

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

Direktor: Prof. Dr. med. Peter Falkai

**Einfluss von Polymorphismen im PDE4B-Gen auf das Gedächtnis, einen
Endophänotypen der Schizophrenie**

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

vorgelegt von
Zi Lin

aus Sichuan

2019

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Dan Rujescu

Mitberichterstatterin: PD Dr. Rebecca Schennach

Mitbetreuung durch die promovierte Mitarbeiterin: Dr. Ina Giegling

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

Tag der mündlichen Prüfung: 28.02.2019

Inhaltsverzeichnis

1 Zusammenfassung	1
2 Einleitung	3
2.1 Schizophrenie	3
2.1.1 Krankheitsverlauf und Prognose der Schizophrenie	4
2.1.2 Diagnostik der Schizophrenie	5
2.1.3 Therapie der Schizophrenie.....	7
2.1.4 Ätiopathophysiologie der Schizophrenie	8
2.1.4.1 Umweltfaktoren	8
2.1.4.2 Genetik.....	9
2.1.5 Neurobiologie der Schizophrenie	11
2.2 Endophänotypen	13
2.2.1 Das Konzept vom Endophänotyp	13
2.2.2 Endophänotypen der Schizophrenie	14
2.3 Das Gedächtnis.....	15
2.3.1 Klassifikationssysteme für das Gedächtnis	15
2.3.1.1 Die Entstehung des Mehrspeichermodells.....	15
2.3.1.2 Zeitliche Klassifikation des Gedächtnisses	17
2.3.1.3 Inhaltliche Klassifikation des Gedächtnisses.....	17
2.3.2 Funktionelle Aspekte des Gedächtnisses	18
2.3.3 Neuroanatomie des Gedächtnisses	18
2.3.3.1 Anatomie des Gedächtnisses auf Grundlage der zeitlichen Klassifikation von Gedächtnissystemen	18
2.3.3.2 Anatomie nach funktionellen Gesichtspunkten	19
2.3.4 Neurophysiologische Korrelate des Gedächtnisses	20
2.3.5 Das Gedächtnis als Endophänotyp der Schizophrenie	21
2.4 Phosphodiesterasen.....	26
2.4.1. Die Struktur von Phosphodiesterasen.....	27
2.4.2 Die Rolle von Phosphodiesterasen bei der zellulären Signaltransduktion	28
2.4.3 Das Gen PDE4B und sein Genprodukt.....	30
2.4.3.1 Struktur des PDE4B-Gens.....	30
2.4.3.2 Struktur und Eigenschaften der PDE4B.....	30
2.4.3.3 Vorkommen und Funktionen der PDE4B	32
2.4.3.4 Die Regulation der PDE4B	34
2.4.3.5 Die PDE4B und das Gedächtnis.....	35
2.4.3.6 Die PDE4B und Schizophrenie	39

2.4.3.6.1 Das PDE4B-Gen als Suszeptibilitätsfaktor für Schizophrenie ..	39
2.4.3.6.2 Verhaltensstudien an Knockout-Mäusen und pharmakologische Studien	40
2.4.3.6.3 Assoziationsstudien	41
3 Fragestellung.....	44
4 Material und Methoden	45
4.1 Studiendesign	45
4.2 Rekrutierung der Studienteilnehmer	45
4.2.1 Patienten mit Schizophrenie	45
4.2.2 Kontrollprobanden	47
4.3 Die Wechsler Memory Scale Revidierte Fassung	50
4.3.1 Aufbau und Durchführung der WMS-R	51
4.3.2 Auswertung der WMS-R	54
4.3.3 Einfluss von demographischen Variablen auf das Testergebnis	55
4.3.4 Gütekriterien der WMS-R	55
4.4 Molekularbiologische Analysen	56
4.4.1 DNA-Extraktion.....	56
4.4.2 Messung der DNA-Konzentration	58
4.4.3 SNP-Genotypisierung.....	59
4.4.3.1 Konventionelle Polymerase-Kettenreaktion	60
4.4.3.2 iPLEX-Reaktion	62
4.4.3.3 Messung im Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time-Of-Flight Mass spectrometry (MALDI TOF MS).....	63
4.5 Statistische Auswertung	64
5 Ergebnisse.....	66
5.1 Ergebnisse der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie	66
5.2 Ergebnisse der Kognitionsstudie	66
5.2.1 Assoziationen der Polymorphismen mit der WMS-R.....	68
5.2.1.1 Assoziationen der Polymorphismen mit dem Index Verbales, Visuelles und Allgemeines Gedächtnis sowie den zugehörigen Subtests	68
5.2.1.2 Assoziationen der Polymorphismen mit dem Index Aufmerksamkeit und Konzentration und den zugehörigen Subtests	72
5.2.1.3 Assoziationen der Polymorphismen mit dem Index Verzögertes Gedächtnis und den zugehörigen Subtests	74
5.2.2 Zusammenfassung der Ergebnisse	77
6 Diskussion	79
6.1 Diskussion der Methoden	79
6.1.1 Das Gedächtnis als Endophänotyp.....	79

6.1.2 Studiendesign.....	80
6.2 Diskussion der Ergebnisse	86
6.2.1 Fall-Kontroll-Assoziationsstudie.....	86
6.2.2 Kognitionsstudie	90
6.3 Ausblick.....	96
7 Abkürzungsverzeichnis	99
8 Literaturverzeichnis	101

1 Zusammenfassung

1 Zusammenfassung

Die Schizophrenie ist eine schwere psychiatrische Erkrankung, bei der profunde Störungen von Wahrnehmung und Denken sowie inadäquate Affekte charakteristisch sind. Eine multifaktorielle Ätiologie wird angenommen. Gesichert scheint dabei die große Bedeutung genetischer Risikofaktoren zu sein. Studien weisen auf Assoziationen einiger Gene und chromosomaler Regionen mit dieser Erkrankung hin. Jedoch zeigen diese Untersuchungen teilweise inkonsistente Resultate. Zudem sind die von der genetischen Ebene ausgehenden molekularbiologischen Mechanismen, die zur Erkrankung führen, unbekannt.

Das Konzept vom Endophänotyp soll die Klärung dieser Frage erleichtern. Der Endophänotyp ist ein neurobiologisches Korrelat einer Erkrankung, von dem eine homogenere Ätiologie und somit eine einfachere genetische Struktur erwartet wird. Er ist außerdem Teil eines krankheitsinduzierenden pathophysiologischen Prozesses. Eine mögliche Methodik besteht darin, bereits vermutete Suszeptibilitätsgene einer bestimmten Erkrankung auf Assoziationen mit einem definierten Endophänotyp zu untersuchen und somit auch Zusammenhänge mit der betroffenen Erkrankung zu überprüfen. Das Gedächtnis scheint ein geeigneter Endophänotyp für Schizophrenie zu sein.

Das Gen für die Phosphodiesterase 4B (PDE4B) befindet sich in der chromosomalen Region 1p31 und kodiert für ein Protein, welches zelluläre Signalkaskaden über den Abbau des zyklischen Adenosinmonophosphates (cAMP), eines *second messengers*, reguliert. Das PDE4B-Gen gilt als Suszeptibilitätsfaktor für Schizophrenie. Signifikante Zusammenhänge zwischen Polymorphismen dieses Gens und Schizophrenie wurden in mehreren Assoziationsstudien beobachtet, die jedoch teilweise inkonsistente Ergebnisse aufweisen. Vermutet wird zudem eine Rolle der PDE4B bei Gedächtnisvorgängen.

In einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie mit 510 an Schizophrenie erkrankten Patienten und 1321 gesunden Kontrollprobanden wurden Assoziationen zwischen zwölf Einzelnukleotid-Polymorphismen (engl. *single nucleotide polymorphisms* [SNP]) des PDE4B-Gens und Schizophrenie analysiert. In einer weiterführenden Kognitionsstudie wurde bei einer Subgruppe aus 178 schizophrenen Patienten und 346 gesunden Kontrollen der Einfluss dieser Genmarker auf Gedächtnisleistungen untersucht, die mittels der Wechsler Memory Scale-Revised Edition (WMS-R) erfasst wurden. Alle Probanden wurden durch das iPLEX-Verfahren genotypisiert.

In der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie ergab sich für keinen der untersuchten SNPs eine

1 Zusammenfassung

signifikante Assoziation mit Schizophrenie. Es traten lediglich für drei Polymorphismen Trends auf (rs4329483, rs1740417 und rs1500958).

Signifikante Assoziationen zwischen Polymorphismen von PDE4B und verschiedenen Subtests und Indizes der WMS-R ließen sich jedoch feststellen. Der Marker rs6588193 war mit dem Logischen Gedächtnis I und II assoziiert. Beim Figuralen Gedächtnis zeigte der Polymorphismus rs1500958 eine Assoziation. Der gleiche SNP war auch mit der Zahlenspanne assoziiert. Die Marker rs4288570 und rs536025 wiesen Assoziationen zum Subtest Mentale Kontrolle auf. Der Polymorphismus rs1500958 war mit der Visuellen Wiedergabe II assoziiert. Für das Verbale Gedächtnis fand sich eine Assoziation mit dem Marker rs6588193. Das Visuelle Gedächtnis war mit dem SNP rs4288570 assoziiert. Beim Verzögerten Gedächtnis konnte eine Assoziation mit dem SNP rs1500958 detektiert werden. Das Allgemeine Gedächtnis war mit dem Polymorphismus rs6588193 assoziiert. Für einige Marker von PDE4B lagen außerdem Trends vor.

Die Resultate der vorliegenden Studie weisen auf eine Assoziation zwischen Polymorphismen des PDE4B-Gens und Gedächtnis hin, einem Endophänotyp der Schizophrenie. Weitere Studien zur Überprüfung dieser Vermutung stehen bisher aus. Durch diese kann jedoch eine genauere Vorstellung über die ätiologische Beteiligung dieses Gens und seiner Polymorphismen an Gedächtnisstörungen gewonnen werden. Die Ermittlung der pathophysiologischen Vorgänge bei Schizophrenie-abhängigen Gedächtnisstörungen kann auf Grundlage dieser Kenntnisse vereinfacht werden und bietet möglicherweise neue pharmakologische Angriffspunkte für die Therapie mnestischer Defizite bei schizophrenen Patienten.

2 Einleitung

2 Einleitung

2.1 Schizophrenie

Die Schizophrenie ist eine komplexe psychiatrische Erkrankung mit einer hohen klinischen, ätiologischen und pathophysiologischen Heterogenität (Silveira et al. 2012). Im Laufe der Geschichte war die Definition dieser Erkrankung fortwährenden Veränderungen unterlegen. Mit Bezug auf den beobachteten mentalen Verfall schizophrener Patienten prägte Kraepelin den Begriff „Dementia praecox“ (Kraepelin 1899). Bleuler beschrieb 1911 neben dem Begriff „Schizophrenie“ auch vier Grundsymptome dieser Erkrankung (Bleuler 2014). Dazu gehörten Assoziationsstörungen, Affektivitätsstörungen, die Ambivalenz der Gefühle und der Autismus. Darüber hinaus fasste er Halluzinationen, Wahn, katatonische Beschwerden sowie Störungen von Schrift und Sprache als akzessorische Symptome zusammen. Schneider (1959) erstellte eine Auflistung von elf pathognomischen Symptomen ersten Ranges und sieben Symptomen zweiten Ranges. Heute sind die Kriterien der Schizophrenie in der aktuellen International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems (ICD-10) (World Health Organization 1992) bzw. im Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (Fifth Edition) (DSM-V) (American Psychiatric Association 2013) festgehalten.

Bei der Schizophrenie können mehrere Symptomdimensionen unterschieden werden. Zu den **positiven Symptomen** zählen insbesondere der Wahn sowie Halluzinationen. 90% der Patienten leiden im Leben mindestens einmal unter Wahnsymptomen. Am häufigsten sind der Verfolgungs- und Beziehungswahn, jedoch sind auch andere Wahninhalte möglich. Halluzinationen können von allen fünf Sinnesmodalitäten ausgehen, wobei akustische Halluzinationen am häufigsten vorkommen (Cutting 2007). In die Gruppe der positiven Symptome werden auch Ich-Störungen wie Gedankeneingebung, -entzug und -ausbreitung sowie Fremdbeeinflussungserlebnisse gerechnet (Leube & Pauly 2008). Positive Symptome markieren den formalen *Onset* der Erkrankung. Dieser befindet sich meist in der Jugend oder im jungen Erwachsenenalter (Häfner et al. 1998).

Im Rahmen einer **negativen Symptomatik** können Affektverarmung, Alogie, Antriebslosigkeit, Anhedonie, Apathie und ein verminderter sozialer Antrieb auftreten. Die negative Symptomatik ist durch medikamentöse Therapeutika nur schwer beeinflussbar (Millan et al. 2014).

Affektive Symptome betreffen an Schizophrenie leidende Patienten häufig. Neben einer Affektverflachung kann es in Verbindung mit positiven Symptomen zu einer gesteigerten emotionalen Erregung und Reaktivität kommen (Aleman & Kahn 2005). Eine Depression tritt

2 Einleitung

bei fast allen Erkrankten im Krankheitsverlauf auf (Buckley et al. 2009).

Formale Denkstörungen zeichnen sich durch abnormale Denkabläufe aus. Häufig besteht ein umständliches Denken. Typisch ist auch eine Zerfahrenheit mit sprunghaftem Denken und einer Auflösung logischer Verknüpfungen mit Auftreten von Vorbeireden und Neologismen bis hin zum Wortsalat (Andreasen 1979; Goldberg et al. 1998).

Kognitive Beeinträchtigungen finden sich bei fast allen Patienten mit variabler Ausprägung. Sie sind bereits in frühen Krankheitsphasen vorzufinden, bleiben jedoch im Verlauf der Erkrankung relativ stabil (Bilder et al. 2006). Kognitive Störungen sprechen wenig auf die heute vorhandene antipsychotische Therapie an und bedingen ein schlechtes funktionelles Outcome der Patienten (Goldberg et al. 2007). Betroffene kognitive Funktionen sind vor allem das episodische Gedächtnis (Ranganath et al. 2008), das Arbeitsgedächtnis (Lee & Park 2005), die Sprachkompetenz (Fioravanti et al. 2012), die Geschwindigkeit der Informationsverarbeitung, die Aufmerksamkeit sowie exekutive Funktionen (Goldberg et al. 2007).

Der **Antrieb** bei schizophrenen Patienten kann sowohl gesteigert als auch verlangsamt sein. Eine gesteigerte Psychomotorik mit innerer Unruhe kommt oft in Zusammenhang mit positiven Symptomen vor (Morrens et al. 2006). In Verbindung mit negativer Symptomatik kann auch eine Aktivitätsverlangsamung auftreten (Morrens et al. 2007). Weitere abnorme **psychomotorische Befunde** sind z.B. Manierismen, Stereotypien, Parakinesien oder katatonische Zustände. Die Katatonie ist durch Stupor, Echolalie, Echopraxie, Befehlsautomatismen, Negativismus oder eine wächserne Biegsamkeit gekennzeichnet (Ungvari et al. 2007).

Bestimmte neurologische Defizite finden sich bei an Schizophrenie Erkrankten häufiger als in der Normalbevölkerung. Dazu gehören sowohl Störungen von motorischen, sensiblen oder reflektorischen Funktionen, die mit bestimmten Hirnarealen assoziiert sind (Heinrichs & Buchanan 1988) als auch sogenannte *neurological soft signs*. Diese sind z.B. diffuse Auffälligkeiten der sensorischen Integration oder der Bewegungskoordination (Bachmann et al. 2014).

2.1.1 Krankheitsverlauf und Prognose der Schizophrenie

Der Verlauf der Schizophrenie kann in mehrere Phasen eingeteilt werden. Es besteht ein fließender Übergang zwischen den einzelnen Phasen. Der Krankheitsverlauf ist individuell sehr variabel (Tandon et al. 2009). Die **Prämorbid Phase** ist durch unspezifische geringgradig ausgeprägte Merkmale der Erkrankung gekennzeichnet. Dazu gehören u.a.

2 Einleitung

eine verspätete motorische Entwicklung, Spracheinbußen, Aufmerksamkeitsstörungen, abnehmende schulische Leistungen, die soziale Isolation sowie die emotionale Distanzierung (Schenkel & Silverstein 2004).

Im mehrjährigen **Prodromalstadium** treten unterschwellige psychotische Phänomene auf. Daneben können bereits kognitive, negative und affektive Symptome sowie eine reduzierte Leistungsfähigkeit vorhanden sein (Cornblatt et al. 1999).

Verschiedene Meilensteine im Krankheitsverlauf (z.B. erste Anzeichen einer mentalen Störung, das erstmalige Auftreten negativer Symptome oder das erstmalige Vorkommen positiver Symptome) können den **Onset** der Erkrankung markieren. Der Gipfel liegt zwischen 15 und 24 Jahren. Der Beginn ist bei Frauen einige Jahre später als bei Männern. Bei weiblichen Personen kommt ein zweiter Altersgipfel um die Menopause hinzu. Der *Onset* negativer Symptomatik tritt Jahre vor dem *Onset* positiver Symptome auf (Häfner et al. 1998).

Der weitere Verlauf ist klassischerweise durch rezidivierende Exazerbationen mit Remissionen variabler Ausprägung gekennzeichnet. Eine vollständige Ausheilung kann dabei vorkommen. Ebenso kann eine chronische Erkrankungsform mit einer Symptomatik bestehen, die von milden Beschwerden bis hin zu bleibenden schwerwiegenden Defiziten reichen kann (Albus 2012). Positive Symptome nehmen im Verlauf tendenziell ab, wohingegen negative Symptome in den Vordergrund geraten. Kognitive Defizite haben sich als langfristig stabil erwiesen (Bilder et al. 2006).

Eine günstige Prognose wird durch ein akutes Auftreten der Erkrankung, einen prämorbidem Zustand mit wenigen Defiziten, gute kognitive Funktionen, das weibliche Geschlecht sowie ein hohes *Onset*-Alter gefördert (Riecher-Rössler & Rössler 1998). Schizophrenie geht mit einer Lebenszeitverkürzung um etwa 15 bis 20 Jahre und einer erhöhten Mortalität einher, die sich größtenteils in der höheren Rate an Suiziden und Unfällen begründet (Auquier et al. 2007; Brown et al. 2000). Ursachen für die stark beeinträchtigte Lebensqualität bei Patienten sind die insbesondere durch negative, depressive und kognitive Symptome bedingten funktionellen Einbußen (Narvaez et al. 2008).

2.1.2 Diagnostik der Schizophrenie

Gemäß den S3-Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Psychiatrie, Psychotherapie und Nervenheilkunde für die Schizophrenie (Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie Psychotherapie und Nervenheilkunde 2006) hat sich die Diagnose der Erkrankung nach den

2 Einleitung

operationalisierten Kriterien der ICD-10 bzw. des DSM-V zu richten. Wie in Tabelle 2-1 zu entnehmen ist, orientieren sich diese Kriterien hauptsächlich an klinischen Befunden. Da als wichtige Differentialdiagnosen schizotype Störungen, induzierte wahnhaftige Störungen, anhaltende wahnhaftige Störungen, vorübergehende akute psychotische Störungen, schizoaffektive Störungen oder organisch bedingte bzw. substanzinduzierte psychische Störungen in Frage kommen, sollten diese durch ergänzende neuropsychologische (körperliche, neurologische und testpsychologische Untersuchungen), laboratorische (Blutbild mit Differentialblutbild, CRP, Leberenzyme, Retentionsparameter, TSH, Drogen-Screening, ggf. HIV-, Luesserologie, Liquoruntersuchung) und apparative Diagnostik (CT oder MRT, EEG, EKG, Röntgen-Thorax-Aufnahme) von einer Schizophrenie abgegrenzt werden.

Tab. 2-1: Diagnostische Kriterien der Schizophrenie nach ICD-10 (World Health Organization 1992) und DSM-V (American Psychiatric Association 2013; Paulzen & Schneider 2014).

Diagnostische Leitlinien (ICD-10): F20 Schizophrenie	DSM-V
<p>Mindestens ein eindeutiges Symptom aus der folgenden Gruppe 1–4 (zwei oder mehr, wenn weniger eindeutig) über einen Zeitraum von mehr als einem Monat:</p> <ol style="list-style-type: none">1. Gedankenlautwerden; Gedankeneingebung; Gedankenentzug; Gedankenausbreitung2. Kontroll-, Beeinflussungswahn; Gefühl des Gemachten deutlich bezogen auf Körper- oder Gliederbewegungen oder bestimmte Gedanken, Tätigkeiten oder Empfindungen; Wahnwahrnehmung3. Kommentierende oder dialogische Stimmen, die über Personen reden, oder andere Stimmen, die aus bestimmten Körperteilen kommen4. Anhaltender kulturell unangemessener, bizarrer Wahn	<p>A Charakteristische Symptome:</p> <p>Zwei (oder mehr) der folgenden, jedes bestehend für einen erheblichen Teil einer Zeitspanne von einem Monat (oder weniger, falls erfolgreich behandelt), wobei mindestens eines aus 1-3 entstammen muss:</p> <ol style="list-style-type: none">1. Wahn2. Halluzinationen3. Desorganisierte Sprache4. Massiv desorganisiertes Verhalten oder katatone Symptome5. Negative Symptome, d. h. verminderte emotionale Ausdruckfähigkeit oder Antriebsarmut
<p>Mindestens zwei eindeutige Symptome aus der folgenden Gruppe 5–8 (mehr, wenn weniger eindeutig) über einen Zeitraum von mehr als einem Monat:</p> <ol style="list-style-type: none">5. Anhaltende Halluzinationen jeder Sinnesmodalität täglich oder während mindestens eines Monats, begleitet von flüchtigen oder undeutlich ausgebildeten Wahngedanken ohne deutliche affektive Beteiligung oder begleitet von langanhaltenden überwertigen Ideen6. Neologismen, Gedankenabreißen oder Einschreibungen in den Gedankenfluss, was zu Zerfahrenheit und Danebenreden führt7. Katatone Symptome wie Erregung, Haltungstereotypien oder wächserne Biegsamkeit, Negativismus, Mutismus, Stupor8. Negativsymptome wie auffällige Apathie, Sprachverarmung, verflachte oder inadäquate Affekte	

Diagnostische Leitlinien (ICD-10): F20 Schizophrenie	DSM-V
Die Symptome sollten mindestens vier Wochen die meiste Zeit bestehen.	<p>B Soziale/berufliche Leistungseinbußen: Für eine bedeutende Zeitspanne seit dem Beginn der Störung sind ein oder mehrere Funktionsbereiche wie Arbeit, zwischenmenschliche Beziehungen oder Selbstfürsorge deutlich unter dem Niveau, das vor dem Beginn erreicht wurde (oder falls der Beginn in der Kindheit oder Adoleszenz liegt, wird das zu erwartende Niveau der zwischenmenschlichen, geistigen oder beruflichen Leistungen nicht erreicht).</p>
Die Symptome können durch keine organische Störung erklärt werden.	<p>C Dauer: Zeichen des Störungsbildes halten für mindestens sechs Monate an. Diese sechsmonatige Periode muss mindestens einen Monat mit Symptomen (oder weniger, falls erfolgreich behandelt) umfassen, die das Kriterium A (d.h. floride Symptome) erfüllen und kann Perioden mit prodromalen oder residualen Symptomen einschließen. Während dieser prodromalen oder residualen Perioden können sich die Zeichen des Störungsbildes auch durch ausschließlich negative Symptome oder zwei oder mehrere Symptome manifestieren, die im Kriterium A aufgelistet und in einer abgeschwächten Form vorhanden sind (z.B. seltsame Überzeugungen, ungewöhnliche Wahrnehmungserlebnisse).</p>
	<p>D Ausschluss von schizoaffektiver und affektiver Störung: Eine schizoaffektive Störung sowie eine depressive Störung oder eine bipolare Störung mit psychotischen Merkmalen wurden ausgeschlossen, da entweder (1) keine Episode einer Major-Depression, keine manische oder gemischte Episode gemeinsam mit den floriden Symptomen vorgekommen ist; oder (2) falls affektive Episoden während der floriden Symptome aufgetreten sind, war ihre Gesamtdauer im Vergleich zur Dauer der floriden und residualen Perioden kurz.</p>
	<p>E Ausschluss von Substanzeinfluss/medizinischem Krankheitsfaktor: Das Störungsbild geht nicht auf die direkte körperliche Wirkung einer Substanz (z.B. Droge, Medikament) oder eines medizinischen Krankheitsfaktors zurück.</p>
	<p>F Verhältnis zu allgemeiner Entwicklungsverzögerung oder Autismus-Spektrum-Störung: Bei einer Vorgeschichte mit autistischer oder einer anderen tiefgreifenden Entwicklungsstörung oder einer Kommunikationsstörung mit einem Onset in der Kindheit wird Schizophrenie nur diagnostiziert, wenn mindestens einen Monat gleichzeitig Wahn oder Halluzinationen vorliegen.</p>

2.1.3 Therapie der Schizophrenie

Das Therapieziel ist die Minderung der Frequenz und Schwere psychotischer Episoden und eine Verbesserung der Lebensqualität. Die optimale Therapie der Schizophrenie besteht aus

2 Einleitung

vier Säulen. In der **medikamentösen Therapie** kommen Neuroleptika zum Einsatz, die in typische (klassische) und atypische Substanzen eingeteilt werden können. Beide Gruppen wirken meist über einen Dopaminantagonismus und verfügen über einen deutlichen Effekt bei der Behandlung positiver Symptome, während negative und kognitive Symptome wenig beeinflusst werden. Der Einsatz von Neuroleptika geht oft mit ausgeprägten Nebenwirkungen einher. Typisch für die klassischen Neuroleptika sind extrapyramidale Nebenwirkungen, wohingegen die atypischen Wirkstoffe mehr metabolische Nebenwirkungen aufweisen (Meltzer 2013). Das Ansprechen auf die medikamentöse Therapie ist interindividuell hoch variabel (Stroup 2007).

Die **Psychotherapie**, ebenfalls eine wichtige Behandlungskomponente, umfasst die Psychoedukation, die kognitive Verhaltenstherapie sowie kognitive Förderungsmaßnahmen.

Die **Soziotherapie** zielt auf die Förderung der Sozialkompetenz der Patienten, wobei Kommunikationstechniken, Berufsfertigkeiten und Entspannungsmethoden vermittelt werden. Zudem werden Hilfestellungen im beruflichen Bereich angeboten.

Die Anwendung der **Elektrokrampftherapie** beschränkt sich im Großen und Ganzen auf die Behandlung der Katatonie (Thirhalli et al. 2009) und von therapierefraktären Clozapin-behandelten Patienten (Braga & Petrides 2005).

2.1.4 Ätiopathophysiologie der Schizophrenie

Die Schizophrenie ist eine ätiologisch hoch heterogene Erkrankung (Silveira et al. 2012). Sie wird multifaktoriell bedingt, wobei Interaktionen zwischen genetischen Faktoren und Umwelteinflüssen zur Krankheitsentwicklung führen, sodass von einem Vulnerabilität-Stress-Modell ausgegangen wird. Der genaue Ablauf dieser Interaktionen ist zum Großteil noch nicht erfasst worden (Sawa & Snyder 2002). Zurzeit existieren zahlreiche unterschiedliche ätiologische, pathogenetische und pathophysiologische Hypothesen über die Entstehung der Erkrankung.

2.1.4.1 Umweltfaktoren

Für jede Lebensphase konnten Einflussfaktoren für die Entwicklung einer Schizophrenie festgestellt werden (Tandon et al. 2008). Auf Grundlage dieser Erkenntnisse kann eine zusammenfassende Darstellung der Faktoren erstellt werden (siehe Tabelle 2-2).

2 Einleitung

Tab. 2-2: Überblick über die Umweltfaktoren für die Entwicklung von Schizophrenie.

Lebensphase	Umweltfaktor
Pränatale Phase (erstes und frühes zweites Trimenon)	Mütterliche Infektionen (Influenza, Röteln, Toxoplasmose)
	Mangelernährung
	Negative Lebensereignisse
Perinatale Phase	Fetale Hypoxie
	Paternales Alter bei Konzeption
	Geburt im Winter oder Frühjahr
Kindheit	Kindheitstrauma
	Kopfverletzung
	Trennung von den Eltern oder deren Tod
	Infektionen
	Negative Kindererziehung
	Urbanität
Jugend	Eigene Migration oder Migration in der Familiengeschichte
	Cannabisgebrauch
	Negative soziale Erlebnisse
	Belastende Lebensereignisse

2.1.4.2 Genetik

Heute wird bei der Schizophrenie von einer polygenen Erkrankung mit einem komplexen Vererbungsmechanismus ausgegangen (Giegling et al. 2017; Schmitt et al. 2016). Die Interaktionen der beteiligten Gene untereinander sowie mit der Umwelt führen zur Ausbildung mehrerer Phänotypen, die unter dem Begriff Schizophrenie zusammengefasst werden (Singh et al. 2014). In einer Reihe von **Zwillingsstudien** wurde die Erbllichkeit der Schizophrenie genauer untersucht (Gottesman et al. 1987; Sullivan et al. 2003). Ist eine Person an Schizophrenie erkrankt, hat ihr monozygotischer Zwilling eine Erkrankungswahrscheinlichkeit von 40-50%. Bei dizygotischen Zwillingen liegt dieses Risiko bei 10-15%. Die Erbllichkeit der Schizophrenie beträgt ca. 81%.

Kopplungsstudien brachten eine Reihe von Genloci mit Schizophrenie in Zusammenhang. In der Metaanalyse von Lewis et al. (2003) ergaben sich für folgende Chromosomenregionen eine Assoziation mit Schizophrenie: 1p13-q23, 2p12-q22, 2q22-q23, 3p25-p22, 5q23-q34, 6p22-p21, 6pter-p22, 8p22-21, 11q22-q24, 14pter-q13, 20p20-p11 und 22pter-q12. Auch für die Region 10p15-p13 (DeLisi et al. 2002), die balancierte reziproke Translokation 1q42/11q14 (Blackwood et al. 2001) sowie das X-Chromosom (DeLisi et al. 1994) wurde ein Zusammenhang mit Schizophrenie beschrieben. In einer Metaanalyse von Ng et al. (2009) wurden folgende, für die Erkrankung der Schizophrenie bedeutsame Genloci identifiziert: 1, 2q, 3q, 4q, 5q, 8p und 10q. In der Untersuchung von Vieland et al. (2014) zeigten die Chromosomenregionen 2q36.1, 3q28, 12q23.1, 15q23, 11p11.2 und Xq26.1 eine Assoziation

2 Einleitung

mit der Erkrankung. Daneben identifizierten die Autoren auch chromosomale Regionen, die eine populationspezifische Assoziation mit Schizophrenie aufwiesen.

In **Assoziationsstudien** konnten durch Genotypisierung von Kandidatengenen bei Patienten und gesunden Probanden bestimmte Genvariationen durch ein häufigeres Auftreten bei Erkrankten mit Schizophrenie assoziiert werden. Allen et al. (2008) berichten über mehr als 1000 untersuchte Gene, für die eine Assoziation mit Schizophrenie gefunden wurde. Allerdings waren die Untersuchungsergebnisse bis dahin sehr inkonsistent. Genomweite Assoziationsstudien (GWAS) untersuchen Einzelnukleotid-Polymorphismen (engl. *single nucleotide polymorphisms* [SNP]) des gesamten Genoms. Als SNPs werden häufig auftretende Variationen einzelner Basen der DNA bezeichnet (Schwab & Wildenauer 2013). Das Modell der Modulation der Krankheitsentwicklung durch multiple Genvariationen mit jeweils relativ geringem Effekt ist Grundlage aller bisherigen Assoziationsstudien (Purcell et al. 2007). SNPs verantworten etwa 30% des genetisch bedingten Erkrankungsrisikos (Singh et al. 2014). Durch zahlreiche GWAS wurden im Verlauf der Zeit zunehmend mehr mit Schizophrenie assoziierte Genloci detektiert, wobei die Studienergebnisse teilweise sehr diskrepanz waren. Die bis dato größte GWAS stellte für 108 Genloci eine Assoziation mit Schizophrenie fest, wobei diese u.a. für Proteine kodieren, die für bestimmte neurophysiologische Transmitter-assoziierte Signalwege bedeutsam sind (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium 2014). So ergaben sich für mehrere an der Dopamin- und Glutamat-vermittelten Neurotransmission beteiligte Gene (DRD2, GRM3, GRIN2A, GRIA1, SRR, CLCN3, GRM3 und SLC38A7) eine Assoziation, ein Befund, den die Autoren im Einklang mit den gängigen pathophysiologischen Hypothesen der Schizophrenie sehen. Auch Gene, die für die Kodierung von Untereinheiten spannungsabhängiger Calciumkanäle relevant sind (CACNA1I, RIMS1, CACNA1C, CACNB2, CAMKK2, NRG1 und ATP2A2), weisen eine Assoziation mit der untersuchten Erkrankung auf. Weitere Gene mit genomweiter Assoziation spielen eine Rolle bei synaptischen Vorgängen (KCTD13, NLGN4X, IGSF9B, CNTN4, MEF2C, PTN, CNKSR2, PAK6 und SNAP91), in der Neuroentwicklung (FXR1, SATB2, PODXL, BCL11B, TLE1, TLE3 und FAM5B) sowie bei der Bildung weiterer Ionenkanäle (KCNB1, HCN1, CHRNA3, CHRNA5 und CHRNB4). Zudem konnte beobachtet werden, dass mehrere Gene, die insbesondere in B-Lymphozyten exprimiert werden, ebenfalls Assoziationen aufwiesen (z.B. MHC). Andere assoziierte Loci beinhalten ZNF804A, TCF4, NRG1, DTNBP, DISC1, COMT, ANK3, MIR137 u.a. (Ripke et al. 2013; Tandon et al. 2008; Winchester et al. 2014). Ungeklärt ist weiterhin die Frage, auf welche Art und Weise die relevanten Gene die Ätiopathogenese der Schizophrenie konkret beeinflussen (Hosak 2013).

Auch bei einigen *copy number variants* (CNV), ein Kilobase bis mehrere Megabasen lange

2 Einleitung

de novo oder vererbte Deletionen oder Duplikationen der DNA, wurde eine Assoziation mit Schizophrenie beobachtet. Dazu gehören u.a. Deletionen an den Lokalisationen 1q21.1, 2p16.3, 3q29, 15q11.2, 15q13.11 und 22q11.2 sowie Duplikation in den Regionen 16p11.2 und 16p13.1. Von diesen in der Population selten auftretenden Variationen wird ein größerer Effekt als bei SNPs erwartet (Winchester et al. 2014). Rees et al. (2014) untersuchten 15 CNV, wobei in einer unabhängigen Stichprobe für sechs davon signifikante Assoziationen mit Schizophrenie gefunden wurden: Deletionen in den Regionen 1q21.1, NRXN1, 15q11.2 und 22q11.2 sowie Duplikationen bei 16p11.2 und in der Angelman/Prader-Willi-Syndrom-Region. Bei einigen kleineren Variationen konnten die dabei betroffenen Gene ermittelt werden. Auffällig war, dass es sich dabei häufig um Gene handelte, die eine Rolle bei der Entwicklung des Nervensystems bzw. für Proteine der Postsynapse bzw. bei der Calcium-assoziierten Signaltransduktion spielen (Kavanagh et al. 2015). Die krankheitsspezifische Rolle zahlreicher assoziierter Varianten bleibt weiterhin unklar (Tandon et al. 2008).

Alternativ ist die Schizophrenie als eine Erkrankung beschrieben worden, die auf seltenen patientenspezifischen hochpenetranten Mutationen basiert (McClellan et al. 2007). So zeigten Whole Exome Sequencing-Untersuchungen, dass seltene, teilweise patienten-individuelle Exonvariationen sowie Insertionen oder Deletionen zur Krankheitsentstehung beitragen können (Kavanagh et al. 2015). Mitchell & Porteous (2011) gehen davon aus, dass jeder Erkrankte neben einem oder wenigen seltenen hochpenetranten Allelen auch mehrere weiter verbreitete Allele mit geringerer Penetranz besitzt.

Trotz der zahlreichen bisherigen Studienergebnisse konnte der Charakter des genetischen Einflusses auf die Erkrankung nicht im Detail geklärt werden. Bisher wurden Gene mit essenziellem Einfluss auf die Krankheitsausbildung nicht gefunden (Singh et al. 2014).

2.1.5 Neurobiologie der Schizophrenie

Obwohl die krankheitsassoziierten pathophysiologischen und biochemischen Mechanismen im Detail weitgehend unbekannt sind (Singh et al 2014), können an Schizophrenie erkrankte Patienten ein breites Spektrum an neurobiologischen Befunden aufweisen. Die wichtigsten davon können durch die Tabelle 2-3 wiedergegeben werden. Veränderungen der Hirnstruktur und -funktion sowie neurochemische Abweichungen in multiplen Hirnregionen bilden die Schwerpunkte neurobiologischer Befunde bei erkrankten Individuen. Diese Veränderungen bestehen scheinbar schon in der frühen Entwicklung (Keshavan et al. 2008).

2 Einleitung

Tab. 2-3: Neurobiologische Befunde Schizophrenie.

	Befund	Mögliche Pathophysiologie
Neuroanatomisch/ pathologisch	<ul style="list-style-type: none"> Reduktion des Hirnvolumens Reduktion der grauen Substanz u.a. des: Temporallappen 	<p>Möglicher Hinweis auf progressive pathologische neuronale Veränderungen im Krankheitsverlauf</p> <p>Vermutliche Assoziation zwischen dem Gyrus temporalis superior und positiver Symptomatik sowie zwischen dem Gyrus temporalis medius und Gedächtnisstörungen</p> <p>Vermutliche Assoziation zwischen Hippocampusveränderungen und chronischem Stress</p>
	präfrontalen Kortex (PFC)	Vermutliche Assoziation zwischen PFC und Informationsverarbeitung
	<ul style="list-style-type: none"> Strukturanomalien der weißen Substanz 	Störungen neuronaler Konnektivität beeinflussen kognitive Defizite sowie dissoziatives Denken. Es bestehen Zusammenhänge mit Pathologien im Glutamatsystem, das eine Rolle für die gliale Integrität spielt, sowie mit Schizophrenie-assoziierten Genen wie Neuregulin 1 und Myelin-assoziierten Genen.
	<ul style="list-style-type: none"> Ventrikelerweiterung 	Möglicher Hinweis auf progressive pathologische neuronale Veränderungen im Krankheitsverlauf
	<ul style="list-style-type: none"> Störung der zerebralen Asymmetrie/Lateralisierung 	Vermutliche Ursache für vermehrtes Vorkommen von Beidhändigkeit bei Patienten
	<ul style="list-style-type: none"> Fehlende Glioproliferation, Verminderung der kortikalen Gliadichte 	Störung neurodegenerativer Prozesse
	<ul style="list-style-type: none"> Verminderung der dendritischen Dichte im PFC und reduzierte Menge an Axonmarkern 	Verminderung von Neuropil mit Störung der synaptischen Integrität
	<ul style="list-style-type: none"> Pathologische Zelldichte und Zytoarchitektur im Hirn 	Störung der neuronalen Migration
Hirnfunktionell	<ul style="list-style-type: none"> Funktionelle Defizite des PFC („Hypofrontalität“) 	Assoziation mit ineffektiver Informationsverarbeitung Assoziation mit Genen für COMT und GRM3
	<ul style="list-style-type: none"> Abnormale Aktivierungsmuster im Temporallappen 	Gestörte frontotemporale Interaktion
Neurophysiologisch	<ul style="list-style-type: none"> Abnahme der <i>Mismatch negativity</i> bei ereigniskorrelierten Potenzialen 	Modulation durch NMDA-Rezeptoranomalien Vermutliche Assoziation zur Hörrinde und zum dorsolateralen PFC Zusammenhang mit Defiziten des sensorischen Gedächtnisses
	<ul style="list-style-type: none"> Amplituden- und Latenzminderung von auditorischen P300 bei ereigniskorrelierten Potenzialen 	Vermutliche Assoziation mit dem Gyrus temporalis superior, inferioren Parietallappen, Frontallappen, Hippocampus und Thalamus
	<ul style="list-style-type: none"> Störung der P50-Suppression bei ereigniskorrelierten Potenzialen unter einem Doppelklickparadigma 	Die Störung spiegelt vermutlich Missinteraktionen zwischen dem Frontallappen und Hippocampus wider. Die Störung beruht vermutlich auf dopaminerge, cholinerge, GABAerge und serotoninerge Systeme.
	<ul style="list-style-type: none"> Störung der Präpulsinhibition (PPI) 	Vermutliche Beteiligung des Glutamatsystems Vermutliche Assoziation mit dem Striatum, Hippocampus, Thalamus, Frontal- und Parietallappen Zeichen eines gestörten sensorischen Gatings
	<ul style="list-style-type: none"> Sakkadierte Blickfolge und Auftreten von Antisakkaden 	Zeichen für Störungen im PFC und bei der fronto-striatal-modulierten Sakaddensuppression
	<ul style="list-style-type: none"> Reduktion der Dauer des Non-REM-Schlafes, verminderte REM-Latenz Abnormale Gamma-Oszillationen 	Möglicher Zusammenhang mit vermindertem Neuropil und/oder dem cholinergen System Vermutliche Assoziation mit Störungen der neuronalen Synchronität bei Patienten Dysfunktion der thalamokortikalen Integration
Neurochemisch	<ul style="list-style-type: none"> Reduktion der Konzentration von N- 	Zeichen einer gesteigerten striatalen

2 Einleitung

Befund	Mögliche Pathophysiologie
Acetyl-Aspartat im PFC und Hippocampus	Dopaminaktivität Vermutlicher Einfluss auf den Ausbruch einer Psychose im Prodromalstadium
<ul style="list-style-type: none"> • Reduktion von Phosphomonoester im PFC • Hypoaktivität von Dopamin im Mesokortex, Hyperaktivität von Dopamin in mesolimbischer Region • Verminderte Expression von NMDA-Rezeptoren oder derer Untereinheiten im Hippocampus und im PFC • Verminderte GABA-Expression, Upregulation von GABA-Rezeptoren im PFC • Störungen im cholinergen System: Reduktion der Menge an nikotinergen Acetylcholin-Rezeptoren 	Folge ist eine gestörte Membranintegrität. Dopaminmangel im Mesokortex soll für die negativen und kognitiven Symptome verantwortlich sein. Dopaminüberschuss in mesolimbischer Region soll die positiven Symptome auslösen. Störung der Glutamat-vermittelten exzitatorischen Neurotransmission Vermutliche Assoziation mit neuronaler Synchronität und somit mit Defiziten des Arbeitsgedächtnisses Dies soll den großen Anteil an Rauchern unter schizophrenen Patienten erklären. Die verminderte P50-Suppression soll durch Veränderungen des Gens für die α -7-Subeinheit des nikotinergen Acetylcholin-Rezeptors auf 15q14 bedingt sein.
Reduktion der Menge an muskarinischen Rezeptoren im Gehirn <ul style="list-style-type: none"> • Fragliche Störungen im Serotonin-System 	Mögliche Triggerung positiver und kognitiver Symptome (Carruthers et al. 2015) Atypische Neuroleptika mit geringeren extrapyramidalen Nebenwirkungen haben einen serotoninantagonistischen Effekt.
Neuroendokrin	
<ul style="list-style-type: none"> • Hyperkortisolismus mit Hyperaktivität der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse 	Stress trägt zur Entwicklung der ersten Psychose und eines Rezidivs bei. Zudem bewirkt es strukturelle Hippocampusveränderungen. Der Hyperkortisolismus ist verbunden mit Ventrikelerweiterungen und Kognitionsstörungen.

Viele dieser Befunde wurden bereits als Endophänotypen der Schizophrenie untersucht. Einige werden auch als diagnostische Marker und therapeutische Angriffspunkte der Schizophrenie erwogen (Javitt et al. 2008).

2.2 Endophänotypen

2.2.1 Das Konzept vom Endophänotyp

Klinische Diagnosen bzw. Phänotypen psychiatrischer Erkrankungen sind ätiologisch sehr heterogen. Interindividuell hoch variable Interaktionen zwischen Genotyp, Epigenetik und Umweltfaktoren sind verantwortlich für eine bestimmte Phänotypausprägung (Gottesman & Gould 2003; Zobel & Maier 2004). Diese Komplexität bedingt eine gewisse Schwierigkeit in der Untersuchung genetischer Risikofaktoren von psychiatrischen Erkrankungen (Zobel & Maier 2004). Eine weitere Hürde besteht in der ausgeprägten Distanz zwischen Gen und krankheitsassoziiertem Phänotyp (Kendler & Neale 2010). So zeigen bisherige Kopplungs- und Assoziationsstudien zur Lokalisierung von Suszeptibilitätsgenen teilweise sehr inkonsistente Befunde. Zur Behebung der o.g. Problematik wurde das Konzept vom Endophänotyp entwickelt. Der Endophänotyp (oder auch intermediärer Phänotyp) ist ein

2 Einleitung

neurobiologisches Korrelat bzw. eine neurobiologische Grundlage von (psychiatrischen) Erkrankungen (Zobel & Maier 2004). Er stellt ein Merkmal dar, welches Assoziationen mit unterschiedlichen Allelen, in denen sich Erkrankte und Gesunde unterscheiden, aufweist (Preston & Weinberger 2005). Dabei wird angenommen, dass die genetische Struktur von Endophänotypen im Vergleich zu den genetischen Grundlagen klinischer Phänotypen weniger komplex ist und einem geringeren Umwelteinfluss unterliegt (Gottesman & Gould 2003). Durch die geringere Distanz zur genetischen Ebene wird im Vergleich zu psychopathologischen Krankheitsmerkmalen eine vereinfachte Erforschung der genetischen Einflussfaktoren von Endophänotypen erwartet (Flint & Munafò 2007). Die Detektierung von Suszeptibilitätsgenen von Endophänotypen offenbart idealerweise auch die Risikogene für psychiatrische Erkrankungen (Zobel & Maier 2004). Endophänotypen eröffnen somit einen Weg zu einer neuen neurobiologisch orientierten Klassifikation psychiatrischer Erkrankungen unter Erstellung ätiologisch homogenerer Phänotypen (Gottesman & Gould 2003; Zobel & Maier 2004).

Laut Gottesman und Gould (Gottesman & Gould 2003) haben Endophänotypen folgende Voraussetzungen zu erfüllen:

1. Es besteht eine Assoziation zwischen Endophänotyp und Erkrankung.
2. Der Endophänotyp ist erblich.
3. Der Endophänotyp verfügt über eine Unabhängigkeit vom Krankheitszustand.
4. Endophänotyp und Erkrankung cosegregieren innerhalb von Familien.
5. Der bei erkrankten Familienmitgliedern vorliegende Endophänotyp tritt bei gesunden Verwandten häufiger auf als in der Allgemeinbevölkerung.

Außerdem sollen Endophänotypen einfach und reliabel zu messen sein (Flint & Munafò 2007).

Endophänotypen psychiatrischer Erkrankungen können neuroanatomische, neurophysiologische, kognitive oder neuropsychologische, biochemische sowie endokrinologische Faktoren sein (Gottesman & Gould 2003).

2.2.2 Endophänotypen der Schizophrenie

Die Schizophrenieforschung hat einige erfolgsversprechende Endophänotypen ausfindig machen können. Die bis dato meist untersuchten Endophänotypen lassen sich tabellarisch darstellen (siehe Tabelle 2-4).

2 Einleitung

Tab. 2-4: Endophänotypen der Schizophrenie.

Art des Endophänotyps	Endophänotyp	Referenz
Anatomisch	Volumenminderung des Riechkolbens	Turetsky et al. (2003)
	Hirnventrikelerweiterung	McDonald et al. (2006)
	Reduktion und Störung der Zytoarchitektur der grauen Substanz in mehreren Hirnbereichen	Guo et al. (2014), Radulescu et al. (2014), Van Der Velde et al. (2015)
	Verminderte Integrität der weißen Hirnsubstanz	Knöchel et al. (2012), Skudlarski et al. (2013)
Elektro-/Neurophysiologisch	Ereigniskorrelierte Potenziale: P300 und P50	Blackwood (2000), Freedman et al. (2000), Myles-Worsley (2002)
	Ereigniskorrelierte Potenziale: reduzierte <i>mismatch negativity</i>	Bramon et al. (2004), Turetsky et al. (2007)
	Ereigniskorrelierte Potenziale: reduzierte PPI des Schreckreflexes	Swerdlow et al. (2014)
	Fehler und erhöhte Latenz bei Antisakkadenaufgaben	Mazhari et al. (2011), Radant et al. (2010)
Psychologisch	Auffälligkeiten der Persönlichkeit (schizotypisches Verhalten, Schadensvermeidungsverhalten)	Fresan et al. (2015), Smith et al. (2008)
	Verminderte Exekutivfunktionen	Erol et al. (2012), Owens et al. (2011)
	Aufmerksamkeitsdefizite	Chen & Faraone (2000)
	Störungen des räumlichen und verbalen Gedächtnis	Glahn et al. (2003), Greenwood et al. (2013), Tuulio-Henriksson et al. (2003)
Andere	Diskrete neurologische Zeichen	Chan & Gottesman (2008)

2.3 Das Gedächtnis

Gedächtnis bezeichnet eine Fähigkeit von Lebewesen, Informationen in Form von Sinneseindrücken, Fakten oder Erfahrungen zu speichern und abzurufen (Brand & Markowitsch 2004). Ein funktionierendes Gedächtnis ist essenziell für die Erhaltung der Lebensqualität (Kandel et al. 2014).

2.3.1 Klassifikationssysteme für das Gedächtnis

Im Laufe der Gedächtnisforschung hat sich die Idee von einem multisystemischen Gedächtnis durchgesetzt (Squire & Wixted 2011).

2.3.1.1 Die Entstehung des Mehrspeichermodells

Das Mehrspeichermodell, welches heutzutage am häufigsten zur Erklärung von Struktur und Funktionsweise des Gedächtnisses verwendet wird, betrachtet das Gedächtnis nicht als einheitliche Dimension. Die ersten Überlegungen dieser Art reichen mehr als ein Jahrhundert zurück. Entscheidend für die Etablierung dieses Modells waren Untersuchungen von Milner und weiteren Forschern in den 1950ern bis 1970ern an einem Patienten, der nach einer

2 Einleitung

bilateralen Resektion des medialen Temporallappens im Rahmen seiner Epilepsiebehandlung an ausgeprägten Gedächtnisstörungen litt. Er fiel durch eine schwere antero- sowie retrograde Amnesie auf, ohne dass Anzeichen einer Wahrnehmungsstörung oder Intelligenzminderung vorlagen (Scoville & Milner 1957). Dieser Umstand unterstützte die Betrachtung des Gedächtnisses als eigene, von Wahrnehmung und anderen kognitiven Funktionen unabhängige, Entität. Das Resektionsausmaß der Hirnoperation wies erstmalig auf eine essenzielle Bedeutung des medialen Temporallappens für die Gedächtnisfunktion hin (Squire & Wixted 2011). Bei einer weiteren Testung zeigte sich eine erfolgreiche Erlernung des Spiegelzeichnens durch den oben erwähnten Patienten. Gleichzeitig fehlten aber jegliche Erinnerungen des Patienten an diese Aufgabenstellung. Hierin begründete sich die Annahme, dass das Gedächtnis keine Einheit ist, sondern vielmehr aus mehr als einer Gedächtnisart besteht, wobei wahrscheinlich auch andere Hirnbereiche außer dem Temporallappen beteiligt sind (Milner 1962). Trotz der Amnesie war es dem Patienten möglich, Informationen für einen bestimmten Zeitraum nach deren Darbietung zu behalten. So zeigte sich in einer Untersuchung mit verschiedenen Zahlenspannen, dass er sich einige davon durch kontinuierliches Wiederholen bis zu 15 Minuten merken konnte. Wurde er jedoch mit einer neuen Aufgabe konfrontiert, fiel ein Vergessen dieser Zahlenspannen auf. Offensichtlich ist eine Differenzierung zwischen einem Gedächtnis für unmittelbar zuvor aufgenommene Informationen und eines für längerfristige Erinnerungen möglich (Squire 2009a). Weiterhin wurde beobachtet, dass sich die retrograde Amnesie des Patienten auf einen dreijährigen Zeitraum unmittelbar vor der Operation erstreckte. Die Erinnerung an frühere Ereignisse war jedoch nicht betroffen (Scoville & Milner 1957). Ein Test zur Gesichtererkennung deutete zusätzlich daraufhin, dass sich das Speichergebiet für frühe Erinnerungen nicht im medialen Temporallappen befindet (Marslen-Wilson & Teuber 1975). Die bei diesem Patienten erhobenen Befunde lieferten grundlegende Erkenntnisse über die Organisation des Gedächtnisses und begründen somit den Ursprung der modernen Gedächtnisforschung.

