizophrenia Consortium durchgeführte GWAS untersuchte Einzelnukleotidpolymorphismen (*single nucleotid polymorphism*, SNP) im Major Histocompatibility Complex (MHC) auf Chromosomen 6, die einen Anhalt auf eine signifikante Assoziation mit der Erkrankung lieferten. In zwei weiteren GWAS mit insgesamt 8.008 Schizophrenie-Patienten und 19.077 gesunden Kontrollen konnten diese Ergebnisse bestätigt werden, sodass elf SNPs in der MHC-Region genomweite Signifikanz erreichten (Shi et al., 2009; Stefansson et al., 2009).

Stefansson und seine Mitarbeiter untersuchten an dem *SGENE*-Kollektiv, das aus 2.663 Patienten und 13.498 gesunden Kontrollen europäisch-stämmiger Herkunft bestand, weitere Marker genomweiter Signifikanz. So konnten sie einen Polymorphismus identifizieren, der das Neurogranin-Gen (NRGN) auf Chromosom 11 betrifft, sowie einen in der Nähe des TCF4-Gens auf Chromosom 18 (Stefansson et al., 2009).

Shi et al. führten eine weitere GWAS an 1.200 schizophrenen Patienten und 973 Kontrollprobanden durch. Er konnte dabei einen weiteren Polymorphismus in der Nähe des CENTG2-Gens auf Chromosom 2, dessen Produkt ein GTPase-Aktivator ist, mit genomweiter Signifikanz identifizieren (Shi et al., 2009).

O'Donavan et al. führten eine GWAS an 500 schizophrenen Probanden und 2.000 gesunden Kontrollpersonen europäischer Abstammung durch. Dabei untersuchten sie 50.000 SNPs auf genomweite Signifikanz. Die signifikanten SNPs wurden daraufhin in drei unabhängigen Stichproben auf ihre Replikation überprüft. Ein Polymorphismus der das ZNF804A-Gen betrifft zeigte in diesen Kontrollstudien genomweite Signifikanz (O'Donovan et al., 2008; Riley et al., 2010).

Ripke et al. führten 2013 eine GWAS an einer umfassenden schwedischen Stichprobe durch, deren Ergebnisse sie anschließend mit einer Metaanalyse vorangegangener GWAS verglichen (Ripke et al., 2013). Im ersten Teil der Studie untersuchten sie Einzelpolymorphismen von genomweiter Signifikanz an 5.001 schizophrenen Patienten und 6.243 gesunden Kontrollprobanden. Dabei berechneten sie eine Signifikanz für 241 SNPs in der MHC-Region auf Chromosom 6 und bestätigten damit die in vorangegangenen Studien berichtete Assoziation mit der Schizophrenie (PGC, 2011). Für 71 Einzelpolymorphismen auf dem Chromosom 2, die C2orf69, C2orf47 und TYW5 umfassten, konnte erstmalig eine Assoziation mit der Schizophrenie beschrieben werden (Ripke et al., 2013). Im zweiten Teil der Studie führten Ripke et al. eine erneute Analyse der Daten des Psychiatric Genomics

Consortiums (PGC) durch. In einer Stichprobe von 8.832 Patienten und 12.067 gesunden Kontrollen konnten sie für Einzelpolymorphismen in folgenden fünf Regionen genomweite Signifikanz errechnen: der MHC Komplex auf Chromosom 6, AS3MT-CNNM2-NT5C2 auf Chromosom 10, MAD1L1 auf Chromosom 7 RP11-586K2.1 auf Chromosom 8 und TCF4 auf Chromosom 18. Anschließend führten sie eine Metaanalyse der im ersten Teil durchgeführten Studie und fünf weiterer unabhängiger Studien durch, sodass sie eine Stichprobengröße von insgesamt über 21.000 Patienten und 38.000 Kontrollen untersuchten. In Tabelle 2 sind die von Ripke et al. errechneten 22 chromosomalen Loci beschrieben, in denen die Einzel-polymorphismen von genomweiter Signifikanz liegen.

Tabelle 2: Beschreibung der 22 Loci von genomweiter Signifikanz (Ripke et al., 2013)

Chromosomen	**Vorherige Assoziation**	**Kandidatengen**
1	SZ	(MIR137, 37kb)
	keine	(x10NST00000415686.1, 4kb)
	keine	AKT3, SDCCAG8
2	keine	QPCT
	keine	ZEB2
	keine	FONG
	keine	C2orf82
3	SZ, BPS	ITIH3
5	keine	ENST00000506902.1
	keine	ENST00000503048.1
	keine	SLCO6A1
6	SZ	HLA-DRB9
7	keine	MAD1L1
8	keine	TSNARE1
	SZ	Intergenetisch
10	SZ	C10orf32-AS3MT
	5 psychiatr. Störungen	CACNB2
11	keine	(SNX19, 31kb)
12	SZ, BPS	CACNB2
	keine	C12orf65
18	keine	(ENST00000565991.1, 21kb)
19	BPS	(MAU2, 4kb)

SZ: Schizophrenie, BPS: Bipolare Störung

Vorherige Studien beschrieben für fünf dieser Loci eine alleinige Assoziation mit der Schizophrenie (MHC, WBP1L, DPYD-MIR137, SDCCAG8, MMP16) (PGC, 2011; Shi et al., 2009; Stefansson et al., 2009).
Für drei weitere Loci konnte eine Assoziation mit der Schizophrenie sowie einer Bipolaren Störung beschrieben werden (CACNA1C, CACNB2, ITIH3-ITIH4) (Ferreira et al., 2008; Hamshere et al., 2013; PGC Bipolar Disorder Working Group, 2011; Purcell et al., 2009).

Von besonderem Interesse ist die erneute Signifikanz des SNP in CACNA1C, das die Poren-formende $Alpha_{1c}$-Einheit des Calcium-Kanals kodiert, sowie die erstmals beschriebene Signifikanz für den SNP in CACNB2, der die $Beta_2$-Untereinheit kodiert. Beide Untereinheiten bilden gemeinsam den spannungsabhängigen L-Typ-Kalziumkanal, der bedeutend für das Lernen, das Gedächtnis und die synaptische Plastizität ist (Moosmang et al., 2005; White et al., 2008).
Zusätzlich konnten Ripke et al. eine genomweite Signifikanz für ein mit MIR137 assoziierten SNP errechnen. Damit bestätigen sie die Ergebnisse des PGC bezüglich der Rolle des MIR137 in der Ätiologie der Schizophrenie (Ripke et al., 2013). Das PGC beschrieb 2011 erstmals die Rolle des MIR137 als Regulator der neuronalen Entwicklung. In der 17.836 schizophrene Patienten und 33.859 gesunde Probanden umfassenden Metaanalyse konnten für fünf neue Regionen (1p21.3, 2q32.3, 8p23.2, 8q21.3 und 10q24.32-q24.33) und zwei zuvor beschriebene (6p21.32-p22.1 und 18q21.2) eine genomweite Signifikanz errechnet werden (PGC, 2011). Die stärkste Assoziation 1p21.3 liegt innerhalb des Intron 3 des AK094607, das das Transkript für MIR137 enthält (Bemis et al., 2008).
MIR137 spielt eine Rolle in der Regulation in der Neurogenese und der neuronalen Reifung, daher könnten Variationen an diesem Gen zu der Entwicklung von Hirnanomalitäten bei der Schizophrenie beitragen (PGC, 2011; Smrt et al., 2010; Szulwach et al., 2010).
Das PGC führte 2014 eine erneute GWAS an 36.989 schizophrenen Patienten und 113.075 gesunden Probanden durch. Dabei konnten sie 128 Einzelpolymorphismen in 108 unabhängigen Loci mit genomweiter Signifikanz identifizieren, von denen 83 SNPs zuvor nicht beschrieben wurden. Von besonderem Interesse sind die Assoziationen zwischen Genen, deren Funktion die Hypothese über die Ätiologie und die Therapieoptionen bestätigen, diese sind in Tabelle 3 dargestellt (PGC, 2014).

Dazu zählt DRD2 als effektives Ziel der antipsychotischen Medikamente sowie GRM3, GRIN2A, SRR und GRIA1, die in Prozesse der glutamergen Neurotransmission und synaptischen Plastizität eine Rolle spielen. Zusätzlich identifizierten sie eine Assoziation mit CACNA1C, CACNB2 sowie CACN11, die die spannungsabhängige Untereinheit des Calciumkanals kodieren und somit auf die glutamerge Neurotransmission nehmen (Ferreira et al., 2008; PGC, 2014).

Tabelle 3: Beschreibung der Genloci von genomweiter Signifikanz (PGC, 2014)

Funktion	Genlocus	Kandidatengen
G-Protein-gekoppelter Rezeptor	11q23.2	DRD2
	7q21.12	GRM3
glutamerge Neurotransmission	16p13.2	GRIN2A
	5q33.2	GRIA1
	17p13.3	SRR
	4q33	CLCN3
neuronale Calcium-Signaltransduktion	22q13.1	CACNA1I
	6q12-13	RIMS1
		CACNA1C, CACNB2, CAMKK2, NRGN, ATP2A2
synaptische Plastizität	16p11.2	KCTD13
	Xp21.33-32	NLGN4X
neuronale Ionen-Kanäle	11q25	IGSF9B
	3p26.3	CNTN4
	5q14.3	MEF2C
	7q33	PTN
	Xp22.12	CNKSR2
	15q14	PAK6
	6q14.2	SNAP91
	20q13.13	KCNB1
	5p21	HCN1
	15q25.1	CHRNA3, CHRNA5, CHRNB4
Neuroentwicklung	3q26.33	FXR1
	2q33.1	SATB2
		PODXL, BCL11B, TLE1, TLE3, FAM5B

Neben den GWAS können auch kleinere Assoziationsstudien durchgeführt werden, die lediglich die Assoziation der SNPs eines Gens mit der Schizophrenie untersuchen. Hierbei kann für ein zuvor bestimmtes Kandidatengen das Auftreten der SNPs zwischen einer Stichprobe von schizophrenen Patienten und gesunden Kontrollen verglichen werden. Auf diese Art und Weise können signifikante Assoziationen sensitiver als in Kopplungsanalysen ermittelt werden (Foulkes, 2009).

Vorherige Studien gaben überzeugende Hinweise auf eine Beziehung zwischen FOXP2 und Sprachstörungen (Lai et al., 2001; Vernes et al., 2008). Da Sprachstörungen zu den Hauptsymptomen der Schizophrenie zählen, kommt das FOXP2-Gen als ein weiteres Kandidatengen in Frage.

Sanjuan et al. untersuchten in einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie 186 Schizophrene mit auditorische Halluzinationen und 160 gesunde Probanden. Sie konnten eine signifikante Assoziation nach Bonferroni-Korrektur (p=0,027) für den SNP rs2396753 des FOXP2-Gens bei Schizophreniepatienten berechnen (Sanjuan et al., 2006).

Tolosa und seine Mitarbeiter untersuchten 27 SNPs an 293 Patienten und 340 gesunden Kontrollen. Dabei wurden nicht nur Patienten und Kontrollen verglichen, sondern auch Patienten mit und ohne auditorische Halluzinationen. In einem ersten Schritt beobachteten sie eine signifikante Assoziation des SNP rs10447760 mit der Schizophrenie, dieser hielt der Bonferroni-Korrektur jedoch nicht stand. In einem zweiten Schritt verglichen sie Patienten mit auditorischen Halluzinationen und gesunde Probanden. Dabei konnten sie eine Signifikanz für die SNPs rs2396753 und rs17137124 errechnet werden, beide hielten der Bonferroni-Korrektur ebenfalls nicht stand (Tolosa et al., 2010).

Eine 2013 von Li et al. durchgeführte Studie beschreibt eine signifikante Assoziation des SNPs rs10447760 des FOXP2-Gens mit der Schizophrenie. Für die Studie wurden 1.135 schizophrene Patienten und eine gleiche Anzahl gesunde Probanden der chinesischen Han-Population untersucht. Nach Bonferroni-Korrektur wurde eine signifikante Assoziation für den SNP rs10447760 (p=0,00838) berechnet. Der untersuchte SNP in 5'UTR liegt in einer nicht-kodierenden Region des FOXP2-Gens. Es gibt daher noch keinen Hinweis auf die Funktionalität des SNPs (Li et al., 2013).

Da jedoch über mehrere Mutationen im FOXP2-Gen bei verbaler Dyspraxie berichtet wurde, sind weitere Assoziationsstudien bezüglich der Schizophrenie indiziert (Bacon und Rappold, 2012).

2.9. Endophänotypen der Schizophrenie

Das Konzept des Genotyps und Phänotyps wurde durch den dänischen Botaniker Wilhelm Johansson im Jahre 1909 entwickelt. Er wies aber auch daraufhin, dass derselbe Genotyp zu einer hohen Anzahl an Phänotypen führen und dass

gleichzeitig ein Phänotyp auf einer hohen Anzahl an Genotypen basieren kann (Johannsen, 1909). Somit ist der Erkrankungsphänotyp selten ein guter Indikator des Genotyps (siehe Abbildung 1) (Sturtevant, 1965; Zobel und Maier, 2004). Ein weiteres Problem tritt bei Erkrankungen auf, die weder der klassischen noch der Mendelsonschen Genetik folgen, denn bei komplexeren Erbgängen ist der Genotyp nicht als Indikator des Phänotyps zu verwenden (Province et al., 2001; Sing et al., 1994).

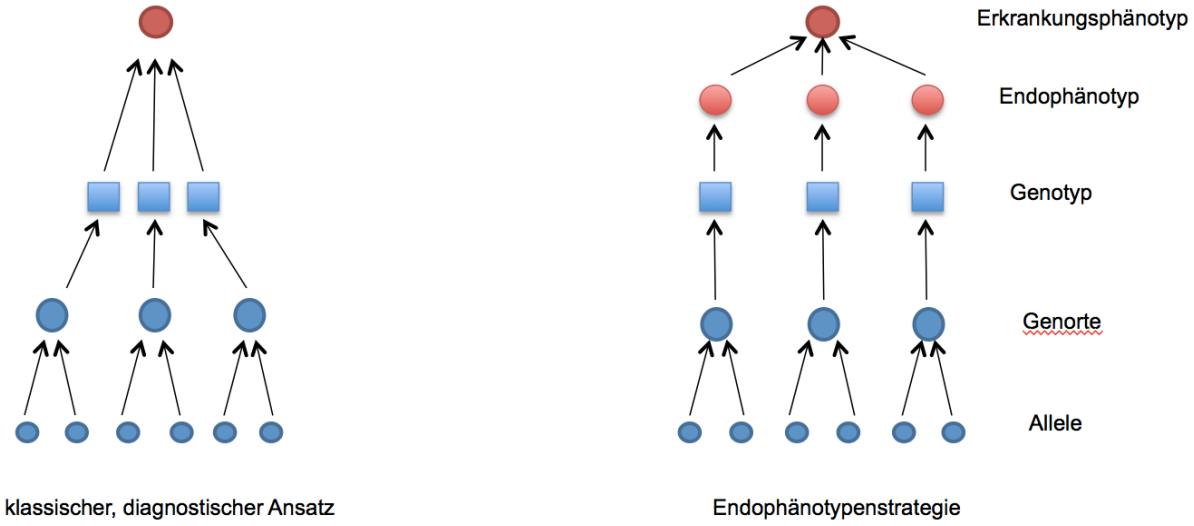


Abbildung 1: Konzept der Endophänotypen (Zobel und Maier, 2004)

Im Jahre 1972 führten Gottesmann und Shields das Konzept der Endophänotypen in der Psychiatrie ein, das 2003 von Gottesmann und Gould erneut aufgenommen und erweitert wurde. Dieser Begriff füllte die Lücke zwischen den vorhandenen Deskriptoren, die zwischen den Genen und den schwer definierbaren psychiatrischen Erkrankungen bestand (Gottesman und Gould, 2003; Shields und Gottesman, 1972).

Gottesmann und Gould stellten folgende Kriterien für den Endophänotypen auf:

1. Der Endophänotyp ist assoziiert mit der Erkrankung.
2. Der Endophänotyp ist vererbbar.
3. Der Endophänotyp ist vorerst unabhängig vom Krankheitsstadium.
4. Innerhalb der Familien wird der Endophänotyp mit der Erkrankung weitervererbt.

5. Der Endophänotyp der erkrankten Familienmitglieder findet sich in gesunden Familienmitgliedern zu einer höheren Rate als in der Gesamtpopulation.

(Gottesman und Gould, 2003)

Voraussetzung für das Konzept ist, dass der Endophänotyp ein einfacheres Vererbungsmuster als die Krankheit selbst hat. Es wird davon ausgegangen, dass der Endophänotyp durch weniger Gene kodiert wird als der komplexe Phänotyp der Erkrankung (Allen et al., 2009; Gottesman und Gould, 2003). Somit kann der Endophänotyp bei der genetische Aufteilung der psychiatrischen Krankheiten zur Hilfe gezogen werden, da dieser idealerweise monogenetisch bedingt ist (Gottesman und Gould, 2003).
Des Weiteren können Gene, die den Endophänotypen bedingen, als Suszeptibilitätsgene angesehen werden, da diese vererbbar sind und die Erkrankung direkt beeinflussen. Da der Endophänotyp nicht immer krankheitsspezifisch ist, kann von den Defiziten verschiedener Krankheiten auf gemeinsame Risikogene geschlossen werden (Braff et al., 2007).

2.9.1. Kognitive Defizite und der Endophänotyp Wortflüssigkeit

In den letzten Jahrzehnten sind die Informationen über die Bedeutung und die Natur der kognitiven Defizite gestiegen (Tandon et al., 2009). Das hängt unter anderem daran, dass die Verfahren für neurophysiologische Testungen und neurologische Bildgebung deutlich verbessert wurden (Keshavan et al., 2008). Folgendes lässt sich bei Schizophreniepatienten zu kognitiven Defiziten, wie Einschränkungen im Bereich der Wortflüssigkeit, festhalten: Kognitive Defizite sind sehr prävalent, aber nicht universell, wobei die Ausprägung variieren kann (Keefe et al., 2005). Über die kognitiven Defizite lassen sich die Schizophreniepatienten zu einem robusten Grad von gesunden Kontrollprobanden unterscheiden. Die durchschnittliche Effektgröße bei Assoziationsstudien mit kognitiven Defiziten ist doppelt so hoch wie die Effektgröße für strukturelle Hirnanomalien in der Bildgebung (Dickinson et al., 2007; Keshavan et al., 2008). Die Defizite sind von genereller Natur mit Einschränkungen in spezifischeren Teilgebieten wie zum Beispiel der Wortflüssigkeit (Henry und Crawford, 2005; Lencz et al., 2006). Es lässt sich außerdem sagen, dass diese

Defizite während des gesamten Krankheitsverlaufs bestehen bleiben (Hoff et al., 2005). Weitere Studien haben gezeigt, dass die gesunden Familienangehörigen der erkrankten Patienten ähnliche Defizite in geringerer Ausprägung aufweisen (Trandafir et al., 2006; Whalley et al., 2007).

Zur Erfassung der kognitiven Defizite wurde vom National Institute of Mental Health (NIMH) im Jahr 2004 die Initiative Measurement and Treatment Research to Improve Cognition in Schizophrenia (MATRICS) gegründet. Diese entwickelte die Testbatterie MATRICS Consesus Cognitive Battery (MCCB) zur Erfassung der kognitiven Defizite, um darauf aufbauend neue pharmakologische Therapien zu entwickeln (Green et al., 2004). Die MCCB erfasst kognitive Defizite folgender Bereiche: die Geschwindigkeit der Informationsverarbeitung, Aufmerksamkeit und Vigilanz, Arbeitsgedächtnis, verbales Lernen, visuelles Lernen, Problemlösung und soziale Kognition. Das verbale Lernen wird durch den Hopkins Verbal Learning Test-Revised erfasst (MATRICS Assessment Inc., 2009). Dieser hat bei seiner Durchführung keine Übereinstimmungen mit dem Regensburger Wortflüssigkeits-Test. Es wird ausschließlich das verbale Lernen und die Reproduktion der erlernten Wörter getestet (Benedict und Brandt, 2001).

Im deutschen Sprachraum werden kognitive Defizite im Bereich der Wortflüssigkeit durch den Regensburger Wortflüssigkeits-Test (RWT) erfasst (Aschenbrenner et al., 2000). Durch den RWT wird das divergenten Denken beurteilt. Dieser Prozess erfordert flüssiges und originelles Denken, sodass offene Problemstellungen gelöst werden können (Aschenbrenner et al., 2000; König, 1986). Hierbei wird zum einen die formallexikalische und zum anderen die semantische-kategorielle Wortflüssigkeit getestet. Die spontane Wortproduktion wird durch die Geschwindigkeit kognitiver Arbeitsprozesse bestimmt. Ein intaktes formallexikalisches und semantisches Wissen gilt als Voraussetzung. Zur sinnvollen Nutzung dieses Wissens ist aber auch die Koordination des Abrufprozess von Bedeutung (Aschenbrenner et al., 2000).

Defizite im Bereich der Wortflüssigkeit lassen sich auch bei Patienten mit anderen neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen beobachten. Dazu gehören Patienten mit Temporallappenepilepsie (Longo et al., 2013; Martin et al., 1990), intrakraniellen Raumforderungen (Butler et al., 1993; Schweizer et al., 2010), Multipler Sklerose (Sandyk, 1994; Valentino et al., 2009), sowie Patienten, die einen Schlaganfall (Sinanovic et al., 2011) oder ein Schädel-Hirn-Trauma (Zakzanis et al., 2013) erlitten. Aus dem psychiatrischen Bereich zeigten sich Defizite bei depressiven

Patienten (Fossati et al., 2002) sowie schizophrenen Patienten (Takeshi et al., 2010; Yamashita et al., 2005).

Diese Studien konnten zeigen, dass schizophrene Patienten sowohl in den formallexikalischen als auch in den semantischen Wortflüssigkeitstests signifikant schlechter als gesunde Kontrollprobanden abschneiden (Joyce et al., 1996; Juhasz et al., 2012). Chou et al. untersuchten mittels Nahinfrarotspektroskopie cortikale Aktivitätsmuster während Wortflüssigkeitstests. Dabei konnten sie eine signifikante Verminderung der Aktivität im bilateralen temporofrontalen Lobus der schizophrenen Probanden während des formallexikalischen Wortflüssigkeitstests messen (Chou et al., 2015).

Elvevag et al. untersuchten Sprachdefizite bei 13 Schizophreniepatienten und 15 gesunden Probanden. Die Probanden führten einen Wortflüssigkeitstest durch, bei dem sie möglichst viele Wörter eines Anfangsbuchstaben in drei Minuten nennen mussten. Daran schloss sich ein Wortflüssigkeit Kategorien Test an, bei dem sie möglichst viele Wörter einer Kategorie in drei Minuten nennen mussten. Die Wortflüssigkeit der Patienten ist in beiden Tests signifikant eingeschränkt. Es zeigte sich eine stärkere Einschränkung im Bereich des Wortflüssigkeitstests, die vor allem die formallexikalische Wortflüssigkeit testen (Elvevag et al., 2001).

2.10. Forkhead-Box-Proteine

Die Forkhead-Box-Proteine (FoxP) gehören zu einer entwicklungsgeschichtlich sehr alten Familie von Transkriptionsfaktoren (Hannenhalli und Kaestner, 2009). Namensgebend ist ihre charakteristische *forkhead* (FKH) DNA-Bindungsdomäne, die evolutionär in hohem Maße bei allen Mitgliedern der FOX-Familie konserviert wurde (Li et al., 2004a). Basierend auf der Ähnlichkeit ihrer FKH-Bindungsdomäne wurden die Proteine in 15 Klassen von FoxA bis FoxO sowie weitere vier Klassen von FoxP bis FoxS eingeteilt (Hannenhalli und Kaestner, 2009)

Die meisten FOX-Proteine binden als Monomere an die DNA, die Ausnahme dazu bildet die Gruppe der FOXP-Proteine, die zusätzlich eine Zinkfinger- und einen Leucinzipperdomäne besitzen. Diese Domänen ermöglichen eine Bindung an die DNA als Homo- sowie Hetereodimer, um die Transkription zu regulieren (Li et al., 2004a). In vorherigen Studien konnten Effekte der FOXP-Proteine auf zahlreiche

Erkrankungen gezeigt werden. So spielen FOXP1 und FOXP4 eine entscheidende Rolle bei der kardialen Morphogenese (Li et al., 2004b; Wang et al., 2004). Des weiteren ist FOXP3 essentiell für die Programmierung der regulativen T-Zellen (Fontenot et al., 2003). Es konnte nur für FOXP1 und FOXP2 ein Zusammenhang mit kognitiven Störungen gefunden werden (Bacon und Rappold, 2012).

2.10.1. Aufbau und Funktion des FOXP2

Das menschliche FOXP2-Gen ist auf Chromosom 7q31.1 lokalisiert und hat eine Länge von ca. 603 Kilobasen (kb) (Bruce und Margolis, 2002).

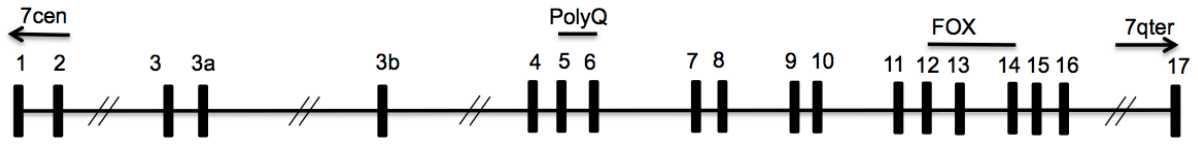


Abbildung 2: FOXP2-Gen, die Boxen stellen die Exons dar. Exon 5-6 kodiert Polyglutamin Q, Exon 12-14 kodier die *forkhead*-Bindungsdomäne,7cen= Chromosom 7 Centromer, 7qter= Terminus des langen Arms des Chromosom 7 (Lai et al., 2001)

Lai et al. identifizierten 17 Exons, die einen offenen Leserasterrahmen (*open reading frame*, ORF) von ungefähr 2,1kb enthalten. Das Carboxy-Ende der vorhergesagten Proteinsequenz enthält eine 84 Aminosäuren lange Sequenz, die eine *forkhead*-Bindungsdomänen aufweist (Lai et al., 2001). In folgenden Untersuchungen konnten Bruce et al. sechs weitere Exons identifizieren, von denen nur eins translatiert wird. Sie stellten fest, dass das Exon 10 länger ist als durch Lai et al. beschrieben und ein alternatives Stop-Codon enthält (Bruce und Margolis, 2002).

Das durch das FOXP2-Gen kodierte FOXP2-Protein gehört zu der Gruppe der Transkriptionsfaktoren (Hannenhalli und Kaestner, 2009). Die für Forkhead-Box-Proteine charakteristische DNA-Bindungsdomäne besteht aus drei amphiphatischen alpha-Helices und zwei beta-Blättern, wovon zwei als „Flügel“-Regionen die dritte alpha-Helix flankieren. Diese dritte alpha-Helix liegt in einem der am stärksten konservierten Bereiche. Sie enthält einen Histidinrest, der direkten Kontakt mit den Basen der Ziel-DNA hat (Lai et al., 2001). Exprimiert wird FOXP2 sowohl im fetalen

als auch im adulten Hirn, aber auch in anderen Organen wie der Lunge und im gastrointestinalen Trakt (SZgene, 2014).
Mukamel et al. konnten die direkte Regulation des Autismus-Kanditatengens MET durch FOXP2 feststellen, dabei führt eine Überexpression des FOXP2 zu einer transkriptionellen Repression des MET (Mukamel et al., 2011).
Dagegen konnten Sia et al. zeigen, dass das mit Sprache und Epilepsie assoziierte Gen SRPX2 eine weitere Zielstruktur des FOXP2 ist. FOXP2 moduliert die Synapsenbildung durch Regulation der SRPX2-Spiegel. Diese Ergebnisse weisen daraufhin, dass FOXP2 durch Regulation der Synaptogenese Einfluss auf die Entwicklung neuronaler Kreisläufe nimmt (Sia et al., 2013).
Spiteri et al. berichteten in ihrer Studie von einer FOXP2-Bindungsdomäne im Bereich der DISC1-Promotorregion (Spiteri et al., 2007).
Daraufhin zeigten Walker et al. mittels Dual-Luciferase-Reportergen-Assays eine signifikante die Inhibition der Expression von DISC1 (*disrupted in schizophrenia 1*)-Protein durch Bindung des Transkriptionsfaktors FOXP2 an die DISC1-Promotorregion. Zugleich beobachteten sie, dass zwei unterschiedliche Punktmutationen des FOXP2-Gens, die zuvor in Familien mit Sprechapraxie detektiert wurden, dessen Funktion als Repressor herabsetzte (Walker et al., 2012). Dieses ist von Bedeutung, da in vorhergehenden Studien eine Assoziation zwischen einer reduzierten DISC1-Expression und dem Auftreten der Schizophrenie beschrieben wurde (Hennah et al., 2003; Schumacher et al., 2009).
In mehreren Studien wurden genomweite in vivo Chromatin-Immunpräzipitation (ChIP) durchgeführt, um die entsprechenden Zielstrukturen des Transkriptionsfaktors FOXP2 bei der Hirnentwicklung zu identifizieren. Dabei wird die Bindung zwischen dem Protein und der DNA im Nucleus unter physiologischen Konditionen untersucht. Anschließend erfolgt die Sequenzierung der gebundenen Promotorregion mittels Microarray (ChIP-chip) (Vernes et al., 2007).
Die transkriptionellen Zielstrukturen spielen eine Rolle in der Entwicklung des Nervensystems und der Signaltransduktion, dabei regulieren sie vor allem die synaptischen Plastizität sowie die axonalen Wegfindung (Spiteri et al., 2007; Vernes et al., 2011; Vernes et al., 2007).
In einer vertiefenden Studie führten Vernes et al. eine Analyse des genetischen *Pathways* des FOXP2 durch. Mit Hilfe von Chromatin-Immunpräzipitation stellten sie fest, dass FOXP2 als Transkriptionsfaktor an das CNTNAP2-Gen (*Contactin-*

associated protein-like 2) bindet und damit die Expression herrunterreguliert (Vernes et al., 2008). Von Interesse ist dabei auch das FOXP2-Bindungsfragment, das innerhalb des Intron 1 des CNTNAP2-Gens bindet. Diese Region kodiert CASPR2, ein Protein der Neurexin-Familie. Es wird davon ausgegangen, dass CASPR2 ebenfalls an der Entwicklung des Nervensystems beteiligt ist (Inda et al., 2006; Strauss et al., 2006; Vernes et al., 2008). Eine Expressionsanalyse von fetalen Gewebe bestätigte die Rolle des FOXP2 als Repressor der Transkription von CNTNAP2, dessen Expression in Gewebe mit hohem FOXP2-Gehalt am geringsten ist (Rodenas-Cuadrado et al., 2014).

2.10.2. FOXP2-Gen im Zusammenhang mit Schizophrenie

Vorherige Studien geben einen starken Hinweis auf eine Assoziation zwischen FOXP2 und Sprachstörungen. Da diese als eines der Hauptsymptome der Schizophrenie gelten, sind Assoziationsstudien zwischen dem FOXP2-Gen und der Schizophrenie indiziert (Lai et al., 2001; Li et al., 2013; Vernes et al., 2008).
Eine Punktmutation in Exon 14 des FOXP2-Gens wurde erstmals in allen an Sprechapraxie erkrankten Mitgliedern der KE-Familie detektiert (Lai et al., 2001). Die KE-Familie ist eine von Vargha-Khadem et al. beschriebene Familie, die vier Generationen umfasst, in der die Hälfte der 30 Angehörigen an Sprechapraxie erkrankt ist (Vargha-Khadem et al., 1995).
Eine 2005 von Sanjuan und seinen Mitarbeitern durchgeführte Studie untersuchten am FOXP2-Gen die Assoziation einer G zu A Transition im Exon 14, zwei Polymorphismen in Intron3a und den SNP rs923875 mit der Schizophrenie. Dabei wurden 139 schizophrene Patienten mit einer positiven Anamnese für auditorische Halluzinationen mit 137 gesunden Kontrollprobanden verglichen. Es wurde kein signifikanter Unterschied der Polymorphismen-Frequenz und der Punktmutation zwischen der Gruppe der schizophrenen Patienten und der Gesunden detektiert (Sanjuan et al., 2005).
In einer darauf aufbauenden Studie im Jahr 2006 untersuchten Sanjuan et al. an 186 nach DSM-IV diagnostizierte schizophrene Patienten mit auditorischen Halluzinationen und 160 gesunde Probanden ein Set von 14 SNPs auf signifikante Assoziation. Ein Großteil der SNPs liegt in der 5'-regulatorischen Region des

FOXP2. Sanjuan und seine Mitarbeiter konnten für den SNP rs2396753 eine signifikante Assoziation zur Schizophrenie mit auditorischen Halluzinationen feststellen. Des Weiteren untersuchten sie acht Haplotypen (Frequenz >1%). Dabei konnten sie eine signifikante Assoziation des Haplotyp rs7803667**T**/ rs10447760**C**/ rs923875**A**/ rs1358278**A**/ rs2396753**A** und rs7803667**A**/ rs10447760**T**/ rs923875**C**/rs1358278**G**/ rs2396753**C** feststellen. Da es sich um gegensätzliche Haplotypen handelt, wird davon ausgegangen, dass es sich bei ersterem um einen protektiven Haplotyp und letzteren um einen Risiko-Haplotyp für Schizophrenie mit auditorischen Halluzinationen handelt (Sanjuan et al., 2006).

Tolosa et al. führten 2010 eine epigenetische Studie mit 293 schizophrenen Patienten und 340 Kontrollprobanden durch. Sie untersuchten 27 SNPs des FOXP2-Gens im Zusammenhang mit Sprachverarmung, Verarmung des Sprachinhaltes und bezüglich der Intensität der auditorischen Halluzinationen. Sie wendeten dafür den Untertest für Alogie des Manchester Scale an sowie die Psychotic Symptome Rating Scale (PSYRATS) zur Klassifizierung der klinischen Symptome. Für den SNP rs2253478 konnte nach Bonferroni-Korrektur eine signifikante Assoziation mit Sprachverarmung festgestellt werden. Dieser SNP liegt in Intron s3, dieses befindet sich weder in der Nähe einer Promotorregion noch ist bekannt, ob es sich um einen Enhancer eines Spleißelementes handelt (Tolosa et al., 2010).

