

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

Direktor: Herr Prof. Dr. med. Peter Falkai

**Der Einfluss genetischer Polymorphismen im AADAT-Gen
auf die Schizophrenie**

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

vorgelegt von
Alexander Towfigh

aus
Landshut

2019

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dan Rujescu

Mitberichterstatterin: Prof. Dr. med. Ortrud Steinlein

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

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

Tag der mündlichen Prüfung: 02.05.2019

„So wie die Verrücktheit, in einem höheren Sinn, der Anfang aller Weisheit ist, so ist Schizophrenie der Anfang aller Kunst, aller Phantasie.“

Hermann Hesse

Meiner Mutter gewidmet

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|-------|---------------------------------------------------------------------|----|
| 1 | Einleitung..... | 6 |
| 1.1 | Schizophrenie | 6 |
| 1.1.1 | Epidemiologie | 6 |
| 1.1.2 | Historische und gegenwärtige Klassifikationssysteme..... | 7 |
| 1.1.3 | Krankheitsverlauf | 10 |
| 1.1.4 | Ätiopathogenese | 11 |
| 1.1.5 | Risiko- und Umweltfaktoren während Schwangerschaft und Geburt | 12 |
| 1.1.6 | Risiko- und Umweltfaktoren während Kindheit und Jugend | 12 |
| 1.2 | Genetische Faktoren der Schizophrenie | 13 |
| 1.2.1 | Familien-, Adoptions- und Zwillingsstudien | 14 |
| 1.2.2 | Kopplungsstudien | 15 |
| 1.2.3 | Assoziationsstudien (Kandidatengenstudien) | 16 |
| 1.2.4 | Genomweite Assoziationsstudien | 18 |
| 1.2.5 | Copy Number Variationen..... | 20 |
| 1.3 | Neurochemische Konzepte der Schizophrenie | 23 |
| 1.3.1 | Dopamin-Hypothese..... | 23 |
| 1.3.2 | Glutamat-Hypothese | 24 |
| 1.4 | Die Kynureninsäure-Hypothese und das AADAT-Gen..... | 25 |
| 1.4.1 | Kynureninsäure-Hypothese..... | 25 |
| 1.4.2 | Kynurenin-Stoffwechsel | 26 |
| 1.4.3 | Die Familie der Kynurenin-Aminotransferasen im Hirngewebe | 28 |
| 1.4.4 | Kynurenin-Aminotransferase 2/AADAT..... | 29 |
| 1.4.5 | Substratspezifität der humanen AADAT/KAT2..... | 30 |
| 1.4.6 | Kristallstruktur der humanen AADAT/KAT 2 | 30 |
| 1.4.7 | Das Gen der humanen AADAT/KAT2..... | 31 |
| 1.4.8 | Pharmakologische Hemmstoffe der Kynurenin-Aminotransferase 2 | 32 |
| 2 | Fragestellung | 35 |
| 3 | Material und Methoden | 36 |
| 3.1 | Vorbedingungen der Studie | 36 |
| 3.2 | Akquirierung der Studienteilnehmer | 36 |
| 3.2.1 | Kontrollprobanden | 36 |
| 3.2.2 | Patienten | 38 |
| 3.3 | Laborverfahren..... | 41 |
| 3.3.1 | DNA-Extraktion..... | 42 |
| 3.3.2 | Bestimmung und Einstellung der DNA-Konzentration..... | 43 |

| | | |
|-------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.3.3 | Genotypisierung | 46 |
| 3.4 | Statistische Auswertungen | 51 |
| 4 | Ergebnisse..... | 52 |
| 4.1 | Darstellung der Stichprobe..... | 52 |
| 4.2 | SNP-Lokalisationen auf AADAT..... | 53 |
| 4.3 | Ergebnisse des Hardy-Weinberg Equilibriums | 54 |
| 4.4 | Analyse der Einzelmarker auf eine Assoziation mit Schizophrenie..... | 55 |
| 4.4.1 | Patienten vs. Kontrollen | 57 |
| 4.4.2 | Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Erstgradangehörigen vs. Kontrollen..... | 59 |
| 4.4.3 | Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen vs. Kontrollen..... | 61 |
| 4.4.4 | Patienten mit psychiatrisch erkrankten Angehörigen vs. Kontrollen | 63 |
| 4.5 | Haplotypen | 65 |
| 5 | Diskussion..... | 67 |
| 5.1 | Zusammenfassung der Ergebnisse | 67 |
| 5.2 | Diskussion der Methoden | 68 |
| 5.3 | Diskussion der Ergebnisse | 73 |
| 6 | Zusammenfassung..... | 79 |
| 7 | Abkürzungsverzeichnis | 81 |
| 8 | Literaturverzeichnis..... | 83 |
| 9 | Danksagung | 105 |
| 10 | Eidesstattliche Versicherung | 106 |

1 Einleitung

1.1 Schizophrenie

Die Schizophrenie zählt zu den schwerwiegendsten psychiatrischen Erkrankungen und zeigt nicht nur erhebliche gesundheitliche und soziale Auswirkungen auf die Betroffenen selbst, sondern stellt auch eine große Belastung für Angehörige und Gesellschaft dar {Millier et al. 2014}.