Vielfachen Untersuchungen an weiteren Amnesiepatienten in den 1980ern entstammt die Idee von einer Dichotomie des Gedächtnisses. Eine verbreitete Tendenz war die Unterscheidung zwischen einem deklarativen und prozeduralen Gedächtnis (Cohen & Squire 1980; Squire 2009b). Der Begriff des nicht-deklarativen Gedächtnisses entstand (Squire 2009b). Im Laufe der folgenden Jahre führte die Aufdeckung intakter nicht-motorischer Funktionen bei Amnesieerkrankten zum Übergang zu einem Multisystemmodell des Gedächtnisses.

2.3.1.2 Zeitliche Klassifikation des Gedächtnisses

Das von Atkinson und Shiffrin postulierte Modell wird auch in der heutigen Zeit zur zeitlichen Klassifikation des Gedächtnisses verwendet. Dabei unterteilen sie das Gedächtnis in drei wesentliche funktionelle Einheiten (Atkinson & Shiffrin 1968). Das **sensorische Gedächtnis** (früher Ultrakurzzeitgedächtnis) ist für die Aufbewahrung von Informationen zuständig, die aus der Umwelt über Sinnesfunktionen aufgenommen werden. Die Speicherdauer beträgt einige Millisekunden (Brand & Markowitsch 2004). Im echoischen Gedächtnis werden auditive Eindrücke gespeichert. Das ikonische Gedächtnis erfüllt diese Aufgabe für visuelle Informationen.

Die Speicherdauer des **Kurzzeitgedächtnisses** beträgt ca. 20-40 Sekunden, maximal jedoch wenige Minuten. Das Kurzzeitgedächtnis verfügt über eine begrenzte Kapazität (Brand & Markowitsch 2004) und kann bis zu 7 ± 2 Informationseinheiten, sogenannte *chunks*, speichern. Diese befinden sich in einem jederzeit verfügbaren Zustand (Miller 1994).

Über eine unbegrenzte Kapazität verfügt im Gegensatz dazu das **Langzeitgedächtnis**. Hier werden Informationen dauerhaft gespeichert. Die Aufnahme von Informationen aus dem Kurzzeit- ins Langzeitgedächtnis erfolgt durch Konsolidierungsvorgänge in Form ständigen Abrufens der gespeicherten Inhalte (Brand & Markowitsch 2004).

Baddeley und Hitch stellten 1974 ein Modell des Arbeitsgedächtnisses, der Schnittstelle zwischen Kurz- und Langzeitgedächtnis, vor (Baddeley & Hitch 1974). Das Arbeitsgedächtnis dient der kapazitätslimitierten Verarbeitung von Gedächtnisinhalten, die sich zwischen den beiden o.g. Gedächtnisebenen bewegen. Es können drei Arbeitsschleifen innerhalb des Arbeitsgedächtnisses unterschieden werden. Die phonologische Schleife enthält auditive Informationen, während im räumlich-visuellen Notizblock visuelle Inhalte bearbeitet werden. Im episodischen Puffer erfolgt die Bildung vorübergehender integrativer Einheiten aus Informationen, die sowohl dem Arbeitsgedächtnis selbst als auch dem Langzeitgedächtnis entstammen (Baddeley 2000). Als übergreifendes Verwaltungssystem der drei Arbeitsschleifen fungiert die sogenannte zentrale Exekutive.

2.3.1.3 Inhaltliche Klassifikation des Gedächtnisses

Die Tabelle 2-5 stellt eine Klassifikation des Langzeitgedächtnisses dar. Dieses lässt sich in das deklarative und nicht-deklarative Gedächtnis unterteilen (Tulving 1985). Im deklarativen/expliciten Gedächtnis, welches die beiden Unterformen episodisches und semantisches Gedächtnis enthält, sind bewusst abrufbare Wissensinhalte gespeichert.

2 Einleitung

Dabei beinhaltet das episodische Gedächtnis vergangene autobiographische Erlebnisse und Tatsachen. Weltwissen und allgemeine Fakten finden sich im semantischen Gedächtnis. Das nicht-deklarative/implizite Gedächtnis, dessen Inhalte ohne Beteiligung des Bewusstseins abgerufen werden können, wird in vier Segmente klassifiziert (Squire 1998). Informationen über automatisierte motorische Abläufe werden im prozeduralen Gedächtnis verwahrt und ohne Nachdenken abgerufen. Daneben existieren drei weitere Gedächtniseinheiten. *Priming* bezeichnet die vereinfachte Wiedererkennung nach einer zuvor stattgefundenen Stimuluswahrnehmung. Unter klassischer Konditionierung wird eine Art des Erlernens bestimmter Reiz-Reaktionsmuster verstanden. Das nicht-assoziative Lernen beinhaltet die Funktionen Habituation und Sensitivierung. Habituation definiert sich durch die Abschwächung einer Reaktion auf einen sich fortwährend anbietenden Reiz, während Sensitivierung im Gegensatz dazu für die Verstärkung einer solchen Reaktion steht.

Tab. 2-5: Vereinfachte Klassifikation des Langzeitgedächtnisses.

Langzeitgedächtnis	Deklaratives/ Explizites Gedächtnis	Episodisches Gedächtnis
		Semantisches Gedächtnis
	Nicht-deklaratives/Implizites Gedächtnis	Prozedurales Gedächtnis
		Priming
		Klassische Konditionierung
		Nicht-assoziatives Lernen

2.3.2 Funktionelle Aspekte des Gedächtnisses

Zu den Gedächtnisprozessen gehören die Enkodierung (Einspeicherung neuer Informationen), die Konsolidierung (Informationsfestigung), der Abruf von Informationen und das Vergessen.

Auf Ebene des Ultrakurzzeitgedächtnisses wird die Entscheidung über das Einspeichern oder Verwerfen neu aufgenommener Informationen entschieden. Nur relevante Informationen werden aufbewahrt. Durch Assoziationsbildungen zu bereits vorhandenen Gedächtnisinhalten werden die neuen Informationen konsolidiert und somit deren dauerhafte Speicherung ermöglicht, sodass später darauf zurückgegriffen werden kann (Brand & Markowitsch 2004).

2.3.3 Neuroanatomie des Gedächtnisses

2.3.3.1 Anatomie des Gedächtnisses auf Grundlage der zeitlichen Klassifikation von Gedächtnissystemen

Auf einem Zusammenspiel zwischen sensorischen Hirnarealen und Assoziationskortex

2 Einleitung

beruht die Speicherfunktion des Kurzzeit- und Arbeitsgedächtnisses (Linden 2007). Das biologische Korrelat des Arbeitsgedächtnisses wird von verschiedenen komplexen neuronalen Netzwerken gebildet, die sowohl kortikale als auch subkortikale Gebiete einschließen. Dabei kommt dem präfrontalen Kortex (PFC) eine besonders wichtige Rolle zu (Khan & Muly 2011).

Das Langzeitgedächtnis greift auf eine Reihe von Hirnregionen zurück. Beim deklarativen Gedächtnis ist das limbische System maßgeblich involviert. Dazu kommen Verbindungen zum gesamten Neokortex (Brand & Markowitsch 2004). Anatomische Korrelate des episodischen Gedächtnisses finden sich außer im medialen Temporallappen auch im kortikalen und subkortikalen Hirngewebe. Während der parahippocampale Bereich Informationen über Zeit, Ort und Inhalt eines Ereignisses verarbeitet, erfolgt die Vernetzung dieser Informationskomponenten durch den Hippocampus (Eichenbaum et al. 2007). Bei der Enkodierung werden Strukturen im linken PFC aktiviert, wohingegen der rechte PFC vermehrt für das Abrufen zuständig ist (Kapur et al. 1994; Moscovitch et al. 1995). Das semantische Gedächtnis verteilt sich auf den weite Teile des Neokortex (PFC, Temporal-, Okkzipital- und Parietalkortex) (Moscovitch et al. 2005). Durch zahlreiche Studien an hirngeschädigten Patienten und funktionelle bildgebende Untersuchungen hat sich herausgestellt, dass die beteiligten Hirnregionen durch eine Spezifität für die unterschiedlichen Komponenten semantischer Informationen gekennzeichnet sind (Damasio et al. 1996; Martin et al. 1996). Strukturen im Kleinhirn, Striatum und in der Amygdala sowie der PFC und kortikale motorische Areale bilden die Grundlage für das prozedurale Gedächtnis (Kandel et al. 2014).

2.3.3.2 Anatomie nach funktionellen Gesichtspunkten

Bereits Untersuchungen an Patienten in den 1950ern und 1960ern lieferten erste Erkenntnisse über die Neuroanatomie des Gedächtnisses. Nach etlichen Tierversuchen in der Folgezeit konnten der Hippocampus und die angrenzenden entorhinalen, perirhinalen sowie parahippocampalen Hirnbereiche als wichtige anatomische Korrelate des Gedächtnisses identifiziert werden (Squire & Wixted 2011). Studien mit bildgebenden Verfahren wie der funktionellen Magnetresonanztomographie erbrachten neue wesentliche Erkenntnisse über funktionelle Aspekte des Gehirns (Kandel et al. 2014).

Mehrere Hirnregionen sind laut der Metaanalyse von Kim (2011) an Enkodierungsprozessen beteiligt. Der linke inferiore Frontalkortex und der fusiforme Kortex spielen eine Rolle bei der Transformation eintreffender sensorischer Reize in interne Repräsentationen. Der mediale Temporallappen mit dem Hippocampus führt die an ein bestimmtes Ereignis gekoppelten

2 Einleitung

Repräsentationen zusammen und speichert diese. Für die aufmerksamkeitsabhängige Selektion eingehender Informationen bei der Enkodierung sind insbesondere der prämotorische Kortex und der posteriore Parietalkortex verantwortlich.

Bereits Untersuchungen an einem Patienten mit einer bilateralen Resektion des medialen Temporallappens ab den 1950ern ließen vermuten, dass der Hippocampus Gedächtnisinformationen nur vorübergehend speichert. Für eine dauerhafte Aufbewahrung müssen diese Inhalte in neokortikale Hirnregionen überführt werden, die Informationen über ein bestimmtes multisensorisches Ereignis domänenspezifisch prozessieren, d.h. jedes beteiligte Kortexareal speichert eine andere Komponente der Reizinformation (Damasio 1989). Die initial schwach ausgeprägten Verbindungen zwischen den beteiligten Neokortexarealen werden im Laufe der Zeit durch wiederholte, gleichzeitige, durch den medialen Temporallappen vermittelte, Aktivierungen gestärkt, sodass sich eine langfristige Repräsentation eines bestimmten Ereignisses ausbildet (Alvarez & Squire 1994).

Die von Nadel & Moscovitch (1997) entwickelte Vorstellung geht jedoch davon aus, dass sich für eine bestimmte episodische Information eine kohärente Repräsentationseinheit zwischen Hippocampus und Neokortex bildet, wobei sich beim Abrufen von Informationen weitere Gedächtnisspuren für diese eine Episode formen. Im weiteren Verlauf findet eine selektive Verlagerung von Faktenwissen einer Episode in einen semantischen Bereich statt. Die beiden o.g. und weitere Ansätze wurden von zahlreichen Forschergruppen diskutiert (Race et al. 2011; Squire & Bayley 2007; Viard et al. 2010).

Das Erinnern an episodische Informationen wird durch interagierende Prozesse im medialen Temporallappen, PFC und Parietalkortex vermittelt (Rugg et al. 2002; Shimamura 2011). Semantische Gedächtnisinhalte werden unter der Beteiligung temporaler und frontaler Hirnregionen abgerufen (Wiggs et al. 1999). Untersuchungen deuten auf eine Involvierung der gleichen neokortikalen Hirnareale bei der Reaktivierung von konsolidierten Gedächtnisinhalten wie beim Lernen hin (Polyn et al. 2005; Woodruff et al. 2005).

2.3.4 Neurophysiologische Korrelate des Gedächtnisses

Gedächtnisprozesse beruhen auf Interaktionen zwischen Neuronen und ihren Verbindungen, den Synapsen. Zur Klärung neurophysiologischer Grundlagen von Gedächtnisvorgängen hat sich im Laufe der Zeit das 1949 von Hebb formulierte Modell der **synaptischen Plastizität** durchgesetzt. Dieser Begriff bezeichnet einen Vorgang, bei dem die synaptische Übertragungsstärke langfristig verändert wird (Bauman et al. 2004). Dies geschieht durch wiederholte Signalübertragungen von einem Neuron auf ein zweites, die in metabolischen

2 Einleitung

Veränderungen oder Wachstumsvorgängen in einer der beiden oder in beiden Nervenzellen resultieren. Folge kann eine verstärkte Aktivität des feuernenden Neurons und somit eine zunehmende synaptische Übertragung sein (Hebb 1949).

In einer bahnbrechenden tierexperimentellen Studie zeigte sich, dass kurze hochfrequente synaptische Erregungen im Hippocampus zu gesteigerten exzitatorischen Signalen postsynaptischer Neuronen führen. Diese als **Langzeitpotenzierung** (LTP) bezeichnete Erscheinung scheint die Hebb-Theorie zu bestätigen (Bliss & Lomo 1973). Dabei tritt ein bis zu mehreren Stunden anhaltender Anstieg der synaptischen Übertragungsstärke auf, der zu langfristigen Verhaltensänderungen z.B. in Form einer dauerhaften Informationsspeicherung führt. Dieser Prozess kennzeichnet das Lernen (Stuchlik 2014). Auf molekularer Ebene basiert die Induktion von LTP auf intrazellulären Signalkaskaden (Bauman et al. 2004). Es wird angenommen, dass dabei Glutamat an den N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor (NMDA-R) der Postsynapse bindet. Die nachfolgende Depolarisierung der postsynaptischen Nervenzelle führt zu einem Calciumeinstrom. Weitere Zwischenschritte resultieren in einer Zunahme des α -amino-3-hydroxy-5-Methyl-4-isoxazolepropionic Acid Receptor (AMPA-R) an der postsynaptischen Membran. Einen wesentlichen Bestandteil dieser Prozesse bildet der Signalweg um das zyklische Adenosinmonophosphat (cAMP) (Peng et al. 2014). Daneben existieren weitere molekulare Mechanismen bei der LTP, die auch teilweise in das cAMP-Signal eingreifen, wie z.B. eine Ca^{2+} /Calmodulin-abhängige Proteinkinase (CAMK)-abhängige Signalkaskade (Reneerkens et al. 2009).

Neben der LTP existiert auch eine sogenannte Langzeitdepression (LTD) (Dudek & Bear 1992). Auch NMDA-unabhängige Mechanismen synaptischer Plastizität wurden beobachtet (Bauman et al. 2004).

Das **synaptic tagging** (dt. „synaptische Etikettierung“) vermittelt eine synapsenspezifische LTP oder LTD. Die Aufnahme gedächtnisassoziierter Proteine in spezifische Synapsen eines Neurons beruht auf einer vorangehenden Markierung dieser Synapsen. Diese Kennzeichnung wird einerseits durch die von der Proteinkinase vom Typ A (PKA) initiierten synaptischen Plastizität vermittelt, andererseits spielt die lokale synaptische Proteinsynthese eine Rolle. Es wird angenommen, dass die Translation der mRNA an den vorgesehenen Synapsen durch spezifische Signale aktiviert werden muss (Frey & Morris 1997).

2.3.5 Das Gedächtnis als Endophänotyp der Schizophrenie

Schizophrenie geht mit kognitiven Beeinträchtigungen in den Bereichen Gedächtnis, Aufmerksamkeit und Konzentration, Problemlösen, Lernen, Exekutivfunktionen, Verarbeitungsgeschwindigkeit sowie soziale Kognition einher (Fioravanti et al. 2012;

2 Einleitung

Goldberg et al. 2007; Lee & Park 2005; Ranganath et al. 2008). Kognitive Defizite sind Kerncharakteristika der schizophrenen Erkrankung, die bei allen Erkrankten vorkommen. Häufig bestehen diese Störungen schon vor dem Auftreten erster Symptome und verändern sich im Krankheitsverlauf nach einer beträchtlichen initialen Verschlechterung in der *Onset*-Phase nicht mehr wesentlich (Bilder et al. 2006). Gedächtnisstörungen sind dabei sehr häufig und deutlich ausgeprägt (Fioravanti et al. 2012). Eine Vielfalt von Gedächtnisfunktionen kann beeinträchtigt sein. Dabei hängt das Ausmaß mnestischer Einbußen im Großen und Ganzen nicht von krankheitsassoziierten Faktoren ab (Aleman et al. 1999). Auch biologische Verwandte erkrankter Patienten weisen kognitive Defizite auf (Egan et al. 2001; Faraone et al. 2000; Sitskoorn et al. 2004; Snitz et al. 2006). Eine Reihe von Studien weist auf eine Erbllichkeit kognitiver Eigenschaften bei schizophrenen Patienten hin (siehe unten). Die Ausprägung der Defizite ist abhängig vom Ausmaß der genetischen Prädisposition (Faraone et al. 2000). Neuere molekulare Untersuchungen basierend auf dem Modell eines *polygenic risc score* scheinen eine genetische Überlappung zwischen allgemeinen kognitiven Eigenschaften und Schizophrenie zu bestätigen (Hubbard et al. 2016; Lencz et al. 2014; Trampush et al. 2017). Diese Eigenschaften weisen auf die Eignung kognitiver Merkmale als Endophänotypen in der Schizophrenieforschung hin (Ross et al. 2006).

Die Initiative Measurement and Treatment Research to Improve Cognition in Schizophrenia (MATRICS) unterscheidet sieben voneinander unabhängige kognitive Domänen (Nuechterlein et al. 2004). Dabei handelt es sich um folgende:

1. Arbeitsgedächtnis
2. Aufmerksamkeit/Vigilanz
3. Verbales Lernen und Gedächtnis
4. Visuelles Lernen und Gedächtnis
5. Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit
6. Schlussfolgerndes Denken und Problemlösung sowie
7. Soziale Kognition

Im Folgenden werden Befunde über verschiedene Gedächtnisdomänen erläutert, die ihre Eignung als Endophänotypen der Schizophrenie stützen. Bereits Saykin et al. (1991), die an Schizophrenie erkrankte Patienten und gesunde Kontrollprobanden neuropsychologischen Tests unterzogen, fielen bei den Erkrankten Gedächtnis- und Lernstörungen auf. Diese Defizite beruhen vermutlich auf Abnormalitäten in frontotemporalen Hirnregionen (Callicott et al. 2000; Callicott et al. 2003; Cannon et al. 2005a; Glahn et al. 2005).

Beeinträchtigungen des **Arbeitsgedächtnisses** spielen eine zentrale Rolle bei kognitiven

2 Einleitung

Einbußen von an Schizophrenie erkrankten Personen (Lee & Park 2005). Dabei ist die Manipulationsfunktion von Gedächtnisinhalten mehr betroffen als das bloße Behalten von Informationen (Kim et al. 2004). Auch biologische Verwandte von Patienten zeigen Abnormalitäten des Arbeitsgedächtnisses (Barrantes-Vidal et al. 2007; Snitz et al. 2006; Trandafir et al. 2006). Beeinträchtigungen des Arbeitsgedächtnisses sind im Krankheitsverlauf meist stabil. Bei gesunden Individuen wird die Erblichkeit des Arbeitsgedächtnisses auf 0,43-0,49 geschätzt. Dabei soll die genetisch bedingte Variabilität des räumlichen und verbalen Arbeitsgedächtnisses auf einen allgemeinen genetischen Faktor, einen speicherungsspezifischen und zwei modalitätsspezifische Faktoren beruhen (Ando et al. 2001). Testungen von Erkrankten ergaben bei diesen eine Erblichkeit des visuellen und verbalen Arbeitsgedächtnisses von 0,36-0,42 (Tuulio-Henriksson et al. 2003; Tuulio-Henriksson et al. 2002). Untersuchungen identifizierten den dorsolateralen PFC als anatomisches Korrelat für das Arbeitsgedächtnis (Goldman-Rakic 1999). Weitere Studien belegen eine Aktivitätsminderung in dieser Region bei Patienten (Manoach et al. 2000) und auch bei deren nichterkrankten Geschwistern (Callicott et al. 2003). Auch posteriore Hirnregionen scheinen beteiligt zu sein (Wager & Smith 2003). Für jede der involvierten Hirnregionen wurden spezifische Gene gefunden, die vermutlich die Vorgänge in diesen Bereichen modulieren (Rasetti & Weinberger 2011). So wurden z.B. einige in den Dopaminstoffwechsel eingreifende Gene (Gene für die Catechol-O-Methyltransferase [COMT], die Dopaminrezeptoren D2 und D4 [DR2 und DR4] sowie den Dopamine active transporter 1 [DAT1] u.a.) ausfindig gemacht, die Vorgänge im präfrontal-neostriatalen System beeinflussen (Egan et al. 2001; Forbes et al. 2009). In Assoziations- und Kopplungsstudien fanden sich Genloci, die mit reduzierten Leistungen des Arbeitsgedächtnisses bei Patienten zusammenhängen. Berichte über Assoziationen zwischen Allelen des Disrupted in schizophrenia 1 (DISC1)-Gens und der Funktion des Arbeitsgedächtnisses bei Patienten sind bekannt (Burdick et al. 2005; Gasperoni et al. 2003). Zwei Quantitative Trait Loci auf dem Chromosom 8 (8q21.11-13 und 8q24.22) sollen ebenfalls das Arbeitsgedächtnis modulieren (Knowles et al. 2014).

Das verbale Arbeitsgedächtnis scheint als Endophänotyp der Schizophrenie geeignet zu sein. Sowohl bei Patienten als auch bei ihren gesunden biologischen Verwandten fanden sich Beeinträchtigungen dieser Gedächtnisfunktion (Botero et al. 2013; Conklin et al. 2000; Horan et al. 2008). Wie oben bereits erwähnt, wird die Ausprägung des verbalen Arbeitsgedächtnisses zum Teil genetisch bedingt (Ando et al. 2001). Positive Kopplungen bestehen u.a für die Genloci 1p36 und 14q23 (Greenwood et al. 2013). Assoziiert sind ebenfalls die Gene für DISC1, Catenin $\alpha 2$ (CTNNA2), die membranständige Tyrosinkinase ERBB4, den ionotropen Glutamatrezeptor delta2 (GRIN2), die CAMK, den Transkriptionsfaktor SP4, den Serotoninrezeptor 2A (HTR2A) und das Postsynaptic Density Protein 95 (PSD95) (Greenwood et al. 2011).

2 Einleitung

Auch das räumliche Arbeitsgedächtnis wird als möglicher Endophänotyp der Schizophrenie diskutiert. Sowohl bei untersuchten Patienten (Park & Holzman 1992) als auch bei nicht betroffenen biologischen Verwandten (Pirkola et al. 2005; Smith et al. 2006) fanden sich in diesem Gedächtnisbereich Einbußen. Zudem sind Befunde über einen Zusammenhang zwischen der Leistung des räumlichen Gedächtnisses und des genetischen Risikos für Schizophrenie bekannt (Cannon et al. 2000; Glahn et al. 2003). Eine genetische Beeinflussung spielt auch bei der Ausprägung des räumlichen Gedächtnisses eine Rolle (Aukes et al. 2008).

Aufmerksamkeitsstörungen sind bei der Schizophrenie weit verbreitet. Insbesondere die defizitäre Aufrechterhaltung der fokussierten Aufmerksamkeit steht im Mittelpunkt zahlreicher Studien zur Prüfung der Eignung von Aufmerksamkeitseinbußen als Endophänotyp der Schizophrenie. Diese Komponente der Aufmerksamkeit kann mithilfe des Continuous Performance Tests (CPT) gemessen werden (Chen & Faraone 2000). Die Leistungen von Patienten erweisen sich im Zeitverlauf zumindest bei einigen CPT-Untertests als relativ konstant. Es wird außerdem eine zumindest moderate Heritabilität der im CPT dargebotenen Leistungen angenommen. Auch bei biologischen Verwandten der untersuchten Patienten wurden Einbußen im CPT entdeckt. Neuroradiologische Studien zeigen eine Beteiligung des präfrontalen, frontalen und temporalen Kortex bei der fokussierten Aufmerksamkeit. Bereits für einige Genloci werden Zusammenhänge mit der Aufmerksamkeitsfunktion vermutet. Dazu zählen die Gene für die COMT, den DR4 (Greenwood & Parasuraman 2003), das SNAP-associated protein (SNAPIN), DISC1, CTNNA 2, den trace amine associated receptor 6 (TAAR6), den metabotropen Glutamatrezeptor 1 (mGluR1), Reelin (RELN), die delta1-Subeinheit des Glutamatrezeptors und den solute carrier family 1 member 2 (SLC1A2) (Greenwood et al. 2011) sowie die Loci 1q41 (Gasperoni et al. 2003), 6p24 (Hallmayer et al. 2005) und 10q26 (Greenwood et al. 2013).

Studien weisen auf die Eignung des **verbalen Gedächtnisses** als Endophänotyp der Schizophrenie hin. Von Störungen des verbalen Gedächtnisses bei Schizophrenie wurde wiederholt berichtet. Dieser mnestische Bereich ist eine der am schwersten beeinträchtigten kognitiven Funktionen bei Schizophrenie (Aleman et al. 1999). In etlichen Untersuchungen traten Beeinträchtigungen des verbalen Gedächtnisses auch bei gesunden biologischen Verwandten von erkrankten Personen auf (Egan et al. 2001; Massuda et al. 2013; Sitskoorn et al. 2004; Snitz et al. 2006). Im Krankheitsverlauf zeigten sich die Defizite des verbalen Gedächtnisses im Großen und Ganzen stabil (Heinrichs & Zakzanis 1998). Ein erblicher Effekt des verbalen Gedächtnisses ist ebenfalls beschrieben worden (Tuulio-Henriksson et al. 2002). Bei einem Teil der betroffenen Patienten fanden sich Abnormalitäten im medialen Temporallappen und Frontallappen (Wagner 2002; Weinberger 1999). Einige Studien beobachteten bei Erkrankten und ihren gesunden biologischen Verwandten eine

2 Einleitung

Verminderung der temporalen kortikalen und hippocampalen Volumina (O'Driscoll et al. 2001; Seidman et al. 2002). Verantwortliche Gene sind u.a. vermutlich DISC1 und das Gen für den translin-associated factor (TSNAX) sowie der Locus 4q21 (Cannon et al. 2005b; Paunio et al. 2004).

Insgesamt existieren hinsichtlich der Ausprägung des **visuellen Gedächtnisses** bei Schizophrenie deutlich weniger Daten als bei den anderen Gedächtnisdomänen (Skellley et al. 2008). Dieser mnestiche Bereich weist ebenfalls Abnormalitäten bei Erkrankten auf (Knight et al. 1985; Snitz et al. 2006). Eine Beeinträchtigung des visuellen Gedächtnisses bei biologischen Verwandten schizophrener Patienten ist ebenfalls bekannt (Delawalla et al. 2006; Stolz et al. 2012). Beobachtet wurde des Weiteren, dass ein Haplotyp von DISC1 mit defizitären Leistungen in einigen visuellen Gedächtnistests assoziiert ist (Hennah et al. 2005).

Auch **verzögerte Gedächtnisfunktionen** kommen als Endophänotypen der Schizophrenie in Frage. Störungen des Langzeitgedächtnisses sind bei an Schizophrenie erkrankten Patienten maßgeblich vorhanden, wobei die Enkodierung und der Abruf deklarativer Gedächtnisinhalte schwerer betroffen sind als die Informationsspeicherung selbst. Ausgeprägte Defizite finden sich im episodischen Gedächtnis. Diese Störungen erwiesen sich im Krankheitsverlauf als stabil (Ranganath et al. 2008). Auch bei nicht erkrankten biologischen Verwandten wurden abweichende Leistungen des Langzeitgedächtnisses beobachtet (Faraone et al. 1999). Bildgebende Untersuchungen des Hirns zeigten bei Erkrankten Dysfunktionen des Frontal- und medialen Temporallappens sowie des Hippocampus, die mit diesen Gedächtnisdefiziten einhergingen (Aleman et al. 1999; Ranganath et al. 2008). Einige Forscher vermuten als zugrunde liegenden Mechanismus Abnormalitäten im frontotemporalen Schaltkreis (Ranganath et al. 2008). Vermutlich führen interagierende Effekte zahlreicher Gene zu Störungen der synaptischen Plastizität bzw. LTP (Carter 2006).

Gedächtnisfunktionen scheinen die von Gottesman & Gould (2003) postulierten Anforderungen an Endophänotypen zu erfüllen. Die Suche nach den genetischen Faktoren von Gedächtnisleistungen soll auch die krankheitsassoziierten Gene in Erfahrung bringen. Es wird angenommen, dass Gedächtnisprozessen eine Vielzahl von Genen zugrunde liegt. Eines davon ist das Gen für die Phosphodiesterase 4B (PDE4B), welches gleichzeitig als Risikogen für Schizophrenie diskutiert wird. Der Zusammenhang zwischen der PDE4B und dem Gedächtnis sowie der Schizophrenie wird im Folgenden erläutert.

2.4 Phosphodiesterasen

Phosphodiesterasen (PDE) können in drei Klassen eingeteilt werden. Die PDE der Säugetiere gehören der Klasse I an (Conti & Beavo 2007). Anhand der Struktur und funktionellen Eigenschaften der PDE werden elf Familien innerhalb dieser Klasse unterschieden (siehe Tabelle 2-6).

Tab. 2-6: PDE-Familien, modifiziert nach Omori & Kotera (2007).

PDE-Familie	Substrat	Gene	Vorkommen
PDE1	cAMP und cGMP	PDE1A, B, C	Gehirn, glatte Muskulatur, Herz, Hoden
PDE2	cAMP und cGMP	PDE2A	Gehirn, Herz, Nebennierenrinde
PDE3	cAMP und cGMP	PDE3A, B	Herz, glatte Muskulatur, Fettgewebe, Thrombozyten
PDE4	cAMP	PDE4A, B, C, D	ubiquitär
PDE5	cGMP	PDE5A	Glatte Muskulatur, Thrombozyten, Kleinhirn
PDE6	cGMP	PDE6A, B, C	Retina
PDE7	cAMP	PDE7A, B	Skelettmuskulatur, Immunzellen, Gehirn
PDE8	cAMP	PDE8A, B	Immunzellen, Leber, Nieren, Schilddrüse, Hoden
PDE9	cGMP	PDE9A	Gehirn, Nieren
PDE10	cAMP und cGMP	PDE10A	Gehirn, Hoden
PDE11	cAMP und cGMP	PDE11A	Prostata, Hoden, Skelettmuskulatur

Jede Familie besteht aus den Proteinprodukten mehrerer Gene, wobei meist multiple isogenetische PDE-Formen existieren. Bisher wurden insgesamt 21 PDE-Gene und mehr als 100 Isoformen identifiziert (Wang et al. 2007). Bei der PDE4-Familie sind vier Gene vorhanden, von denen alle Isoformen dieser Familie ausgehen (siehe Tabelle 2-7). Die große Anzahl der Isoenzyme wird durch das Vorhandensein mehrerer Promoter sowie alternatives Spleißen erreicht, sodass PDE mit ausgeprägter Gewebs- und Zellspezifität entstehen können (Conti & Beavo 2007).

Tab. 2-7: Die PDE4-Familie.

PDE4-Isoform	Chromosomale Lokalisation beim Menschen	Vorkommen
PDE4A	19p13.2 ^[1]	Zahlreiche Gewebe, u.a. olfaktorisches System, Immunzellen, Hoden und Gehirn ^[2]
PDE4B	1p31 ^[1]	Zahlreiche Gewebe, vor allem Immunzellen und Gehirn ^[2]
PDE4C	19p13.11 ^[1]	Lunge, Hoden, einige neuronale Zelllinien ^[2]
PDE4D	5q12 ^[1]	Zahlreiche Gewebe, u.a. Gehirn und Immunzellen ^[2]

[1]: Omori & Kotera (2007), [2]: Bender & Beavo (2006).

Es wird angenommen, dass jede PDE-Familie gewebs- bzw. zellspezifisch auftritt und somit auch über spezifische physiologische Funktionen verfügt (siehe Tabelle 2-6, 2-7 und 2-8).

2 Einleitung

Tab. 2-8: Funktionen der verschiedenen PDE-Familien, modifiziert nach Bender & Beavo (2006).

PDE4-Familie	Funktion(en)
PDE1	Regulation der Kontraktion und Proliferation glatter Gefäßmuskulatur, Spermienfunktion, Dopamin-abhängigen Signalkaskade und Immunzellaktivierung
PDE2	Regulation von Interaktionen zwischen der cAMP- und cGMP-abhängigen Signaltransduktion, der Aldosteronsekretion, der Phosphorylierung kardialer Calciumkanäle, von Gedächtnisfunktionen und der Barrierfunktion von Endothelzellen bei Entzündungen
PDE3	Regulation der kardialen Kontraktilität, Plättchenhemmung, Kontraktion glatter Gefäßmuskulatur, Eizellreifung, Reninsekretion, Insulinwirkung und der Zellproliferation
PDE4	Regulation von einem breiten Spektrum von Prozessen im Hirn, in Immunzellen und in der glatten Gefäßmuskulatur sowie Modulierung der kardialen Kontraktilität und Fertilität
PDE5	Regulation der Kontraktion glatter Gefäßmuskulatur im Penis und in der Lunge, Plättchenaggregation und von Hirnfunktionen
PDE6	Regulation der Signaltransduktion in Photorezeptoren des Auges und der Melatoninsekretion
PDE7	Regulation der Aktivierung von Immunzellen
PDE8	Regulation der T-Zellaktivierung und Spermienfunktion
PDE9	Hirnfunktionen
PDE10	Lern- und Gedächtnisfunktionen
PDE11	Spermienfunktionen

2.4.1. Die Struktur von Phosphodiesterasen

Bei Wirbeltieren kommen PDE meist in Form von Dimeren vor (Manganiello et al. 1995). Das Monomer besteht aus drei Proteindomänen (Conti & Beavo 2007). Die katalytische Domäne nahe dem C-Terminus besteht aus einem spezieübergreifenden hochkonservierten Bereich aus ca. 270 Aminosäuren. Dies entspricht einer etwa 75%-igen Sequenzhomologie unter den PDE einer Familie (Charbonneau 1990; Manganiello et al. 1995). Das aktive Zentrum weist neben der Substratbindungsstelle zwei bivalente Kationen wie das Zink- oder Magnesiumion als Kofaktoren auf (Xu 2000). Die N-terminale Domäne enthält verschiedene Bindungsstellen, die der Regulation der Enzymaktivität, der Dimerisierung und der Ligandbindung dienen. In den N-Termini unterscheiden sich isogenetische PDE maßgeblich voneinander. Die N-terminale Region dient auch der PDE-Lokalisierung in verschiedene zelluläre Kompartimente und somit der Generierung kompartmentspezifischer cAMP-Signale. Die Funktion der C-terminalen Domäne ist zum Großteil noch unbekannt (Conti & Beavo 2007). Die Abbildung 2-1 zeigt den schematischen Aufbau von Phosphodiesterasen.

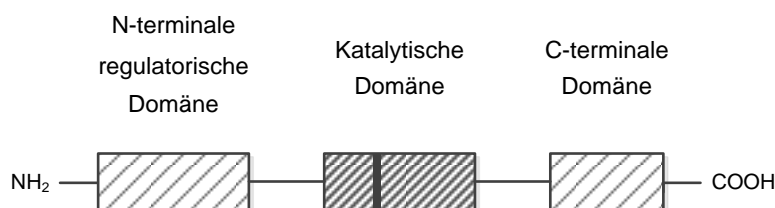


Abb. 2-1: Allgemeiner Aufbau von PDE. Die Domänen sind nicht im realistischen Verhältnis zueinander dargestellt. Modifiziert nach Dousa (1999).

2.4.2 Die Rolle von Phosphodiesterasen bei der zellulären Signaltransduktion

PDE spielen in der Signaltransduktion als Regulator der intrazellulären cAMP-Konzentration bzw. der Konzentration des zyklischen Guanosinmonophosphats (cGMP) eine wesentliche Rolle. Dabei docken extrazelluläre Botenstoffe an Rezeptoren der Membranaußenseite der Zielzelle und lösen dadurch eine Reaktionskaskade aus. Es kommt zu einer Aktivierung von Guanosintriphosphat (GTP)-bindenden Proteinen, die die sogenannte Adenylylzyklase entweder stimulieren oder hemmen. Stickstoffmonoxid hingegen stimuliert die Guanylylzyklase. Die Adenylylzyklase katalysiert die Synthese des cAMP aus Adenosintriphosphat (ATP), während die Guanylylzyklase das cGMP aus Guanosintriphosphat (GTP) bildet. cAMP und cGMP sind zelluläre Botenstoffe und werden auch *second messenger* genannt. cAMP aktiviert die Proteinkinase vom Typ A (PKA), cGMP bewirkt die Aktivierung der Proteinkinase vom Typ G. Beide Proteinkinasen katalysieren die Phosphorylierung von Proteinen, wodurch es sowohl zur Aktivierung als auch zur Inaktivierung dieser Moleküle kommen kann. Dabei phosphoryliert die PKA u.a. den Transkriptionsfaktor cAMP response element-binding protein (CREB) und aktiviert diesen. Dadurch kann die nukleäre Genexpression moduliert werden (Reneerkens et al. 2009). Auch Ionenkanäle und durch cAMP regulierte GTP-Austauschfaktoren können durch zyklische Nukleotide moduliert werden (Omori & Kotera 2007). Eine schematische Darstellung der cAMP-abhängigen Signalkaskade findet sich in Abbildung 2-2.

Die intrazelluläre Konzentration von cAMP und cGMP bestimmt die Stärke der Signaltransduktion. PDE dienen dem Abbau dieser zyklischen Nukleotide, die unter Bildung des nichtzyklischen 5'-Adenosinmonophosphat (5'-AMP) bzw. 5'-Guanosinmonophosphat (5'-GMP) durch Hydrolyse der 3'-Phosphatesterbindung inaktiviert werden (Beavo 1995; Butcher & Sutherland 1962) (siehe Abbildung 2-3). Die Aktivität der PDE beeinflusst mittels Eingreifen in die zellulären cAMP-abhängigen Signalprozesse die Modulation zellulärer Funktionen (Beavo 1995; Omori & Kotera 2007).

PDE schaffen – u.a. durch Interaktionen mit verschiedenen zellulären Zielproteinen – unterschiedliche funktionelle und räumliche cAMP-Pools innerhalb einer Zelle. Diese intrazelluläre Kompartimentierung cAMP-abhängiger Signale erlaubt eine gezielte Modifizierung lokaler Proteine (Houslay & Adams 2003). Anhand der Interaktionsmöglichkeiten von PDE4 soll dieser Umstand genauer erläutert werden. Es wird z.B. angenommen, dass Myomegalin, ein im Zentrosomen-/Golgebereich lokalisiertes Protein, mit der N-terminalen Region der PDE4D3 reagieren und somit eine Zielmodifizierung in Richtung des Golgiareals der Zelle bewirken kann (Verde et al. 2001). Die PDE4A4/5 und PDE4D4 können Tyrosinkinasen mit einer SH3-Domäne binden, womit

2 Einleitung

sich der Wirkungsort der PDE in die Zellperipherie verlagert (Beard et al. 2002). Auch β -Arrestin ist eines der Moleküle, das in die örtliche Spezifizierung der PDE4-Wirkung eingreift. Dieses Protein bindet den phosphorylierten β -adrenergen Rezeptor und bewirkt dessen Entkoppelung vom G_s -Protein und somit eine Terminierung des β -Rezeptor-Signals. Durch eine Komplexbildung des β -Arrestins mit PDE4 kann diese zum Ort des zu inaktivierenden Rezeptorsignals rekrutiert werden (Perry et al. 2002). Bekannt sind außerdem Interaktionen mit A-Kinase Anchor Proteinen (AKAP), die Interaktion der PDE4D3 mit AKAP450 und einem muskelspezifischen AKAP, die in Form einer Relokalisation der PDE in Herzmuskelzellen für eine pathophysiologische Komponente der hypertrophen Kardiomyopathie verantwortlich ist (Dodge et al. 2001). Untersuchungen zeigen, dass das Receptor for Activated C Kinase 1-Protein (RACK1), welches eine Vielzahl anderer Moleküle binden kann, mit PDE4D5 interagieren kann. Vermutlich wird dadurch das Ausmaß der PKA-abhängigen Phosphorylierung der mit diesem Protein assoziierten Proteine reguliert (Bolger et al. 2002).

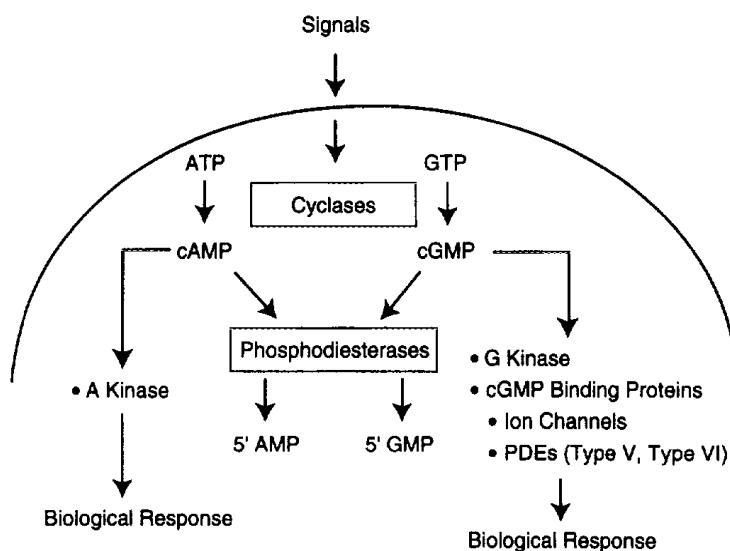


Abb. 2-2: Im Rahmen der Signaltransduktion wandeln PDE cAMP bzw. cGMP in 5'-AMP bzw. 5'-GMP um (Manganiello et al. 1995).

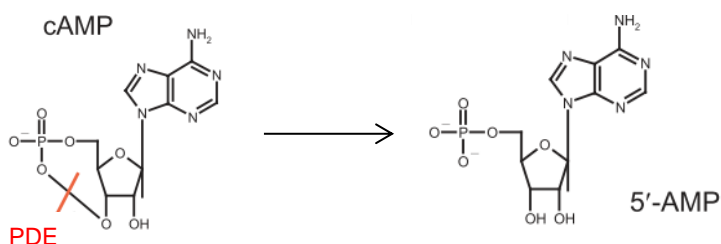


Abb. 2-3: PDE spalten die 3'-Phosphatesterbindung im cAMP-Molekül, modifiziert nach Zhang et al. (2005).

2.4.3 Das Gen PDE4B und sein Genprodukt

2.4.3.1 Struktur des PDE4B-Gens

Die Synthese von Phosphodiesterasen der Familie 4 (PDE4) basiert auf den Genen für die Phosphodiesterase 4A (PDE4A), PDE4B, Phosphodiesterase 4C (PDE4C) und Phosphodiesterase 4D (PDE4D), wobei von jedem Gen mehrere Isoenzyme kodiert werden. Diese entstehen durch das alternative Spleißen der mRNA sowie die Verwendung alternativer Startcodons mit der Ausbildung variabler Exons am 5'-Ende und somit der Entstehung der Isoform-spezifischen N-Termini (Houslay 2010; Houslay & Adams 2003). Insgesamt sind bis dato mehr als 20 gewebsspezifische Isoformen der PDE4-Familie bekannt (Bender & Beavo 2006). So gibt es sechs Isoformen der PDE4B, die sich alle vom Gen B ableiten (Cheung et al. 2007; Houslay & Adams 2003).

Das PDE4B-Gen ist bei Menschen auf dem kurzen Arm des Chromosomen 1 an der Stelle p31 lokalisiert. Es liegt auf dem Plusstrang und besteht aus 582070 Basen. Die Anzahl der Exons beträgt 24 (PubMed 2014).

2.4.3.2 Struktur und Eigenschaften der PDE4B

Auch die PDE4B setzt sich aus der katalytischen, der N- und der C-terminalen Domäne zusammen. Die katalytische Domäne der PDE4B wurde anhand der PDE4B2D auf atomarer Ebene untersucht. Es wurde festgestellt, dass diese Domäne aus drei Subdomänen besteht, die von insgesamt 17 Helices gebildet werden (Xu 2000). Eine hydrophobe Region ist für die Bindung des Purinringes von cAMP zuständig, wobei die Ausrichtung der Amidgruppe des in diesem Bereich enthaltenen Glutamins für die cAMP-Spezifität der PDE4B verantwortlich ist (Card et al. 2004).

Es werden lange, kurze und ultrakurze Formen der PDE4B unterschieden (siehe Abbildung 2-4 und 2-5). Bei den langen Enzymformen (PDE4B1, PDE4B3 und PDE4B4) sind die Bereiche *upstream conserved region 1* und 2 (UCR 1 und 2) zu finden, die für die Regulierung der Enzymaktivität zuständig sind. In der UCR1 befindet sich die Stelle für eine PKA-katalysierte Phosphorylierung, die eine Enzymaktivierung zur Folge hat. Die Enzymaktivität kann außerdem über UCR-vermittelte, direkte Protein-Protein-Interaktion erfolgen. Zudem spielen die beiden UCR eine Rolle bei der Dimerisierung langer Isoformen. Die kurzen Isoformen (PDE4B2A und PDE4B2B) weisen die UCR1 nicht auf (Cheung et al. 2007). Die UCR1 ist bei der ultrakurzen Form (PDE4B5) ebenfalls nicht vorhanden. Hier ist die UCR2 zusätzlich verkürzt. Zwischen UCR 1 und UCR 2 sowie UCR1 und der katalytischen Region liegen je eine Linkerregion (LR 1 bzw. LR2).

2 Einleitung

Die Ausbildung verschiedener Isoformlängen beruht auf alternativen Spleißstellen. Eine davon dient der Entstehung langer Isoformen. Von einer zweiten, die sich zwischen UCR 1 und UCR 2 befindet, geht die kurze PDE4B2 aus. Ein weitere in UCR 2 ermöglicht die Ausbildung der ultrakurzen PDE4B5 (Cheung et al. 2007).

Die Existenz verschiedener, alternativ als Transkriptionsstart genutzter 5'-Exons dient der Bildung Isoform-spezifischer N-Termini (siehe Abbildung 2-5) (Cheung et al. 2007; Houslay 2010; Houslay & Adams 2003).

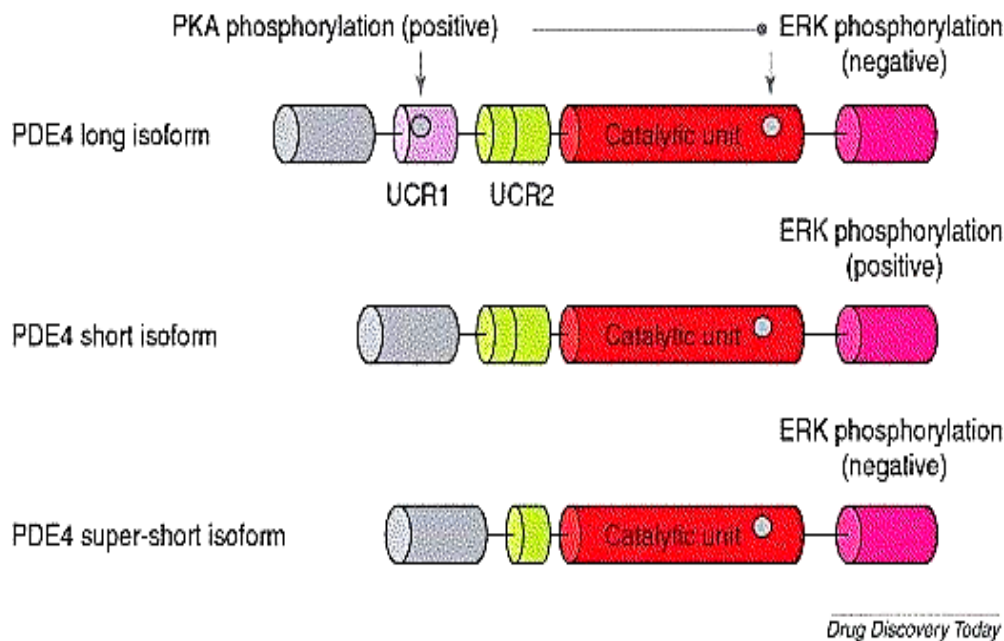


Abb. 2-4: Struktur der PDE4-Isoformen. Die N-terminale Region ist in grau, die katalytische Einheit in rot und die C-terminale Region in pink dargestellt (Houslay et al. 2005). UCR: upstream conserved region, ERK: Extracellular-signal Regulated Kinase.

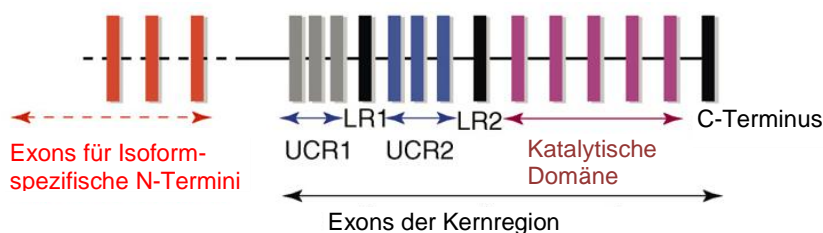


Abb. 2-5: Struktur der PDE4-Isoformen, modifiziert nach Houslay (2010). UCR: Upstream conserved region. LR: Linker Region.

Mehrere Forschergruppen, insbesondere Cheung et al. (2007), Huston et al. (1997) und Shepherd et al. (2003), befassten sich mit den Eigenschaften der einzelnen PDE4B-Isoformen. Neben den Unterschieden bezüglich Anzahl der (N-terminalen) Aminosäuren, Isoformlänge und Masse bestehen auch Abweichungen hinsichtlich kinetischer Charakteristika wie der Michaelis-Konstante, der Reaktionsgeschwindigkeit sowie des Verhaltens gegenüber dem PDE4-spezifischen Inhibitor Rolipram (siehe Tabelle 2-9). Eine

2 Einleitung

zunehmende Aminosäurenlänge bedingt eine größere Masse des Moleküls. Auch die Anzahl der N-terminalen Aminosäuren steigt mit der Gesamtlänge (außer bei PDE4B4). PDE4B2 scheint am stärksten auf eine Rolipram-gesteuerte Inhibition anzusprechen, während PDE4B5 am wenigsten durch Rolipram hemmbar zu sein scheint. Der optimale pH-Wert für die PDE4B-Aktivität liegt bei 8,0 (Wang et al. 1997). Die PDE4 und somit die PDE4B weist zu cAMP eine viel höhere Affinität auf als zu cGMP (Wang et al. 2007), d.h. sie sind cAMP-spezifisch (Huston et al. 1997).