Um der Frage nachzugehen, ob genetische Variationen des FOXP2-Genes Einfluss auf das Volumen der grauen Substanz nehmen, untersuchten Spaniel et al. MRT-Bilder von 40 schizophrenen Patienten und 36 gesunden Kontrollprobanden (Spaniel et al., 2011). Die Analyse der Bilder mittels Voxel-basierter-Morphometrie zeigte, dass der SNPs rs2396753 (C>A) einen signifikanten Effekt auf die Reduktion der grauen Substanz hat. Dieser Effekt wird scheinbar durch die C-Allel-Variante beeinflusst (Spaniel et al., 2011).

Ein weiterer Ansatz ist die Untersuchung des FOXP2-Pathways als Transkriptions-faktor und dessen Zielstrukturen. Vernes et al. stellten fest, dass FOXP2 als Repressor des CNTNAP2 fungiert (Vernes et al., 2008). In der Entwicklung der subventrikulären Zone und des Striatums ist die CNTNAP2-Expression niedrig und die Konzentration der korrespondierenden Repressoren wie FOXP2 dementsprechend hoch. Eine Mutation des Transkriptionsfaktors FOXP2 oder dessen spezifischer Bindungsdomäne kann somit zu spezifischen Entwicklungs-störungen führen. Gleichzeitig zeigen sich in späteren Entwicklungsstadien, sobald

der Cortex entwickelt ist, hohe Konzentrationen an FOXP2 in den Neuronen der Schicht VI des Cortex. Die dadurch bestehende Herabregulation des CNTNAP2 mag für die neuronale Migration und Funktion eine Bedeutung haben (Rodenas-Cuadrado et al., 2014).

Friedman et al. beschreiben 2008 erstmals die eine Assoziation zwischen dem CNTNAP2-Gen und der Schizophrenie. Dabei identifizierten sie bei drei schizophrenen Patienten unterschiedliche hemizygote Deletionen, die das CNTNAP2-Gen betreffen. Diese Studie hebt CNTNAP2-Gen als Kandidatengen hervor (Friedman et al., 2008).

Eine Studie von Ji et al. untersucht die Assoziation von 14 SNPs des CNTNAP2-Gens mit Schizophrenie an 1.135 schizophrenen Probanden und 1.135 gesunden Probanden der chinesischen Han-Population. Sie errechnen eine signifikante Assoziation für den SNP rs17236239 nach Bonferroni-Korrektur (p=0,0343) (Ji et al., 2013). Dies ist von besonderem Interesse, da der SNP in der Region des Exon 13-15 des CNTNAP2-Gens liegt, die nach Vernes et al. eine mögliche Bindungsdomäne des FOXP2-Gens darstellt (Vernes et al., 2008). Daraus lässt sich schließen, dass der FOXP2-CNTNAP2-Pathway eine wesentliche Rolle in der Pathogenese der Schizophrenie spielt. Das FOXP2-Gen rückt somit erneut als Kandidatengen in den Fokus (Ji et al., 2013).

2.10.3. FOXP2-Gen im Zusammenhang mit Wortflüssigkeit

Im Jahr 2001 konnten Lai et al. erstmalig Bezüge zwischen einer heterozygoten Missense Mutation des FOXP2-Gens und einer Sprachentwicklungsstörung herstellen (Lai et al., 2001). Sie untersuchten drei Generationen der sogenannten KE-Familie, in der ein Großteil der Mitglieder an Sprechapraxie *(Developmental Verbal Dyspraxia,* DVD*)* erkrankt ist. Dabei zeigte sich, dass alle betroffenen Familienmitglieder Träger einer heterozygoten *Missense*-Mutation in der *forkhead*-Domäne sind (Lai et al., 2001). Eines der Hauptsymptome der DVD ist die Schwierigkeit im Erlernen und Produzieren von zusammengehörenden Sequenzen und orofaszialen Bewegungen, die für die Produktion einer flüssigen Sprache essentiell sind (Vargha-Khadem et al., 2005; Watkins et al., 2002).

Um diese Ergebnisse zu bestätigen, screenten MacDermot et al. das FOXP2-Gen bei 49 nicht miteinander verwandten Kindern, die an DVD erkrankt waren. Sie konnten drei Varianten finden, die zu Abweichungen in der Proteinsequenz des FOXP2-Proteins führten. Bei der bedeutendsten Mutation handelt es sich um eine heterozygote *Nonsense*-Mutation, die zu einem Stopcodon an Position 328 und somit zu einem Funktionsverlust der DNA-Bindungsdomäne des FOXP2-Proteins führt. Das davon betroffene Kind präsentierte Artikulationsprobleme mit Einschränkungen der rezeptiven und expressiven Sprache (MacDermot et al., 2005). In weiteren Studien mit DVD-Patienten konnten Translokationen gefunden werden, deren Bruchpunkte direkt im FOXP2-Locus liegen. Das FOXP2-Gen weist daher eine große Relevanz für das Erlernen und Produzieren der Sprache auf (Harrison et al., 2006; Lai et al., 2001). Auch wenn diese Mutationen selten sind, konnten keine der Variationen in den gesunden Individuen des 1000 *Genome Project* gefunden werden, sodass von einer starken genetischen Evidenz für die Rolle des FOXP2-Gens im Zusammenhang mit dem Endophänotyp Wortflüssigkeit ausgegangen werden kann (Bacon und Rappold, 2012).

Bei der Untersuchung des FOXP2-Pathways fanden Vernes und ihre Mitarbeiter eine Herabregulation der CNTNAP2-Expression. In einem weiteren Schritt untersuchte die Forschungsgruppe die Assoziation 38 SNPs des CNTNAP2-Gens mit Sprachdefiziten. In die Studie eingeschlossen wurden 847 Probanden aus 184 Familien, deren Ergebnisse im Clinical Evaluation of Language Fundamental-Revised (CELF-R) 1,5 Standardabweichung oder mehr unterhalb des normierten Durchschnitts lagen (Semel et al., 1992). Es wurde eine signifikante Assoziation zwischen neun intronischen SNPs und dem Endophänotyp der *Nonsense*-Wordrepetition errechnet. In dieser Studie wurde erstmals das CNTNAP2-Gen als eines der Zielgene des FOXP2 auf einen spezifischen Zusammenhang mit Sprachdefiziten untersucht, da es sich als ein vielversprechendes Kandidatengen herausstellte. Da eine Assoziation des FOXP2-CNTNAP2-Pathways mit Sprachdefiziten bestätigt werden konnte, stehen in Zukunft Analyse weiterer FOXP2-Zielgene im Fokus (Vernes et al., 2008).

Es gilt den Zusammenhang zwischen dem Endophänotyp Wortflüssigkeit und Mutationen des FOXP2-Gens in weiteren Studien zu untersuchen.

2.11. Fragestellung

In der Ätiologie der Schizophrenie gilt nach heutigem Wissenstand eine starke genetische Komponente als gesichert.
In der Vergangenheit haben sich Fall-Kontroll-Assoziationsstudie als ein geeignetes Mittel erwiesen, um den Zusammenhang zu den potentiellen Suszeptibilitätsgenen dar zu stellen. Des Weiteren können Endophänotypen-Studien deren Einfluss auf die kognitiven Fähigkeiten bei Patienten und Kontrollen darstellen.

In vorangegangenen Studien rückte das FOXP2-Gen als Kandidatengen für Schizophrenie immer mehr in den Fokus. Erste Überlegungen stützen sich auf die wiederholt belegte Assoziation zwischen Mutationen im Bereich des FOXP2-Gens und Einschränkungen auf den Endophänotyp Wortflüssigkeit. Diese Defizite können zu den Hauptsymptomen der Schizophrenie gezählt werden. Darauf aufbauende Fall-Kontroll-Assoziationsstudien bestätigten signifikante Assoziationen zwischen Einzelpolymorphismen des FOXP2-Gens und der Schizophrenie. Das Ziel der vorliegenden Studie ist es einerseits die untersuchten Assoziationen zu bestätigen und andererseits bislang nicht untersuchte Einzelpolymorphismen auf ihre Assoziation mit der Schizophrenie zu ermitteln. Untersuchungen des FOXP2-Pathways zeigten dessen wichtigen Einfluss als Transkriptionsfaktor auf die Entstehung der Schizophrenie. Auf molekularer Ebene ergab sich eine Bedeutung des FOXP2-CNTNAP2-Pathways sowie FOXP2-DISC1-Pathways für die Entstehung der Schizophrenie sowie Einschränkungen im Bereich der neuronalen Entwicklung. Bis jetzt erfolgte ausschließlich die isolierte Untersuchung der FOXP2-Pathways bei Schizophreniepatienten. Es erfolgten lediglich Schlussfolgerungen über die Auswirkungen auf die Sprachentwicklung. In der hier vorliegenden Studie wird darauf aufbauend der Einfluss der mit Schizophrenie assoziierten SNPs des FOXP2-Gens auf die Wortflüssigkeit untersucht. Aufgrund der unterschiedlichen Diagnosekriterien beziehungsweise Testverfahren ist die Vergleichbarkeit der zitierten Studien eingeschränkt. In der vorliegenden Studie wird durch die Objektivierung der Symptome der Wortflüssigkeit in Form des standardisierten Regensburger Wortflüssigkeits-Tests eine Grundlage für weitere Endophänotypen-Studien gelegt.

In der hier vorgelegten Studie sollen mit Hilfe einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie, die Zusammenhänge zwischen der Schizophrenie und den 20 SNPs (rs7795397, rs1852469, rs10486026, rs10228494, rs10262103, rs17372022, rs2106900, rs10266297, rs2396753, rs6969376, rs10269986, rs1229760, rs12705966, rs2061183, rs1456029, rs1456031, rs1005958, rs1053766, rs4236599 und rs1058335) des FOXP2-Gens dargestellt werden. In einem weiteren Schritt sollen die Auswirkungen der Polymorphismen auf den Endophänotyp Wortflüssigkeit sowohl in der Gruppe an Schizophrenie erkrankten Patienten als auch an der gesunden Kontrollgruppe untersucht werden. Anschließend wurde in einer Haplotypanalyse miteinander im Kopplungsungleichgewicht liegende SNPs auf ihren Zusammenhang mit Wortflüssigkeit untersucht.

Dafür wurden 929 schizophrene Patienten, 347 Frauen und 582 Männer, und 2.288 gesunde Kontrollen, davon 1.173 Frauen und 1.115 Männer ausgewählt. Die Genotypen wurden mittels MALDI-TOF Massenspektrometrie bestimmt und die Allelfrequenz sowie Genotypverteilung analysiert.
Für die Endophänotypen-Studie wurden 354 Schizophrenie-Patienten sowie zur Kontrolle 516 gesunde Frauen und Männer ausgewählt, die den Regensburger Wortflüssigkeits-Test durchführten.

3. Material und Methoden

3.1. Datengewinnung

Für die im Folgenden beschriebene Fall-Kontroll-Assoziationsstudie wurde eine Stichprobe von 929 Patienten sowie 2.288 gesunde Kontrollen zur Grundlage für einen Vergleich von Allel- und Genotypenfrequenz ausgewählt. Die verschiedenen Arbeitsbereiche zur Generierung und Erfassung der Daten wurden innerhalb des Fachbereiches für Molekulare und klinische Neurobiologie verteilt.
Im Rahmen der Arbeitsgruppe zum Thema „Schizophrenie und intermediäre Phänotypen“ unter Leitung von Prof. Dr. Dan Rujescu führte die Verfasserin von März bis August 2013 mit Patienten der Neurologischen Abteilung des Universitätsklinikums Großhadern ausführliche Anamnesen und *Strukturierte Klinische Interviews für DSM-IV* (SKID I-II) (Wittchen und Fydrich, 1997). Alle Interviews wurden in den Räumen des Klinikums Großhadern geführt.

Zu den Aufgaben gehörte unter anderem die Aufklärung der Studienteilnehmer, die Blutabnahme für die folgende Gewinnung der molekulargenetischen Untersuchung, sowie die Rekrutierung weiterer Studienteilnehmer nach dem Zufallsprinzip mit Hilfe des Münchner Melderegisters. Darüber hinaus erfolgte die Korrektur der erhobenen Daten, sowie deren Digitalisierung und Auswertung. Die in unterschiedlichen Teilbereichen separat erhobenen Daten wurden gesammelt und anschließend zusammengeführt.
Dieser so entstandene Datenpool ermöglichte es, die für eine Fall-Kontroll-Assoziationsstudie benötigte Anzahl an Studienteilnehmern zu generieren und somit signifikante Assoziationen mit den untersuchten Polymorphismen des FOXP2-Gens zu erfassen.

3.2. Vorbedingung der Studie

Die Erhebungen erfolgten im Kontext einer großen Schizophrenie-Studie an der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität.

Jeder Teilnehmer wurde mündlich aufgeklärt, bevor er in die Studie aufgenommen wurde. Von jedem Studienteilnehmer unterschriebene schriftliche Aufklärung und Einwilligung vor. Diese beinhaltete Angaben über die Durchführung und Zielsetzung der Studie, die Risiken der Blutentnahme, sowie die Intermution zu der Anonymisierung aller persönlicher Daten und der Blutproben. Die Teilnehmer konnten sich zu jedem Zeitpunkt nachträglich aus der Studie ausschließen lassen.
Die Ausführung der Studie wurde vor Beginn durch die Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Ludwig Maximilians Universität geprüft und genehmigt.

3.3. Studienteilnehmer

3.3.1. Kontrollgruppe

Die Kontrollgruppe umfasste 2.288 Probanden aus dem Großraum Münchens. Diese wurden nach dem Zufallsprinzip aus dem Melderegister des Einwohnermeldeamts ausgewählt, auf dem Postweg kontaktiert und mit einer Information über die Ziele der Studie zur Teilnahme angefragt. Nach Erhalt der Zustimmung wurden diese telefonisch kontaktiert. Es wurde zuerst eine standardisierte Befragung durchgeführt, um psychiatrische sowie neurologische Erkrankungen der Kontrollprobanden und ihrer Verwandten ersten Grades auszuschließen. Dazu gehörte eine Erhebung eventueller Medikamenteneinnahme bzw. -abusus sowie des Alkohol- und Drogenkonsums. Eine deutsche Abstammung galt als weitere Vorbedingung.

War die jeweilige Anamnese unauffällig, wurde den Kontrollprobanden ein Anamnesebogen zugesandt. Dieser beinhaltete somatische und psychiatrische Fragen zur eigenen Person und Verwandten ersten Grades. Er enthielt weitere Fragen zur ethnischen Abstammung, Komplikationen während Schwangerschaft und Geburt, zur Ausbildung und zum Familienstand, zur psychiatrischen, neurologischen und somatischen Krankheitsgeschichte sowie vorangegangenen Krankenhaus-aufenthalten und eine Alkohol-, Nikotin-, Drogen- und Medikamentenanamnese.
Es wurden daraufhin die Kontrollprobanden persönlich eingeladen, bei denen weder im Telefonscreening noch in dem Anamnesebogen Hinweise auf psychiatrische oder

neurologische Erkrankungen bei ihnen und ihren Verwandten ersten Grades bestanden.

In der Klinik erfolgte eine standardisierte körperliche Untersuchung, so dass studienrelevante somatische Erkrankungen ausgeschlossen werden konnten. Es folgte eine neurologische Anamnese, die Fragen nach motorischen, sensiblen und sensorischen Ausfällen, Kopfschmerzen und Schwindel umfasste. Zusätzlich wurden vorangegangene Traumata, Infektionen des Zentralen Nervensystems, Anfallsleiden, extrapyramidalen Störungen, Gehirntumore und ischämische Ereignisse erfragt. In der neurologischen Untersuchung wurde der Hirnnervenstatus, die Motorik und Sensibilität sowie der Reflexstatus erfasst.

Daraufhin wurde die deutschsprachige Version des Strukturierten Klinischen Interviews nach DSM-IV (SKID I-II) durchgeführt, um Erkrankungen der Achse I für psychische Störungen und II für Persönlichkeitsstörungen auszuschließen (Wittchen und Fydrich, 1997).
SKID I befasst sich mit der Diagnosestellung der Achse I Störungen, die affektive und psychotische Syndrome und Störungen, Abusus von Drogen bzw. psychotropen Substanzen, Essstörungen, Angststörungen und somatoformen Störungen beinhaltet. Der SKID II unterscheidet die verschiedenen Persönlichkeitsstörungen. Dazu zählen die antisozialen, narzisstischen, borderline, dependenten, histrionischen, depressiven, negativistischen, schizoiden, schizotypischen, paranoiden, selbstunsicheren und die zwanghaften Persönlichkeitsstörungen (Wittchen und Fydrich, 1997).

Psychiatrische Erkrankungen der Verwandten wurden mit Hilfe der *Family History Assesment Module* (FHAM) erfasst (Rice et al., 1995). Dabei werden Alkohol-, Drogen- und Medikamentenabusus, Schizophrenie, Depression, Manie, neurotische Störung, antisoziale Tendenzen, psychiatrisch stationäre Aufenthalte und Psychotherapien der Verwandten erfragt (Rice et al., 1995). Kam es zu auffälligen Ergebnissen während dieser Erhebung, so wurden die Probanden aus der Studie ausgeschlossen.
Bei Kontrollprobanden im Alter über 60 Jahre wurde zusätzlich der Mini-Mental-State-Test (MMST) durchgeführt, um eine Demenz oder ein Dementielles Syndrom

zu erkennen (Folstein et al., 1975). Der Test bewertet Orientierung, Merkfähigkeit, Aufmerksamkeit und Rechenfähigkeit, Erinnerungsfähigkeit und Sprache. Eine Punktzahl von unter 26 Punkten bei einer Höchstpunktzahl von 30 führte zum Ausschluss der Probanden (Folstein et al., 1975).

Insgesamt wurden 2.288 Kontrollen, davon 1.173 Frauen und 1.115 Männer, in die Studie aufgenommen, die keine der genannten Ausschlusskriterien aufwiesen. Es wurden Kontrollen im Alter von 19 bis 60 Jahren und einem durchschnittlichen Alter von 51,76 mit einer Standardabweichung von 15,62 eingeschlossen.

3.3.2. Schizophreniepatienten

Für die Studie wurden Patienten der Ludwig-Maximilians Universität und der ambulanten Kooperationskliniken ausgewählt, bei denen die *lifetime* Diagnose Schizophrenie bestand. Alle waren europäischer Abstammung.
Auch diese wurden zuerst telefonisch kontaktiert und über die Durchführung und Ziele der Studie informiert. Es wurden die Ausschlusskriterien wie vorangegangene Schädel-Hirn-Traumata, Infektionen des Zentralen Nervensystems, Epilepsie, Medikamenten-, Alkohol- und Drogenabusus abgefragt. Traf keine dieser Diagnosen zu, wurden die Patienten zur persönlichen Vorstellung geladen.

Mit den Patienten wurde eine standardisierte Anamnese durchgeführt, bei der weitere psychiatrische, neurologische und somatische Erkrankungen des Patienten sowie der Verwandten ersten Grades erhoben wurden. Es wurden alle Details der Lebens- und Krankheitsgeschichte erfragt. Dazu gehörten Fragen zu möglichen Komplikationen während der Schwangerschaft und Geburt, zu Auffälligkeiten während der Kindheit, zur Ausbildung, beruflichen Situation und dem familiären und sozialen Umfeld. Zusätzlich wurde eine Medikamentenanamnese erhoben und ein möglicher Medikamenten-, Alkohol- oder Drogenabusus exploriert. Galt eine dieser Suchterkrankungen als Auslösefaktor der Schizophrenie, wurden die Patienten aus der Studie ausgeschlossen.

Es folgte eine weitere Untersuchung mit dem SKID I nach DSM-IV, um die Diagnose-

stellung zu sichern (Wittchen und Fydrich, 1997). Um die Diagnose zu verifizieren müssen zwei der folgenden charakteristischen Symptome über sechs Monate vorhanden sein: Wahn, Halluzination, desorganisierte Sprechweise, grob desorganisiertes oder katatones Verhalten oder Negativsymptome. Eines der Kriterien reicht aus: Halluzinationen in Form von Stimmen oder bizarrer Wahn (American Psychiatric Association, 2000). Eine anderweitige Entwicklungsstörung oder ein Substanzeinfluss als Ursache galt als Ausschlusskriterium. Es darf keine affektive oder schizoaffektive Störung vorliegen. Nur Patienten, die diese Kriterien erfüllten, wurden in die Studie aufgenommen.

Zur Vervollständigung der Familienanamnese wurde der FHAM angewendet, der psychiatrische und neurologische Erkrankungen der Verwandten erfasst (Rice et al., 1995). Eine positive Familienanamnese galt im Sinne einer genetischen Studie nicht als Ausschlusskriterium.

Es konnten somit 929 Schizophreniepatienten, davon 347 Frauen und 582 Männer, in die Studie aufgenommen werden. Es wurden Patienten im Alter von 18 bis 54 Jahren und einem Durchschnittsalter von 37,77 mit einer Standardabweichung von 11,73 eingeschlossen.

3.4. Regensburger Wortflüssigkeits-Test

3.4.1. Beschreibung

Der Regensburger Wortflüssigkeits-Test (RWT) stellt einen in den 1990er Jahren neu entwickelten standardisierten Test dar, der erstmals im deutschen Sprachraum das divergente Denken untersucht (Aschenbrenner et al., 2000). Er wird angewendet bei Patienten mit angeborenen oder erworbenen Hirnschädigungen, bei denen das flüssige und originelle Denken eingeschränkt ist. Aschenbrenner und seine Mitarbeiter orientieren sich dabei an Verfahren aus dem angelsächsischen Raum, die sich als sehr sensitiv zur Testung des divergenten Denkens herausstellten. Anhand einer gesunden Stichprobe entwickelten sie den RWT als Messinstrument der neuro-physiologischen Diagnostik. Der RWT wird in vier Testgruppen unterteilt, die

insgesamt 14 Untertests beinhalten. In der ersten Gruppe wird die formallexikalische Wortflüssigkeit kontrolliert, indem der Proband Wörter mit dem gleichen Anfangsbuchstaben nennen muss. In der folgenden Gruppe wird der formallexikalische Kategorienwechsel (*Switch*) geprüft, bei dem die Probanden abwechselnd Wörter unterschiedlicher Anfangsbuchstaben nennen müssen. Dieser zusätzliche Test setzt eine bessere reaktive Flexibilität voraus und dient der genaueren Unterscheidung zwischen gesunden und erkrankten Probanden (Aschenbrenner et al., 2000). Bei der Testgruppe der semantisch-kategoriellen Wortflüssigkeit muss der Patient innerhalb der vorgegebenen Zeit Wörter einer vorgegebenen inhaltlichen Kategorie nennen. In der letzten Testgruppe muss der Patient im Wechsel Wörter zweier Kategorien nennen. Hier wird differenzierter zwischen den Störungen des divergenten Denkens unterschieden (Aschenbrenner et al., 2000). Jeder Untertest dauert zwei Minuten, kann aber je nach Belastbarkeit des Patienten auf eine Minute verkürzt werden. Dabei wird der Proband aufgefordert, möglichst viele Wörter zu nennen, die genannten Wörter notiert der Untersucher auf einem standardisierten Protokollblatt. Der Test ist auf eine mündliche Durchführung beschränkt (Aschenbrenner et al., 2000).

3.4.2. Durchführung

Da der RWT mündlich durchgeführt wird, braucht der Untersucher außer einer Stoppuhr und dem standardisierten Protokollbogen keine weiteren Unterlagen. Bei Unsicherheiten des Untersuchers kann ein Aufnahmegerät der zusätzlichen Dokumentation dienen. Der Untersucher instruiert den Probanden mündlich. Je nach Belastbarkeit des Patienten kann die Dauer und Anzahl der Untertests variiert werden (Aschenbrenner et al., 2000).
In dem ersten Test für formallexikalische Wortflüssigkeit wird der Patient aufgefordert möglichst viele Wörter mit dem Anfangsbuchstaben S, P, M, K oder B zu nennen (Wortflüssigkeit). Mithilfe von Lexika wurde zuvor die Anzahl der möglichen Wörter geschätzt, dabei verringert sich die Anzahl der möglichen Wörter in dieser Reihenfolge. Es dürfen nur Wörter der deutschen Schriftsprache vorkommen, keine Eigennamen genannt werden. Wörter mit dem gleichen Wortstamm (Brief, Brief-

kasten) zählen als Repetition. Dabei ist Ziel jedes Untertests die Nennung möglichst vieler Wörter (Aschenbrenner et al., 2000).
Beim Test für Kategorienwechsel muss der Proband zwischen Wörtern mit dem Anfangsbuchstaben H/T oder G/R wechseln (Wortflüssigkeit-Wechsel). Das Verbleiben in einer Kategorie zählt als Fehler.
Bei der Testung des semantisch-kategoriellen Denkens wird der Proband instruiert, Wörter einer bestimmten Kategorie zu nennen (Wortflüssigkeit Kategorien). Dazu zählen Tiere, Lebensmittel, Vornamen und Berufe. Der Kategorienwechsel wird getestet, indem der Patient zwischen den Kategorien Sportart/Früchte oder Kleidungsstücke/Blumen wechseln muss (Wortflüssigkeit Kategorien-Wechsel). Oben beschriebene Regeln gelten auch für diese Untertests. Jede Wortnennung des Probanden wird vom Protokollierenden notiert und im Anschluss ausgewertet (Aschenbrenner et al., 2000).

3.4.3. Auswertung

Für die Auswertung der formallexikalischen sowie der semantischen Wortflüssigkeit werden die protokollierten Wörter gezählt und auf ihre Korrektheit geprüft. Als Fehler gelten Eigennamen, Neologismen und Regelbrüche, wie die Nennung von Wörtern mit falschem Anfangsbuchstaben und Repetitionen. Bei Kategorienwechselaufgaben gelten als zusätzliche Fehler Kategorieperseveration (persistierendes Verharren in einer Kategorie) oder der Wechsel in eine andere Kategorie, beispielsweise Nennung eines falschen Anfangsbuchstaben oder Themengebiets. Diese Fehler werden in einer gesondert Auswertungstabelle notiert (Aschenbrenner et al., 2000).
Zur Auswertung der Leistung wird die Anzahl der korrekten genannten Wörter im jeweiligen Untertest mit der normierten Eichstichprobe abgeglichen. Es erfolgt die Übertragung der Rohwerte in Prozentränge. Bei einem Prozentrang von 30 heißt das, dass 30% der Probanden der Eichstichprobe die gleiche Anzahl oder weniger Wörter richtig genannt haben. Zur genaueren Unterteilung und Einschätzung wurde die Eichstichprobe in fünf Altersgruppen aufgeteilt (18-29, 30-41, 42-53, 54-65, >65). Die Anzahl der Fehler lässt sich mit einer Tabelle der prozentualen Häufigkeitsverteilung der jeweiligen Altersgruppe vergleichen (Aschenbrenner et al., 2000).

3.4.4. Interpretation

Die Fähigkeit zum divergenten Denken bildet die Grundlage zur Bewältigung des Regensburger Wortflüssigkeits-Tests. Nur so können offene Problemstellungen gelöst werden. Für die erfolgreiche Lösung dieser Aufgaben sind zahlreiche kognitive Leistungen obligat wie Vigilanz, Kurzzeit- und Arbeitszeitgedächtnis (Aschenbrenner et al., 2000).
Im klinischen Alltag präsentieren Patienten im Regensburger Wortflüssigkeits-Test immer wieder eindeutige Defizite, obwohl die kognitiven Fähigkeiten nur sehr gering bis gar nicht eingeschränkt sind. Eine Erklärung dafür ist, dass die Beeinträchtigung anderer kognitiver Basisleistungen sehr früh Auswirkungen auf die Wortflüssigkeit hat. Der Ausschluss anderer kognitiver Einschränkungen ist somit notwendig, um die alleinigen Defizite des divergenten Denkens zu diagnostizieren. Die Anzahl der korrekt genannten Wörter kann als Einflussgröße für die Bewertung des offenen Problemlöseversuchs verwendet werden (Aschenbrenner et al., 2000).

3.4.5. Objektivität und Zuverlässigkeit

Die Objektivität ist durch die standardisierte Durchführung des Tests gegeben. Dazu zählen die genauen mündlichen Ansagen, die Protokollierung durch den Prüfer und die standardisierte Zeitvorgabe. Die Auswertungsobjektivität wird durch die Analyse anhand der zusammengestellten Tabellen gewährleistet. Durch die digitale Aufzeichnung des Tests waren weitere Nachkorrekturen möglich. Zusätzlich werden die Ergebnisse durch einen unbeeinträchtigten Zweitprüfer kontrolliert. (Aschenbrenner et al., 2000). Bei dieser Studie wurden die Ergebnisse zusätzlich digital gespeichert und nochmals mit den Untersuchungsprotokollen verglichen.

3.5. Laborverfahren

3.5.1. DNA-Extraktion

Für die Genotypisierung erfolgte die venöse Blutabnahme von 7ml bei jedem Studienteilnehmer in EDTA-Monovetten (Sarstedt, Nürnbrecht), die den Gerinnungsprozess hemmen. Zu Beginn wurden die Monovetten mit einem alphanummerischen Code versehen, der die Anonymisierung der Proben gewährleistete. Die Extraktion der genomischen DNA wurde nach den Protokollen des QIAamp blood Midi/Maxi Kit durchgeführt (Qiagen, 2002). Im ersten Arbeitsschritt wurde das Vollblut bei 3.000rpm für 13min zentrifugiert, wodurch sich das Plasma abtrennt. Dieses wurde abgetragen und bei -80°C für weitere Untersuchungen gelagert. Der Blutkuchen wurde für die weiteren Schritte mit einem 1fach-PBS-Puffer auf das Gesamtvolumen von 10ml erweitert. Anschließend wurden 500µl der Qiagen Protease hinzugefügt, die zu einer Zelllyse führt. Diese Proteinase verdaut vorwiegend DNA-bindenden Proteine und Hämoglobin, wodurch die DNA für die weiteren Schritte besser zugängig ist. Es wurden 12ml des Guanidin-HCl-haltigen Lysepuffers AL hinzugegeben und für 60s auf dem Vortexer homogenisiert. Das chaotrope Salz des Lysepuffers sorgt für eine Denaturierung der DNA-Bindungsproteine und ermöglicht somit den leichteren Zugang zu der genomischen DNA. Für optimale Lysebedingungen und einen maximalen Gewinn an DNA folgt die Inkubation des Gemisches für 30 min in einem Wasserbad von 70°C.

Durch Zugabe von 10ml Ethanol und erneutes Mischen im dem Vortexer, wurde die Hydrathülle der DNA entfernt. Die Lösung auf eine Silica Gel Säule überführt und bei 3000rpm für 3min zentrifugiert, wodurch die DNA an die Membran der Silica Gel Säule bindet. Anschließend wurden die verbleibenden Proteine und RNA aus der Lösung gewaschen. Dafür wurden 5ml des Waschpuffers AW1 hinzugefügt und die Lösung bei 4000rpm für 2min zentrifugiert. Um die Guanidin-HCl-Konzentration zu verringern, wurden im nächsten Waschschritt 5ml ethanolhaltiger, salzarmer Puffer AW2 hinzugefügt. Durch die Zentrifugation des Gemisches für 15min bei 4000rpm, wurden jegliche Rückstände eliminiert. Zur Elution der DNA wurden insgesamt 1,5ml des Tris-haltigem AE Puffers in zwei Schritten auf die Silikagelmembran pipettiert und für 5min bei Raumtemperatur inkubiert. Nach Zentrifugation der Membran für

2min bei 5000rpm, wird die gewonnene DNA-Lösung in 2ml Microtubes gefüllt. Die Lagerung erfolgt bei -80°C. Alle benutzten Materialien sind in Tabelle 5 aufgelistet.

Tabelle 4: Übersicht über die Materialien DNA-Extraktion

Materialien	**Verwendung**	**Hersteller**
QIAamp Maxi Spin Säulen	DNA-Bindung	Qiagen, Hilden
Sammelröhrchen	DNA-Aufbewahrung	Qiagen, Hilden
Zentrifugenröhrchen, 50ml	Eluate-Aufbewahrung	Sarstedt, Nürnbrecht
PBS-Puffer	Volumenerweiterung des Blutkuchens	Eigene Produktion
EDTA-Monovette	Blutentnahme	Sarstedt, Nürnbrecht
Micro Schraubröhre, 2ml	DNA-Lagerung	Sarstedt, Nürnbrecht
Rotixa RP Standzentrifuge	Zentrifugation	Hettich, Tuttlingen
Vortex Genie	Durchmengung der Blut-Puffer- Suspensionen	Scientific Industries, New York, USA
QIAGEN Protease, 500µl	Zellproteinen- Abbau	Qiagen, Hilden
Puffer AL, 12ml	Zellyse	Qiagen, Hilden
Ethanol Rotipuran, 10ml (> 99,8p.a.)	Säuberung der DNA	Firma Carl Roth, Karlsruhe
Puffer, 5ml (Guanidin-HCl)		Qiagen, Hilden
Waschpuffer AW1/AW2, 5ml (ethanolhaltig)	Filtrierung der Zellrückstände	Qiagen, Hilden
Puffer AE, 1,5ml (Tris-Puffer, >9,0)	DNA- Elution	Qiagen, Hilden

3.5.2. DNA-Konzentrationsbestimmung

In den gewonnenen Proben lag eine durchschnittliche DNA-Konzentration von 120-150ng/µl vor. Für die weitere Prozessierung war eine Konzentrationseinstellung der DNA-Lösung auf 50ng/µl notwendig. Zur Konzentrationsmessung wurde der Fluoreszenzfarbstoffes PicoGreen verwendet. Diese Methode basiert auf einer selektiven Bindung des Farbstoffes an die Doppelstrang-DNA. Der dadurch entstandene DNA-Farbstoff-Komplex absorbiert Licht bei einer Wellenlägen von 480nm. Bei Anregung dieses Komplexes durch Lichtbestrahlung sendet er Licht mit

einer Wellenlänge von 520nm aus, das im grünen Bereich sichtbar ist. Das emittierte Licht dient somit der Quantifizierung der extrahierten DNA. Dieses ist direkt proportional zur Konzentration der enthaltenen DNA. Dieses wurde mit bekannten genomischen DNA-Konzentrationen (gDNA) einer interpolierten Standardkurve mit verglichen. Dadurch wurde die DNA-Konzentration der Proben quantifiziert (Materialien siehe Tabelle 6).