1.1.1 Epidemiologie

Nach Angaben der WHO sind weltweit mehr als 21 Millionen Menschen an Schizophrenie erkrankt {WHO 2014}. Zwischen den verschiedenen Kulturen und geographischen Regionen weisen die Erkrankungszahlen und die typischen Krankheitsverläufe keine größeren Unterschiede auf {Rangaswamy & Greeshma 2012}.

Die durchschnittliche jährliche Inzidenz beträgt 10 bis 15 Fälle pro 100000 Personen, die durchschnittliche Punktprävalenz beträgt 4,6 Fälle pro 1000 Personen {Owen et al. 2016}. Das Gesamtrisiko im Laufe des Lebens an Schizophrenie zu erkranken liegt bei knapp unter 1% {Kahn et al. 2015}.

Bei Männern zeigt sich der Erkrankungsgipfel zwischen dem 20 und 29 Lebensjahr, bei Frauen kommt es zu einem ersten Erkrankungsgipfel zwischen dem 20 bis 29 Lebensjahr und einem zweiten Gipfel zwischen dem 30 bis 39 Lebensjahr. Diesen Spitzen folgt ein Rückgang der Inzidenz bis zum 60 Lebensjahr, welcher bei Männern stärker abfällt als bei Frauen. Insgesamt liegt bei Männern ein 1,15-fach höheres Erkrankungsrisiko für Schizophrenie vor {van der Werf et al. 2014}, was möglicherweise einer schützenden antipsychotischen Wirkung des Östrogens zuzuschreiben ist {Gogos et al. 2015}.

1.1.2 Historische und gegenwärtige Klassifikationssysteme

Noch zu Beginn des neunzehnten Jahrhunderts existierte kein Ordnungssystem zur Klassifikation psychischer Erkrankungen. Vielmehr wurden zur damaligen Zeit dementsprechende Einteilungsversuche von vielen führenden Psychiatern entschieden abgelehnt. Heinrich Neumann stellte 1859 resigniert folgende Aussage auf: „...dass wir nicht eher an einen wirklichen Fortschritt in der Psychiatrie glauben werden, als bis man sich entschlossen haben wird, die ganze Klassifikation über Bord zu werfen. Es gibt nur eine Art Seelenstörung. Wir nennen sie das Irresein ...“ {Franzek & Musalek 2009}.

Erste Ansätze klinisch empirischer Beschreibungen Schizophrenie-typischer Symptome als eine eigenständige Sonderform der Psychosen erfolgten im Jahr 1874 von Karl Ludwig Kahlbaum in seiner Abhandlung „Die Katatonie oder das Spannungsirresein. Eine klinische Form psychischer Krankheit.“. Von seinem Schüler Ewald Hecker wurde nur wenige Jahre zuvor der Begriff Hebephrenie für eine „besondere Form von Geisteskrankheiten“ eingeführt, die nach der Pubertät erstmals aufträte {Franzek & Musalek 2009; Gazdag et al. 2017; Jäger et al. 2018}.

Besondere Bedeutung hatte die von Emil Kraepelin beschriebene prognostische Dichotomie der Geisteskrankheiten. In der fünften Auflage seines „Lehrbuches der Psychiatrie“ aus dem Jahre 1896 gebrauchte er zum ersten Mal den Begriff Dementia praecox und fasste darunter später die Dementia paranoides, die Hebephrenie und die Katatonie zusammen, welche Gemeinsamkeiten durch einen frühen Krankheitsbeginn, eine schlechte Prognose und einen „eigenartigen Schwächezustand“ zeigten. Demgegenüber stellte er die manisch-depressive Erkrankung, welcher er eine gute Prognose zuschrieb {Rittmannsberger 2012; Falkai et al. 2015}.

Kurze Zeit später führte Eugen Bleuler den Begriff „Schizophrenie“ für eine Gruppe psychischer Störungen ein und setzte ihn an die Stelle von Kraepelins Dementia praecox. In seinem Werk „Dementia praecox oder Gruppe der Schizophrenien“ unterschied er zwischen Grundsymptomen wie Störungen des Denkens, der Affektivität sowie des Antriebs, und akzessorischen Symptomen wie Sinnestäuschungen, Wahnideen und katatonen Symptomen. Im Gegensatz zu Kraepelins damaliger Meinung lehnte er die Annahme eines grundsätzlich ungünstigen Krankheitsverlaufs ab {Rittmannsberger 2012; Maatz & Hoff 2014}.

1938 beschrieb Kurt Schneider erstmalig sein Klassifikationssystem der Erst- und Zweitrangsymptome der Schizophrenie. Grundlage dieser Einteilung war die Wahrscheinlichkeit mit der eine Schizophrenie diagnostiziert werden konnte. So sollte eine Schizophrenie vorliegen, wenn sich mindestens ein Symptom ersten Ranges zeigte (z. B. Gedanken-Lautwerden, dialogisierende oder kommentierende Stimmen, Wahnwahrnehmungen), während Symptome zweiten Ranges (z. B. optische Halluzinationen, Wahneinfälle, depressive Verstimmung) zwar auch auftreten könnten, aber alleine nicht spezifisch genug für eine Diagnose seien {Martin 2010; Cutting 2015}.