Tab. 2-9: Eigenschaften der PDE4B-Isoformen.

	PDE4B1	PDE4B2	PDE4B3	PDE4B4	PDE4B5
Isoformlänge	lang	kurz	lang	lang	ultrakurz
Anzahl der Aminosäuren	736	564	721	659	484
Masse (kDa)	104	68	103	85	58
Anzahl der N-terminalen Aminosäuren	94	39	79	17	16
Km für cAMP (μM)	2,0	2,6	1,5	5,4	5,8
Vmax	1,0 ^[1]	3,8 ^[1]	1,6 ^[1]	2,1 ^[1]	18 ^[2]
IC₅₀ bei Rolipramgabe bei 1 μM cAMP (nM)	80	20	50	83	380

[1]: im Vergleich zur V_{max} der PDE4B1, [2]: im Vergleich zur V_{max} der PDE4B2.

2.4.3.3 Vorkommen und Funktionen der PDE4B

Die Gewebs- bzw. Zelllokalisierung der PDE4B ist isoformspezifisch, wobei eine Vielzahl verschiedener Gewebe über PDE4B verfügen (Omori & Kotera 2007). Säugetiere weisen alle PDE4B-Isoformen auf (Shepherd et al. 2003). Bei Menschen wurde die PDE4B im zahlreichen Regionen des Gehirns entdeckt. Cherry & Davis (1999) detektierten die PDE4B im Hypothalamus (v.a. Nuclei paraventricularis und supraopticus), in der Hypophyse und Amygdala sowie in den Basalganglien einschließlich des Striatums und dem Globus pallidus. Hohe Spiegel wurden auch im Frontalkortex, im Riechkolben und im Nucleus accumbens gefunden. Auch im Kleinhirn und Hirnstamm sowie in der weißen Hirnsubstanz wurde die PDE4B nachgewiesen (Cherry & Davis 1999; Pérez-Torres et al. 2000). Mit den Vorgängen der Emesis assoziierte Hirnstammareale des Menschen weisen ebenso die PDE4B auf (Mori et al. 2010). Das Verteilungsmuster im Affenhirn ist dem bei Menschen ähnlich. In Rattenhirn zeigte sich ein fast ubiquitäres Vorhandensein der PDE4B, ebenfalls ähnlich dem menschlichen Hirn (Pérez-Torres et al. 2000). So weisen bei Ratten insbesondere das Gehirn und Herz sowie die Niere und Hoden die PDE4B auf (Manganiello et al. 1995). Die PDE4B wurde auch in der CA1-Region und im Gyrus dentatus des Hippocampus, einem mit Gedächtnisfunktionen assoziierten Areal, entdeckt. In den hippocampalen Schaffer-Kollateralen derselben Tierart kommt die Isoform PDE4B3 vor (Ahmed & Frey 2003).

Für die einzelnen Varianten der PDE4B wurden weitere zusätzliche Lokalisationen ausfindig

2 Einleitung

gemacht. Dabei findet sich die PDE4B1 in der Lunge (Zhang et al. 2005b). Die PDE4B2 kommt z.B. vor allem in neutrophilen Granulozyten und B-Lymphozyten vor (Wang et al. 1999). In Ratten ist die PDE4B3 in Herz, Lunge, Leber und Gehirn lokalisiert. Die PDE4B4 ist in Leber und Gehirn von Ratten vorhanden (Shepherd et al. 2003). Neuere Untersuchungen zeigen ein Vorkommen dieser Isoform im menschlichen Hirn (Fatemi et al. 2008). Die PDE4B5 scheint hirnspezifisch zu sein (Cheung et al. 2007).

Studien haben für die PDE4B eine Vielfalt von Funktionen aufgezeigt. Eine Beteiligung der PDE4B bei der angeborenen Neuroinflammation wird vermutet (Johansson et al. 2011). Untersuchungen an Tiermodellen für die Multiple Sklerose ergaben eine Beteiligung der PDE4B2 an neurologischen Entzündungsprozessen (Reyes-Irisarri et al. 2007). Die Zytokin-abhängige T-Zell-Differenzierung bei der Pathogenese dieser Erkrankung soll durch die PDE4B moduliert sein (Sanabra et al. 2013). Zudem wird bei Entzündungsprozessen nach einem Hirntrauma die PDE4B2 vermehrt exprimiert (Oliva et al. 2012).

Vermutlich werden die meisten Immunvorgänge durch die PDE4B beeinflusst (Conti & Beavo 2007). Sie spielt neben der PDE4D eine Hauptrolle in Immunzellen. Die PDE4B ist die dominante Isoform in neutrophilen Granulozyten und Monozyten (Wang et al. 1999). Etliche Studien konstatierten die Notwendigkeit der PDE4B für die Lipopolysaccharid (LPS)-stimulierte Immunantwort. Unter anderem erschlossen Jin & Conti (2002) die Funktion der PDE4B für die LPS-abhängige Bildung des Tumornekrosefaktors α in Immunzellen. Ariga et al. (2004) beschrieben die Beteiligung der PDE4B an der Ausbildung von Adhäsionsmolekülen neutrophiler Granulozyten und somit an deren Rekrutierung bei der Chemotaxis in LPS-induzierten Entzündungsprozessen der Lunge.

Auch bei der Ausbildung der LPS-abhängigen vaskulären Permeabilität soll die PDE4B eine Rolle spielen. Dabei soll die Blockade der PDE4B beim akuten Lungenversagen positiv auf den Krankheitsverlauf wirken (Ma et al. 2014). Eine Mitwirkung an der Entstehung der bronchialen Hyperreagibilität und T-Zell-stimulierten Entzündungsvorgängen bei allergischem Asthma wird der PDE4B ebenfalls zugeschrieben (Jin et al. 2010). Pathophysiologische Prozesse von Fibroblasten bei der Ausbildung einer Lungenfibrose scheinen außerdem durch die PDE4B beeinflusst zu werden (Selige et al. 2011).

In Choletase-bedingten Leberveränderungen greift die PDE4B scheinbar ebenfalls ein (Gobejishvili et al. 2013).

Die PDE4B reduziert vermutlich die cAMP-stimulierte Apoptose und trägt somit zur Entstehung Chemotherapie-refraktärer B-Zell-Lymphomen bei (Tiwari et al. 2005). Auch das Ansprechen dieser Lymphome auf Glukokortikoide wird vermutlich u.a. durch die PDE4B reguliert (Kim et al. 2011).

Leroy et al. (2011) fanden die PDE4B in kardialen Calciumkanälen vom L-Typ bei Mäusen, wo sie über die Regulation des kardialen Calciumhaushaltes eine arrhythmische Funktion

2 Einleitung

übernehmen sollen. Außerdem soll die PDE4B im kardialen Sarkolemm das β 1-adrenerg bedingte cAMP-Signal regulieren (Mika et al. 2014).

Weitere Studien fanden eine veränderte PDE4B-Expression bei Patienten mit einem kolorektalen Karzinom (Tsunoda et al. 2012) und Prostatakarzinom (Kashiwagi et al. 2012).

2.4.3.4 Die Regulation der PDE4B

Die Genregulation ist eine langsam verlaufende Kontrolle der Enzymaktivität. Für die Genregulation von PDE4-Enzymen sind in verschiedenen Zelltypen variierende Regulationsmechanismen beschrieben worden. So kann die Genexpression durch cAMP selbst oder cAMP-steigernde Substanzen beeinflusst werden (Conti & Blendy 2004). Dabei kommt es zu einer PKA-Aktivierung, die wiederum zu einer Transkriptionsinduktion führt. Grundlage dafür ist die über den Transkriptionsfaktor CREB vermittelte Promoterbeeinflussung. CREB bindet dabei das cAMP response element (CRE), welches sich in der 5'-Genregion befindet, sodass eine Hochregulierung der Genexpression stattfindet (D'Sa et al. 2002).

Neben den allgemeinen Mechanismen der Genregulation von PDE4 gibt es biochemische, externe Substanzen, die speziell die Genexpression der PDE4B beeinflussen können. So wurde in menschlichen Monozyten der U937-Zelllinie, einer ursprünglich aus einem menschlichen Lymphom isolierten Zelllinie zur Untersuchung der Monozytendifferenzierung, beobachtet, dass ein β -Agonist als cAMP-stimulierende Substanz zu einer Zunahme der Menge an PDE4B-mRNA führt (Torphy et al. 1995). Auch bei der Differenzierung der U937-Zellen fand sich eine vermehrte PDE4B2-Expression (Shepherd et al. 2004). In Monozyten konnte ein Anstieg der PDE4B-Expression durch LPS, Interleukin 4 und 10 ausgelöst werden (Ma et al. 1999), ein durch das Rauchen ebenfalls generierbarer Effekt (Barber et al. 2004). Des Weiteren kommt es in Ratten zu einer Zunahme der PDE4B3-Transkriptionsrate durch eine 7-oxo-Prostazyklin-vermittelte Stimulation (Kostic et al. 1997).

Die Regulation der Enzymaktivität selbst ermöglicht eine schnelle Modulation der PDE-Aktivität. Jede einzelne Isoform wird individuell reguliert. Dies wird durch das Vorhandensein isoformspezifischer N-Termini erreicht (Conti & Beavo 2007). Die Aktivitätsmodulation beruht dabei auf zahlreichen posttranslationalen Mechanismen, die eine Beeinflussung der Signallänge durch cAMP ermöglichen (Houslay & Adams 2003). Die UCR1 der langen Isoformen PDE4B1, PDE4B3 und PDE4B4 enthält am Serin54 eine Phosphatbindungsstelle, an der eine Phosphorylierung durch die PKA stattfinden kann (Sette & Conti 1996). Diese Phosphorylierung führt zu einem Anstieg der Enzymaktivität um ca. 60% bis 250%, möglicherweise mittels einer Störung der Interaktion zwischen den UCR1 und 2 sowie der Verbindung zwischen der UCR 2 und der katalytischen Domäne. Weitere Effekte dieses

2 Einleitung

Vorgangs sind sowohl eine Affinitätszunahme für Rolipram als auch eine Modulation der Phosphorylierung durch die Extracellular Signal-Regulated Kinase 2 (ERK2). Wie die PDE4C und PDE4D enthält auch die PDE4B in der C-terminalen Region einen spezifischen Bereich, der eine Phosphorylierung und damit eine Inaktivierung durch die ERK2 erlaubt. Der nachfolgende Anstieg der cAMP-Konzentration führt wiederum zu einer Phosphorylierung der PDE durch die PKA, sodass es wieder zu einer Aktivierung der PDE mit einem Rückgang des zellulären cAMP-Gehaltes kommt. Die ERK kann auch kurze Isoformen der PDE4 aktivieren. Auf die ultrakurzen Formen hat die ERK keinen Einfluss (Hoffmann et al. 1999).

2.4.3.5 Die PDE4B und das Gedächtnis

Eine wichtige Entdeckung in der Gedächtnisforschung war die Identifizierung der hohen Sequenzübereinstimmung zwischen der PDE4 von Säugetieren und dem Genprodukt des *dunce*-Gens der *Drosophila melanogaster* (Davis et al. 1989). Zuvor wiesen bereits etliche Wissenschaftler auf eine Beteiligung dieses Genproduktes an Lern- und Gedächtnisvorgängen der Fruchtfliege hin. So wurde in Mutanten mit verändertem *dunce*-Gen eine verminderte Lern- bzw. Gedächtnisleistung beobachtet (Dudai 1988).

Untersuchungen an Tiermodellen scheinen eine Beteiligung der PDE4 am Gedächtnis zu belegen. In zahlreichen Studien bewirkten PDE4-Inhibitoren eine Verbesserung verschiedener Gedächtnisleistungen von Nagetieren. Das räumliche Gedächtnis gesunder Nagetiere zeigte nach Rolipramgabe Leistungssteigerungen in verschiedenen Gedächtnistests (Bach et al. 1999; Hotte et al. 2012; Huang et al. 2007). Auch substanzerzeugte (Egawa et al. 1997; Zhang et al. 2000; Zhang et al. 2005a; Zhang & O'Donnell 2000; Zhang et al. 2004), altersabhängige (Nagakura et al. 2002) oder Ischämiebedingte Störungen des räumlichen Gedächtnisses (Li et al. 2011; Nagakura et al. 2002) konnten durch die Gabe von Rolipram teilweise behoben werden. Auch auf das Arbeitsgedächtnis übt Rolipram einen positiven Einfluss. Experimentell induzierte Defizite des Arbeitsgedächtnisses wurden nach Gabe des PDE4-Inhibitors aufgehoben (Egawa et al. 1997; Imanishi et al. 1997; Zhang et al. 2000; Zhang et al. 2005a; Zhang et al. 2004). Unter Rolipram wurden auch gesteigerte Leistungen des visuellen Gedächtnisses von Mäusen beobachtet (Akar et al. 2014a). Rolipram bewirkte sowohl bei gesunden als auch bei gedächtnisgestörten Ratten eine bessere Konsolidierung im Objektgedächtnis (Rutten et al. 2007a; Rutten et al. 2006; Rutten et al. 2007b; Rutten et al. 2008). Mehrere Forschergruppen beobachteten außerdem einen positiven Effekt des PDE4-Blockers auf divers herbeigeführte Beeinträchtigungen des passiven Vermeidungslernens (Egawa et al. 1997; Imanishi et al. 1997; Randt et al. 1982; Zhang et al. 2000; Zhang et al. 2005a; Zhang et al. 2004). Eine

2 Einleitung

Besserung des Langzeitgedächtnisses wurde nach Gabe von PDE4-Inhibitoren in Nagetieren ebenfalls erreicht (Peng et al. 2014; Peng et al. 2013), auch in solchen, die als Modell für das Rubenstein-Taybi-Syndrom (Bourtchouladze et al. 2003) oder die Alzheimer-Erkrankung (Gong et al. 2004; Wang et al. 2012) dienen.

Zhang et al. (2008) prüften PDE4B-Knockout-Mäuse auf passives Vermeidungslernen sowie mittels dem Morris Water Maze und Radial Arm Maze auf räumliche Gedächtnisfunktionen. Beim ersten Test wurden sowohl für das kurzzeitige als auch für das langfristige Behalten von Informationen keine Unterschiede zum Wildtyp gefunden. Auch im Radial Arm Maze ergaben sich keine Ungleichheiten zwischen Wildtyp und Mutanten. Die Autoren berichten jedoch von einer Zunahme der Proliferation neuronaler Zellen im Gyrus dentatus bei den genetisch modifizierten Tieren. Siuciak et al. (2008) konnten im Morris Water Maze, beim passiven Vermeidungslernen und beim Aversionslernen ebenfalls keine Auffälligkeiten bei Knockout-Mäusen erfassen. Rutten et al. (2011) konnten im Morris Water Maze lediglich ein abweichendes Umlernen bei PDE4B-Knockout-Tieren feststellen, beobachteten jedoch keine Störungen des räumlichen Gedächtnisses. In einer weiteren Studie entdeckten McGirr et al. (2016), dass Mäuse mit einer Mutation, die die katalytische Domäne der PDE4B betrifft, im Vergleich zum Wildtyp eine bessere Leistung in einer Reihe von kognitiven Tests (Y-Maze, Morris Water Maze, Social Recognition Test) erreichten. Bei der Untersuchung der Fähigkeit zur Objektlokalisierung präsentierten die Mutanten auch bei einer verkürzten Akquisitionszeit eine Präferenz für verlagerte Objekte, wobei dies beim Wildtyp nicht der Fall war. Dieses Verhalten wurde, im Gegensatz zum Wildtyp, auch bei aversiven Umweltbedingungen beobachtet. Zudem fiel bei den Knockout-Mäusen eine höhere Dichte dendritischer Fortsätze in Zellen des Hippocampus sowie eine verstärkte Neurogenese auf. Eine weitere Untersuchung zeigte, dass Mäuse mit einem induzierten Schädel-Hirn-Trauma hinsichtlich traumatisch bedingter Einbußen der Angstkonditionierung und im Water Maze sowie in der defizitären basalen synaptischen Transmission und LTP-Expression von der Gabe eines PDE4B-spezifischen Inhibitors profitierten (Titus & Wilson 2016).

Die synaptische Plastizität und LTP stellen wesentliche neurophysiologische Grundlagen des Gedächtnisses da. Da sich die cAMP/cGMP-Signalkaskaden sowohl bei der LTP als auch bei der LTD beteiligen, zielten zahlreiche Untersuchungen auf die Klärung der Bedeutung von PDE in diesem Zusammenhang. Nach Gabe von Rolipram kam es zu einer Verstärkung der LTP im hippocampalen CA1-Areal von Mäusen (Barad et al. 1998). Rolipram scheint auch in die Proteinsynthese im Rahmen der Induktion der späten Form der LTP und der LTD einzugreifen (Navakkode et al. 2004, 2005). Zu einem Anstieg der LTP kam es auch in Ratten, denen ein NMDA-R-Antagonist verabreicht wurde (Wiescholleck & Manahan-Vaughan 2012). Auch in Mäusen, die als Modell der Alzheimer-Demenz fungieren, wurde eine verstärkte LTP beobachtet (Gong et al. 2004). Eine weitere Untersuchung mit Rolipram

2 Einleitung

zeigte einen möglichen Einfluss von PDE4 auf die Phosphorylierung des AMPA-R (Oh et al. 2006; Otmakhov et al. 2004).

In Experimenten mit PDE4B-Knockout-Mäusen wurde im Gegensatz zum Wildtyp nach Stimulation neben einer Zunahme der postsynaptischen Antwort auch eine Verstärkung der LTD in hippocampalen Neuronen beobachtet. Dieser Effekt ließ sich jedoch nicht auf die LTP übertragen (Rutten et al. 2011). Eine Modulation der PDE4B3 während verschiedener LTP-Phasen im Hippocampus von Ratten wurde beschrieben (Ahmed & Frey 2003; Ahmed & Frey 2005; Ahmed et al. 2004). Ein Vorkommen der PDE4B an der postsynaptischen Membran in kultivierten Neuronen wurde von Bradshaw et al. (2008) entdeckt. McGirr et al. (2016) beschrieben bei PDE4B-Knockout-Mäusen eine verstärkte LTP sowie eine verminderte synaptische Depression nach Gabe von Depotiationsstimuli in Hippocampusneuronen.

Von einem anderen Untersuchungsansatz ausgehend prüften Tomppo et al. (2009) in einer familienbasierten Assoziationsstudie mit finnischen Probanden mögliche Assoziationen von SNPs des PDE4B-Gens mit kognitiven Funktionen. Zum Einsatz kamen neben Elementen des California Verbal Learning Test und der Wechsler Adult Intelligence Scale auch einige Subtests der Wechsler Memory Scale-Revised Edition (WMS-R). Diese Subtests zielten insbesondere auf die Überprüfung der auditorischen und visuellen Aufmerksamkeit sowie des verbalen und visuellen Arbeitsgedächtnisses. Dabei ergaben sich für den Marker rs7412571 sowie den Haplotyp CCC der SNPs rs4503327, rs25032222 und rs6588186 jedoch keine signifikanten Ergebnisse.

Die PDE4B greift in die zelluläre cAMP-abhängige Signalkaskade ein. Dass der cAMP/PKA/CREB-assoziierte Signalweg eine Kernrolle bei Gedächtnisprozessen spielt, ist durch mehrere Studien belegt. Für jede einzelne Komponente dieses Signalweges ist ein Einfluss auf das Gedächtnis beobachtet worden. Mehrere Versuche ergaben, dass sich der cAMP-abhängige Signalweg im Hippocampus durch Forskolin, einen Adenylylzyklasen-Aktivator, und Sp-cAMP, einen cAMP-Analogon, induzieren lässt und dieser Effekt in eine Steigerung der synaptischen Signalübertragung mündet (Chavez-Noriega & Stevens 1992; Pockett et al. 1993). Durch den NMDA-R-bedingten Calciueinstrom in Neuronen kam es Ca²⁺/Calmodulin-vermittelt zu einer Aktivierung der Adenylylzyklase, welche wiederum die Synthese von cAMP bewirkte (Chetkovich & Sweatt 1993). Eine Überexpression der Adenylylzyklase hatte in einer Studie von Wang et al. (2004) bessere Gedächtnisleistungen und eine verstärkte LTP zur Folge. Zusätzlich traten bei Adenylylzyklasen-defizitären Mäusen Dysfunktionen der LTP und Hippocampus-abhängiger Gedächtnisleistungen auf (Wong et al. 1999).

Versuche an wirbellosen Organismen aus den 1960er und 1970er-Jahren erbrachten die

2 Einleitung

ersten Hinweise für eine bedeutende Rolle des cAMP bei mnestischen Prozessen. In sensorischen Neuronen der *Aplysia*, die beim Kiemenverschlussreflex beteiligt sind, konnte beobachtet werden, dass eine Zunahme des zellulären cAMP-Spiegels durch Serotonin ausgelöst werden kann. Zudem konnte beobachtet werden, dass die Injektion von cAMP in sensorische Neurone der *Aplysia* zu einer verstärkten synaptischen Sekretion von Neurotransmittern führt (Brunelli et al. 1976). Serotonin war bereits zuvor als stimulierende Substanz für die synaptische Übertragung beschrieben worden (Marinesco & Carew 2002). Weiterhin wurde konstatiert, dass gedächtnisbeeinträchtigende Genmutationen in der *Drosophila* Moleküle des cAMP-Signalweges betreffen (Byers et al. 1981).

In der *Aplysia* konnte außerdem gezeigt werden, dass ein Anstieg der synaptischen Transmittersekretion durch die neuronale Injektion der katalytischen Subeinheit der PKA hervorgerufen werden kann (Castellucci et al. 1980). Bei Zugabe von PKA-Antagonisten in hippocampale Neurone konnte in mehreren Untersuchungen eine Zunahme des synaptischen Signals verhindert werden (Sanderson & Sher 2013). Bei kurzanhaltenden Gedächtnisvorgängen bewirkt die PKA eine Phosphorylierung verschiedener synaptischer Proteine, zu denen z.B. Calciumkanäle und Exozytose-abhängige Moleküle gehören. Auch die Rolle der PKA bei der LTP wurde in mehreren Untersuchungen aufgezeigt. Bei anhaltender neuronaler Stimulation kommt es zu einem längerfristigen cAMP-Anstieg mit der Aktivierung nukleärer Transkriptionsfaktoren durch die PKA und somit zu einer vermehrten Expression von Genen, deren Produkte im Langzeitgedächtnis eine Rolle spielen (Bacskai et al. 1993). Die Phosphorylierung des AMPA-R durch die PKA soll zudem die Integrierung von AMPA-R-Subeinheiten in die synaptische Membran ermöglichen (Esteban et al. 2003). Allerdings scheint die PKA nur bei bestimmten Stimulationsfrequenzen der Neurone beteiligt zu sein (Sanderson & Sher 2013). Zusätzlich wird ihr eine Funktion beim *synaptic tagging* (dt.: „synaptische Etikettierung“) zugeschrieben. Dieser Begriff bezeichnet alle für die synapsenspezifische Aufnahme gedächtnisassoziierter Proteine relevanten molekularbiologischen Prozesse in Neuronen (Frey & Morris 1997). Angenommen wird, dass die PKA-Aktivität durch verschiedene Proteinphosphatasen geblockt werden kann, die damit der Gedächtnisbildung entgegenwirken (Sharma et al. 2003).

Die vermehrte Expression bestimmter, im Langzeitgedächtnis involvierter Gene wird durch das CREB vermittelt, welches sich durch eine PKA-modulierte Phosphorylierung in einen aktiven Transkriptionsfaktor wandelt. Im Anschluss bindet es in der regulatorischen Genregion das CRE. Dadurch wird die Transkription des betreffenden Gens hochreguliert. Es wurde auch eine Form des CREB gefunden, die zur Hemmung der Gedächtnisbildung beiträgt. Die Funktion des CREB kann durch eine Vielzahl von weiteren Molekülen reguliert werden (Kandel 2012). Interessanterweise stellten Ramos et al. (2003) fest, dass sich ein niedrigerer cAMP-Spiegel positiv auf zerebrospinale Elemente kognitiver Leistungen auswirkt, während das Hippocampus-abhängige Gedächtnis eher durch einen höheren

2 Einleitung

cAMP-Gehalt gefördert wird.

Die cAMP-Signalkaskade stellt also einen zentralen Knotenpunkt in mnestischen Prozessen dar. Daher erscheint es naheliegend, dass auch die PDE4B, welche in diesen Signalweg eingreift, Einfluss auf das Gedächtnis ausüben kann.

2.4.3.6 Die PDE4B und Schizophrenie

2.4.3.6.1 Das PDE4B-Gen als Suszeptibilitätsfaktor für Schizophrenie

Das PDE4B-Gen wurde erstmals von Millar et al. (2005) in Zusammenhang mit Schizophrenie erwähnt. Bei einem an Schizophrenie erkrankten Patienten aus Schottland und seinem psychotisch erkrankten Verwandten entdeckten sie die balancierte Translokation t(1;16)(p31.2;q21). Die Translokationsstelle auf Chromosom 1 befand sich in dem Bereich, der die Isoform PDE4B1 kodiert. Die Expression dieser PDE4B1 war hierbei um 50% reduziert. Millar et al. (2005) gingen von einer Interaktion der UCR2 der PDE4B mit DISC1, einem vermuteten Risikogen der Schizophrenie, aus. Sie beobachteten bei einer aus einem humanen Neuroblastom isolierten Zelllinie die Dissoziation eines 71 kDa-DISC1-PDE4B-Komplexes bei einem PKA-vermittelten Anstieg des zellulären cAMP-Gehaltes. Daher hypothesierten sie, dass bei Notwendigkeit einer Reduktion des cAMP-Signals PDE4B von DISC1 dissoziieren kann. Murdoch et al. (2007) vermuteten, dass die 100 kb-DISC1 neben Bindungsstellen für die UCR2 und die katalytische Domäne der PDE4B noch über weitere Interaktionsstellen mit der PDE verfügt. Clapcote et al. (2007) beobachteten, dass *missense*-Mutationen von DISC1, die in Mäusen zu Schizophrenie-assoziierten Phänotypen führen, Bindungsstellen für die PDE4B betreffen. Sie stellten ebenso fest, dass Mäuse mit solchen Mutationen über eine geringere zerebrale PDE4B-Aktivität verfügen. Obwohl die exakten zellulären Funktionen der DISC1/PDE4B-Interaktion noch zu erforschen sind, kann davon ausgegangen werden, dass die Interaktion zwischen PDE4B und DISC1 mit dem Risiko für die Entwicklung von Schizophrenie einhergeht.

Für die PDE4B bestehen Zusammenhänge zu physiologischen Signalmechanismen, bei denen Gene eine Rolle spielen, die in GWAS mit Schizophrenie assoziiert waren. So wiesen Gene für mehrere Dopaminrezeptoren solche Assoziationen auf. Untersuchungen lassen auf einen Einfluss der PDE4B auf den dopaminergen Signalweg schließen. Bei Mäusen erreichen Projektionen aus der ventralen tegmentalen Region D1-Dopaminrezeptoren im PFC. Dopamin bewirkt über ein G-Protein die Bildung von cAMP. Die in der Folge aktivierte PKA phosphoryliert das Dopamine- and cAMP regulated phosphoprotein of M_r 32 kDa (DARPP-32), welches daraufhin eine Proteinphosphatase hemmen kann. Diese kann weitere Moleküle durch Phosphorylierungen aktivieren oder deaktivieren und somit physiologische Folgeeffekte auslösen (Kuroiwa et al. 2012). Es wurde bereits zuvor beobachtet, dass

2 Einleitung

Rolipram zu einer erhöhten Dopaminsynthese führt (Nishi et al. 2008). Bei Rolipramgabe zu kortikalen Zellen von Mäusen beobachteten Kuroiwa et al. (2012) eine Phosphorylierung des DARPP-32. Außerdem wurde festgestellt, dass das DARPP-32 und die PDE4B beide in kortikothalamischen Pyramidenzellen des frontalen Kortex vorkommen. Auch der Dopaminstoffwechsel im Striatum scheint u.a. durch die PDE4B reguliert zu sein. In einer Studie von Nishi et al. (2008) kam es nach Rolipramgabe zu einer erhöhten Dopaminsynthese in striatalen Neuronen der Maus. Des Weiteren stellten sie bei Anwesenheit des PDE4-Inhibitors eine Phosphorylierung des DARPP-32 mit anschließender Stimulierung des cAMP-Signalweges in striatopallidalen Zellen fest. Zudem ist bereits bekannt, dass der cAMP-Signalweg über eine wesentliche Funktion für die Dopaminsynthese und –sekretion in nigrostriatalen Neuronen von Säugetieren verfügt (Nishi et al. 2008) und die PDE4B insbesondere im Striatum vorkommt (Cherry & Davis 1999).

Für mehrere Gene, deren Produkte synaptische Funktionen übernehmen, konnten ebenfalls Assoziationen mit Schizophrenie gezeigt werden. Wie im Kapitel 2.4.3.5 bereits ausführlich dargestellt, ist für diese Prozesse der cAMP/PKA/CREB-assoziierte Signalweg von essentieller Bedeutung. Bekanntlich greift die PDE4B in die cAMP-abhängige Signalkaskade ein.

GWAS ergaben des Weiteren, dass in immunaktiven Geweben, z.B. in B-Lymphozyten, vermehrt exprimierte Gene mit Schizophrenie assoziiert sind. Zahlreiche Immunvorgänge werden durch die PDE4B beeinflusst. Die PDE4B stellt die dominante Isoform in neutrophilen Granulozyten und Monozyten dar (Wang et al. 1999). Jin & Conti (2002) und Ariga et al. (2004) konnten zeigen, dass die PDE4B eine bedeutende Komponente bei der LPS-stimulierten Immunantwort darstellt.

Auch für ein weiteres Kandidatengen der Schizophrenie wurde eine Interaktion mit PDE4B beschrieben. So gehen Girgenti et al. (2012) davon aus, dass die Transkription des PDE4B-Gens durch ZNF804A herabreguliert wird, ohne jedoch die zugrundeliegenden zellulären Mechanismen dieses Prozesses zu benennen.

2.4.3.6.2 Verhaltensstudien an Knockout-Mäusen und pharmakologische Studien

Mehrere Studienergebnisse lassen eine Relevanz der PDE4B in pathophysiologischen Mechanismen der Schizophrenie vermuten. Siuciak et al. (2008) beobachteten bei Knockout-Mäusen, bei denen das PDE4B-Gen ausgeschaltet worden war, eine verminderte Präpulsinhibition (PPI), die als Zeichen eines beeinträchtigten sensorischen *gatings* ebenfalls bei an Schizophrenie Erkrankten auftritt. Die Autoren vermuten als Ursache für die Reduktion der PPI Veränderungen des zerebralen Dopamin- und Serotoninhaushalts. Clapcote et al. (2007) stellten bei Mäusen mit einer Mutation im DISC1-Gen fest, dass die PPI ebenfalls reduziert ist, wobei die PDE4B als Interaktor von DISC1 bekannt ist (Millar et al. 2005).

2 Einleitung

Vermutlich spielt die PDE4B tatsächlich eine Rolle bei der PPI, einem möglichen Endophänotypen der Schizophrenie.

Auch Studien mit Rolipram, einem Isoform-unspezifischen PDE4-Hemmer, deuten auf eine Rolle der PDE4 bei der Schizophrenie. Bisher berichtete nur eine einzige Studie über die Verabreichung von Rolipram bei an Schizophrenie erkrankten Patienten. Diese zeigten eine klinische Besserung in der ersten Behandlungswoche (Pietzcker et al. 1979). Zahlreiche weitere Studien offenbarten eine Behebung Schizophrenie-assoziiierter Phänotypen in Nagetieren nach Rolipramgabe. Es kam u.a. zu einem Rückgang der Methamphetamin-induzierten Hyperaktivität (Mori et al. 2000), der Amphetamin-bedingten auditiven Wahrnehmungsstörungen (Maxwell et al. 2004), der Defizite in der latenten Hemmung (Davis & Gould 2005) und der Amphetamin-induzierten Störungen in der PPI (Kanes et al. 2007). Siuciak et al. (2007) vermuten, dass der antipsychotische Effekt von Rolipram durch PDE4B vermittelt wird. Rolipram wies in dieser Untersuchung einen hemmenden Einfluss auf die konditionierte Vermeidungsreaktion auf. Konditionierte Tiere zeigen ein Vermeidungsverhalten nach Applikation eines Fußschockes, welches durch antipsychotische Substanzen beeinträchtigt werden kann, sodass die Potenz dieser Therapeutika anhand der Ausprägung der Vermeidungsantwort gemessen werden kann. In PDE4B-Knockout-Mäusen fiel diese Hemmung geringer aus.

2.4.3.6.3 Assoziationsstudien

Nach der Identifizierung des PDE4B-Gens als Suszeptibilitätsfaktor für Schizophrenie fokussierten Assoziationsstudien vermehrt auf dieses Gen. Die bisherigen Studien ergaben hinsichtlich einer Assoziation des PDE4B-Gens mit Schizophrenie uneinheitliche Befunde. Interessanterweise fanden Pickard et al. (2007) einen 7-SNP-Haplotyp, der bei Frauen einen protektiven Effekt auf die Erkrankung zeigte. In einer Untersuchung von Fatemi et al. (2008) ergaben sich in zwei verschiedenen Populationen (Kaukasier und Afroamerikaner) unterschiedliche, jedoch z.T. überschneidende signifikante Assoziationen zwischen den betrachteten Polymorphismen und Schizophrenie. Dabei lagen einige der SNPs, für die eine Assoziation gefunden wurde, im Bereich einer Spleißregion, von der die Bildung der Isoform PDE4B2 ausgeht. Dieses Resultat lässt vermuten, dass Dysregulationen der PDE4B, z.B. im Sinne intronischer Variationen, bzw. der zusammenhängenden Signaltransduktionsprozesse eine wesentliche Rolle bei der Pathogenese von Schizophrenie spielen. In Zusammenschau mit den Studienergebnissen von Millar et al. (2005) vermuten die Autoren, dass die durch die Intron-abhängige Variation der Isoform-Expression herbeigeführte Änderung des Verhältnisses einzelner Isoformen zueinander den cAMP-Signalweg und somit die Entstehung der Schizophrenie entscheidend beeinflusst. Numata et al. (2009) entdeckten

2 Einleitung

neben drei in der Gesamtstichprobe signifikant assoziierten SNPs für einen Haplotyp nur in der männlichen Stichprobe eine Assoziation. Holliday et al. (2009) fanden zwar keine Assoziationen, jedoch erstmals eine signifikante Kopplung von 1p31.1 mit der Erkrankung. Die Studie von Rastogi et al. (2009) ergab keine Assoziationen zwischen Polymorphismen des PDE4B-Gens und Schizophrenie. In einer von Kähler et al. (2010) durchgeführten Studie befanden sich vier bei Frauen assoziierte tagSNPs in einer gekoppelten Region mit der Spleißstelle für die Isoform PDE4B3. Mehrere von Guan et al. (2012) untersuchte, assoziierte Haplotypen lagen um eine Spleißstelle für die kurze Isoform PDE4B2. Zudem konnten sie jeweils einen in der Gesamtstichprobe sowie ausschließlich bei weiblichen Probanden assoziierten Polymorphismus detektieren.

Tab. 2-10: Assoziationsstudien über Schizophrenie. CC=Case-Control-Studie. F=Family-based Studie.

Studie	Land Ethnie	Studien- typ	Stichproben- größe		Anzahl der genotypi- sierten SNP	Ergebnisse SNP	Ergebnisse Haplotyp	Lokali- sation
			SZ	KON				
Pickard et al. 2007	Schottland Kaukasier	CC	386	455	26	negativ	positiv	Intron 3
Fatemi et al. 2008	USA Kaukasier	CC	644	407	27	positiv	positiv	Introns 3, 7, 8, 9, 12
	USA Afroameri- kaner		234	197		positiv	negativ	
Numata et al. 2009	Japan Asiaten	CC	444	452	13	positiv	positiv	Introns 7, 8
Holliday et al. 2009	Indien Asiaten	F		207	14	negativ	negativ	
Rastogi et al. 2009	Kanada Kaukasier	CC	210	210	27	negativ	negativ	
	Kanada Kaukasier	F		117				
Tomppo et al. 2009	Finnland Kaukasier	F		171	34	positiv	positiv	Intron 3
	Finnland Kaukasier			305	3			
Kähler et al. 2010	Dänemark Kaukasier	CC	419	1004	40	negativ	negativ	
	Norwegen Kaukasier		163	177				
	Schweden Kaukasier		257	292				
Guan et al. 2012	China (Han) Asiaten	CC	428	572	20	positiv	positiv	Intron 7, 8
Bae et al. 2015	Korea Asiaten	CC	457	386	8	positiv	negativ	Introns 7, 8, 9

Bae et al. (2015) fanden in ihrer Untersuchung vier mit Schizophrenie sowie einen mit einer abnormalen Augenfolgebewegung assoziierten SNP, wobei die defizitäre Augenfolgebewegung eines der am häufigsten replizierten neurobiologischen Befunde der Schizophrenie darstellt. Zudem konnten sie in einer Metaanalyse ihrer eigenen und der

2 Einleitung

Studie von Numata et al. (2009) drei SNPs mit signifikanter Assoziation mit Schizophrenie beobachten. Eine neue Metaanalyse mit Berücksichtigung der Untersuchungen von Numata et al. (2009), Rastogi et al. (2009), Kähler et al. (2010), Guan et al. (2012) und Bae et al. (2005) von Feng et al. (2016) stellte signifikante Assoziationen für drei SNPs fest. Nach Ergänzung der von Guan et al. (2012) dargestellten Zusammenfassung ergibt sich der Überblick in Tabelle 2-10, worin nur signifikante Ergebnisse berücksichtigt wurden. Zusammenfassend ist festzustellen, dass die bisherige Studienlage inkonsistente Ergebnisse liefert.

3 Fragestellung

3 Fragestellung

Die Schizophrenie ist eine ätiologisch hoch komplexe polygene Erkrankung. Die genetischen Grundlagen der Schizophrenie sind auch bis heute noch nicht ausreichend geklärt. Bisherige Erkenntnisse über Risikogene stammen hauptsächlich von Zwillings-, Kopplungs- und Fall-Kontroll-Assoziationsstudien. Aufgrund der insgesamt jedoch inkonsistenten Ergebnislage findet das Konzept der Endophänotypen zunehmend Beachtung. Hierbei werden neurobiologische Korrelate der Erkrankung auf genetische Einflussfaktoren untersucht. Gedächtnisfunktionen scheinen geeignete Endophänotypen für Schizophrenie zu sein. Das PDE4B-Gen wird als Suszeptibilitätsfaktor für Schizophrenie diskutiert, jedoch ist die bisherige Studienlage hinsichtlich eines Zusammenhanges zwischen diesem Gen und Schizophrenie inkonsistent. Einige Studien deuten aber auf einen Zusammenhang zwischen PDE4B und dem Gedächtnis, einem Endophänotyp dieser Erkrankung, hin. Daher wurde zur näheren Untersuchung die vorliegende Fall-Kontroll-Assoziationsstudie bei 178 an Schizophrenie erkrankten Patienten und 346 gesunden Kontrollprobanden durchgeführt, wobei Allele und Genotypen von zwölf SNPs des PDE4B-Gens auf Assoziationen mit mnestischen Funktionen, die mittels der WMS-R erfasst werden, überprüft wurden. Die Genotypisierung der Teilnehmer erfolgte durch das iPLEX-Verfahren.

4 Material und Methoden

4.1 Studiendesign

Das Gesamtkollektiv der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie enthält 1831 Probanden, von denen 510 an Schizophrenie erkrankte Patienten und 1321 Kontrollprobanden waren. Alle Studienteilnehmer wurden auf Assoziationen von SNPs des PDE4B-Gens mit Schizophrenie untersucht. Die Gedächtnisleistungen von 524 Testpersonen wurden in einer weiterführenden Kognitionsstudie mittels der WMS-R erfasst. Davon waren 178 Patienten und 346 gesunde Kontrollprobanden. Bei diesen Teilnehmern wurden zwölf SNPs des PDE4B-Gens genotypisiert und mögliche Assoziationen zwischen ihren Variationen und Gedächtnisleistungen betrachtet.

4.2 Rekrutierung der Studienteilnehmer

Alle Probanden wurden über Hintergrund, Ziel und Ablauf der Studie sowie über die Anonymisierung ihrer Daten aufgeklärt. Zudem wurde darauf hingewiesen, dass die lokale Ethikkommission der Studiendurchführung zugestimmt hatte. Das Einverständnis zur Studienteilnahme wurde schriftlich dokumentiert.

Die Überprüfung der Studieneignung erfolgte durch einen gestaffelten Screeningprozess unter Verwendung mehrerer Fragebögen und Tests.

4.2.1 Patienten mit Schizophrenie

Etlliche Kriterien wurden zur Überprüfung der Studieneignung der an Schizophrenie erkrankten Testpersonen festgelegt (siehe Tabelle 4-1). So mussten sie mindestens 18 Jahre alt und kaukasischer Abstammung sein. Zudem musste zuvor die Erkrankung an Schizophrenie anhand des Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (Fourth Edition) (DSM-IV) sicher diagnostiziert worden sein. Andere Erkrankungen des schizophrenen Formenkreises bedingten einen Studienausschluss. Auch substanzinduzierte Psychosen, Schädel-Hirn-Traumen, schwere neurologische Erkrankungen wie die Demenz, die Multiple Sklerose, der M. Parkinson, der Schlaganfall und die TIA mit Ausfallerscheinungen, die Epilepsie, Hirntumoren, die Fibromyalgie, Muskeldystrophien, die ALS und ähnliche Krankheitsbilder, das Restless-Legs-Syndrom sowie die Chorea Huntington durften bei den Probanden nicht vorliegen. Dies galt auch für Infektionskrankheiten, die das Nervensystem beeinträchtigen können. Dazu zählten die Meningitis/Enzephalitis, die Borreliose, die Creutzfeld-Jakob-Krankheit, die Syphilis, die Hepatitis A, B, C, die HIV-Infektion und der Tetanus.

4 Material und Methoden

Mit aktuellen oder ehemaligen Patienten der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Universität München wurde zunächst telefonischer Kontakt aufgenommen. Die Studieneignung wurde zunächst orientierend anhand eines **Screeningbogens** überprüft. Erklärte sich der Patient zur Teilnahme bereit, wurde er zu einem persönlichen Termin in die Klinik gebeten. Gegebenfalls wurden auch Hausbesuche durchgeführt.

Tab. 4-1: Einschluss- und Ausschlusskriterien für Patienten.

	Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
Proband	Alter \geq 18 Jahre	Alter $<$ 18 Jahre
	Kaukasische Abstammung	Nichtkaukasische Abstammung
	Gesicherte Diagnose nach DSM-IV	Schizoaffektive Störung, affektive Störungen mit psychotischen Merkmalen, schizophreiforme Störungen, wahnhaft Störungen sowie kurze oder nicht näher zu bestimmende psychotischen Störungen
	Stabiler Krankheitsstatus	Substanzinduzierte Psychosen
		Schädel-Hirn-Traumen
		Schwere neurologische Erkrankungen
	Infektionserkrankungen mit neurologischer Beteiligung	

Das **Klinische Interview** fand in der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Universität München statt. Zunächst wurde eine ausführliche Anamnese anhand eines Fragebogens erhoben. Der erste Teil enthält Fragen zur somatischen (Kinder- und Vorerkrankungen sowie Krankenhausaufenthalte), neuropsychiatrischen (ambulante oder stationäre psychiatrische Behandlungen), sozialen (Familienstand) und biographischen (Geburtsdatum, Geburts- und Wohnort, Nationalität, Händigkeit sowie Schulbildung) Anamnese. Relevant waren auch eventuelle Suizidversuche sowie Medikamenteneinnahme und Substanzgebrauch. Bezüglich der Verwandten mussten Angaben zur Biographie, zum Beruf und zur Schulbildung sowie zum Vorhandensein neuropsychiatrischer und anderer Erkrankungen gemacht werden. Mit dem zweiten Teil wurden familiäre und soziale Verhältnisse inklusive Partnerschaften, der Wohnsituation und finanziellen Lage, Freizeitaktivitäten, der schulische und berufliche Werdegang, die kindliche und jugendliche Entwicklung mit eventuellen Verhaltensauffälligkeiten sowie einschneidende belastende Lebensereignisse erfragt.

Das **Strukturierte Klinische Interview I** (SKID I) für das DSM-IV wurde zur Diagnosebestätigung und für eine ausführliche Charakterisierung der Krankheit durchgeführt. Anhand eines vorgegebenen Kriterienkataloges wurden die klinische Symptomatik, der Schweregrad und der Krankheitsverlauf näher beleuchtet, sodass der phänomenologische Subtyp der Erkrankung festgestellt werden konnte. Zudem wurden weitere psychische

4 Material und Methoden

Komorbiditäten nach DSM-IV abgeklärt. Im Detail handelte es sich dabei um folgende Achse 1-Störungen: affektive Syndrome, Missbrauch und Abhängigkeit von psychotropen Substanzen, Angststörungen, somatoforme Störungen, Anpassungsstörungen und Essstörungen. Im **Strukturierten Klinischen Interview II (SKID II)** wurde das Vorhandensein von Achse 2-Persönlichkeitsstörungen beurteilt. Inhalt waren die selbstunsichere, dependente, zwanghafte, negativistische, depressive, paranoide, schizotypische, schizoide, histrionische, narzisstische, Borderline- und die antisoziale Persönlichkeitsstörung (Wittchen et al. 1997).

Die **Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS)** (Kay et al. 1987) diente der systematischen Erfassung von Symptomen der Schizophrenie. Insbesondere wurden hier in einem standardisierten Interview 30 verschiedene Symptome (sieben positive, sieben negative und 16 allgemein psychopathologische) sowie ihre Ausprägung in den letzten sieben Tagen hinsichtlich Häufigkeit und Ausmaß von Alltagsbeeinträchtigungen abgeklärt. Neben direkten Beobachtungen des Interviewers während der Testdurchführung flossen auch Informationen von Klinikpersonal und Familienmitgliedern in die Beurteilung ein.

Mithilfe des **Family History Assessment Module (FHAM)** wurden Fragen über das Auftreten neuropsychiatrischer Erkrankungen bei Verwandten des ersten, zweiten und dritten Grades beantwortet. Abgedeckt wurden Depression, Manie, Schizophrenie, Alkohol- und Drogenabusus sowie das Auftreten antisozialer Persönlichkeitszüge (Rice et al. 1995).

4.2.2 Kontrollprobanden

Zur Überprüfung der Studieneignung dieser Teilnehmergruppe wurden sowohl Ein- als auch Ausschlusskriterien erarbeitet (siehe Tabelle 4-2). Auch die gesunden Kontrollprobanden mussten mindestens 18 Jahre alt und deutscher Abstammung sein. Zum Studienausschluss führte sowohl ein aktuelles als auch ein stattgehabtes Vorliegen jeglicher psychiatrischer Erkrankung. Waren Suizidversuche, schwere neurologische Erkrankungen (Demenz, Multiple Sklerose, M. Parkinson, Schlaganfall, TIA mit Ausfallerscheinungen, Epilepsie, Hirntumoren, Fibromyalgie, Muskeldystrophien, ALS und ähnliche Krankheitsbilder, Restless-Legs-Syndrom sowie Chorea Huntington), Infektionserkrankungen mit neurologischer Beteiligung (Meningitis/Enzephalitis, Borreliose, Creutzfeld-Jakob-Krankheit, Syphilis, Hepatitis A, B und C, HIV-Infektion, AIDS und Tetanus) oder Schädel-Hirn-Traumen feststellbar, wurde die Studienpartizipation ebenfalls beendet.

Zufällig ausgewählte Einwohner im Großraum München erhielten ein postalisches

4 Material und Methoden

Einladungsschreiben. Bei Interesse konnte der Adressat den beigelegten Rückantwortbogen an die Arbeitsgruppe zurückschicken. Nach Eingang der Rückantworten wurden die Interessenten in einem Telefonscreening u.a. nach depressiven und manischen Phasen, Medikamenteneinnahmen, Substanzmissbrauch bzw. -abhängigkeit, Essstörungen, Angststörungen, Gehirnrissen (Hirntraumen, -infektionen, Schlaganfall u.a.), Suizidversuche bzw. vollendete Suizide bei Verwandten und eventuelle ambulante oder stationäre psychiatrische oder psychologische Behandlungen befragt. Die positive Beantwortung mindestens einer Frage führte zum Studienausschluss.

Voraussetzungen für eine Teilnahme waren auch eine deutsche Abstammung des Probanden sowie seiner Eltern und Großeltern und die Nicht-Verwandtschaft mit anderen Probanden.

Tab. 4-2: Ausschlusskriterien für Kontrollprobanden.

	Ausschlusskriterien
Proband	Alter < 18 Jahre
	Nichtdeutsche Abstammung
	Jede psychiatrische Erkrankung (auch Substanzmissbrauch) mit oder ohne Therapie bezogen auf lifetime
	Suizidversuch
	Schwere neurologische Erkrankungen
	Infektionserkrankungen mit neurologischer Beteiligung
	Schädel-Hirn-Traumen
	Mini-Mental-Status-Test < 26 Punkte
Biologische Verwandte ersten und zweiten Grades	Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene Revidierte Fassung (HAWIE-R) < 80 Punkte
	Nichtdeutsche Abstammung
	Jede psychiatrische Erkrankung (auch Substanzmissbrauch) mit oder ohne Therapie bezogen auf lifetime
	Suizid/Suizidversuch
	Infektionserkrankungen der Mutter in der Schwangerschaft (z.B. Toxoplasmose)

Wurden alle Kriterien des Telefonscreenings erfüllt, erhielt der Proband im zweiten Schritt des Rekrutierungsprozesses den ersten Teil des Anamnesebogens, bei dem die gleichen Fragen wie bei den Patienten beantwortet werden mussten. Bei unauffälliger Anamnese wurde mit dem Probanden ein Termin für ein umfassendes klinisches Interview vereinbart.

Das **Klinische Interview** fand in der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Universität München statt. Nach Ankunft des Probanden erfolgte eine orientierende körperliche Untersuchung. Anschließend wurde Blut für die labortechnischen Untersuchungen entnommen. Die nachfolgende neurologische Untersuchung sollte die Sinnesfunktionen, Hirnnerven, Sensorik, Motorik und Koordination überprüfen.

4 Material und Methoden

Bei Probanden älter als 60 Jahre wurde ein **Mini-Mental-Status-Test** (MMST) zur Beurteilung des kognitiven Status durchgeführt. Anhand von elf Aufgaben wurden Orientierung, Merk- und Erinnerungsvermögen, Aufmerksamkeit sowie Sprache und Sprachverständnis untersucht. Des Weiteren wurden die Fähigkeiten zum Lesen, Schreiben, Zeichnen und Rechnen abgeklärt (Folstein et al. 1975). Eine Gesamtpunktzahl von weniger als 26 von 30 Punkten führte zum Studienausschluss.