Tabelle 5: Materialen für die DNA-Konzentrationsbestimmung

Materialien	**Verwendung**	**Hersteller**
Quant IT PicoGreen ds DNA reagent	DNA-Fluoreszenz	Invitrogen, Karlsruhe
Human genomic DNA 100ng/µl	Standardverdünnungsreihe	Firma Clontech, Mountain View, USA
Janus Automated Workstation	Pipettier-Roboter	Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA
WinPREP	Steuerungssoftware des Janus Pipettier-Roboters	Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA
Victor 3 Multilabel Counter 1420	Fluoreszenzmessung der DNA	Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA
Wallac 1420 Work-station Software	Steuerungssoftware des Victor3 Multilabel Counters	Perkin Elmer, Massachusets
Thermo fast 96 well Plate	DNA-Proben-Verdünnung	ABgene, Hamburg
Computer Optiplex GX 620 Pentium 4 HAT	Kalkulationen	Dell, Frankfurt

Die Standardverdünnungsreihe von 1:2 wurde mit einer genomischen DNA der bekannten Konzentration von 100ng/µl hergestellt. Zuerst wurden 200µl der Standard DNA entnommen und in die Vertiefung A1 pipettiert. In die Vertiefungen (*wells*) B1 bis H1 der *Thermo fast 96 well flate plate* wurden 100µl destilliertes Wasser gegeben. Anschließend wurden 100µl aus der Vertiefung A1 entnommen und in B1 pipettiert. Eine Durchmischung erfolgte durch mehrmaliges Aufziehen der Lösung in die Pipettenspitze. In einem weiteren Schritt wurden 100µl aus der Vertiefung B1 in die Vertiefung C1 übertragen und gemischt. Nach diesem Prinzip wurden die Vertiefungen bis G1 gefüllt. Die Vertiefung H1 wurde nicht durchmischt und enthielt weiterhin destilliertes Wasser. Das gleiche Prinzip wurde die Verdünnungsreihe in der zweiten Spalte wiederholt.

Die zu messenden DNA-Proben wurden mit destilliertem Wasser in einem Verhältnis von 1:10 verdünnt. Auch das fotosensible PicoGreen wurde unter Lichtschutz mit destilliertem Wasser in einem Verhältnis von 1:156 verdünnt.
Alle weiteren beschriebenen Schritte wurden von einem Pipettier-Roboter (Janus Automated Workstation, Firma Perkin Elmer, Massachusetts) ausgeführt.
In jede Vertiefung der *Thermo fast 96 well plate* wurden 50µl destilliertes Wasser gegeben. In die *wells* der Spalten 1 und 2 wurden 5µl der genomischen Standardverdünnungsreihe in aufsteigender Verdünnung pipettiert, wobei A die höchste Konzentration (100ng/µl) an genomischer DNA enthielt und die Spalte H frei blieb. Die zu messende vorverdünnte DNA wurde in den Spalten 3-12 und den Reihen A bis H pipettiert. Dabei wurde sowohl die Standard DNA als auch die Proben-DNA zweimalig aus dem Proberöhrchen in die Vertiefungen pipettiert, sie lagen daher in Replikation vor.

Anschließend wurden in jede Vertiefung 145µl des PicoGreen-Gemisches pipettiert, sodass eine Endverdünnung des PicoGreen von 1:200 entstand. Die gefüllte Platte wurde durch den Roboter in den Victor 3 Multilabel Counter 1420 gehoben. Zur Entstehung eines homogenen Gemisches wurde die *Thermo fast 96 well plate* für 30s in horizontaler Ebene in Doppelellipsen geschwenkt. Zur Messung wurde der Farbstoff PicoGreen mit Licht der Wellenlänge 485nm angeregt. Die Emission wurde bei 520nm bei jeder Vertiefung für 0,1s gemessen.

Das Messgerät übermittelte die Messwerte an einen Computer. Dieser berechnete zunächst die Mittelwerte der doppelt vorliegenden DNA-Proben. Durch den Vergleich der errechneten Mittelwerte mit der bekannten standardisierten DNA-Verdünnungskurve wird die Konzentration der DNA-Proben bestimmt.
Die Konzentrationseinstellung der DNA-Proben auf 50ng/µl erfolgt durch die Zugabe einer berechneten Menge von destilliertem Wasser. Diesen Schritt führte der Pipettierrobotor basierend auf den Messergebnissen der DNA-Konzentration automatisiert durch. Die dadurch entstandene Lösung wurde bei -80°C gelagert.

3.5.3. Genotypisierung

Die Genotypisierung wurde an zwanzig SNPs des FOXP2-Gens durchgeführt.
Bei der verwendeten Methode zur Einzelbasenverlängerung handelt es sich um das iPLEX-Verfahren. Im iPLEX-Verfahren wird eine Multiplex-Reaktion durchgeführt, dabei können bis zu 36 PCR-Reaktionen parallel stattfinden. Die angewendeten PCR-Primer für die untersuchten FOXP2-SNPs sind in Tabelle 7 dargestellt.

Tabelle 6: Verwendete PCR-Primer für untersuchte FOXP2-SNPs

SNP	Position	*Forward*-PCR Primer	*Reverse*-PCR Primer	Extensionsprimer
rs7795397	114047140	XGGAAAAGACAGAGCTGAAGG	XCACACTTTATCTTCCTTTGG	TGAAGGCTTGGGAAG
rs1852469	114060476	XCAAATCCTGCAACCAGGAAT	XCTTTCTATGTTCTTGGAGAGC	ATTTTCGTTTAGGAAACAGAAT
rs10486026	114080435	XCAAATATATCCCCCTTTTTGG	XTGACTGGCTACATGAATGAG	CCCCTTTTTGGGCTACT
rs10228494	114083550	XGTGCAGGTTTGTTATATGGG	XTGCTTATTAGCCAGGTGATG	GGGGTGTAAATTGTGTGTCACGG
rs10262103	114091844	XGTTGTAATAAGTGCTCTACAG	XTCACTTTCTCAATCTGGTGC	TAATAAGATGTTATGAGAAAGGA
rs17372022	114119935	XGGTTACCGCAGCAATTTACC	XATGGCTGAAAAATAAGCAC	GAGGAAAGCTTGTTAGTTGTTCACAC
rs2106900	114122506	XGCCAAATTGGATTTTCAACTG	XAATATGCAGTTTTAATGCC	CATATTTTTTAAATCAATTTGACCCTT
rs10266297	114143407	XGCCATTAGTGTGGTTTAGCC	XTTTTTTATTGTATTACCATC	TTGATGTCTGAGTTTCCACA
rs2396753	114148331	XCTCTGCCAGGGAAAGCTTTT	XGCTTAGTCCTGAAAGATGAG	TTTTTCCTTCCCACTCT
rs6969376	114160871	XTAGTCATTTGCAATCCCAAC	XATACTATGGAGTATGGTGG	CCACTTGCAATCCCAACTCACTG
rs10269986	114211447	XTCTTGAATGGAGACTTGAGG	XGAAAATTGCTTATGTGGCCC	CCCGATTACTATCCATTTCCAAGGA
rs1229760	114224163	XAGCCCTGAGTTTGGATCTTG	XTGAGGAAAGTGAGCATAAC	TTACTAAAATGTGACCCCAAA
rs12705966	114248851	XGTGTCTCCTTTTGCAAGAGC	XGCTATTTTATCCAGGTACAGG	AACCAACAACAAAAGGTGTTTT
rs2061183	114258014	XGTTAAACGTCTTCCCTAGGC	XGCCATTGCACAAAACCATCC	CAGGCCTTTTCTAGGT
rs1456029	114290748	XCACTATACCTGTCTGCTCTC	XCCAGAGAGCATGAGTGAATG	GCTCAGCTCAGGTTTGT
rs1456031	114296102	XCTAGCTTTTACATGCTTCCC	XCCTGTAATAATAAGCATACC	AATTCTATTTTATCAGTTTGTGATTG
rs1005958	114302855	XATTTTGGACTTAAGTTTGG	XGTGAGAAAATTACTGGCTGG	GACTTAAGTTTGGCAGTCT
rs10953766	114313218	XTGTTGGCCAGACAAATCAAG	XTCAAAGGAGAATTGGAGCAG	TTCACGTCTAAATCACATCTTGACACTT
rs4236599	114318097	XAGTCTTTTCCGATTCCCCAC	XGAAGGAATGAAGAGAGTTGC	TGTGCATGCTTCAGTC
rs1058335	114333664	XGGTTTTTTTGTCCATGAACAC	XACAGCAGTGACACACTGTTC	GTCCATGAACACTTGGCATAT

X=ACGTTGGATG

Zur Genotypisierung der Einzelnukleotidpolymorphismen wird dieses Verfahren mit dem MALDI TOF MS (*matrix assisted laser desorption/ionisation time of flight mass spectrometry*) verbunden (Jurinke et al., 2004).
Das iPLEX-Verfahren teilt sich in mehrere Arbeitsschritte auf. Die Genombereiche, in denen die ausgewählten SNPs liegen, werden durch die klassische Polymerase-Kettenreaktion (PCR) vermehrt. In einem zweiten Schritt werden die überschüssigen Nukleotide dephosphoryliert. Mit Hilfe der *shrimp alkaline phosphatase* (SAP) werden diese inaktiviert, so dass die iPLEX Reaktion ungestört ablaufen kann. In dem letzten Schritt der Einzelbasenverlängerung des iPLEX-Verfahrens entstehen Produkte, deren Masse für den jeweiligen SNP spezifisch ist.
Das MALDI-TOF Massenspektrometer kann den jeweiligen Genotyp aufgrund dessen spezifischer Masse benennen.

3.5.3.1 Polymerase-Kettenreaktion

Die drei Reaktionsschritte der Polymerase-Kettenreaktion zur Amplifikation der DNA erfolgten in einem Thermocycler (GeneAmp PCR System 9700, Applied Biosystems). Der Pipettierroboter (Microlab 4000, Hamilton) fügte in jede Vertiefung der 384 Format Mikropipettierplatte (ABgene, Hamburg) je 2,5µl der genomischen DNA und des PCR-Reaktionscocktails hinzu (siehe Tabelle 8, Seite 50).
Die PCR-Reaktion lief im Thermocycler nach folgendem Schema ab:

1. Die *initiale Denaturierung* für 5min bei 95°C dient der Auftrennung der DNA-Doppelstränge in zwei Einzelstränge.
2. Die DNA-Doppelstränge werden für weitere 30s auf 95°C gehalten (Denaturierung)
3. Im darauffolgenden *Annealing* wird die Probe für 30s auf 56°C heruntergekühlt. Die Primer binden jeweils komplementär an das 3'- und 5'-Endes der zu amplifizierenden DNA-Sequenz auf den Einzelsträngen.
4. Bei der *Elongation* wird die Temperatur für 1min auf 72°C gehalten. Bei dieser Temperatur ist die Taq-Polymerase aktiv und bindet an die Primer. Replikation der DNA beginnt in diesem Schritt.

Der Reaktionszyklus der Schritte 2-4 wurde 45mal wiederholt, um genügend Reaktionsprodukte für die weiteren Arbeitsschritte zu erhalten.

In einer finalen Extension wurden die Proben für 3min auf 72°C erwärmt und anschließend auf 4°C abgekühlt.

Tabelle 7: PCR-Reaktionscocktail

Reagenz	**Volumen**	**Hersteller**
Autoklaviertes H_2O	1,850µl	Purelab ultra, ELGA
1 x PCR Puffer	0,625µl	Qiagen
$MgCl_2$ (25nM)	0,352µl	Qiagen
dNTP Mix (25nm)	0,100µl	ABgene
Primer Mix (je 500nm)	1,000µl	Qiagen
Genomische DNA 5ng/µl)	2,5µl	
HotStar Taq DNA Polymerase (5U/µl)	0,100µl	Qiagen

3.5.3.2. Dephosphorylierung mit Shrimp Alkaline Phosphatase

Für die vorherige PCR wurde der Lösung eine ausreichende Menge an Nukleotiden hinzugefügt, diese stören jedoch die weitere iPLEX-Reaktion. Das Enzym *Shrimp Alkaline Phosphatase* (SAP, Sequenom, San Diego) dephosphoryliert die überschüssigen Nukleotide und inaktiviert diese somit.
Ein Multimek Pipettierroboter (Beckmann, Fullerton) führte jeweils 5µl der PCR-Lösung und 2µl des SAP-Mix (siehe Tabelle 9) zusammen. Diese Lösung wurde sorgfältig gemischt, abzentrifugiert und anschließend bei 37°C für 20min im Thermocycler (Applied Biosystems, Foster City) inkubiert. Abschließend wurde die SAP irreversibel inaktiviert indem die Lösung für 10min auf 85°C erhitzt wurde. Zur Aufbewahrung wurde die Lösung auf 4°C abgekühlt.

Tabelle 8: SAP-Mix

Reagenz	**Volumen**
Nanopure H_2O	1,530µl
10 x SAP Puffer	0,170µl
SAP Enzym (1U/µl)	0,300µl

3.5.3.3. iPLEX-Extensionsreaktion

Die iPLEX-Extensionsreaktion ist eine modifizierte PCR, bei der massenspezifische Primerextensionsprodukte entstehen. Zuvor entworfene, spezifische Extensionsprimer binden unmittelbar vor den zu untersuchenden SNPs an die amplifizierte DNA (siehe Tabelle 7, Seite 50). Da in dieser Reaktion Didesoxynukleotide (ddNTPs) verwendet werden, wird jeder Extensionsprimer nur um eine Base verlängert. Nach Anlagerung der komplementären Base kommt es zum Kettenabbruch. Im Anschluss kann mit Hilfe des Massenspektrometers die komplementär zu dem SNP hinzugefügte Base bestimmt werden, da die Basen Adenin, Guanin, Thymin und Cytosin unterschiedliche spezifische Massen besitzen. Ein Multimek Pipettierroboter (Beckmann, Fullerton) fügte 2µl des iPLEX-Reaktionscocktails (siehe Tabelle 10, Seite 52) zu dem SAP-behandelten Reaktionsgemisch hinzu.

Die iPLEX-Reaktion läuft in dem Thermocycler nach folgenden Schema ab:

1. Bei der *initialen Denaturierung* wird die Lösung für 30s auf 94°C erhitzt.
2. Die *Denaturierung* wird für weitere 5s fortgeführt, sodass die DNA-Doppelstränge in Einzelstränge aufgetrennt werden.
3. Das *Annealing* erfordert eine Abkühlung der Proben auf 52°C für 5s, wodurch sich die Primer an die Einzelstränge anlagern.
4. Die *Elongation* findet für 5s bei 80°C statt, währenddessen verlängert die Taq-Polymerase die Extensionsprimer um jeweils eine Base.

Die Schritte 3 und 4 wurden fünfmal wiederholt, danach beginnt das Thermocycler-Programm erneut bei Schritt 2. Dieses Schema wurde 40 mal wiederholt, sodass

insgesamt 200 Zyklen durchgeführt wurden.
In einer *finalen Extension* wurde die Lösung für 3min auf 72°C gehalten und zur weiteren Aufbewahrung auf 4°C abgekühlt.

Tabelle 9: iPLEX Reaktionscocktail

Reagenz	**Volumen**	**Hersteller**
Autoklaviertes H_2O	0,755µl	Sequenom, San Diego USA
iPlex Buffer Plus	0,200µl	Sequenom, San Diego USA
iPlex Termination-Mix	0,200µl	Sequenom, San Diego USA
Primer Mix (7µM - 14µM)	0,804µl	Sequenom, San Diego USA
iPlex-Enzym	0,041µl	Sequenom, San Diego USA

3.5.3.4. MALDI-TOF Massenspektrometrie

Die MALDI-TOF Massenspektrometrie dient der Messung der Extensionsprodukte. Die Lösung der Extensionsprodukte enthält weiterhin Kationen, die bei der Massenspektrometrie zu Störsignalen führen. Zuerst musste die Lösung mittels eines Ionenaustauschharzes SpectroClean Resein (Sequenom, San Diego) entsalzt werden.
Zur Massenspektrometrie wurde der MassARRY MALDI TOF (Sequenom, San Diego) verwendet. Die Übertragung des Gemischs auf Silizium Chips (384er SpectroCHIP bioarray, Sequenom, San Diego, USA) wird von dem MassARRAY Nanodispenser (Sequenom, San Diego) übernommen. Die 384 Matrix der Chips besteht aus einer 3-Hydroxypicolinsäure, diese verhindert die Auskristallisierung der Endprodukte. Die Kalibrierung des Analysesystems erfolgte durch das Auftragen zusätzlicher Oligonukleotide bekannter Masse. Durch eine Vakuumschleuse wurden die Chips in das Hochvakuum (10^{-8}-10^{-6}mbar) des Massenspektrometers eingebracht und dort einem intensiven Laserpuls (N2-Laser: λ=337nm) für wenige Nanosekunden ausgesetzt. Durch Verdampfung und Ionisierung entstanden gasförmige, einfach geladene Ionen. Diese wurden dann durch ein elektrisches Feld beschleunigt. Die Ionen wurden abhängig von ihrem Masse-/Ladungsverhältnis aufgetrennt. Eine

höhere Beschleunigung fand bei einem geringen Masse-/Ladungsverhältnis statt. Am Ende des Ladungsrohrs trafen die geladenen Ionen zu unterschiedlichen Zeitpunkten auf einem Detektor auf. Je nach Flugdauer konnte die unterschiedliche Masse der Basen durch die TYPER Analyzer 3.3.0 Software (Sequenom, San Diego) gemessen werden. Dadurch wurde jedem DNA-Fragment ein spezifischer Genotyp zugeordnet.

3.6. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte anhand IBM SPSS Statistics 19, PLINK (PLINK 1.07, 2009; Purcell et al., 2007), R 2.13.0 (R Development Core Team, 2011) und Haploview 4.2. (Barrett et al., 2005).

Der exakte Test nach Fisher wurde zur Überprüfung der Genotypverteilung und der Abweichung vom Hardy-Weinberg-Equilibrium (HWE) verwendet. Als Grenzwert wurde ein p-Wert von 0,05 gesetzt. Die SNPs, die signifikant vom HWE abwichen, wurden aus weiteren Analysen ausgeschlossen.

In der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie wurde der zweiseitige Chi-Quadrat-Test angewendet, um Unterschiede zwischen Kontrollprobanden und Patienten hinsichtlich der Häufigkeit und der Unterschiede zu bestimmen.

Mittels linearer Regression wurde der genetische Einfluss der SNPs auf den Endophänotyp Wortflüssigkeit berechnet. Die lineare Funktion beschreibt den Zusammenhang zwischen der abhängigen Variable, dem Genotyp, und dem Ausprägungsgrad der unabhängigen Variablen, der Wortflüssigkeit. Es wurde mit den Rohwerten der Testergebnisse gerechnet. Als Covariablen wurden das Alter, das Geschlecht und der jeweilige Bildungsgrad (niedrig, mittel, hoch) der Untersuchungspersonen einbezogen.
Das additive Modell wurde für die Berechnung des Einflusses der Genotypen verwendet. Dabei wird der Genotyp entsprechend der Anzahl der Effekt-Allele mit 0,1 und 2 kodiert.
In einem weiteren Schritt wurde der Effekt des selteneren Allels in der Genotypverteilung mit Hilfe des dominanten Modells untersucht. Dabei wird das

Auftreten der Genotypen, die das seltenere Allen (Allel1/Allel1 und Allel1/Allel2) enthalten mit dem homozygoten Genotyp des häufigeren Allels verglichen. Umgekehrt wurde im rezessiven Modell der Einfluss des häufiger vorkommenden Allels analysiert. Somit wird das Vorkommen des häufigeren Allels (Allel1/Allel2 und Allel2/Allel2) dem selteneren (Allel1/Allel1) gegenübergestellt, wobei Allel1 als das seltenere Allel definiert wird.

Zur Analyse der Haplotypen wurde die Haploview Software 4.2. (Barrett et al., 2005) zur Bestimmung der Haplotypblöcke die Methode von Gabriel genutzt (Gabriel et al., 2002). In die Analyse wurden ausschließlich Haplotypen mit einer Frequenz >0,01 eingeschlossen. Fehlten >50% des Genotyps, wurde der Proband nicht mit einbezogen.

Als statistische Berechnungsgrundlage wurde das Signifikanzniveau von $p<0,05$ festgelegt, als Trend zählte $p<0,1$.

4. Ergebnisse

4.1. Die Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

In der vorliegenden Fall-Kontroll-Assoziationsstudie wurde eine Stichprobe von 3.217 Individuen untersucht, dabei wurden 2.288 gesunde Kontrollprobanden mit 929 Schizophrenie-Patienten verglichen. Ziel der Studie ist es, eine Assoziation zwischen dem FOXP2-Gen und der Schizophrenie zu detektieren. Dazu wurden zwanzig SNPs des FOXP2-Gens genotypisiert und bezüglich ihrer Genotypen- und Allelfrequenz statistisch analysiert.

Das National Center of Biotechnology Information (NCBI), Datenbank der Single Nucleotid Polymorphisms (dbSNP) sammelt Informationen zu den Lokalisationen, Häufigkeitsverteilungen und Funktionen bekannter Einzelbasenaustausch-polymorphismen (NCBI, 2014a). Abbildung 3 wurde nach Vorlage der dbSNP erstellt und zeigt die Lage der zwanzig untersuchten SNPs des FOXP2-Gens. Der SNP rs1058335 liegt im Exon 17 des FOXP2-Gens. Der SNP liegt am 3'-untranslatierten Bereich hinter dem Stopcodon. Somit hat der Austausch der Base Thymin zu Cytosin keinen Einfluss auf die Aminosäuresequenz (NCBI, 2014b). Alle weiteren SNPs liegen in den intronischen Bereichen (NCBI, 2014a).

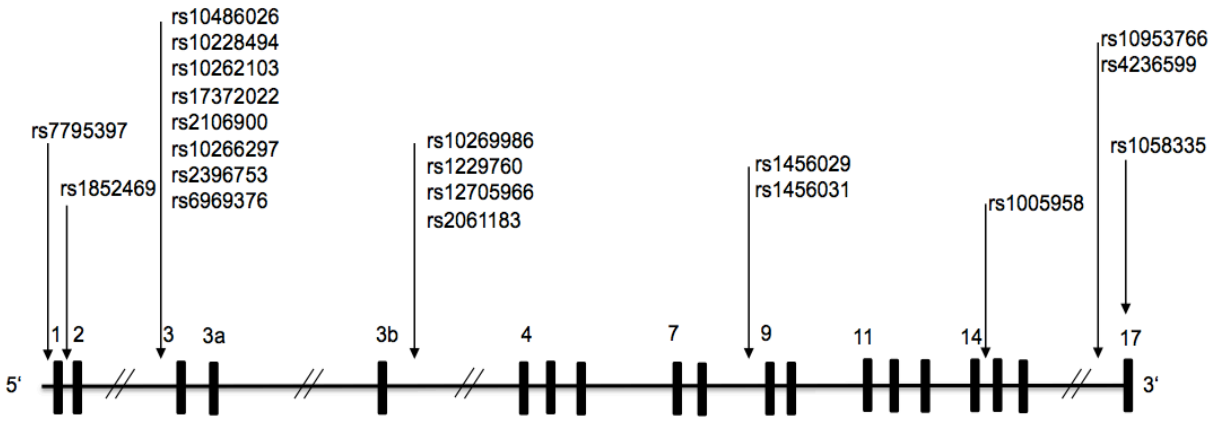


Abbildung 3: Lokalisation der zwanzig untersuchten SNPs des FOXP2-Gens, die Boxen stellen die Exons dar

Eine Analyse der Stichproben durch den Fisher-Exact-Test ergab, dass sich die Genotypverteilung der Patienten sowie der Kontrollen im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht befinden (siehe Tabelle 11).

Tabelle 10: Analyse des Hardy-Weinberg-Equilibriums der FOXP2-SNPs auf Chromosom 7q31

SNP	Position	Allel 1	Allel 2	p-Wert Proband	p-Wert Patient	p-Wert Stichprobe
rs7795397	114047140	A	T	0,127	0,891	0,239
rs1852469	114060476	A	T	0,180	0,047	0,835
rs10486026	114080435	C	T	0,114	0,838	0,237
rs10228494	114083550	C	G	0,766	0,507	0,943
rs10262103	114091844	C	A	0,306	0,389	0,720
rs17372022	114119935	G	T	0,052	1,000	0,096
rs2106900	114122506	A	G	0,764	0,458	0,914
rs10266297	114143407	C	T	0,726	0,734	0,912
rs2396753	114148331	C	A	0,575	0,894	0,690
rs6969376	114160871	G	A	0,669	0,689	0,914
rs10269986	114211447	A	G	0,966	0,842	0,943
rs1229760	114224163	T	C	0,711	0,942	0,815
rs12705966	114248851	G	A	0,926	0,885	0,876
rs2061183	114258014	C	G	0,419	0,102	0,932
rs1456029	114290748	G	A	0,703	0,545	1,000
rs1456031	114296102	T	C	1,000	0,389	0,668
rs1005958	114302855	C	T	0,932	0,946	0,913
rs10953766	114313218	A	G	0,519	0,288	1,000
rs4236599	114318097	T	C	0,435	0,681	0,360
rs1058335	114333664	T	C	0,287	0,925	0,329

4.1.1. Genotypverteilung des FOXP2-Gens

Zunächst werden die jeweiligen Genotypen (Allel1/Allel1, Allel1/Allel2 und Allel2/Allel2) der Patienten und Kontrollprobanden einander gegenübergestellt, um einen möglichen Zusammenhang zwischen dem Auftreten der untersuchten SNPs und der Schizophrenie zu ermitteln (siehe Tabelle 12, Seite 57).

Tabelle 11: Genotypverteilung der 20 SNPs der Patienten und Kontrollprobanden

SNP	A1	A2	Patienten			Kontrollen			p-Wert
			A1A1	A1A2	A2A2	A1A1	A1A2	A2A2	
rs7795397	A	T	160	441	296	415	1038	742	0,62
rs1852469	A	T	6	88	822	1	183	2057	0,002
rs10486026	C	T	36	296	571	114	718	1372	0,383
rs10228494	C	G	203	447	270	465	1122	657	0,661
rs10262103	C	A	204	444	271	441	1134	667	0,257
rs17372022	G	T	36	291	582	119	726	1407	0,278
rs2106900	A	G	162	460	293	446	1098	695	0,36
rs10266297	T	C	182	431	268	411	1069	672	0,609
rs2396753	C	A	189	449	271	410	1109	712	0,235
rs6969376	G	A	191	448	277	417	1121	725	0,257
rs10269986	A	G	206	456	245	517	1121	610	0,978
rs1229760	T	C	116	415	364	291	1001	891	0,955
rs12705966	G	A	117	412	371	285	1007	899	0,997
rs2061183	C	G	17	176	730	27	480	1745	0,152
rs1456029	G	A	56	358	510	158	863	1226	0,624
rs1456031	T	C	230	470	212	518	1107	592	0,116
rs1005958	C	T	163	446	308	438	1099	694	0,292
rs10953766	A	G	187	473	258	439	1084	707	0,132
rs4236599	T	C	161	431	307	430	1063	703	0,398
rs1058335	T	C	48	323	550	96	693	1440	0,032

Wie in Tabelle 12 dargestellt, konnten bei zwei der SNPs signifikante Unterschiede der Genotypverteilung zwischen den gesunden Probanden und Schizophreniepatienten errechnet werden. Für den SNPs rs1852469 zeigte sich, dass der Genotyp AA häufiger bei Patienten auftrat (p=0,002). Auch bei dem SNP rs1058335 war der seltenere Genotyp TT bei den Patienten häufiger anzutreffen (p=0,032).

4.1.2. Genotypverteilung des FOXP2-Gens nach dem dominanten Modell

Im Anschluss wurde der Effekt des selteneren Allels im dominanten Modell untersucht. Dazu wurde das Auftreten des selteneren Allels (Allel1/Allel1 und Allel1/Allel2) mit dem des häufigeren Allels bei Homozygoten (Allel2/Allel2) bei Patienten sowie gesunden Kontrollprobanden verglichen. Ein überzufällig häufigeres

Auftreten eines Allels kann auf eine Assoziation mit der Schizophrenie hinweisen (siehe Tabelle 13).

Tabelle 12: Genotypverteilung der 20 SNPs nach dem dominanten Model

SNP	A1	A2	Patienten		Kontrollen		p-Wert
			A1A1+ A1A2	A2A2	A1A1	A1A1+ A1A2	
rs7795397	A	T	601	296	1453	742	0,675
rs1852469	A	T	94	822	184	2057	0,072
rs10486026	C	T	332	571	832	1372	0,624
rs10228494	C	G	650	270	1587	657	0,966
rs10262103	C	A	648	271	1575	667	0,898
rs17372022	G	T	327	582	845	1407	0,440
rs2106900	A	G	622	293	1544	695	0,612
rs10266297	T	C	613	268	1480	672	0,697
rs2396753	C	A	638	271	1519	712	0,252
rs6969376	G	A	639	277	1538	725	0,333
rs10269986	A	G	662	245	1638	610	0,965
rs1229760	T	C	531	364	1292	891	0,968
rs12705966	G	A	529	371	1292	899	0,936
rs2061183	C	G	193	730	507	1745	0,346
rs1456029	G	A	414	510	1021	1226	0,754
rs1456031	T	C	700	212	1625	592	0,048
rs1005958	C	T	609	308	1537	694	0,178
rs10953766	A	G	660	258	1523	707	0,050
rs4236599	T	C	592	307	1493	703	0,254
rs1058335	T	C	371	550	789	1440	0,011

Die Tabelle 13 zeigt, dass für zwei SNPs eine signifikante Assoziation mit der Schizophrenie und für zwei SNPs ein Trend in Richtung einer Signifikanz errechnet wurde. Für den SNP rs1456031 zeigte sich, dass die Patienten (76,75%) signifikant häufiger Träger des selteneren Allels T sind als die Kontrollprobanden (73,30%) (p=0,048). Bei dem SNP rs1058335 waren Patienten (59,72%) signifikant häufiger Träger des selteneren Allels T als gesunde Probanden (35,40%) (p=0,011). Für den SNP rs1852469 konnte festgestellt werden, dass die Patienten tendenziell häufiger Träger des selteneren Allels A sind (p=0,072). Zusätzlich wurde für den SNP rs10953766 errechnet, dass Patienten tendenziell häufiger Träger des selteneren Allels A sind (p=0,050).

4.1.3. Genotypverteilung des FOXP2-Gens nach dem rezessiven Modell

Im Anschluss wurden die Berechnungen in Richtung des häufiger auftretenden Allels durchgeführt. Dabei wurden Träger des häufigeren Allels 2 (Allel1/Allel2 und Allel2/Allel2) mit den Trägern des seltener auftretenden Allels (Allel1/Allel2) miteinander verglichen (siehe Tabelle 14).

Für den SNP rs1852469 geht hervor, dass unter den schizophrenen Patienten (99,34%) signifikant weniger Träger des häufigeren Allels T vorkommen als unter den gesunden Kontrollprobanden (99,99%)(p=0,003).

Tabelle 13: Genotypverteilung der 20 SNPS nach dem rezessiven Modell

SNP	A1	A2	Patienten		Kontrollen		p-Wert
			A1A1	A1A2+ A2A2	A1A1	A1A2+ A2A2	
rs7795397	A	T	160	737	415	1780	0,508
rs1852469	A	T	6	910	1	2240	0,003
rs10486026	C	T	36	867	114	2090	0,168
rs10228494	C	G	203	717	465	1779	0,415
rs10262103	C	A	204	715	441	1801	0,120
rs17372022	G	T	36	873	119	2133	0,123
rs2106900	A	G	162	753	446	1793	0,164
rs10266297	T	C	182	699	411	1741	0,338
rs2396753	C	A	189	720	410	1821	0,121
rs6969376	G	A	191	725	417	1846	0,123
rs10269986	A	G	206	701	517	1731	0,888
rs1229760	T	C	116	779	291	1892	0,815
rs12705966	G	A	117	783	285	1906	1,000
rs2061183	C	G	17	906	27	2225	0,181
rs1456029	G	A	56	868	158	2089	0,350
rs1456031	T	C	230	682	518	1699	0,269
rs1005958	C	T	163	754	438	1793	0,232
rs10953766	A	G	187	731	439	1791	0,659
rs4236599	T	C	161	738	430	1766	0,291
rs1058335	T	C	48	873	96	2133	0,262

4.1.4 Allelfrequenz des FOXP2-Gens

Abschließend wurde die Allelfrequenz in der Stichprobe der schizophrenen Probanden sowie der gesunden Probanden untersucht, dabei stimmt die Anzahl der Allele mit der des diploiden Chromosomensatz überein (Tabelle 15).

Tabelle 14: Allelfrequenz der 20 SNPs der Patienten und Kontrollprobanden

SNP	A1	A2	Patienten		Kontrollen		p-Wert
			Allel 1	Allel 2	Allel 1	Allel 2	
rs7795397	A	T	761	1033	1868	2522	0,932
rs1852469	A	T	100	1732	185	4297	0,023
rs10486026	C	T	368	1438	946	3462	0,356
rs10228494	C	G	853	987	2052	2436	0,657
rs10262103	C	A	852	986	2016	2468	0,317
rs17372022	G	T	363	1455	964	3540	0,207
rs2106900	A	G	784	1046	1990	2488	0,252
rs10266297	T	C	795	967	1891	2413	0,409
rs2396753	C	A	827	991	1929	2533	0,104
rs6969376	G	A	830	1002	1955	2571	0,125
rs10269986	A	G	868	946	2155	2341	0,956
rs1229760	T	C	647	1143	1583	2783	0,953
rs12705966	G	A	646	1154	1577	2805	0,954
rs2061183	C	G	210	1636	534	3970	0,606
rs1456029	G	A	470	1378	1179	3315	0,529
rs1456031	T	C	930	894	2143	2291	0,059
rs1005958	C	T	772	1062	1975	2487	0,117
rs10953766	A	G	847	989	1962	2498	0,125
rs4236599	T	C	753	1045	1923	2469	0,175
rs1058335	T	C	419	1423	885	3573	0,010

Wie in Tabelle 15 ersichtlich können für zwei der zuvor beschriebenen SNPs Signifikanzen sowie ein Trend errechnet werden.