Seit Ende der siebziger Jahre erfolgte verstärkt die Einteilung der Krankheitssymptome in Positiv- und Negativsymptome. Dabei prägte insbesondere Nancy Andreasen für die Negativsymptome die sogenannten „sechs A“: Alogie, Affektverflachung, Apathie, Anhedonie, Aufmerksamkeitsstörungen und Asozialität {Andreasen 1982}.

Zur Beurteilung des Ausmaßes der Positiv- und Negativsymptome entwickelte Kay et al. 1987 daran anlehnend die PANSS-Skala {Kay et al. 1987; Aboraya & Nasrallah 2016}.

Mit dem DSM (Diagnostical and Statistical Manual of Mental Disorders) der American Psychiatric Association und dem ICD (International Classification of Diseases) der WHO stehen seit einigen Jahrzehnten zwei führende Klassifikationssysteme zur Verfügung, die sich bezüglich der Diagnosekriterien stets weiterentwickelt und teilweise wechselseitig beeinflusst haben. Ein Vergleich der Schizophreniediagnostik zwischen der 4. Fassung des DSM und der 10. Fassung des ICD ist in Tabelle 1 ersichtlich {American Psychiatric Association 2000; Dilling 2014}. Seit 2013 liegt das DSM in der 5. Fassung vor {American Psychiatric Association 2013}, die 11. Fassung des ICD steht kurz vor der Veröffentlichung (Stand Mai 2018) {WHO 2018}.

Tabelle 1: Vergleich der Diagnosekriterien zwischen DSM-IV und ICD-10

| | DSM-IV | ICD-10 |
|---------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Subtypen | <ul style="list-style-type: none"> • paranoider Typus • desorganisierter Typus • katatoner Typus • undifferenzierter Typus • residualer Typus | <ul style="list-style-type: none"> • paranoide Schizophrenie • hebephrene Schizophrenie • katatone Schizophrenie • undifferenzierte Schizophrenie • postschizophrene Depression • schizophre Residuum • Schizophrenia simplex |
| Symptome / Symptomgruppen | <ul style="list-style-type: none"> • Wahn • Halluzinationen • desorganisierte Sprechweise • grob desorganisiertes oder katatones Verhalten • negative Symptome | <ul style="list-style-type: none"> • Symptomgruppe 1: <ul style="list-style-type: none"> ○ Gedankenlautwerden, -eingebug, -entzug, -ausbreitung ○ Kontroll- oder Beeinflussungswahn, Gefühl des Gemachten, Wahnwahrnehmungen ○ kommentierende/dialogische Stimmen ○ anhaltender, kulturell unangemessener/ unrealistischer Wahn • Symptomgruppe 2: <ul style="list-style-type: none"> ○ Halluzinationen ○ Gedankenabreißen /-einschiebungen, Zerfahrenheit ○ katatone Symptome (z. B. Stereotypien, wächserne Biagsamkeit) ○ negative Symptome (z. B. Apathie, Sprachverarmung, sozialer Rückzug) |
| Diagnosebedingungen | <ul style="list-style-type: none"> • 2 der Symptome bestehen mindestens über einen Monat (wenn bizarre Wahninhalte oder akustische Halluzinationen in Form von kommentierenden oder dialogisierenden Stimmen vorliegen, reicht ein Symptombereich aus) • soziale und berufliche Leistungseinbußen liegen vor • kontinuierlicher Erkrankungszeitraum über mind. 6 Monate, darin mind. 1 Monat floride Symptome • organische Ursachen (z. B. Gehirnerkrankungen, Intoxikation, Entzugssyndrom) sind auszuschließen • Symptomatik ist nicht besser zu erklären durch schizoaffektive Störung oder psychotische Depression | <ul style="list-style-type: none"> • mindestens ein eindeutiges Symptom der Symptomgruppe 1 oder mindestens zwei Symptome der Symptomgruppe 2 für mindestens einen Monat • organische Ursachen (z. B. Gehirnerkrankungen, Intoxikation, Entzugssyndrom) sind auszuschließen • keine ausgeprägten depressiven oder manischen Symptome, außer schizophrene Symptome wären der affektiven Störung vorausgegangen |

1.1.3 Krankheitsverlauf

Der Krankheitsverlauf der Schizophrenie ist durch aufeinander folgende Stadien gekennzeichnet, die in ihrer Abgrenzung voneinander teilweise unpräzise sind und in Symptomatik und Schwere individuell sehr unterschiedlich ausgeprägt sein können {Tandon et al. 2013; Wójciak et al. 2016}.

Häufig zeigen sich in einer prämorbid Phase bereits vor Ausbruch der eigentlichen Erkrankung leichte unspezifische Beeinträchtigungen der emotionalen, sozialen, kognitiven und motorischen Fertigkeiten, die allerdings lediglich als Vorstufen oder Risikofaktoren für die Entwicklung einer Schizophrenie angesehen werden {Schenkel & Silverstein 2004; Keefe 2014; Du 2015}.