Der anschließend durchgeführte **Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene Revidierte Fassung** (HAWIE-R) ist die meist verwendete Testbatterie zur Intelligenzmessung. Sie besteht aus elf Subtests, die entweder dem Verbal- oder dem Handlungsteil zugehörig sind (siehe Tabelle 4-3). Der HAWIE-R erlaubt die Berechnung des altersspezifischen Verbal-, Handlungs- und Gesamt-IQ (Tewes 1994). Probanden mit einem geringeren IQ-Wert als 80 wurden von der Studienteilnahme ausgeschlossen.

Tab. 4-3: Überblick HAWIE-R.

	Subtest
Verbalteil	Allgemeines Wissen
	Zahlennachsprechen
	Wortschatztest
	Rechnerisches Denken
	Allgemeines Verständnis
	Gemeinsamkeiten finden
Handlungsteil	Bilderergänzen
	Bilderordnen
	Mosaik-Test
	Figurenlegen
	Zahlen-Symbol-Test

Im **Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar** (LEBI) ging es um kritische Ereignisse im Leben der Testperson. Aus einer standardisierten Liste mit 50 möglichen Lebensereignissen und Belastungen sollte vom Probanden die für ihn während seines Lebens einschneidenden identifiziert werden. Diese wurden sowohl im Ausmaß der subjektiven Belastung als auch in der Art und dem Grad der individuellen Bewältigung eingeschätzt. Im zweiten Teil sollte die Testperson vorgegebene Werte oder Lebensziele der subjektiven Wichtigkeit nach ordnen. Zum Schluss sollte jedem vom Teilnehmer genannten belastenden Ereignis ein Lebensziel zugeordnet werden, das durch das Ereignis am meisten frustriert worden war (Richter & Guthke 1996). Auffällige Persönlichkeitseigenschaften konnten – unter Berücksichtigung der anderen Tests – zum Studienausschluss führen.

Mit dem **FHAM** wurde auch die Familienanamnese der gesunden Kontrollprobanden

4 Material und Methoden

erhoben. Dabei ging es um das Auftreten bestimmter psychiatrischer Erkrankungen in der Verwandtschaft (Rice et al. 1995). Ergab sich eine positive Familienanamnese, wurde der Teilnehmer von der Studie ausgeschlossen.

Das **SKID I und II** wurden bei den gesunden Kontrollen ebenfalls für die Erfassung psychischer Erkrankungen verwendet (Wittchen et al. 1997). Konnte das Auftreten von mindestens einer der in beiden Bestandteilen des Interviews erfassten Störungen eruiert werden, wurde der Proband von der Teilnahme ausgeschlossen.

Abschließend wurde dem Teilnehmer ein Umschlag mit weiteren Fragebögen für die häusliche Bearbeitung überreicht. Darin sind u.a. zusätzliche anamnestische Fragen enthalten. Psychiatrische Auffälligkeiten sollten durch die Verwendung weiterer Fragebögen aufgedeckt werden. So wurden der State-Trait-Ärgerausdrucks-Inventar (STAXI) (Schwenkmezger et al. 1992), der Fragebogen zur Erfassung von Aggressivitätsfaktoren (FAF) (Hampel & Selg 1998), das NEO-Persönlichkeitsinventar in der revidierten Fassung (NEO-PI-R) (Ostendorf & Angleitner 2003), das Brown-Goodwin Assessment for History of Lifetime Aggression (BGLHA) (Brown et al. 1979), das Buss-Durkee Hostility Inventory (BDHI) (Buss & Durkee 1957), die Barratt Impulsiveness Scale (BIS) (Patton et al. 1995) und das Maudsley Obsessional-Compulsive Inventory (MOCI) (Hodgson & Rachman 1977) eingesetzt. Zum Abschluss erfolgte ein Persönlichkeitstest mittels dem Minnesota Multiphasic Personality Inventory 2 (MMPI 2) (Hathaway et al. 2000). Bei Bejahung kritischer Items erfolgte zur Bestätigung der getroffenen Aussage eine telefonische Abklärung mit dem Probanden. Bei bestätigter positiver Beantwortung wurde die Testperson von der Studie ausgeschlossen.

4.3 Die Wechsler Memory Scale Revidierte Fassung

Die Wechsler Memory Scale (WMS) wurde von D. Wechsler entwickelt (Wechsler 1945). Es liegen mehrere Auflagen der WMS vor. Aktuell wird die WMS-IV im englischsprachigen Raum bzw. deren 2012 erschienene deutsche Adaption verwendet (Petermann & Lepach 2012). In der vorliegenden Studie kam die mit eigener Normierung versehene deutsche Adaption der 1987 erschienenen *Revised Edition* der WMS zum Einsatz (Härting et al. 2000).

Die WMS-R misst Gedächtnisleistungen der Testperson in einer Einzeluntersuchung und zeigt etwaige Beeinträchtigungen auf. Sie findet häufig Verwendung in der klinisch-neuropsychologischen Diagnostik, da viele psychische Störungen mit kognitiven Funktionseinschränkungen einhergehen. Das Verfahren beruht auf einem multidimensionalen Ansatz, d.h. es wird ein breites Spektrum an kognitiven Funktionen

4 Material und Methoden

erfasst. Dazu zählen u.a. das Kurzzeit- und Langzeitgedächtnis sowie die Aufmerksamkeit. Diese ausführliche Testung ermöglicht eine differenzierte Beurteilung der Gedächtnisfunktion, sodass bei eventuellen Defiziten der gestörte mnestiche Bereich konkret eingegrenzt werden kann. Bei der WMS-R wird also von einem globalen Gedächtnis ausgegangen, das in mehrere Subkomponenten zerlegt werden kann (Härting et al. 2000).

4.3.1 Aufbau und Durchführung der WMS-R

Eine standardisierte Durchführung der WMS-R wird durch das Handbuch (Härting et al. 2000) und Stimulusbücher gewährleistet. So ist die Reihenfolge der Untertests unveränderlich festgelegt. Weiterhin sind im Handbuch genaue Zeitangaben für das Präsentieren des Testmaterials sowie für die Pausenlängen zwischen Darbietung und Abfrage zu finden. Die Testdauer hängt u.a. von Alter und Leistung des Probanden ab. Es wird eine Testdauer zwischen 45 und 60 Minuten angegeben. Tabelle 4-4 gibt eine auf Grundlage der im Testmanual beschriebenen Darstellung erstellte Veranschaulichung des allgemeinen Testaufbaus und der von den einzelnen Subtests überprüften Gedächtnisbereiche wieder.

Tab. 4-4: Aufbau der WMS-R.

Subtestst	Mnestischer Teilbereich
Information und Orientierung	Überprüfung der Durchführbarkeit und Interpretierbarkeit des Tests
Logisches Gedächtnis I	Verbales Gedächtnis
Verbale Paarerkenung I	
Figurales Gedächtnis	Allgemeines Gedächtnis
Visuelle Paarerkenung I	
Visuelle Wiedergabe I	Aufmerksamkeit und Konzentration
Zahlenspanne	
Blockspanne	
Mentale Kontrolle	Verzögertes Gedächtnis
Logisches Gedächtnis II	
Visuelle Paarerkenung II	
Verbale Paarerkenung II	
Visuelle Wiedergabe II	

Die WMS-R besteht aus 13 Untertests, mit deren Hilfe unterschiedliche Bereiche des Gedächtnisses überprüft werden können. Vier der Tests (Logisches Gedächtnis, Visuelle Paarerkenung, Verbale Paarerkenung und Visuelle Wiedergabe) werden zweiphasig durchgeführt: Die Reproduktion des vom Testleiter vorgeigten Materials durch den Teilnehmer erfolgt sowohl unmittelbar nach Darbietung des Stimulus („I“) als auch verzögert nach etwa 30 Minuten („II“).

4 Material und Methoden

Der Abschnitt **Information und Orientierung** enthält Fragen zur Beurteilung der persönlichen, zeitlichen und örtlichen Orientierung sowie allgemeine Fragen. Die Antworten und die Anzahl der dafür vergebenen Punkte werden zwar notiert, gehen jedoch nicht in die Bewertung der Gedächtnisfunktion ein. Ziel ist es, die Durchführbarkeit des Tests und die Interpretierbarkeit seiner Ergebnisse zu überprüfen. Sollte der Proband hier nicht die volle Punktzahl erreichen, wird er von der Studie ausgeschlossen.

Der Subtest **Mentale Kontrolle** setzt sich aus drei Aufgaben zusammen:

1. Die Testperson wird aufgefordert, eine Zahlenreihe rückwärts aufzusagen.
2. Das Alphabet soll vorzutragen werden.
3. Es soll in Dreierschritten gezählt werden.

Die ersten beiden Aufgaben sollen schnellstmöglich ausgeführt werden und unterliegen einem Zeitlimit von 30 Sekunden, wobei die von der Testperson benötigte Zeit und mögliche Fehler protokolliert werden. Für die dritte Aufgabe dürfen maximal 45 Sekunden beansprucht werden. Bei Zahl 40 wird die Aufgabe vom Testleiter beendet. Abbruchkriterien sind nicht vorgesehen.

Der Untertest **Figurales Gedächtnis** besteht aus vier Teilaufgaben. Grundsätzlich sollen vom Testleiter vorgelegte Muster (unterschiedlich aussehende Rechtecke) aus einer Anzahl von Mustern erkannt werden. Dafür sind maximal 30 Sekunden vorgesehen. In Aufgabe eins muss der Proband ein fünf Sekunden lang gezeigtes Muster aus einer Auswahl von drei Graphiken identifizieren. Bei den Aufgaben zwei bis vier müssen jeweils drei von neun Mustern nach einer Darbietungszeit von 15 Sekunden erkannt werden. Es gibt keine Abbruchkriterien.

Beim **Logischen Gedächtnis I (Textreproduktion I)** werden dem Teilnehmer zwei Geschichten vorgelesen mit der anschließenden Anweisung, diese möglichst genau zu reproduzieren. Die Wiedergaben werden wortwörtlich notiert.

Die **Visuelle Paarerkenung I** besteht aus mindestens drei und maximal sechs Durchgängen. In jedem Durchgang werden der Testperson sechs Paare jeweils aus einer Strichfigur und einer bestimmten Farbe drei Sekunden lang präsentiert. Danach soll in maximal fünf Sekunden bei alleiniger Darbietung der Strichfigur auf die zugehörige Farbe im Testheft gezeigt werden. Im zweiten Durchgang handelt es sich um die gleichen Figur-Farben-Paare, allerdings in variiertes Reihenfolge. Erlaubt sich der Proband in keinem der ersten drei Durchgänge ein Fehler, wird diese Aufgabe beendet. Falls dies nicht zutrifft, wird auch der vierte und ggf. der fünfte und sechste Durchgang durchgeführt.

4 Material und Methoden

Beim Subtest **Verbale Paarererkennung I** liest der Testleiter acht Wortpaare vor, wobei der Proband unmittelbar danach bei wiederholter Nennung des ersten Wortes (in veränderter Reihenfolge) den zweiten Begriff abrufen soll. Bei vier der Paare liegt eine hohe semantische Assoziation vor, bei den restlichen vier ist dies nicht der Fall. Diese Aufgabe verläuft in insgesamt drei Durchgängen.

Bei der **Visuellen Wiedergabe I** soll sich der Proband die auf vier Stimuluskarten vorgelegten Strichfiguren merken und diese unmittelbar danach selbst zeichnen. Die Bilder werden jeweils 10 Sekunden lang präsentiert.

Der Subtest **Zahlenspanne** enthält zwei Abschnitte. Bei der Zahlenspanne vorwärts soll der Proband verschiedene Zahlenreihen zunehmender Länge, die ihm vom Testleiter vorgelesen werden, unmittelbar danach wiedergeben. Pro Zahlenlänge werden zwei Reihen dargeboten. Anschließend hat der Teilnehmer Zahlenreihen – ebenfalls wachsender Länge – in umgekehrter Reihenfolge zu wiederholen. Werden beide Zahlenreihen derselben Länge falsch abgerufen, wird entweder mit der Zahlenspanne rückwärts fortgefahren (bei Zahlenspanne vorwärts) oder dieser Subtest unterbrochen (bei Zahlenspanne rückwärts).

Bei der **Blockspanne (Visuelle Merkspanne)** vorwärts wird die Testperson aufgefordert, die verschiedenen, vom Testleiter mithilfe der auf dem sogenannten Blockspannbrett befestigten Würfeln gezeigten Folgen wachsender Länge, unmittelbar danach zu reproduzieren. Im Gegensatz dazu soll bei der Blockspanne rückwärts die Folgen - ebenfalls wachsender Länge – in umgekehrter Reihenfolge abgerufen werden. Pro Länge werden zwei unterschiedliche Folgen dargestellt. Kann sich der Proband an keine der beiden Folgen derselben Länge bei der Blockspanne vorwärts richtig erinnern, wird der Rest übersprungen und direkt im Anschluss die Blockspanne rückwärts ausgeführt. Tritt der o.g. Fall beim letzteren ein, wird dieser Subtest beendet.

Der Untertest **Logisches Gedächtnis II (Verzögerte Textreproduktion)** wird frühestens 30 Minuten nach dem Logischen Gedächtnis I durchgeführt. Hier werden nochmals die beiden Geschichten aus Textreproduktion I abgefragt. Bestimmte Hilfestellungen durch den Testleiter sind erlaubt.

Bei der **Visuellen Paarererkennung II** werden dem Teilnehmer erneut die Figuren aus Visuelle Paarererkennung I gezeigt, wobei die dazugehörige Farbe anzugeben ist. Für jede Antwort stehen maximal 10 Sekunden zur Verfügung. Bei diesem Untertest gibt es nur einen Durchgang.

4 Material und Methoden

Bei der **Verbalen Paarererkennung II** soll bei erneuter Nennung des ersten Wortes der im Subtest Verbale Paarererkennung I vorgelesenen Wortpaare der dazugehörige zweite Begriff genannt werden. Die Antwort muss in acht Sekunden gegeben werden. Nur ein Durchgang wird ausgeführt.

Der Subtest **Visuelle Wiedergabe II** verlangt von der Testperson, sich ohne jegliche Hilfestellung an die bei der Visuellen Wiedergabe I gezeigten Figuren zu erinnern und diese frei aus dem Gedächtnis aufzuzeichnen.

4.3.2 Auswertung der WMS-R

Die Auswertung der WMS-R erfolgt unter Verwendung eines vorgedruckten Protokollbogens und nach den im Handbuch aufgeführten Richtlinien (Härting et al. 2000). Aus der Summe der Bewertung einzelner Aufgaben ergeben sich die Rohwerte für die jeweiligen Subtests (siehe Tabelle 4-5).

Tab. 4-5: Maximal erreichbare Rohwerte der Subtests der WMS-R.

Subtest	Maximale Punktzahl (Rohwerte)
Information und Orientierung	14
Mentale Kontrolle	6
Figurales Gedächtnis	10
Logisches Gedächtnis I	50
Visuelle Paarererkennung I	18
Verbale Paarererkennung I	24
Visuelle Wiedergabe I	41
Zahlenspanne	24
Blockspanne	26
Logisches Gedächtnis II	50
Visuelle Paarererkennung II	6
Verbale Paarererkennung II	8
Visuelle Wiedergabe II	41

Die Rohwerte werden je nach Subtest einfach oder doppelt gewichtet. Anschließend erfolgt deren Umwandlung in Indexwerte, indem die gewichteten Rohwerte bestimmter Subtests addiert werden. So setzt sich das Verbale Gedächtnis aus dem Logischen Gedächtnis I und der Verbalen Paarererkennung I zusammen. Das Figurale Gedächtnis, die Visuelle Paarererkennung I und Visuelle Wiedergabe I ergeben das Visuelle Gedächtnis. Das Verbale und Visuelle Gedächtnis bilden wiederum das Allgemeine Gedächtnis. Der Index Aufmerksamkeit und Konzentration besteht aus der Zahlen- und Blockspanne sowie der Mentalen Kontrolle. Das Verzögerte Gedächtnis verteilt sich auf die Untertests Logisches

4 Material und Methoden

Gedächtnis II, Visuelle Paarererkennung II, Verbale Paarererkennung II und Visuelle Wiedergabe II. Die Tabelle 4-4 veranschaulicht diese Strukturierung der WMS-R. Die Indizes sind mit einem arithmetischen Mittel von 100 und einer Standardabweichung von 15 normiert. Sie ermöglichen einen Vergleich untereinander und beispielweise auch mit dem HAWIE (Härting et al. 2000).

4.3.3 Einfluss von demographischen Variablen auf das Testergebnis

Das Testmanual der WMS-R enthält Informationen über die Untersuchung der Untertests und Indexwerte auf Geschlechts-, Alters- und Bildungsunterschiede mithilfe univariater Varianzanalysen (Härting et al. 2000). In der Teststichprobe zeigte sich ein signifikanter Effekt des Bildungsstandes auf das Leistungsprofil der Teilnehmer. Dieser Effekt betraf alle Subskalen der WMS-R. Paradoxerweise findet sich neben den Normierungstabellen für Abiturienten keine weitere Einteilung, die den Bildungsstand bei der Testauswertung berücksichtigt. Diese Tatsache soll vom Testleiter bei der Interpretation der Testergebnisse in Erwägung gezogen werden (Härting et al. 2000).

Ein signifikanter Alterseffekt konnte anhand von Varianzanalysen ebenfalls nachgewiesen werden. Die Normierung der Teststichprobe nach Alter ist somit tatsächlich relevant (Härting et al. 2000).

Es wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen der Leistung von Männern und Frauen gefunden. Dies bezieht sich sowohl auf die Ergebnisse der Untertests als auch auf das Gesamtergebnis (Härting et al. 2000).

4.3.4 Gütekriterien der WMS-R

Für die Normierung der WMS-R erfolgte eine Stichprobenschichtung mithilfe von demographischen Daten des Statistischen Jahrbuchs der Bundesrepublik Deutschland von 1995. 210 Probanden wurden nach Bildungs- und Geschlechtseigenschaften in sieben Altersgruppen à 30 Testpersonen eingeteilt und untersucht. So liegen für den Bereich zwischen 15 und 74 Jahren altersnormierte Mittelwerte und Standardabweichungen für die einzelnen Subtests vor (Härting et al. 2000).

Die Objektivität der WMS-R kann als gegeben angesehen werden, da dem Testleiter sowohl für die praktische Durchführung als auch für die Testauswertung präzise Standardanweisungen einschließlich Musterkarten und Schablonen vorgegeben sind. Zudem sind eine ausführliche Einarbeitung sowie eine Verinnerlichung der Testgegebenheiten und -

4 Material und Methoden

materialien von großer Bedeutung für die objektive Durchführung der Testbatterie. Standardisierte Normtabellen für gesunde und klinische Gruppen ermöglichen eine objektive Interpretation der Testergebnisse (Härting et al. 2000).

In einem Retest von 40 Probanden aller Altersgruppen sechs Monate nach der ersten Testung ergaben sich für die Indizes und Subtests der WMS-R verschiedene Ergebnisse bzgl. ihrer Reliabilität. Während die Retest-Reliabilitäten der Indizes als hoch eingestuft werden können, findet sich bei den Retest-Reliabilitäten der Subtests eine andere Situation. Diese liegen zwischen 0,42 und 0,83. Nur bei vier Subtests war die Reliabilität größer als 0,75 (Härting et al. 2000).

Zur Überprüfung der Validität wurde ein Kollektiv aus 125 Patienten mit unterschiedlichen neuropsychiatrischen Erkrankungen der Testung mittels WMS-R zugeführt. In der Gegenüberstellung mit gesunden Kontrollprobanden wiesen sie deutliche Abweichungen der Gedächtnisleistung von der Normalfunktion auf. Diese Defizite waren krankheitsspezifisch. Von besonderer Bedeutung für differentialdiagnostische Überlegungen ist der Vergleich zwischen den Gedächtnisleistungen dementieller und depressiver Patienten. Bei dementen Personen im Anfangsstadium fand sich das Gesamtergebnis drei Standardabweichungen unter dem Mittelwert, bei depressiven hingegen eine Standardabweichung (Härting et al. 2000).

4.4 Molekularbiologische Analysen

4.4.1 DNA-Extraktion

Jedem Studienteilnehmer wurde venöses Blut mithilfe von Serum- und EDTA-Monovetten entnommen. Die Serum-Monovetten wurden bei einer Temperatur von 6°C für zehn Minuten zentrifugiert. Der entstandene Überstand wurde anschließend in Microtubes umgefüllt und bei -80°C für eventuelle spätere Analysen gelagert. Der Blutkuchen wurde bei -80°C bis zur Extraktion der DNA aufbewahrt. Die EDTA-Monovetten wurden unter gleichen Bedingungen zentrifugiert, wobei der dadurch gewonnene Überstand (Plasma) anschließend ebenfalls in Microtubes umgefüllt und bei -80°C aufbewahrt wurde. Der Blutkuchen wurde bis zur DNA-Extraktion bei einer Temperatur von -80°C gelagert. Aus dem EDTA-Blut wurden außerdem Lymphozyten mittels Dichtegradientenzentrifugation isoliert, die mit dem Epstein-Barr-Virus immortalisiert wurden. Die Infizierung erfolgte durch das Versetzen der zu immortalisierenden Lymphozyten in ein Cyclosporin-haltiges Medium. Nach Erreichen der gewünschten Zelldichte schlossen sich die Abzentrifugation der mit dem Epstein-Barr-Virus infizierten Lymphozyten sowie deren Lagerung bei -80°C bis zur DNA-Extraktion an (Friedl 2011).

4 Material und Methoden

Zur Vorbereitung wurde der Blutkuchen bei Raumtemperatur aufgetaut und mithilfe einer Phosphat-gepufferten Salzlösung gemischt, sodass sich ein Gesamtvolumen von 10 ml ergab. Die Extraktion der DNA wurde gemäß dem Handbuch des QIAamp DNA Blood Maxi Kit (Qiagen 2010) durchgeführt. Tabelle 4-6 gibt die dafür notwendigen Materialien und Substanzen an.

Tab. 4-6: Materialien für die DNA-Extraktion.

Material	Menge
Qiagen Protease	500 µl
Puffer AL (GHCl-haltig)	12 ml
Ethanol 96-100%	10 ml
Puffer AW 1 (GHCl-haltig)	5 ml
Puffer AW 2 (Ethanol-haltig)	5 ml
QIAamp Maxi Säule	1
Puffer AE (Tris-haltig)	1,5 ml

Um Zugang zur DNA zu erhalten, wurde für die Zellyse die Blutprobe mit 500 µl Qiagen Protease (Proteinase K) gemischt. Die Protease fragmentiert Proteine und ermöglicht dadurch eine erleichterte Elimination von Eiweißen. Anschließend wurde die Probe mit 12 ml des Guanidinium (GHCl)-haltigen Puffers AL (Qiagen, Hilden, Deutschland) versetzt und eine Minute lang auf dem Vortexer homogenisiert. Guanidinium bewirkt eine Denaturierung und somit eine Inaktivierung von Proteinen. Das Gemisch wurde danach in einem 70°C warmen Wasserbad für 30 Minuten inkubiert.

Nach Zugabe von 10 ml Ethanol, welches die Entfernung der DNA-Hydrathülle ermöglicht, wurde die Lösung auf eine QiAamp Maxi-Säule (Qiagen, Hilden, Deutschland) übertragen und jeweils bei 3000 rpm für drei Minuten zentrifugiert. Dadurch konnte eine selektive Bindung der DNA an die Silikagelmembran stattfinden. Proteine und Ribonucleinsäuren (RNA) zeigen durch die im Lysat vorherrschenden Milieubedingungen dieses Verhalten nicht.

Es schlossen sich zwei Waschschriffe an. Zur Entfernung von RNA- und anderen Proteinresten wurden 5 ml eines GHCl-haltigen Puffers (AW1) zugegeben und anschließend bei 4000 rpm für zwei Minuten zentrifugiert. Zudem erfolgte die Gabe von 5 ml eines Ethanol-haltigen Puffers (AW2) mit anschließender Zentrifugation bei 4000 rpm für 15 Minuten zur Elimination von Salzkontaminationen.

Die Elution der reinen DNA von der Silikagelmembran war unter basischen Bedingungen durch die Zugabe von 1,5 ml eines alkalischen Tris-haltigen Puffers AE und der

4 Material und Methoden

anschließenden Zentrifugation bei 5000 rpm für zwei Minuten möglich. Die Aufbewahrung der DNA erfolgte in Mikroschraubröhren bei -80°C.

4.4.2 Messung der DNA-Konzentration

Die gewonnenen DNA-Lösungen wurden alle für die weitere Verarbeitung auf eine Konzentration von 50 ng/µl eingestellt (Friedl 2011). Die für die Messung der DNA-Konzentration benötigten Materialien und Substanzen sind in Tabelle 4-7 aufgelistet.

Die Messung der DNA-Konzentration erfolgte mithilfe von PicoGreen, einem Fluoreszenzfarbstoff (Invitrogen, Karlsruhe, Deutschland). Diese Substanz bindet selektiv an die doppelsträngige DNA und reagiert auf Lichtbestrahlung mit Absorption und Emission von Licht im grünen Bereich des sichtbaren Lichtes. Die Emissionsintensität verhält sich dabei direkt proportional zur Menge doppelsträngiger DNA der Probe. Durch die Ermittlung einer Standardkurve aus bekannten DNA-Konzentrationen (100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,5262; 0 ng/µl) ließ sich die Konzentration der extrahierten DNA-Lösungen bestimmen.

Tab. 4-7: Materialien für die Messung der DNA-Konzentration.

Gerät/Material/Reagenz	Hersteller
PicoGreen dsDNA Reagent	Invitrogen (Karlsruhe, Deutschland)
Thermo fast 96 well plate	ABgene (Hamburg, Deutschland)
Human genomic DNA 100 ng/µl	Clontech (Mountain View, USA)
Janus Automated Workstation	Perkin Elmer (Massachusetts, USA)
96 well flat bottom plate	Greiner (Frickenhausen, Deutschland)
Victor ³ Multilabel Counter 1420	Perkin Elmer (Massachusetts, USA)
Optiplex, GX620 Pentium 4 HAT	Dell (Frankfurt, Deutschland)
Software Win PREP	Perkin Elmer (Massachusetts, USA)
Wallac 1420 Workstation	Perkin Elmer (Massachusetts, USA)
Conductive Roborack Tips 20, 200, 1000 µl	Perkin Elmer (Massachusetts, USA)

Die Standardkurve wurde mittels einer 1:2 Verdünnungsreihe eines genomischen DNA-Standards von 100 ng/µl mit destilliertem Wasser hergestellt (Clontech, Mountain View, USA).

Um im Messbereich des Fluoreszenzmessers liegende Konzentrationswerte zu erhalten, fand zunächst eine 1:10 Verdünnung der zu messenden DNA-Lösungen statt. Dazu wurden zu 5 µl DNA je 45 µl autoklaviertes Wasser gegeben. Alle folgenden Pipettierschritte wurden vollautomatisch von einem Roboter übernommen (Janus Automated Workstation, Perkin Elmer, Massachusetts, USA). Für die Vermessung wurden in jede Vertiefung einer 96 well flat bottom plate (Greiner, Frickenhausen, Deutschland) 50 µl autoklaviertes destilliertes

4 Material und Methoden

Wasser pipettiert. In die Spalten 1 und 2 wurden je 5 µl der Standard-DNA als Verdünnungsreihe mit abnehmender DNA-Konzentration und in die Spalten 3 bis 12 je 5 µl der vorverdünnten DNA-Lösungen in Duplikaten gegeben. In alle Plattenvertiefungen kamen 145 µl des mit autoklaviertem, destillierten Wasser, 1:156 verdünnten Fluoreszenzfarbstoff PicoGreen hinzu.

Diese Messplatte wurde dem Victor³ Multilabel Counter 1420 (Perkin Elmer, Massachusetts, USA) zugeführt, der die DNA-Konzentration ermittelte. Dabei wurde nach Homogenisierung der Lösungen durch Schütteln in horizontaler Ebene Licht mit einer Wellenlänge von 485 nm ausgesendet, welches PicoGreen zur Emission von Licht mit der Wellenlänge 520 nm anregt. Die aus den Fluoreszenzmessungen stammenden Emissionswerte wurden auf einem Rechner dokumentiert, der daraus die DNA-Konzentrationen mithilfe der Standardkurve und den benötigten Mengen an DNA-Lösungen sowie autoklaviertem, destillierten Wasser berechnete, die für die Konzentrationsanpassung an 50 ng/µl notwendig waren. Anhand dieser Werte erfolgte die vollautomatische robotergesteuerte (Janus Automated Workstation, Perkin Elmer, Massachusetts, USA) Konzentrationseinstellung der DNA auf 50ng/µl.

4.4.3 SNP-Genotypisierung

Bei den Studienteilnehmern wurden 12 SNPs des PDE4B-Gens genotypisiert. Auf Grundlage von Informationen der von der National Center for Biotechnology Information bereitgestellten Datenbank dbSNP (dbSNP 2014) und des Tools Variation Viewer (Variation Viewer 2014) lassen sich die Positionen der untersuchten SNP ermitteln und tabellarisch und bildlich darstellen (siehe Tabelle 4-8 und Abbildung 4-1). Von den zwölf untersuchten Polymorphismen ist einer in der 5'-Genregion (rs11208747), einer in der 3'-Genregion (rs783066) und alle anderen zehn in Introns des Gens lokalisiert. Von den untersuchten SNPs befindet sich keines in exonischen DNA-Abschnitten (Emsembl 2014).

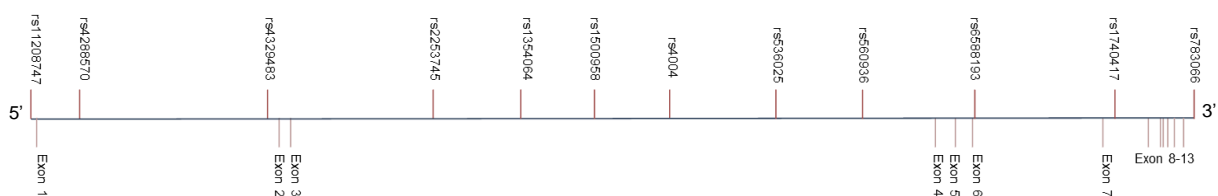


Abb. 4-1: Die Positionen der untersuchten SNP.

4 Material und Methoden

Tab. 4-8: Chromosomale und funktionale Lokalisation sowie Allele der untersuchten SNP des PDE4B-Gens.

SNP	Chromosomale Position	Allele	Position im Gen
rs11208747	65787916	G/A	intergenische 5'-Region
rs4288570	65811302	C/T	Intron
rs4329483	65908321	A/G	Intron
rs2253745	65991561	A/G	Intron
rs1354064	66038036	C/A	Intron
rs1500958	66073363	T/C	Intron
rs4004	66111919	T/G	Intron
rs536025	66166947	C/T	Intron
rs560936	66209076	T/G	Intron
rs6588193	66266203	G/C	Intron
rs1740417	66339906	A/C	Intron
rs783066	66375497	G/C	intergenische 3'-Region

Zur Detektion der Einzelnukleotid-Polymorphismen wurde das iPLEX-Verfahren (Sequenom, San Diego, USA) eingesetzt. Diese Methode beinhaltet drei wesentliche Schritte:

1. Konventionelle Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zur Amplifikation der genomischen Sequenz, die ein SNP flankiert
2. iPLEX-Reaktion: Einzelbasen-Extension des polymorphen Locus
3. Vermessung der Produkte der Extensionsreaktion mit der Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time-Of-Flight Mass spectrometry (MALDI-TOF MS)

4.4.3.1 Konventionelle Polymerase-Kettenreaktion

Im ersten Schritt erfolgte die Amplifikation der flankierenden genomischen Sequenzen der betrachteten SNPs. Dabei sollte eine ausreichend hohe Konzentration des zu untersuchenden Genombereichs erzielt werden (Sequenom 2005).

Das Programm AssayDesign 3.1 (Sequenom, San Diego, USA) stellte für jeden SNP zwei PCR-Primer zusammen (siehe Tabelle 4-9). Außerdem ermittelte es die optimale Zusammensetzung der Multiplex-Reaktion, mit deren Hilfe die gleichzeitige Untersuchung von bis zu 36 SNPs möglich ist.

4 Material und Methoden

Tab. 4-9: PCR-Primer für die untersuchten SNP des PDE4B-Gens.

SNP-ID	PCR-Primer 1	PCR-Primer 2	Amplifikationslänge
rs11208747	CGTTGGATGATTTGCTCTCCAGCTGCTAC	CGTTGGATGTGCTCATAACTGTTATATCC	103
rs4288570	CGTTGGATGCCTATCCTGTACTTATGACC	CGTTGGATGGGCTTTATAGAAGCTTTGTAG	118
rs4329483	CGTTGGATGCTGTCTACATTATCTTGGGC	CGTTGGATGACTTTTGCCAACTGTCTC	114
rs2253745	CGTTGGATGTATGTCCGAGTCTAAAAGGC	CGTTGGATGTGCAAATGCAAGCACCATCG	105
rs1354064	CGTTGGATGAGTGGTCTGAAGTTTCTG	CGTTGGATGATTTGAGATCAGGCTGGCCC	99
rs1500958	CGTTGGATGCCAGGGTCACTATAATCAT	CGTTGGATGATAAAACATTTAGTCTTGCC	102
rs4004	CGTTGGATGTTGAAGACAAGACGTAGTCC	CGTTGGATGTCAGGGCTCAAATTGAAGGC	98
rs536025	CGTTGGATGCAGCCCCAAGCCAATCATT	CGTTGGATGAGCCACCTAGAAAGAGAATC	119
rs560936	CGTTGGATGCCTAATGACTAATGGTATGAC	CGTTGGATGGGCAAAGGATTTGAATAGGC	112
rs6588193	CGTTGGATGGATGCTCAATAATATATGTCAG	CGTTGGATGAGGTCACTATCTATAAACAC	120
rs1740417	CGTTGGATGGTGTGTTTGCATATTGTGGC	CGTTGGATGAAGTAATGCTCCAGTGTACC	96
rs783066	CGTTGGATGTGATTTGCCTCACCATCTC	CGTTGGATGCTCTGGGCATTGTAAGAACTC	110

In einem Mastermix waren als Komponenten für eine Reaktion 1,85 µl Wasser (ELGA, Celle, Deutschland); 0,625 µl Puffersubstanzen (Qiagen, Hilden, Deutschland); 0,325 µl Magnesiumchlorid; 0,1 µl Desoxynukleotide für die Synthese des DNA-Hybrids (ABgene, Hamburg, Deutschland); 1 µl Primer mit zur Ausgangssequenz inkomplementären Basen am 5'-Ende (Qiagen); 0,1 µl thermostabile DNA-Polymerase (Taq-Polymerase aus *Thermus aquaticus*, Qiagen) und die Ausgangs-DNA (*template*) enthalten (siehe Tabelle 4-10). Die DNA wurde vor der PCR mit destilliertem und sterilfiltriertem Wasser auf eine Konzentration von 5ng/µl verdünnt. Ein Pipettierroboter (Microlab, Hamilton, USA) führte den Mastermix und die DNA-Lösungen auf einer 384 well plate zusammen, die in Thermocyclern (Applied Biosystems, Foster City, USA) der PCR zugeführt wurde. Insgesamt wurden 45 PCR-Zyklen durchgeführt.

Tab. 4-10: Zusammensetzung des Mastermix für die Polymerase-Kettenreaktion.

Reagenz	Hersteller	Volumen in einer Reaktion in µl
Wasser	ELGA	1,850
PCR-Puffer	Qiagen	0,625
MgCl ₂ 25mM	Qiagen	0,325
dNTP Mix 25 mM	ABgene	0,100
Primer Mix, je 500nM	Qiagen	1,000
Hotstar Taq-Polymerase 5U/µl	Qiagen	0,100
Ausgangs-DNA (<i>template</i>)		

Die bei der PCR nicht verwendeten Nukleotide stellen einen Störfaktor für die Folgereaktion dar. Deshalb wurde der Reaktionsansatz mit einer Shrimp Alkalischen Phosphatase (SAP) (Sequenom, San Diego, USA) behandelt. In einem Thermocycler (Applied Biosystems, Foster City, USA) wurde das Gemisch bei 37°C für 40 Minuten inkubiert, um eine

Dephosphorylierung der nicht eingebauten Nukleotide zu erreichen. Anschließend wurde die SAP bei 80°C inaktiviert.

4.4.3.2 iPLEX-Reaktion

Die bei der iPLEX-Reaktion verwendeten Extensionsprimer der untersuchten SNPs wurden ebenfalls durch das Programm AssayDesign 3.1 (Sequenom, San Diego, USA) entworfen (siehe Tabelle 4-11). Diese Primer hybridisieren unmittelbar neben der polymorphen Stelle an die DNA. Im Gegensatz zur konventionellen PCR wurden hier ausschließlich Didesoxynukleotide verwendet, die die Extension von nur einer Base erlauben und im unmittelbaren Anschluss zum Kettenabbruch führen. Zudem waren diese Nukleotide zur leichteren Unterscheidung der Massen ihrer Reaktionsprodukte in der Massenspektrometrie mit speziellen funktionellen Gruppen ausgestattet. Eine Mutation der DNA-Polymerase hatte zur Folge, dass ein Didesoxynukleotid an den Extensionsprimer gehängt werden konnte. Die Tabelle 4-12 zeigt einen Überblick der bei der Extensionsreaktion eingesetzten Reagenzien. Dieses Gemisch wurde den SAP-behandelten PCR-Produkten hinzugefügt.

Tab. 4-11: Extensionsprimer für die untersuchten SNP des PDE4B-Gens.

SNP-ID	Extendprimer
rs11208747	ATCCAAAACAATAGAGAATATGAGTA
rs4288570	gTGTATAGAGTAAAATTGGGGAC
rs4329483	ACACTGTCTCATTGAATTCT
rs2253745	aCTTGGTTTTCTTTCATAGACAAC
rs1354064	ccccCAGGCTGGCCCTTGTGACA
rs1500958	ATTTAGTCTTGCCAAAGAAC
rs4004	TACCTATGACTTTGGACTAA
rs536025	gcGAGAATCTGTAAATATAGTTTGC
rs560936	gggAAATGGACAATGATCATATGAAA
rs6588193	aAAGGCTTATGACATGGTCTGG
rs1740417	AAGTCACCAAGAGACATA
rs783066	gGGCATTGTAAAACCTCACACCT

Tab. 4-12: Reagenzien für die Extensionsreaktion.

Reagenz	Hersteller	Volumen für eine Reaktion in µl
Wasser	Sequenom	0,755
PLEX Buffer Plus	Sequenom	0,200
iPLEX Termination Mix	Sequenom	0,200
iPLEX Enzym	Sequenom	0,041
Primer Mix (7 µM bis 14 µM)	Sequenom	0,804

Je 2 µl des iPLEX-Reaktionsgemisches wurde zu den SAP-behandelten PCR-Produkten

4 Material und Methoden

gegeben. Im Thermocycler (Applied Biosystems, Foster City, USA) wurden die abzentrifugierten Platten folgendermaßen prozessiert:

1. 94°C (30 s)
2. 94°C (5 s)
3. 52°C (5 s)
4. 80°C (5 s)
5. 72°C (3 min)
6. 4°C (forever)

Die Schritte zwei bis vier wurden in 40 Zyklen wiederholt, Schritte drei und vier in fünf Zyklen.

Vor der Messung mit dem Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time-Of-Flight Mass spectrometry (MALDI TOF MS) war zur Elimination störender Substanzen eine Entsalzung der Extensionsprodukte notwendig. Dazu wurden diese mit 6 mg des Ionenaustauschers Clean Resin und 25 µl destilliertem, sterilfiltriertem Wasser versetzt. Dieses Gemisch wurde einem Rotor zur Schaffung eines homogenen Milieus als Grundlage für die Entsalzung zugeführt. Durch die anschließende Zentrifugierung wurde ein Absetzen des Clean Resins erreicht.

4.4.3.3 Messung im Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time-Of-Flight Mass spectrometry (MALDI TOF MS)

Die Genotypisierung bediente sich der Massenspektrometrie. Die Analysen der vorliegenden Studie fanden mittels der MALDI (Karas & Hillenkamp 1988) statt. Bei diesem Verfahren muss die Probe zunächst in ein Matrixkristall eingebaut werden um die Auskristallisierung der DNA und somit eine erschwerte Messung zu verhindern. In diesem Fall handelte es sich um eine in einem Siliziumchip integrierte 2-Hydroxypicolinsäure-Matrix. Für die Übertragung der Probe auf den Chip zeichnete sich der Mass Array Nanodispenser (Sequenom, San Diego, USA) verantwortlich. Anschließend wurde der Siliziumchip (SpectroCHIP, Sequenom, San Diego, USA) in den Massenspektrometer (Autoflex, Bruker Daltonics, Bremen, Deutschland) transferiert.

Abbildung 4-2 stellt das Prinzip der MALDI TOF MS vereinfacht dar. Da dabei nur geladene Teilchen gemessen werden können, wurden die Proben zur Ionisation vorher mit einem gepulsten Laser beschossen. Gleichzeitig bewirkte der Lasereinsatz die Verdampfung der Probe. Die Massen der Ionen konnten von einem Massenanalysator ermittelt werden. Dabei bediente er sich einer auf der TOF beruhenden Methode. Dazu wurden die Teilchen in einem Vakuum durch ein elektrisches Feld beschleunigt und ihre Flugzeit für die Durchquerung des

4 Material und Methoden

Flugkanals bis zum Auftreffen auf einen Detektor gemessen. Die Zeitangabe t lässt auf die Masse des Ions schließen, denn t steht in einem proportionalen Zusammenhang zur Wurzel des Quotienten aus Masse und Ladung des Ions. Die Fluggeschwindigkeit nimmt mit steigender Masse ab. Die Typen Analyzer 3.3.0 Software (Sequenom, San Diego, USA) errechnet aus der Masse das vorliegende Allel und somit den Genotyp.

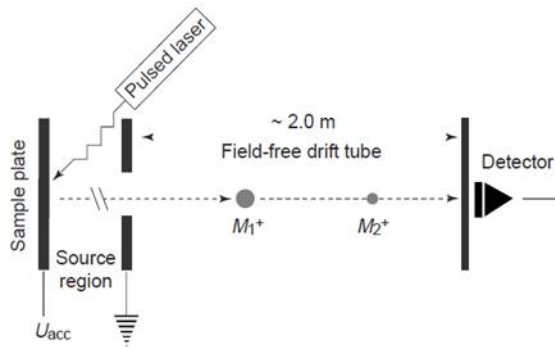


Abb. 4-2: Das Prinzip der MALDI-TOF MS (Griffin & Smith 2000).

4.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mithilfe des Programms IBM SPSS Statistics 19.0 (IBM Corp., Armonk, NY, 2010).

Die Genotypverteilung wurde anhand der Ergebnisse des exakten Fisher-Tests mit dem Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (engl. Hardy Weinberg Equilibrium [HWE]) verglichen. Bei signifikanten Abweichungen war der betroffene SNP von der Analyse auszuschließen, um etwaige Genotypisierungsfehler zu eliminieren. Zur Signifikanzüberprüfung der Unterschiede in der Allel- und Genotypverteilung bei Patienten und gesunden Kontrollprobanden diente der exakte Fisher-Test.

Multiple lineare Regressionen zur Messung des Einflusses der erklärenden Variable Genotyp auf die Leistungen in den Subtests und Indizes der WMS-R (Zielvariable) wurden durchgeführt. Geschlecht, Alter, Bildung und Gesundheitsstatus (Patient oder Kontrollproband) gingen als Covariablen in die Berechnung ein. Der adjustierte Mittelwert für jeden Genotyp wurde ermittelt. Das Signifikanzniveau wurde für alle statistischen Berechnungen bei $p < 0,05$ festgelegt. $P < 0,1$ wurde als Trend gewertet.

5 Ergebnisse

5.1 Ergebnisse der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

Die Stichprobe der Fall-Assoziationsstudie enthielt insgesamt 1831 Teilnehmer, von denen 510 an Schizophrenie erkrankte Patienten (27,9%) und 1321 gesunde Kontrollprobanden (72,1%) waren. 940 Testpersonen waren Männer (51,3%), 891 waren Frauen (48,7%).

Bei 515 Teilnehmern lag ein niedriger Bildungsstand vor (28,2%). Ein mittlerer Bildungsstand wurde bei 567 Probanden festgestellt (31,0%). 747 Testpersonen (40,8%) verfügten über einen hohen Bildungsstand.

Die Verteilung der Genotypen der 12 SNPs des PDE4B-Gens innerhalb der Gesamtstichprobe befand sich im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht. Die Analyse von Assoziationen der Genotypverteilung der betrachteten Polymorphismen ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollen. Es konnten jedoch drei Trends (siehe Tabelle 5-1 [grüne Markierung]) festgestellt werden.

Tab. 5-1: Genotypverteilung und Hardy-Weinberg-Gleichgewicht in der Fall-Kontroll-Studie.

SNP	Position auf Chromosom 1	Allel		Genotypanzahl			HWE		additives Modell p-Wert
		A1	A2	A1A1	A1A2	A2A2	F	p-Wert	
rs11208747	66253599	G	A	164	712	834	0.016	0.493	0,684
rs4288570	66276985	C	T	119	659	973	0.012	0.616	0,121
rs4329483	66374004	A	G	390	896	465	-0.025	0.315	0,062
rs2253745	66457244	A	G	143	717	940	0.009	0.725	0,444
rs1354064	66503719	C	A	10	260	1505	-0.008	0.870	0,516
rs1500958	66539046	T	C	22	374	1357	-0.016	0.570	0,099
rs4004	66577602	T	G	243	831	724	0.004	0.879	0,223
rs536025	66632630	C	T	199	748	847	0.041	0.082	0,415
rs560936	66674759	T	G	55	466	1273	0.036	0.136	0,589
rs6588193	66731886	G	C	448	892	460	0.009	0.706	0,690
rs1740417	66805589	A	C	242	852	681	-0.023	0.363	0,053
rs783066	66841180	G	C	191	815	801	-0.018	0.458	0,305

5.2 Ergebnisse der Kognitionsstudie

Um mögliche Assoziationen zwischen Variationen des PDE4B-Gens und Gedächtnisleistungen zu erfassen, wurden für jeden SNP mögliche Effekte auf die Leistungen in den 13 Subtests und den fünf Indizes der WMS-R untersucht. Geschlecht, Alter und Bildungsgrad der Probanden wurden als Covariablen in die Betrachtung integriert.

5 Ergebnisse

Die dazu verwendete Stichprobe umfasste 524 Probanden. Darunter waren 178 Patienten (34%) und 346 Kontrollprobanden (66%). Männlichen Geschlechts waren 277 der Studienteilnehmer (52,9%), 247 Teilnehmer waren Frauen (47,1%).

Von den insgesamt 524 Probanden verfügten 133 Personen mit einem Hauptschulabschluss über einen geringen Bildungsstand (25,4%), 172 hatten mit der mittleren Reife einen mittleren Bildungsstand inne (32,8%) und 219 wiesen mit dem Abitur einen hohen Bildungsstand auf (41,8%) (siehe Tabelle 5-2).

Das Durchschnittsalter aller Probanden lag bei 45,0 Jahren (Standardabweichung 14,2). Die Teilnehmer waren zwischen 19 und 74 Jahre alt. Die Patienten wiesen ein durchschnittliches Alter von 38,9 Jahren auf (Standardabweichung 10,4), während die Kontrollen im Durchschnitt 48,2 Jahre (Standardabweichung 14,8) alt waren.

Tab. 5-2: Bildungsstand der Probanden in der Kognitionsstudie.

	Niedriger Bildungsstand (Hauptschule) n (%)	Mittlerer Bildungsstand (Mittlere Reife) n (%)	Hoher Bildungsstand (Abitur) n (%)	Gesamt n
Patienten	64 (36,0%)	48 (27,0%)	66 (37,1%)	178
Kontrollen	69 (19,9%)	124 (35,8%)	153 (44,2%)	346
Gesamt	133 (25,4%)	172 (32,8%)	219 (41,8%)	524

Die Genotypverteilung aller untersuchten SNPs in der Kognitionsstudie entsprach ebenfalls dem HWE (siehe Tabelle 5-3).

Tab. 5-3: Genotypverteilung und Hardy-Weinberg-Gleichgewicht in der Kognitionsstudie.

SNP	Position auf Chromosom 1	Allel		Genotypanzahl			HWE	
		A1	A2	A1A1	A1A2	A2A2	F	p-Wert
rs11208747	66253599	G	A	41	205	254	-0,002	1,000
rs4288570	66276985	C	T	25	184	288	-0,028	0,618
rs4329483	66374004	A	G	104	260	120	-0,076	0,102
rs2253745	66457244	A	G	40	212	260	-0,016	0,828
rs1354064	66503719	C	A	1	57	440	-0,027	1,000
rs1500958	66539046	T	C	4	94	397	-0,027	0,806
rs4004	66577602	T	G	64	248	201	-0,041	0,392
rs536025	66632630	C	T	55	219	241	0,022	0,613
rs560936	66674759	T	G	16	137	362	0,030	0,519
rs6588193	66731886	G	C	124	252	136	0,015	0,724
rs1740417	66805589	A	C	62	235	214	-0,009	0,923
rs783066	66841180	G	C	52	215	243	0,019	0,680

5.2.1 Assoziationen der Polymorphismen mit der WMS-R

Die Analyse von möglichen Assoziationen zwischen Polymorphismen des PDE4B-Gens und den Leistungen in der WMS-R beruht auf multiplen logistischen Regressionsanalysen für die einzelnen Subtests und Indizes. Im Folgenden sind signifikante Ergebnisse mit einer roten Markierung versehen, wohingegen Trends in grüner Farbe gekennzeichnet sind.

5.2.1.1 Assoziationen der Polymorphismen mit dem Index Verbales, Visuelles und Allgemeines Gedächtnis sowie den zugehörigen Subtests

Tabelle 5-4 gibt die Assoziationen zwischen den untersuchten Polymorphismen des PDE4B-Gens und den Subtests Logisches Gedächtnis I und Verbale Paarererkennung I sowie dem aus diesen beiden Tests bestehenden Index Verbales Gedächtnis wider. Im Subtest Logisches Gedächtnis I sowie im Index Verbales Gedächtnis ergaben sich beim Polymorphismus rs6588193 signifikante Unterschiede zwischen den Leistungen der Träger unterschiedlicher Genotypen. Wie in Abbildung 5-1 und 5-2 erkennbar zeigten GG-Homozygote die durchschnittlich beste Testleistung. Probanden mit dem Genotyp GC wiesen das zweitbeste Testergebnis auf. CC-Träger erzielten durchschnittlich die niedrigsten Punktzahlen im o.g. Subtest bzw. Index. Im Untertest Verbale Paarererkennung I waren bei keinem der untersuchten SNPs Leistungsunterschiede zwischen den Trägern unterschiedlicher Genotypen zu finden.

Tab. 5-4: Assoziationen der Polymorphismen mit dem Subtests Logisches Gedächtnis I und Verbale Paarererkennung I sowie dem Index Verbales Gedächtnis.