Bei dem SNP rs1852469 kommt das seltenere Allel A in der Patientengruppe (5,46%) signifikant häufiger als in der Gruppe der Kontrollprobanden (4,13%) (p=0,023). Für den SNP rs1058335 konnte berechnet werden, dass das seltenere Allel T in der Patientengruppe (22,75%) signifikant häufiger vorkommt als in der Kontrollgruppe (19,85%) (p=0,010). Für den SNP rs1456031 wurde ein Trend in Richtung einer Signifikanz berechnet. So kommt das seltenere Allel T in der Patientengruppe tendenziell häufiger vor (p=0,059).

4.2. Zusammenhang der FOXP2-SNPs mit der Wortflüssigkeit

In der vorliegenden Endophänotypen-Studie wurden die Testergebnisse des Regensburger Wortflüssigkeits-Test (RWT) der jeweiligen Genotypen von Patienten und Kontrollen miteinander verglichen.
Alle Studienteilnehmer wurden in den vier Untertests Wortflüssigkeit, Wortflüssigkeit-Wechsel, Wortflüssigkeit Kategorien und Wortflüssigkeit Kategorien-Wechsel geprüft. Mittels linearer Regression sollten signifikante Assoziationen zwischen den Testergebnissen und dem jeweiligen Genotyp festgestellt werden. Alter, Geschlecht und Bildung wurden als Covariablen einbezogen.
Die folgende Tabelle zeigt die Frequenzverteilung der Genotypen unter den Patienten, Kontrollen sowie in der Gesamtstichprobe (Tabelle 16).

SNP	Genotyp	Patienten	Kontrollen	Gesamt
rs1852469	AA	4	0	4
	AT	31	52	83
	TT	314	462	776
rs2106900	AA	62	108	170
	AG	174	250	424
	GG	113	153	266
rs10269986	AA	83	110	193
	AG	171	255	426
	GG	96	146	242
rs1229760	TT	140	201	341
	TC	154	233	387
	CC	53	61	114
rs12705966	GG	141	202	343
	GA	152	240	392
	AA	53	59	112
rs1005958	CC	63	120	183
	CT	168	245	413
	TT	120	158	278
rs4236599	TT	117	156	273
	TC	167	237	404
	CC	62	106	168

Tabelle 15: Frequenzverteilung der Genotypen der jeweiligen SNPs

4.2.1. Analyse des Wortflüssigkeit Tests des RWT

Im Test auf Wortflüssigkeit lassen sich für fünf der insgesamt zwanzig untersuchten SNPs signifikante Unterschiede in den Testergebnissen der Patienten und Kontrollprobanden beschreiben, zwei weitere SNPs zeigen einen Trend in Richtung signifikanter Ergebnisse. Die Ergebnisse sind in Tabelle 17 dargestellt (Seite 63).
Die Gruppe der Kontrollprobanden des SNPs rs1852469 mit dem Genotyp AA präsentiert signifikant schlechtere Testergebnisse (p=0,025).
Die Auswertung des SNPs rs10269986 zeigte, dass die Kontrollen des Genotyp AA signifikant bessere Ergebnisse (p=0,018) erlangten. Auch bei den Patienten lässt sich ein Trend hinsichtlich besserer Ergebnisse des Genotypen AA beobachten (p=0,065). Unter Zusammenfassung beider Stichproben findet sich ein signifikant besseres Ergebnis aller AA-Träger (p=0,004). Die Gruppe der Kontrollprobanden des Genotyps TT des SNPs rs1229760 nannte im Test auf Wortflüssigkeit signifikant mehr Wörter (p=0,005). Eine Berechnung der Signifikanz unter Zusammenfassung beider Stichproben ergab, dass hierbei der Genotyp TT signifikant besser abschneidet (p=0,003). Die Stichprobe der Kontrollen des SNP rs12705966 des Genotyps GG erzielte signifikant bessere Ergebnisse (p=0,007). Bei der Berechnung der Signifikanz der Gesamtstichprobe, Patienten und Kontrollen, bleibt eine Signifikanz hinsichtlich dieser Richtung (p=0,005) bestehen. Für den SNP rs4236599 zeigt sich im Untertest Wortflüssigkeit ein signifikanter Unterschied in den Testergebnissen der Kontrollen. So erreichen Kontrollen des Genotyps TT durchschnittlich schlechtere Ergebnisse (p=0,044). Bei der Betrachtung der Ergebnisse der Patienten und Kontrollen in einer Stichprobe, bleibt diese Signifikanz bestehen (p=0,013).
Für den SNP rs1005958 ließ sich für die Gruppe der Kontrollprobanden mit dem Genotypen CC ein Trend hinsichtlich schlechterer Testergebnisse berechnen (p=0,084), in der Gesamtgruppe sind die Ergebnisse signifikant (p=0,025). In der Gruppe der Patienten des SNP rs2106900 zeigte sich ein Trend (p=0,092) hinsichtlich besserer Ergebnisse für den Genotypen GG.

Tabelle 16: RWT-Ergebnisse des Untertests Wortflüssigkeit der signifikanten SNPs

SNP	Geno-typ	Patienten			Kontrollen			Gesamt		
		p-Wert	MW	SF	p-Wert	MW	SF	p-Wert	MW	SF
rs1852469	AA	0,751	15,93	1,54	0,025	16,23	1,6	0,163	16,44	1,12
	AT		15,78	0,76		18,11	0,79		17,32	0,56
	TT		15,63	0,28		19,99	0,27		18,21	0,20
rs2106900	AA	0,092	14,92	0,52	0,425	19,44	0,46	0,123	17,63	0,30
	AG		15,55	0,28		19,78	0,26		18,07	0,19
	GG		16,18	0,43		20,12	0,42		18,50	0,35
rs10269986	AA	0,065	16,35	0,47	0,018	20,9	0,47	0,004	19,00	0,34
	AG		15,7	0,27		19,97	0,26		18,21	0,19
	GG		15,04	0,45		19,03	0,42		17,43	0,31
rs1229760	TT	0,244	16,19	0,55	0,005	21,22	0,55	0,003	19,13	0,39
	TC		15,77	0,28		20,16	0,28		18,35	0,20
	CC		15,36	0,39		19,09	0,37		17,57	0,27
rs12705966	GG	0,257	16,19	0,55	0,007	21,17	0,55	0,005	19,11	0,39
	GA		15,79	0,29		20,14	0,27		18,36	0,20
	AA		15,38	0,39		19,11	0,37		17,60	0,27
rs1005958	CC	0,101	14,97	0,52	0,084	19,1	0,47	0,025	17,44	0,30
	CT		15,58	0,28		19,78	0,26		18,05	0,19
	TT		16,18	0,42		20,41	0,41		18,66	0,35
rs4236599	TT	0,109	14,99	0,52	0,044	19,05	0,46	0,013	17,41	0,35
	TC		15,6	0,27		19,76	0,26		18,06	0,19
	CC		16,21	0,42		20,47	0,41		18,71	0,29

RK=Regressionskoeffizient; MW=Mittelwert (n=Anzahl der Wörter); SF=Standardfehler; f=Frequenz

In Abbildung 4 sind die adjustierten Mittelwerte der Testergebnisse der jeweiligen Genotypen der Patienten, Kontrollen und Gesamtstichprobe im Untertest Wortflüssigkeit des RWTs dargestellt.

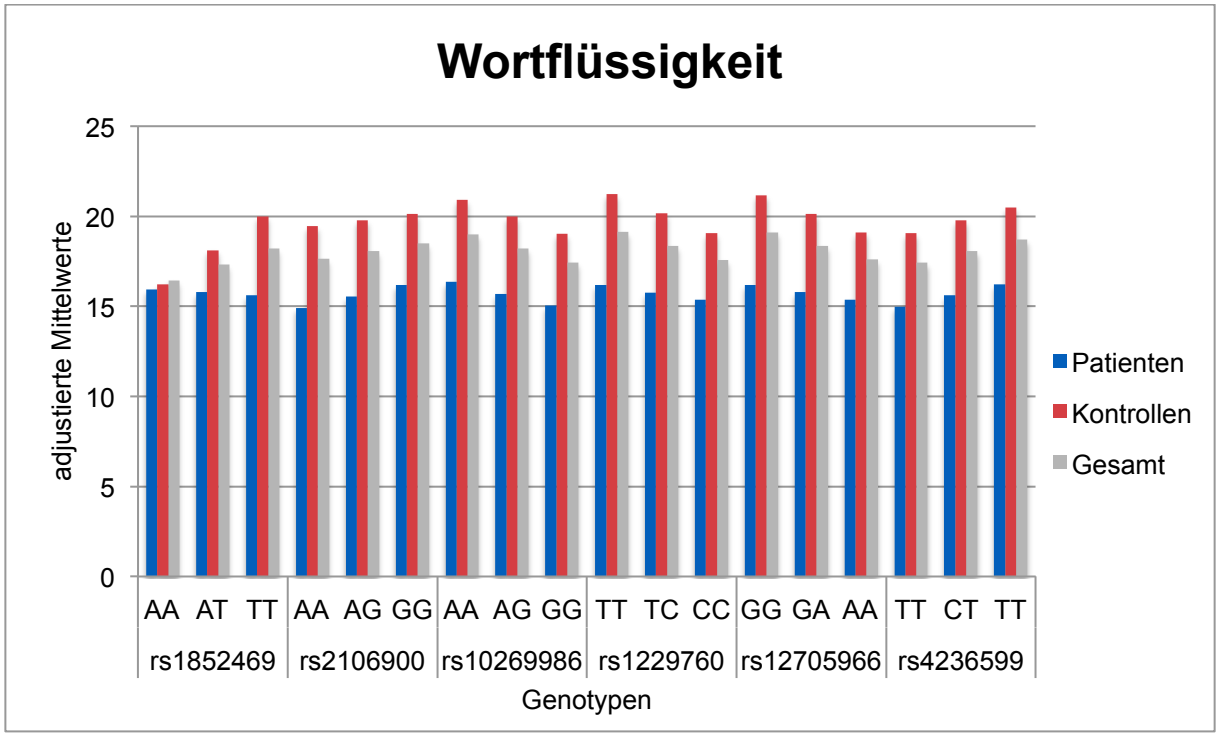


Abbildung 4: Adjustierte Mittelwerte der Patienten, Kontrollen und der Gesamtstichprobe im Untertest Wortflüssigkeit der jeweiligen SNPs

4.2.2. Analyse des Wortflüssigkeit-Wechsel Tests des RWT

Bei der Analyse des Tests Wortflüssigkeit-Wechsel wurde für vier SNPs bei der Gruppe der Patienten signifikante Unterschiede der Testergebnisse errechnet. Zusätzlich wurde für einen der zwanzig SNPs eine Signifikanz bezüglich der Testergebnisse der Kontrollprobanden errechnet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 18 (Seite 65) dargestellt.

Im Test auf Wortflüssigkeit-Wechsel müssen die Patienten zwischen den vorgegebenen Anfangsbuchstaben wechseln. Dabei zeigte sich, dass Patienten des Genotyps AA des SNPs rs21069900 signifikant weniger Wörter nannten (p=0,024). Die Gruppe der Patienten des Genotyps AA des SNPs rs10269986 schneidet dagegen in diesem Untertest auffallend besser ab (p=0,021). Diese Signifikanz bleibt unter Einbeziehung der Werte der Kontrollen bestehen (p=0,019). Für Patienten des SNP rs1005958 wurde ein signifikantes Ergebnis in dem Untertest Wortflüssigkeit-Wechsel berechnet (p=0,022). Hier erzielt die Gruppe des Genotypen CC signifikant schlechtere Testergebnisse. Des Weiteren erzielten Patienten des Genotyps TT des SNP rs4236599, im Untertest Wortflüssigkeit-Wechsel schlechtere Ergebnisse

(p=0,011). Auch hier besteht die Signifikanz bei der Analyse der Gesamtstichprobe (p=0,011).

Bei der Analyse der Ergebnisse der Kontrollprobanden ließ sich für den SNP rs1852469 eine Signifikanz hinsichtlich schlechterer Ergebnisse der Gruppe der Genotypen AA errechnen (p=0,024). Ein Trend in Richtung besserer Ergebnisse bei der Betrachtung der Gesamtstichprobe erreichten Träger des Genotypen TT des SNP rs1229760 (p=0,045). Auch Träger des Genotypen GG des SNP rs12705966 erreichten tendenziell bessere Ergebnisse (p=0,057).

Tabelle 17: RWT-Ergebnisse des Untertests Wortflüssigkeit-Wechsel der signifikanten SNPs

SNP	Geno-typ	Patienten			Kontrollen			Gesamt		
		p-Wert	MW	SF	p-Wert	MW	SF	p-Wert	MW	SF
rs1852469	AA	0,712	17,28	1,77	0,024	17,88	1,49	0,236	17,97	1,14
	AT		17,12	0,88		19,63	0,74		18,78	0,56
	TT		16,95	0,33		21,42	0,25		19,60	0,20
rs2106900	AA	0,024	15,94	0,6	0,343	21,54	0,43	0,476	19,31	0,35
	AG		16,91	0,32		21,27	0,24		19,52	0,19
	GG		17,88	0,5		21,01	0,39		19,73	0,31
rs10269986	AA	0,021	18,02	0,54	0,261	21,80	0,44	0,019	20,25	0,34
	AG		17,06	0,3		21,35	0,24		19,60	0,19
	GG		16,10	0,52		20,89	0,39		18,94	0,32
rs1229760	TT	0,129	17,81	0,63	0,167	21,91	0,51	0,035	20,25	0,40
	TC		17,19	0,33		21,42	0,26		19,69	0,20
	CC		16,56	0,45		20,92	0,35		19,12	0,28
rs12705966	GG	0,137	17,8	0,63	0,263	21,77	0,52	0,057	20,19	0,40
	GA		17,19	0,33		21,37	0,26		19,68	0,20
	AA		16,59	0,45		20,97	0,35		19,18	0,28
rs1005958	CC	0,022	15,89	0,6	0,487	20,93	0,44	0,045	18,89	0,36
	CT		16,88	0,32		21,24	0,24		19,47	0,19
	TT		17,87	0,48		21,55	0,39		20,05	0,30
rs4236599	TT	0,011	15,76	0,59	0,252	20,85	0,43	0,011	18,79	0,35
	TC		16,88	0,31		21,22	0,24		19,47	0,19
	CC		18,00	0,48		21,60	0,38		20,14	0,30

RK=Regressionskoeffizient; MW=Mittelwert (n=Anzahl der Wörter); SF=Standardfehler; f=Frequenz

In Abbildung 5 sind die adjustierten Mittelwerte der Testergebnisse im Untertest Wortflüssigkeit-Wechsel des RWTs der Patienten, Kontrollen sowie Gesamtstichprobe dargestellt.

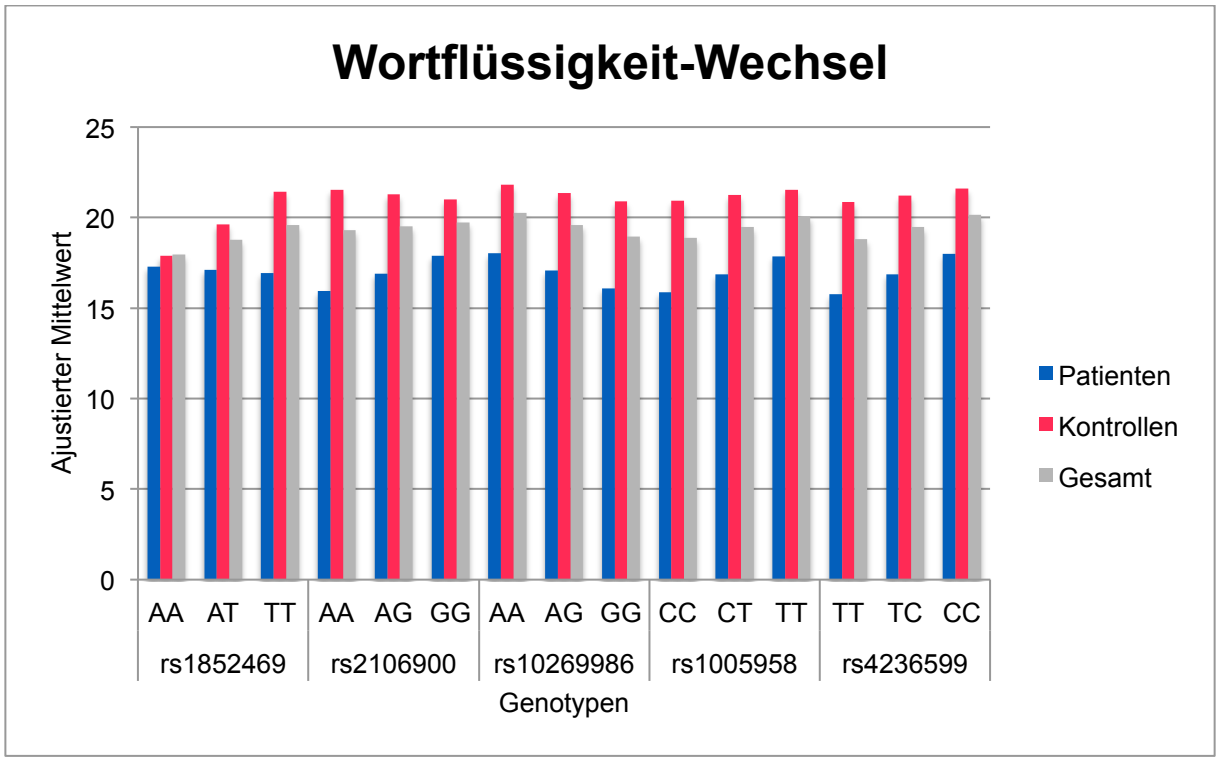


Abbildung 5: Adjustierte Mittelwerte der Patienten, Kontrollen und der Gesamtstichprobe im Untertest Wortflüssigkeit-Wechsel der jeweiligen SNPs

4.2.3. Analyse des Wortflüssigkeit-Kategorien Tests des RWT

Bei der Analyse der Testergebnisse im Untertest Wortflüssigkeit-Kategorien, bei dem die Patienten möglichst viele Wörter einer vorgegebenen Kategorie nennen sollten, konnte für keinen der zwanzig untersuchten SNPs eine Signifikanz errechnet werden. In Tabelle 19 sind die Ergebnisse der sieben zuvor beschriebenen SNPs dargestellt.

Tabelle 18: RWT-Ergebnisse des Untertests Wortflüssigkeit-Kategorien der signifikanten SNPs

SNP	Geno-typ	Patienten			Kontrollen			Gesamt		
		p-Wert	MW	SF	p-Wert	MW	SF	p-Wert	MW	SF
rs1852469	AA	0,653	29,47	2,27	0,137	32,6	2,02	0,902	31,49	1,50
	AT		29,09	1,13		34,06	1,00		32,13	0,74
	TT		28,72	0,42		35,53	0,34		32,76	0,26
rs2106900	AA	0,176	28	0,77	0,468	35,8	0,58	0,818	32,68	0,47
	AG		28,75	0,41		35,45	0,32		32,75	0,25
	GG		29,49	0,64		35,11	0,52		32,81	0,41
rs10269986	AA	0,361	29,38	0,7	0,657	35,62	0,6	0,368	33,06	0,45
	AG		28,85	0,4		35,45	0,33		32,75	0,25
	GG		28,32	0,67		35,28	0,54		32,45	0,42
rs1229760	TT	0,865	28,93	0,81	0,596	35,81	0,70	0,613	32,98	0,53
	TC		28,83	0,42		35,55	0,35		32,80	0,27
	CC		28,74	0,58		35,3	0,47		32,61	0,37
rs12705966	GG	0,802	28,9	0,81	0,388	35,71	0,70	0,671	32,93	0,53
	GA		28,81	0,42		35,5	0,35		32,78	0,27
	AA		28,72	0,58		35,29	0,47		32,62	0,37
rs1005958	CC	0,350	28,21	0,77	0,753	35,65	0,59	0,410	32,31	0,47
	CT		28,73	0,41		35,39	0,32		32,67	0,25
	TT		29,25	0,62		35,14	0,52		33,03	0,40
rs4236599	TT	0,306	28,16	0,77	0,442	35,06	0,59	0,218	32,26	0,47
	TC		28,74	0,41		35,4	0,32		32,69	0,25
	CC		29,32	0,62		35,75	0,51		33,12	0,40

RK=Regressionskoeffizient; MW=Mittelwert (n=Anzahl der Wörter); SF=Standardfehler; f=Frequenz

4.2.4. Analyse des Wortflüssigkeit-Kategorien-Wechsel Tests des RWT

Im Untertest Wortflüssigkeit-Kategorien-Wechsel, in dem die Probanden möglichst viele Wörter zweier Kategorien im Wechsel nennen müssen, lies sich für jeweils einen der SNPs eine Signifikanz sowie ein Trend in den Unterschieden der Testergebnisse errechnen (Tabelle 20).

Tabelle 19: RWT-Ergebnisse des Untertests Wortflüssigkeit-Kategorien-Wechsel der signifikanten SNPs

	Geno-typ	Patienten			Kontrollen			Gesamt		
		p-Wert	MW	SF	p-Wert	MW	SF	p-Wert	MW	SF
rs1852469	AA	0,963	16,44	1,27	0,048	18,75	1,08	0,193	17,98	0,82
	AT		16,50	0,63		19,88	0,53		18,58	0,41
	TT		16,55	0,24		21	0,18		19,19	0,14
rs2106900	AA	0,073	16,01	0,43	0,454	21,3	0,31	0,946	19,20	0,26
	AG		16,58	0,23		20,95	0,17		19,18	0,14
	GG		17,1	0,36		20,6	0,28		19,16	0,22
rs10269986	AA	0,113	17,12	0,40	0,473	20,75	0,32	0,674	19,26	0,25
	AG		16,64	0,22		20,91	0,17		19,17	0,14
	GG		16,15	0,38		21,06	0,28		19,08	0,23
rs1229760	TT	0,501	16,83	0,46	0,918	20,89	0,37	0,690	19,23	0,29
	TC		16,64	0,24		20,92	0,19		19,17	0,15
	CC		16,45	0,33		20,94	0,25		19,10	0,20
rs12705966	GG	0,911	16,84	0,46	0,489	20,86	0,37	0,726	19,24	0,29
	GA		16,65	0,24		20,91	0,19		19,18	0,15
	AA		16,46	0,33		20,95	0,25		19,12	0,20
rs1005958	CC	0,159	16,08	0,43	0,053	20,68	0,31	0,200	18,82	0,26
	CT		16,5	0,23		20,89	0,17		19,10	0,14
	TT		16,93	0,35		21,09	0,28		19,10	0,22
rs4236599	TT	0,131	16,06	0,43	0,503	20,74	0,32	0,152	18,85	0,26
	TC		16,53	0,23		20,90	0,17		19,13	0,14
	CC		17,00	0,35		21,06	0,28		19,40	0,22

RK=Regressionskoeffizient; MW=Mittelwert (n=Anzahl der Wörter); SF=Standardfehler; f=Frequenz

So nannten Kontrollprobanden des Genotyps AA des SNPs rs1852469 signifikant weniger Wörter in diesem Untertest (p=0,048). Für den SNP rs2106900 zeigte sich bei den Patienten ein Trend hinsichtlich schlechterer Ergebnisse des Genotypen AA (p=0,073). Auch Träger des Genotyps CC des SNPs rs1005958 erreichten tendenziell schlechtere Testergebnisse (p=0,053). Für keinen der SNPs traten signifikante Ergebnisse in der Betrachtung der Gesamtgruppe auf. Die beschriebenen Ergebnisse sind in Abbildung 6 präsentiert.

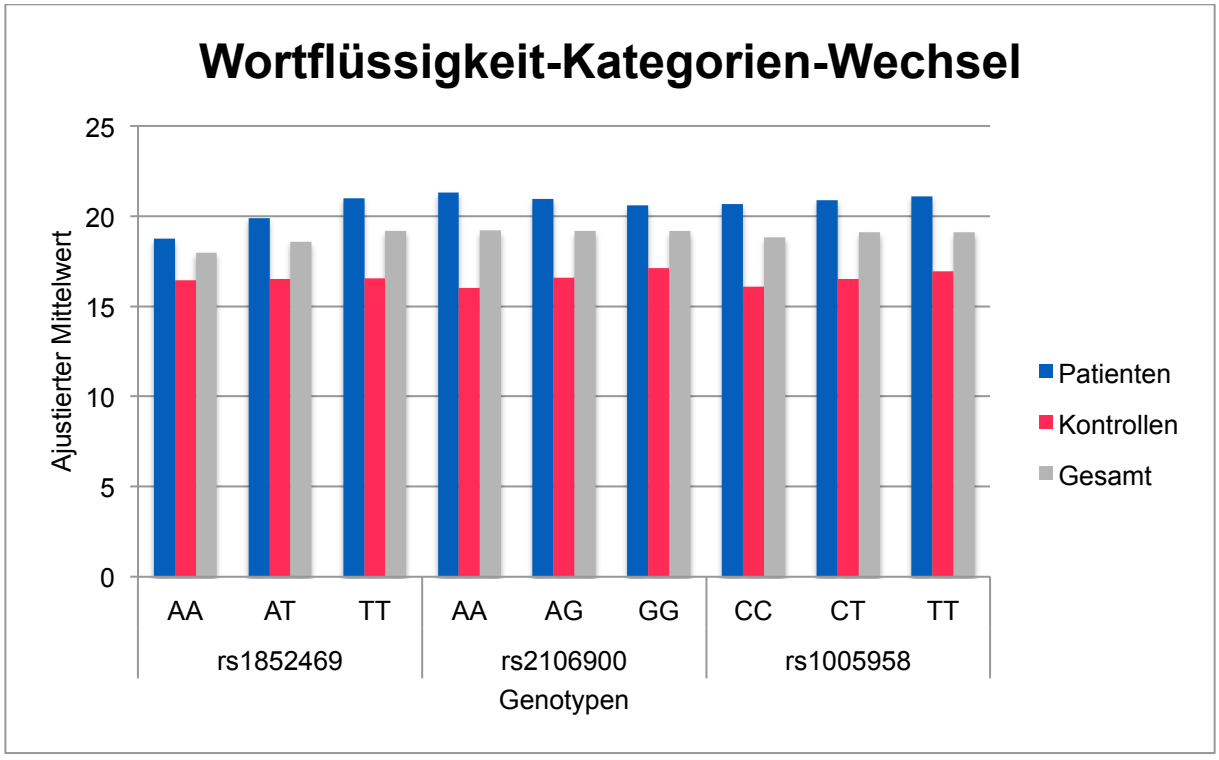


Abbildung 6: Adjustierte Mittelwerte der Patienten, Kontrollen und der Gesamtstichprobe im Untertest Wortflüssigkeit-Kategorien-Wechsel der jeweiligen SNPs

4.3. Die Haplotypblockstrukturen des FOXP2-Gens

Bestimmte SNPs werden innerhalb des Gens häufiger miteinander vererbt, da aufgrund ihrer Lageverhältnisse ein *crossing over* innerhalb der Meiose mit einer geringeren Wahrscheinlichkeit auftritt. Diese miteinander vererbten Blöcke werden als LD-Blöcke bezeichnet. Da diese SNPs nicht mehr nach zufälligen Mustern sondern abhängig voneinander vererbt werden, wird von einem Kopplungsungleichgewicht (*linkage disequilibrium*) gesprochen. Aufgrund dieses

Kopplungsungleichgewichts wird von dem Vorliegen der einen Variante mit erhöhter Wahrscheinlichkeit auf das Vorliegen der gekoppelten Variante geschlossen.

Die im vorangegangenen Text beschriebenen SNPs wurden in Kombination miteinander auf ihr Kopplungsungleichgewicht untersucht. Somit konnten drei Haplotypblöcke identifiziert werden, deren SNPs sowohl bei den Kontrollen als auch bei den Patienten im Kopplungsungleichgewicht liegen (siehe Abbildung 7, Seite 70).

Block 1 setzt sich aus den SNPs rs1852469, rs10486026, rs10228494, rs10262103, rs17372022, rs2106900, rs1026629, rs2396753 und rs6969376 zusammen. Dieser Block erstreckt sich über 100 Kilobasenpaare.

Block 2 besteht aus den SNPs rs10269986, rs1229760, rs12705966 und rs2061183 und umfasst 46 Kilobasenpaare.

Block 3 setzt sich aus rs1456031, rs1005958, rs10953766, rs4236599 und rs1058335 zusammen und ergibt insgesamt 37 Kilobasenpaare.

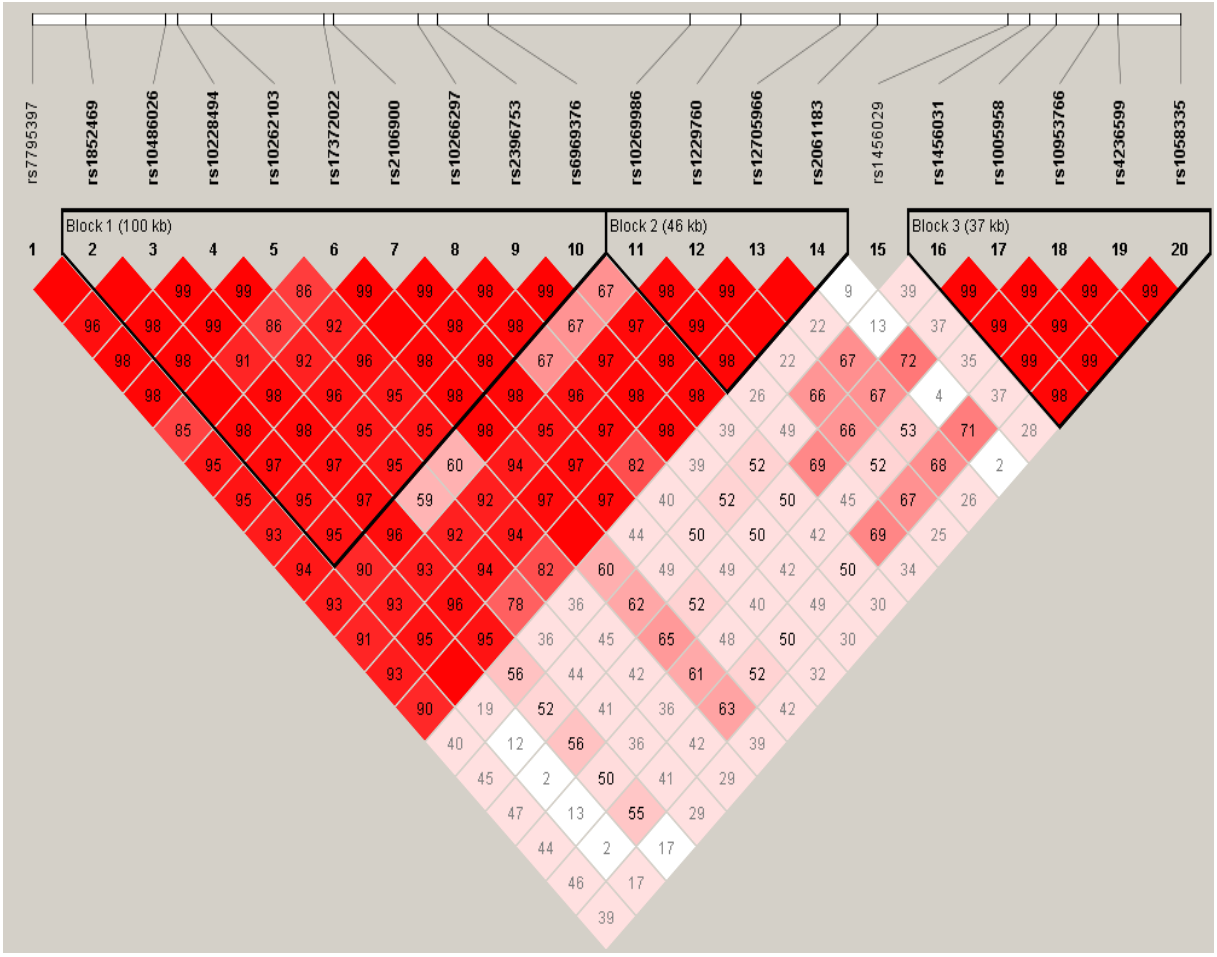


Abbildung 7 Haplotypblöcke des FOXP2-Gens

4.3.1. Assoziation der Haplotypen mit Wortflüssigkeit

Im Folgenden wurden die jeweiligen Haplotypblöcke auf ihre Assoziation mit dem Endophänotyp Wortflüssigkeit untersucht. Es wurde der Zusammenhang zwischen den einzelnen Allelen mit höheren beziehungsweise niedrigeren Testergebnissen errechnet. Für diese Berechnungen wurden die beiden Gruppen der Kontrollen und der Patienten zusammengefasst und der Krankheitsstatus als Covariante in die Analyse miteinbezogen.

Der erste Block bestehend aus den SNPs rs1852469, rs10486026, rs10228494, rs10262103, rs17372022, rs2106900, rs1026629, rs2396753 und rs6969376 tritt zu bei 38% der Kontrollen und Patienten als Haplotyp TTCCTGCCG auf (siehe Tabelle 21). Dieser Typ ist mit signifikant besseren Ergebnissen im Untertest Wortflüssigkeit assoziiert (p=0,042). So erreichen Kontrollen und Patienten im Mittel um 2,02 Punkte höhere Testergebnisse als der Durchschnitt. Keiner der anderen Haplotypen des ersten Blocks zeigte signifikante Auswirkungen auf die Testergebnisse der vier Untertests des RWT.