Die Frühmanifestation der Erkrankung äußert sich hingegen erstmals in der Prodromalphase. Dieser Zeitraum, der sich von einigen Monaten bis hin zu mehreren Jahren erstrecken kann, ist gekennzeichnet durch erste unterschwellige psychotische Symptome sowie anderen klinischen Zeichen, wie Leistungsabfall, kognitiven Defiziten, Negativsymptomen und depressiver Verstimmung {Tandon et al. 2009; Häfner et al. 2013; Addington et al. 2015}.

Eventuell durch Stressfaktoren oder Drogenmissbrauch ausgelöst {Donoghue et al. 2014; Chaumette et al. 2016; Lange et al. 2017}, mündet die Symptomatik schließlich in die erste floride Psychose. Hierbei treten nach einem anfänglichen Anstieg der affektiven und negativen Symptome verstärkt Positivsymptome wie Wahnvorstellungen, Halluzinationen, desorganisierte Sprache oder desorganisiertes Verhalten hinzu, steigern sich bis zu einem Höhepunkt und können schließlich bis zu mehreren Wochen andauern. Im Allgemeinen klingen die Positivsymptome schneller als die Negativsymptome ab, wodurch sich häufig nach dem Erkrankungsgipfel eine durch Alogie, Antriebsmangel und Affektverflachung gekennzeichnete postpsychotische depressive Phase anschließt, welcher schließlich eine Übergangs- oder Auflösungsphase nachfolgt, in der die psychotischen Symptome zurücktreten, aber noch sehr leicht wieder aufflammen können {Tandon et al. 2009; Fervaha et al. 2014}.

Die Jahre nach Erkrankungsbeginn sind häufig geprägt durch wiederkehrende psychotische Episoden mit jeweils unterschiedlich ausgeprägten Remissionsgraden und einer oftmals nachfolgenden gesteigerten Beeinträchtigung, wobei insbesondere die ersten fünf Jahre nach

der ersten Psychose zu einer Verschlechterung der allgemeinen Funktionsfähigkeit führen. Im Langzeitverlauf treten die Positivsymptome eher zurück, während sich die zunehmend im Vordergrund stehenden Negativsymptome auf einem chronischen Plateau stabilisieren. Die kognitiven Symptome zeigen sich im gesamten Krankheitsverlauf in der Regel gleich bleibend, während die affektiven Symptome zu einem Teil durch die psychotischen Symptome beeinflusst werden {Tandon et al. 2009; an der Heiden & Häfner 2015; Owen et al. 2016}.

Entgegen Kraepelins ursprünglicher Erwartung einer stets unvermeidlich voranschreitenden Krankheitsverschlechterung kann in jedem Stadium der Erkrankung eine teilweise oder vollständige Genesung eintreten {Zipursky et al. 2013; Leucht 2014}. Etwa jeder siebte Schizophreniepatient erreicht in Bezug auf klinische und soziale Kriterien eine längerfristige Besserung {Jääskeläinen et al. 2013}.

Als prädisponierende Faktoren für einen ungünstigen Verlauf gelten unter anderem männliches Geschlecht, ausgeprägte Negativsymptome in den frühen Krankheitsstadien, kognitive Beeinträchtigung, niedriges Bildungsniveau, soziale Isolation, wiederholte Krankenhausaufenthalte sowie eine längere Dauer unbehandelter Psychosen {Lang et al. 2013}.

Im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung ist die durchschnittliche Lebenserwartung bei Menschen mit Schizophrenie um circa 20 Jahre reduziert {Laursen et al. 2014}. Zu einem großen Teil ist die erhöhte Sterblichkeit auf eine hohe Rate von Suiziden zurückzuführen. Insgesamt sterben zwischen 4-6% der Patienten durch Suizid, 2,4% der Patienten bereits in den ersten 5 Jahren nach Erkrankungsbeginn {Popovic et al. 2014}. Höhere Mortalitätsrisiken ergeben sich zudem auch aufgrund ungesunder Lebensweise (einseitige Ernährung, Nikotin- und Alkoholkonsum, Bewegungsarmut), den Nebenwirkungen antipsychotischer Medikamente oder einer vergleichsweise späten Diagnostik und unzureichenden Therapie physischer Erkrankungen {Laursen et al. 2014}.

1.1.4 Ätiopathogenese

Die Ursachen und die Entstehung der Schizophrenie sind bis heute noch nicht vollständig geklärt. Etabliert hat sich allerdings die Theorie einer multifaktoriellen Genese („Vulnerabilitäts-Stress-Modell“), nach der sowohl genetische Ursachen als auch Umwelt- und

Risikofaktoren im Zusammenspiel für die Erkrankung verantwortlich sind {Schlier et al. 2014; Davis et al. 2016; Owen et al. 2016}.

1.1.5 Risiko- und Umweltfaktoren während Schwangerschaft und Geburt

Ein fortgeschrittenes Lebensalter des Vaters bei der Zeugung zählt zu den am längsten bekannten Risikofaktoren für die Entwicklung einer Schizophrenie. Erste Untersuchungen hierzu wurden bereits in den fünfziger Jahren des letzten Jahrhunderts durchgeführt. Als Ursache werden insbesondere Neumutationen in den väterlichen Keimzellen sowie Störungen in der epigenetischen Regulation vermutet {Meli et al. 2012; Kahn et al. 2015; Oldereid et al. 2018}.