SNP	Logisches Gedächtnis I		Verbale Paarererkennung I		Verbales Gedächtnis	
	Regressionskoeffizient	p-Wert (Standardfehler)	Regressionskoeffizient	p-Wert (Standardfehler)	Regressionskoeffizient	p-Wert (Standardfehler)
rs11208747	-0,168	0,726 (0,477)	-0,168	0,383 (0,193)	-0,523	0,613 (1,033)
rs4288570	0,361	0,482 (0,513)	-0,003	0,988 (0,210)	0,697	0,531 (1,111)
rs4329483	0,076	0,869 (0,458)	0,252	0,175 (0,186)	0,419	0,673 (0,992)
rs2253745	-0,110	0,815 (0,471)	0,170	0,373 (0,191)	-0,032	0,975 (1,019)
rs1354064	-0,120	0,897 (0,931)	0,112	0,767 (0,379)	-0,128	0,949 (2,018)
rs1500958	1,067	0,139 (0,719)	0,260	0,377 (0,293)	2,391	0,127 (1,563)
rs4004	-0,448	0,319 (0,449)	0,224	0,217 (0,181)	-0,653	0,501 (0,971)
rs536025	0,556	0,213 (0,446)	-0,086	0,635 (0,182)	1,038	0,283 (0,966)
rs560936	0,491	0,388 (0,569)	0,119	0,604 (0,230)	1,030	0,399 (1,220)
rs6588193	-0,991	0,019 (0,420)	-0,167	0,328 (0,171)	-2,127	0,020 (0,909)
rs1740417	-0,132	0,770 (0,448)	-0,004	0,983 (0,183)	-0,265	0,785 (0,972)
rs783066	-0,008	0,986 (0,454)	0,066	0,701 (0,171)	0,052	0,958 (0,973)

5 Ergebnisse

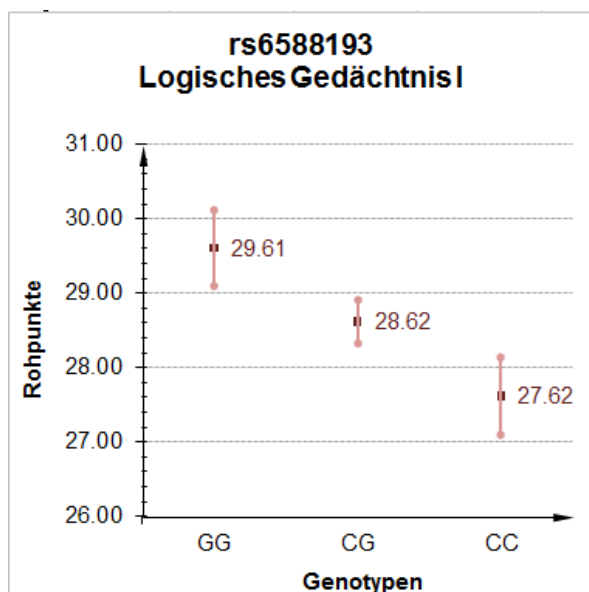


Abb. 5-1: Rohpunkte der Genotypen des SNP rs6588193 im Subtest Logisches Gedächtnis I.

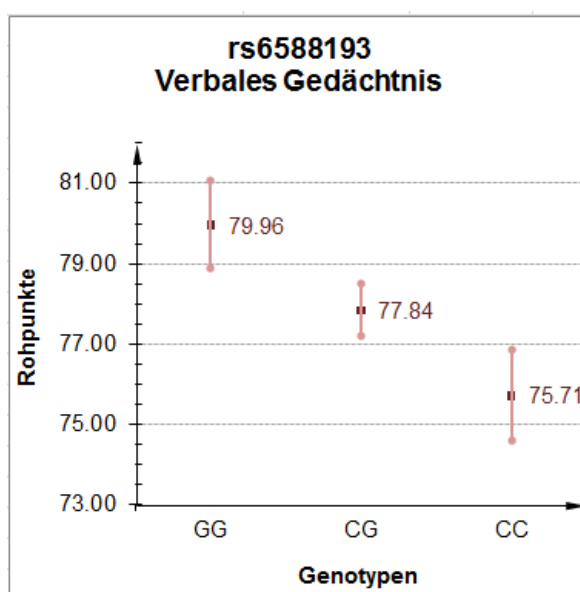


Abb. 5-2: Rohpunkte der Genotypen des SNP rs6588193 im Index Verbales Gedächtnis.

Auch Assoziationen bei den Subtests Figurales Gedächtnis, Visuelle Paarerkenung I und Visuelle Wiedergabe I sowie dem aus diesen Untertests zusammengesetzten Index Visuelles Gedächtnis bestehen bei den untersuchten Polymorphismen des PDE4B-Gens (siehe Tabelle 5-4 und 5-6). Im Subtest Figurales Gedächtnis trat beim Polymorphismus rs1500958 ein signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen Genotypen auf (siehe Abbildung 5-3). Das beste Testresultat ergab sich bei den CC-Probanden. Die durchschnittlich niedrigste Punktzahl erhielten die TT-Träger. Bezüglich rs4004 ergab sich im selben Untertest ein Trend, wobei die GG-Homozygoten zu einer durchschnittlich höheren Punktzahl als die Träger der Genotypen GT und TT tendierten. Letztere erreichten das schlechteste Ergebnis. Im Subtest Visuelle Paarerkenung I konnte für den SNP rs4288570 ein Trend festgestellt werden. Teilnehmer mit Genotyp CC erreichten hier das beste Ergebnis, gefolgt von CT- und TT-Trägern. Im Subtest Visuelle Wiedergabe I zeichneten sich für mehrere Polymorphismen Trends ab. Bezüglich des Polymorphismus rs4288570 schnitten Teilnehmer mit dem Genotyp CC am besten ab, gefolgt von CT- und TT-Trägern. Teilnehmer mit dem Genotyp CC hinsichtlich des SNP rs1500958 erreichten die durchschnittlich höchste Punktzahl, während Probanden mit dem Genotyp TT am wenigsten erfolgreich war. Beim Polymorphismus rs560936 war bei Testteilnehmern mit dem Genotyp GG ein Trend zu einer durchschnittlich höheren Punktzahl feststellbar. Probanden mit den Genotypen GT und TT wiesen ein weniger gutes Testresultat auf. Testteilnehmer mit dem Genotyp CC bzgl. des Polymorphismus rs783066 zeigten tendenziell eine höhere durchschnittliche Punktzahl als die Träger der Genotypen CG und GG, wobei GG-Homozygote zu den durchschnittlich niedrigsten Punktzahlen tendierten. Im Index Visuelles Gedächtnis war bezüglich des Polymorphismus rs4288570 ein signifikanter Zusammenhang

5 Ergebnisse

der Testleistung zur Genotypverteilung zu erkennen. Hier schnitten Probanden mit den Genotypen CC und CT besser ab als die TT-Träger (siehe Abbildung 5-4). Trends zeigten sich bei den SNPs rs11208747 und rs1500958. Träger der Genotypen GG oder AG bzgl. des Polymorphismus rs11208747 erreichten ein besseres Ergebnis als AA-homozygote Probanden. Hinsichtlich des SNP rs1500958 erzielten Teilnehmer mit dem Genotyp CC die durchschnittlich höchste Punktzahl, während Probanden mit dem Genotyp TT am wenigsten erfolgreich waren.

Tab. 5-5: Assoziationen der Polymorphismen mit den Subtests Figurales Gedächtnis und Visuelle Paarerkenntung I.

SNP	Figurales Gedächtnis		Visuelle Paarerkenntung I	
	Regressionskoeffizient	p-Wert (Standardfehler)	Regressionskoeffizient	p-Wert (Standardfehler)
rs11208747	-0,119	0,268 (0,107)	-0,322	0,185 (0,243)
rs4288570	-0,130	0,262 (0,116)	-0,448	0,091 (0,265)
rs4329483	0,146	0,152 (0,101)	-0,108	0,648 (0,236)
rs2253745	0,076	0,476 (0,106)	0,149	0,540 (0,243)
rs1354064	0,120	0,567 (0,209)	-0,204	0,670 (0,477)
rs1500958	0,325	0,042 (0,160)	0,201	0,587 (0,370)
rs4004	0,188	0,064 (0,101)	0,104	0,648 (0,228)
rs536025	0,115	0,256 (0,101)	0,339	0,144 (0,231)
rs560936	-0,056	0,661 (0,127)	-0,126	0,666 (0,291)
rs6588193	0,023	0,805 (0,095)	-0,028	0,899 (0,217)
rs1740417	0,030	0,764 (0,101)	0,027	0,908 (0,231)
rs783066	-0,071	0,492 (0,103)	0,255	0,274 (0,233)

Tab. 5-6: Assoziationen der Polymorphismen mit dem Subtest Visuelle Wiedergabe I und dem Index Visuelles Gedächtnis.

SNP	Visuelle Wiedergabe I		Visuelles Gedächtnis	
	Regressionskoeffizient	p-Wert (Standardfehler)	Regressionskoeffizient	p-Wert (Standardfehler)
rs11208747	-0,504	0,146 (0,346)	-0,969	0,069 (0,532)
rs4288570	-0,713	0,062 (0,382)	-1,324	0,025 (0,587)
rs4329483	-0,079	0,815 (0,338)	0,007	0,989 (0,521)
rs2253745	0,200	0,565 (0,347)	0,454	0,395 (0,533)
rs1354064	-0,582	0,393 (0,681)	-0,642	0,541 (1,050)
rs1500958	0,893	0,094 (0,533)	1,439	0,079 (0,817)
rs4004	-0,025	0,939 (0,329)	0,303	0,547 (0,503)
rs536025	0,324	0,330 (0,332)	0,803	0,116 (0,510)
rs560936	0,737	0,077 (0,416)	0,417	0,511 (0,633)
rs6588193	-0,248	0,427 (0,312)	-0,209	0,662 (0,478)
rs1740417	0,458	0,169 (0,333)	0,504	0,324 (0,510)
rs783066	0,577	0,085 (0,335)	0,747	0,148 (0,515)

5 Ergebnisse

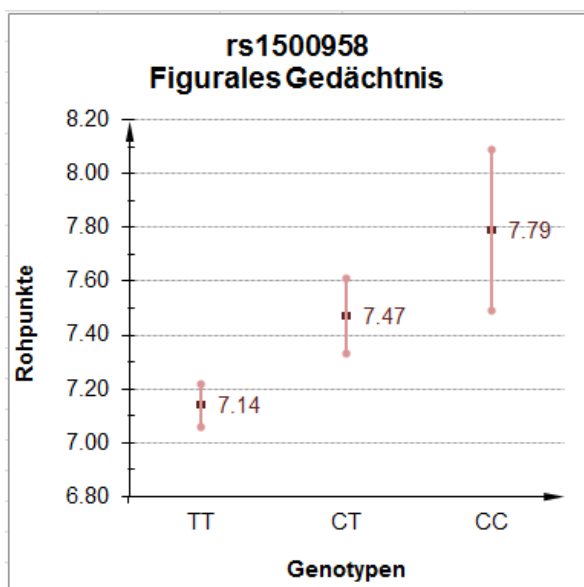


Abb. 5-3: Rohpunkte der Genotypen des SNP rs1500958 im Subtest Figurales Gedächtnis.

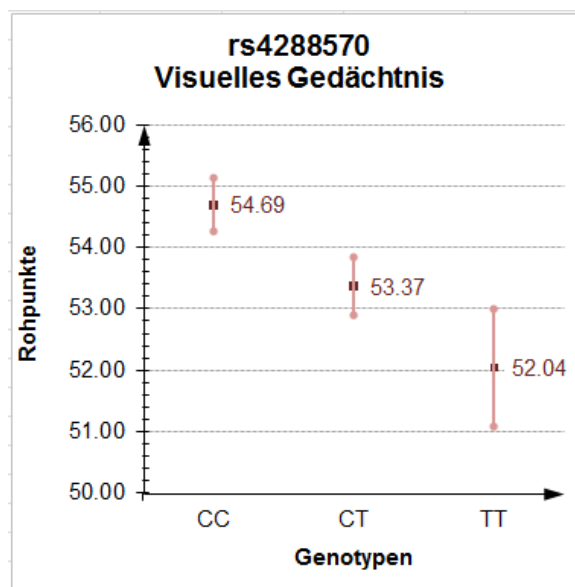


Abb. 5-4: Rohpunkte der Genotypen des SNP rs4288570 im Index Visuelles Gedächtnis.

Für den Polymorphismus rs6588193 ergab sich eine signifikante Assoziation zum Index Allgemeines Gedächtnis (siehe Tabelle 5-7). Probanden mit dem Genotyp GG erreichten ein besseres Testergebnis, wobei CC-Homozygote durch die niedrigste Punktzahl gekennzeichnet waren (siehe Abbildung 5-5).

Tab. 5-7: Assoziationen der Polymorphismen mit dem Index Allgemeines Gedächtnis.

SNP	Allgemeines Gedächtnis	
	Regressionskoeffizient	p-Wert (Standardfehler)
rs11208747	-1,491	0,260 (1,323)
rs4288570	-0,627	0,662 (1,431)
rs4329483	0,427	0,740 (1,286)
rs2253745	0,421	0,748 (1,309)
rs1354064	-0,770	0,767 (2,593)
rs1500958	3,830	0,057 (2,007)
rs4004	-0,350	0,779 (1,249)
rs536025	1,840	0,141 (1,247)
rs560936	1,447	0,357 (1,571)
rs6588193	-2,336	0,047 (1,173)
rs1740417	0,238	0,849 (1,251)
rs783066	0,799	0,529 (0,876)

5 Ergebnisse

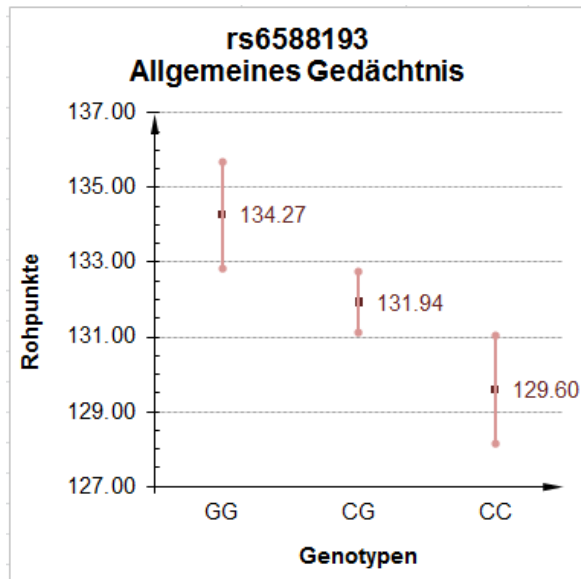


Abb. 5-5: Rohpunkte der Genotypen des SNP rs6588193 im Index Allgemeines Gedächtnis.

5.2.1.2 Assoziationen der Polymorphismen mit dem Index Aufmerksamkeit und Konzentration und den zugehörigen Subtests

Auch bei der Untersuchung der Subtests Zahlenspanne, Visuelle Merkspanne (Blockspanne) und Mentale Kontrolle sowie dem zugehörigen Index Aufmerksamkeit und Konzentration ergaben sich einige signifikante Assoziationen und Trends (siehe Tabelle 5-8 und 5-9). Im Subtest Zahlenspanne zeigte sich für den SNP rs2253745 ein signifikantes Ergebnis (siehe Abbildung 5-6). Probanden mit dem Genotyp GG erwarben durchschnittlich die höchste Punktzahl. Träger der Genotypen AG und AA zeigten eine weniger gute Leistung. Im Subtest Visuelle Merkspanne (Blockspanne) ergab sich im Gegensatz dazu lediglich ein Trend. Träger der Genotypen GG oder AG bezüglich des Polymorphismus rs11208747 erreichten ein besseres Ergebnis als AA-homozygote Probanden. Im Subtest Mentale Kontrolle ließen sich zwei signifikante Assoziationen feststellen. Bezüglich des Polymorphismus rs4288570 waren die CT-/TT-Träger mit signifikant höheren Punktzahlen in diesem Untertest assoziiert (siehe Abbildung 5-7). Bezüglich des Polymorphismus rs536025 unterschieden sich die Probanden hier ebenfalls signifikant (siehe Abbildung 5-8). Die CC-Homozygoten erzielten hier das durchschnittlich beste Testergebnis. Am schlechtesten schnitten die Homozygoten für das Allel T ab. Hinsichtlich des Polymorphismus rs4004 tendierten die GG-Homozygoten zu einer durchschnittlich höheren Punktzahl als die Träger der Genotypen GT und TT, wobei letztere das minimalste Ergebnis erreichten. Im Index Aufmerksamkeit und Konzentration traten weder Trends noch signifikante Resultate auf.

5 Ergebnisse

Tab. 5-8: Assoziationen der Polymorphismen mit den Subtests Zahlenspanne und Blockspanne.

SNP	Zahlenspanne		Blockspanne	
	Regressions- koeffizient	p-Wert (Standardfehler)	Regressions- koeffizient	p-Wert (Standardfehler)
rs11208747	-0,214	0,344 (0,226)	-0,352	0,086 (0,204)
rs4288570	-0,045	0,854 (0,246)	0,066	0,763 (0,220)
rs4329483	0,132	0,540 (0,215)	0,238	0,220 (0,194)
rs2253745	0,456	0,045 (0,227)	0,183	0,367 (0,203)
rs1354064	-0,689	0,220 (0,441)	-0,163	0,681 (0,397)
rs1500958	-0,285	0,410 (0,345)	-0,062	0,841 (0,307)
rs4004	0,220	0,306 (0,215)	0,212	0,273 (0,193)
rs536025	-0,200	0,353 (0,215)	-0,061	0,750 (0,192)
rs560936	0,081	0,765 (0,272)	0,320	0,187 (0,243)
rs6588193	-0,218	0,284 (0,203)	-0,252	0,163 (0,180)
rs1740417	-0,032	0,881 (0,216)	0,029	0,880 (0,194)
rs783066	-0,012	0,958 (0,219)	-0,284	0,144 (0,194)

Tab. 5-9: Assoziationen der Polymorphismen mit dem Subtests Mentale Kontrolle und dem Index Aufmerksamkeit und Konzentration.

SNP	Mentale Kontrolle		Aufmerksamkeit und Konzentration	
	Regressions- koeffizient	p-Wert (Standardfehler)	Regressions- koeffizient	p-Wert (Standardfehler)
rs11208747	0,025	0,712 (0,068)	-1,126	0,126 (0,735)
rs4288570	0,178	0,019 (0,075)	0,191	0,809 (0,789)
rs4329483	0,074	0,263 (0,066)	0,846	0,221 (0,691)
rs2253745	-0,021	0,766 (0,069)	1,279	0,080 (0,729)
rs1354064	0,011	0,938 (0,137)	-1,382	0,334 (1,429)
rs1500958	0,058	0,584 (0,106)	-0,618	0,579 (1,113)
rs4004	0,115	0,081 (0,066)	1,05	0,147 (0,692)
rs536025	-0,166	0,011 (0,065)	-0,667	0,340 (0,698)
rs560936	0,009	0,916 (0,084)	0,694	0,424 (0,867)
rs6588193	0,053	0,397 (0,062)	-0,850	0,193 (0,651)
rs1740417	-0,003	0,961 (0,065)	-0,018	0,979 (0,699)
rs783066	-0,040	0,553 (0,067)	-0,642	0,363 (0,705)

5 Ergebnisse

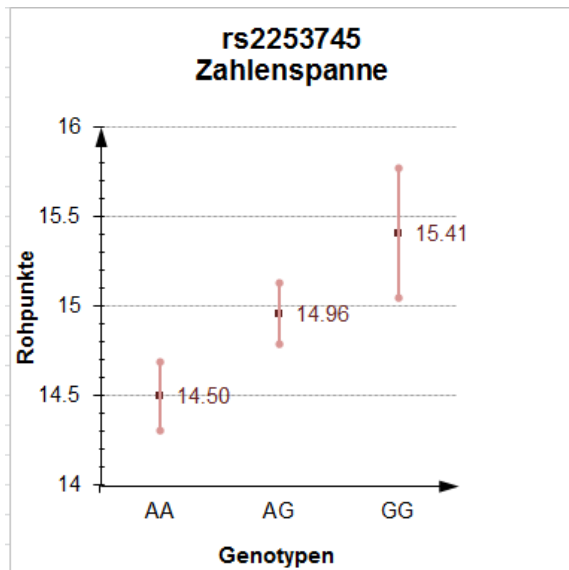


Abb. 5-6: Rohpunkte der Genotypen des SNP rs2253745 im Subtest Mentale Kontrolle.

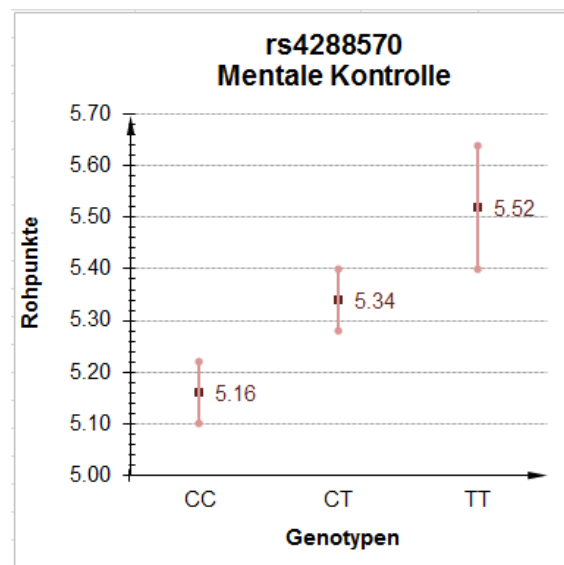


Abb. 5-7: Rohpunkte der Genotypen des SNP rs4288570 im Subtest Zahlenspanne.

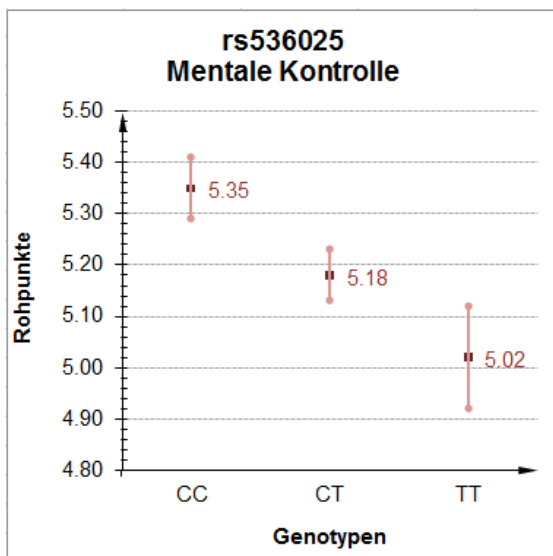


Abb. 5-8: Rohpunkte der Genotypen des SNP rs536025 im Subtest Mentale Kontrolle.

5.2.1.3 Assoziationen der Polymorphismen mit dem Index Verzögertes Gedächtnis und den zugehörigen Subtests

In den Subtests Logisches Gedächtnis II, Visuelle Paarerkenung II, Verbale Paarerkenung II und Visuelle Wiedergabe II sowie im Index Verzögertes Gedächtnis ergaben sich ebenfalls Trends und signifikante Assoziationen für die untersuchten Polymorphismen (siehe Tabelle 5-10 und 5-11). Im Subtest Logisches Gedächtnis II trat für den Polymorphismus rs6588193 ein signifikanter Unterschied zwischen den Leistungen der Träger unterschiedlicher Genotypen auf. Wie in Abbildung 5-9 dargestellt zeigten GG-Homozygote die

5 Ergebnisse

durchschnittlich beste Testleistung. Probanden mit dem Genotyp GT wiesen das zweitbeste Testergebnis auf. TT-Träger erzielten durchschnittlich die niedrigste Punktzahl im o.g. Subtest. In den Subtests Visuelle und Verbale Paarererkennung waren keine signifikanten Assoziationen bestimmter Genotypen der untersuchten Polymorphismen zu detektieren. Im Subtest Visuelle Wiedergabe II ergab sich hinsichtlich des Polymorphismus rs1500958 das beste Testresultat bei den CC- und CT-Probanden. Die durchschnittlich niedrigste Punktzahl erhielten die TT-Träger. Dieser Unterschied erwies sich als signifikant (siehe Abbildung 5-10). Für Träger des CC-Genotyps bzgl. des Polymorphismus rs1740417 war im selben Subtest ein Trend zu einer durchschnittlich besseren Leistung erkennbar. AG-Träger und AA-Homozygote tendierten zu einer durchschnittlich niedrigeren Punktzahl in diesem Subtest. Bezüglich dem Polymorphismus rs783066 wiesen Testteilnehmer mit dem Genotyp CC hier eine höhere durchschnittliche Punktzahl als die Träger der Genotypen CG und GG auf, wobei GG-Homozygote zu der durchschnittlich niedrigsten Punktzahl tendierten. Im Index Verzögertes Gedächtnis trat für den Polymorphismus rs1500958 ein signifikanter Unterschied auf (siehe Abbildung 5-11). CC-Probanden erreichten hier die höchste Punktzahl. Am wenigsten erfolgreich waren die TT-Träger.

Tab. 5-10: Assoziationen der Polymorphismen mit den Subtests Logisches Gedächtnis II, Visuelle Paarererkennung II und Verbale Paarererkennung II.

SNP	Logisches Gedächtnis II		Visuelle Paarererkennung II		Verbale Paarererkennung II	
	Regressionskoeffizient	p-Wert (Standardfehler)	Regressionskoeffizient	p-Wert (Standardfehler)	Regressionskoeffizient	p-Wert (Standardfehler)
rs11208747	0,047	0,931 (0,536)	-0,041	0,582 (0,075)	-0,027	0,620 (0,055)
rs4288570	0,667	0,248 (0,577)	-0,115	0,162 (0,082)	-0,047	0,431 (0,060)
rs4329483	-0,295	0,565 (0,513)	-0,019	0,781 (0,070)	0,019	0,724 (0,053)
rs2253745	-0,469	0,370 (0,523)	0,042	0,566 (0,073)	-0,016	0,771 (0,054)
rs1354064	0,505	0,627 (1,038)	-0,125	0,391 (0,145)	-0,040	0,712 (0,108)
rs1500958	1,138	0,160 (0,809)	-0,002	0,983 (0,370)	0,076	0,358 (0,083)
rs4004	-0,495	0,324 (0,502)	0,038	0,588 (0,070)	0,043	0,401 (0,051)
rs536025	0,632	0,208 (0,501)	0,068	0,345 (0,071)	-0,027	0,605 (0,052)
rs560936	-0,030	0,963 (0,638)	-0,005	0,953 (0,090)	0,054	0,414 (0,066)
rs6588193	-0,987	0,037 (0,471)	-0,012	0,854 (0,067)	0,072	0,139 (0,049)
rs1740417	-0,101	0,841 (0,504)	0,001	0,984 (0,072)	0,038	0,469 (0,052)
rs783066	-0,037	0,942 (0,504)	-0,088	0,211 (0,070)	0,019	0,691 (0,048)

5 Ergebnisse

Tab. 5-11: Assoziationen der Polymorphismen mit dem Subtest Visuelle Wiedergabe II und dem Index Verzögertes Gedächtnis.

SNP	Visuelle Wiedergabe II		Verzögertes Gedächtnis	
	Regressionskoeffizient	p-Wert (Standardfehler)	Regressionskoeffizient	p-Wert (Standardfehler)
rs11208747	-0,454	0,349 (0,485)	-0,608	0,519 (0,941)
rs4288570	-0,494	0,351 (0,529)	-0,242	0,813 (1,022)
rs4329483	-0,388	0,411 (0,471)	-0,551	0,548 (0,915)
rs2253745	0,228	0,635 (0,480)	-0,112	0,904 (0,923)
rs1354064	-0,689	0,469 (0,951)	-0,451	0,806 (1,837)
rs1500958	1,557	0,033 (0,730)	2,897	0,043 (1,425)
rs4004	-0,150	0,743 (0,457)	-0,388	0,661 (0,883)
rs536025	0,639	0,165 (0,460)	1,419	0,111 (0,890)
rs560936	0,642	0,269 (0,580)	0,360	0,747 (1,118)
rs6588193	0,132	0,758 (0,429)	-0,623	0,455 (0,833)
rs1740417	0,885	0,054 (0,459)	0,832	0,351 (0,891)
rs783066	0,764	0,097 (0,459)	0,552	0,529 (0,876)

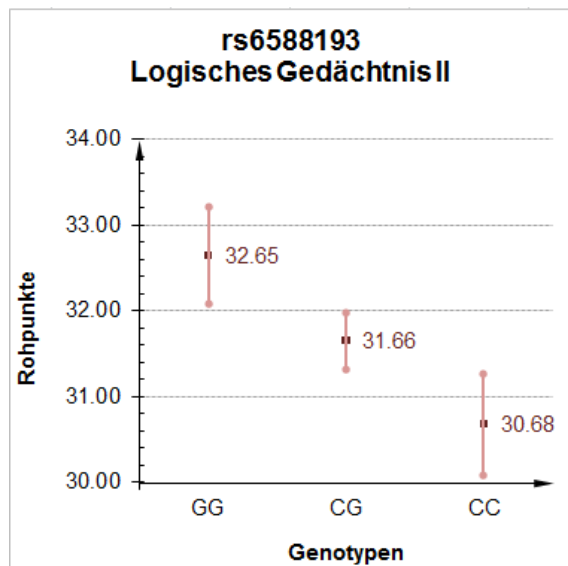


Abb. 5-9: Rohpunkte der Genotypen des SNP rs6588193 im Subtest Logisches Gedächtnis II.

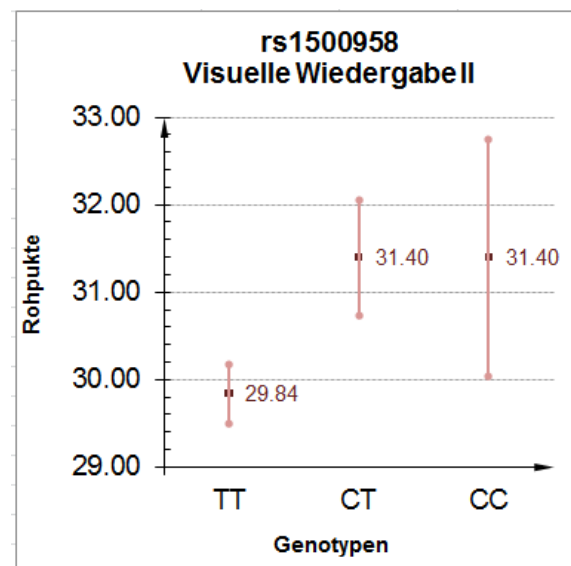


Abb. 5-10: Rohpunkte der Genotypen des SNP rs1500958 im Subtest Visuelle Wiedergabe II.

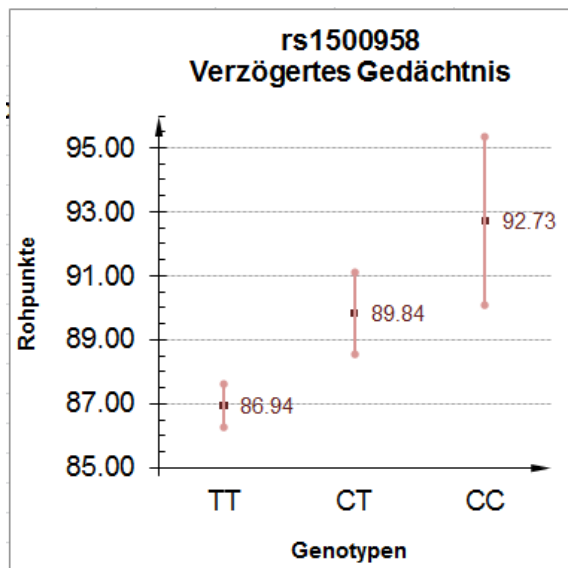


Abb. 5-11: Rohpunkte der Genotypen des SNP rs1500958s im Index Verzögertes Gedächtnis.

5.2.2 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die Untersuchung der Assoziationen zwischen Markern des PDE4B-Gens und den Probandenleistungen in der WMS-R ergab in sechs Subtests (Mentale Kontrolle, Figurales Gedächtnis, Logisches Gedächtnis I und II, Zahlenspanne sowie Visuelle Wiedergabe) und vier Indizes (Verbales, Visuelles, Allgemeines und Verzögertes Gedächtnis) signifikante Zusammenhänge. Assoziiert waren fünf SNP des PDE4B-Gens (rs4288570, rs2253745, rs1500958, rs536025, rs6588193). Zusammenfassend lässt sich feststellen (siehe Tabelle 5-12):

1. Der Polymorphismus **rs4288570** wies zwei signifikante Assoziationen auf: Im Subtest Mentale Kontrolle erzielten Personen mit den Genotypen CT und TT eine bessere Testleistung ($p=0,019$). Im Bereich des visuellen Gedächtnisses zeigten hingegen die CC- und CT-Träger bessere Leistungen ($p=0,025$). Zusätzlich bestehen Trends bei visueller Paarererkennung I ($p=0,091$) und visueller Wiedergabe I ($p=0,062$), wobei hier Probanden mit den Genotypen CC und CT eine bessere Leistung erzielten.
2. Die Genotypen GG und AG hinsichtlich des SNP **rs2253745** waren signifikant mit einer besseren Leistung im Subtest Zahlenspanne assoziiert ($p=0,045$).
3. Drei signifikante Assoziationen fanden sich für den Marker **rs1500958**: Probanden mit den Genotypen CC und CT erbrachten in den Subtests Figurales Gedächtnis ($p=0,042$) und Visuelle Wiedergabe II ($p=0,033$) und im Index Verzögertes Gedächtnis ($p=0,043$) bessere Testresultate. Zusätzlich bestehen Trends bei visueller Wiedergabe I ($p=0,094$) und visuellem Gedächtnis ($p=0,079$), wobei hier Probanden mit den Genotypen CC und CT eine bessere Leistung erzielten.

5 Ergebnisse

4. Die Genotypen CC und CT des Polymorphismus **rs536025** waren mit einer besseren Leistung im Untertest Mentale Kontrolle assoziiert ($p=0,011$).

5. Der Polymorphismus **rs6588193** zeigte in den Subtests Logisches Gedächtnis I ($p=0,019$) und II ($p=0,037$) und den Indizes Verbales ($p=0,020$) und Allgemeines Gedächtnis ($p=0,047$) signifikante Assoziationen. Bessere Leistungen in den genannten Bereichen wurden von GG-Homozygoten und GT-Trägern erzielt.

Für fünf weitere SNPs konnten außerdem mehrere Trends festgestellt werden (siehe Tabelle 5-12):

1. Für den Polymorphismus rs11208747 ergaben sich beim Visuellen Gedächtnis ($p=0,069$) und bei der Visuellen Merkspanne (Blockspanne) ($p=0,086$) jeweils einen Trend. Hierbei wiesen Studienteilnehmer mit den Genotypen GG und AG bessere Testleistungen auf als die AA-Probanden.

2. Probanden mit den Genotypen GG und GT hinsichtlich des Polymorphismus rs4004 tendierten, verglichen mit den TT-homozygoten Probanden, zu einer besseren Leistung in den Subtests Figurales Gedächtnis ($p=0,064$) und Mentale Kontrolle ($p=0,081$).

3. Hinsichtlich des SNP rs560936 zeigte sich im Subtest Visuelle Wiedergabe I für GG- und GT-Probanden ein Trend zum besseren Testresultat ($p=0,77$).

4. Für die Träger des CC- und AC-Genotyps bezüglich des Polymorphismus rs1740417 fand sich ein Trend zur besseren Testleistung beim Subtest Visuelle Wiedergabe II ($p=0,054$).

5. Hinsichtlich des Polymorphismus rs783066 schnitten Probanden mit dem Genotyp CC bei der Visuellen Wiedergabe I ($p=0,085$) und II ($p=0,097$) besser ab als die mit den Genotypen CG und GG.

5 Ergebnisse

Tab. 5-12: Zusammenfassung der Ergebnisse der Kognitionsstudie. Dargestellt sind die signifikanten Ergebnisse (rote Markierung) sowie Trends einschließlich des Genotyps mit dem schlechtesten Testergebnis.

Subtest/Index	rs11208747	rs4288570	rs2253745	rs1500958	rs4004	rs536025	rs560936	rs6588193	rs1740417	rs783066
Logisches Gedächtnis I								0,019 (0,420) CC		
Verbales Gedächtnis								0,020 (0,909) CC		
Figurales Gedächtnis				0,042 (0,160) TT	0,064 (0,101)					
Visuelle Paarerkenntung I		0,091 (0,265)								
Visuelle Wiedergabe I		0,062 (0,382)		0,094 (0,533)			0,077 (0,416)			0,085 (0,335)
Visuelles Gedächtnis	0,069 (0,532)	0,025 (0,587) TT		0,079 (0,817)						
Allgemeines Gedächtnis								0,047 (1,173) CC		
Zahlenspanne			0,045 (0,227) AA							
Blockspanne	0,086 (0,204)									
Mentale Kontrolle		0,019 (0,075) CC			0,081 (0,066)	0,011 (0,065) TT				
Logisches Gedächtnis II								0,037 (0,471) TT		
Visuelle Wiedergabe II				0,033 (0,730) TT					0,054 (0,459)	0,097 (0,459)
Verzögertes Gedächtnis				0,043 (1,425) TT						

6 Diskussion

Die vorliegende Studie überprüft Zusammenhänge zwischen Genotypen von SNPs des PDE4B-Gens und Schizophrenie im Rahmen einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie sowie zwischen diesen SNPs und Gedächtnisfunktionen in einer weiteren Kognitionsstudie.

Es ergaben sich bei drei SNPs einen Trend für ein häufigeres Auftreten in der Schizophreniegruppe, jedoch keine signifikanten Assoziationen mit dieser Erkrankung. Signifikante Assoziationen zeigten sich bei fünf der betrachteten Polymorphismen für verschiedene kognitive Funktionen.

6.1 Diskussion der Methoden

6.1.1 Das Gedächtnis als Endophänotyp

Die Schwierigkeit bei der Erforschung genetischer Grundlagen der Schizophrenie ist durch die ausgeprägte ätiologische Heterogenität dieser Erkrankung bedingt. Endophänotypen sind neurobiologische Korrelate einer Erkrankung und sollen die Lösung dieses Problems vereinfachen. Wie bereits dargestellt, sind verschiedene Gedächtnisfunktionen als mögliche Endophänotypen der Schizophrenie untersucht worden. Idealerweise sind Suszeptibilitätsgene für abweichende Gedächtnisleistungen zugleich für das genetische Risiko der Erkrankung verantwortlich. Im Vergleich zu klinischen Phänotypen wird Endophänotypen eine weniger komplexe Genstruktur und einen direkteren Bezug zum Genotyp zugeschrieben. Somit soll die Suche nach genetischen Risikofaktoren der Krankheit begünstigt werden. Die Untersuchung von Endophänotypen mit weniger komplexen und besser messbaren biologischen Interaktionsvorgängen soll auch die Ermittlung pathophysiologischer Mechanismen einer Erkrankung vereinfachen. Zudem bieten sie eine Möglichkeit für die Bildung homogenerer Diagnoseentitäten. Das Modell ermöglichte bereits bei zahlreichen Erkrankungen die Identifizierung von Risikogenen, jedoch steht dieser Erfolg bei der Schizophrenie noch aus (Zobel & Maier 2004).

Dieser Umstand kann auf mehreren Sachverhalten beruhen. Die Annahme von einer einfacheren genetischen Determination von Endophänotypen beispielweise ist in Frage gestellt worden. So kamen Flint & Munafò (2007) in ihrer Metaanalyse zu dem Schluss, dass der Effekt der endophänotypassoziierten Genloci nicht größer ist als der von krankheitsbedingenden Loci. Allerdings wurde in dieser Studie nur der COMT-Lokus berücksichtigt.

In Betracht gezogen werden muss auch, dass Endophänotypen möglicherweise nicht ausschließlich auf genetischen Effekten beruhen, sondern epigenetische und umweltbedingte Einflüsse nicht unbeachtet gelassen werden können (Gottesman & Gould

6 Diskussion

2003). Insbesondere bei der Schizophrenie hat sich für die Krankheitsausbildung die Existenz von hirnbeeinträchtigenden sekundären Stressoren in Addition zur genetischen Prädisposition als obligatorisch erwiesen (Tandon et al. 2008). Deshalb spielen neue Endophänotypen wie z.B. mRNA-Transkripte als Korrelat der Genexpression zunehmend eine Rolle (Glahn et al. 2014).

Angezweifelt wird des Weiteren, ob sich Endophänotypen wirklich einfacher und zuverlässiger messen lassen als klinische Phänotypen. Dabei muss bedacht werden, dass die bildgebende, neurophysiologische und -psychologische Erfassung dieser Marker oft nur über eine kurze Zeit stattfindet und zudem diese Messung sehr störanfällig sein kann (Braff & Freedman 2002).

Ein weiterer Kritikpunkt ist, dass trotz der Detektion von endophänotyp- und krankheitsrelevanten Genen die exakte Beziehung zwischen Gen, Endophänotyp und Erkrankung unklar bleibt. Eine Möglichkeit besteht darin, dass sich der Endophänotyp in der Kausalkette zwischen Gen und Erkrankung befindet, wobei auch denkbar ist, dass nur ein Teil der genetischen Effekte durch den Endophänotyp vermittelt wird. Möglich ist jedoch auch, dass Endophänotyp und Erkrankung eine Gruppe gemeinsamer Risikogene aufweisen. Möglicherweise besteht auch eine bidirektionale Interaktion zwischen Endophänotyp und Erkrankung (Kendler & Neale 2010). Wahrscheinlich beruht der wahre Zusammenhang auf einer Kombination aus diesen Überlegungen.

Um trotz dieser Bedenken einen geeigneten Endophänotyp für bestimmte Fragestellungen zu finden, entwickelten Glahn et al. (2012) zumindest für die Depression das sogenannte *Endophenotype Ranking*, welches mögliche Endophänotypen nach der genetischen Übereinstimmung mit dieser Erkrankung ordnet. Verschiedene Gedächtnisfunktionen wie das deklarative Gedächtnis und das Arbeitsgedächtnis rangieren dabei auf den vorderen Positionen. Für Schizophrenie existiert solch eine Skala bisher nicht.

6.1.2 Studiendesign

In der vorliegenden Studie wird einerseits der Einfluss von Polymorphismen des PDE4B-Gens auf das Schizophrenieerkrankungsrisiko, andererseits der Zusammenhang zwischen Gedächtnisleistungen von Probanden mit genetischen Variationen des PDE4B-Gens untersucht. Der Zusammenhang zwischen PDE4B-Polymorphismen und dem Erkrankungsrisiko wurde im Rahmen einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie betrachtet. Hierbei können die Häufigkeiten bestimmter Allele bei Patienten und gesunden Kontrollprobanden verglichen werden, wodurch eine Abschätzung der von diesen genetischen Faktoren ausgehenden relativen Erkrankungsrisiken möglich ist. Bisher

6 Diskussion

existieren mehrere Fall-Kontroll-Assoziationsstudien, die den Zusammenhang zwischen dem PDE4B-Gen und der Schizophrenie untersuchten.

Bei der Untersuchung von Assoziationen zwischen SNPs des PDE4B-Gens und kognitiven Funktionen handelt es sich ebenfalls um eine Assoziationsstudie. Diese Studienform kann für die Untersuchung der Auswirkung spezifischer Genvariationen auf kognitive Funktionen verwendet werden (Plomin & Crabbe 2000). Unterschiedliche Häufigkeiten von Allelen oder Genotypen eines Polymorphismus mit gleichzeitig beobachteter differierender Ausprägung eines relevanten Phänotyps weisen auf eine Assoziation dieses SNP zum untersuchten Merkmal hin. Assoziationsstudien mit großen Stichproben sind in der Lage, Genvariationen mit selbst kleinen Effekten mit ausreichender Power aufzuspüren (Psychiatric GWAS Consortium Coordinating Committee 2009).

Bei Assoziationsstudien sind verschiedene Artefakte möglich. Tritt eine statistische Assoziation zwischen einer Genvariation und einem bestimmten Phänotyp auf, müssen unterschiedliche Interpretationsmöglichkeiten erwogen werden. Zunächst kann eine reale Assoziation zwischen dem Polymorphismus und dem untersuchten Phänotyp vorliegen. Denkbar ist jedoch, dass sich der betreffende Polymorphismus im Kopplungsungleichgewicht mit einem Gen befindet, d.h. aufgrund der räumlichen Nähe beider Regionen auf einem Chromosom bedeutet das Vorkommen einer der beiden Loci das gleichzeitige Auftreten des anderen. Bei einer Assoziation des Polymorphismus zum betreffenden Phänotyp kann also auch eine Assoziation des sich in der Nähe befindenden Gens vermutet werden. Die Suche nach Risikogenen für interessierende Phänotypen, wie z.B. Krankheiten, profitiert von dieser Herangehensweise. Mit diesem Wissen lässt sich auch die Suche nach neuen krankheitsassoziierten pathophysiologischen Mechanismen und in einem weiteren Schritt die Identifizierung neuer therapeutischer Zielstrukturen vereinfachen. Bisher konnte bereits bei über 40 Krankheiten ein signifikanter Einfluss von Genvariationen auf die genetische Suszeptibilität für die entsprechende Erkrankung aufgedeckt werden (Psychiatric GWAS Consortium Coordinating Committee 2009). Dies wird auch bei der Untersuchung kognitiver Phänotypen erwartet. Es muss zudem bedacht werden, dass auch die geographische, ethnische oder soziale Zugehörigkeit genetische Unterschiede und somit variable Phänotypausprägungen in der untersuchten Population bedingen können. In diesen Fällen wird möglicherweise eine falsch-positive Assoziation angenommen. Es sollte daher bei der Probandenrekrutierung auf die Vergleichbarkeit der ethnischen Herkunft geachtet werden. SNPs, deren Assoziationen mit einem bestimmten Phänotyp detektiert wurden, sind zudem wahrscheinlich nicht allein für eine bestimmte Merkmalsausprägung verantwortlich. Zusätzliche Mechanismen wie Umweltfaktoren, Gen-Umwelt-Interaktionen und Prozesse auf genetischer Ebene wie die Epigenetik müssen berücksichtigt werden. Aufgrund der

6 Diskussion

Fehleranfälligkeit von Assoziationsstudien kommt der Replikation von Studienergebnissen eine immense Bedeutung zu (Tandon et al. 2008).

Assoziationsstudien ermöglichen nur die Aussage, dass ein Zusammenhang zwischen Variation und Phänotyp vorliegt, lassen aber nicht auf eine Kausalität oder gar auf die exakten Mechanismen der zugrundeliegenden physiologischen oder biochemischen Vorgänge schließen (Psychiatric GWAS Consortium Coordinating Committee 2009).

Ein weiterer wichtiger Aspekt des Studiendesigns ist die Auswahl und Zusammensetzung der Studienpopulation. Die Gruppe der an Schizophrenie Erkrankten bestand aus aktuellen oder ehemaligen Patienten der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie München. Die Studieneignung wurde zunächst durch einen standardisierten Fragebogen überprüft. Im weiteren Verlauf wurden nach einem ausführlichen Anamnesegespräch mehrere Fragebögen primär zur Diagnosebestätigung eingesetzt.

Denkbar ist, dass von den Patienten unvollständige oder inkorrekte Angaben erbracht wurden. Ob solch ein Umstand vorgekommen ist und inwiefern Studienergebnisse davon beeinflusst worden sein können, bleibt ungeklärt. Trotz standardisierter Fragen und Auswertungskriterien hängen die Testergebnisse auch hier z.T. von der subjektiven Beurteilung des Testleiters ab. Genau wie bei den Kontrollprobanden wurde Wert auf eine konsequente Einarbeitung in die Testdurchführung und -auswertung gelegt, wobei sich die Untersucher regelmäßigen Evaluationen unterziehen mussten.

Die Homogenität insbesondere innerhalb dieser Probandengruppe ist zu hinterfragen, da die Patienten vermehrt möglichen Störfaktoren wie z.B. dem Krankheitsverlauf, der Medikation und Komorbiditäten unterlagen, welche die für die Detektierung genetischer Risikofaktoren notwendige statistische Power mindern könnten (Jablensky et al. 2011).

Auch die Eigenschaften der Kontrollprobanden sind in die Diskussion einzubeziehen. Einwohner der Stadt München wurden als mögliche Probanden randomisiert angeschrieben. Bei Interesse an einer Studienteilnahme erfolgte die Klärung der Studieneignung, wobei das Vorliegen von Ausschlusskriterien überprüft wurde, um mögliche Einflüsse auf Gedächtnisleistungen weitgehend zu eliminieren. Neuropsychiatrische Erkrankungen beeinträchtigen Gedächtnisleistungen (Khan et al. 2014). Daher durften bei den Kontrollprobanden keine Erkrankungen dieser Art vorliegen. Auch biologische Verwandte ersten und zweiten Grades durften nicht von psychiatrischen Störungen betroffen sein, um eine mögliche hereditäre Prädisposition des Probanden zu minimieren.

Das Screening auf die o.g. Teilnahmekriterien erfolgte in einem mehrstufigen Prozess. So wurden die Studieninteressenten in einem ersten Telefoninterview beurteilt, gefolgt von einer neurologischen Untersuchung und weiteren etablierten Fragebögen/Tests (Anamnese I,

6 Diskussion

MMST, HAWIE-R, LEBI, FHAM, SKID I und II, Anamnese II, STAXI, FAF, NEO-PI-R, BGLHA, BDHI, BIS, MOCI und MMPI 2).

Nicht ausgeschlossen werden kann, dass von den Testpersonen bewusst oder unwissend unvollständige oder sogar falsche Angaben mitgeteilt wurden. Allerdings kann die Frage, ob dies der Fall war und inwiefern es sich auf die Studienergebnisse ausgewirkt haben könnte, nur schwer eingeschätzt werden. Trotz standardisierter Fragen und Auswertungskriterien kann eine Auswirkung auf das Testergebnis durch die subjektive Bewertung des Testleiters nicht vollständig ausgeschlossen werden. Vor allem beim MMST und HAWIE-R hängt die Beurteilung der Antworten von einer subjektiven Einschätzung durch den Testleiter ab. Um die Untersucher-abhängigen Effekte einzudämmen, erfolgten neben einer genauen Erlernung der Durchführung dieser Tests auch regelmäßige Evaluationen der Testleiter und -ergebnisse durch unabhängige Drittpersonen.

Für die Fall-Assoziations-Studie (Kognitionsstudie) wurden insgesamt 1831 (524) Probanden untersucht. Diskutiert werden kann, ob sich durch eine größere Stichprobe mehr signifikante Ergebnisse erfassen lassen. Dies könnte ebenfalls durch die Kombination mehrerer kleiner Samples ermöglicht werden (Psychiatric GWAS Consortium Coordinating Committee 2009).

In der Kognitionsstudie waren 52,9% der Studienteilnehmer männlich, 47,1% weiblich. 41,8% der Probanden verfügten über einen hohen, 32,8% über einen mittleren und 25,4% über einen niedrigen Bildungsstand. Die Testpersonen waren durchschnittlich 45,0 Jahre alt. Die im Manual der WMS-R vorgesehene Testauswertung berücksichtigt Alter und Bildungsstand der Testperson, da für alle Subskalen ein signifikanter Einfluss dieser beiden Faktoren gefunden wurde. Auch Studien belegen eine Abhängigkeit der Gedächtnisleistung von Alter (Craik & Rose 2012) und Bildungsstand (Sharp & Gatz 2011). Allerdings gibt es außer für Abiturienten keine spezifische Auswertungsskala, sodass bei der Ergebnisinterpretation auch die Berücksichtigung des Bildungsgrades nicht zu vernachlässigen ist (Härting et al. 2000). Alter und Bildungsstand flossen deshalb als Covariablen in die Studienauewertung ein. Der hohe Anteil an Studienteilnehmern mit einem hohen Bildungsabschluss lässt sich vermutlich durch ein höheres wissenschaftliches Interesse dieser Gruppe erklären.