Tabelle 20: Testergebnisse des Haplotypblock 1 (rs1852469, rs10486026, rs10228494, rs10262103, rs17372022, rs2106900, rs1026629, rs2396753, rs6969376)

	Haplotyp	Frequenz	Score	simulierter p-Wert
Wort-flüssigkeit	TTCCTGCCG	0,38	2,02	0,042
Wortflüssigkeit-Wechsel	TTCCTGCCG	0,38	0,68	0,475
Wortflüssigkeit Kategorien	TTCCTGCCG	0,38	0,03	0,972
Wortflüssigkeit Kategorien-Wechsel	TTCCTGCCG	0,38	0,05	0,968

Im zweiten Block konnten für die zwei annähernd komplementären Haplotypen GCAG und ATGG gegenläufige Testergebnisse beobachtet werden. So ist der Haplotyp GCAG der SNPs rs10269986, rs1229760, rs12705966 und rs21061183 mit signifikant schlechteren Ergebnissen im Test für Wortflüssigkeit (p=0,0111) assoziiert, der Haplotyp ATGG mit signifikant besseren (p=0,006). Im Test Wortflüssigkeit erreicht der Haplotyp GCAG im Mittel 2,72 Punkte weniger, der Haplotyp ATGG 2,76 Punkte mehr als der Durchschnitt. Im Untertest Wortflüssigkeit-

Wechsel präsentieren die Haplotypen Testergebnisse mit einem Trend in die zuvor beschriebene Richtung (siehe Tabelle 22). In den anderen Untertests zeigt keiner der Haplotypen des zweiten Blocks signifikante Ergebnisse.

Tabelle 21: Testergebnisse des Haplotypblock 2 (rs10269986, rs1229760, rs12705966, rs2061183)

	Haplotyp	Frequenz	Score	simulierter p-Wert
Wort-flüssigkeit	GCAG	0,52	-2,72	0,011
	ATGG	0,37	2,76	0,006
Wortflüssigkeit-Wechsel	GCAG	0,52	-1,93	0,063
	ATGG	0,37	1,71	0,092
Wortflüssigkeit Kategorien	GCAG	0,52	-0,79	0,429
	ATGG	0,37	0,48	0,642
Wortflüssigkeit Kategorien-Wechsel	GCAG	0,52	-0,70	0,479
	ATGG	0,37	0,57	0,587

Auch für den dritten Block kann eine Assoziation zwischen den Haplotypen und der Wortflüssigkeit beschrieben werden. So ist der Haplotyp CCGTC der SNPs rs1456031, rs1005958, rs10953766, rs4236599 und rs1058335 mit signifikant schlechteren Ergebnissen im Test Wortflüssigkeit (p=0,016) und Wortflüssigkeit-Wechsel (p=0,016) assoziiert. Der annähernd komplementäre Haplotyp TTACC zeigt einen Trend in Richtung besserer Ergebnisse im Untertest Wortflüssigkeit-Wechsel (p=0,069). Der Haplotyp erreicht im ersten Test 2,58 Punkte und im zweiten 2,59 Punkte weniger als der Durchschnitt (siehe Tabelle 23).

Tabelle 22: Testergebnisse des Haplotypblock 3 (rs1456031, rs1005958, rs10953766, rs4236599, rs1058335)

	Haplotyp	Frequenz	Score	simulierter p-Wert
Wort-flüssigkeit	CCGTC	0,44	-2,58	0,016
	TTACC	0,24	1,45	0,133
Wortflüssigkeit-Wechsel	CCGTC	0,44	-2,59	0,016
	TTACC	0,24	1,84	0,069
Wortflüssigkeit Kategorien	CCGTC	0,44	-1,33	0,186
	TTACC	0,24	0,72	0,472
Wortflüssigkeit Kategorien-Wechsel	CCGTC	0,44	-1,77	0,069
	TTACC	0,24	0,43	0,652

4.4. Zusammenfassung der Ergebnisse

Folgend sind die signifikanten beziehungsweise tendenziellen Ergebnisse der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie und Endophänotypen-Studie zusammengefasst.

Insgesamt erreichten Probanden des Haplotyp TTCCTGCCG signifikant bessere Ergebnisse. Kontrollen des Genotyp TT des SNPs rs1852469 nannten im Test für Wortflüssigkeit, Wortflüssigkeit-Wechsel und Kategorien-Wechsel mehr Wörter. Patienten des Genotyps GG des SNPs rs2106900 präsentierten in diesen Test bessere Leistungen. Es konnten für den SNP rs1852469 signifikante Unterschiede hinsichtlich der Genotypverteilung berechnet werden. Die anschließende Auswertung nach dem rezessiven Modell ergab, dass Patienten signifikant seltener Träger des häufigeren Allels T sind. Umgekehrt ergab die Auswertung nach dem dominanten Modell, dass die Patienten tendenziell häufiger Träger des selteneren Allels A sind. Die Analyse der Allelfrequenzen bestätigte ein signifikant häufigeres Auftreten des selteneren Allels A in der Gruppe der Patienten. Die Abbildung 8 fasst die beschriebenen Ergebnisse zusammen.

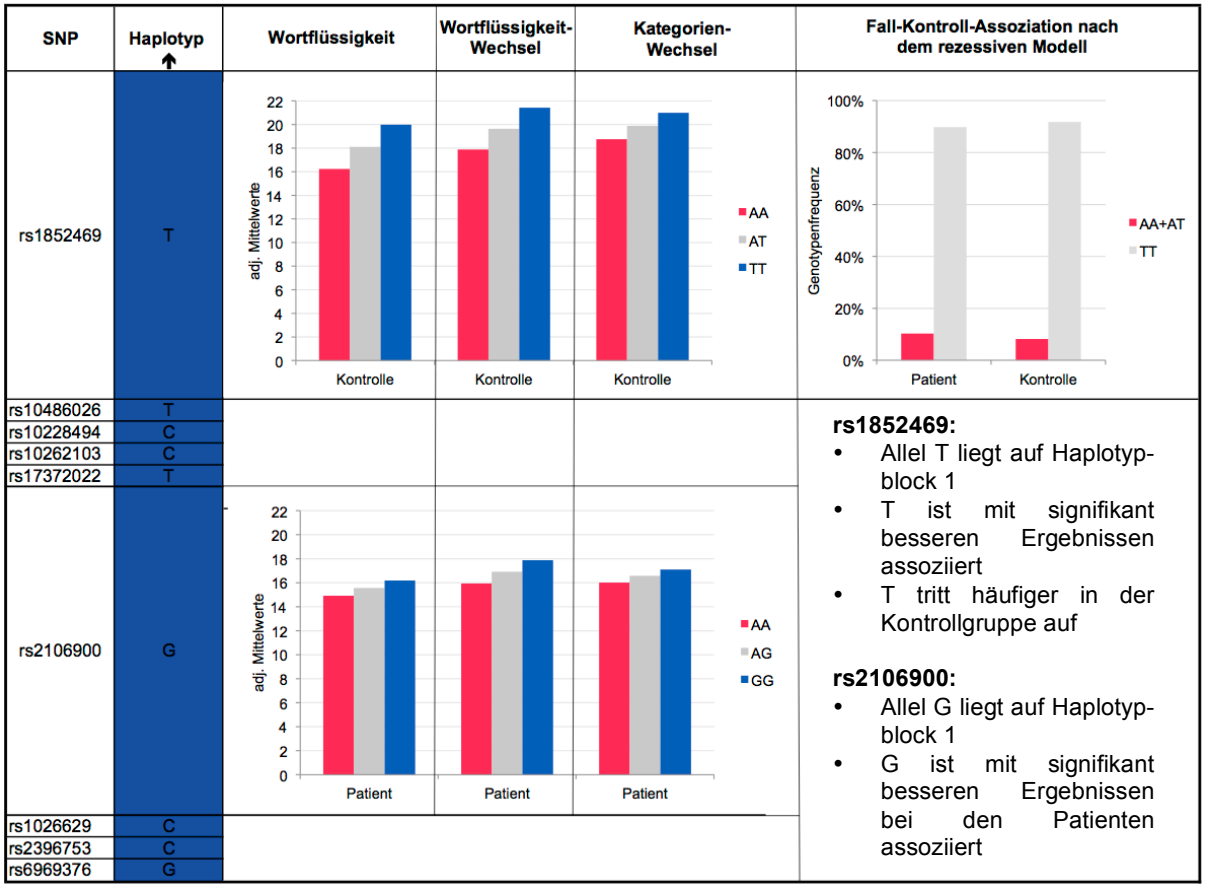


Abbildung 8: ↑ = Signifikante Ergebnisse der SNPs Haplotypblock 1
blau = bessere Ergebnisse, rot = schlechtere Ergebnisse

Der Haplotyp ATGG aus den SNPs rs10269986, rs1229760, rs12705966 und rs2061183 schnitt signifikant besser im Test auf Wortflüssigkeit ab. Die Probanden des Haplotyp GCAG nannten signifikant weniger Wörter. Patienten und Kontrollen des Genotyp AA des SNPs rs10269986 schnitten besser im Test auf Wortflüssigkeit und Wortflüssigkeit-Wechsel ab. In der Auswertung des Wortflüssigkeitstests schnitten Kontrollen des Genotyps TT des SNPs rs1229760 und des Genotyps GG des SNPs rs12705966 ebenfalls besser ab. Abbildung 9 zeigt diese Ergebnisse.

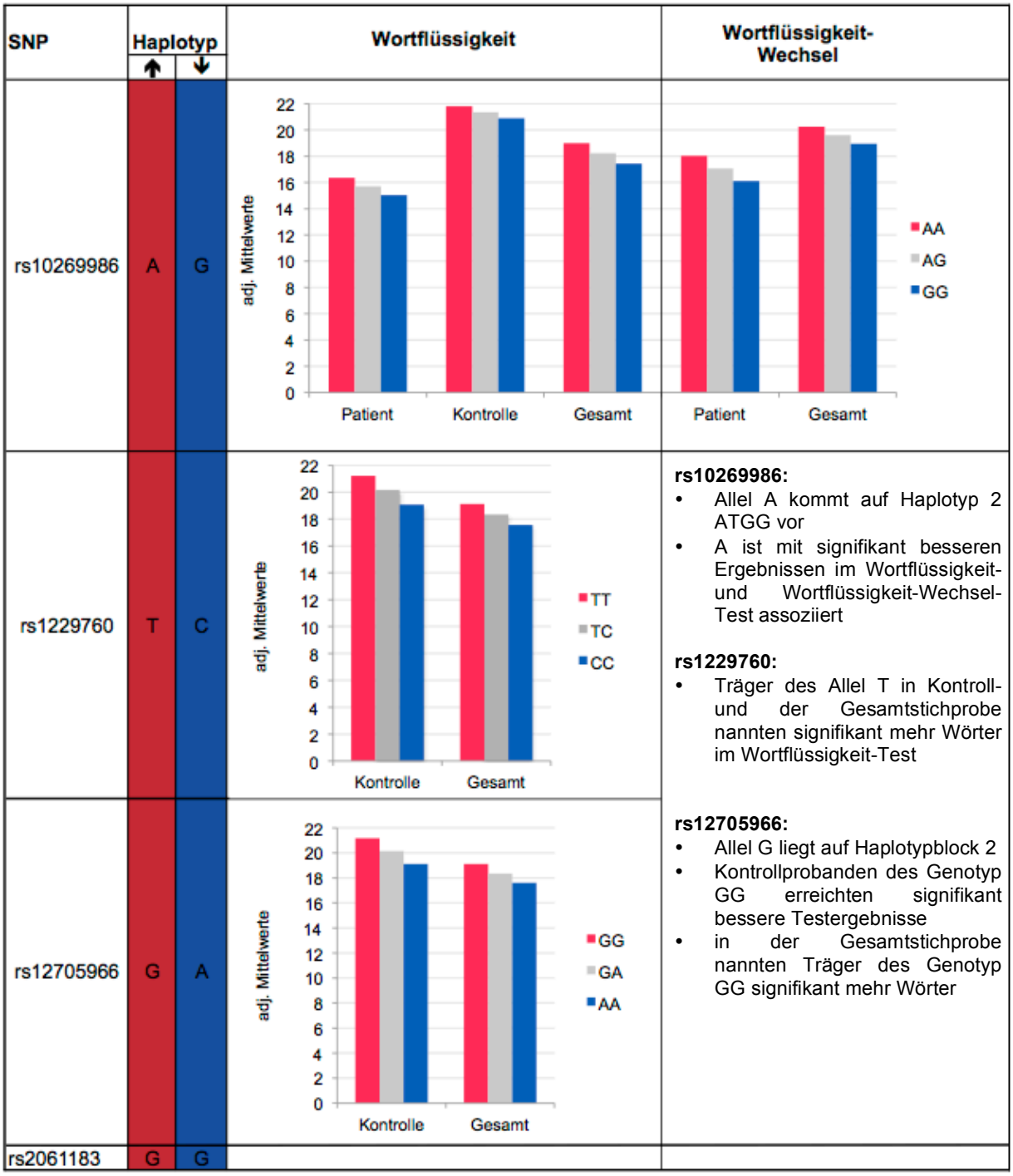


Abbildung 9: ↑= signifikant bessere Ergebnisse des Haplotypblock 2 ATGG
rot = bessere Ergebnisse, blau = schlechtere Ergebnisse

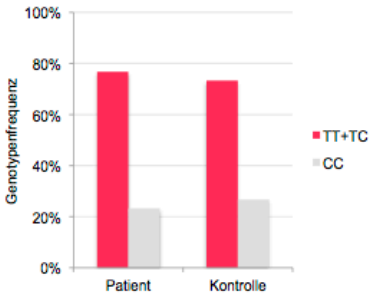
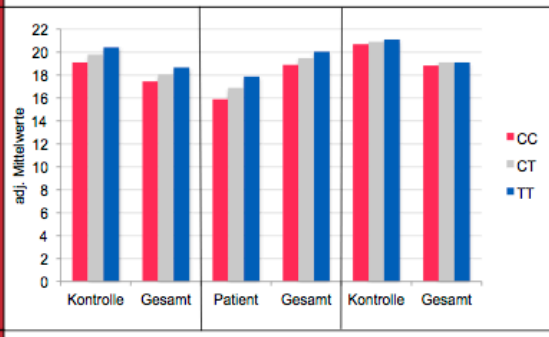
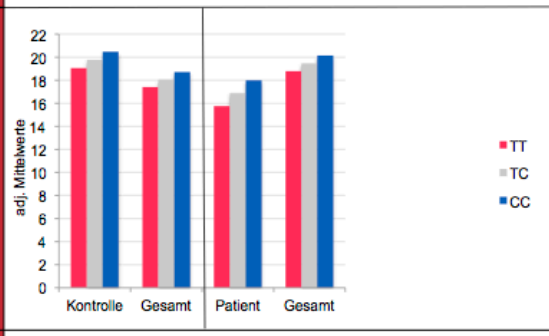
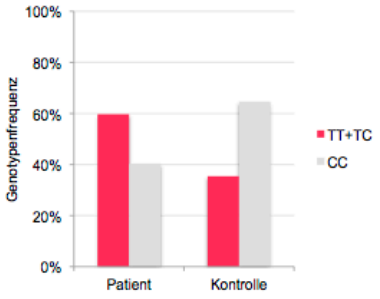
<table>
<tr><th>SNP</th><th>Haplotyp
↑ ↓</th><th>Wortflüssigkeit</th><th>Wortflüssigkeit-Wechsel</th><th>Kategorien-Wechsel</th><th>Fall-Kontroll-Assoziation nach dem dominanten Modell</th></tr>
<tr><td>rs1456031</td><td>T</td><td>C</td><td colspan="3">rs1456031:
• Patienten sind signifikant häufiger Träger des selteneren Allels T (p=0,048)
• das Allel T kommt tendenziell häufiger in der Gruppe der Patienten vor (p=0,059)</td><td> 
</td></tr>
<tr><td>rs1005958</td><td>T</td><td>C</td><td colspan="3"> 
</td><td rowspan="2">rs1005958:
• Träger des Genotyp TT in der Kontroll- und Gesamtgruppe nannten signifikant mehr Wörter im Wortflüssigkeit und Kategorien-Wechsel-Test
• Patienten mit dem Genotyp TT erreichten signifikant bessere Testergebnisse im Wortflüssigkeit-Wechsel-Test
•
rs4236599:
• Kontrollen und die Gesamtstichprobe mit dem Genotyp CC schnitten im Wortflüssigkeit-Test besser ab
• Patienten des Genotyp CC nannten im Wortflüssigkeit-Wechsel-Test signifikant mehr Wörter</td></tr>
<tr><td>rs10953766</td><td>A</td><td>G</td></tr>
<tr><td>rs4236599</td><td>C</td><td>T</td><td colspan="3"> 
</td></tr>
<tr><td>rs1058335</td><td>C</td><td>C</td><td colspan="3">rs1058335:
• nach der Berechnung der Genotypverteilung ist der Genotyp TT bei Patienten signifikant häufiger (p=0,032)
• nach dem dominanten Modell sind Patienten signifikant häufiger Träger des selteneren Allel T (p=0,011)
• die Berechnung der Allelfrequenz zeigt, dass Allel T das signifikant häufigere Allel ist (p=0,010)</td><td> 
</td></tr>
</table>

Abbildung 10: ↑= signifikant bessere Ergebnisse des Haplotypblock 3 TTACC
blau = bessere Ergebnisse, rot = schlechtere Ergebnisse

In Abbildung 10 sind die folgenden Ergebnisse dargestellt. Für den SNP rs1456031 ergab sich bei der Berechnung der Genotypverteilung nach dem dominanten Modell ein signifikant häufigeres Auftreten des Allel T. Bezüglich der Allelfrequenzen kommt das Allel T tendenziell häufiger vor. Hinsichtlich der Ergebnisse Endophänotypen-Studie gibt es keine Signifikanzen.

In den Untertests auf Wortflüssigkeit-, Wortflüssigkeit-Wechsel- und Kategorien-Wechsel war der Genotyps CC des SNPs rs1005958 bei Kontrollen und Patienten

mit schlechteren Ergebnissen assoziiert. Auch Träger des Genotyp TT des SNPs rs4236599 schnitten schlechter im Wortflüssigkeit und Wortflüssigkeit-Wechsel-Test ab. Die daraufhin durchgeführte Haplotyp Analyse des Haplotypblock 3 (rs1456031, rs1005958, rs10953766, rs4236599 und rs1058335) ermittelte signifikant schlechterer Ergebnisse des Haplotyps CCGTC im Untertest Wortflüssigkeit und Wortflüssigkeit-Wechsel. Der Genotyp TTACC schnitt tendenziell besser in beiden Untertests ab.

Für den SNP rs1058335 zeigte sich ein Unterschied bezüglich der Genotypverteilung zwischen Patienten und Kontrollen. Die Genotypverteilung nach dem dominanten Modell ebenso wie die Analyse der Allelfrequenzen ergab, dass die Patienten signifikant häufiger Träger des selteneren Allels T sind.

5. Diskussion

Das Ziel der vorliegenden Studie war es, den Zusammenhang zwischen Einzelpolymorphismen des FOXP2-Gens und dem Entstehen der Schizophrenie sowie deren Einfluss auf den Endophänotyp Wortflüssigkeit zu detektieren.

Das FOXP2-Gen als Kandidatengen rückte in der vergangenen Zeit immer mehr in den Mittelpunkt der Forschungen. Die Rolle des FOXP2-Gens als Transkriptionsfaktor und dessen Einfluss auf Sprachentwicklungsstörungen und neuronale Entwicklungen wird in Zusammenhang mit dem Auftreten der Schizophrenie gebracht (Li et al., 2013; Sanjuan et al., 2006; Spiteri et al., 2007; Tolosa et al., 2010).

Die vorliegende Fall-Kontroll-Assoziationsstudie untersucht die Assoziation der Einzelpolymorphismen des FOXP2-Gens mit dem Auftreten der Schizophrenie. Dafür wurden die Genotypverteilung und Allelfrequenz von zwanzig SNPs des FOXP2-Gens bei 929 Schizophreniepatienten und 2.288 gesunden Probanden analysiert. Bei vier der zwanzig untersuchten SNPs (rs1852469, rs1456031, rs10953766, rs1058335) wurden signifikante Unterschiede beziehungsweise Trends errechnet.

In dem zweiten Teil der vorliegenden Studie wurde der Einfluss der SNPs des auf den Endophänotyp Wortflüssigkeit untersucht. Dafür wurden die Testergebnisse der Kontrollen und Patienten im Regensburger Wortflüssigkeits-Test auf ihre Abhängigkeit von den Einzelpolymorphismen überprüft. Sieben der untersuchten SNPs (rs1852469, rs2106900, rs10269986, rs1229760, rs12705966, rs1005958 und rs4236599) präsentierten signifikante Zusammenhänge zwischen dem jeweiligen Genotyp und den Testergebnissen des RWTs.

Anschließend wurde eine Haplotypanalyse durchgeführt. Hierbei wurden drei Haplotypblöcke, die sich aus den untersuchten SNPs zusammensetzten, auf ihren Zusammenhang mit den Testergebnissen im RWT untersucht. Es ergaben sich sowohl für Haplotypblock 1 (SNPs rs1852469, rs10486026, rs10228494, rs10262103, rs17372022, rs2106900, rs1026629, rs2396753, rs6969376), Haplotypblock 2 (rs10269986, rs1229760, rs12705966, rs21061183) als auch für Haplotypblock 3 (rs1456031, rs1005958, rs10953766, rs4236599, rs1058335) signifikante Assoziationen mit vorwiegend den Testergebnissen des Untertest auf Wortflüssigkeit.

5.1. Diskussion der Methodik

Stichprobeneigenschaft

Die Allelfrequenz und Genotypverteilung hängt sehr stark von der ethnischen Abstammung der Studienteilnehmer ab und hat einen unmittelbaren Einfluss auf die Ergebnisse. In Tabelle 24 sind die Hapmap-Frequenzen der sechs untersuchten SNPs dargestellt, für die signifikante Zusammenhänge entweder in der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie oder in der Endophänotypenstudie identifiziert wurden (NCBI, 2014a).

Tabelle 23: Allelfrequenzen der Stichprobe sowie die Hapmap-Frequenzen der signifikanten SNPs

SNP	Allel	Frequenz Patienten	Frequenz Kontrollen	Frequenz CEU	Frequenz JPT	Frequenz YRI
rs7795397	A	0,424	0,426	0,5	0,389	0,65
	T	0,576	0,574	0,5	0,611	0,35
rs1852469	A	0,055	0,041	0,068	0,455	0
	T	0,945	0,959	0,932	0,545	1,0
rs2106900	A	0,428	0,444	0,4	0,286	0,272
	G	0,532	0,556	0,6	0,714	0,728
rs10269986	A	0,479	0,479	0,415	0,293	0,659
	G	0,521	0,521	0,585	0,707	0,341
rs1229760	T	0,361	0,363	0,353	0,012	
	C	0,639	0,637	0,647	0,988	
rs12705966	G	0,36	0,36	0,341	0,012	0,004
	A	0,64	0,64	0,659	0,988	0,996
rs1456031	T	0,51	0,483	0,583	0,558	0,28
	C	0,49	0,517	0,417	0,442	0,72
rs1005958	C	0,42	0,443	0,483		0,044
	T	0,58	0,557	0,517		0,956
rs10953766	A	0,461	0,44	0,417	0,444	0,267
	G	0,539	0,56	0,583	0,556	0,733
rs4236599	T	0,419	0,438	0,483	0,1	0,017
	C	0,581	0,562	0,517	0,9	0,983
rs1058335	T	0,227	0,199	0,161	0,3	0
	C	0,773	0,801	0,839	0,7	1,0

CEU=europäisch; JPT=asiatisch; YRI=subsaharisch-afrikanisch

Bei dem SNP rs1852469, dessen Allel A mit signifikant schlechteren Ergebnissen in den Tests Wortflüssigkeit-, Wortflüssigkeit-Wechsel- und Kategorien-Wechsel sowie einem signifikant häufigeren Auftreten in der Gruppe der Schizophreniepatienten assoziiert war, stellt sich heraus, dass dieses bei den Afrikanern nicht auftritt, bei den Europäern mit 6,8% eher selten und bei den Asiaten zu gut einem Drittel vorkommt (NCBI, 2014d).
Das Allel A des SNPs rs10269986, das mit besseren Ergebnissen der Patienten in den Wortflüssigkeit- und Wortflüssigkeit-Wechsel-Test assoziiert ist, kommt bei den Afrikanern am häufigsten vor, gefolgt von der europäisch-stämmigen Bevölkerung und den Asiaten. Bei Europäern tritt es zu 41,5% auf, in den hier ausgewerteten Stichproben nahezu zur Hälfte (NCBI, 2014f).
Das Allel T des SNPs rs1229760, das mit besseren Ergebnissen der Kontrollprobanden im Wortflüssigkeit Test assoziiert ist, tritt bei den Europäern zu 64,7% auf, bei den Asiaten kommt es jedoch gar nicht vor (NCBI, 2014c). In beiden Stichproben tritt das Allel T jedoch nur zu etwas mehr als einem Drittel auf.
Das Allel T des SNP rs4236599, das mit schlechteren Testergebnissen der Kontrollprobanden im Wortflüssigkeit Test assoziiert ist, kommt in der europäisch-stämmigen Bevölkerung zu in etwa gleichen Teilen wie das Allel C vor. Die Allelfrequenz von T liegt bei unseren Patienten bei 41,9% und bei den gesunden Probanden mit 43,8% unter der Hälfte (NCBI, 2014e).

Hieran wird deutlich, wie die Unterschiede in der Herkunft der Studienteilnehmer einen Vergleich der Studien erschweren. Dies kann als Hinweis darauf gesehen werden, dass aufgrund unterschiedlicher Allelfrequenzen und Genotypverteilungen die entsprechenden Risikoallele gegensätzliche Effekte erzeugen. Verstärkt wird diese Problematik, wenn die jeweilige Stichprobe inhomogen ist oder Kontrollen und Patienten aus unterschiedlichen Bevölkerungsgruppen stammen (Owen, 2000).
Die Aussagekraft der vorliegenden Studie beschränkt sich auf europäisch-stämmige Populationen, da sowohl Kontrollen als auch Patienten europäischer Abstammung sind. Zusätzlich stimmen die Allelfrequenzen der SNPs in dieser Stichprobe weitestgehend mit der europäischen Stichprobe des NCBIs überein. Die Ergebnisse lassen sich dadurch zwar nur bedingt auf andere Bevölkerungsgruppen übertragen, sind aber weniger anfällig für falsch-positive Ergebnisse.

Die statistische Aussagekraft einer Studie nimmt mit der Größe der Stichprobe zu. So können zu kleine Stichprobengrößen zu inkonsistenten Ergebnissen führen. In der vorliegenden Fall-Kontroll-Assoziationsstudie wurden 929 Patienten mit 2.288 Kontrollprobanden verglichen. Sie ist damit im Vergleich zu den anderen hier diskutierten Studien größer. Die geringere Stichprobengröße kann dazu führen, dass bis jetzt für einige der SNPs keine Signifikanzen beschrieben wurden. Die Größe der hier vorgelegten Studie reicht aus, um Hinweise über die Assoziation zwischen den untersuchten SNPs und der Schizophrenie zu detektieren. Dies führt teilweise zu einer Erstbeschreibung der Assoziation der SNPs des FOXP2-Gens mit der Schizophrenie. Durch sich anschließende Fall-Kontroll-Assoziationsstudien kann eine Bestätigung dieser Ergebnisse erreicht werden. Hinweise aus genomweiten Assoziationsstichproben liegen derzeit nicht vor. Dies kann unter anderem daran liegen, dass in GWAS meist imputierte Genotypen verwendet werden, die eine gewisse Schätzungsungenauigkeit beinhalten (Li et al., 2009).

Auch das Alter der Kontrollprobanden trägt zur Aussagekraft der Studie bei. Das typische Erkrankungsalter liegt zwischen dem 15. und 45. Lebensjahr. Selten tritt die Erkrankung vor der Pubertät oder nach dem 50. Lebensjahr auf (Gross, 1997; Hafner et al., 1998). In der Gruppe der gesunden Probanden werden jedoch auch Probanden untersucht, deren Alter noch unter dem spätesten Krankheitsbeginn liegen. Daher ist es möglich, dass fälschlicherweise Probanden in der Kontrollgruppe aufgenommen wurden, die zu einem späteren Zeitpunkt an Schizophrenie erkranken. Eine Metaanalyse von 55 Studien beschrieb eine jährliche Inzidenz von 15,2 Fällen auf 100.000 Menschen (McGrath et al., 2004). So kann bei der vorliegenden Stichprobengröße davon ausgegangen werden, dass das Risiko ein noch nicht erkrankten Probanden eingeschlossen zu haben, zu vernachlässigen ist.
Es wurden unterschiedliche Diagnostikverfahren angewendet, um ein mögliches Auftreten der Erkrankung bei gesunden Probanden zu ermitteln und möglichst zuverlässige Ergebnisse in der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie zu erreichen.

Stichprobenauswahl

In dem ersten Schritt des Auswahlverfahrens der Stichprobe wurden die DSM-IV Kriterien angewandt. Das Strukturierte Klinische Interview (SKID I-II) nach DSM-IV ist

ein im klinischen Alltag sowie in der psychiatrischen Forschung angewendetes Instrument, um präzise Diagnosen zu stellen (Lu et al., 2014). So können mittels SKID I und II psychische Störungen und Persönlichkeitsstörungen diagnostiziert beziehungsweise ausgeschlossen werden (Wittchen und Fydrich, 1997). Auch in den zuvor beschriebenen Studien, die eine Assoziation des FOXP2-Gens mit der Schizophrenie untersuchten, wird das SKID als Diagnoseverfahren herangezogen (Sanjuan et al., 2005; Sanjuan et al., 2006; Tolosa et al., 2010). SKID I und II zeichnen sich als ein geeignetes Diagnoseverfahren aus, da es in zahlreichen vorangegangenen Schizophrenie-Studien für Patienten sowie Kontrollen angewandt wurde (Bhui et al., 2014; Hill et al., 2013; Massuda et al., 2013; Torchalla et al., 2004).
Die Rekrutierung der gesunden Probanden und schizophrenen Patienten erfolgte in mehreren Stufen, um frühzeitig alle Ausschlusskriterien zu erfassen. Als eine wichtige Voraussetzung für die statistische Aussagekraft einer Studie, gilt eine möglichst hohe Homogenität der einzelnen Stichproben (Gaus, 1991). Mit Hilfe von ausführlichen Fragebögen und Anamnesen zur Krankheits- und Lebensgeschichte konnte eine möglichst ähnliche Struktur der Stichproben gewährleistet werden.
Kontrollen wurden zu ihrer eigenen Krankheitsgeschichte befragt und mittels SKID I und II gescreent (Wittchen und Fydrich, 1997). Zusätzlich wurden sie zu der Krankheitsgeschichte der Familie befragt und mittels Family History Assesment Module (FHAM) gescreent, um jegliche psychiatrische Erkrankungen in der Familie zu erfassen (Rice et al., 1995).
Des Weiteren wurde darauf geachtet, dass es sich bei den Patienten nicht um eine substanzinduzierte oder organisch-bedingte schizophrene Störung handelte, da diese zur Diagnostik der Schizophrenie nach ICD-10 und DSM-IV ausgeschlossen werden müssen (American Psychiatric Association, 2000; DIMDI, 2016).

In den zum Vergleich herangezogenen Schizophrenie-Studien und anderen psychiatrischen Studien wurden die Diagnosekriterien des DSM-IV verwendet, sodass die Vergleichbarkeit der Ergebnisse auf diesem Gebiet nicht eingeschränkt ist. Dennoch haben Tolosa et al. ihr Patientenkollektiv auf Schizophrene mit auditorischen Halluzinationen beschränkt (Tolosa et al., 2010). Dadurch kommt es einerseits zu einer erhöhten Homogenität der Stichprobe, andererseits ist die Bestätigung einer Signifikanz bei einer kleinen Stichprobengröße deutlich erschwert. Hinzukommt, dass die Schizophrenie multifaktoriell und polygen beeinflusst wird,

was die Identifikation eines einzelnen Polymorphismus des FOXP2-Gens als Ursache für kognitive Defizite weniger denkbar erscheinen lässt (Andreasen, 2000). Dennoch zeigt die nun vorliegende Studie signifikante Assoziationen der Polymorphismen mit der Schizophrenie sowie mit der Wortflüssigkeit bei Kontrollen und Patienten. Der Einfluss des FOXP2-Gens ist daher in weiteren Studien zu untersuchen, um die vorliegenden Ergebnisse zu überprüfen.

Testverfahren

Zur Beurteilung der kognitiven Defizite im Bereich der Wortflüssigkeit wurde mit den Kontrollen und schizophrenen Patienten der Regensburger Wortflüssigkeits-Test durchgeführt (Aschenbrenner et al., 2000). Bei dem RWT ist aufgrund der standardisierten Durchführung und Auswertung eine Objektivität gewährleistet. Zusätzlich wurde die Korrektur und Dateneingabe von einer zweiten Person überprüft, um diese Fehlerquelle möglichst auszuschalten. Es handelt sich um ein valides und reliables Messinstrument der Wortflüssigkeit (Aschenbrenner et al., 2000).
Aufgrund der Auswertungsstandards können die Ergebnisse des RWT untereinander verglichen werden. Ein Vergleich mit anderen Testverfahren ist jedoch problematisch, da es sich bei den jeweiligen Tests um andere Auswertungen handelt. Auch im Bereich der Objektivitäts- und Gütekriterien trifft man auf Unterschiede. Nicht einheitliche Normierungsskalen können bei dem Vergleich der Testergebnisse zweier Studien zu inkonsistenten Gesamtergebnissen führen. Problematisch ist auch, dass andere Testverfahren unterschiedliche Gehirnregionen und kognitive Leistungen beanspruchen können als der RWT, der als Test des divergenten Denkens gilt (Aschenbrenner et al., 2000). Ein Vergleich mehrerer Studien mit unterschiedlichen Testverfahren ist somit kritisch zu betrachten.
Ein weiteres Problem ist, dass bestimmte Bereiche der Kognition nicht nur von einem Gen beeinflusst werden und auch miteinander interagieren. Daher ist es auch denkbar, dass an das untersuchte Gen weitere Merkmale gekoppelt sind, die Einfluss auf die Schizophrenie oder Wortflüssigkeit nehmen (Goldberg und Weinberger, 2004).
Eine unterschiedliche Kopplung der Merkmale kann in Vergleichsstudien zu inkonsistenten Ergebnissen führen.