Mütterlicher Stress während der Schwangerschaft gilt ebenso als Risikofaktor. Es konnte beispielsweise gezeigt werden, dass Kriegsereignisse oder persönliche Schicksalsschläge wie der Tod des Kindsvaters, das Erkrankungsrisiko für Schizophrenie in der Nachkommenschaft ansteigen lässt {Meli et al. 2012; Dorrington et al. 2014}.

Auch eine Mangelernährung der werdenden Mutter, insbesondere an Folsäure, Eisen und Vitamin D, sowie Infektionserkrankungen (z. B. Influenza, Rubella) während der Schwangerschaft oder auch Geburtskomplikationen, die mit einer Sauerstoffunterversorgung des Kindes einhergehen, können das Krankheitsrisiko erhöhen {Meli et al. 2012; Kahn et al. 2015; Davis et al. 2016}.

1.1.6 Risiko- und Umweltfaktoren während Kindheit und Jugend

Cannabiskonsum im Jugendalter zählt zu den am meisten untersuchten Risikofaktoren für Schizophrenie {Jonsson et al. 2014}. Verschiedenen Studien konnten nicht nur den direkten Zusammenhang zwischen Cannabiskonsum und erhöhtem Krankheitsrisiko zeigen, sondern auch die zunehmende Erhöhung des Risikos mit zunehmenden Konsum {Davis et al. 2016}. In einer schwedischen Kohorte beispielsweise erhöhte sich die Erkrankungshäufigkeit bei Cannabiskonsumenten auf den 1,2-fachen Wert von Nichtkonsumenten, bei Intensivkonsumenten (> 50-maliger Genuss) stieg die Häufigkeit sogar bis auf den 6,7-fachen Wert an {Zammit et al. 2002}. Die Auswirkungen von Cannabis scheinen zudem

schwerwiegender für Personen zu sein, die auch noch andere Prädispositionsfaktoren für eine Psychose aufweisen {Henquet et al. 2005}. Allerdings gibt es seit einiger Zeit auch Hinweise darauf, dass die individuelle Neigung zum Cannabiskonsum und das Auftreten einer Schizophrenieerkrankung eventuell auf gemeinsame genetische Ursachen zurückzuführen sind {Power et al. 2014}.

Seelische Traumata in der Kindheit und Jugend, wie zum Beispiel physische und psychische Misshandlungen, sexueller Missbrauch, Verlust oder Scheidung der Eltern oder auch Armut, können ebenfalls Risikofaktoren darstellen {Davis et al. 2016}. Eine umfangreiche Metaanalyse von Sahin et al. ergab bei Personen mit Kindheitstrauma ein dreifach erhöhtes Risiko zur Entwicklung einer Psychose {Sahin et al. 2013}, zudem scheint die Schwere von Krankheitssymptomen mit der Schwere des Kindheitstraumas zu korrelieren {Braehler et al. 2013}.

Verschiedene Infektionserkrankungen im Kinder- und Jugendalter scheinen ebenso das Erkrankungsrisiko zu erhöhen. Insbesondere für Infektionen mit *Toxoplasma gondii* oder dem Cytomegalievirus liegen umfangreiche Daten vor, die auf eine Assoziation mit Schizophrenie hinweisen {Brown 2011}.

Als weitere Risikofaktoren gelten zudem Migrationshintergrund, niedriger sozioökonomischer Status und großstädtisches Lebensumfeld {Kahn et al. 2015}.

1.2 Genetische Faktoren der Schizophrenie

Viele der identifizierten Risikofaktoren weisen überwiegend auf externe Faktoren beim Ausbruch der Erkrankung hin. Allerdings ist auch schon seit längerem bekannt, dass die Schizophrenie speziell innerhalb von Familien gehäuft auftritt. Bereits 1946 vermutete Franz Kallman nach Untersuchungen von Zwillingspaaren genetische Ursachen bei der Ätiopathogenese der Schizophrenie. Weitere Hinweise darauf erfolgten anhand von Nachkommenschafts- und Adoptionsstudien in den 1960er Jahren. Zu dieser Zeit wurden die familiären Häufungen der Erkrankung noch zum großen Teil mit familiendynamischen und familieninteraktionellen Ursachen erklärt {Tandon et al. 2008}.

Nicht zuletzt auch durch molekulargenetische Untersuchungen gilt die Erbllichkeit der Schizophrenie heute als erwiesen. Dabei tragen genetische Faktoren insgesamt bis zu 80% zur Krankheitsentstehung bei {Gusev et al. 2014; Singh et al. 2014; Janoutová et al. 2016}.

Als polygener Erbgang unterliegt die Schizophrenie nicht den Mendelschen Vererbungsregeln. Vielmehr scheinen sowohl relativ häufige Allele mit kleinem Effekt als auch einige relativ seltene Allele mit großem Effekt verantwortlich zu sein {Psychiatric Genomics Consortium 2014; Kendler 2015}.