Ein wichtiger Aspekt bei der Durchführung von Assoziationsstudien ist die ethnische Abstammung der Teilnehmer, die eine z.T. starke populationsabhängige Variation von Allel- und Genotypfrequenzen bedingt und somit Studienergebnisse beeinflussen kann. Die öffentlich zugänglichen Daten des International HapMap Projektes bieten eine Möglichkeit zum Vergleich der spezifischen durchschnittlichen Allel- und Genotypverteilung unterschiedlicher Bevölkerungsgruppen. Beim Vergleich der Genotypfrequenzen des hier

6 Diskussion

vorliegenden Studienkollektivs mit den HapMap-Daten fällt auf, dass die Stichprobe der vorliegenden Studie am ehesten der CEU-Gruppe gleicht (International HapMap Project 2011). In diese Gruppe gehören Einwohner aus Utah mit nord- und westeuropäischen Vorfahren. In der vorliegenden Untersuchung wurden nur Probanden mit deutscher Abstammung berücksichtigt, um eine möglichst ethnisch homogene Stichprobe und somit besser interpretierbare Ergebnisse zu erhalten. Es ist also zu beachten, dass die erhaltenen Resultate nur für die europäischstämmige Population gelten und nicht ohne weiteres auf andere Ethnien übertragbar sind.

Da der Fokus der vorliegenden Studie auf durch die WMS-R erfassbare Gedächtnisleistungen liegt, ist dieses Messinstrument insbesondere zu diskutieren. Die WMS-R ist ein etabliertes Messverfahren zur Untersuchung von Gedächtnisleistungen. Sie wird regelmäßig im klinisch-neuropsychologischen Bereich eingesetzt. Hier dient sie insbesondere der Status- und Verlaufsdagnostik klinisch relevanter Gedächtnisstörungen. Mithilfe dieses Verfahrens lassen sich zahlreiche Komponenten des Gedächtnisses einzeln messen, sodass eine differenzierte Betrachtung von Gedächtnisleistungen möglich ist. Finden sich Abweichungen von der Norm, kann also der konkret betroffene Gedächtnisbereich eingegrenzt werden. So erfasst die WMS-R neben der Aufmerksamkeitsfunktion zahlreiche verbale und non-verbale Kurz- und Langzeitgedächtnisleistungen (Härting et al. 2000). Die MATRICS-Initiative nennt sieben bei der Schizophrenie beeinträchtigte kognitive Bereiche (Nuechterlein et al. 2004). Vier davon (Arbeitsgedächtnis, Aufmerksamkeit/Vigilanz, verbales Gedächtnis und visuelles Gedächtnis), relevante Endophänotypen für die Schizophrenie, können allein durch die WMS-R erfasst werden. Zudem kann ein Gesamtwert zur Abbildung der allgemeinen Gedächtnisleistung berechnet werden. Ein Vorteil der WMS-R ist außerdem, dass zur Gewährleistung der Durchführbarkeit und der Interpretierbarkeit des Tests unmittelbar vor der eigentlichen Gedächtnistestung ein Abschnitt („Information und Orientierung“) mit Orientierungs- und allgemeinen Fragen enthalten ist, die der Proband alle richtig beantworten sollte. Untersuchungen zu Reliabilität und Validität ergaben insgesamt zufriedenstellende Ergebnisse. So lagen die Retest-Reliabilitäten für Indizes zwischen 0,80 und 0,88. Patienten mit neurologischen, neurochirurgischen und psychiatrischen Erkrankungen zeigten außerdem signifikante erkrankungsspezifische Abweichungen der Testergebnisse. Vor allem bei der Abgrenzung einer frühen Demenz von Depressionsbedingten Gedächtnisstörungen hat sich die WMS-R als nützlich erwiesen (Härting et al. 2000).

Die WMS-R ist nur für untere (pathologische) mnestiche Bereiche ausreichend aussagekräftig. Zur differenzierteren Messung von Gedächtnisleistungen können andere

6 Diskussion

spezifischere Tests erwogen werden. Denkbar ist auch, dass die Durchführbarkeit bei Personen mit sehr schweren Gedächtnisstörungen eingeschränkt ist und sich die WMS-R deshalb eher für die Frühdiagnostik eignet. Dieser Umstand sollte bei der Ergebnisinterpretation berücksichtigt werden. Das zugehörige Testmanual mit vorgegebenen Handlungsanweisungen und Normtabellen sowie die Stimulusbücher stellen eine standardisierte Durchführung und Auswertung des Tests weitgehend sicher. Von großer Bedeutung sind also die strukturierte Einarbeitung in die Testinstruktionen sowie das konsequente Üben der Durchführung. Nichtsdestotrotz verfügt der Untersucher über einen gewissen Ermessensspielraum bei der Leistungsbeurteilung, der einen subjektiven Einfluss auf das Testergebnis erlaubt. Dies bedeutet auch, dass sich Testergebnisse einer Person Untersucher-abhängig minimal voneinander unterscheiden können. Obwohl die WMS-R insgesamt als zuverlässig angesehen wird, lagen die Retest-Reliabilitäten der einzelnen Untertests nur zwischen 0,42 und 0,83. Anzumerken ist auch, dass Ergebnisse klinischer Studien an hirngeschädigten Patienten auf eine hohe Sprachabhängigkeit des Testergebnisses hinwiesen. So wurde kritisiert, dass 64% der Maximalpunktzahl auf verbalen Leistungen beruht (Härting et al. 2000). Für die Referenzstichprobe, die zur Erstellung der Normwerte der WMS-R getestet wurde, fanden sich zwar keine signifikanten geschlechterspezifischen Unterschiede in den überprüften Gedächtnisleistungen (Härting et al. 2000), jedoch ist ein Effekt des Geschlechtes auf Gedächtnisleistungen nicht ausgeschlossen (Andreano & Cahill 2009), sodass auch dieses Merkmal als Covariable in der Analyse berücksichtigt wurde.

Auch das Genotypisierungsverfahren spielt eine bedeutende Rolle für die Auswertung der Studienergebnisse. Das iPLEX-Verfahren und die MALDI-TOF MS gelten als etablierte und zuverlässige Methoden für eine Genotypisierung und somit für die Identifizierung von Allelen und Genotypen relevanter Polymorphismen. Der Abgleich der resultierenden Genotypverteilung der untersuchten SNPs mit dem HWE ergab keine signifikanten Abweichungen. Im Vergleich mit den von HapMap bereitgestellten Daten zur Genotypverteilung der untersuchten SNPs für die mit der vorliegenden Stichprobe vergleichbare CEU-Gruppe fallen ebenfalls keine wesentlichen Unterschiede auf (International HapMap Project 2011). Beide Umstände deuten auf eine fehlerfreie Genotypisierung.

Die Auswahl des Kandidatengens stellt einen zentralen Aspekt der Studie dar. Das in der vorliegenden Untersuchung betrachtete PDE4B-Gen erscheint aus mehreren Gründen besonders interessant für die hier studierte Fragestellung. Wie bereits erläutert kommt das Konzept des Endophänotyps in der Schizophrenieforschung zunehmend zur Anwendung. Mit

6 Diskussion

dieser neuen Methodik erhoffen sich Wissenschaftler eine einfachere und erfolgreichere Erfassung genetischer Risikofaktoren für diese Erkrankung. Kognitive Funktionen, wie das Gedächtnis, kommen als relevante Endophänotypen infrage. Gene mit Einfluss auf die zerebrale Neurotransmission im Hirn in Form einer Modulation von Rezeptoren, Transportern oder der bei der Transmittersynthese beteiligten Enzyme erscheinen besonders für die Untersuchung kognitiver Endophänotypen geeignet zu sein. Dabei können Marker des Kandidatengens, z.B. SNPs, untersucht werden (De Geus et al. 2001). Interindividuelle genetische Unterschiede liegen zum Großteil in den häufiger vorkommenden Polymorphismen (Psychiatric GWAS Consortium Coordinating Committee 2009). Mehrere Studien deuten auf eine Beteiligung des PDE4B-Gens an Gedächtnisprozessen hin (Ahmed & Frey 2003; Ahmed & Frey 2005; Ahmed et al. 2004; Bradshaw et al. 2008; Rutten et al. 2011). Denkbar ist eine Gedächtnismodulation über die cAMP-Signalkaskade. Für die PDE4B ergaben sich zudem in mehrerer Hinsicht Zusammenhänge mit der Schizophrenie. Assoziationsstudien resultierten z.T. in signifikanten Assoziationen von SNPs dieses Gens mit Schizophrenie. Zudem greift die PDE4B in Signalwege ein, bei denen Gene eine Rolle spielen, die in GWAS mit Schizophrenie assoziiert waren. Tierexperimentelle und pharmakologische Untersuchungen lassen ebenfalls die Vermutung zu, dass die PDE4B bei der Schizophrenie eine Rolle spielt.

Diese Befunde lassen eine genauere Beleuchtung dieses Gens sinnvoll erscheinen. In der vorliegenden Studie wurden deshalb SNPs des PDE4B-Gens auf Assoziationen mit dem Gedächtnis untersucht.

6.2 Diskussion der Ergebnisse

6.2.1 Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

Ziel der vorliegenden Studie ist die Untersuchung von Assoziationen zwischen zwölf Polymorphismen des PDE4B-Gens und einerseits der Schizophrenie sowie andererseits der durch die WMS-R erfassbaren Gedächtnisleistungen. In der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie ergab sich für keinen der untersuchten SNPs eine signifikante Assoziation mit Schizophrenie. Lediglich für drei Polymorphismen traten in der vorliegenden Untersuchung Trends auf (rs4329483, rs1740417 und rs1500958). Neben der hier vorliegenden Arbeit handeln insgesamt zehn weitere Assoziationsstudien, davon sieben Fall-Kontroll-Untersuchungen sowie zwei Metaanalysen, von Assoziationen zwischen SNPs oder Haplotypen des PDE4B-Gens und Schizophrenie, die teilweise deutlich diskrepante Ergebnisse vorbrachten (siehe Tabelle 6-1 und 6-2).

6 Diskussion

Tab. 6-1: Vergleich von Fall-Kontroll-Assoziationsstudien über den genetischen Effekt von SNPs des PDE4B-Gens auf Schizophrenie. Zeichenerklärung: Keine signifikante Assoziation (-). Vorliegende signifikante Assoziation (+). Nicht untersucht (n). Signifikante Assoziation ausschließlich in der weiblichen Studienpopulation (F). Signifikante Assoziation ausschließlich in der asiatischen Studienpopulation (A).

Studie	Land Ethnie	rs599381	rs1040716	rs472952	rs2180335	rs910694	rs4320761	rs498448	rs6588190	rs11208756	rs6700403	rs1321177
Pickard et al. 2007	Schottland Kaukasier	-	-	n	n	n	n	n	n	n	n	n
Fatemi et al. 2008	USA Kaukasier	-	+	n	n	+	+	n	n	n	n	+
	USA Afro-amerikaner	+	+	n	n	+	-	n	n	n	n	-
Numata et al. 2009	Japan Asiaten	-	+	+	+	+	-	-	-	n	n	n
Rastogi et al. 2009	Kanada Kaukasier	n	n	n	n	-	n	n	n	n	n	n
	Dänemark Kaukasier	-	-	n	n	n	n	n	n	n	n	-
Kähler et al. 2010	Norwegen Kaukasier	-	-	n	n	n	n	n	n	n	n	-
	Schweden Kaukasier	-	-	n	n	n	n	n	n	n	n	-
Guan et al. 2012	China (Han) Asiaten	-	-	+	-	-	-	-	-	n	n	n
Bae et al. 2015	Korea Asiaten	-	+	+	-	n	n	n	n	-	-	+
Bae et al. 2015	Meta-analyse	-	+	+	+	n	n	n	n	n	n	n
Feng et al. 2016	Meta-analyse	-	+	-	+(A)	-	+(A)	-	-	n	n	n
Vorliegende Studie	Kaukasier	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n

6 Diskussion

Tab. 6-2: Vergleich von Fall-Kontroll-Assoziationsstudien über den genetischen Effekt von SNPs des PDE4B-Gens auf Schizophrenie. Zeichenerklärung: Keine signifikante Assoziation (-). Vorliegende signifikante Assoziation (+). Nicht untersucht (n). Signifikante Assoziation ausschließlich in der weiblichen Studienpopulation (F). Signifikante Assoziation ausschließlich in der asiatischen Studienpopulation (A).

Studie	Land Ethnie	rs2144719	rs1354064	rs7537440	rs2503177	rs2503166	rs4288570	rs4004	rs1500958	rs1740417	rs783066
Pickard et al. 2007	Schottland Kaukasier	-	n	n	+ (F)	+ (F)	n	n	-	-	-
Fatemi et al. 2008	USA Kaukasier	+	+	n	n	-	n	-	n	n	n
	USA Afroamerikaner	-	-	n	n	-	n	-	n	n	n
Numata et al. 2009	Japan Asiaten	n	-	n	n	n	n	-	n	n	n
Rastogi et al. 2009	Kanada Kaukasier	n	n	n	n	n	-	n	n	n	n
	Dänemark Kaukasier	-	n	n	n	n	-	n	n	n	n
Kähler et al. 2010	Norwegen Kaukasier	-	n	n	n	n	-	n	n	n	n
	Schweden Kaukasier	-	n	n	n	n	-	n	n	n	n
Guan et al. 2012	China (Han) Asiaten	n	n	+ (F)	n	n	n	n	n	n	n
Bae et al. 2015	Korea Asiaten	+	n	n	n	n	n	n	n	n	n
Bae et al. 2015	Meta-analyse	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
Feng et al. 2016	Meta-analyse	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
Vorliegende Studie	Kaukasier	n	-	n	n	n	-	-	-	-	-

Fünf dieser Studien sowie beide Metaanalysen berichten über positive Assoziationen zwischen Markern des PDE4B-Gens und der Schizophrenie. Bei den hier betrachteten Polymorphismen rs4288570, rs4004, rs1500958, rs1740417 und rs783066 zeigten sich auch in diesen weiteren Studien keine signifikanten Assoziationen mit Schizophrenie.

Einige interessante Erkenntnisse aus bisherigen Untersuchungen sind erwähnenswert. Der Marker rs4288570, für den sowohl hier als auch in der Studie von Rastogi et al. (2009) keine Assoziation zu Schizophrenie detektiert werden konnte, wies auch keine Assoziation mit der antipsychotischen Dosis bei an der Schizophrenie leidenden Patienten auf (Hettige et al.

2014). Der SNP rs1500958 wies in Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe einen Trend zur Assoziation mit Schizophrenie auf. Eine signifikante Assoziation mit Schizophrenie lag bisher nicht vor (Pickard et al. 2007). Der Marker rs1354064 scheint gemäß den Resultaten vorangegangener Studien in der Schizophrenieentstehung involviert zu sein. Fatemi et al. (2008) berichten über eine signifikante Assoziation dieses Markers mit Schizophrenie in der kaukasischen, jedoch nicht in der afroamerikanischen Studienpopulation. Zudem befindet er sich mit einem SNP, der in der Studie von Tompoo et al. mit Schizophrenie assoziiert war, im Kopplungsungleichgewicht (Tompoo et al. 2009). Des Weiteren steht dieser Marker mit einem SNP im Kopplungsungleichgewicht, der in Interaktion mit einem Polymorphismus des DISC1-Gens mit einer verminderten grauen Substanz in der Parietalkortex assoziiert ist (Andreasen et al. 2012). Dieser SNP soll in die transkriptionale Regulation des PDE4B-Gens eingreifen (Karchin 2009). Allerdings finden sich sowohl in der Untersuchung von Numata et al. (2009) als auch in der vorliegenden Studie weder eine signifikante Assoziation noch ein Trend zur Assoziation dieses Markers mit Schizophrenie. Der Polymorphismus rs11208756 wies zwar keine signifikante Assoziation mit Schizophrenie auf, war in der Untersuchung von Bae et al. (2015) jedoch signifikant mit einer pathologischen Augenfolgebewegung, einem der am meisten replizierten neurobiologischen Charakteristika bei dieser Erkrankung, assoziiert.

In genomweiten Assoziationsstudien wurde bisher kein Zusammenhang zwischen PDE4B-Polymorphismen und Schizophrenie gefunden (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium 2014; Need et al. 2009; Psychiatric GWAS Consortium Coordinating Committee 2009). Jedoch berichten Holliday et al. (2009) in einer genomweiten Kopplungsanalyse von einem chromosomalen Risikolocus im Bereich von 1p31.3, wobei PDE4B das am wenigsten davon entfernte Gen darstellt.

Die ausgeprägte Inkonsistenz der oben dargestellten Studienergebnisse kann auf einer Steigerung des Erkrankungsrisikos durch einen oder mehrerer bislang nicht identifizierter PDE4B-Loci beruhen, die sich mit den hier untersuchten SNPs im Kopplungsungleichgewicht befinden. Des Weiteren können genetische Unterschiede auch durch differierende geografische, ethnische oder soziale Zugehörigkeiten hervorgerufen werden. Da in den vorangegangenen Untersuchungen unterschiedliche Abstammungen der eingeschlossenen Probanden vorlagen, ist dieser Aspekt insbesondere zu berücksichtigen. Da Schizophrenie eine äußerst heterogene Krankheit ist, kann nicht geschlussfolgert werden, dass bei fehlenden Assoziationen der untersuchten PDE4B-Polymorphismen mit Schizophrenie auch keine Assoziation mit bestimmten Symptomentitäten dieser Erkrankung bestehen könnte. Aufgrund der Fehleranfälligkeit von Assoziationsstudien sind jedoch sind noch weitere Replikationsstudien mit größeren Kohorten notwendig, um diese Erkenntnisse zu verifizieren.

6 Diskussion

Da auch die ätiopathologische Inhomogenität der Diagnose Schizophrenie die inkonsistenten Studienergebnisse bedingen können, wird die Untersuchung von Assoziationen des Kandidatengens mit Schizophrenie immer bedeutender.

6.2.2 Kognitionsstudie

Hinweise auf signifikante Assoziationen von Polymorphismen des PDE4B-Gens mit Endophänotypen der Schizophrenie fehlen bisher (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium 2014; Greenwood et al. 2011; Greenwood et al. 2013). Ebenso existieren kaum Assoziationsstudien über das PDE4B-Gen im Zusammenhang mit Aspekten des Gedächtnisses. Ein Grund für die spärliche Datenlage zu diesem Thema kann ein Publikationsbias sein, wobei positive Resultate tendenziell eine höhere Wahrscheinlichkeit für eine Veröffentlichung erfahren.

In einer Studie mit finnischen Probanden fanden Tomppo et al. (2009) sowohl bei an Schizophrenie erkrankten als auch bei gesunden Studienteilnehmern keine Assoziation zwischen dem Marker rs7412571 und kognitiven Leistungen. Auch der Haplotyp CCC der Polymorphismen rs4503327, rs25032222 und rs6588186 wies keinen Zusammenhang mit Gedächtnisleistungen auf. Diese Studie ist nicht ganz mit der vorliegenden Untersuchung vergleichbar. Zum einen prüften Tomppo et al. nur einen, hier jedoch nicht betrachteten, SNP, sowie Haplotypen, da diese in der gleichen Studie eine Assoziation mit Schizophrenie gezeigt hatten, zum anderen wurden teilweise andere Messinstrumente verwendet als bei der vorliegenden Untersuchung. Bei Tomppo et al. wurden neben der WMS-R (hierbei auch nur die Subtests für das verbale und visuelle Gedächtnis sowie für die Aufmerksamkeit) auch Komponenten des California Verbal Learning Test und der Wechsler Adult Intelligence Scale eingesetzt, die teilweise zusätzliche kognitive Funktionen testen. Zudem waren die Probanden bei Tomppo et al. finnischer Abstammung, während das hier vorliegende Studienkollektiv ausschließlich kaukasische Teilnehmer umfasste.

Der Marker rs1354064, für den vorangegangene Studien Hinweise auf eine Beteiligung bei der Schizophrenieentstehung ergaben, war in der vorliegenden Untersuchung interessanterweise nicht mit mittels der WMS-R erfassbaren Gedächtnisleistungen assoziiert.

Für eine Wirkung des PDE4B-Gens auf das Gedächtnis sprechen einige Argumente. Es wurde gezeigt, dass eine Sequenzübereinstimmung zwischen der PDE4 und dem Genprodukt des *dunce*-Gens der *Drosophila melanogaster* besteht, für welches eine Beteiligung an Lern- und Gedächtnisprozessen nachgewiesen ist.

PDE-Proteine unterscheiden sich in ihrem Vorkommen im Gehirn (Reneerkens et al. 2009),

6 Diskussion

wobei die PDE4 insbesondere im Hippocampus und im Kortex zu finden sind. Das Gehirn hat außerdem eine besonders hohe PDE4B-Expression im Vergleich zu anderen Geweben zu verzeichnen (Pérez-Torres et al. 2000). Bradshaw et al. (2008) entdeckten PDE4B zudem an der Postsynapse kultivierter hippocampaler Neurone. Da der Hippocampus als neuroanatomisches Korrelat für Gedächtnisprozesse gilt (Mishkin 1978; Squire & Zola-Morgan 1991; Zola-Morgan et al. 1994), sprechen diese Kenntnisse für eine Beteiligung von PDE4B an Gedächtnisfunktionen.

Studien, insbesondere pharmakologische Untersuchungen an Tiermodellen, scheinen eine Gedächtnis-modulierende Funktion von PDE4 zu bestätigen. In Nagetieren zeigten PDE4-Inhibitoren gedächtnisverbessernde Effekte. Diese Beobachtung war sowohl bei gesunden Tieren (Akar et al. 2014a; Akar et al. 2014b; Bach et al. 1999; Huang et al. 2007; Peters et al. 2014; Rutten et al. 2007a; Rutten et al. 2006; Rutten et al. 2007b; Rutten et al. 2008) als auch bei denen mit altersbedingten (Nagakura et al. 2002; Peters et al. 2014) oder experimentell induzierten Gedächtnisstörungen (Egawa et al. 1997; Imanishi et al. 1997; Li et al. 2011; Nagakura et al. 2002; Peng et al. 2013; Rutten et al. 2007a; Rutten et al. 2006; Zhang et al. 2000; Zhang et al. 2005a; Zhang & O'Donnell 2000; Zhang et al. 2004) zu beobachten. Auch in Tiermodellen für Erkrankungen, die mit Gedächtnisstörungen assoziiert sind, fanden sich gedächtnissteigernde Effekte durch Rolipram, einen PDE4-spezifischen Inhibitor (Bourtchouladze et al. 2003; Gong et al. 2004; Wang et al. 2012). Es muss dennoch darauf hingewiesen werden, dass in diesen Untersuchungen kein PDE4B-spezifischer Inhibitor, sondern eine alle PDE4-Proteine hemmende Substanz, verwendet wurde, sodass die beobachteten Effekte auch von anderen PDE4-Proteinen ihren Ausgang nehmen könnten.

Bekannt ist außerdem, dass der cAMP/PKA-Signalweg für das Gedächtnis, insbesondere für die LTP, eine wichtige Bedeutung aufweist (Frey et al. 1993). Zudem deutet eine Reihe von Untersuchungen auf eine Rolle von PDE4 auf die Ausbildung der LTP (Barad et al. 1998; Navakkode et al. 2004, 2005; Oh et al. 2006; Otmakhov et al. 2004; Wiescholleck & Manahan-Vaughan 2012) hin. Tierexperimente dieser Autoren zeigten, dass Rolipram zu einem stärkeren LTP-Signal im Hippocampus der Maus führt und die Induktion der späten Form der LTP und der LTD moduliert. Zudem sollen PDE4 die Phosphorylierung des AMPA-R, eines wichtigen Elements der synaptischen Plastizität, beeinflussen.

Auch für PDE4B wurde eine Involvierung in Prozessen der LTP gezeigt. PDE4B unterliegt einer Modulation während verschiedener LTP-Phasen (Ahmed & Frey 2003; Ahmed & Frey 2005; Ahmed et al. 2004). Experimente mit Knockout-Mäusen, bei denen das PDE4B-Gen ausgeschaltet worden war, resultierten in einer Verstärkung der LTD (Rutten et al. 2011).

Es muss erwähnt werden, dass auch einige negative Resultate über den Einfluss des PDE4B-Gens auf Gedächtnisleistungen zu berichten sind. So konnte in einer Studie von

6 Diskussion

Siuciak et al. (2008) keinen Zusammenhang zwischen diesem Gen und Funktionen des räumlichen Gedächtnisses festgestellt werden. Auch in einem Versuch von Zhang et al. (2008) zeigten sich bei PDE4B-Knockout-Mäusen im Vergleich zum Wildtyp weder Veränderungen beim passiven Vermeidungslernen noch bei räumlichen Gedächtnisleistungen. Allerdings wurden hier insbesondere nur Hippocampus-abhängige Gedächtnisfunktionen getestet, sodass sich die Ergebnisse nicht ohne weiteres auf mnestische Leistungen übertragen lassen, die z.B. mit der Amygdala oder dem Striatum, zwei Arealen mit hohem PDE4B-Vorkommen, korrelieren. Auch in einer Studie von Rutten et al. (2011) fielen bei PDE4B-defizitären Mäusen keine Einbußen des räumlichen Gedächtnisses auf.

Da PDE4B jedoch regulatorisch in die cAMP-Homöostase eingreift, ist ein Einfluss dieses Proteins am Gedächtnis auf Grundlage der Beteiligung des cAMP-Signalweges an mnestischen Vorgängen sehr wahrscheinlich.

Allgemein wird angenommen, dass eine Genvariation mit einem veränderten Proteinprodukt und somit mit modifizierten intrazellulären Funktionsprozessen verbunden ist. Es lässt sich jedoch feststellen, dass außer rs11208747 und rs783066, die sich in der 5'- bzw. 3'-UTR befinden, alle anderen untersuchten SNPs in Introns lokalisiert sind. Der Marker rs11208747 in der 5'-Genregion reguliert die Genexpression möglicherweise durch epigenetische Mechanismen, da sich hier u.a. das CRE befindet (D'Sa et al. 2002). Der SNP rs783066 in der 3'-UTR ist vermutlich ebenfalls an der Regulation des PDE4B-Gens beteiligt. Introns gehören zu den nichtkodierenden Bereichen der DNA, die beim Spleißen der mRNA entfernt werden, d.h. diese Polymorphismen können nicht direkt die Proteinstruktur des Genproduktes beeinflussen. Jedoch können sie möglicherweise die Interaktion des Gens mit Transkriptionsfaktoren modulieren oder durch alternatives Spleißen die Bildung verschiedener Proteinvarianten bewirken. Unklar bleibt jedoch die exakte funktionelle Auswirkung solcher intronbasierten Polymorphismen auf die nachfolgenden molekularen Vorgänge in der Zelle (Meyer-Lindenberg & Weinberger 2006).

Denkbar ist jedoch auch, dass die untersuchten SNPs im Kopplungsungleichgewicht mit weiteren unbekanntem Genloci stehen. Durch die räumliche Nähe beider Loci träten sie häufig gemeinsam auf, sodass sie gleichzeitig auf ein zu untersuchendes Merkmal wirken bzw. der andere nicht untersuchte Polymorphismus möglicherweise die resultierende Assoziation hervorrufen könnte. Dieser Faktor würde somit für den eigentlich nicht relevanten SNP eine indirekte Assoziation bewirken.

Zu beachten ist außerdem, dass die Ausprägung der Gedächtnisleistungen auch durch

6 Diskussion

andere, in dieser Studie nicht erfasste, Gene beeinflusst werden kann. Es sind diverse Gene bekannt, die mit dem PDE4B-Gen interagieren. Im Hinblick auf die Schizophrenieforschung ist hier vor allem das DISC1-Gen zu erwähnen, dessen Genprodukt eine modulierende Funktion für die PDE4B zugesprochen wird (Millar et al. 2007). Hierbei handelt es sich um ein Risikogen für Schizophrenie, dessen Genprodukt über einen N-Terminus die UCR2-Region der PDE4B bindet. Neben der PDE4B1, PDE4B2 und PDE4B3 interagieren auch die PDE4A, PDE4C und PDE4D mit DISC1 (Murdoch et al. 2007). Millar et al. (2005) konstatierten, dass es bei einem ansteigenden zellulären cAMP-Gehalt durch eine PKA-abhängige Phosphorylierung der PDE4B zur Auflösung dieser Bindung kommt, sodass der zelluläre PDE4B-Spiegel zunimmt. Die Untersuchungen von Murdoch et al. (2007) ergaben zusätzlich, dass nur bestimmte PDE4- und DISC1-Isoformen voneinander dissoziieren. So kann sich die PDE4B nur von dem 71 kDa-DISC1-Protein lösen. Clapcote et al. (2007) beobachteten jedoch die gegensätzliche Erscheinung, dass Mäuse mit einer Mutation im DISC1-Gen, die eine Bindungsstelle für PDE4B betraf, über eine geringere zerebrale PDE4B-Aktivität verfügen. Interessant ist auch die Erkenntnis, dass eine bestimmte Genvariante von DISC1 eine erniedrigte Aktivität der ERK, eines Enzyms für die Inaktivierung der PDE4, bewirkt (Hashimoto et al. 2006). Bradshaw et al. (2008) entdecken ein Vorkommen von DISC1/PDE4B in dendritischen Fortsätzen und an der Postsynapse. Hier könnten beide Proteine an der Modulierung der synaptischen Plastizität beteiligt sein. Nicht auszuschließen ist also, dass die PDE4B-Funktion der in der vorliegenden Studie untersuchten Probanden durch Interaktionen mit DISC1 verändert war und sich dieser Umstand auf die Studienergebnisse auswirkte. Zudem wurde ein Polymorphismus des DISC1-Gens gefunden, der mit Veränderungen der Hippocampusgröße und kognitiver Leistungen bei gesunden Probanden einhergeht (Callicott et al. 2005). Hinzu kommen SNPs des DISC1-Gens, die bei an Schizophrenie erkrankten Personen mit kognitiven Störungen assoziiert sind (Sawa & Snyder 2005). Daher können vor allem bei diesen Individuen über studienrelevante Interaktionen zwischen PDE4B und DISC1 spekuliert werden.

Eine Studie von Girgenti et al. (2012) berichtete über Interaktionen zwischen ZNF804A, einem weiteren Kandidatengen für Schizophrenie, und der PDE4B. Sie beobachteten in kortikalen Progenitorzellen von Ratten, dass die Transkription des PDE4B-Gens durch die ZNF804A-Expression reduziert war. Allerdings konnte ein direkter Einfluss von ZNF804A auf Genloci proximal des PDE4B-Promoters nicht festgestellt werden. Insbesondere bei den unter Schizophrenie leidenden Probanden kann eine Auswirkung dieser Interaktion auf das Studienresultat nicht ausgeschlossen werden.

Erwähnenswert ist außerdem, dass bei schizophrenen Patienten ein reduzierter cAMP-

6 Diskussion

Spiegel beobachtet wurde (Muly 2002). Zudem sind genetische Veränderungen bei an Schizophrenie Erkrankten bekannt, die zu einer Veränderung des cAMP-Spiegels führen können (Paspalas et al. 2013). Des Weiteren vermuten Kelly et al. (2007), dass antipsychotisch wirkende Substanzen über die Blockade von D2-Rezeptoren den cAMP-Spiegel ansteigen lassen. Da in der Endophänotypenstudie auch Patienten eingeschlossen wurden und, wie bereits erwähnt, eine Regulation der PDE-Aktivität durch den cAMP-Spiegel bekannt ist, kann nicht ausgeschlossen werden, dass eventuelle Abnormalitäten des *second messengers* auch zu veränderter PDE4B-Funktion mit nachfolgenden Auswirkungen auf die Studienergebnisse geführt haben könnten.

Erwähnenswert ist auch eine von Ramos et al. (2003) beobachtete Erscheinung. In ihrer Studie steigerte Rolipram nur in jungen Rhesusaffen die Leistung des Arbeitsgedächtnisses, während ein gegensätzlicher Effekt bei älteren Tieren auftrat. Er erklärte dieses Ergebnis mit einer im Alter möglicherweise gestiegenen PKA-Aktivität im PFC. Jedoch kann auch eine veränderte zerebrale Verteilung der PDE im Alterungsprozess der Auslöser dieses Effektes sein (Reneerkens et al. 2009). Der Einfluss von PDE auf das Gedächtnis im Alter muss eventuell relativiert werden.

Da neurokognitive Domänen interkorrelieren (Gur et al. 2007), ist nicht ausgeschlossen, dass defizitäre Gedächtnisleistungen durch Einbußen andere kognitiver Funktionen hervorgerufen werden, die eigentlich mit dem untersuchten Gen assoziiert sind. In dieser Fragestellung kann aufgrund ausstehender Untersuchungen noch kein endgültiges Urteil gefällt werden. Künftige Studien können sich möglichen Assoziationen des PDE4B-Gens mit anderen kognitiven Faktoren, insbesondere den von MATRICS postulierten Domänen, widmen.

Bei der Interpretation der signifikanten Ergebnisse der vorliegenden Studie müssen einige Limitationen der Studie berücksichtigt werden. Wie bereits erläutert, differenziert die WMS-R für obere mnestiche Bereiche nicht ausreichend (Härting et al. 2000). Des Weiteren darf nicht außer Acht gelassen werden, dass die Ergebnisse der vorliegenden Studie aufgrund der Einschlusskriterien nur für regional begrenzte Populationen nachgewiesen wurden.

Unter der Annahme, dass die resultierten Assoziationen valide repliziert werden können, stellt sich die Frage nach den Mechanismen, durch die die PDE4B auf das Gedächtnis einwirkt. Das PDE4B-Gen kodiert für eine Phosphodiesterase, die den zellulären cAMP-Spiegel reguliert. Für eine Beteiligung des cAMP-Signalweges bei Gedächtnisprozessen sprechen zahlreiche Untersuchungsergebnisse. Kandel (2012) fasst die aktuellen Kenntnisse

6 Diskussion

über diese Signalkaskade zusammen. Demnach werden sowohl das Kurzzeit- als auch das Langzeitgedächtnis über einen cAMP-abhängigen Mechanismus gesteuert. Beim Kurzzeitgedächtnis kommt es nach neuronaler Stimulation zu einem Serotonin-abhängigen Anstieg des zellulären cAMP-Spiegels. cAMP bindet und aktiviert die cAMP-abhängige PKA, die wiederum die Aktivität bestimmter Proteine an synaptischen Enden durch Phosphorylierung modulieren kann. Diese Kaskade mündet in einer gesteigerten synaptischen Transmitterfreisetzung. Die Überführung von Gedächtnisinhalten in die dauerhafte Speicherung bei der LTP beruht auf cAMP-abhängige Vorgänge, die die Genexpression involvierter Proteine beeinflusst. Bei anhaltender Stimulation von Neuronen kommt es zu einer Phosphorylierung von nukleären Transkriptionsfaktoren durch die PKA, die zuvor eine Mitogen-aktivierte Proteinkinase gebunden hat. Einer dieser Faktoren ist das CREB, welches das CRE in der regulatorischen Genregion bindet und schließlich zur Aktivierung der RNA-Polymerase führt. Diese katalysiert die Transkription von Genen, welche für das Wachstum synaptischer Verbindungen verantwortlich sind. Eine interessante Erkenntnis ist, dass für eine optimale Gedächtnisleistung sich der cAMP-Spiegel in einem bestimmten Bereich befinden muss, d.h. eine Überfunktion der G-Protein/cAMP/PKA-Signalkaskade führt zu einer Gedächtnisbeeinträchtigung. PDE können über die kompartmentspezifische cAMP-Hydrolyse ortsdefinierte intrazelluläre Vorgänge beeinflussen. PDE-Dysfunktionen bedingen deshalb möglicherweise ungezielte cAMP-Signale mit abnormalen Proteinphosphorylierungen, die wiederum gestörte zelluläre Prozesse hervorrufen (Hotte et al. 2012).

Denkbar ist jedoch auch ein anderer Weg, über den die PDE4B das Gedächtnis beeinflusst. In einem Mäuseversuch von Ishikawa et al. (2002) führte die Gabe von 3mg/kg Rolipram, einem PDE4-Inhibitor, innerhalb von fünf Minuten zu einer um 20% reduzierten Hirndurchblutung. Zudem kam es zu einem um 40% verminderten zerebralen Glukosestoffwechsel. Auch 1mg/kg Rolipram bewirkte noch 15 Minuten nach Substanzzufuhr eine um 40% gesunkene Glukosemetabolisierung im Hirn. Eine synergische Erkenntnis ist, dass die Vasodilatation von den *second messengern* cAMP und cGMP abhängig ist. Auffällig ist jedoch, dass die hier applizierten Dosen diejenigen übersteigen, welche in anderen Studien eine Kognitionsbesserung verursachten (Akar et al. 2014a; Akar et al. 2014b; Bach et al. 1999; Barad et al. 1998; Bourtchouladze et al. 2003; Egawa et al. 1997; Gong et al. 2004; Huang et al. 2007; Imanishi et al. 1997; Kanesh et al. 2007; Peters et al. 2014; Rutten et al. 2007a; Rutten et al. 2006; Rutten et al. 2007b; Rutten et al. 2008; Siuciak et al. 2008; Zhang et al. 2000; Zhang et al. 2005a; Zhang & O'Donnell 2000; Zhang et al. 2004). Dies deutet daraufhin, dass die vaskulären Effekte eher weniger wahrscheinlich oder zumindest nicht allein für die Zunahme kognitiver Leistungen verantwortlich sein können.

Prickaerts & Steckler (2005) konstatierten, dass für leistungsfähige kognitive Funktionen ein gewisses Ausmaß an emotionaler Erregung vonnöten ist. Rolipram scheint in Ratten über eine anxiolytische Wirkung zu verfügen (Silvestre et al. 1999). Möglicherweise modulieren PDE4 kognitive Mechanismen auch über emotionsbedingte Prozesse.

Interessant ist der Zusammenhang zwischen der PDE4 und dem Dopaminstoffwechsel. Wie bereits oben dargestellt lassen Untersuchungen von Nishi et al. (2008) und Kuroiwa et al. (2012) eine Auswirkung der PDE4B auf den Dopaminmetabolismus im PFC und Striatum durch das Eingreifen in den zellulären cAMP-Haushalt vermuten. Die Dopamin-abhängige Signaltransduktion im PFC und Striatum spielt insbesondere eine Rolle für das Gedächtnis. Beispielsweise soll DARPP-32 die synaptische Plastizität von Neuronen modulieren. Defizitäre Leistungen des Arbeitsgedächtnisses zeigten sich zudem bei Dysregulation des präfrontalen cAMP-Signalweges (Paspalas et al. 2013). Dysfunktionen in diesem Bereich werden daher für kognitive Defizite bei Schizophrenie verantwortlich gemacht (Kuroiwa et al. 2012; Simpson et al. 2010). Es lässt sich also schlussfolgern, dass die PDE4B möglicherweise an der Ursache dieser Gedächtnisstörungen beteiligt ist (Kuroiwa et al. 2012).

Auch zur Serotonin-abhängigen Signalkaskade lässt sich ein Bezug herstellen. Die Aktivierung des 5-Hydroxytryptamin-Rezeptors 4 (5-HTR4) hat eine gesteigerte cAMP-Synthese durch die Adenylzyklase zur Folge. Die Bedeutung dieses Rezeptors für Gedächtnisprozesse ist bekannt (Hotte et al. 2012). Denkbar ist also, dass die PDE4B diese Serotonin-abhängigen Gedächtnisfunktionen über den cAMP-Abbau moduliert. So konnte beobachtet werden, dass in Ratten eine gesteigerte PDE4-Aktivität das Objektgedächtnis in Form einer zunehmenden Informationsaufnahme fördert (Levallet et al. 2009). Hinzu kommt, dass die PKA-modulierte Phosphorylierung des 5-HTR4 von Proteinphosphatasen revidiert werden kann. Eine Form dieser Phosphatasen wird durch eine Erhöhung des zellulären cAMP-Spiegels aktiviert. Mehrere Studien zeigten eine Veränderung der Phosphatasen-Aktivität nach Gabe eines PDE4-Inhibitors (Hotte et al. 2012). Daher führt die PDE4B möglicherweise auch auf diesem indirekten Weg zu Veränderungen des 5-HTR4.

6.3 Ausblick

Bis dato existieren kaum vergleichbare Untersuchungen zu SNPs des PDE4B-Gens und Gedächtnisfunktionen. Interessant ist die Frage, ob sich die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit durch weitere Studien replizieren lassen. Es sollte u.a. geklärt werden, inwieweit reale

6 Diskussion

Assoziationen zwischen den hier untersuchten SNPs und Gedächtnis vorliegen oder ob gewisse Faktoren falsch-positive Resultate ergeben haben könnten. Dabei kann eine genetische Stratifizierung hilfreich sein (Meyer-Lindenberg & Weinberger 2006). Probanden mit und ohne ein bestimmtes Allel oder einen definierten Genotyp in einem hier assoziierten Polymorphismus können auf weitere Assoziationen überprüft werden. Zusätzlich sollte der Kreis untersuchter Marker ausgedehnt werden, insbesondere auf Genvariationen in Exons. Da an der vorliegenden Studie sowohl gesunde als auch kranke Probanden teilnahmen, ist, wie bereits erwähnt, aufgrund unterschiedlicher Einwirkungsfaktoren beider Gruppen eine gewisse Heterogenität der Studienpopulation entstanden. Prinzipiell ist eine getrennte Analyse beider Gruppen auf Assoziationen interessant, was eine Aufgabe künftiger Studien sein kann. Auch eine geschlechterspezifische Assoziationsuntersuchung erscheint für künftige Analysen sinnvoll, da bereits in mehreren Studien bei männlichen und weiblichen Probanden differierende Assoziationen von PDE4B-Polymorphismen mit Schizophrenie aufgefallen sind (Guan et al. 2012; Kähler et al. 2010; Numata et al. 2009; Pickard et al. 2007) und auch eine Hormonabhängigkeit des cAMP-Spiegels beschrieben worden ist (Auger 2003). Nur in Zusammenschau mit weiteren Untersuchungen können die zellulären Zusammenhänge zwischen diesem Gen und Gedächtnis, insbesondere der Funktion dieser SNPs eruiert werden. Hier sind Studien notwendig, die z.B. durch die gezielte Ausschaltung von Signalmolekülen des PDE/cAMP-Systems die zugrundeliegenden Prozesse erforschen können. Dabei müssen epigenetische und umweltbedingte Einflüsse berücksichtigt werden.

Gedächtnisstörungen sind wesentliche Symptome einer Schizophrenie und mit einem schlechten Outcome verbunden. Die bislang eingesetzten Medikamente sind nicht in der Lage, die kognitiven Störungen zufriedenstellend zu behandeln (Tandon et al. 2009). PDE4B, ein Kandidatengen der Schizophrenie, bietet ein Verknüpfungspunkt zwischen dieser Krankheit und den erkrankungsbedingten Gedächtnisstörungen. Das Wissen über das PDE4B-Gen und seine funktionelle Auswirkungen auf das Gedächtnis eröffnet ein neues vielversprechendes Feld pharmakologischer Forschungen. Mögliche therapeutische Zielstrukturen sind Moleküle der zugrundeliegenden pathophysiologischen Prozesse, d.h. am cAMP-Signal beteiligte Proteine. Die Modulation des Substanzabbaus kann wesentlich schneller und effektiver erfolgen als die Regulation der Proteinsynthese (Bender & Beavo 2006). Mehrere Generationen spezifischer PDE4-Inhibitoren wurden bereits entwickelt (Peng et al. 2014). Insbesondere Rolipram, der Prototyp dieser Hemmer, zeigte in mehreren Studien neben einer Verstärkung der LTP auch allgemein gedächtnisverbessernde Effekte. Es ließ sich feststellen, dass mit zunehmender Isoform-Spezifität der Substanzen sich mögliche unerwünschte Wirkungen reduzieren lassen, sodass die Herstellung solcher spezifischen Inhibitoren essenziell für die weitere pharmakologische Entwicklung ist (Houslay

6 Diskussion

et al. 2005). Mittlerweile existieren zahlreiche Substanzen, die spezifisch PDE4B blockieren (Naganuma et al. 2009). Allerdings gibt es kaum Untersuchungen, bei denen der Effekt dieser Wirkstoffe auf Gedächtnisleistungen getestet wurde. Hier können künftig tierexperimentelle Studien zum Zuge kommen. Beispielweise können dafür Knockout-Mäuse mit experimentell induzierten Gedächtnisstörungen eingesetzt und die kognitive Leistung dieser Tiere vor und nach Substanzgabe gemessen werden. In einem weiteren Schritt ist die Testung von Tiermodellen vorstellbar, die für bestimmte gedächtnisbeeinträchtigende Erkrankungen, wie z.B. für die Demenz, Depression oder insbesondere auch Schizophrenie, entwickelt werden. Allerdings werden diese Substanzen möglicherweise nur bei Individuen wirken, die im PDE4B-Gen das Risikoallel oder den -genotyp aufweisen.

Des Weiteren sollte versucht werden, dem Zusammenhang zwischen dem PDE4B-Gen und Schizophrenie weiter auf den Grund zu gehen. Zu klären ist - hinsichtlich der bisher teilweise widersprüchlichen Ergebnisse - ob sich konstantere Ergebnisse z.B. durch Untersuchungen an größeren populationsidentischen Stichproben erfassen lassen. Auch die Suche nach weiteren Risikogenen für Gedächtnisstörungen bei Schizophrenieerkrankten erscheint sinnvoll.

Das Endophänotypkonzept bietet die Möglichkeit zu einer neurobiologisch orientierten Klassifikation komplexer Erkrankungen. Deshalb sollten Polymorphismen von PDE4B im Hinblick auf weitere psychiatrische Erkrankungen und weitere Endophänotypen ebenfalls analysiert werden.

Die vorliegende Studie vermittelt erste Hinweise für eine Assoziation bestimmter Polymorphismen des PDE4B-Gens mit diversen Gedächtnisleistungen. Es bleibt abzuwarten, ob sich diese Hinweise durch künftige Untersuchungen verdichten. Noch ausstehend ist die Frage, ob und inwiefern sich dieses Wissen insbesondere für die pharmakologische Schizophrenieforschung nutzen lässt.

7 Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Erklärung
5-HTR4, 5-HTR2A	5-Hydroxytryptamin-Rezeptor 4, 5-Hydroxytryptamin-Rezeptor 2A
AKAP	A-Kinase Anchor Protein
AMPA-R	α -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazolepropionic Acid Receptor
ATP	Adenosintriphosphat
BDHI	Buss-Durkee Hostility Inventory
BGLHA	Brown Goodwin Life History of Aggression
BIS	Barratt Impulsiveness Scale
CAMK	Calcium/Calmodulin-abhängige Proteinkinase
cAMP	Zyklisches Adenosinmonophosphat
cGMP	Zyklisches Guanosinmonophosphat
CNV	Copy number variant
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
CPT	Continous Performance Test
CRE	cAMP response element
CREB	cAMP response element-binding protein
CTNNA2	Catenin α 2
DARPP-32	Dopamine- and cAMP regulated phosphoprotein of M_r 32 kDa
DAT1	Dopamine transporter 1
DISC1	Disrupted in schizizophrenia 1
DNA	Desoxyribonukleinsäure (engl. Deoxyribonucleic acid)
DR2, DR4	Dopaminrezeptor 2, Dopaminrezeptor 4
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (Fourth Edition) der American Psychiatric Association
ERBB4	Erb-B2 Rezeptor Tyrosinkinase 4
ERK (2)	Extracellular signal-regulated kinase (2)
FAF	Fragebogen zur Erfassung von Aggressivitätsfaktoren
FHAM	Family History Assessment Module
GRIN2	G-protein-regulated inducer of neurite outgrowth 2
GTP	Guanosintriphosphat
GWAS	Genomweite Assoziationsstudie (engl. genome-wide association study)
HAWIE-R	Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene Revidierte Fassung
HWE	Hardy-Weinberg-Gleichgewicht
ICD-10	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10
LEBI	Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar
LPS	Lipopolysaccharid
LTD	Langzeitdepression
LTP	Langzeitpotenzierung
MALDI-TOF MS	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time-Of-Flight Mass spectrometry
mGluR1	metabotroper Glutamatrezeptor 1
MMPI2	Minnesota Multiphasic Personality Inventory 2
MMST	Mini-Mental-Status-Test
MOCI	Maudsley Obsessional-Compulsive Inventory
NEO-PI-R	NEO-Persönlichkeitsinventar revidierte Fassung
NMDA-R	N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor

7 Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Erklärung
PANSS	Positive and Negative Syndrome Scale
PCR	Polymerase-Kettenreaktion (engl. Polymerase chain reaction)
PDE	Phosphodiesterase
PDE1-11	Phosphodiesterase 1-11
PDE4A, B1-6, C, D	Phosphodiesterase 4A, B Isoformen 1-6, C, D
PFC	Präfrontaler Kortex
PKA	Proteinkinase vom Typ A
PPI	Präpulsinhibition
PSD95	Postsynaptic density protein 95
RACK1	Receptor for Activated C Kinase 1
RELN	Reelin
SKID I, SKID II	Strukturiertes Klinisches Interview I, II
SLC1A2	Solute carrier family 1 member 2
SNAPIN	SNAP associated protein
STAXI	State-Trait-Ärgerausdrucks-Inventar
TAAR6	Trace amine associated receptor 6
TSNAX	Translin-Associated Factor X
UCR1/2	Upstream Conserved Region 1/2
SNP	Einzelnukleotidpolymorphismus (engl. single nucleotide polymorphism)
UTR	Untranslated region
WMS-R	Wechsler Memory Scale Revised Edition
ZNF804A	Zink Finger Protein 804A

8 Literaturverzeichnis

- Ahmed, T., and Frey, J. U. (2003). Expression of the specific type IV phosphodiesterase gene PDE4B3 during different phases of long-term potentiation in single hippocampal slices of rats in vitro. *Neuroscience*, 117(3), 627-638.
- Ahmed, T., and Frey, J. U. (2005). Phosphodiesterase 4B (PDE4B) and cAMP-level regulation within different tissue fractions of rat hippocampal slices during long-term potentiation in vitro. *Brain research*, 1041 (2), 212-222.
- Ahmed, T., Frey, S., and Frey, J. U. (2004). Regulation of the phosphodiesterase PDE4B3-isotype during long-term potentiation in the area dentata in vivo. *Neuroscience*, 124(4), 857-867.
- Akar, F., Mutlu, O., Celikyurt, I. K., Bektas, E., Tanyeri, M. H., Ulak, G., Tanyeri, P., and Erden, F. (2014a). Effects of zaprinast and rolipram on olfactory and visual memory in the social transmission of food preference and novel object recognition tests in mice. *Drug target insights*, 8, 23-29.
- Akar, F., Mutlu, O., Komsuoglu Celikyurt, I., Ulak, G., Erden, F., Bektas, E., and Tanyeri, P. (2014b). Zaprinast and rolipram enhances spatial and emotional memory in the elevated plus maze and passive avoidance tests and diminishes exploratory activity in naive mice. *Medical science monitor basic research*, 20, 105-111.
- Albus, M. (2012). Clinical courses of schizophrenia. *Pharmacopsychiatry*, 45 Suppl 1, S31-35.
- Aleman, A., Hijman, R., de Haan, E. H. F., and Kahn, R. S. (1999). Memory impairment in schizophrenia: a meta-analysis. *The American journal of psychiatry*, 159(9), 1358-1366.
- Aleman, A., and Kahn, R. S. (2005). Strange feelings: do amygdala abnormalities dysregulate the emotional brain in schizophrenia? *Progress in neurobiology*, 77(5), 283-298.
- Allen, N. C., Bagade, S., McQueen, M. B., Ioannidis, J. P., Kavvoura, F. K., Khoury, M. J., Tanzi, R. E., and Bertram, L. (2008). Systematic meta-analyses and field synopsis of genetic association studies in schizophrenia: the SzGene database. *Nature genetics*, 40(7), 827-834.
- Alvarez, P., and Squire, L. R. (1994). Memory consolidation and the medial temporal lobe: a simple network model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(15), 7041-7045.
- American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders, (DSM-5®)*: American Psychiatric Pub.
- Ando, J., Ono, Y., and Wright, M. J. (2001). Genetic structure of spatial and verbal working memory. *Behavior genetics*, 31(6), 615-624.