5.2. Zusammenfassung und inhaltliche Interpretation der Ergebnisse

5.2.1. Die Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

Das Gen des Forkhead-Box-Proteins 2 kommt aufgrund unterschiedlicher Überlegungen und Studien als Kandidatengen für Schizophrenie in Frage. Da Sprachentwicklungsstörungen im Sinne von Sprachverarmung zu den Hauptsymptomen der Schizophrenie zählen, wird das FOXP2-Gen aufgrund der Zusammenhänge in diesem Bereich als weiteres Suszeptibilitätsgen angesehen (Li et al., 2013). Zudem wird davon ausgegangen, dass FOXP2 in seiner Rolle als Transkriptionsfaktor Einfluss auf die Entwicklung des Nervensystems und die Signaltransduktion nimmt (Spiteri et al., 2007; Vernes et al., 2007). Molekularbiologische Untersuchungen zeigten, dass FOXP2 die Expression des CNTNAP2-Gens hemmt. Der FOXP2-CNTNAP2-Pathway ist von besonderem Interesse, da das CNTNAP2-Gen das Transmembranprotein CASPR2 kodiert. Dieses Protein ist in Prozesse der cortikalen Entwicklung und Neuroblasten Migration eingebunden (Strauss et al., 2006). Zudem wurde eine signifikante Assoziation zwischen CNTNAP2 und Schizophrenie dokumentiert (Ji et al., 2013). Weitere Studien auf molekularer Ebene identifizierten das DISC1-Gen als weitere Zielstruktur des FOX-Gens (Spiteri et al., 2007). Reduzierte Expression des DISC1-Gens konnte mit dem Auftreten der Schizophrenie in Verbindung gebracht werden (Schumacher et al., 2009). Das FOXP2-Gen kommt insbesondere aufgrund seiner Rolle als Transkriptionsfaktor als Kandidatengen in Frage.
Zusätzlich konnte in Kopplungsanalysen ein Bezug zwischen der Chromosomenregion 7q31.1, in der das FOXP2-Gen liegt, und der Erkrankung berechnet werden (Ryu et al., 2013). Erste Assoziationsstudien berichteten über signifikante Assoziationen zwischen SNPs des FOXP2-Gens und der Schizophrenie (Li et al., 2013; Sanjuan et al., 2006; Tolosa et al., 2010)

Nachfolgend sind die Ergebnisse der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie dokumentiert. Für den SNP rs1852469 ließen sich hinsichtlich der Genotypverteilung und Allelfrequenz signifikante Unterschiede berechnen. So tritt auch der Genotyp AA ($p=0,002$) sowie das Allel A ($p=0,023$) bei Patienten signifikant häufiger auf als bei den Kontrollen. Die Untersuchung der rezessiven Genotypen zeigte, dass das

häufigere Allel T bei den Patienten signifikant seltener auftritt (p=0,003). Nach den Ergebnissen der vorliegenden Studie zählt das Allel A des SNPs rs1852469 als Risikoallel für Schizophrenie.
Des Weiteren zeigte sich für den SNP rs1456031 ein Trend in Richtung eines signifikant häufigeren Auftretens des Allel T unter den Patienten (p=0,059). Bei der Analyse der dominanten Genotypen konnte ein signifikant häufigeres Auftreten des selteneren Allels T bei den Patienten errechnet werden (p=0,048). Das Allel T des SNPs rs1456031 kann somit als Kandidat für ein Risikoallel angesehen werden.
Ein Trend zu einem häufigerem Auftreten des selteneren Allels A in der Patientengruppe konnte bei der Analyse im dominanten Modell für den SNP rs10953766 identifiziert werden (p=0,050).
Im Bezug auf den SNP rs1058335 zeigte sich ein signifikant höheres Auftreten des Genotyps TT unter den Patienten (p=0,032). Auch hinsichtlich der Allelfrequenz trat das Allel T bei den Patienten auffallend häufiger auf als bei den Kontrollen (p=0,001). Diesen Ergebnissen zufolge kann das Allel T des SNPs rs1058335 als Risikoallel für Schizophrenie eingeschätzt werden.
Für keinen der signifikanten SNPs ist ein Einfluss auf die Aminosäuresequenz des FOXP2 dokumentiert. So liegt der SNPs rs1852469 im intronischen Bereich 3'-Ende strangaufwärts des ATG-Startcodons. Der SNP rs1456031 befindet sich in Intron 10 und damit ungefähr 5kB von der *forkhead*-Bindungsdomäne entfernt. Der SNP rs1058335 liegt im Exon 17 des FOXP2-Gens am untranslatierten 3'-Ende. Die übrigen 17 SNPs liegen in intronischen Bereichen des FOXP2-Gens auf dem langen Arm des Chromosom 7 (siehe Abbildung 3, Seite 55)
Die durchgeführte Fall-Kontroll-Assoziationsstudie kann mit weiteren Studien verglichen werden, deren Zielsetzung ebenfalls die Detektion einer bestehenden Assoziation zwischen Polymorphismen des FOXP2-Gens und dem Auftreten der Schizophrenie ist. Die im Folgenden beschriebenen Studien zeigen jedoch nicht ausschließlich übereinstimmende Ergebnisse und unterscheiden sich sowohl in der Stichprobenart und -größe als auch im Studiendesign (Li et al., 2013; Sanjuan et al., 2006; Tolosa et al., 2010).

In einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie untersuchten Sanjuan et al. erstmals den Zusammenhang zwischen den SNPs rs1852469, rs1456031 und rs2369753 des FOXP2-Gens und dem Auftreten der Schizophrenie an Patienten mit auditorischen

Halluzinationen (Sanjuan et al., 2006). Insgesamt wurden vierzehn SNPs von 186 Patienten mit auditorischen Halluzinationen und 160 gesunden Probanden genotypisiert und deren Unterschiede in Allelfrequenz und Genotypverteilung analysiert. Die schizophrenen Patienten erfüllten die Diagnosekriterien nach DSM-IV. Zusätzlich wurden der Schweregrad der psychotischen Symptome wie auditorische Halluzinationen mittels PSYRAT-Scale eingestuft (Haddock et al., 1999).

Für den SNP rs2396753 konnten Sanjuan et al. signifikante Unterschiede in der Allelfrequenz und Genotypverteilung berechnen, die als einzige nach der Bonferroni-Korrektur bestehen blieb. Demnach waren Schizophrene mit auditorischen Halluzinationen signifikant häufiger Träger des Allels C (p=0,027). Im Bezug auf die Genotypverteilung zeigte sich anfänglich eine signifikant häufigeres Auftreten des Genotyp CC (p=0,007). In der vorliegenden Studie konnte keine auffällige Assoziation zwischen dem SNP rs2396753 und der Schizophrenie berechnet werden. Ein entscheidender Unterschied liegt in der Auswahl der Stichprobe. Es wurde das Risiko für auditorische Halluzinationen untersucht. Bei der vorliegenden Studie wird eine heterogene Patientengruppe eingeschlossen, sodass ein Gesamtrisiko für das Auftreten der Schizophrenie untersucht wird. Hierdurch könnte sich erklären, dass der SNP rs2396753 in dieser Studie keine Signifikanz erreicht hat. Bezüglich des Studiendesigns und der Ethnizität der Studienteilnehmer lassen sich keine Unterschiede beschreiben.

Für den SNP rs1852469 konnte weder im Bezug auf die Allelfrequenz noch auf die Genotypverteilung ein signifikanter Unterscheid zwischen Schizophreniepatienten und Kontrollprobanden ermittelt werden (Sanjuan et al., 2006). In der vorliegenden Studie konnte für den SNPs rs1852469 ein signifikanter Unterschied errechnet werden. Da das Allel A sowohl bei Kontrollen als auch bei Patienten in einer sehr geringen Frequenz auftritt, bedarf es einer großen Stichprobe, um signifikante Unterschiede zu berechnen. In der vorliegenden Studie an einer Stichprobengruppe von 929 Patienten und 2.288 Kontrollen konnte eine Signifikanz ausgearbeitet werden. So zeigt sich, dass Patienten signifikant häufiger Träger des Allel A sind und auch Träger des rezessiven Genotyps AA. Eine weitere Möglichkeit ist, dass dieser SNP keinen Einfluss auf den Endophänotyp auditorische Halluzinationen nimmt und daher bei Sanjuan et al. keine Signifikanz erreichte. Diese Assoziation gilt es in weiteren Analysen an unserer Stichprobe zu prüfen.

Die Berechnungen von Sanjuan et al. ergaben ein häufigeres Auftreten des Genotyp TT des SNP rs1456031 (p=0,034) in der Gruppe der schizophrenen Patienten. In einem weiteren Schritt untersuchte die Studiengruppe eine Assoziation zwischen insgesamt acht Haplotypen des FOXP2-Gens und der Schizophrenie. Für einen dieser Haplotypen (rs7803667**T**/ rs10447760**C**/ rs923875**A**/ rs1358278**A**/ rs2396753**C**/ rs17137124**T**/ rs1456031**T**) errechneten sie einen signifikant häufigeres Auftreten bei schizophrenen Probanden (p=0,043) (Sanjuan et al., 2006).

Diese Ergebnisse können in unserer Studie repliziert werden. Die Berechnung der Genotypverteilung nach dem dominanten Modell zeigt ein signifikant häufigeres Auftreten des Allel T des SNPs rs1456031 in der Gruppe der schizophrenen Patienten (p=0,048). In dieser Gruppe ist auch die Allelfrequenz für Allel T tendenziell höher (p=0,059). Assoziationen, die in der vorliegenden Studie zwischen den SNP rs1456031 hinsichtlich der gruppierten Genotypen berechnet wurden, können möglicherweise erst aufgrund der deutlich größeren Stichprobe von 929 Schizophreniepatienten ermittelt werden.

Zusätzlich befindet sich der signifikante SNPs rs1456031 in dem von Sanjuan et al. beschriebenen signifikant mit der Schizophrenie assoziiertem Haplotypen. Eine isolierte Untersuchung der SNPs kann häufig zu Fehlinterpretationen oder einer Nichtreproduzierbarkeit der genetischen Studie führen. Der Einfluss der Einzelpolymorphismen kann jedoch in einer anschließenden Haplotypanalyse reproduziert werden. Die Haplotypanalyse berücksichtigt die miteinander im Kopplungsungleichgewicht liegenden SNPs und verbessert damit die statistische Aussagekraft der vorangegangenen Studie. Auch wenn keiner der untersuchten SNPs zu Veränderungen der Aminosäuresequenz und somit zu direkten Veränderungen des Transkriptionsfaktor FOXP2 führen, ist es möglich, dass die untersuchten SNPs mit anderen funktionellen SNPs im Kopplungsungleichgewicht liegen.

Die Ergebnisse von Sanjuan und seinen Mitarbeitern weisen darauf hin, dass es eine Assoziation zwischen dem FOXP2-Gen und der Schizophrenie gibt. Die teilweise erfolgte Replikation der Ergebnisse durch die vorliegende Studie kann als Einstieg für weitere Untersuchungen dienen. In weiteren Analysen sollte die Bedeutung des Risikoallels A des SNPs rs1852469 sowie des Risikoallels T des SNPs rs1456031 für die Schizophrenie untersucht werden.

Tolosa et al. führten 2010 eine Fall-Kontroll-Assoziationsstudie mit 293 Patienten und 340 Kontrollen durch, in der sie eine Assoziation der Schizophrenie mit den SNPs rs1852469, rs2369753, rs1456029, rs1456031 und weiteren 23 SNPs des FOXP2-Gens untersuchten (Tolosa et al., 2010). Der Vergleich der Allelfrequenzen der Patienten und Kontrollen ergab ein signifikantes Ergebnis für den SNP rs1044760 (p=0,046), der in der vorliegenden Studie nicht untersucht wurde. Der Einfluss des SNPs rs1044760 auf die in der vorliegenden Studie beschriebenen SNPs ist vermutlich zu vernachlässigen, da diese nicht im Kopplungsungleichgewicht miteinander liegen (HapMap Project, 2016).

Im Vergleich zwischen Patienten mit auditorischen Halluzinationen und gesunden Kontrollen dokumentierte die Arbeitsgruppe signifikante Unterschiede des SNPs rs2396753 in Genotypverteilung (p=0,01) und Allelfrequenz (p=0,004). In unserer Studie erreichte dieser SNP in keiner Berechnung das Signifikanzniveau.

In einem weiteren Vergleich zwischen Patienten mit und ohne auditorische Halluzinationen, wurde ein signifikant häufigeres Auftreten der Genotypen TT und TC bei der Genotypverteilung des SNPs rs1456031 berechnet (p=0,037) (Tolosa et al., 2010). Die vorliegende Studie vergleicht ausschließlich Patienten mit gesunden Probanden. Es konnte dennoch ein Trend hinsichtlich unterschiedlicher Allelfrequenzen (p=0,059) und eine Signifikanz (p=0,048) bezüglich der Genotypverteilung für den SNP rs1456031 für das Risikoallel T dargestellt werden.

Die hier vorliegende Untersuchung und die Studie von Tolosa et al. unterscheiden sich nicht in der Ethnizität der Stichproben. So wurden in beiden Studien sowohl Patienten als auch Kontrollen europäischer Herkunft untersucht. Auch das Studiendesign unterscheidet sich im Sinne einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie nicht. In der vorliegenden Studie wurde die Stichprobengruppe nicht nochmals aufgrund der Symptome unterteilt. Es wird deshalb die Assoziation mit der Erkrankung und nicht die spezifische Assoziation eines Symptomkomplexes der Erkrankung mit dem FOXP2-Gen untersucht. Die Stichprobengruppe der hier vorliegenden Studie ist mit 929 untersuchten Patienten deutlich größer als Tolosas. In der vorliegenden Studie konnte eine Replikation der Ergebnisse hinsichtlich der Genotypverteilung des SNPs rs1456031 errechneten werden. Es kann davon ausgegangen werden, dass es sich bei dem Allel T des SNPs rs1456031 um ein Kandidaten für ein Risikoallel handelt.

Die vorliegende Studie zeigt, dass drei der untersuchten SNPs (rs1852469, rs1456031, rs1058335) signifikant mit der Schizophrenie assoziiert sind. Vorangegangene Referenzstudien können diese Assoziation nur teilweise bestätigen. Es ist möglich, dass die unterschiedlichen Ergebnisse auf der Auswahl der Stichproben beruhen. In den Referenzstudien wurden ausschließlich eine Assoziation der SNPs auf Schizophrenie mit auditorischen Halluzinationen untersucht (Sanjuan et al., 2006; Tolosa et al., 2010). Um eine generelle Assoziation mit der Erkrankung zu untersuchen, bedarf es einer weniger selektiven Auswahl des Patientenkollektivs.

Die Ergebnisse lassen sich durch zusätzliche Betrachtung des Kopplungsungleichgewichts bestätigen. So liegen die beiden SNPs rs1058335 und rs1456031 in der vorliegenden Studie auf einem LD-Block. Dieses Kopplungsungleichgewicht entsteht durch die räumliche Nähe der SNPs zueinander und die damit überzufällig häufigere Vererbung miteinander (Goldstein und Weale, 2001). Die noch bestehenden Unterschiede zu den Referenzstudien lassen sich weiterhin durch dieses Kopplungsungleichgewicht erklären, da die Vererbungsmuster je nach Population differieren können (Goldstein und Weale, 2001). So liegen die SNPs rs1058335 und rs1456031 nach Berechnungen des HapMap Project in der CEU-Population nicht im Kopplungsungleichgewicht, sodass es sich hier um eine offensichtlich auch in ähnlichen Ethnien variable Region handeln könnte (HapMap Project, 2016). Dies kann wiederum als eine mögliche Ursache dafür gesehen werden, dass in großen GWAS (PGC, 2014) keine Assoziation zwischen Variationen im FOXP2-Gen und dem Auftreten der Schizophrenie identifiziert wurden, da hier häufig die auf Imputation relativ kleiner Stichproben beruhenden geschätzten Genotypen verwendet werde (Li et al., 2009).

Zu berücksichtigen ist immer, dass es sich bei den Ergebnissen der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie um falsch positive Ergebnisse handeln könnte.

Abschließend lässt sich jedoch sagen, dass bei der Größe der Stichprobe von 929 Patienten und 2.288 gesunden Probanden von einem ersten Hinweis auf eine signifikante Assoziation der SNPs rs1852469, rs1456031 und rs1058335 des FOXP2-Gens mit der Schizophrenie geschlossen werden kann. Zukünftig ist es äußerst wichtig, die beschriebenen Assoziationen in weiteren Fall-Kontroll-Assoziationsstudien zu bestätigen.

5.2.2. FOXP2 und Wortflüssigkeit

Die Rolle des FOXP2-Gens in der Entwicklung der Sprache wurde erstmalig in einer genetischen Untersuchung einer Mehrgenerationenfamilie mit Sprechapraxie untersucht. Es zeigte sich, dass alle erkrankten Individuen Träger einer Punktmutation waren, die zu einem Funktionsverlust der *forkhead*-Bindungsdomäne führt (Lai et al., 2001). Erstmals erlangte das FOXP2-Gen in funktionellen Studien eine Bedeutung für die Schizophrenie. Eine dieser Untersuchungen führten Vargha-Khadem et al. im Jahr 1995 durch. Die Arbeitsgruppe untersuchte 30 Angehörige einer Mehrgenerationenfamilie, in der die Hälfte der Probanden an Sprechapraxie erkrankt war (Vargha-Khadem et al., 1995). In darauf aufbauenden Studien der KE-Familie detektierten Lai et al. eine heterozygote Missens-Mutation in der *forkhead*-Domäne bei den erkrankten Angehörigen (Lai et al., 2001). Weitere Studien des FOXP2-Gens konnten dessen enge Beziehung zur Sprachentwicklung bestätigen (Bacon und Rappold, 2012; Fisher und Scharff, 2009; MacDermot et al., 2005).

Die signifikanten Ergebnisse der im zweiten Abschnitt der Studie durchgeführten Endophänotypen-Studie sind im folgenden Abschnitt zusammengefasst. In der Gruppe der Kontrollprobanden präsentieren Träger des Genotyp AA des SNPs rs1852469 sowohl im Wortflüssigkeit-, Wortflüssigkeit-Wechsel- und Kategorien-Wechsel Test signifikant schlechtere Ergebnisse. Das Allel A kommt bei den Kontrollprobanden tendenziell seltener vor. Die Patienten mit dem Genotyp AA des SNP rs2106900 erreichten tendenziell schlechtere Ergebnisse im Wortflüssigkeit und Kategorien-Wechsel-Test und signifikant schlechtere Ergebnisse im Wortflüssigkeit-Wechsel-Test. Diese beiden SNPs liegen gemeinsam auf dem Haplotypblock 1 für den eine Signifikanz hinsichtlich besserer Ergebnisse bei Trägern des Haplotyp TTCCTGCCG im Wortflüssigkeitstest berechnet wurde.
Für die SNPs rs10269986, rs1229760 und rs12705966 wurden in der Gruppe der Kontrollen signifikant bessere Ergebnisse im Wortflüssigkeitstest für die Genotypen, die das häufiger vorkommende Allel enthalten, dokumentiert. Patienten des Genotyp AA des SNP rs10269986 zeigten zusätzlich eine Signifikanz im Wortflüssigkeit-Wechsel-Test. Diese drei SNPs liegen gemeinsam auf dem Haplotypblock 2 dessen Haplotyp ATGG signifikant besser im Wortflüssigkeitstest abschneidet. Träger dieses

Haplotypen zeigen außerdem eine Tendenz in Richtung besserer Ergebnisse im Wortflüssigkeit-Wechsel-Test.
Signifikant schlechtere Testergebnisse wurden zudem bei Patienten des Genotyps CC des SNPs rs1005958 und des Genotyps TT des SNPs rs4236599 im Wortflüssigkeit-Wechsel Test dokumentiert. Diese liegen gemeinsam auf dem Block 3, dessen Haplotyp CCGTC signifikant schlechtere Ergebnisse in diesem Test erreichte. Zusätzlich schneiden Kontrollprobanden mit dem Genotyp CC des SNPs rs1005958 tendenziell schlechter im Bereich Wortflüssigkeit- und Kategorien-Wechsel ab. Kontrollen des Genotyps TT des SNP rs4236599 erreichten signifikant schlechtere Ergebnisse in diesem Test auf Wortflüssigkeit.
Alle signifikant mit der Wortflüssigkeit assoziierten SNPs liegen in intronischen Bereichen und haben dadurch keinen direkten Einfluss auf die Struktur des FOXP2 (NCBI, 2014a). Die signifikante Assoziation der Haplotypblöcke kann jedoch darauf hinweisen, dass die Einzelpolymorphismen in funktionellen Zusammenhang stehen.

Auffallend ist bei der vorliegenden Studie, dass sowohl in der Analyse der Einzelpolymorphismen als auch der Haplotypblöcke vorwiegend Signifikanzen im Test der Wortflüssigkeit und Wortflüssigkeit-Wechsel auftraten. Die beiden Tests dienen der Überprüfung der formallexikalischen Wortflüssigkeit (Aschenbrenner et al., 2000). Chou et al. konnten zeigten, dass bei der Bewältigung dieser Aufgaben vor allem bilaterale frontotemporale Regionen des Cortex aktiviert werden (Chou et al., 2015). Li et al. konnten in einer fMRI Studie eine verminderte Aktivität im bilateralen inferioren frontalen Lobus bei schizophrenen Probanden während der Sprachproduktion nachweisen (Li et al., 2007). Untersuchungen von Beton et al weisen darauf hin, dass FOXP2 einen Einfluss auf die Entwicklung der grauen Substanz in dieser Region nimmt (Belton et al., 2003). In einer neueren Studie hielten Spaniel et al. fest, dass der SNP rs2396753 des FOXP2-Gen mit einer signifikanten Reduktion der grauen Substanz im Bereich des bilateralen und präfrontalen Cortex bei schizophrenen Probanden assoziiert ist (Spaniel et al., 2011). Diese Studien liefern erste Hinweise auf den funktionellen Einfluss des FOXP2-Gens auf neuronaler Ebene und Erklärungsansätze für dessen Einfluss auf die Wortflüssigkeit.

Vorangegangene Studien können die Assoziation der Wortflüssigkeit mit der Schizophrenie bestätigen. Zusätzlich zeigten sie, dass die Probanden signifikant schlechtere Leistungen in Tests der formallexikalischen Wortflüssigkeit präsentierten (Elvevag et al., 2001; Juhasz et al., 2012).

Elvevag et al. untersuchten anhand einer Serie von Wortflüssigkeitstests die Sprachdefizite bei schizophrenen Patienten (Elvevag et al., 2001). Dabei führten sie mit 13 Schizophreniepatienten und 15 Kontrollprobanden den Wortflüssigkeitstest (T, E, G) und den Wortflüssigkeit Kategorien Test (Tiere, Werkzeug, Verben) für je drei Minuten durch. Die Patienten wurden mittels SKID untersucht und die Diagnose Schizophrenie wurde nach DSM-IV-Kriterien gestellt. Die Kontrollprobanden wurden nach den Kriterien Alter, Geschlecht und prämorbiden-IQ den Patienten zugeteilt. Die Ergebnisse zeigten, dass die Patienten signifikant weniger Wörter in allen Tests nannten. Die Anzahl der genannten Wörter im formallexikalischen Test war deutlich niedriger als die im semantischen Test. Somit konnte die Studiengruppe bestätigen, dass bei Schizophreniepatienten sowohl die formallexikalische als auch die semantische Wortflüssigkeit eingeschränkt ist, wobei erstere stärker betroffen ist (Elvevag et al., 2001). Diese Ergebnisse decken sich mit denen in der vorliegenden Studie dargestellten Ergebnissen.

Eine 2013 von Juhasz et al. durchgeführte Studie mit 139 Patienten und 20 Kontrollprobanden knüpft an diese Untersuchungen an (Juhasz et al., 2012). Alle Patienten litten laut DSM-IV an Schizophrenie oder einer schizoaffektiven Störung. Sowohl Patienten als auch Gesunde führten über eine Minute den formallexikalischen (F, A, S) sowie semantischen (Tiere) Wortflüssigkeitstest durch. Die Patienten nannten in beiden Kategorien signifikant weniger Wörter als die Kontrollen. Die Studienergebnisse bekräftigten somit die Hypothese, dass Schizophrene in ihrer Wortflüssigkeit signifikant eingeschränkt sind (Juhasz et al., 2012). Beide Studien ähneln im Design der vorliegenden Studie. Die Ethnizität ist jeweils europäisch und die Diagnosestellung erfolgte mittels SKID, sodass alle Patienten die DSM-IV Kriterien der Schizophrenie erfüllten. Die Testdurchführung variierte in der Testlänge, da in dieser Studie die Teilnehmer über zwei Minuten getestet wurden. Auch die Testinhalte sind abweichend, wobei die vorliegende Studie auf Deutsch durchgeführt wurde und deshalb die Buchstaben im formallexikalischen Untertest angepasst wurden.

Im Gegensatz zu der vorliegenden Studie untersuchten Juhasz et al. und Elvevag et al. ausschließlich die Auswirkungen der Schizophrenie auf den Endophänotyp der Wortflüssigkeit. Im hier untersuchten Fall präsentieren die Patienten ebenfalls konstant schlechtere Ergebnisse in den Wortflüssigkeitstest. Gegenstand der Untersuchung ist jedoch die Assoziation zwischen bestimmten Polymorphismen des FOXP2-Gens und den jeweiligen Testergebnissen, um mögliche Risikoallele zu bestimmen.

Zum genaueren Vergleich der Ergebnisse kann man die Studie von Tolosa et al. heranziehen. Die Arbeitsgruppe untersuchte dabei die Assoziation von 27 Einzelpolymorphismen des FOXP2-Gen mit dem Symptom der Sprachverarmung (Tolosa et al., 2010). Zur Klassifizierung der Symptome verwendeten sie die PSYRAT-Scale und die Manchester Scale (Krawiecka et al., 1977). Dabei zeigte sich eine nach Bonferroni-Korrektur bestehende signifikante Assoziation für den SNP rs2253478 (p=0,038) in der Gruppe der schizophrenen Probanden mit dem Merkmal der Sprachverarmung. Der untersuchte SNP liegt in Intron s3 und damit weit entfernt von den Promotorregionen. Bis zum Zeitpunkt der Studie waren keine Informationen über dessen Funktionalität bekannt. In der vorliegenden Studie wurde der SNP rs2253478 nicht untersucht.
Im Gegensatz dazu zeigt der SNP rs1852469, der in unserer Studie Signifikanz erreicht, in der Stichprobe von Tolosa et al. keine Assoziation mit dem Symptom der Sprachverarmung. Dennoch unterstützen die Ergebnisse von Tolosa et al. die Hypothese zur Assoziation des FOXP2-Gens mit einem der Hauptsymptome der Schizophrenie. Die Studiengruppe folgerte daraus, dass eine Identifikation der mit Sprache assoziierten Variablen bei der Suche nach Risikoallelen der Schizophrenie eine alternative Vorgehensweise sein kann (Tolosa et al., 2010). Die Studie von Tolosa et al. kann jedoch nur zu einem gewissen Grad zum Vergleich herangezogen werden. Einerseits entsprechen die Ethnizität der Stichprobe und auch die Diagnosekriterien der Schizophrenie denen der vorliegenden Studie. Andererseits wird bei Tolosa et al. die Assoziation zum Symptom Sprachverarmung untersucht. In der vorliegenden Studie wird der Endophänotyp der Wortflüssigkeit spezifisch mittels des RWT eingestuft. Der von Tolosa et al. beschriebene signifikante Einzelpolymorphismus liegt mit keinem der beschriebenen SNPs im Kopplungsungleichgewicht, ein funktioneller Zusammenhang ist somit noch nicht

geklärt (HapMap Project, 2016). Die beschriebene Studie kann als weiterer Hinweis auf eine Assoziation zwischen dem FOXP2-Gen und dem Endophänotyp Wortflüssigkeit gewertet werden. Weitere Studien sind notwendig um die in der vorliegenden Studie errechneten Assoziationen erneut zu bestätigen.

Erste Erklärungsansätze für Defizite im Bereich der Sprache konnten bei Untersuchung der neuronalen Zielstrukturen des FOXP2-Gens gestellt werden (Spiteri et al., 2007; Vernes et al., 2008; Walker et al., 2012).
Vernes et al. konnten durch Chromatin-Immunpräzipitation genetische Fragmente identifizieren, an die das Protein bindet. FOXP2 bindet in das Intron3 des CNTNAP2-Gens. Das CNTNAP2-Gen spielt eine Rolle in Prozessen der neuronalen Erkennung, Zelladhäsion und -lokalisation sowie der Aufrechterhaltung der spannungs-abhängigen Kaliumkanäle (Inda et al., 2006). Weitere Experimente zeigen eine Herabregulation der CNTNAP2-Expression durch FOXP2 (Spiteri et al., 2007; Vernes et al., 2008). Gleichzeitig vermuten Vernes et al. eine Beteiligung des CNTNAP2-Gens in der Entwicklung von Sprachentwicklungsstörungen. So konnten sie eine signifikante Assoziation zwischen Einzelpolymorphismen des CNTNAP2-Gens und erkrankten Individuen darstellen (Vernes et al., 2008). Somit kann eine veränderte Funktion oder Expression des CNTNAP2 durch das FOXP2-Gen einen gemeinsamen Einfluss auf die Wortflüssigkeit nehmen (Fisher und Scharff, 2009). Weitere Analysen sind notwendig, um die Zielstrukturen des FOXP2-Gens zu identifizieren, die einen Effekt auf die Entwicklung der Sprache haben.

Die in der vorliegenden Studie beschriebenen Ergebnisse bekräftigen die Hypothese, dass das FOXP2-Gen Einfluss auf die Wortflüssigkeit hat. Die genauen Mechanismen sind jedoch noch nicht ausreichend geklärt. Keiner der signifikanten Einzelpolymorphismen verändert direkt die Struktur des FOXP2-Gens (NCBI, 2014a). Deshalb sollte zukünftig die Beziehung der Einzelpolymorphismen untereinander geklärt werden, die möglicherweise in strukturelle Veränderungen resultieren. Ein wichtiger Ansatzpunkt ist deren Einfluss auf die Funktion des FOXP2-Gens als Transkriptionsfaktor, der an Prozessen der neuronalen Entwicklung beteiligt ist. Nun ist in weiteren Studien zu untersuchen, welche molekularbiologischen Prozesse die Einzelpolymorphismen des FOXP2-Gens beeinflussen.

5.3. Ausblick auf zukünftige Untersuchungen

In der Ätiologie der Schizophrenie gilt eine starke genetische Komponente als erwiesen. Dennoch reichen die aktuellen Studienergebnisse nicht aus, um deren spezifische Einflüsse vollständig zu klären. Ziel der aktuellen Forschung ist, die einzelnen pathogenetischen Faktoren, die zu der Entstehung der Schizophrenie beitragen, zu ermitteln. Da es sich bei der Schizophrenie jedoch um eine heterogene Erkrankung handelt, die sowohl durch endogenen als auch exogene Faktoren beeinflusst wird, gestaltet sich die vollständige Aufklärung der Pathogenese als äußerst schwierig.
Einige frühere Studien diskutierten die Rolle des FOXP2-Gens in der Entwicklung der Schizophrenie. In der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass das Allele A des SNPs rs1852469, das Allel T des SNPS rs1456031 und das Allel T des SNPs rs1058335 des FOXP2-Gens bei schizophrenen Probanden signifikant häufiger auftreten. In den beschriebenen Referenzstudien konnten diese Assoziationen nur teilweise bestätigt werden.
Da es sich jedoch bei der vorliegenden Fall-Kontroll-Assoziationsstudie im Vergleich zu den Referenzstudien um eine Untersuchung an einer relativ großen Gesamtstichprobe von 929 Patienten und 2.288 gesunden Probanden europäischer Herkunft handelt, kann davon ausgegangen werde, dass die Ergebnisse Einfluss auf die Entwicklung der Schizophrenie haben. Die weitere Klärung der Rolle des FOXP2-Gens in der Entwicklung der Schizophrenie kann dann der Identifizierung von Risikogruppen dienen und gegebenenfalls zur Prävention der Erkrankung beitragen. In weiteren Folgeuntersuchungen sollte ein Schwerpunkt auf die zusätzliche Bestätigung der hier aufgetretenen Signifikanzen gelegt werden. Dabei ist es notwendig möglichst große, europäische Stichproben zu untersuchen, um die vorliegenden Assoziationen zwischen der Schizophrenie und dem FOXP2-Gen erneut zu bestätigen.

Viele Studienergebnisse geben Hinweis auf einen Einfluss des FOXP2-Gens auf die Sprachentwicklung. Da Einschränkungen im Bereich der Wortflüssigkeit bei Schizophreniepatienten als gesichert gelten, ist die Untersuchung des Einflusses des FOXP2-Gens von besonderem Interesse.

Die Einzelpolymorphismen rs1852469, rs2106900, rs10269986, rs1229760, rs12705966, rs1005958 und rs4236599 des FOXP2-Gens präsentierten signifikante Einflüsse auf die Testergebnisse des Regensburger Wortflüssigkeits-Tests bei Patienten sowie gesunden Probanden. Der Einfluss der einzelnen SNPs auf die Wortflüssigkeit mag quantitativ sehr gering sein, sodass die isolierte Untersuchung zu fehlerhaften Ergebnissen führen kann. Die Haplotypanalyse berücksichtigt jedoch die Wechselwirkungen mehrerer SNPs und kann die vorangegangenen Ergebnisse bestätigen.