Obwohl in den letzten Jahren durch verschiedene Untersuchungsansätze bereits zahlreiche Suszeptibilitätsorte für die Schizophrenie im menschlichen Genom lokalisiert wurden, besteht dennoch die Möglichkeit, dass bis zum heutigen Tag insbesondere seltene genetische Variationen mit kleinem bis moderat hohem Effekt unentdeckt blieben {Giegling et al. 2017}.

1.2.1 Familien-, Adoptions- und Zwillingsstudien

Familienstudien untersuchen Merkmalsverteilungen unter blutsverwandten Familienangehörigen. Dabei bleibt zunächst offen, ob beobachtete familiäre Ähnlichkeiten durch genetische oder soziale nichtgenetische Ursachen verursacht werden {Möller et al. 2011}.

Untersuchungen zur Schizophrenie zeigten dabei, dass mit zunehmendem Verwandtschaftsgrad zu einem Betroffenen das Erkrankungsrisiko stark ansteigt. Während das durchschnittliche Erkrankungsrisiko in der Allgemeinbevölkerung bei ca. 1% liegt, erhöht es sich bei Drittgradangehörigen von Erkrankten auf 2-3%, bei Zweitgradangehörige auf 3-6%, bei Erstgradangehörige auf 9-18% und bei Kindern von zwei erkrankten Elternteilen auf sogar 40-60% {Tandon et al. 2008}.

In Adoptionsstudien wurden Kinder an Schizophrenie erkrankter Eltern, die bei gesunden Adoptiveltern aufwuchsen und Kinder gesunder Eltern, die bei erkrankten Adoptiveltern groß wurden, hinsichtlich des Erkrankungsrisikos untersucht. Die Studien ergaben, dass ausschließlich die biologischen Kinder erkrankter Eltern ein erhöhtes Risiko tragen selbst zu erkranken, wohingegen die nichtbiologischen Kinder an Schizophrenie erkrankter Adoptiveltern kein erhöhtes Risiko aufwiesen {Tandon et al. 2008}.

Zwillingsstudien verglichen das gemeinsame Auftreten der Schizophrenie bei eineiigen und zweieiigen Zwillingspaaren. Dabei zeigten sich bei den monozygoten Zwillingen Konkordanzraten für die Schizophrenie von 45-75%, bei den dizygoten Zwillingen Konkordanzraten von 4-15%. Die Ergebnisse bieten ebenfalls einen starken Hinweis auf die genetischen Ursachen der Erkrankung, allerdings weist die unvollständige Konkordanz bei den monozygoten Zwillingen auch auf den Einfluss weiterer Faktoren hin {Maier et al. 1999}.

Obwohl Familienstudien zu den ältesten Untersuchungsmethoden zur Erbllichkeit psychischer Erkrankungen zählen, haben sie bis zum heutigen Tag noch immer eine große Relevanz. Unter anderem untersuchte eine aktuellere sehr umfangreiche Metastudie aus dem Jahr 2014 die Rate von psychischen Störungen bei Nachkommen von Eltern mit Schizophrenie, bipolarer Störung oder Depression. Dabei zeigte sich, dass bei den Nachkommen der psychisch erkrankten Eltern ein mehr als doppelt so hohes Risiko besteht ebenfalls psychisch zu erkranken als bei den Nachkommen der Kontrollgruppe, wobei sich das erhöhte Erkrankungsrisiko nicht nur auf die beim Elternteil vorliegende Erkrankung beschränkte. So war das Risiko von Stimmungsstörungen bei Nachkommen von Eltern mit Schizophrenie signifikant erhöht, das Risiko einer Schizophrenie war wiederum signifikant erhöht bei Nachkommen von Eltern mit bipolarer Störung, allerdings nicht bei Nachkommen von Eltern mit Depression {Rasic et al. 2014}.

1.2.2 Kopplungsstudien

Kopplungsanalysen nutzen die genetische Informationen von Familien mit mehreren betroffenen Personen, indem sie untersuchen, welche übereinstimmenden chromosomalen Segmente unter den erkrankten Familienmitgliedern, nicht aber mit den gesunden Familienmitgliedern geteilt werden. Die Idee hinter diesem Verfahren ist die Annahme, dass ein genetische Marker und ein Phänotyp überzufällig häufig in Familien cosegregieren und der den Phänotyp codierende DNA-Abschnitt und der genetische Marker desto unwahrscheinlicher durch eine Rekombination separiert werden, je enger zueinander sie sich auf einem Chromosomenabschnitt befinden {Böddeker & Ziegler 2000; Ott et al. 2015}.

Da bei den ersten Kopplungsuntersuchungen noch Gene mit einem Haupteffekt auf die Schizophrenie erwartet wurden, sollten so die mit der Erkrankung gekoppelten

chromosomalen Loci vor der eigentlichen Identifizierung der verantwortlichen Gene bestimmt werden. Nachdem erste positive Ergebnisse, z. B. zu einer Kopplung auf Chromosom 5, nicht repliziert werden konnten, wurden mit großem wissenschaftlichem Engagement zahlreiche weitere genomweite Kopplungsstudien durchgeführt. Allerdings ergab sich zunächst auch bei vielen dieser Folgestudien häufig nur eine geringe Replizierbarkeit der Ergebnisse. In den ersten Metaanalysen konnten schließlich jedoch bedeutsamere Ergebnisse gefunden werden, als zunächst erwartet wurde {Rujescu 2007}.