8 Literaturverzeichnis

- Andreano, J. M., and Cahill, L. (2009). Sex influences on the neurobiology of learning and memory. *Learning & memory*, 16(4), 248-266.
- Andreasen, N. C. (1979). Thought, language, and communication disorders. I. Clinical assessment, definition of terms, and evaluation of their reliability. *Archives of general psychiatry*, 36(12), 1315-1321.
- Andreasen, N. C., Wilcox, M. A., Ho, B. C., Epping, E., Ziebell, S., Zeien, E., Weiss, B., and Wassink, T. (2012). Statistical epistasis and progressive brain change in schizophrenia: an approach for examining the relationships between multiple genes. *Molecular psychiatry*, 17(11), 1093-1102.
- Ariga, M., Neitzert, B., Nakae, S., Mottin, G., Bertrand, C., Pruniaux, M. P., Catherine Jin, S. L., and M., C. (2004). Nonredundant function of phosphodiesterases 4D and 4B in neutrophil recruitment to the site of inflammation. *The Journal of immunology*, 173, 7531-7538.
- Atkinson, R. C., and Shiffrin, R. M. (1968). Human Memory: A Proposed System and its Control Processes¹. In W. S. Kenneth & S. Janet Taylor (Eds.), *Psychology of Learning and Motivation* (Vol. Volume 2, pp. 89-195): Academic Press.
- Auger, A. P. (2003). Sex differences in the developing brain: crossroads in the phosphorylation of cAMP response element binding protein. *Journal of neuroendocrinology*, 15(6), 622-627.
- Aukes, M. F., Alizadeh, B. Z., Sitskoorn, M. M., Selten, J. P., Sinke, R. J., Kemner, C., Ophoff, R. A., and Kahn, R. S. (2008). Finding suitable phenotypes for genetic studies of schizophrenia: heritability and segregation analysis. *Biological psychiatry*, 64(2), 128-136.
- Auquier, P., Lancon, C., Rouillon, F., and Lader, M. (2007). Mortality in schizophrenia. *Pharmacoepidemiology and drug safety*, 16(12), 1308-1312.
- Bach, M. E., Barad, M., Son, H., Zhuo, M., Lu, Y. F., Shih, R., Mansuy, I., Hawkins, R. D., and Kandel, E. R. (1999). Age-related defects in spatial memory are correlated with defects in the late phase of hippocampal long-term potentiation in vitro and are attenuated by drugs that enhance the cAMP signaling pathway. *Proceedings of the National academy of Sciences of the United States of America*, 96(9), 5280-5285.
- Bachmann, S., Degen, C., Geider, F. J., and Schroder, J. (2014). Neurological soft signs in the clinical course of schizophrenia: results of a meta-analysis. *Frontiers in psychiatry*, 5, 185.
- Bacsikai, B. J., Hochner, B., Mahaut-Smith, M., Adams, S. R., Kaang, B. K., Kandel, E. R., and Tsien, R. Y. (1993). Spatially resolved dynamics of cAMP and protein kinase A subunits in *Aplysia* sensory neurons. *Science*, 260(5105), 222-226.
- Baddeley, A. (2000). The episodic buffer: a new component of working memory? *Trends in cognitive sciences*, 4(11), 417-423.
- Baddeley, A. D., and Hitch, G. (1974). Working Memory. In H. B. Gordon (Ed.), *Psychology*

8 Literaturverzeichnis

of Learning and Motivation (Vol. Volume 8, pp. 47-89): Academic Press.

- Bae, J. S., Park, B. L., Cheong, H. S., Kim, J. H., Kim, J. Y., Namgoong, S., Kim, J. O., Park, C. S., Kim, B. J., Lee, C. S., Kim, J. W., Choi, W. H., Shin, T. M., Hwang, J., Koh, I. S., Shin, H. D., and Woo, S. I. (2015). Association analysis of PDE4B polymorphisms with schizophrenia and smooth pursuit eye movement abnormality in a Korean population. *General physiology and biophysics*, 34(3), 277-284.
- Barad, M., Bourtchouladze, R., Winder, D. G., Golan, H., and Kandel, E. (1998). Rolipram, a type IV-specific phosphodiesterase inhibitor, facilitates the establishment of long-lasting long-term potentiation and improves memory. *Proceedings of the National academy of Sciences of the United States of America*, 95(25), 15020-15025.
- Barber, R., Baillie, G. S., Bergmann, R., Shepherd, M. C., Sepper, R., Houslay, M. D., and Heeke, G. V. (2004). Differential expression of PDE4 cAMP phosphodiesterase isoforms in inflammatory cells of smokers with COPD, smokers without COPD, and nonsmokers. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 287(2), L332-343.
- Barrantes-Vidal, N., Aguilera, M., Campanera, S., Fatjó-Vilas, M., Guitart, M., Miret, S., Valero, S., and Fañanás, L. (2007). Working memory in siblings of schizophrenia patients. *Schizophrenia research*, 95(1-3), 70-75.
- Bauman, A. L., Goehring, A. S., and Scott, J. D. (2004). Orchestration of synaptic plasticity through AKAP signaling complexes. *Neuropharmacology*, 46(3), 299-310.
- Beard, M. B., Huston, E., Campbell, L., Gall, I., McPhee, I., Yarwood, S., Scotland, G., and Houslay, M. D. (2002). In addition to the SH3 binding region, multiple regions within the N-terminal noncatalytic portion of the cAMP-specific phosphodiesterase, PDE4A5, contribute to its intracellular targeting. *Cell Signal*, 14(5), 453-465.
- Beavo, J. A. (1995). Cyclic nucleotide phosphodiesterases: functional implications of multiple isoforms. *Physiological reviews*, 75(4), 725-748.
- Bender, A. T., and Beavo, J. A. (2006). Cyclic nucleotide phosphodiesterases: molecular regulation to clinical use. *Pharmacological reviews*, 58(3), 488-520.
- Bilder, R. M., Reiter, G., Bates, J., Lencz, T., Szeszko, P., Goldman, R. S., Robinson, D., Lieberman, J. A., and Kane, J. M. (2006). Cognitive development in schizophrenia: follow-back from the first episode. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, 28(2), 270-282.
- Blackwood, D. (2000). P300, a state and a trait marker in schizophrenia. *Lancet*, 355(9206), 771-772.
- Blackwood, D. H., Fordyce, A., Walker, M. T., St Clair, D. M., Porteous, D. J., and 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. *American Journal of Human Genetics*, 69(2), 428-433.
- Bleuler, E. (2014). *Dementia praecox oder Gruppe der Schizophrenien. Unveränderte*

Neuaufgabe der Ausgabe von 1911. Gießen: Psychosozial-Verlag.

- Bliss, T. V., and Lomo, T. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *The Journal of physiology*, 232(2), 331-356.
- Bolger, G. B., McCahill, A., Yarwood, S. J., Steele, M. R., Warwicker, J., and Houslay, M. D. (2002). Delineation of RAID1, the RACK1 interaction domain located within the unique N-terminal region of the cAMP-specific phosphodiesterase, PDE4D5. *BMC Biochemistry*, 3, 24.
- Botero, S., Muñoz, C. C., Ocampo, M. V., Escobar, M., Rangel, A., Quintero, C., Marín, C., Jaramillo, L. E., Sánchez, R., Rodríguez-Losada, J., Beltrán, D., Ospina, J., Palacio, C., Arango, J. C., Aguirre-Acevedo, D. C., Páez, A. L., Valencia, A. V., and García, J. (2013). Verbal working memory in individuals with schizophrenia and their first degree relatives: relationship with negative and disorganized symptoms. *Actas espanolas de psiquiatria*, 41(3), 106-114.
- Bourtchouladze, R., Lidge, R., Catapano, R., Stanley, J., Gossweiler, S., Romashko, D., Scott, R., and Tully, T. (2003). A mouse model of Rubinstein-Taybi syndrome: defective long-term memory is ameliorated by inhibitors of phosphodiesterase 4. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(18), 10518-10522.
- Bradshaw, N. J., Ogawaa, F., Antolin-Fontes, B., Chubba, J. E., Carlyle, B. C., Christie, S., Claessens, A., Porteous, D. J., and Millar, J. K. (2008). DISC1, PDE4B, and NDE1 at the centrosome and synapse. *Biochemical and biophysical research communications*, 377(4), 1091-1096.
- Braff, D. L., and Freedman, R. (2002). Endophenotypes in studies of the genetics of schizophrenia *Neuropsychopharmacology: the fifth generation of progress*. (pp. 703-716). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Braga, R. J., and Petrides, G. (2005). The combined use of electroconvulsive therapy and antipsychotics in patients with schizophrenia. *Journal of ect*, 21(2), 75-83.
- Bramon, E., Croft, R. J., McDonald, C., Viridi, G. K., Gruzelier, J. G., Baldeweg, T., Sham, P. C., Frangou, S., and Murray, R. M. (2004). Mismatch negativity in schizophrenia: a family study. *Schizophrenia research*, 67(1), 1-10.
- Brand, M., and Markowitsch, H. J. (2004). Lernen und Gedächtnis. *Praxis der Naturwissenschaften*, 7, 1-13.
- Brown, G. L., Goodwin, F. K., Ballenger, J. C., Goyer, P. F., and Major, L. F. (1979). Aggression in humans correlates with cerebrospinal fluid amine metabolites. *Psychiatry research*, 1(2), 131-139.
- Brown, S., Inskip, H., and Barraclough, B. (2000). Causes of the excess mortality of schizophrenia. *British Journal of Psychiatry*, 177, 212-217.
- Brunelli, M., Castellucci, V., and Kandel, E. (1976). Synaptic facilitation and behavioral

8 Literaturverzeichnis

- sensitization in *Aplysia*: possible role of serotonin and cyclic AMP. *Science*, 194(4270), 1178-1181.
- Buckley, P. F., Miller, B. J., Lehrer, D. S., and Castle, D. J. (2009). Psychiatric comorbidities and schizophrenia. *Schizophrenia bulletin*, 35(2), 383-402.
- Burdick, K. E., Hodgkinson, C. A., Szeszko, P. R., Lencz, T., Ekholm, J. M., Kane, J. M., Goldman, D., and Malhotra, A. K. (2005). DISC1 and neurocognitive function in schizophrenia. *Neuroreport*, 16(12), 1399-1402.
- Buss, A. H., and Durkee, A. (1957). An inventory for assessing different kinds of hostility. *Journal of consulting psychology*, 21(4), 343-349.
- Butcher, R. W., and Sutherland, E. W. (1962). Adenosine 3',5'-phosphate in biological materials. I. Purification and properties of cyclic 3',5'-nucleotide phosphodiesterase and use of this enzyme to characterize adenosine 3',5'-phosphate in human urine. *Journal of biological chemistry*, 237, 1244-1250.
- Byers, D., Davis, R. L., and Kiger, J. A., Jr. (1981). Defect in cyclic AMP phosphodiesterase due to the dunce mutation of learning in *Drosophila melanogaster*. *Nature*, 289(5793), 79-81.
- Callicott, J. H., Bertolino, A., Mattay, V. S., Langheim, F. J., Duyn, J., Coppola, R., Goldberg, T. E., and Weinberger, D. R. (2000). Physiological dysfunction of the dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia revisited. *Cerebral Cortex*, 10(11), 1078-1092.
- Callicott, J. H., Egan, M. F., Mattay, V. S., Bertolino, A., Bone, A. D., Verchinski, B., and Weinberger, D. R. (2003). Abnormal fMRI response of the dorsolateral prefrontal cortex in cognitively intact siblings of patients with schizophrenia. *The American journal of psychiatry*, 160(4), 709-719.
- Callicott, J. H., Straub, R. E., Pezawas, L., Egan, M. F., Mattay, V. S., Hariri, A. R., Verchinski, B. A., Meyer-Lindenberg, A., Balkissoon, R., Kolachana, B., Goldberg, T. E., and Weinberger, D. R. (2005). Variation in DISC1 affects hippocampal structure and function and increases risk for schizophrenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(24), 8627-8632.
- Cannon, T. D., Glahn, D. C., Kim, J., Van Erp, T. G., Karlsgodt, K., Cohen, M. S., Nuechterlein, K. H., Bava, S., and Shirinyan, D. (2005a). Dorsolateral prefrontal cortex activity during maintenance and manipulation of information in working memory in patients with schizophrenia. *Archives of general psychiatry*, 62(10), 1071-1080.
- Cannon, T. D., Huttunen, M. O., van Erp, T. G., Thompson, P. M., Lonnqvist, J., Huttunen, M., Gasperoni, T., Tuulio-Henriksson, A., Pirkola, T., Toga, A. W., Kaprio, J., Mazziotta, J., and Peltonen, L. (2005b). Association of DISC1/TRAX haplotypes with schizophrenia, reduced prefrontal gray matter, and impaired short- and long-term memory. *Archives of general psychiatry*, 62(11), 1205-1213.
- Cannon, T. D., Huttunen, M. O., Lonnqvist, J., Tuulio-Henriksson, A., Pirkola, T., Glahn, D., Finkelstein, J., Hietanen, M., Kaprio, J., and Koskenvuo, M. (2000). The inheritance of

8 Literaturverzeichnis

- neuropsychological dysfunction in twins discordant for schizophrenia. *American journal of human genetics*, 67(2), 369-382.
- Card, G. L., England, B. P., Suzuki, Y., Fong, D., Powell, B., Lee, B., Luu, C., Tabrizi, M., Gillette, S., Ibrahim, P. N., Artis, D. R., Bollag, G., Milburn, M. V., Kim, S. H., Schlessinger, J., and Zhang, K. Y. (2004). Structural basis for the activity of drugs that inhibit phosphodiesterases. *Structure*, 12(12), 2233-2247.
- Carruthers, S. P., Gurvich, C. T., and Rossell, S. L. (2015). The muscarinic system, cognition and schizophrenia. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 55, 393-402.
- Carter, C. J. (2006). Schizophrenia susceptibility genes converge on interlinked pathways related to glutamatergic transmission and long-term potentiation, oxidative stress and oligodendrocyte viability. *Schizophrenia research*, 86(1-3), 1-14.
- Castellucci, V. F., Kandel, E. R., Schwartz, J. H., Wilson, F. D., Nairn, A. C., and Greengard, P. (1980). Intracellular injection of the catalytic subunit of cyclic AMP-dependent protein kinase simulates facilitation of transmitter release underlying behavioral sensitization in Aplysia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 77(12), 7492-7496.
- Chan, R. C., and Gottesman, II. (2008). Neurological soft signs as candidate endophenotypes for schizophrenia: a shooting star or a Northern star? *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 32(5), 957-971.
- Charbonneau, H. (1990). Structure-function relationships among cyclic nucleotide phosphodiesterases. *Cyclic nucleotide phosphodiesterases: Structure, Regulation and Drug Action*, 267-296.
- Chavez-Noriega, L. E., and Stevens, C. F. (1992). Modulation of synaptic efficacy in field CA1 of the rat hippocampus by forskolin. *Brain Research*, 574(1), 85-92.
- Chen, W. J., and Faraone, S. V. (2000). Sustained attention deficits as markers of genetic susceptibility to schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics*, 97(1), 52-57.
- Cherry, J. A., and Davis, R. L. (1999). Cyclic AMP phosphodiesterases are localized in regions of the mouse brain associated with reinforcement, movement, and affect. *The Journal of comparative neurology*, 407(2), 287-301.
- Chetkovich, D. M., and Sweatt, J. D. (1993). nMDA receptor activation increases cyclic AMP in area CA1 of the hippocampus via calcium/calmodulin stimulation of adenylyl cyclase. *Journal of neurochemistry*, 61(5), 1933-1942.
- Cheung, Y. F., Kan, Z., Garrett-Engle, P., Gall, I., Murdoch, H., Baillie, G. S., Camargo, L. M., Johnson, J. M., Houslay, M. D., and Castle, J. C. (2007). PDE4B5, a novel, super-short, brain-specific cAMP phosphodiesterase-4 variant whose isoform-specifying N-terminal region is identical to that of cAMP phosphodiesterase-4D6 (PDE4D6). *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 322(2), 600-609.
- Clapcote, S. J., Lipina, T. V., Millar, J. K., Mackie, S., Christie, S., Ogawa, F., Lerch, J. P., Trimble, K., Uchiyama, M., Sakuraba, Y., Kaneda, H., Shiroishi, T., Houslay, M. D.,

8 Literaturverzeichnis

- Henkelman, R. M., Sled, J. G., Gondo, Y., Porteous, D. J., and Roder, J. C. (2007). Behavioral phenotypes of *Disc1* missense mutations in mice. *Neuron*, *54*(3), 387-402.
- Cohen, N. J., and Squire, L. R. (1980). Preserved learning and retention of pattern-analyzing skill in amnesia: dissociation of knowing how and knowing that. *Science*, *210*(4466), 207-210.
- Conklin, H. M., Curtis, C. E., Katsanis, J., and Iacono, W. G. (2000). Verbal working memory impairment in schizophrenia patients and their first-degree relatives: evidence from the digit span task. *The American journal of psychiatry*, *157*(2), 275-277.
- Conti, A. C., and Blendy, J. A. (2004). Regulation of antidepressant activity by cAMP response element binding proteins. *Molecular neurobiology*, *30*(2), 143-155.
- Conti, M., and Beavo, J. (2007). Biochemistry and physiology of cyclic nucleotide phosphodiesterases: essential components in cyclic nucleotide signaling. *Annual review of biochemistry*, *76*, 481-511.
- Cornblatt, B., Obuchowski, M., Roberts, S., Pollack, S., and Erlenmeyer-Kimling, L. (1999). Cognitive and behavioral precursors of schizophrenia. *Development and psychopathology*, *11*(3), 487-508.
- Craik, F. I. M., and Rose, N. S. (2012). Memory encoding and aging: a neurocognitive perspective. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, *36*(7), 1729-1739.
- Cutting, J. (2007). Descriptive psychopathology *Schizophrenia, second edition* (pp. 15-24). Oxford: Blackwell Science Ltd.
- D'Sa, C., Tolbert, L. M., Conti, M., and Duman, R. S. (2002). Regulation of cAMP-specific phosphodiesterases type 4B and 4D (PDE4) splice variants by cAMP signaling in primary cortical neurons. *Journal of neurochemistry*, *81*(4), 745-757.
- Damasio, A. R. (1989). Time-locked multiregional retroactivation: a systems-level proposal for the neural substrates of recall and recognition. *Cognition*, *33*(1-2), 25-62.
- Damasio, H., Grabowski, T. J., Tranel, D., Hichwa, R. D., and Damasio, A. R. (1996). A neural basis for lexical retrieval. *Nature*, *380*(6574), 499-505.
- Davis, J. A., and Gould, T. J. (2005). Risperidone attenuates MK-801-induced deficits in latent inhibition. *Behavioral neuroscience*, *119*(2), 595-602.
- Davis, R. L., Takayasu, H., Eberwine, M., and Myres, J. (1989). Cloning and characterization of mammalian homologs of the *Drosophila dunce*-gene. *Proceedings of the National academy of Sciences of the United States of America*, *86*(10), 3604-3608.
- De Geus, E. J., Wright, M. J., Martin, N. G., and Boomsma, D. I. (2001). Genetics of brain function and cognition. *Behavior genetics*, *31*(6), 489-495.
- Delawalla, Z., Barch, D. M., Fisher Eastep, J. L., Thomason, E. S., Hanewinkel, M. J., Thompson, P. A., and Csernansky, J. G. (2006). Factors mediating cognitive deficits

8 Literaturverzeichnis

- and psychopathology among siblings of individuals with schizophrenia. *Schizophrenia bulletin*, 32(3), 525-537.
- DeLisi, L. E., Friedrich, U., Wahlstrom, J., Boccio-Smith, A., Forsman, A., Eklund, K., and Crow, T. J. (1994). Schizophrenia and sex chromosome anomalies. *Schizophrenia Bulletin*, 20(3), 495-505.
- DeLisi, L. E., Shaw, S. H., Crow, T. J., Shields, G., Smith, A. B., Larach, V. W., Wellman, N., Loftus, J., Nanthakumar, B., Razi, K., Stewart, J., Comazzi, M., Vita, A., Heffner, T., and Sherrington, R. (2002). A genome-wide scan for linkage to chromosomal regions in 382 sibling pairs with schizophrenia or schizoaffective disorder. *The American Journal of Psychiatry*, 159(5), 803-812.
- Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie Psychotherapie und Nervenheilkunde. (2006). *Behandlungsleitlinie Schizophrenie* (1 ed. Vol. Band 1). Heidelberg: Steinkopff-Verlag.
- Dodge, K. L., Khouangsathiene, S., Kapiloff, M. S., Mouton, R., Hill, E. V., Houslay, M. D., Langeberg, L. K., and Scott, J. D. (2001). mAKAP assembles a protein kinase A/PDE4 phosphodiesterase cAMP signaling module. *The EMBO journal*, 20(8), 1921-1930.
- Dudai, Y. (1988). Neurogenetic dissection of learning and short-term memory in *Drosophila*. *Annual review of neuroscience*, 11, 537-563.
- Dudek, S. M., and Bear, M. F. (1992). Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(10), 4363-4367.
- Egan, M. F., Goldberg, T. E., Gscheidle, T., Weirich, M., Rawlings, R., Hyde, T. M., Bigelow, L., and Weinberger, D. R. (2001). Relative risk for cognitive impairments in siblings of patients with schizophrenia. *Biological psychiatry*, 50(2), 98-107.
- Egawa, T., Mishima, K., Matsumoto, Y., Iwasaki, K., Iwasaki, K., and Fujiwara, M. (1997). Rolipram and its optical isomers, phosphodiesterase 4 inhibitors, attenuated the scopolamine-induced impairments of learning and memory in rats. *Japanese journal of pharmacology*, 75(3), 275-281.
- Eichenbaum, H., Yonelinas, A. R., and Ranganath, C. (2007). The medial temporal lobe and recognition memory. *Annual review of neuroscience*, 30, 123-152.
- Erol, A., Bayram, S., Kosger, F., and Mete, L. (2012). Executive functions in patients with familial versus sporadic schizophrenia and their parents. *Neuropsychobiology*, 66(2), 93-99.
- Esteban, J. A., Shi, S. H., Wilson, C., Nuriya, M., Huganir, R. L., and Malinow, R. (2003). PKA phosphorylation of AMPA receptor subunits controls synaptic trafficking underlying plasticity. *Nature Neuroscience*, 6(2), 136-143.
- Faraone, S. V., Seidman, L. J., Kremen, W. S., Toomey, R., Pepple, J. R., and Tsuang, M. T.

8 Literaturverzeichnis

- (1999). Neuropsychological functioning among the nonpsychotic relatives of schizophrenic patients: a 4-year follow-up study. *Journal of abnormal psychology*, 108(1), 176-181.
- Faraone, S. V., Seidman, L. J., Kremen, W. S., Toomey, R., Pepple, J. R., and Tsuang, M. T. (2000). Neuropsychologic functioning among the nonpsychotic relatives of schizophrenic patients: the effect of genetic loading. *Biological psychiatry*, 48(2), 120-126.
- Fatemi, S. H., King, D. P., Reutiman, T. J., Folsom, T. D., Laurence, J. A., Lee, S., Fan, Y. T., Paciga, S. A., Conti, M., and Menniti, F. S. (2008). PDE4B polymorphisms and decreased PDE4B expression are associated with schizophrenia. *Schizophrenia research*, 101(1-3), 36-49.
- Feng, Y., Cheng, D., Zhang, C., Li, Y., Zhang, Z., Wang, J., and Shi, Y. (2016). Association of *PDE4B* Polymorphisms with Susceptibility to Schizophrenia: A Meta-Analysis of Case-Control Studies. *PLoS ONE*, 11(1), e0147092.
- Fioravanti, M., Bianchi, V., and Cinti, M. E. (2012). Cognitive deficits in schizophrenia: an updated metanalysis of the scientific evidence. *BMC Psychiatry*, 12, 64.
- Flint, J., and Munafò, M. R. (2007). The endophenotype concept in psychiatric genetics. *Psychological medicine*, 37(2), 163-180.
- Folstein, M. F., Folstein, S. E., and R., M. P. (1975). "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *Journal of psychiatric research*, 12(3), 189-198.
- Forbes, E. E., Brown, S. M., Kimak, M., Ferrell, R. E., Manuck, S. B., and Hariri, A. R. (2009). Genetic variation in components of dopamine neurotransmission impacts ventral striatal reactivity associated with impulsivity. *Molecular Psychiatry*, 14(1), 60-70.
- Freedman, R., Adams, C. E., Adler, L. E., Bickford, P. C., Gault, J., Harris, J. G., Nagamoto, H. T., Olincy, A., Ross, R. G., Stevens, K. E., Waldo, M., and Leonard, S. (2000). Inhibitory neurophysiological deficit as a phenotype for genetic investigation of schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics*, 97(1), 58-64.
- Fresan, A., Leon-Ortiz, P., Robles-Garcia, R., Azcarraga, M., Guizar, D., Reyes-Madriral, F., Tovilla-Zarate, C. A., and de la Fuente-Sandoval, C. (2015). Personality features in ultra-high risk for psychosis: a comparative study with schizophrenia and control subjects using the Temperament and Character Inventory-Revised (TCI-R). *Journal of Psychiatric Research*, 61, 168-173.
- Frey, U., Huang, Y. Y., and Kandel, E. R. (1993). Effects of cAMP simulate a late stage of LTP in hippocampal CA1 neurons. *Science*, 260(5114), 1661-1664.
- Frey, U., and Morris, R. G. (1997). Synaptic tagging and long-term potentiation. *Nature*, 385(6616), 533-536.
- Friedl, M. A.-M. (2011). Die Bedeutung des Serotonin-2A-Rezeptorgens in der Schizophrenie. LMU München. Dissertation.

8 Literaturverzeichnis

- Gasperoni, T. L., Ekelund, J., Huttunen, M., Palmer, C. G. S., Tuulio-Henriksson, A., Lo, J., and Cannon, T. D. (2003). Genetic Linkage and Association Between Chromosome 1q and Working Memory Function in Schizophrenia. *American journal of medical genetics*, 116B(1), 8-16.
- Giegling, I., Hosak, L., Mössner, R., Serretti, A., Bellivier, F., Claes, S., Collier, D. A., Corrales, A., DeLisi, L. E., Gallo, C., Gill, M., Kennedy, J. L., Leboyer, M., Maier, W., Marquez, M., Massat, I., Mors, O., Muglia, P., Nöthen, M. M., Ospina-Duque, J., Owen, M. J., Propping, P., Shi, Y., St Clair, D., Thibaut, F., Cichon, S., Mendlewicz, J., O'Donovan, M. C., and Rujescu, D. (2017). Genetics of schizophrenia: A consensus paper of the WFSBP Task Force on Genetics. *The World Journal of Biological Psychiatry*, 18(7), 492-505
- Girgenti, M. J., LoTurco, J. J., and Maher, B. J. (2012). ZNF804a regulates expression of the schizophrenia-associated genes PRSS16, COMT, PDE4B, and DRD2. *PLoS ONE*, 7(2), 1-5.
- Glahn, D. C., Curran, J. E., Winkler, A. M., Carless, M. A., Kent, J. W., Jr., Charlesworth, J. C., Johnson, M. P., Goring, H. H., Cole, S. A., Dyer, T. D., Moses, E. K., Olvera, R. L., Kochunov, P., Duggirala, R., Fox, P. T., Almasy, L., and Blangero, J. (2012). High dimensional endophenotype ranking in the search for major depression risk genes. *Biological psychiatry*, 71(1), 6-14.
- Glahn, D. C., Knowles, E. E., McKay, D. R., Sprooten, E., Raventos, H., Blangero, J., Gottesman, II, and Almasy, L. (2014). Arguments for the sake of endophenotypes: examining common misconceptions about the use of endophenotypes in psychiatric genetics. *American journal of medical genetics*, 165B(2), 122-130.
- Glahn, D. C., Ragland, J. D., Abramoff, A., Barrett, J., Laird, A. R., Bearden, C. E., and Velligan, D. I. (2005). Beyond hypofrontality: a quantitative meta-analysis of functional neuroimaging studies of working memory in schizophrenia. *Human brain mapping*, 25(1), 60-69.
- Glahn, D. C., Therman, S., Manninen, M., Huttunen, M., Lönnqvist, J., and Cannon, T. D. (2003). Spatial working memory as an endophenotype for schizophrenia. *Biological psychiatry*, 53(7), 624-626.
- Gobejishvili, L., Barve, S., Breitkopf-Heinlein, K., Li, Y., Zhang, J., Avila, D. V., Dooley, S., and McClain, C. J. (2013). Rolipram attenuates bile duct ligation-induced liver injury in rats: a potential pathogenic role of PDE4. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 347(1), 80-90.
- Goldberg, T. E., Aloia, M. S., Gourovitch, M. L., Missar, D., Pickar, D., and Weinberger, D. R. (1998). Cognitive Substrates of Thought Disorder, I: The Semantic System. *American Journal of Psychiatry*, 155(12), 1671-1676.
- Goldberg, T. E., Goldman, R. S., Burdick, K. E., Malhotra, A. K., Lencz, T., Patel, R. C., Woerner, M. G., Schooler, N. R., Kane, J. M., and Robinson, D. G. (2007). Cognitive improvement after treatment with second-generation antipsychotic medications in first-episode schizophrenia: is it a practice effect? *Archives of general psychiatry*, 64(10), 1115-1122.

8 Literaturverzeichnis

- Goldman-Rakic, P. S. (1999). The physiological approach: functional architecture of working memory and disordered cognition in schizophrenia. *Biological psychiatry*, 46(5), 650-661.
- Gong, B., Vitolo, O. V., Trinchese, F., Liu, S., Shelanski, M., and Arancio, O. (2004). Persistent improvement in synaptic and cognitive functions in an Alzheimer mouse model after rolipram treatment. *Journal of clinical investigation*, 114(11), 1624-1634.
- Gottesman, II, McGuffin, P., and Farmer, A. E. (1987). Clinical genetics as clues to the "real" genetics of schizophrenia (a decade of modest gains while playing for time). *Schizophrenia bulletin*, 13(1), 23-47.
- Gottesman, I. I., and Gould, T. D. (2003). The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *The American journal of psychiatry*, 160(4), 636-645.
- Greenwood, P. M., and Parasuraman, R. (2003). Normal genetic variation, cognition, and aging. *Behavioral and cognitive neuroscience reviews*, 2(4), 278-306.
- Greenwood, T. A., Lazzeroni, L. C., Murray, S. S., Cadenhead, K. S., Calkins, M. E., Dobie, D. J., Green, M. F., Gur, R. E., Gur, R. C., Hardiman, G., Kelsoe, J. R., Leonard, S., Light, G. A., Nuechterlein, K. H., Olincy, A., Radant, A. D., Schork, N. J., Seidman, L. J., Siever, L. J., Silverman, J. M., Stone, W. S., Swerdlow, N. R., Tsuang, D. W., Tsuang, M. T., Turetsky, B. I., Freedman, R., and Braff, D. L. (2011). Analysis of 94 candidate genes and twelve endophenotypes for schizophrenia from the Consortium on the Genetics of Schizophrenia. *The American journal of psychiatry*, 168(9), 930-946.
- Greenwood, T. A., Swerdlow, N. R., Gur, R. E., Cadenhead, K. S., Calkins, M. E., Dobie, D. J., Freedman, R., Green, M. F., Gur, R. C., Lazzeroni, L. C., Nuechterlein, K. H., Olincy, A., Radant, A. D., Ray, A., Schork, N. J., Seidman, L. J., Siever, L. J., Silverman, J. M., Stone, W. S., Sugar, C. A., Tsuang, D. W., Tsuang, M. T., Turetsky, B. I., Light, G. A., and Braff, D. L. (2013). Genome-wide linkage analyses of 12 endophenotypes for schizophrenia from the Consortium on the Genetics of Schizophrenia. *The American journal of psychiatry*, 170(5), 521-532.
- Griffin, T. J., and Smith, L. M. (2000). Single-nucleotide polymorphism analysis by MALDI-TOF mass spectrometry. *Trends in biotechnology*, 18(2), 77-84.
- Guan, F., Zhang, C., Wei, S., Zhang, H., Gong, X., Feng, J., Gao, C., Su, R., Yang, H., and Li, S. (2012). Association of PDE4B polymorphisms and schizophrenia in Northwestern Han Chinese. *Human genetics*, 131(7), 1047-1056.
- Guo, W., Hu, M., Fan, X., Liu, F., Wu, R., Chen, J., Guo, X., Xiao, C., Quan, M., Chen, H., Zhai, J., and Zhao, J. (2014). Decreased gray matter volume in the left middle temporal gyrus as a candidate biomarker for schizophrenia: a study of drug naive, first-episode schizophrenia patients and unaffected siblings. *Schizophrenia research*, 159(1), 43-50.
- Gur, R. E., Calkins, M. E., Gur, R. C., Horan, W. P., Nuechterlein, K. H., Seidman, L. J., and Stone, W. S. (2007). The Consortium on the Genetics of Schizophrenia: neurocognitive endophenotypes. *Schizophrenia bulletin*, 33(1), 49-68.

8 Literaturverzeichnis

- Häfner, H., an der Heiden, W., Behrens, S., Gattaz, W. F., Hambrecht, M., Löffler, W., Maurer, K., Munk-Jorgensen, P., Nowotny, B., Riecher-Rossler, A., and Stein, A. (1998). Causes and consequences of the gender difference in age at onset of schizophrenia. *Schizophrenia bulletin*, 24(1), 99-113.
- Hallmayer, J. F., Kalaydjieva, L., Badcock, J., Dragovic, M., Howell, S., Michie, P. T., Rock, D., Vile, D., Williams, R., Corder, E. H., Hollingsworth, K., and Jablensky, A. (2005). Genetic evidence for a distinct subtype of schizophrenia characterized by pervasive cognitive deficit. *American journal of human genetics*, 77(3), 468-476.
- Hampel, R., and Selg, H. (1998). *FAF - Fragebogen zur Erfassung von Aggressivitätsfaktoren. Handanweisung*. Göttingen: Hogrefe.
- Härting, C., Markowitsch, H.-J., Neufeld, H., Calabrese, P., Deisinger, K., and Kessler, J. (2000). *WMS-R Wechsler Gedächtnistest-Revidierte Fassung*. Bern, Göttingen, Toronto, Seattle: Verlag Hans Huber.
- Hashimoto, R., Numakawa, T., Ohnishi, T., Kumamaru, E., Yagasaki, Y., Ishimoto, T., Mori, T., Nemoto, K., Adachi, N., Izumi, A., Chiba, S., Noguchi, H., Suzuki, T., Iwata, N., Ozaki, N., Taguchi, T., Kamiya, A., Kosuga, A., Tatsumi, M., Kamijima, K., Weinberger, D. R., Sawa, A., and Kunugi, H. (2006). Impact of the DISC1 Ser704Cys polymorphism on risk for major depression, brain morphology and ERK signaling. *Human molecular genetics*, 15(20), 3024-3033.
- Hathaway, S. R., McKinley, J. C., and Engel, R. R. (2000). *Minnesota Multiphasic Personality Inventory-2. Manual*. Bern, Göttingen, Toronto, Seattle: Verlag Hans Huber.
- Hebb, D. O. (1949). *The organization of behavior: A neuropsychological approach*: John Wiley & Sons.
- Heinrichs, D. W., and Buchanan, R. W. (1988). Significance and meaning of neurological signs in schizophrenia. *The American journal of psychiatry*, 145(1), 11-18.
- Heinrichs, R. W., and Zakzanis, K. K. (1998). Neurocognitive deficit in schizophrenia: a quantitative review of the evidence. *Neuropsychology*, 12(3), 426-445.
- Hennah, W., Tuulio-Henriksson, A., Paunio, T., Ekelund, J., Varilo, T., Partonen, T., Cannon, T. D., Lönqvist, J., and Peltonen, L. (2005). A haplotype within the DISC1 gene is associated with visual memory functions in families with a high density of schizophrenia. *Molecular psychiatry*, 10(12), 1097-1103.
- Hettige, N. C., Zai, C., Hazra, M., Borlido, C., Kennedy, J. K., Strauss, J., Foll, B. L., Wong, A., Remington, G., and Luca, V. D. (2014). Use of candidate gene markers to guide antipsychotic dosage adjustment. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 54 315-320.
- Hodgson, R. J., and Rachman, S. (1977). Obsessional-compulsive complaints. *Behaviour research and therapy*, 15(5), 389-395.
- Hoffmann, R., Baillie, G. S., MacKenzie, S. J., Yarwood, S. J., and Houslay, M. D. (1999). The MAP kinase ERK2 inhibits the cyclic AMP-specific phosphodiesterase

8 Literaturverzeichnis

- HSPDE4D3 by phosphorylating it at Ser579. *EMBO journal*, 18(4), 893-903.
- Holliday, E. G., Nyholt, D. R., Tirupati, S., John, S. J., Ramachandran, P., Ramamurti, M., Ramadoss, A. J., Jeyagurunathan, A., Kottiswaran, S., Smith, H. J., Filippich, C., Nertney, D. A., Nancarrow, D. J., Hayward, N. K., Watkins, W. S., Jorde, L. B., Thara, R., and Mowry, B. J. (2009). Strong evidence for a novel schizophrenia risk locus on chromosome 1p31.1 in homogeneous pedigrees from Tamil Nadu, India. *The American journal of psychiatry*, 166(2), 206-215.
- Horan, W. P., Braff, D. L., Nuechterlein, K. H., Sugar, C. A., Cadenhead, K. S., Calkins, M. E., Dobie, D. J., Freedman, R., Greenwood, T. A., Gur, R. E., Gur, R. C., Light, G. A., Mintz, J., Olincy, A., Radant, A. D., Schork, N. J., Seidman, L. J., Siever, L. J., Silverman, J. M., Stone, W. S., Swerdlow, N. R., Tsuang, D. W., Tsuang, M. T., Turetsky, B. I., and Green, M. F. (2008). Verbal working memory impairments in individuals with schizophrenia and their first-degree relatives: Findings from the Consortium on the Genetics of Schizophrenia. *Schizophrenia research*, 103(1-3), 218-228.
- Hosak, L. (2013). New findings in the genetics of schizophrenia. *World journal of psychiatry*, 3(3), 57-61.
- Hotte, M., Dauphin, F., Freret, T., Boulouard, M., and Levallet, G. (2012). A biphasic and brain-region selective down-regulation of cyclic adenosine monophosphate concentrations supports object recognition in the rat. *PLoS ONE*, 7(2), 1-13.
- Houslay, M. D. (2010). Underpinning compartmentalised cAMP signalling through targeted cAMP breakdown. *Trends in biochem sciences*, 35(2), 91-100.
- Houslay, M. D., and Adams, D. R. (2003). PDE4 cAMP phosphodiesterases: modular enzymes that orchestrate signalling cross-talk, desensitization and compartmentalization. *The Biochemical journal*, 370 (Pt 1), 1-18.
- Houslay, M. D., Schafer, P., and Zhang, K. Y. J. (2005). Keynote review: phosphodiesterase-4 as a therapeutic target. *Drug discovery today*, 10(22), 1503-1519.
- Huang, Z., Dias, R., Jones, T., Liu, S., Styhler, A., Claveau, D., Otuc, K. N., F., Laliberte, F., Zhanga, L., Goetghebeur, P., Abrahamd, W. M., Macdonald, D., Dube, D., Gallant, M., Lacombe, P., Y. Girard, Y., Youngb, R. N., Turner, M. J., Nicholson, D. W., and Mancin, J. A. (2007). L-454,560, a potent and selective PDE4 inhibitor with in vivo efficacy in animal models of asthma and cognition. *Biochemical pharmacology*, 73 (12), 1971-1981.
- Hubbard, L., Tansey, K. E., Rai, D., Jones, P., Ripke, S., Chambert, K. D., Moran, J. L., McCarroll, S. A., Linden, D. E. J., Owen, M. J., O'Donovan, M. C., Walters, J. T. R., and Zammit, S. (2016). Evidence of Common Genetic Overlap Between Schizophrenia and Cognition. *Schizophrenia Bulletin*, 42(3), 832-842.
- Huston, E., Lumb, S., Russell, A., Catterall, C., Ross, A. H., Steele, M. R., Bolger, G. B., Perry, M. J., Owens, R. J., and Houslay, M. D. (1997). Molecular cloning and transient expression in COS7 cells of a novel human PDE4B cAMP-specific phosphodiesterase, HSPDE4B3. *The biochemical journal*, 328 (Pt 2), 549-558.

8 Literaturverzeichnis

- Imanishi, T., Sawa, A., Ichimaru, Y., Yamamoto, T., Miyashiro, M., and Ueki, S. (1997). Ameliorating effects of rolipram on experimentally induced impairments of learning and memory in rodents. *European journal of pharmacology*, 321 (3), 273-278.
- Ishikawa, M., Hosoi, R., Kobayashi, K., Nishimura, T., and Inoue, O. (2002). Rolipram depresses [(3)H]2-deoxyglucose uptake in mouse brain and heart in vivo. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, 29(9), 1212-1215.
- Jablensky, A., Morar, B., Wiltshire, S., Carter, K., Dragovic, M., Badcock, J. C., Chandler, D., Peters, K., and Kalaydjieva, L. (2011). Polymorphisms associated with normal memory variation also affect memory impairment in schizophrenia. *Genes, brain and behavior*, 10(4), 410-417.
- Javitt, D. C., Spencer, K. M., Thaker, G. K., Winterer, G., and Hajos, M. (2008). Neurophysiological biomarkers for drug development in schizophrenia. *Nature reviews. Drug discovery*, 7(1), 68-83.
- Jin, S. L., and Conti, M. (2002). Induction of the cyclic nucleotide phosphodiesterase PDE4B is essential for LPS-activated TNF-alpha responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(11), 7628-7633.
- Jin, S. L., Goya, S., Nakae, S., Wang, D., Bruss, M., Hou, C., Umetsu, D., and Conti, M. (2010). Phosphodiesterase 4B is essential for T(H)2-cell function and development of airway hyperresponsiveness in allergic asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 126(6), 1252-1259 e1212.
- Johansson, E. M., Sanabra, C., Cortes, R., Vilaro, M. T., and Mengod, G. (2011). Lipopolysaccharide administration in vivo induces differential expression of cAMP-specific phosphodiesterase 4B mRNA splice variants in the mouse brain. *Journal of neuroscience research*, 89(11), 1761-1772.
- Kähler, A. K., Otnaess, M. K., Wirgenes, K. V., Hansen, T., Jonsson, E. G., Agartz, I., Hall, H., Werge, T., Morken, G., Mors, O., Mellerup, E., Dam, H., Koefod, P., Melle, I., Steen, V. M., Andreassen, O. A., and Djurovic, S. (2010). Association study of PDE4B gene variants in Scandinavian schizophrenia and bipolar disorder multicenter case-control samples. *American journal of medical genetics.*, 153B(1), 86-96.
- Kandel, E. R. (2012). The molecular biology of memory: cAMP, PKA, CRE, CREB-1, CREB-2, and CPEB. *Molecular brain*, 5(14), 1-12.
- Kandel, E. R., Dudai, Y., and Mayford, M. R. (2014). The molecular and systems biology of memory. *Cell*, 157(1), 163-186.
- Kanes, S. J., Tokarczyk, J., Siegel, S. J., Bilker, W., Abel, T., and Kelly, M. P. (2007). Rolipram: a specific phosphodiesterase 4 inhibitor with potential antipsychotic activity. *Neuroscience*, 144(1), 239-246.
- Kapur, S., Craik, F. I., Tulving, E., Wilson, A. A., Houle, S., and Brown, G. M. (1994). Neuroanatomical correlates of encoding in episodic memory: levels of processing effect. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(6), 2008-2011.

8 Literaturverzeichnis

- Karas, M., and Hillenkamp, F. (1988). Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons. *Analytical chemistry*, 60(20), 2299-2301.
- Karchin, R. (2009). Next generation tools for the annotation of human SNPs. *Briefings in bioinformatics*, 10(1), 35-52.
- Kashiwagi, E., Shiota, M., Yokomizo, A., Itsumi, M., Inokuchi, J., Uchiumi, T., and Naito, S. (2012). Downregulation of phosphodiesterase 4B (PDE4B) activates protein kinase A and contributes to the progression of prostate cancer. *The Prostate*, 72(7), 741-751.
- Kavanagh, D. H., Tansey, K. E., O'Donovan, M. C., and Owen, M. J. (2015). Schizophrenia genetics: emerging themes for a complex disorder. [Article]. *Molecular Psychiatry*, 20(1), 72-76.
- Kay, S. R., Fiszbein, A., and Opler, L. A. (1987). The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophrenia bulletin*, 13(2), 261-276.
- Kelly, M. P., Isiegas, C., Cheung, Y. F., Tokarczyk, J., Yang, X., Esposito, M. F., Rapoport, D. A., Fabian, S. A., Siegel, S. J., Wand, G., Houslay, M. D., Kanos, S. J., and Abel, T. (2007). Constitutive activation of Galphas within forebrain neurons causes deficits in sensorimotor gating because of PKA-dependent decreases in cAMP. *Neuropsychopharmacology*, 32(3), 577-588.
- Kendler, K. S., and Neale, M. C. (2010). Endophenotype: a conceptual analysis. *Molecular psychiatry*, 15(8), 789-797.
- Keshavan, M. S., Tandon, R., Boutros, N. N., and Nasrallah, H. A. (2008). Schizophrenia, "just the facts": what we know in 2008 Part 3: neurobiology. *Schizophrenia Research*, 106(2-3), 89-107.
- Khan, Z. U., Martín-Montañez, E., Navarro-Lobato, I., and Muly, E. C. (2014). Memory deficits in aging and neurological diseases. *Progress in molecular biology and translational science*, 122, 1-29.
- Khan, Z. U., and Muly, E. C. (2011). Molecular mechanisms of working memory. *Behavioural brain research* 219 (2), 329-341.
- Kim, H. (2011). Neural activity that predicts subsequent memory and forgetting: a meta-analysis of 74 fMRI studies. *Neuroimage*, 54(3), 2446-2461.
- Kim, J., Glahn, D. C., Nuechterlein, K. H., and Cannon, T. D. (2004). Maintenance and manipulation of information in schizophrenia: further evidence for impairment in the central executive component of working memory. *Schizophrenia research*, 68(2-3), 173-187.
- Kim, S. W., Rai, D., and Aguiar, R. C. (2011). Gene set enrichment analysis unveils the mechanism for the phosphodiesterase 4B control of glucocorticoid response in B-cell lymphoma. *Clinical cancer research*, 17(21), 6723-6732.
- Knight, R. A., Elliott, D. S., and Freedman, E. G. (1985). Short-term visual memory in

- schizophrenics. *Journal of abnormal psychology*, 94(4), 427-442.
- Knöchel, C., O'Dwyer, L., Alves, G., Reinke, B., Magerkurth, J., Rotarska-Jagiela, A., Prvulovic, D., Hampel, H., Linden, D. E., and Oertel-Knochel, V. (2012). Association between white matter fiber integrity and subclinical psychotic symptoms in schizophrenia patients and unaffected relatives. *Schizophrenia research*, 140(1-3), 129-135.
- Knowles, E. E., Carless, M. A., de Almeida, M. A., Curran, J. E., McKay, D. R., Sprooten, E., Dyer, T. D., Goring, H. H., Olvera, R., Fox, P., Almasy, L., Duggirala, R., Kent, J. W., Jr., Blangero, J., and Glahn, D. C. (2014). Genome-wide significant localization for working and spatial memory: Identifying genes for psychosis using models of cognition. *American journal of medical genetics.*, 165B(1), 84-95.
- Kostic, M. M., Erdogan, S., Rena, G., Borchert, G., Hoch, B., Bartel, S., Scotland, G., Huston, E., Houslay, M. D., and Krause, E. G. (1997). Altered expression of PDE1 and PDE4 cyclic nucleotide phosphodiesterase isoforms in 7-oxo-prostacyclin-preconditioned rat heart. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 29(11), 3135-3146.
- Kraepelin, E. (1899). *Psychiatrie. Ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte* (6. ed.). Leipzig: Johann Ambrosius Barth.
- Kuroiwa, M., Snyder, G. L., Shuto, T., Fukuda, A., Yanagawa, Y., Benavides, D. R., Nairn, A. C., Bibb, J. A., Greengard, P., and Nishi, A. (2012). Phosphodiesterase 4 inhibition enhances the dopamine D1 receptor/PKA/DARPP-32 signaling cascade in frontal cortex. *Psychopharmacology*, 219(4), 1065-1079.
- Lee, J., and Park, S. (2005). Working memory impairments in schizophrenia: A meta-analysis. *Journal of abnormal psychology*, 114(4), 599-611.
- Lencz, T., Knowles, E., Davies, G., Guha, S., Liewald, D. C., Starr, J. M., Djurovic, S., Melle, I., Sundet, K., Christoforou, A., Reinvang, I., Mukherjee, S., Lundervold, A., Steen, V. M., John, M., Espeseth, T., Räikkönen, K., Widen, E., Palotie, A., Eriksson, J. G., Giegling, I., Konte, B., Ikeda, M., Roussos, P., Giakoumaki, S., Burdick, K. E., Payton, A., Ollier, W., Horan, M., Donohoe, G., Morris, D., Corvin, A., Gill, M., Pendleton, N., Iwata, N., Darvasi, A., Bitsios, P., Rujescu, D., Lahti, J., Le Hellard, S., Keller, M. C., Andreassen, O. A., Deary, I. J., Glahn, D. C., and Malhotra, A. K. (2014). Molecular Genetic Evidence for Genetic Overlap between General Cognitive Ability and Risk for Schizophrenia: A Report from the Cognitive Genomics Consortium (COGENT). *Molecular Psychiatry*, 19(2), 168–174.
- Leroy, J., Richter, W., Mika, D., Castro, L. R., Abi-Gerges, A., Xie, M., Scheitrum, C., Lefebvre, F., Schittl, J., Mateo, P., Westenbroek, R., Catterall, W. A., Charpentier, F., Conti, M., Fischmeister, R., and Vandecasteele, G. (2011). Phosphodiesterase 4B in the cardiac L-type Ca(2)(+) channel complex regulates Ca(2)(+) current and protects against ventricular arrhythmias in mice. *The Journal of clinical investigation*, 121(7), 2651-2661.
- Leube, D., and Pauly, K. (2008). Ich-Störungen — Psychologie *Neuropsychologie der Schizophrenie* (pp. 484-495): Springer Berlin Heidelberg.