Bis heute wurde die Rolle des FOXP2-Gens bei Schizophreniepatienten nicht ausreichend analysiert, sodass mit der vorliegenden Studie ein Einstieg in Folgeuntersuchungen ermöglicht wurde. Um die vorliegenden Ergebnisse zu bestätigen, sollten diese mit dem Regensburger Wortflüssigkeits-Test vergleichbare Verfahren verwenden. Durch weitere Endophänotypen-Studien kann somit schrittweise der Einfluss des FOXP2-Gens auf die Wortflüssigkeit bei Schizophreniepatienten bestätigt werden. Da es sich bei der Schizophrenie in ihrer Ausprägung sehr heterogene Erkrankung handelt, könnte der Endophänotyp Wortflüssigkeit zur weiteren Diagnostik beitragen.

Zudem wurde in der vorliegenden Studie kein Vergleich der Ergebnisse der weiblichen und männlichen Studienteilnehmer vorgenommen. Es lassen sich daher keine Aussagen zu geschlechtsspezifischen Einflüssen des FOXP2-Gens auf die Wortflüssigkeit bei gesunden Probanden sowie schizophrenen Patienten treffen. Schwerpunkt weiterer Studien könnten es daher sein, mögliche geschlechts-spezifische Unterschiede zu untersuchen.

Anschließend ist es notwendig, den funktionellen Einflüssen des FOXP2-Gens auf die Wortflüssigkeitsdefizite bei Schizophreniepatienten größere Aufmerksamkeit zu widmen. In der vorliegenden Studie wurden ausschließlich SNPs in intronischen Bereichen untersucht. Es ist daher weiterhin unklar, welchen Einfluss die Variationen auf den Aufbau des Foxp2-Proteins und dessen Funktion als Transkriptionsfaktor hat. Dieser Umstand ist in weiteren molekulargenetischen Studien zu prüfen. Aufbauend auf den Endophänotypen-Studien könnten beispielsweise Signaltransduktionsweg-Analysen zur Untersuchung der funktionellen Zusammenhänge herangezogen werden. Ein besseres Verständnis der Funktion des FOXP2-Gens kann so auch der Entwicklung von neuen medikamentösen Therapieansätzen dienen.

6. Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Erläuterung
A	Adenosin
ANA	Anamnese
C	Cytosin
CT	Computertomographie
ddNTPs	Didesoxynukleotidtriphosphat
DIMDI	Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information
dNTPs	Desoxynukleotidtriphosphat
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fourth Edition
DVD	Developmantal Verbal Dyspraxia (Sprechapraxie)
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
F	F-Wert, Fischer-Verteilung
FHAM	Family History Assessment Module
FOXP2	Forkhead-Box-Protein 2
G	Guanin
GWAS	Genom-Wide-Association-Studies
gDNA	genomische Desoxyribonukleinsäure
HCl	Salzsäure
HWE	Hardy-Weinberg-Equilibriuum
ICD-10	International Classification of Diseases, Tenth Edition
LD	linkage disequilibrium (Kopplungsungleichgewicht)
MALDI-TOF MS	Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation Time Of Flight Mass Spectrometry
MANOVA	Multivarianzanalyse
MATRICS	Measurement and Treatment Research to Improve Cognition in Schizophrenia
mbar	Millibar
MCCB	MATRICS Consensus Cognitive Battery
$MgCl_2$	Magnesiumchlorid
MHC	Major Histocompatibility Complex
mM	Millimol

Abkürzung	Erläuterung
MMST	Mini-Mental-Status-Test
MRT	Magnetresonanztomographie
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NIMH	National Institutes of Mental Health
nM	Nanomal
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
OR	Odds Ratio
p	Pearson
p-Wert	Signifikanz
PANSS	Positive And Negative Symptome Scale
PCP	Phencyclidin ("angel dust")
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polymerasekettenreaktion)
PSYRATS	Psychotic Symptome Rating Scale
RNA	Ribonukleinsäure
rpm	rounds per minute (Umdrehung pro Minute)
RWT	Regensburger Wortflüssigkeits-Test
SAP	Shrimo Alkaline Phosphatase
SBE	Single Base Extension
SD	Standardabweichung
SKID	Strukturiertes klinisches Interview für DSM-IV
SZ	Schizophrenie
T	Thymin
Taq	Thermophilus aquaticus
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
λ (lambda)	Wellenlänge
µM	Mikromol
WHO	World Health Organisation (Weltgesundheitsorganisation)

7. Literaturverzeichnis

Abel, K. M., Drake, R., und Goldstein, J. M. (2010). Sex differences in schizophrenia. *Int Rev Psychiatry, 22*(5), 417-428. doi: 10.3109/09540261.2010.515205

Allen, A. J., Griss, M. E., Folley, B. S., Hawkins, K. A., und Pearlson, G. D. (2009). Endophenotypes in schizophrenia: a selective review. *Schizophr Res, 109*(1-3), 24-37. doi: 10.1016/j.schres.2009.01.016

Allen, N. C., Bagade, S., McQueen, M. B., Ioannidis, J. P., Kavvoura, F. K., Khoury, M. J., Tanzi, R. E., und Bertram, L. (2008). Systematic meta-analyses and field synopsis of genetic association studies in schizophrenia: the SzGene database. *Nat Genet, 40*(7), 827-834. doi: 10.1038/ng.171

American Psychiatric Association. (2000). Diagnostic and Statistical Manual-Text Revision (DSM-IV-TR, 2000): American Psychiatric Association.

American Psychiatric Association. (2013). Highlights of Changes from DSM-IV-TR to DSM-5. Retrieved 15.12.2015, 2015

Andreasen, N. C. (2000). Schizophrenia: the fundamental questions. *Brain Res Brain Res Rev, 31*(2-3), 106-112.

Andreasen, N. C., Carpenter, W. T., Jr., Kane, J. M., Lasser, R. A., Marder, S. R., und Weinberger, D. R. (2005). Remission in schizophrenia: proposed criteria and rationale for consensus. *Am J Psychiatry, 162*(3), 441-449. doi: 10.1176/appi.ajp.162.3.441

Aschenbrenner, S., Tucha, O., und Lange, K. W. (2000). Regenburger Wortflu□ssigkeits-Test (RWT). Göttingen-Bern-Toronto-Seattle: Hogrefe Verlag für Psychologie.

Ashdown, H., Dumont, Y., Ng, M., Poole, S., Boksa, P., und Luheshi, G. N. (2006). The role of cytokines in mediating effects of prenatal infection on the fetus: implications for schizophrenia. *Mol Psychiatry, 11*(1), 47-55. doi: 10.1038/sj.mp.4001748

Bacon, C., und Rappold, G. A. (2012). The distinct and overlapping phenotypic spectra of FOXP1 and FOXP2 in cognitive disorders. *Hum Genet, 131*(11), 1687-1698. doi: 10.1007/s00439-012-1193-z

Barrett, J. C., Fry, B., Maller, J., und Daly, M. J. (2005). Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. . *Bioinformatics*.

Belton, E., Salmond, C. H., Watkins, K. E., Vargha-Khadem, F., und Gadian, D. G. (2003). Bilateral brain abnormalities associated with dominantly inherited verbal and orofacial dyspraxia. *Hum Brain Mapp, 18*(3), 194-200. doi: 10.1002/hbm.10093

Bemis, L. T., Chen, R., Amato, C. M., Classen, E. H., Robinson, S. E., Coffey, D. G., Erickson, P. F., Shellman, Y. G., und Robinson, W. A. (2008). MicroRNA-137 targets microphthalmia-associated transcription factor in melanoma cell lines. *Cancer Res, 68*(5), 1362-1368. doi: 10.1158/0008-5472.can-07-2912

Benedict, R. H. B., und Brandt, J. (2001). Hopkins verbal learning test, revised: professional manual. Florida: Psychological Assessment Resources.

Bhui, K., Ullrich, S., und Coid, J. W. (2014). Which pathways to psychiatric care lead to earlier treatment and a shorter duration of first-episode psychosis? *BMC Psychiatry, 14*(1), 72. doi: 10.1186/1471-244x-14-72

Biedermann, F., und Fleischhacker, W. W. (2016). Psychotic disorders in DSM-5 and ICD-11. *CNS Spectr*, 1-6. doi: 10.1017/s1092852916000316

Blackwood, D. H., Fordyce, A., Walker, M. T., St Clair, D. M., Porteous, D. J., und Muir, W. J. (2001). Schizophrenia and affective disorders--cosegregation with

a translocation at chromosome 1q42 that directly disrupts brain-expressed genes: clinical and P300 findings in a family. *Am J Hum Genet, 69*(2), 428-433.

Bleuler, E. (1911). Dementia praecox oder Gruppe der Schizophrenien. Leipzig-Wien: Deuticke.

Braff, D. L., Freedman, R., Schork, N. J., und Gottesman, I. I. (2007). Deconstructing schizophrenia: an overview of the use of endophenotypes in order to understand a complex disorder. *Schizophr Bull, 33*(1), 21-32. doi: 10.1093/schbul/sbl049

Brown, S., Inskip, H., und Barraclough, B. (2000). Causes of the excess mortality of schizophrenia. *Br J Psychiatry, 177*, 212-217.

Bruce, H. A., und Margolis, R. L. (2002). FOXP2: novel exons, splice variants, and CAG repeat length stability. *Hum Genet, 111*(2), 136-144. doi: 10.1007/s00439-002-0768-5

Butler, R. W., Rorsman, I., Hill, J. M., und Tuma, R. (1993). The effects of frontal brain impairment on fluency: Simple and complex paradigms. *Neuropsychology, 7*(4), 519.

Byrne, M., Agerbo, E., Bennedsen, B., Eaton, W. W., und Mortensen, P. B. (2007). Obstetric conditions and risk of first admission with schizophrenia: a Danish national register based study. *Schizophr Res, 97*(1-3), 51-59. doi: 10.1016/j.schres.2007.07.018

Cai, L., Wan, C. L., He, L., Jong, S., und Chou, K. C. (2015). Gestational Influenza Increases the Risk of Psychosis in Adults. *Med Chem, 11*(7), 676-682.

Cantor-Graae, E., und Selten, J. P. (2005). Schizophrenia and migration: a meta-analysis and review. *Am J Psychiatry, 162*(1), 12-24. doi: 10.1176/appi.ajp.162.1.12

Chou, P. H., Lin, W. H., Lin, C. C., Hou, P. H., Li, W. R., Hung, C. C., Lin, C. P., Lan, T. H., und Chan, C. H. (2015). Duration of Untreated Psychosis and Brain Function during Verbal Fluency Testing in First-Episode Schizophrenia: A Near-Infrared Spectroscopy Study. *Sci Rep, 5*, 18069. doi: 10.1038/srep18069

Dealberto, M. J. (2010). Ethnic origin and increased risk for schizophrenia in immigrants to countries of recent and longstanding immigration. *Acta Psychiatr Scand, 121*(5), 325-339. doi: 10.1111/j.1600-0447.2009.01535.x

DeLisi, L. E., Friedrich, U., Wahlstrom, J., Boccio-Smith, A., Forsman, A., Eklund, K., und Crow, T. J. (1994). Schizophrenia and sex chromosome anomalies. *Schizophr Bull, 20*(3), 495-505.

DeLisi, L. E., Mesen, A., Rodriguez, C., Bertheau, A., LaPrade, B., Llach, M., Riondet, S., Razi, K., Relja, M., Byerley, W., und Sherrington, R. (2002). Genome-wide scan for linkage to schizophrenia in a Spanish-origin cohort from Costa Rica. *Am J Med Genet, 114*(5), 497-508. doi: 10.1002/ajmg.10538

Dickerson, F., Origoni, A., Schroeder, J., Schweinfurth, L. A., Stallings, C., Savage, C. L., Katsafanas, E., Banis, M., Khushalani, S., und Yolken, R. (2015). Mortality in schizophrenia and bipolar disorder: Clinical and serological predictors. *Schizophr Res*. doi: 10.1016/j.schres.2015.11.010

Dickinson, D., Ramsey, M. E., und Gold, J. M. (2007). Overlooking the obvious: a meta-analytic comparison of digit symbol coding tasks and other cognitive measures in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry, 64*(5), 532-542. doi: 10.1001/archpsyc.64.5.532

DIMDI. (2015a). https://http://www.dimdi.de/static/de/klassi/icd-10-gm/. 2015

DIMDI. (2015b). ICD-11 - 11. Revision der ICD der WHO. Retrieved 15.12.2015, 2015

DIMDI. (2016). ICD-10-GM Version 2016. Version 2016. Retrieved 14.12.2015, 2015

Eaton, W. W., Hall, A. L., Macdonald, R., und McKibben, J. (2007). Case identification in psychiatric epidemiology: a review. *Int Rev Psychiatry, 19*(5), 497-507. doi: 10.1080/09540260701564906

Elvevag, B., Weinstock, D. M., Akil, M., Kleinman, J. E., und Goldberg, T. E. (2001). A comparison of verbal fluency tasks in schizophrenic patients and normal controls. *Schizophr Res, 51*(2-3), 119-126.

Falkai, P., Schneider, T., Greve, B., Klieser, E., und Bogerts, B. (1995). Reduced frontal and occipital lobe asymmetry on the CT-scans of schizophrenic patients. Its specificity and clinical significance. *J Neural Transm Gen Sect, 99*(1-3), 63-77.

Ferreira, M. A., O'Donovan, M. C., Meng, Y. A., Jones, I. R., Ruderfer, D. M., Jones, L., Fan, J., Kirov, G., Perlis, R. H., Green, E. K., Smoller, J. W., Grozeva, D., Stone, J., Nikolov, I., Chambert, K., Hamshere, M. L., Nimgaonkar, V. L., Moskvina, V., Thase, M. E., Caesar, S., Sachs, G. S., Franklin, J., Gordon-Smith, K., Ardlie, K. G., Gabriel, S. B., Fraser, C., Blumenstiel, B., Defelice, M., Breen, G., Gill, M., Morris, D. W., Elkin, A., Muir, W. J., McGhee, K. A., Williamson, R., MacIntyre, D. J., MacLean, A. W., St, C. D., Robinson, M., Van Beck, M., Pereira, A. C., Kandaswamy, R., McQuillin, A., Collier, D. A., Bass, N. J., Young, A. H., Lawrence, J., Ferrier, I. N., Anjorin, A., Farmer, A., Curtis, D., Scolnick, E. M., McGuffin, P., Daly, M. J., Corvin, A. P., Holmans, P. A., Blackwood, D. H., Gurling, H. M., Owen, M. J., Purcell, S. M., Sklar, P., und Craddock, N. (2008). Collaborative genome-wide association analysis supports a role for ANK3 and CACNA1C in bipolar disorder. *Nat Genet, 40*(9), 1056-1058. doi: 10.1038/ng.209

Fisher, S. E., und Scharff, C. (2009). FOXP2 as a molecular window into speech and language. *Trends Genet, 25*(4), 166-177. doi: 10.1016/j.tig.2009.03.002

Folstein, M. F., Folstein, S. E., und McHugh, P. R. (1975). Mini-Mental State (a practical method for grading the state of patients for the clinician). *Journal of Psychiatric Research, 12*, 189-198.

Fontenot, J. D., Gavin, M. A., und Rudensky, A. Y. (2003). Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Nat Immunol, 4*(4), 330-336. doi: 10.1038/ni904

Fossati, P., Ergis, A. M., und Allilaire, J. F. (2002). [Executive functioning in unipolar depression: a review]. *Encephale, 28*(2), 97-107.

Foulkes, A. S. (2009). Applied statistical genetics with R: for population-based association studies: Springer Science & Business Media.

Friedman, J. I., Vrijenhoek, T., Markx, S., Janssen, I. M., van der Vliet, W. A., Faas, B. H., Knoers, N. V., Cahn, W., Kahn, R. S., Edelmann, L., Davis, K. L., Silverman, J. M., Brunner, H. G., van Kessel, A. G., Wijmenga, C., Ophoff, R. A., und Veltman, J. A. (2008). CNTNAP2 gene dosage variation is associated with schizophrenia and epilepsy. *Mol Psychiatry, 13*(3), 261-266. doi: 10.1038/sj.mp.4002049

Gabriel, S. B., Schaffner, S. F., Nguyen, H., Moore, J. M., Roy, J., Blumenstiel, B., Higgins, J., DeFelice, M., Lochner, A., Faggart, M., Liu- Cordero, S. N., Rotimi, C., Adeyemo, A., Cooper, R., Ward, R., Lander, E. S., Daly, M. J., und Altshuler, D. (2002). The structure of haplotype blocks in the human genome. . *Science, 296*(5576), 2225-2229.

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

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

Gejman, P. V., Sanders, A. R., und Duan, J. (2010). The role of genetics in the etiology of schizophrenia. *Psychiatr Clin North Am, 33*(1), 35-66. doi: 10.1016/j.psc.2009.12.003

Goldberg, T. E., und Weinberger, D. R. (2004). Genes and the parsing of cognitive processes. *Trends Cogn Sci, 8*(7), 325-335. doi: 10.1016/j.tics.2004.05.011

Goldstein, D. B., und Weale, M. E. (2001). Population genomics: linkage disequilibrium holds the key. *Current Biology, 11*(14), R576-R579.

Gottesman, II, Laursen, T. M., Bertelsen, A., und Mortensen, P. B. (2010). Severe mental disorders in offspring with 2 psychiatrically ill parents. *Arch Gen Psychiatry, 67*(3), 252-257. doi: 10.1001/archgenpsychiatry.2010.1

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

Gottesman, I. I., McGuffin, P., und Farmer, A. E. (1987). Clinical genetics as clues to the "real" genetics of schizophrenia (a decade of modest gains while playing for time). *Schizophr Bull, 13*(1), 23-47.

Green, M. F., Nuechterlein, K. H., Gold, J. M., Barch, D. M., Cohen, J., Essock, S., Fenton, W. S., Frese, F., Goldberg, T. E., Heaton, R. K., Keefe, R. S., Kern, R. S., Kraemer, H., Stover, E., Weinberger, D. R., Zalcman, S., und Marder, S. R. (2004). Approaching a consensus cognitive battery for clinical trials in schizophrenia: the NIMH-MATRICS conference to select cognitive domains and test criteria. *Biol Psychiatry, 56*(5), 301-307. doi: 10.1016/j.biopsych.2004.06.023

Gross, G. (1997). The onset of schizophrenia. *Schizophr Res, 28*(2-3), 187-198.

Haddock, G., McCarron, J., Tarrier, N., und Faragher, E. B. (1999). Scales to measure dimensions of hallucinations and delusions: the psychotic symptom rating scales (PSYRATS). *Psychol Med, 29*(4), 879-889.

Hafner, H., an der Heiden, W., Behrens, S., Gattaz, W. F., Hambrecht, M., Loffler, W., Maurer, K., Munk-Jorgensen, P., Nowotny, B., Riecher-Rossler, A., und Stein, A. (1998). Causes and consequences of the gender difference in age at onset of schizophrenia. *Schizophr Bull, 24*(1), 99-113.

Häfner, H., Maurer, K., und an der Heiden, W. (2013). ABC Schizophrenia study: an overview of results since 1996. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol, 48*(7), 1021-1031. doi: 10.1007/s00127-013-0700-4

Hamshere, M. L., Walters, J. T., Smith, R., Richards, A. L., Green, E., Grozeva, D., Jones, I., Forty, L., Jones, L., Gordon-Smith, K., Riley, B., O'Neill, F. A., Kendler, K. S., Sklar, P., Purcell, S., Kranz, J., Morris, D., Gill, M., Holmans, P., Craddock, N., Corvin, A., Owen, M. J., und O'Donovan, M. C. (2013). Genome-wide significant associations in schizophrenia to ITIH3/4, CACNA1C and SDCCAG8, and extensive replication of associations reported by the Schizophrenia PGC. *Mol Psychiatry, 18*(6), 708-712. doi: 10.1038/mp.2012.67

Hannenhalli, S., und Kaestner, K. H. (2009). The evolution of Fox genes and their role in development and disease. *Nat Rev Genet, 10*(4), 233-240. doi: 10.1038/nrg2523

HapMap Project. (2016). http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/thehapmap.html.en. Retrieved 8.1.2016, 2016

Harrison, G., Feuk, L., Kalervo, A., Lipsanen-Nyman, M., Skaug, J., Nakabayashi, K., Finucane, B., Hartung, D., Innes, M., Kerem, B., Nowaczyk, M. J., Rivlin, J.,

Roberts, W., Senman, L., Summers, A., Szatmari, P., Wong, V., Vincent, J. B., Zeesman, S., Osborne, L. R., Cardy, J. O., Kere, J., Scherer, S. W., und Hannula-Jouppi, K. (2006). Absence of a paternally inherited FOXP2 gene in developmental verbal dyspraxia. *Am J Hum Genet, 79*(5), 965-972. doi: 10.1086/508902

Harrison, G., Hopper, K., Craig, T., Laska, E., Siegel, C., Wanderling, J., Dube, K. C., Ganev, K., Giel, R., an der Heiden, W., Holmberg, S. K., Janca, A., Lee, P. W., Leon, C. A., Malhotra, S., Marsella, A. J., Nakane, Y., Sartorius, N., Shen, Y., Skoda, C., Thara, R., Tsirkin, S. J., Varma, V. K., Walsh, D., und Wiersma, D. (2001). Recovery from psychotic illness: a 15- and 25-year international follow-up study. *Br J Psychiatry, 178*, 506-517.

Harrison, P. J. (1999). The neuropathology of schizophrenia. A critical review of the data and their interpretation. *Brain, 122 (Pt 4)*, 593-624.

Hennah, W., Varilo, T., Kestila, M., Paunio, T., Arajarvi, R., Haukka, J., Parker, A., Martin, R., Levitzky, S., Partonen, T., Meyer, J., Lonnqvist, J., Peltonen, L., und Ekelund, J. (2003). Haplotype transmission analysis provides evidence of association for DISC1 to schizophrenia and suggests sex-dependent effects. *Hum Mol Genet, 12*(23), 3151-3159. doi: 10.1093/hmg/ddg341

Henry, J. D., und Crawford, J. R. (2005). A meta-analytic review of verbal fluency deficits in schizophrenia relative to other neurocognitive deficits. *Cogn Neuropsychiatry, 10*(1), 1-33. doi: 10.1080/13546800344000309

Heston, L. L. (1966). Psychiatric disorders in foster home reared children of schizophrenic mothers. *Br J Psychiatry, 112*(489), 819-825.

Hill, S. K., Bjorkquist, O., Carrathers, T., Roseberry, J. E., Hochberger, W. C., und Bishop, J. R. (2013). Sequential processing deficits in schizophrenia: relationship to neuropsychology and genetics. *Schizophr Res, 151*(1-3), 91-96. doi: 10.1016/j.schres.2013.09.012

Hoff, A. L., Svetina, C., Maurizio, A. M., Crow, T. J., Spokes, K., und DeLisi, L. E. (2005). Familial cognitive deficits in schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 133b*(1), 43-49. doi: 10.1002/ajmg.b.30120

Honea, R., Crow, T. J., Passingham, D., und Mackay, C. E. (2005). Regional deficits in brain volume in schizophrenia: a meta-analysis of voxel-based morphometry studies. *Am J Psychiatry, 162*(12), 2233-2245. doi: 10.1176/appi.ajp.162.12.2233

Inda, M. C., DeFelipe, J., und Munoz, A. (2006). Voltage-gated ion channels in the axon initial segment of human cortical pyramidal cells and their relationship with chandelier cells. *Proc Natl Acad Sci U S A, 103*(8), 2920-2925. doi: 10.1073/pnas.0511197103

Ji, W., Li, T., Pan, Y., Tao, H., Ju, K., Wen, Z., Fu, Y., An, Z., Zhao, Q., Wang, T., He, L., Feng, G., Yi, Q., und Shi, Y. (2013). CNTNAP2 is significantly associated with schizophrenia and major depression in the Han Chinese population. *Psychiatry Res, 207*(3), 225-228. doi: 10.1016/j.psychres.2012.09.024

Job, D. E., Whalley, H. C., Johnstone, E. C., und Lawrie, S. M. (2005). Grey matter changes over time in high risk subjects developing schizophrenia. *Neuroimage, 25*(4), 1023-1030. doi: 10.1016/j.neuroimage.2005.01.006

Johannsen, W. (1909). Elemente der exakten Erblichkeitslehre: Deutsche wesentlich erweiterte Ausgabe in fünfundzwanzig Vorlesungen. Jena: G. Fischer.

Joyce, E. M., Collinson, S. L., und Crichton, P. (1996). Verbal fluency in schizophrenia: relationship with executive function, semantic memory and clinical alogia. *Psychol Med, 26*(1), 39-49.

Juhasz, B. J., Chambers, D., Shesler, L. W., Haber, A., und Kurtz, M. M. (2012). Evaluating lexical characteristics of verbal fluency output in schizophrenia. *Psychiatry Res, 200*(2-3), 177-183. doi: 10.1016/j.psychres.2012.06.035

Jurinke, C., Oeth, P., und van den Boom, D. (2004). MALDI-TOF mass spectrometry: a versatile tool for high-performance DNA analysis. *Mol Biotechnol, 26*(2), 147-164. doi: 10.1385/mb:26:2:147

Kay, S. R., Fiszbein, A., und Opler, L. A. (1987). The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr Bull, 13*(2), 261-276.

Keefe, R. S., Eesley, C. E., und Poe, M. P. (2005). Defining a cognitive function decrement in schizophrenia. *Biol Psychiatry, 57*(6), 688-691. doi: 10.1016/j.biopsych.2005.01.003

Keshavan, M. S., Tandon, R., Boutros, N. N., und Nasrallah, H. A. (2008). Schizophrenia, "just the facts": what we know in 2008 Part 3: neurobiology. *Schizophr Res, 106*(2-3), 89-107. doi: 10.1016/j.schres.2008.07.020

Kety, S. S., Rosenthal, D., Wender, P. H., und Schulsinger, F. (1968). The types and prevalence of mental illness in the biological and adoptive families of adopted schizophrenics. *Journal of Psychiatric Research, 6*, 345-362.

Khashan, A. S., Abel, K. M., R., M., Pedersen, M. G., Webb, R. T., Baker, P. N., Kenny, C. N., und Mortensen, P. B. (2008). Higher risk of offspring schizophrenia following antenatal maternal exposure to severe adverse life events. *Arch Gen Psychiatry, 65*(2), 146-152. doi: 10.1001/archgenpsychiatry.2007.20

Klosterkotter, J., Schultze-Lutter, F., und Ruhrmann, S. (2008). Kraepelin and psychotic prodromal conditions. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci, 258 Suppl 2*, 74-84. doi: 10.1007/s00406-008-2010-5

Konick, L. C., und Friedman, L. (2001). Meta-analysis of thalamic size in schizophrenia. *Biol Psychiatry, 49*(1), 28-38.

König, F. (1986). Kreativitätsdiagnostik als essentieller Bestandteil der Intelligenzdiagnostik. *Diagnostica, 32*, 345-357.

Kraepelin, E. (1896). Psychiatrie ein Lehrbuch für Studierende und Aerzte (8., vollst. umgearb. Aufl. ed.). Leipzig: Barth.

Krawiecka, M., Goldberg, D., und Vaughan, M. (1977). A standardized psychiatric assessment scale for rating chronic psychotic patients. *Acta Psychiatr Scand, 55*(4), 299-308.

Kyriakopoulos, M., und Frangou, S. (2007). Pathophysiology of early onset schizophrenia. *Int Rev Psychiatry, 19*(4), 315-324. doi: 10.1080/09540260701486258

Lai, C. S., Fisher, S. E., Hurst, J. A., Vargha-Khadem, F., und Monaco, A. P. (2001). A forkhead-domain gene is mutated in a severe speech and language disorder. *Nature, 413*(6855), 519-523. doi: 10.1038/35097076

Laursen, T. M., Wahlbeck, K., Hallgren, J., Westman, J., Osby, U., Alinaghizadeh, H., Gissler, M., und Nordentoft, M. (2013). Life expectancy and death by diseases of the circulatory system in patients with bipolar disorder or schizophrenia in the Nordic countries. *PLoS One, 8*(6), e67133. doi: 10.1371/journal.pone.0067133

Lencz, T., Smith, C. W., McLaughlin, D., Auther, A., Nakayama, E., Hovey, L., und Cornblatt, B. A. (2006). Generalized and specific neurocognitive deficits in prodromal schizophrenia. *Biol Psychiatry, 59*(9), 863-871. doi: 10.1016/j.biopsych.2005.09.005

Leweke, F. M., Gerth, C. W., Koethe, D., Klosterkotter, J., Ruslanova, I., Krivogorsky, B., Torrey, E. F., und Yolken, R. H. (2004). Antibodies to infectious agents in

individuals with recent onset schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci, 254*(1), 4-8. doi: 10.1007/s00406-004-0481-6

Lewis, C. M., Levinson, D. F., Wise, L. H., DeLisi, L. E., Straub, R. E., Hovatta, I., Williams, N. M., Schwab, S. G., Pulver, A. E., Faraone, S. V., Brzustowicz, L. M., Kaufmann, C. A., Garver, D. L., Gurling, H. M., Lindholm, E., Coon, H., Moises, H. W., Byerley, W., Shaw, S. H., Mesen, A., Sherrington, R., O'Neill, F. A., Walsh, D., Kendler, K. S., Ekelund, J., Paunio, T., Lonnqvist, J., Peltonen, L., O'Donovan, M. C., Owen, M. J., Wildenauer, D. B., Maier, W., Nestadt, G., Blouin, J. L., Antonarakis, S. E., Mowry, B. J., Silverman, J. M., Crowe, R. R., Cloninger, C. R., Tsuang, M. T., Malaspina, D., Harkavy-Friedman, J. M., Svrakic, D. M., Bassett, A. S., Holcomb, J., Kalsi, G., McQuillin, A., Brynjolfson, J., Sigmundsson, T., Petursson, H., Jazin, E., Zoega, T., und Helgason, T. (2003). Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia. *Am J Hum Genet, 73*(1), 34-48. doi: 10.1086/376549

Li, S., Weidenfeld, J., und Morrisey, E. E. (2004a). Transcriptional and DNA binding activity of the Foxp1/2/4 family is modulated by heterotypic and homotypic protein interactions. *Mol Cell Biol, 24*(2), 809-822.

Li, S., Zhou, D., Lu, M. M., und Morrisey, E. E. (2004b). Advanced cardiac morphogenesis does not require heart tube fusion. *Science, 305*(5690), 1619-1622. doi: 10.1126/science.1098674

Li, T., Zeng, Z., Zhao, Q., Wang, T., Huang, K., Li, J., Li, Y., Liu, J., Wei, Z., Wang, Y., Feng, G., He, L., und Shi, Y. (2013). FoxP2 is significantly associated with schizophrenia and major depression in the Chinese Han population. *World J Biol Psychiatry, 14*(2), 146-150. doi: 10.3109/15622975.2011.615860

Li, X., Branch, C. A., Ardekani, B. A., Bertisch, H., Hicks, C., und DeLisi, L. E. (2007). fMRI study of language activation in schizophrenia, schizoaffective disorder and in individuals genetically at high risk. *Schizophr Res, 96*(1-3), 14-24. doi: 10.1016/j.schres.2007.07.013

Li, Y., Willer, C., Sanna, S., und Abecasis, G. (2009). Genotype imputation. *Annu Rev Genomics Hum Genet, 10*, 387-406. doi: 10.1146/annurev.genom.9.081307.164242

Liu, Y., Chen, P. L., McGrath, J., Wolyniec, P., Fallin, D., Nestadt, G., Liang, K. Y., Pulver, A., Valle, D., und Avramopoulos, D. (2010). Replication of an association of a common variant in the Reelin gene (RELN) with schizophrenia in Ashkenazi Jewish women. *Psychiatr Genet, 20*(4), 184-186. doi: 10.1097/YPG.0b013e32833a220b

Longo, C. A., Kerr, E. N., und Smith, M. L. (2013). Executive functioning in children with intractable frontal lobe or temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Behav, 26*(1), 102-108. doi: 10.1016/j.yebeh.2012.11.003

Lu, R. B., Chang, Y. H., Lee, S. Y., und Chen, S. L. (2014). [Changes to the psychiatric diagnosis protocol]. *Hu Li Za Zhi, 61*(1), 26-31. doi: 10.6224/jn.61.1.26

MacDermot, K. D., Bonora, E., Sykes, N., Coupe, A. M., Lai, C. S., Vernes, S. C., Vargha-Khadem, F., McKenzie, F., Smith, R. L., Monaco, A. P., und Fisher, S. E. (2005). Identification of FOXP2 truncation as a novel cause of developmental speech and language deficits. *Am J Hum Genet, 76*(6), 1074-1080. doi: 10.1086/430841

Malla, A., Norman, R., Schmitz, N., Manchanda, R., Bechard-Evans, L., Takhar, J., und Haricharan, R. (2006). Predictors of rate and time to remission in first-

episode psychosis: a two-year outcome study. *Psychol Med, 36*(5), 649-658. doi: 10.1017/s0033291706007379

March, D., Hatch, S. L., Morgan, C., Kirkbride, J. B., Bresnahan, M., Fearon, P., und Susser, E. (2008). Psychosis and place. *Epidemiol Rev, 30*, 84-100. doi: 10.1093/epirev/mxn006

Martin, R. C., Loring, D. W., Meador, K. J., und Lee, G. P. (1990). The effects of lateralized temporal lobe dysfunction on formal and semantic word fluency. *Neuropsychologia, 28*(8), 823-829.

Massuda, R., Bucker, J., Czepielewski, L. S., Narvaez, J. C., Pedrini, M., Santos, B. T., Teixeira, A. S., Souza, A. L., Vasconcelos-Moreno, M. P., Vianna-Sulzbach, M., Goi, P. D., Belmonte-de-Abreu, P., und Gama, C. S. (2013). Verbal memory impairment in healthy siblings of patients with schizophrenia. *Schizophr Res, 150*(2-3), 580-582. doi: 10.1016/j.schres.2013.08.019

MATRICS Assessment Inc. (2009). http://www.matricsinc.org. Retrieved 14.11.2013, 2013

Maynard, T. M., Sikich, L., Lieberman, J. A., und LaMantia, A. S. (2001). Neural development, cell-cell signaling, and the "two-hit" hypothesis of schizophrenia. *Schizophr Bull, 27*(3), 457-476.