Die Metaanalyse von Lewis et al. wertete die Daten von 20 genomweiten Kopplungsstudien mit insgesamt 1208 Stammbäumen aus und ermittelte dabei die Chromosomenregionen 2q, 5q, 3p, 11q, 6p, 1q, 22q, 8p, 20q, 14p, 16q, 18q, 10p, 15q, 6q und 17q als mögliche Suszeptibilitätsorte für Schizophrenie {Lewis et al. 2003}.

In die Metaanalyse von Ng et al. aus dem Jahr 2009 flossen die Ergebnisse von 32 genomweiten Kopplungsstudien mit 3255 Stammbäumen und 7413 genotypisierten Personen ein. Dabei wurden signifikante Kopplungen auf den Chromosomenloci 1, 2q, 3q, 4q, 5q, 8p, und 10q identifiziert. Nach der Eingrenzung der Stichprobe auf Personen mit ausschließlich europäischer Herkunft zeigte eine weitere Analyse lediglich noch eine Kopplung auf 8p {Ng et al. 2009}.

Obwohl auch bei einer aktuelleren Metaanalyse von Vieland et al. Kopplungen bei 2q36.1, 15q23, 3q28, 12q23.1, 11p11.2, Xq26.1, 11p15.3, 11p11.2 und Xq26.1 nachgewiesen werden konnten {Vieland et al. 2014}, bleiben die Ergebnisse aus Kopplungsstudien insgesamt eher unbefriedigend, da bisher keine Suszeptibilitätsgene eindeutig identifiziert werden konnten {Giegling et al. 2017}.

1.2.3 Assoziationsstudien (Kandidatengenstudien)

In Assoziationsstudien werden Patienten- und Kontrollstichproben verglichen, um ein mit der Erkrankung assoziiertes genetisches Merkmal nachzuweisen. Dafür werden zumeist Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNP) als Marker verwendet und untersucht, ob das spezifische Allel des Markers häufiger mit einem bestimmten Phänotyp auftritt. Mit Hilfe dieser Methode können auch Risikogene mit geringem Beitrag zur Krankheitsentstehung aufgespürt werden. Allerdings sind Assoziationsstudien besonders anfällig für falsch-positive

Befunde, wenn Patienten- und Kontrollgruppen aus verschiedenen Bevölkerungsgruppen zusammengesetzt sind (Populationsstratifikation). Die zu untersuchenden Gene werden häufig als „Kandidatengene“ nach funktionellen Kriterien ausgesucht, wenn nach pathobiologischen Modellen die Annahme besteht, dass sie an der Entstehung der Erkrankung beteiligt sein könnten {Patnala et al. 2013; Dick et al. 2015}.

Hinsichtlich der Schizophrenie stehen hierbei unter anderem Gene mit einer Beteiligung an der dopaminergen oder glutamatergen Signalübertragung, sowie an der Hirnentwicklung im Fokus des Interesses {Owen 2000; Williams et al. 2009}.

Alternativ können auch Gene aufgrund ihrer Position im Genom für eine Assoziationsstudie in Frage kommen, wenn sie auf einer chromosomalen Region mit einem signifikanten Kopplungsergebnis für die Erkrankung liegen {Patnala et al. 2013}.

Bei beiden Untersuchungsansätzen konnten in zahlreichen Studien mutmaßliche Suszeptibilitätsorte für Schizophrenie gefunden werden.

Eine der ersten Metaanalysen belegte Assoziationen mit Schizophrenie für die Gene COMT, DTNBP1, NRG1, RGS4, GRM3, DISC1, DAOA, DAAO, PPP3CC, CHRNA7, PRODH2, AKT1, GAD1, ERBB4, FEZ1, MUTED und MRDS1 {Straub & Weinberger 2006}.

Häufig jedoch fiel die Replikation der Ergebnisse in der Vergangenheit auch ernüchternd aus. So konnte die Assoziationsanalyse von Sanders et al. an einem europäischen Studienkollektiv von 1870 Patienten und 2002 Kontrollpersonen für keines von 14 potentiellen Kandidatengenen (RGS4, DISC1, DTNBP1, STX7, TAAR6, PPP3CC, NRG1, DRD2, HTR2A, DAOA, AKT1, CHRNA7, COMT und ARVCF) ein signifikantes Ergebnis nachweisen {Sanders et al. 2008}.

In einer Metaanalyse aus demselben Jahr zeigten hingegen Allen et. al wiederum für 24 Polymorphismen auf 16 verschiedenen Genen (APOE, COMT, DAO, DRD1, DRD2, DRD4, DTNBP1, GABRB2, GRIN2B, HP, IL1B, MTHFR, PLXNA2, SLC6A4, TP53 und TPH1) eine signifikante Assoziation zur Schizophrenie. Dabei entsprachen die Ergebnisse von vier Genen (DRD1, DTNBP1, MTHFR und TPH1) den Kriterien für ein „hohes Maß epidemiologischer Glaubwürdigkeit“ {Allen et al. 2008}.