8 Literaturverzeichnis

- Levallet, G., Hotte, M., Boulouard, M., and Dauphin, F. (2009). Increased particulate phosphodiesterase 4 in the prefrontal cortex supports 5-HT₄ receptor-induced improvement of object recognition memory in the rat. *Psychopharmacology*, 202(1-3), 125-139.
- Lewis, C. M., Levinson, D. F., Wise, L. H., DeLisi, L. E., Straub, R. E., Hovatta, I., et al. (2003). Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia. *American Journal of Human Genetics*, 73(1), 34-48.
- Li, L. X., Cheng, Y. F., Lin, H. B., Wang, C., Xu, J. P., and Zhang, H. T. (2011). Prevention of cerebral ischemia-induced memory deficits by inhibition of phosphodiesterase-4 in rats. *Metabolic brain disease*, 26(1), 37-47.
- Linden, D. E. (2007). The working memory networks of the human brain. *The neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry*, 13(3), 257-267.
- Ma, D., Wu, P., Egan, R. W., Billah, M. M., and Wang, P. (1999). Phosphodiesterase 4B Gene Transcription Is Activated by Lipopolysaccharide and Inhibited by Interleukin-10 in Human Monocytes. *Molecular pharmacology*, 55(1), 50-57.
- Ma, H., Shi, J., Wang, C., Guo, L., Gong, Y., Li, J., Gong, Y., Yun, F., Zhao, H., and Li, E. (2014). Blockade of PDE4B limits lung vascular permeability and lung inflammation in LPS-induced acute lung injury. *Biochemical and biophysical research communications*, 450(4), 1560-1567.
- Manganiello, V. C., Murata, T., Taira, M., Belfrage, P., and Degerman, E. (1995). Perspective in biochemistry and biophysics: diversity in cyclic nucleotide phosphodiesterase isoenzyme families. *Archives of biochemistry and biophysics*, 322(1), 1-13.
- Manoach, D. S., Gollub, R. L., Benson, E. S., Searl, M. M., Goff, D. C., Halpern, E., Saper, C. B., and Rauch, S. L. (2000). Schizophrenic subjects show aberrant fMRI activation of dorsolateral prefrontal cortex and basal ganglia during working memory performance. *Biological psychiatry*, 48(2), 99-109.
- Marinesco, S., and Carew, T. J. (2002). Serotonin release evoked by tail nerve stimulation in the CNS of aplysia: characterization and relationship to heterosynaptic plasticity. *Journal of neuroscience*, 22(6), 2299-2312.
- Marslen-Wilson, W. D., and Teuber, H.-L. (1975). Memory for remote events in anterograde amnesia: Recognition of public figures from newsphotographs. *Neuropsychologia*, 13(3), 353-364.
- Martin, A., Wiggs, C. L., Ungerleider, L. G., and Haxby, J. V. (1996). Neural correlates of category-specific knowledge. *Nature*, 379(6566), 649-652.
- Massuda, R., Bücker, 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., and Gama, C. S. (2013). Verbal memory impairment in healthy siblings of patients with schizophrenia. *Schizophrenia research*, 150(2-3), 580-582.

8 Literaturverzeichnis

- Maxwell, C. R., Kanes, S. J., Abel, T., and Siegel, S. J. (2004). Phosphodiesterase inhibitors: a novel mechanism for receptor-independent antipsychotic medications. *Neuroscience*, 129(1), 101-107.
- Mazhari, S., Price, G., Dragovic, M., Waters, F. A., Clissa, P., and Jablensky, A. (2011). Revisiting the suitability of antisaccade performance as an endophenotype in schizophrenia. *Brain and Cognition*, 77(2), 223-230.
- McClellan, J. M., Susser, E., and King, M. C. (2007). Schizophrenia: a common disease caused by multiple rare alleles. *The British journal of psychiatry*, 190, 194-199.
- McDonald, C., Marshall, N., Sham, P. C., Bullmore, E. T., Schulze, K., Chapple, B., Bramon, E., Filbey, F., Quraishi, S., Walshe, M., and Murray, R. M. (2006). Regional brain morphometry in patients with schizophrenia or bipolar disorder and their unaffected relatives. *The American journal of psychiatry*, 163(3), 478-487.
- McGirr, A., Lipina, T. V., Mun, H. S., Georgiou, J., Al-Amri, A. H., Ng, E., Zhai, D., Elliott, C., Cameron, R. T., Mullins, J. G., Liu, F., Baillie, G. S., Clapcote, S. J., and Roder, J. C. (2016). Specific Inhibition of Phosphodiesterase-4B Results in Anxiolysis and Facilitates Memory Acquisition. *Neuropsychopharmacology*, 41(4), 1080-1092.
- Meltzer, H. Y. (2013). Update on typical and atypical antipsychotic drugs. *Annual review of medicine*, 64, 393-406.
- Meyer-Lindenberg, A., and Weinberger, D. R. (2006). Intermediate phenotypes and genetic mechanisms of psychiatric disorders. *Nature reviews. Neuroscience*, 7(10), 818-827.
- Mika, D., Richter, W., Westenbroek, R. E., Catterall, W. A., and Conti, M. (2014). PDE4B mediates local feedback regulation of beta(1)-adrenergic cAMP signaling in a sarcolemmal compartment of cardiac myocytes. *Journal of cell science*, 127(Pt 5), 1033-1042.
- Millan, M. J., Fone, K., Steckler, T., and Horan, W. P. (2014). Negative symptoms of schizophrenia: Clinical characteristics, pathophysiological substrates, experimental models and prospects for improved treatment. *European neuropsychopharmacology*, 24(5), 645-692.
- Millar, J. K., Mackie, S., Clapcote, S. J., Murdoch, H., Pickard, B. S., Christie, S., Muir, W. J., Blackwood, D. H., Roder, J. C., Houslay, M. D., and Porteous, D. J. (2007). Disrupted in schizophrenia 1 and phosphodiesterase 4B: towards an understanding of psychiatric illness. *The Journal of physiology*, 584(Pt 2), 401-405.
- Millar, J. K., Pickard, B. S., Mackie, S., James, R., Christie, S., Buchanan, S. R., Malloy, M. P., Chubb, J. E., Huston, E., Baillie, G. S., Thomson, P. A., Hill, E. V., Brandon, N. J., Rain, J. C., Camargo, L. M., Whiting, P. J., Houslay, M. D., Blackwood, D. H., Muir, W. J., and Porteous, D. J. (2005). DISC1 and PDE4B are interacting genetic factors in schizophrenia that regulate cAMP signaling. *Science*, 310(5751), 1187-1191.
- Miller, G. A. (1994). The magical number seven, plus or minus two: some limits on our capacity for processing information. *Psychological review*, 101(2), 343-352.

8 Literaturverzeichnis

- Milner, B. (1962). Les troubles de la mémoire accompagnant des lésions hippocampiques bilatérales. *Physiologie de l'hippocampe* (pp. 257-272). Paris: Cent.Natl. Rech. Sci.
- Mishkin, M. (1978). Memory in monkeys severely impaired by combined but not by separate removal of amygdala and hippocampus *Nature*, 273(5660), 297-298.
- Mitchell, K. J., and Porteous, D. J. (2011). Rethinking the genetic architecture of schizophrenia. *Psychological medicine*, 41(1), 19-32.
- Mori, F., Perez-Torres, S., De Caro, R., Porzionato, A., Macchi, V., Beleta, J., Gavalda, A., Palacios, J. M., and Mengod, G. (2010). The human area postrema and other nuclei related to the emetic reflex express cAMP phosphodiesterases 4B and 4D. *Journal of chemical neuroanatomy*, 40(1), 36-42.
- Mori, T., Baba, J., Ichimaru, Y., and Suzuki, T. (2000). Effects of rolipram, a selective inhibitor of phosphodiesterase 4, on hyperlocomotion induced by several abused drugs in mice. *Japanese journal of pharmacology*, 83(2), 113-118.
- Morrens, M., Hulstijn, W., Lewi, P. J., De Hert, M., and Sabbe, B. G. (2006). Stereotypy in schizophrenia. *Schizophrenia research*, 84(2-3), 397-404.
- Morrens, M., Hulstijn, W., and Sabbe, B. (2007). Psychomotor slowing in schizophrenia. *Schizophrenia bulletin*, 33(4), 1038-1053.
- Moscovitch, C., Kapur, S., Köhler, S., and Houle, S. (1995). Distinct neural correlates of visual long-term memory for spatial location and object identity: a positron emission tomography study in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(9), 3721-3725.
- Moscovitch, M., Rosenbaum, R. S., Gilboa, A., Addis, D. R., Westmacott, R., Grady, C., McAndrews, M. P., Levine, B., Black, S., Winocur, G., and Nadel, L. (2005). Functional neuroanatomy of remote episodic, semantic and spatial memory: a unified account based on multiple trace theory. *Journal of anatomy*, 207(1), 35-66.
- Muly, C. (2002). Signal transduction abnormalities in schizophrenia: the cAMP system. *Psychopharmacology bulletin*, 36(4), 92-105.
- Murdoch, H., Mackie, S., Collins, D. M., Hill, E. V., Bolger, G. B., Klusmann, E., Porteous, D. J., Millar, J. K., and Houslay, M. D. (2007). Isoform-selective susceptibility of DISC1/phosphodiesterase-4 complexes to dissociation by elevated intracellular cAMP levels. *The journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 27(35), 9513-9524.
- Myles-Worsley, M. (2002). P50 sensory gating in multiplex schizophrenia families from a Pacific island isolate. *The American journal of psychiatry*, 159(12), 2007-2012.
- Nadel, L., and Moscovitch, M. (1997). Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. *Current opinion in neurobiology*, 7(2), 217-227.

8 Literaturverzeichnis

- Nagakura, A., Niimura, M., and Takeo, S. (2002). Effects of a phosphodiesterase IV inhibitor rolipram on microsphere embolism-induced defects in memory function and cerebral cyclic AMP signal transduction system in rats. *British journal of pharmacology*, 135(7), 1783-1793.
- Naganuma, K., Omura, A., Maekawara, N., Saitoh, M., Ohkawa, N., Kubota, T., Nagumo, H., Kodama, T., Takemura, M., Ohtsuka, Y., Nakamura, J., Tsujita, R., Kawasaki, K., Yokoi, H., and Kawanishi, M. (2009). Discovery of selective PDE4B inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 19(12), 3174-3176.
- Narvaez, J. M., Twamley, E. W., McKibbin, C. L., Heaton, R. K., and Patterson, T. L. (2008). Subjective and objective quality of life in schizophrenia. *Schizophrenia research*, 98(1-3), 201-208.
- Navakkode, S., Sajikumar, S., and Frey, J. U. (2004). The type IV-specific phosphodiesterase inhibitor rolipram and its effect on hippocampal long-term potentiation and synaptic tagging. *The journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 24(35), 7740-7744.
- Navakkode, S., Sajikumar, S., and Frey, J. U. (2005). Mitogen-activated protein kinase-mediated reinforcement of hippocampal early long-term depression by the type IV-specific phosphodiesterase inhibitor rolipram and its effect on synaptic tagging. *The journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 25(46), 10664-10670.
- Need, A. C., Ge, D., Weale, M. E., Maia, J., Feng, S., Heinzen, E. L., Shianna, K. V., Yoon, W., Kasperaviciute, D., Gennarelli, M., Strittmatter, W. J., Bonvicini, C., Rossi, G., Jayathilake, K., Cola, P. A., McEvoy, J. P., Keefe, R. S., Fisher, E. M., St Jean, P. L., Giegling, I., Hartmann, A. M., Moller, H. J., Ruppert, A., Fraser, G., Crombie, C., Middleton, L. T., St Clair, D., Roses, A. D., Muglia, P., Francks, C., Rujescu, D., Meltzer, H. Y., and Goldstein, D. B. (2009). A genome-wide investigation of SNPs and CNVs in schizophrenia. *PLoS genetics*, 5(2), 1-19.
- Ng, M. Y., Levinson, D. F., Faraone, S. V., Suarez, B. K., DeLisi, L. E., Arinami, T., et al. (2009). Meta-analysis of 32 genome-wide linkage studies of schizophrenia. *Molecular Psychiatry*, 14(8), 774-785.
- Nishi, A., Kuroiwa, M., Miller, D. B., O'Callaghan, J. P., Bateup, H. S., Shuto, T., Sotogaku, N., Fukuda, T., Heintz, N., Greengard, P., and Snyder, G. L. (2008). Distinct roles of PDE4 and PDE10A in the regulation of cAMP/PKA signaling in the striatum. *The Journal of neuroscience*, 28(42), 10460-10471.
- Nuechterlein, K. H., Barch, D. M., Gold, J. M., Goldberg, T. E., Green, M. F., and Heaton, R. K. (2004). Identification of separable cognitive factors in schizophrenia. *Schizophrenia research*, 72(1), 29-39.
- Numata, S., Ueno, S., Iga, J., Hongwei, S., Nakataki, M., Tayoshi, S. Y., Sumitani, S., Tomotake, M., Itakura, M., Sano, A., and T., O. (2009). Positive association of the PDE4B (phosphodiesterase 4B) gene with schizophrenia in the Japanese population. *journal of psychiatric research*, 43 (1), 7-12.
- O'Driscoll, G. A., Florencio, P. S., Gagnon, D., Wolff, A. V., Benkelfat, C., Mikula, L., Lal, S.,

8 Literaturverzeichnis

- and Evans, A. C. (2001). Amygdala-hippocampal volume and verbal memory in first-degree relatives of schizophrenic patients. *Psychiatry research*, 107(2), 75-85.
- Oh, M. C., Derkach, V. A., Guire, E. S., and Soderling, T. R. (2006). Extrasynaptic membrane trafficking regulated by GluR1 serine 845 phosphorylation primes AMPA receptors for long-term potentiation. *The journal of biological chemistry*, 281(2), 752-758.
- Oliva, A. A., Jr., Kang, Y., Furones, C., Alonso, O. F., Bruno, O., Dietrich, W. D., and Atkins, C. M. (2012). Phosphodiesterase isoform-specific expression induced by traumatic brain injury. *Journal of neurochemistry*, 123(6), 1019-1029.
- Omori, K., and Kotera, J. (2007). Overview of PDEs and their regulation. *Circulation research*, 100(3), 309-327.
- Ostendorf, F., and Angleitner, A. (2003). *NEO-Persönlichkeitsinventar nach Costa und McCrae, Revidierte Fassung (NEO-PI-R). Manual*. Göttingen: Hogrefe.
- Otmakhov, N., Khibnik, L., Otmakhova, N., Carpenter, S., Riahi, S., Asrican, B., and Lisman, J. (2004). Forskolin-induced LTP in the CA1 hippocampal region is NMDA receptor dependent. *Journal of neurophysiology*, 91(5), 1955-1962.
- Owens, S. F., Rijdsdijk, F., Picchioni, M. M., Stahl, D., Nenadic, I., Murray, R. M., and Toulopoulou, T. (2011). Genetic overlap between schizophrenia and selective components of executive function. *Schizophrenia research*, 127(1-3), 181-187.
- Park, S., and Holzman, P. S. (1992). Schizophrenics show spatial working memory deficits. *Archives of general psychiatry*, 49(12), 975-982.
- Paspalas, C. D., Wang, M., and Arnsten, A. F. (2013). Constellation of HCN channels and cAMP regulating proteins in dendritic spines of the primate prefrontal cortex: potential substrate for working memory deficits in schizophrenia. *Cerebral cortex*, 23(7), 1643-1654.
- Patton, J. H., Stanford, M. S., and Barratt, E. S. (1995). Factor structure of the Barratt impulsiveness scale. *Journal of clinical psychology*, 51(6), 768-774.
- Paulzen, M., and Schneider, F. (2014). Schizophrenie und andere psychotische Störungen im DSM-5. *Der Nervenarzt*, 85(5), 533-542.
- Paunio, T., Tuulio-Henriksson, A., Hiekkalinna, T., Perola, M., Varilo, T., Partonen, T., Cannon, T. D., Lonnqvist, J., and Peltonen, L. (2004). Search for cognitive trait components of schizophrenia reveals a locus for verbal learning and memory on 4q and for visual working memory on 2q. *Human molecular genetics*, 13(16), 1693-1702.
- Peng, S., Sun, H., Zhang, X., Liu, G., and Wang, G. (2014). Effects of selective phosphodiesterases-4 inhibitors on learning and memory: a review of recent research. *Cell biochemistry and biophysics*, 70(1), 83-85.
- Peng, S., Sun, H. Y., Liu, G. J., Yang, X., and Mychaskiw, G. (2013). Ro 20-1724

8 Literaturverzeichnis

- ameliorates learning deficit and long-term memory impairment secondary to repeated ketamine anesthesia in young rats. *Neuroscience & medicine*, 04(3), 155-160.
- Pérez-Torres, S., Miró, X., Palacios, J. M., Cortés, R., Puigdoménech, P., and Mengod, G. (2000). Phosphodiesterase type 4 isozymes expression in human brain examined by in situ hybridization histochemistry and [³H]rolipram binding autoradiography. Comparison with monkey and rat brain. *Journal of chemical neuroanatomy*, 20(3-4), 349-374.
- Perry, S. J., Baillie, G. S., Kohout, T. A., McPhee, I., Magiera, M. M., Ang, K. L., Miller, W. E., McLean, A. J., Conti, M., Houslay, M. D., and Lefkowitz, R. J. (2002). Targeting of cyclic AMP degradation to beta 2-adrenergic receptors by beta-arrestins. *Science*, 298(5594), 834-836.
- Petermann, F., and Lepach, A. C. (2012). *Wechsler Memory Scale- Fourth Edition (WMS-IV)*. Frankfurt: Pearson Assessment.
- Peters, M., Bletsch, M., Stanley, J., Wheeler, D., Scott, R., and Tully, T. (2014). The PDE4 inhibitor HT-0712 improves hippocampus-dependent memory in aged mice. *Neuropsychopharmacology*, 1-11.
- Pickard, B. S., Thomson, P. A., Christoforou, A. C., Evans, K. L., Morris, S. W., Porteous, D. J., Blackwood, D. H. R., and Muir, W. J. (2007). The PDE4B gene confers sex-specific protection against schizophrenia. *Psychiatric genetics*, 17(3), 129-133.
- Pietzcker, A., Muller-Oerlinghausen, B., and Kehr, W. (1979). Antipsychotic activity of rolipram in schizophrenia patients. A pilot study. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 308, Suppl 1 Deutsche Pharmakologische Gesellschaft Fall Meeting Abstract 175.
- Pirkola, T., Tuulio-Henriksson, A., Glahn, D., Kieseppa, T., Haukka, J., Kaprio, J., Lonnqvist, J., and Cannon, T. D. (2005). Spatial working memory function in twins with schizophrenia and bipolar disorder. *Biological psychiatry*, 58(12), 930-936.
- Plomin, R., and Crabbe, J. (2000). DNA. *Psychological bulletin*, 126(6), 806-828.
- Pockett, S., Slack, J. R., and Peacock, S. (1993). Cyclic AMP and long-term potentiation in the CA1 region of rat hippocampus. *Neuroscience*, 52(2), 229-236.
- Polyn, S. M., Natu, V. S., Cohen, J. D., and Norman, K. A. (2005). Category-specific cortical activity precedes retrieval during memory search. *Science*, 310(5756), 1963-1966.
- Preston, G. A., and Weinberger, D. R. (2005). Intermediate phenotypes in schizophrenia: a selective review. *Dialogues in clinical neuroscience*, 7(2), 165-179.
- Prickaerts, J., and Steckler, T. (2005). Effects of glucocorticoids on emotion and memory processes in animals In T. Steckler, N. Kalin & J. M. H. M. Reul (Eds.), *Handbook of stress and the brain, part 1: the neurobiology of stress* (pp. 359-386). Amsterdam: Elsevier,.

8 Literaturverzeichnis

- Psychiatric GWAS Consortium Coordinating Committee. (2009). Genomewide association studies: history, rationale, and prospects for psychiatric disorders. *The American journal of psychiatry*, 166(5), 540-556.
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., de Bakker, P. I., Daly, M. J., and Sham, P. C. (2007). PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *American journal of human genetics*, 81(3), 559-575.
- Qiagen. (2010). QIAamp®DNA Blood Midi/Maxi Handbook.
- Race, E., Keane, M., and Verfaellie, M. (2011). Medial temporal lobe damage causes deficits in episodic memory and episodic future thinking not attributable to deficits in narrative construction. *The Journal of neuroscience*, 31(28), 10262-10269.
- Radant, A. D., Dobie, D. J., Calkins, M. E., Olincy, A., Braff, D. L., Cadenhead, K. S., Freedman, R., Green, M. F., Greenwood, T. A., Gur, R. E., Gur, R. C., Light, G. A., Meichle, S. P., Millard, S. P., Mintz, J., Nuechterlein, K. H., Schork, N. J., Seidman, L. J., Siever, L. J., Silverman, J. M., Stone, W. S., Swerdlow, N. R., Tsuang, M. T., Turetsky, B. I., and Tsuang, D. W. (2010). Antisaccade performance in schizophrenia patients, their first-degree biological relatives, and community comparison subjects: data from the COGS study. *Psychophysiology*, 47(5), 846-856.
- Radulescu, E., Ganeshan, B., Shergill, S. S., Medford, N., Chatwin, C., Young, R. C. D., and Critchley, H. D. (2014). Grey-matter texture abnormalities and reduced hippocampal volume are distinguishing features of schizophrenia. *Psychiatry research: Neuroimaging*, 223(3), 179-186.
- Ramos, B. P., Birnbaum, S. G., Lindenmayer, I., Newton, S. S., Duman, R. S., and Arnsten, A. F. (2003). Dysregulation of protein kinase a signaling in the aged prefrontal cortex: new strategy for treating age-related cognitive decline. *Neuron*, 40(4), 835-845.
- Randt, C. T., Judge, M. E., Bonnet, K. A., and Quartermain, D. (1982). Brain cyclic AMP and memory in mice. *Pharmacology biochemistry and behavior*, 17(4), 677-680.
- Ranganath, C., Minzenberg, M., and Ragland, J. D. (2008). The cognitive neuroscience of memory function and dysfunction in schizophrenia. *Biological psychiatry*, 64(1), 18-25.
- Rasetti, R., and Weinberger, D. R. (2011). Intermediate phenotypes in psychiatric disorders. *Current opinion in genetics & development*, 21(3), 340-348.
- Rastogi, A., Zai, C., Likhodi, O., Kennedy, J. L., and Wong, A. H. (2009). Genetic association and post-mortem brain mRNA analysis of DISC1 and related genes in schizophrenia. *Schizophrenia research*, 114(1-3), 39-49.
- Rees, E., Walters, J. T. R., Georgieva, L., Isles, A. R., Chambert, K. D., Richards, A. L., and Kirov, G. (2014). Analysis of copy number variations at 15 schizophrenia-associated loci. *The British Journal of Psychiatry*, 204(2), 108-114.
- Reneerkens, O. A., Rutten, K., Steinbusch, H. W., Blokland, A., and Prickaerts, J. (2009).

8 Literaturverzeichnis

- Selective phosphodiesterase inhibitors: a promising target for cognition enhancement. *Psychopharmacology*, 202(1-3), 419-443.
- Reyes-Irisarri, E., Sanchez, A. J., Garcia-Merino, J. A., and Mengod, G. (2007). Selective Induction of cAMP Phosphodiesterase PDE4B2 Expression in Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *Journal of neuropathology and experimental neurology*, 66(10), 923-931.
- Rice, J. P., Reich, T., Bucholz, K., Neuman, R. J., Fishman, R., Rochberg, N., Hesselbrock, V. M., Numberger, J. I., Shuckit, M. A., and Begleiter, H. (1995). Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence. *Alcoholism: clinical and experimental research*, 19(4), 1018-1023.
- Richter, V., and Guthke, J. (1996). *Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar : (LEBI); Handanweisung*. Göttingen: Hogrefe.
- Riecher-Rössler, A., and Rössler, W. (1998). The course of schizophrenic psychoses: what do we really know? A selective review from an epidemiological perspective. *European Archives of psychiatry clinical neuroscience*, 248(4), 189-202.
- Ripke, S., O'Dushlaine, C., Chambert, K., Moran, J. L., Kahler, A. K., Akterin, S., et al. (2013). Genome-wide association analysis identifies 13 new risk loci for schizophrenia. [Article]. *Nature genetics*, 45(10), 1150-1159.
- Ross, C. A., Margolis, R. L., Reading, S. A. J., Pletnikov, M., and Coyle, J. T. (2006). Neurobiology of schizophrenia. *Neuron*, 52(1), 139-153.
- Rugg, M. D., Otten, L. J., and Henson, R. N. (2002). The neural basis of episodic memory: evidence from functional neuroimaging. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 357(1424), 1097-1110.
- Rutten, K., Lieben, C., Smits, L., and Blokland, A. (2007a). The PDE4 inhibitor rolipram reverses object memory impairment induced by acute tryptophan depletion in the rat. *Psychopharmacology*, 192(2), 275-282.
- Rutten, K., Prickaerts, J., and Blokland, A. (2006). Rolipram reverses scopolamine-induced and time-dependent memory deficits in object recognition by different mechanisms of action. *Neurobiology of learning and memory*, 85(2), 132-138.
- Rutten, K., Prickaerts, J., Hendrix, M., Josef van der Staay, F., Şik, A., and Blokland, A. (2007b). Time-dependent involvement of cAMP and cGMP in consolidation of object memory: Studies using selective phosphodiesterase type 2, 4 and 5 inhibitors. *European journal of pharmacology*, 558(1-3), 107-112.
- Rutten, K., Prickaerts, J., Schaenzle, G., Rosenbrock, H., and Blokland, A. (2008). Sub-chronic rolipram treatment leads to a persistent improvement in long-term object memory in rats. *Neurobiology of learning and memory*, 90(3), 569-575.
- Rutten, K., Wallace, T. L., Works, M., Prickaerts, J., Blokland, A., Novak, T. J., Santarelli, L., and Misner, D. L. (2011). Enhanced long-term depression and impaired reversal learning in phosphodiesterase 4B-knockout (PDE4B^{-/-}) mice. *Neuropharmacology*,

8 Literaturverzeichnis

61(1-2), 138-147.

- Sanabra, C., Johansson, E. M., and Mengod, G. (2013). Critical role for PDE4 subfamilies in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of chemical neuroanatomy*, 47, 96-105.
- Sanderson, T. M., and Sher, E. (2013). The role of phosphodiesterases in hippocampal synaptic plasticity. *Neuropharmacology*, 74, 86-95.
- Sawa, A., and Snyder, S. H. (2002). Schizophrenia: diverse approaches to a complex disease. *Science*, 296(5568), 692-695.
- Sawa, A., and Snyder, S. H. (2005). Genetics. Two genes link two distinct psychoses. *Science*, 310(5751), 1128-1129.
- Saykin, A. J., Gur, R. C., Gur, R. E., Mozley, P. D., Mozley, L. H., Resnick, S. M., Kester, D. B., and Stafiniak, P. (1991). Neuropsychological function in schizophrenia. Selective impairment in memory and learning. *Archives of general psychiatry*, 48(7), 618-624.
- Schenkel, L. S., and Silverstein, S. M. (2004). Dimensions of premorbid functioning in schizophrenia: a review of neuromotor, cognitive, social, and behavioral domains. *Genetic, social and general psychology monographs*, 130(3), 241-270.
- Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium (2014). Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. [Article]. *Nature*, 511(7510), 421-427.
- Schmitt, A., Rujescu, D., Gawlik, M., Hasan, A., Hashimoto, K., Iceta, S., Jarema, M., Kambeitz, J., Kasper, S., Keiser, D., Kornhuber, J., Koutsouleris, N., Lanzenberger, R., Malchow, B., Saoud, M., Spies, M., Stöber, G., Thibaut, F., Riederer, P., Falkai, P., and WFSBP Task Force on Biological Markers. (2016). Consensus paper of the WFSBP Task Force on Biological Markers: Criteria for biomarkers and endophenotypes of schizophrenia part II: Cognition, neuroimaging and genetics. *The World journal of biological psychiatry*, 17(6), 406-428.
- Schneider, K. (1959). *Klinische Psychopathologie* (5. ed.). Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Schwab, S. G., and Wildenauer, D. B. (2013). Genetics of psychiatric disorders in the GWAS era: an update on schizophrenia. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*, 263(2), 147-154.
- Schwenkmezger, P., Hodapp, V., and Spielberger, C. D. (1992). *STAXI – State-Trait-Ärgerausdrucks-Inventar*. Bern: Verlag Hans Huber.
- Scoville, W. B., and Milner, B. (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 20(1), 11-21.
- Seidman, L. J., Faraone, S. V., Goldstein, J. M., Kremen, W. S., Horton, N. J., Makris, N., Toomey, R., Kennedy, D., Caviness, V. S., and Tsuang, M. T. (2002). Left hippocampal volume as a vulnerability indicator for schizophrenia: a magnetic resonance imaging morphometric study of nonpsychotic first-degree relatives.

8 Literaturverzeichnis

Archives of general psychiatry, 59(9), 839-849.

Selige, J., Hatzelmann, A., and Dunkern, T. (2011). The differential impact of PDE4 subtypes in human lung fibroblasts on cytokine-induced proliferation and myofibroblast conversion. *Journal of cellular physiology*, 226(8), 1970-1980.

Sequenom. (2005). MassARRAY® Assay Design 3.1 Software User's Guide

Sette, C., and Conti, M. (1996). Phosphorylation and activation of a cAMP-specific phosphodiesterase by the cAMP-dependent protein kinase. Involvement of serine 54 in the enzyme activation. *The Journal of biological chemistry*, 271(28), 16526-16534.

Sharma, S. K., Bagnall, M. W., Sutton, M. A., and Carew, T. J. (2003). Inhibition of calcineurin facilitates the induction of memory for sensitization in Aplysia: requirement of mitogen-activated protein kinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(8), 4861-4866.

Sharp, E. S., and Gatz, M. (2011). Relationship between education and dementia: an updated systematic review. *Alzheimer disease and associated disorders*, 25(4), 289-304.

Shepherd, M., McSorley, T., Olsen, A. E., Johnston, L. A., Thomson, N. C., Baillie, G. S., Houslay, M. D., and Bolger, G. B. (2003). Molecular cloning and subcellular distribution of the novel PDE4B4 cAMP-specific phosphodiesterase isoform. *The biochemical journal*, 370(Pt 2), 429-438.

Shepherd, M. C., Baillie, G. S., Stirling, D. I., and Houslay, M. D. (2004). Remodelling of the PDE4 cAMP phosphodiesterase isoform profile upon monocyte-macrophage differentiation of human U937 cells. *British journal of pharmacology*, 142(2), 339-351.

Shimamura, A. P. (2011). Episodic retrieval and the cortical binding of relational activity. [journal article]. *Cognitive, affective, & behavioral neuroscience*, 11(3), 277-291.

Silveira, C., Marques-Teixeira, J., and de Bastos-Leite, A. J. (2012). More than one century of schizophrenia an evolving perspective. *The Journal of nervous and mental Disease*, 200(12), 1054-1057.

Silvestre, J. S., Fernandez, A. G., and Palacios, J. M. (1999). Effects of rolipram on the elevated plus-maze test in rats: a preliminary study. *Journal of psychopharmacology*, 13(3), 274-277.

Simpson, E. H., Kellendonk, C., and Kandel, E. (2010). A possible role for the striatum in the pathogenesis of the cognitive symptoms of schizophrenia. *Neuron*, 65(5), 585-596.

Singh, S., Kumar, A., Agarwal, S., Phadke, S. R., and Jaiswal, Y. (2014). Genetic insight of schizophrenia: past and future perspectives. *Gene*, 535(2), 97-100.

Sitskoorn, M. M., Appels, A. M. C. M., Aleman, R., Ebisch, S. J. H., and Kahn, S. (2004). Cognitive deficits in relatives of patients with schizophrenia: a meta-analysis. *Schizophrenia research*, 71(2-3), 285-295.

8 Literaturverzeichnis

- Siuciak, J. A., Chapin, D. S., McCarthy, S. A., and Martin, A. N. (2007). Antipsychotic profile of rolipram: efficacy in rats and reduced sensitivity in mice deficient in the phosphodiesterase-4B (PDE4B) enzyme. *Psychopharmacology*, 192(3), 415-424.
- Siuciak, J. A., McCarthy, S. A., Chapin, D. S., and Martin, A. N. (2008). Behavioral and neurochemical characterization of mice deficient in the phosphodiesterase-4B (PDE4B) enzyme. *Psychopharmacology*, 197(1), 115-126.
- Skelley, S. L., Goldberg, T. E., Egan, M. F., Weinberger, D. R., and Gold, J. M. (2008). Verbal and visual memory: characterizing the clinical and intermediate phenotype in schizophrenia. *Schizophrenia research*, 105(1-3), 78-85.
- Skudlarski, P., Schretlen, D. J., Thaker, G. K., Stevens, M. C., Keshavan, M. S., Sweeney, J. A., Tamminga, C. A., Clementz, B. A., O'Neil, K., and Pearlson, G. D. (2013). Diffusion tensor imaging white matter endophenotypes in patients with schizophrenia or psychotic bipolar disorder and their relatives. *The American journal of psychiatry*, 170(8), 886-898.
- Smith, C. W., Park, S., and Cornblatt, B. (2006). Spatial working memory deficits in adolescents at clinical high risk for schizophrenia. *Schizophrenia research*, 81(2-3), 211-215.
- Smith, M. J., Cloninger, C. R., Harms, M. P., and Csernansky, J. G. (2008). Temperament and character as schizophrenia-related endophenotypes in non-psychotic siblings. *Schizophrenia research*, 104(1-3), 198-205.
- Snitz, B. E., MacDonald, A. W., and Carter, C. S. (2006). Cognitive deficits in unaffected first-degree relatives of schizophrenia patients: a meta-analytic review of putative endophenotypes. *Schizophrenia bulletin*, 32(1), 179-194.
- Squire, L. R. (1998). Memory systems. *Comptes rendus de l'Academie des sciences. Serie III, Sciences de la vie*, 321(2-3), 153-156.
- Squire, L. R. (2009). Memory and brain systems: 1969-2009. *The Journal of neuroscience*, 29(41), 12711-12716.
- Squire, L. R., and Bayley, P. J. (2007). The neuroscience of remote memory. *Current opinion in neurobiology*, 17(2), 185-196.
- Squire, L. R., and Zola-Morgan, S. (1991). The medial temporal lobe memory system. *Science*, 253(5026), 1380-1386.
- Stolz, E., Pancholi, K. M., Goradia, D. D., Paul, S., Keshavan, M. S., Nimgaonkar, V. L., and Prasad, K. M. (2012). Brain activation patterns during visual episodic memory processing among first-degree relatives of schizophrenia subjects. *Neuroimage*, 63(3), 1154-1161.

8 Literaturverzeichnis

- Stroup, T. S. (2007). Heterogeneity of treatment effects in schizophrenia. *The American journal of medicine*, 120(4 Suppl 1), S26-31.
- Stuchlik, A. (2014). Dynamic learning and memory, synaptic plasticity and neurogenesis: an update. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 8, 106.
- Sullivan, P. F., Kendler, K. S., and Neale, M. C. (2003). Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. *Archives of general psychiatry*, 60(12), 1187-1192.
- Swerdlow, N. R., Light, G. A., Sprock, J., Calkins, M. E., Green, M. F., Greenwood, T. A., Gur, R. E., Gur, R. C., Lazzeroni, L. C., Nuechterlein, K. H., Radant, A. D., Ray, A., Seidman, L. J., Siever, L. J., Silverman, J. M., Stone, W. S., Sugar, C. A., Tsuang, D. W., Tsuang, M. T., Turetsky, B. I., and Braff, D. L. (2014). Deficient prepulse inhibition in schizophrenia detected by the multi-site COGS. *Schizophrenia research*, 152(2-3), 503-512.
- Tandon, R., Keshavan, M. S., and Nasrallah, H. A. (2008). Schizophrenia, "just the facts" what we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology. *Schizophrenia research*, 102(1-3), 1-18.
- Tandon, R., Nasrallah, H. A., and Keshavan, M. S. (2009). Schizophrenia, "just the facts" 4. Clinical features and conceptualization. *Schizophrenia research*, 110(1-3), 1-23.
- Tewes, U. (1994). *HAWIE-R. Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991. Handbuch und Testanweisung*. Bern, Göttingen, Toronto, Seattle Verlag Hans Huber.
- Thirthalli, J., Phutane, V. H., Muralidharan, K., Kumar, C. N., Munishwar, B., Baspure, P., and Gangadhar, B. N. (2009). Does catatonic schizophrenia improve faster with electroconvulsive therapy than other subtypes of schizophrenia? *The world journal of biological psychiatry*, 10(4 Pt 3), 772-777.
- Titus, D. J., and Wilson, N. M. (2016). Chronic Cognitive Dysfunction after Traumatic Brain Injury Is Improved with a Phosphodiesterase 4B Inhibitor. *The journal of neuroscience*, 36(27), 7095-7108.
- Tiwari, S., Dong, H., Kim, E. J., Weintraub, L., Epstein, P. M., and Lerner, A. (2005). Type 4 cAMP phosphodiesterase (PDE4) inhibitors augment glucocorticoid-mediated apoptosis in B cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL) in the absence of exogenous adenylyl cyclase stimulation. *Biochemical pharmacology*, 69(3), 473-483.
- Tomppo, L., Hennah, W., Lahermo, P., Loukola, A., Tuulio-Henriksson, A., Suvisaari, J., Partonen, T., Ekelund, J., Lonnqvist, J., and Peltonen, L. (2009). Association between genes of Disrupted in schizophrenia 1 (DISC1) interactors and schizophrenia supports the role of the DISC1 pathway in the etiology of major mental illnesses. *Biological psychiatry*, 65(12), 1055-1062.
- Torphy, T. J., Zhou, H. L., Foley, J. J., Sarau, H. M., Manning, C. D., and Barnette, M. S. (1995). Salbutamol up-regulates PDE4 activity and induces a heterologous desensitization of U937 cells to prostaglandin E2. Implications for the therapeutic use

8 Literaturverzeichnis

- of beta-adrenoceptor agonists. *The journal of biological chemistry*, 270(40), 23598-23604.
- Trampush, J. W., Yang, M. L. Z., Yu, J., Knowles, E., Davies, G., Liewald, D. C., Starr, J. M., Djurovic, S., Melle, I., Sundet, K., Christoforou, A., Reinvang, I., DeRosse, P., Lundervold, A. J., Steen, V. M., Espeseth, T., Rääkkönen, K., Widen, E., Palotie, A., Eriksson, J. G., Giegling, I., Konte, B., Roussos, P., Giakoumaki, S., Burdick, K. E., Payton, A., Ollier, W., Horan, M., Chiba-Falek, O., Attix, D. K., Need, A. C., Cirulli, E. T., Voineskos, A. N., Stefanis, N. C., Avramopoulos, D., Hatzimanolis, A., Arking, D. E., Smyrnis, N., Bilder, R. M., Freimer, N. A., Cannon, T. D., London, E., Poldrack, R. A., Sabb, F. W., Congdon, E., Conley, E. D., Scult, M. A., Dickinson, D., Straub, R. E., Donohoe, G., Morris, D., Corvin, A., Gill, M., Hariri, A. R., Weinberger, D. R., Pendleton, N., Bitsios, P., Rujescu, D., Lahti, J., Le Hellard, S., Keller, M. C., Andreassen, O. A., Deary, I. J., Glahn, D. C., Malhotra, A. K., and Lencz, T. (2017). GWAS meta-analysis reveals novel loci and genetic correlates for general cognitive function: a report from the COGENT consortium. *Molecular Psychiatry*, 22, 336-345.
- Trandafir, A., Meary, A., Schürhoff, F., Leboyer, M., and Szöke, A. (2006). Memory tests in first-degree adult relatives of schizophrenic patients: a meta-analysis. *Schizophrenia research*, 81(2-3), 217-226.
- Tsunoda, T., Ota, T., Fujimoto, T., Doi, K., Tanaka, Y., Yoshida, Y., Ogawa, M., Matsuzaki, H., Hamabashiri, M., Tyson, D. R., Kuroki, M., Miyamoto, S., and Shirasawa, S. (2012). Inhibition of phosphodiesterase-4 (PDE4) activity triggers luminal apoptosis and AKT dephosphorylation in a 3-D colonic-crypt model. *Molecular cancer*, 11, 46.
- Tulving, E. (1985). *Elements of Episodic Memory*: Oxford University Press.
- Turetsky, B. I., Calkins, M. E., Light, G. A., Olincy, A., Radant, A. D., and Swerdlow, N. R. (2007). Neurophysiological endophenotypes of schizophrenia: the viability of selected candidate measures. *Schizophrenia bulletin*, 33(1), 69-94.
- Turetsky, B. I., Moberg, P. J., Arnold, S. E., Doty, R. L., and Gur, R. E. (2003). Low olfactory bulb volume in first-degree relatives of patients with schizophrenia. *The American journal of psychiatry*, 160(4), 703-708.
- Tuulio-Henriksson, A., Arajärvi, R., Partonen, T., Haukka, J., Varilo, T., Schreck, M., Cannon, T., and Lonnqvist, J. (2003). Familial loading associates with impairment in visual span among healthy siblings of schizophrenia patients. *Biological psychiatry*, 54(6), 623-628.
- Tuulio-Henriksson, A., Haukka, J., Partonen, T., Varilo, T., Paunio, T., Ekelund, J., Cannon, T. D., Meyer, J. M., and Lonnqvist, J. (2002). Heritability and number of quantitative trait loci of neurocognitive functions in families with schizophrenia. *American journal of medical genetics*, 114(5), 483-490.
- Ungvari, G. S., Goggins, W., Leung, S. K., and Gerevich, J. (2007). Schizophrenia with prominent catatonic features ('catatonic schizophrenia'). II. Factor analysis of the catatonic syndrome. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & biological psychiatry*, 31(2), 462-468.
- van der Velde, J., Gromann, P. M., Swart, M., de Haan, L., Wiersma, D., Bruggeman, R.,

8 Literaturverzeichnis

- Krabbendam, L., and Aleman, A. (2015). Grey matter, an endophenotype for schizophrenia? A voxel-based morphometry study in siblings of patients with schizophrenia. *Journal of psychiatry and neuroscience*, 40(3), 207-213.
- Verde, I., Pahlke, G., Salanova, M., Zhang, G., Wang, S., Coletti, D., Onuffer, J., Jin, S. L., and Conti, M. (2001). Myomegalin is a novel protein of the golgi/centrosome that interacts with a cyclic nucleotide phosphodiesterase. *The journal of biological chemistry*, 276(14), 11189-11198.
- Viard, A., Lebreton, K., Chetelat, G., Desgranges, B., Landeau, B., Young, A., De La Sayette, V., Eustache, F., and Piolino, P. (2010). Patterns of hippocampal-neocortical interactions in the retrieval of episodic autobiographical memories across the entire life-span of aged adults. *Hippocampus*, 20(1), 153-165.
- Vieland, V. J., Walters, K. A., Lehner, T., Azaro, M., Tobin, K., Huang, Y., and Brzustowicz, L. M. (2014). Revisiting Schizophrenia Linkage Data in the NIMH Repository: Reanalysis of Regularized Data Across Multiple Studies. *American journal of psychiatry*, 171(3), 350-359.
- Wager, T. D., and Smith, E. E. (2003). Neuroimaging studies of working memory: a meta-analysis. *Cognitive, affective, & behavioral Neuroscience*, 3(4), 255-274.
- Wagner, A. D. (2002). Cognitive control and episodic memory. *Neuropsychology of memory*, 174-192.
- Wang, C., Yang, X. M., Zhuo, Y. Y., Zhou, H., Lin, H. B., Cheng, Y. F., Xu, J. P., and Zhang, H. T. (2012). The phosphodiesterase-4 inhibitor rolipram reverses Abeta-induced cognitive impairment and neuroinflammatory and apoptotic responses in rats. *The international journal of neuropsychopharmacology*, 15(6), 749-766.
- Wang, H., Ferguson, G. D., Pineda, V. V., Cundiff, P. E., and Storm, D. R. (2004). Overexpression of type-1 adenylyl cyclase in mouse forebrain enhances recognition memory and LTP. *Nature neuroscience*, 7(6), 635-642.
- Wang, H., Peng, M. S., Chen, Y., Geng, J., Robinson, H., Houslay, M. D., Cai, J., and Ke, H. (2007). Structures of the four subfamilies of phosphodiesterase-4 provide insight into the selectivity of their inhibitors. *The biochemical journal*, 408(2), 193-201.
- Wang, P., Myers, J. G., Wu, P., Cheewatrakoolpong, B., Egan, R. W., and Billah, M. M. (1997). Expression, purification, and characterization of human cAMP-specific phosphodiesterase (PDE4) subtypes A, B, C, and D. *Biochemical and biophysical research communications*, 234(2), 320-324.
- Wang, P., Wu, P., Ohleth, K. M., Egan, R. W., and Billah, M. M. (1999). Phosphodiesterase 4B2 is the predominant phosphodiesterase species and undergoes differential regulation of gene expression in human monocytes and neutrophils. *Molecular pharmacology*, 56(1), 170-174.
- Wechsler, D. (1945). *Wechsler Memory Scale. Manual*. . San Antonio, TX: The Psychological Corporation.

8 Literaturverzeichnis

- Weinberger, D. (1999). Cell biology of the hippocampal formation in schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 45(4), 395-402.
- Wiescholleck, V., and Manahan-Vaughan, D. (2012). PDE4 inhibition enhances hippocampal synaptic plasticity in vivo and rescues MK801-induced impairment of long-term potentiation and object recognition memory in an animal model of psychosis. *Translational psychiatry*, 2, 1-11.
- Wiggs, C. L., Weisberg, J., and Martin, A. (1999). Neural correlates of semantic and episodic memory retrieval. *Neuropsychologia*, 37(1), 103-118.
- Winchester, C. L., Pratt, J. A., and Morris, B. J. (2014). Risk genes for schizophrenia: translational opportunities for drug discovery. *Pharmacology & therapeutics*, 143(1), 34-50.
- Wittchen, H.-U., Zaudig, M., and Fydrich, T. (1997). *Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV*. Göttingen: Hogrefe.
- Wong, S. T., Athos, J., Figueroa, X. A., Pineda, V. V., Schaefer, M. L., Chavkin, C. C., Muglia, L. J., and Storm, D. R. (1999). Calcium-stimulated adenylyl cyclase activity is critical for hippocampus-dependent long-term memory and late phase LTP. *Neuron*, 23(4), 787-798.
- Woodruff, C. C., Johnson, J. D., Uncapher, M. R., and Rugg, M. D. (2005). Content-specificity of the neural correlates of recollection. *Neuropsychologia*, 43(7), 1022-1032.
- World Health Organization. (1992). *International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems-10th Revision. (ICD-10)—Section V. Mental and Behavioral Disorders*. Geneva: World Health Organization.
- Xu, R. X. (2000). Atomic structure of PDE4: insights into phosphodiesterase mechanism and specificity. *Science*, 288(5472), 1822-1825.
- Zhang, H. T., Crissman, A. M., Dorairaj, N. R., Chandler, L. J., and O'Donnell, J. M. (2000). Inhibition of cyclic AMP phosphodiesterase (PDE4) reverses memory deficits associated with NMDA receptor antagonism. *Neuropsychopharmacology*, 23(2), 198-204.
- Zhang, H. T., Huang, Y., Masood, A., Stolinski, L. R., Li, Y., Zhang, L., Dlaboga, D., Jin, S. L., Conti, M., and O'Donnell, J. M. (2008). Anxiogenic-like behavioral phenotype of mice deficient in phosphodiesterase 4B (PDE4B). *Neuropsychopharmacology*, 33(7), 1611-1623.
- Zhang, H. T., Huang, Y., Suvarna, N. U., Deng, C., Crissman, A. M., Hopper, A. T., De Vivo, M., Rose, G. M., and O'Donnell, J. M. (2005a). Effects of the novel PDE4 inhibitors MEM1018 and MEM1091 on memory in the radial-arm maze and inhibitory avoidance tests in rats. *Psychopharmacology*, 179(3), 613-619.
- Zhang, H. T., and O'Donnell, J. M. (2000). Effects of rolipram on scopolamine-induced impairment of working and reference memory in the radial-arm maze tests in rats.

8 Literaturverzeichnis

Psychopharmacology, 150(3), 311-316.

Zhang, H. T., Zhao, Y., Huang, Y., Dorairaj, N. R., Chandler, L. J., and O'Donnell, J. M. (2004). Inhibition of the phosphodiesterase 4 (PDE4) enzyme reverses memory deficits produced by infusion of the MEK inhibitor U0126 into the CA1 subregion of the rat hippocampus. *Neuropsychopharmacology*, 29(8), 1432-1439.

Zhang, K. Y. J., Ibrahim, P. N., Gillette, S., and Bollag, G. (2005b). Phosphodiesterase-4 as a potential drug target. *Expert opinion on therapeutic targets*, 9(6), 1283-1305.

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

Zola-Morgan, S., Squire, L. R., and Ramus, S. J. (1994). Severity of memory impairment in monkeys as a function of locus and extent of damage within the medial temporal lobe memory system. *Hippocampus*, 4(4), 483-495.

Onlineliteratur:

dbSNP 2014:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>

Ensembl 2014:

http://asia.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?r=1:65787416-65788416;v=rs11208747;vdb=variation;vf=7560028

http://asia.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?r=1:66374997-66375997;v=rs783066;vdb=variation;vf=762841

International HapMap Project 2011:

<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>

National Center for Biotechnology Information 2014:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genome/probe/doc/TechPCR.shtml>

PubMed 2014:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5142>

Variation Viewer 2014:

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/view/?q=rs4288570&chr=NC_000001.11&filters=source:dbSNP&asm=GCF000001405.26#

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. Falkai, dem Direktor der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Klinikums der Universität München, und Herrn Prof. Dr. med. Möller, dem ehemaligen Direktor der Klinik, die mir die Durchführung dieser Promotionsarbeit in der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Klinikums der Universität München ermöglichten.

Herrn Prof. Dr. med. Rujescu möchte ich für seine außerordentliche freundliche Betreuung und der Möglichkeit zur Durchführung der vorliegenden Arbeit in der Sektion für Molekulare und Klinische Neurobiologie danken.

Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei Frau PD Dr. rer. biol. hum. Giegling für ihre kontinuierliche Unterstützung bei der praktischen Umsetzung der Promotionsarbeit, insbesondere für ihre Hilfe bei der statistischen Auswertung der Studienergebnisse, das Korrekturlesen und die geduldige Beantwortung zahlreicher Fragen zur Durchführung der Arbeit.

Frau Dr. rer. biol. hum. Hartmann habe ich für ihre ständige Begleitung und konstruktive Hilfe während der Promotionsarbeit, vor allem für die Beantwortung konkreter Fragen zur Logistik, Statistik und Niederschrift dieser Arbeit zu danken. Ihr Korrekturlesen war unverzichtbar für die Erstellung dieser Dissertation.

Mein herzlicher Dank geht auch an Frau Dr. rer. biol. hum. Konnerth. Ohne ihre hervorragende Einarbeitung und ausgezeichnete Beratung in allen mit dieser Dissertation verbundenen Angelegenheiten wäre die Durchführung dieser Arbeit nicht möglich gewesen. Insbesondere ihre Hilfe bei fachlichen Fragestellungen war sehr wertvoll und lehrreich.

Ich danke dem Laborteam für die freundliche Zusammenarbeit und Unterstützung bei labortechnischen Fragen.

Dem Doktorandenteam möchte ich für die exzellente Teamarbeit ebenfalls meinen Dank aussprechen.

Mein Dank gilt auch allen Probanden, durch deren engagierte Studienteilnahme die Erstellung dieser Arbeit erst möglich wurde.

Ganz besonders danke ich meiner Familie und meinen Freunden für ihre tatkräftige sowie geduldige Unterstützung und die ununterbrochene Motivation und Ermutigung.

Eidesstattliche Versicherung

Lin, Zi

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

Einfluss von Polymorphismen im PDE4B-Gen auf das Gedächtnis, einen Endophänotypen der Schizophrenie

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

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

Ort, Datum

Unterschrift Doktorandin/Doktorand