McGrath, J., Saha, S., Welham, J., El Saadi, O., MacCauley, C., und 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. doi: 10.1186/1741-7015-2-13

McGrath, J., Welham, J., Scott, J., Varghese, D., Degenhardt, L., Hayatbakhsh, M. R., Alati, R., Williams, G. M., Bor, W., und Najman, J. M. (2010). Association between cannabis use and psychosis-related outcomes using sibling pair analysis in a cohort of young adults. *Arch Gen Psychiatry, 67*(5), 440-447. doi: 10.1001/archgenpsychiatry.2010.6

Meyer, U., Yee, B. K., und Feldon, J. (2007). The neurodevelopmental impact of prenatal infections at different times of pregnancy: the earlier the worse? *Neuroscientist, 13*(3), 241-256. doi: 10.1177/1073858406296401

Möller, H. J., Jager, M., Riedel, M., Obermeier, M., Strauss, A., und Bottlender, R. (2011). The Munich 15-year follow-up study (MUFUSSAD) on first-hospitalized patients with schizophrenic or affective disorders: assessing courses, types and time stability of diagnostic classification. *Eur Psychiatry, 26*(4), 231-243. doi: 10.1016/j.eurpsy.2010.04.012

Moore, T. H., Zammit, S., Lingford-Hughes, A., Barnes, T. R., Jones, P. B., Burke, M., und Lewis, G. (2007). Cannabis use and risk of psychotic or affective mental health outcomes: a systematic review. *Lancet, 370*(9584), 319-328. doi: 10.1016/s0140-6736(07)61162-3

Moosmang, S., Haider, N., Klugbauer, N., Adelsberger, H., Langwieser, N., Muller, J., Stiess, M., Marais, E., Schulla, V., Lacinova, L., Goebbels, S., Nave, K. A., Storm, D. R., Hofmann, F., und Kleppisch, T. (2005). Role of hippocampal Cav1.2 Ca2+ channels in NMDA receptor-independent synaptic plasticity and spatial memory. *J Neurosci, 25*(43), 9883-9892. doi: 10.1523/jneurosci.1531-05.2005

Mortensen, P. B., Norgaard-Pedersen, B., Waltoft, B. L., Sorensen, T. L., Hougaard, D., Torrey, E. F., und Yolken, R. H. (2007). Toxoplasma gondii as a risk factor for early-onset schizophrenia: analysis of filter paper blood samples obtained at birth. *Biol Psychiatry, 61*(5), 688-693. doi: 10.1016/j.biopsych.2006.05.024

Mortensen, P. B., Pedersen, C. B., Hougaard, D. M., Norgaard-Petersen, B., Mors, O., Borglum, A. D., und Yolken, R. H. (2010). A Danish National Birth Cohort

study of maternal HSV-2 antibodies as a risk factor for schizophrenia in their offspring. *Schizophr Res, 122*(1-3), 257-263. doi: 10.1016/j.schres.2010.06.010

Moskowitz, A., und Heim, G. (2011). Eugen Bleuler's Dementia praecox or the group of schizophrenias (1911): a centenary appreciation and reconsideration. *Schizophr Bull, 37*(3), 471-479. doi: 10.1093/schbul/sbr016

Mukamel, Z., Konopka, G., Wexler, E., Osborn, G. E., Dong, H., Bergman, M. Y., Levitt, P., und Geschwind, D. H. (2011). Regulation of MET by FOXP2, genes implicated in higher cognitive dysfunction and autism risk. *J Neurosci, 31*(32), 11437-11442. doi: 10.1523/jneurosci.0181-11.2011

NCBI. (2014a). dbSNP Short Genetic Variations. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/. 2014

NCBI. (2014b). http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1058335. *Reference SNP(refSNP) Cluster Report.* Retrieved 28.02., 2014

NCBI. (2014c). http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1229760. *Reference SNP(refSNP) Cluster Report.* Retrieved 28.02., 2014

NCBI. (2014d). http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1852469. *Reference SNP(refSNP) Cluster. .* Retrieved 28.02., 2014

NCBI. (2014e). http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=4236599. *Reference SNP(refSNP) Cluster Report.* Retrieved 28.02., 2014

NCBI. (2014f). http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=10269986. *Reference SNP(refSNP) Cluster Report.* Retrieved 28.02., 2014

Nelson, M. D., Saykin, A. J., Flashman, L. A., und Riordan, H. J. (1998). Hippocampal volume reduction in schizophrenia as assessed by magnetic resonance imaging: a meta-analytic study. *Arch Gen Psychiatry, 55*(5), 433-440.

Ng, M. Y., Levinson, D. F., Faraone, S. V., Suarez, B. K., DeLisi, L. E., Arinami, T., Riley, B., Paunio, T., Pulver, A. E., Irmansyah, Holmans, P. A., Escamilla, M., Wildenauer, D. B., Williams, N. M., Laurent, C., Mowry, B. J., Brzustowicz, L. M., Maziade, M., Sklar, P., Garver, D. L., Abecasis, G. R., Lerer, B., Fallin, M. D., Gurling, H. M., Gejman, P. V., Lindholm, E., Moises, H. W., Byerley, W., Wijsman, E. M., Forabosco, P., Tsuang, M. T., Hwu, H. G., Okazaki, Y., Kendler, K. S., Wormley, B., Fanous, A., Walsh, D., O'Neill, F. A., Peltonen, L., Nestadt, G., Lasseter, V. K., Liang, K. Y., Papadimitriou, G. M., Dikeos, D. G., Schwab, S. G., Owen, M. J., O'Donovan, M. C., Norton, N., Hare, E., Raventos, H., Nicolini, H., Albus, M., Maier, W., Nimgaonkar, V. L., Terenius, L., Mallet, J., Jay, M., Godard, S., Nertney, D., Alexander, M., Crowe, R. R., Silverman, J. M., Bassett, A. S., Roy, M. A., Merette, C., Pato, C. N., Pato, M. T., Roos, J. L., Kohn, Y., Amann-Zalcenstein, D., Kalsi, G., McQuillin, A., Curtis, D., Brynjolfson, J., Sigmundsson, T., Petursson, H., Sanders, A. R., Duan, J., Jazin, E., Myles-Worsley, M., Karayiorgou, M., und Lewis, C. M. (2009). Meta-analysis of 32 genome-wide linkage studies of schizophrenia. *Mol Psychiatry, 14*(8), 774-785. doi: 10.1038/mp.2008.135

Nielsen, P. R., Laursen, T. M., und Mortensen, P. B. (2013). Association between parental hospital-treated infection and the risk of schizophrenia in adolescence and early adulthood. *Schizophr Bull, 39*(1), 230-237. doi: 10.1093/schbul/sbr149

O'Donovan, M. C., Craddock, N., Norton, N., Williams, H., Peirce, T., Moskvina, V., Nikolov, I., Hamshere, M., Carroll, L., Georgieva, L., Dwyer, S., Holmans, P., Marchini, J. L., Spencer, C. C., Howie, B., Leung, H. T., Hartmann, A. M., Moller, H. J., Morris, D. W., Shi, Y., Feng, G., Hoffmann, P., Propping, P.,

Vasilescu, C., Maier, W., Rietschel, M., Zammit, S., Schumacher, J., Quinn, E. M., Schulze, T. G., Williams, N. M., Giegling, I., Iwata, N., Ikeda, M., Darvasi, A., Shifman, S., He, L., Duan, J., Sanders, A. R., Levinson, D. F., Gejman, P. V., Cichon, S., Nothen, M. M., Gill, M., Corvin, A., Rujescu, D., Kirov, G., Owen, M. J., Buccola, N. G., Mowry, B. J., Freedman, R., Amin, F., Black, D. W., Silverman, J. M., Byerley, W. F., und Cloninger, C. R. (2008). Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up. *Nat Genet, 40*(9), 1053-1055. doi: 10.1038/ng.201

Olfson, M., Gerhard, T., Huang, C., Crystal, S., und Stroup, T. S. (2015). Premature Mortality Among Adults With Schizophrenia in the United States. *JAMA Psychiatry, 72*(12), 1172-1181. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2015.1737

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

Penner, J. D., und Brown, A. S. (2007). Prenatal infectious and nutritional factors and risk of adult schizophrenia. *Expert Rev Neurother, 7*(7), 797-805. doi: 10.1586/14737175.7.7.797

PGC. (2011). Genome-wide association study identifies five new schizophrenia loci. *Nat Genet., 43*(10), 969-976. doi: 10.1038/ng.940

PGC. (2014). Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature, 511*(7510), 421-427. doi: 10.1038/nature13595

PGC Bipolar Disorder Working Group. (2011). Large-scale genome-wide association analysis of bipolar disorder identifies a new susceptibility locus near ODZ4. *Nat Genet, 43*(10), 977-983. doi: 10.1038/ng.943

Picker, J. D., und Coyle, J. T. (2005). Do maternal folate and homocysteine levels play a role in neurodevelopmental processes that increase risk for schizophrenia? *Harv Rev Psychiatry, 13*(4), 197-205. doi: 10.1080/10673220500243372

PLINK 1.07. (2009). http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/plink/. 2013

Province, M. A., Shannon, W. D., und Rao, D. C. (2001). Classification methods for confronting heterogeneity. *Adv Genet, 42*, 273-286.

Purcell, S., Neale, B., Todd- Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A. R., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., de Bakker, P. I. W., Daly, M. J., und Sham, P. C. (2007). PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. *Am J Hum Genet, 81*.

Purcell, S. M., Wray, N. R., Stone, J. L., Visscher, P. M., O'Donovan, M. C., Sullivan, P. F., und Sklar, P. (2009). Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Nature, 460*(7256), 748-752. doi: 10.1038/nature08185

Qiagen. (2002). Handbuch fu□r QIAamp® DNA Mini Kits und QIAamp DNA Blood Mini Kits. (2. ed.). Hilden, Germany.

R Development Core Team. (2011). *The R Project for Statistical Computing.* Wirtschaftsuniversität Wien, WU, Wien, Österreich.

Rice, J. P., Reich, T., Bucholz, K. K., Neuman, R. J., Fishman, R., Rochberg, N., Hesselbrock, V. M., Nurnberger, J. I., Schuckit, M. A., und Begleiter, H. (1995). Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research, 19*(4), 1018-1023.

Riley, B., Thiselton, D., Maher, B. S., Bigdeli, T., Wormley, B., McMichael, G. O., Fanous, A. H., Vladimirov, V., O'Neill, F. A., Walsh, D., und Kendler, K. S. (2010). Replication of association between schizophrenia and ZNF804A in the

Irish Case-Control Study of Schizophrenia sample. *Mol Psychiatry, 15*(1), 29-37. doi: 10.1038/mp.2009.109

Ripke, S., O'Dushlaine, C., Chambert, K., Moran, J. L., Kahler, A. K., Akterin, S., Bergen, S. E., Collins, A. L., Crowley, J. J., Fromer, M., Kim, Y., Lee, S. H., Magnusson, P. K., Sanchez, N., Stahl, E. A., Williams, S., Wray, N. R., Xia, K., Bettella, F., Borglum, A. D., Bulik-Sullivan, B. K., Cormican, P., Craddock, N., de Leeuw, C., Durmishi, N., Gill, M., Golimbet, V., Hamshere, M. L., Holmans, P., Hougaard, D. M., Kendler, K. S., Lin, K., Morris, D. W., Mors, O., Mortensen, P. B., Neale, B. M., O'Neill, F. A., Owen, M. J., Milovancevic, M. P., Posthuma, D., Powell, J., Richards, A. L., Riley, B. P., Ruderfer, D., Rujescu, D., Sigurdsson, E., Silagadze, T., Smit, A. B., Stefansson, H., Steinberg, S., Suvisaari, J., Tosato, S., Verhage, M., Walters, J. T., Levinson, D. F., Gejman, P. V., Kendler, K. S., Laurent, C., Mowry, B. J., O'Donovan, M. C., Owen, M. J., Pulver, A. E., Riley, B. P., Schwab, S. G., Wildenauer, D. B., Dudbridge, F., Holmans, P., Shi, J., Albus, M., Alexander, M., Campion, D., Cohen, D., Dikeos, D., Duan, J., Eichhammer, P., Godard, S., Hansen, M., Lerer, F. B., Liang, K. Y., Maier, W., Mallet, J., Nertney, D. A., Nestadt, G., Norton, N., O'Neill, F. A., Papadimitriou, G. N., Ribble, R., Sanders, A. R., Silverman, J. M., Walsh, D., Williams, N. M., Wormley, B., Arranz, M. J., Bakker, S., Bender, S., Bramon, E., Collier, D., Crespo-Facorro, B., Hall, J., Iyegbe, C., Jablensky, A., Kahn, R. S., Kalaydjieva, L., Lawrie, S., Lewis, C. M., Lin, K., Linszen, D. H., Mata, I., McIntosh, A., Murray, R. M., Ophoff, R. A., Powell, J., Rujescu, D., Van Os, J., Walshe, M., Weisbrod, M., Wiersma, D., Donnelly, P., Barroso, I., Blackwell, J. M., Bramon, E., Brown, M. A., Casas, J. P., Corvin, A. P., Deloukas, P., Duncanson, A., Jankowski, J., Markus, H. S., Mathew, C. G., Palmer, C. N., Plomin, R., Rautanen, A., Sawcer, S. J., Trembath, R. C., Viswanathan, A. C., Wood, N. W., Spencer, C. C., Band, G., Bellenguez, C., Freeman, C., Hellenthal, G., Giannoulatou, E., Pirinen, M., Pearson, R. D., Strange, A., Su, Z., Vukcevic, D., Donnelly, P., Langford, C., Hunt, S. E., Edkins, S., Gwilliam, R., Blackburn, H., Bumpstead, S. J., Dronov, S., Gillman, M., Gray, E., Hammond, N., Jayakumar, A., McCann, O. T., Liddle, J., Potter, S. C., Ravindrarajah, R., Ricketts, M., Tashakkori-Ghanbaria, A., Waller, M. J., Weston, P., Widaa, S., Whittaker, P., Barroso, I., Deloukas, P., Mathew, C. G., Blackwell, J. M., Brown, M. A., Corvin, A. P., McCarthy, M. I., Spencer, C. C., Bramon, E., Corvin, A. P., O'Donovan, M. C., Stefansson, K., Scolnick, E., Purcell, S., McCarroll, S. A., Sklar, P., Hultman, C. M., und Sullivan, P. F. (2013). Genome-wide association analysis identifies 13 new risk loci for schizophrenia. *Nat Genet, 45*(10), 1150-1159. doi: 10.1038/ng.2742

Rodenas-Cuadrado, P., Ho, J., und Vernes, S. C. (2014). Shining a light on CNTNAP2: complex functions to complex disorders. *Eur J Hum Genet, 22*(2), 171-178. doi: 10.1038/ejhg.2013.100

Ryu, S., Won, H. H., Oh, S., Kim, J. W., Park, T., Cho, E. Y., Cho, Y., Park, D. Y., Lee, Y. S., Kwon, J. S., und Hong, K. S. (2013). Genome-wide linkage scan of quantitative traits representing symptom dimensions in multiplex schizophrenia families. *Psychiatry Res, 210*(3), 756-760. doi: 10.1016/j.psychres.2013.08.015

Saha, S., Chant, D., und McGrath, J. (2007). A systematic review of mortality in schizophrenia: is the differential mortality gap worsening over time? *Arch Gen Psychiatry, 64*(10), 1123-1131. doi: 10.1001/archpsyc.64.10.1123

Saha, S., Chant, D., Welham, J., und McGrath, J. (2005). A systematic review of the prevalence of schizophrenia. *PLoS Med, 2*(5), e141. doi: 10.1371/journal.pmed.0020141

Saha, S., Welham, J., Chant, D., und McGrath, J. (2006). Incidence of Schizophrenia does not vary with economic status of the country. *Soc. Psychiatry Psychiatr. Epidemiol., 41*, 338-340.

Sandyk, R. (1994). Improvement in word-fluency performance in patients with multiple sclerosis by electromagnetic fields. *Int J Neurosci, 79*(1-2), 75-90.

Sanjuan, J., Tolosa, A., Gonzalez, J. C., Aguilar, E. J., Molto, M. D., Najera, C., und de Frutos, R. (2005). FOXP2 polymorphisms in patients with schizophrenia. *Schizophr Res, 73*(2-3), 253-256. doi: 10.1016/j.schres.2004.05.012

Sanjuan, J., Tolosa, A., Gonzalez, J. C., Aguilar, E. J., Perez-Tur, J., Najera, C., Molto, M. D., und de Frutos, R. (2006). Association between FOXP2 polymorphisms and schizophrenia with auditory hallucinations. *Psychiatr Genet, 16*(2), 67-72. doi: 10.1097/01.ypg.0000185029.35558.bb

Saß, H., Wittchen, H.-U., Zaudig, M., und Houben, J. (2003). Diagnostisches und Statistisches Manual Psychischer Störungen-Textrevision (DSM-IV-TR) Göttingen: Hogrefe.

Sawa, A., und Snyder, S. H. (2002). Schizophrenia: diverse approaches to a complex disease. *Science, 296*(5568), 692-695. doi: 10.1126/science.1070532

Schneider, K. (1950). Klinische Psychopathologie (3., verm. Aufl. ed.). Stuttgart: Thieme.

Schumacher, J., Laje, G., Abou Jamra, R., Becker, T., Muhleisen, T. W., Vasilescu, C., Mattheisen, M., Herms, S., Hoffmann, P., Hillmer, A. M., Georgi, A., Herold, C., Schulze, T. G., Propping, P., Rietschel, M., McMahon, F. J., Nothen, M. M., und Cichon, S. (2009). The DISC locus and schizophrenia: evidence from an association study in a central European sample and from a meta-analysis across different European populations. *Hum Mol Genet, 18*(14), 2719-2727. doi: 10.1093/hmg/ddp204

Schweizer, T. A., Alexander, M. P., Susan Gillingham, B. A., Cusimano, M., und Stuss, D. T. (2010). Lateralized cerebellar contributions to word generation: a phonemic and semantic fluency study. *Behav Neurol, 23*(1-2), 31-37. doi: 10.3233/ben-2010-0269

Seeman, M. V. (2007). An outcome measure in schizophrenia: mortality. *Can J Psychiatry, 52*(1), 55-60.

Semel, E. M., Wiig, E. H., und Secord, W. (1992). Clinical evaluation of language fundamentals- revised. San Antonio: Psychological Corporation.

Shapleske, J., Rossell, S. L., Woodruff, P. W., und David, A. S. (1999). The planum temporale: a systematic, quantitative review of its structural, functional and clinical significance. *Brain Res Brain Res Rev, 29*(1), 26-49.

Shenton, M. E., Dickey, C. C., Frumin, M., und McCarley, R. W. (2001). A review of MRI findings in schizophrenia. *Schizophr Res, 49*(1-2), 1-52.

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., Olincy, A., Amin, F., Cloninger, C. R., Silverman, J. M., Buccola, N. G., Byerley, W. F., Black, D. W., Crowe, R. R., Oksenberg, J. R., Mirel, D. B., Kendler, K. S., Freedman, R., und Gejman, P. V. (2009). Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia. *Nature, 460*(7256), 753-757. doi: 10.1038/nature08192

Shields, J., und Gottesman, I. I. (1972). Cross-national diagnosis of schizophrenia in twins. The heritability and specificity of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry, 27*(6), 725-730.

Sia, G. M., Clem, R. L., und Huganir, R. L. (2013). The human language-associated gene SRPX2 regulates synapse formation and vocalization in mice. *Science, 342*(6161), 987-991. doi: 10.1126/science.1245079

Sinanovic, O., Mrkonjic, Z., Zukic, S., Vidovic, M., und Imamovic, K. (2011). Post-stroke language disorders. *Acta Clin Croat, 50*(1), 79-94.

Sing, C. F., Zerba, K. E., und Reilly, S. L. (1994). Traversing the biological complexity in the hierarchy between genome and CAD endpoints in the population at large. *Clin Genet, 46*(1 Spec No), 6-14.

Smrt, R. D., Szulwach, K. E., Pfeiffer, R. L., Li, X., Guo, W., Pathania, M., Teng, Z. Q., Luo, Y., Peng, J., Bordey, A., Jin, P., und Zhao, X. (2010). MicroRNA miR-137 regulates neuronal maturation by targeting ubiquitin ligase mind bomb-1. *Stem Cells, 28*(6), 1060-1070. doi: 10.1002/stem.431

Spaniel, F., Horacek, J., Tintera, J., Ibrahim, I., Novak, T., Cermak, J., Klirova, M., und Hoschl, C. (2011). Genetic variation in FOXP2 alters grey matter concentrations in schizophrenia patients. *Neurosci Lett, 493*(3), 131-135. doi: 10.1016/j.neulet.2011.02.024

Spiteri, E., Konopka, G., Coppola, G., Bomar, J., Oldham, M., Ou, J., Vernes, S. C., Fisher, S. E., Ren, B., und Geschwind, D. H. (2007). Identification of the transcriptional targets of FOXP2, a gene linked to speech and language, in developing human brain. *Am J Hum Genet, 81*(6), 1144-1157. doi: 10.1086/522237

Stahl, S. M., und Buckley, P. F. (2007). Negative symptoms of schizophrenia: a problem that will not go away. *Acta Psychiatr Scand, 115*(1), 4-11. doi: 10.1111/j.1600-0447.2006.00947.x

Steen, R. G., Mull, C., McClure, R., Hamer, R. M., und 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. doi: 10.1192/bjp.188.6.510

Stefansson, H., Ophoff, R. A., Steinberg, S., Andreassen, O. A., Cichon, S., Rujescu, D., Werge, T., Pietilainen, O. P., Mors, O., Mortensen, P. B., Sigurdsson, E., Gustafsson, O., Nyegaard, M., Tuulio-Henriksson, A., Ingason, A., Hansen, T., Suvisaari, J., Lonnqvist, J., Paunio, T., Borglum, A. D., Hartmann, A., Fink-Jensen, A., Nordentoft, M., Hougaard, D., Norgaard-Pedersen, B., Bottcher, Y., Olesen, J., Breuer, R., Moller, H. J., Giegling, I., Rasmussen, H. B., Timm, S., Mattheisen, M., Bitter, I., Rethelyi, J. M., Magnusdottir, B. B., Sigmundsson, T., Olason, P., Masson, G., Gulcher, J. R., Haraldsson, M., Fossdal, R., Thorgeirsson, T. E., Thorsteinsdottir, U., Ruggeri, M., Tosato, S., Franke, B., Strengman, E., Kiemeney, L. A., Melle, I., Djurovic, S., Abramova, L., Kaleda, V., Sanjuan, J., de Frutos, R., Bramon, E., Vassos, E., Fraser, G., Ettinger, U., Picchioni, M., Walker, N., Toulopoulou, T., Need, A. C., Ge, D., Yoon, J. L., Shianna, K. V., Freimer, N. B., Cantor, R. M., Murray, R., Kong, A., Golimbet, V., Carracedo, A., Arango, C., Costas, J., Jonsson, E. G., Terenius, L., Agartz, I., Petursson, H., Nothen, M. M., Rietschel, M., Matthews, P. M., Muglia, P., Peltonen, L., St Clair, D., Goldstein, D. B., Stefansson, K., und Collier, D. A. (2009). Common variants conferring risk of schizophrenia. *Nature, 460*(7256), 744-747. doi: 10.1038/nature08186

Strauss, K. A., Puffenberger, E. G., Huentelman, M. J., Gottlieb, S., Dobrin, S. E., Parod, J. M., Stephan, D. A., und Morton, D. H. (2006). Recessive

symptomatic focal epilepsy and mutant contactin-associated protein-like 2. *N Engl J Med, 354*(13), 1370-1377. doi: 10.1056/NEJMoa052773

Sturtevant, A. H. (1965). A History of Genetics. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Sullivan, P. F., Kendler, K. S., und Neale, M. C. (2003). Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. *Arch Gen Psychiatry, 60*(12), 1187-1192. doi: 10.1001/archpsyc.60.12.1187

Susser, E., Buka, S., Schaefer, C. A., Andrews, H., Cirillo, P. M., Factor-Litvak, P., Gillman, M., Goldstein, J. M., Henry, P. I., Lumey, L. H., McKeague, I. W., Michels, K. B., Terry, M. B., und Cohn, B. A. (2011). The Early Determinants of Adult Health Study. *J Dev Orig Health Dis, 2*(6), 311-321. doi: 10.1017/s2040174411000663

SZgene. (2014). http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_055306.1. Retrieved 11.1.2014, 2014

Szulwach, K. E., Li, X., Smrt, R. D., Li, Y., Luo, Y., Lin, L., Santistevan, N. J., Li, W., Zhao, X., und Jin, P. (2010). Cross talk between microRNA and epigenetic regulation in adult neurogenesis. *J Cell Biol, 189*(1), 127-141. doi: 10.1083/jcb.200908151

Takeshi, K., Nemoto, T., Fumoto, M., Arita, H., und Mizuno, M. (2010). Reduced prefrontal cortex activation during divergent thinking in schizophrenia: a multi-channel NIRS study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 34*(7), 1327-1332. doi: 10.1016/j.pnpbp.2010.07.021

Tandon, R., Keshavan, M. S., und Nasrallah, H. A. (2008). Schizophrenia, "just the facts" what we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology. *Schizophr Res, 102*(1-3), 1-18. doi: 10.1016/j.schres.2008.04.011

Tandon, R., Nasrallah, H. A., und Keshavan, M. S. (2009). Schizophrenia, "just the facts" 4. Clinical features and conceptualization. *Schizophr Res, 110*(1-3), 1-23. doi: 10.1016/j.schres.2009.03.005

Tessner, K. D., Mittal, V., und Walker, E. F. (2011). Longitudinal study of stressful life events and daily stressors among adolescents at high risk for psychotic disorders. *Schizophr Bull, 37*(2), 432-441. doi: 10.1093/schbul/sbp087

Tolosa, A., Sanjuan, J., Dagnall, A. M., Molto, M. D., Herrero, N., und de Frutos, R. (2010). FOXP2 gene and language impairment in schizophrenia: association and epigenetic studies. *BMC Med Genet, 11*, 114. doi: 10.1186/1471-2350-11-114

Torchalla, I., Albrecht, F., Buchkremer, G., und Langle, G. (2004). [Homeless women with psychiatric disorders -- a field study]. *Psychiatr Prax, 31*(5), 228-235. doi: 10.1055/s-2003-814819

Trandafir, A., Meary, A., Schurhoff, F., Leboyer, M., und Szoke, A. (2006). Memory tests in first-degree adult relatives of schizophrenic patients: a meta-analysis. *Schizophr Res, 81*(2-3), 217-226. doi: 10.1016/j.schres.2005.09.005

Valentino, P., Cerasa, A., Chiriaco, C., Nistico, R., Pirritano, D., Gioia, M., Lanza, P., Canino, M., Del Giudice, F., Gallo, O., Condino, F., Torchia, G., und Quattrone, A. (2009). Cognitive deficits in multiple sclerosis patients with cerebellar symptoms. *Mult Scler, 15*(7), 854-859. doi: 10.1177/1352458509104589

Vargha-Khadem, F., Gadian, D. G., Copp, A., und Mishkin, M. (2005). FOXP2 and the neuroanatomy of speech and language. *Nat Rev Neurosci, 6*(2), 131-138. doi: 10.1038/nrn1605

Vargha-Khadem, F., Watkins, K., Alcock, K., Fletcher, P., und Passingham, R. (1995). Praxic and nonverbal cognitive deficits in a large family with a

genetically transmitted speech and language disorder. *Proc Natl Acad Sci U S A, 92*(3), 930-933.

Vernes, S. C., Newbury, D. F., Abrahams, B. S., Winchester, L., Nicod, J., Groszer, M., Alarcon, M., Oliver, P. L., Davies, K. E., Geschwind, D. H., Monaco, A. P., und Fisher, S. E. (2008). A functional genetic link between distinct developmental language disorders. *N Engl J Med, 359*(22), 2337-2345. doi: 10.1056/NEJMoa0802828

Vernes, S. C., Oliver, P. L., Spiteri, E., Lockstone, H. E., Puliyadi, R., Taylor, J. M., Ho, J., Mombereau, C., Brewer, A., Lowy, E., Nicod, J., Groszer, M., Baban, D., Sahgal, N., Cazier, J. B., Ragoussis, J., Davies, K. E., Geschwind, D. H., und Fisher, S. E. (2011). Foxp2 regulates gene networks implicated in neurite outgrowth in the developing brain. *PLoS Genet, 7*(7), e1002145. doi: 10.1371/journal.pgen.1002145

Vernes, S. C., Spiteri, E., Nicod, J., Groszer, M., Taylor, J. M., Davies, K. E., Geschwind, D. H., und Fisher, S. E. (2007). High-throughput analysis of promoter occupancy reveals direct neural targets of FOXP2, a gene mutated in speech and language disorders. *Am J Hum Genet, 81*(6), 1232-1250. doi: 10.1086/522238

Walker, R. M., Hill, A. E., Newman, A. C., Hamilton, G., Torrance, H. S., Anderson, S. M., Ogawa, F., Derizioti, P., Nicod, J., Vernes, S. C., Fisher, S. E., Thomson, P. A., Porteous, D. J., und Evans, K. L. (2012). The DISC1 promoter: characterization and regulation by FOXP2. *Hum Mol Genet, 21*(13), 2862-2872. doi: 10.1093/hmg/dds111

Wang, B., Weidenfeld, J., Lu, M. M., Maika, S., Kuziel, W. A., Morrisey, E. E., und Tucker, P. W. (2004). Foxp1 regulates cardiac outflow tract, endocardial cushion morphogenesis and myocyte proliferation and maturation. *Development, 131*(18), 4477-4487. doi: 10.1242/dev.01287

Watkins, K. E., Vargha-Khadem, F., Ashburner, J., Passingham, R. E., Connelly, A., Friston, K. J., Frackowiak, R. S., Mishkin, M., und Gadian, D. G. (2002). MRI analysis of an inherited speech and language disorder: structural brain abnormalities. *Brain, 125*(Pt 3), 465-478.

Whalley, H. C., Harris, J. C., und Lawrie, S. M. (2007). The neurobiological underpinnings of risk and conversion in relatives of patients with schizophrenia. *Int Rev Psychiatry, 19*(4), 383-397. doi: 10.1080/09540260701496869

White, J. A., McKinney, B. C., John, M. C., Powers, P. A., Kamp, T. J., und Murphy, G. G. (2008). Conditional forebrain deletion of the L-type calcium channel Ca V 1.2 disrupts remote spatial memories in mice. *Learn Mem, 15*(1), 1-5. doi: 10.1101/lm.773208

WHO. (2015). Schizophrenia, Fact sheet N°397. Retrieved 14.12.2015, 2015

Williams, N. M., O'Donovan, M. C., und Owen, M. J. (2006). Chromosome 22 deletion syndrome and schizophrenia. *Int Rev Neurobiol, 73*, 1-27. doi: 10.1016/s0074-7742(06)73001-x

Wittchen, H.-U., und Fydrich, T. (1997). Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV (SKID-I und SKID-II): Hogrefe.

Woodruff, P. W., Phillips, M. L., Rushe, T., Wright, I. C., Murray, R. M., und David, A. S. (1997). Corpus callosum size and inter-hemispheric function in schizophrenia. *Schizophr Res, 23*(3), 189-196.

Wyatt, R. J., Alexander, R. C., Egan, M. F., und Kirch, D. G. (1988). Schizophrenia, just the facts. What do we know, how well do we know it? *Schizophr Res, 1*(1), 3-18.

Yamashita, C., Mizuno, M., Nemoto, T., und Kashima, H. (2005). Social cognitive problem-solving in schizophrenia: associations with fluency and verbal memory. *Psychiatry Res, 134*(2), 123-129. doi: 10.1016/j.psychres.2004.06.018

Zakzanis, K. K., McDonald, K., und Troyer, A. K. (2013). Component analysis of verbal fluency scores in severe traumatic brain injury. *Brain Inj, 27*(7-8), 903-908. doi: 10.3109/02699052.2013.775505

Zobel, A., und Maier, W. (2004). Endophänotypen—ein neues Konzept zur biologischen Charakterisierung psychischer Störungen. *Der Nervenarzt, 75*(3), 205-214.

8. Danksagung

Zu allererst möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Dan Rujescu, Direktor der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychotherapie und Psychosomatik der Martin Luther Universität Halle-Wittenberg, dafür bedanken, dass ich die vorliegende Arbeit in der von ihm bis 2013 geleiteten Abteilung für Molekulare und Klinische Neurobiologie der Ludwig-Maximilians-Universität München durchführen durfte.

Zudem danke ich Herrn Prof. Dr. med. Peter Falkai, dass ich den praktischen Teil dieser Arbeit in der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität absolvieren konnte.

Frau PD Dr. rer. biol. hum. Ina Giegling möchte ich besonders bei der Hilfe im Bereich statistischen Auswertung und der Organisation danken.
Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. rer. biol. hum. Annette Hartmann für die Unterstützung während des praktischen Abschnittes, ihren Hilfestellungen während der Ausarbeitungsphase und ihren Kommentaren.

Ein herzlicher Dank geht auch an die Doktoranden-Kolleginnen sowie die Mitarbeiter der Abteilung molekulare und klinische Neurobiologie, mit denen ich den praktischen Teil dieser Arbeit teilte.

Außerdem danke ich den Patientinnen und Patienten sowie den Probandinnen und Probanden, die an dieser Studie teilgenommen haben, ohne deren Einverständnis und Mitarbeit die vorliegende Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Zu guter Letzt bedanke ich mich von ganzem Herzen bei meiner Familie und meinen Freundinnen und Freunden, ihr habt mich zu jeder Zeit motiviert und unterstützt, immer ein offenes Ohr gehabt und mich in schwierigen Phasen wieder aufgebaut.

10. Eidesstattliche Erklärung

Ann-Katrin Beate Schultz, geboren am 16. Januar 1990 in Hamburg

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

„Der Einfluss von Polymorphismen des FOXP2-Gens auf die Schizophrenie und die Wortflüssigkeit“

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

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

Berlin, 25.07.2018	Ann-Katrin Schultz
Ort, Datum	Unterschrift Doktorandin