Eine umfangreiche Übersichtsarbeit zu Assoziationsstudien wurde 2015 von Gatt et al. präsentiert. Hierbei wurde insbesondere ein großes Augenmerk auf die Frage geworfen, ob einzelne Kandidatengene lediglich Auswirkungen auf die Entstehung nur einer spezifischen psychischen Erkrankung haben oder über pleiotrope Mechanismen mit unterschiedlichen psychischen Erkrankungen assoziiert sind. Eingeflossen in die Arbeit sind die Ergebnisse aus 1519 Meta-Analysen von 157 Studien, in denen Gene beschrieben wurden, die an einer oder mehreren psychischen Erkrankungen (depressive Störung, Angststörungen, Schizophrenie, bipolare Störung, ADHS) beteiligt waren. Insgesamt wurden 134 Gene (206 Varianten) als signifikant assoziierte Risikovarianten identifiziert. Hinweise für eine Pleiotropie psychischer Erkrankungen gaben dabei 13 Varianten, die bei mehr als nur einer der psychischen Erkrankungen vorlagen. In Hinblick auf die Schizophrenie waren insgesamt 97 Varianten mit der Erkrankung assoziiert, von denen die stärkste Evidenz bei Genen vorlag, die mit der Regulierung von Dopamin (z. B. COMT, DRD2, DRD3 und DRD4), Glutamat (z. B. DAOA, GABRB2 und NRG1), der neuronalen Entwicklung und Funktion (z. B. AHI1, MTHFR, RELN und TRKA), der Serotonin-Neurotransmission (HTR2A, SLC6A4 und TPH1) oder dem Immunsystem (IL1B) in Verbindung stehen {Gatt et al. 2015; Giegling et al. 2017}.

Bei einer rückblickenden Bewertung von 25 schon frühzeitig erforschten Kandidatengenen der Schizophrenie kritisierten Farrell et al., dass die bisherigen Untersuchungen keine klaren Erkenntnisse über die genetischen Grundlagen der Schizophrenie erbracht haben, was womöglich an einer unzureichenden statistischen Aussagekraft des Studiendesigns läge. Gleichwohl wurden die daraus gewonnenen Erkenntnisse für mögliche genetische Behandlungsansätze der Schizophrenie anerkannt {Farrell et al. 2015}.

1.2.4 Genomweite Assoziationsstudien

Die Weiterentwicklung der Genotypisierungstechniken ermöglichte das gleichzeitige Analysieren mehrerer Hunderttausend SNPs bei einer Person. Dies war die Grundlage eines hypothesenfreien Untersuchungsansatzes in Genomweiten Assoziationsstudien (GWAS) {Rujescu 2007; Patnala et al. 2013}.

Eines der bis zum heutigen Tag relevantesten Ergebnisse aus GWAS wurde 2008 von O'Donovan et al. veröffentlicht. Bei einer Untersuchung von 479 Patienten und 2937

Kontrollpersonen konnte hierbei erstmals eine starke Assoziation mit dem Gen des Zinkfingerproteins ZNF804A auf Chromosom 2 nachgewiesen werden {O'Donovan et al. 2008}. Bereits zuvor wurde dieser Genombereich auch in Kopplungsstudien als relevant eingestuft. Zudem konnte die Assoziation zwischenzeitlich in zahlreichen Studien repliziert werden {Schwab & Wildenauer 2013}, unter anderem bei einer Untersuchung von 21 274 Patienten mit Schizophrenie und bipolarer Erkrankung durch Williams et al., wobei sich hierbei auch das überlappende genetische Risiko der beiden Erkrankungen bestätigte {Williams et al. 2011}.

Im Jahre 2009 erfolgten im Nature Magazin die Publikationen der drei ersten großangelegten GWAS zur Schizophrenie durch Purcell et al., Shi et al. und Stefansson et al. {Purcell et al. 2009; Shi et al. 2009; Stefansson et al. 2009}. Keine der drei Forschungsgruppen konnte für sich alleine betrachtet eine signifikante Assoziation nachweisen, allerdings wurden einige Genloci identifiziert, die nur knapp unter dieser Schwelle lagen, darunter auch wieder das ZNF804A Gen. Stefansson et al. hoben in ihrer Arbeit insbesondere auch das Gen für Transkriptionsfaktor 4 (TCF4) hervor, welches eine Rolle in der neuronalen Entwicklung spielt und bereits mit anderen neuronalen Erkrankungen in Verbindung gebracht wurde {Stefansson et al. 2009}. Erst die gemeinsame Auswertung der kaukasischen Stichproben (8014 Fälle und 19080 Kontrollpersonen) aus allen drei Forschungsgruppen erbrachte genomweit signifikante Assoziationen mit Markern der MHC-Region auf Chromosom 6. Bereits zuvor war auch diese Region schon im Fokus von Kopplungs- und Assoziationsstudien {Schwab & Wildenauer 2013}.

In einer Analyse des Schizophrenia Psychiatric Genome-Wide Association Study Consortiums konnte im Jahre 2011 für sieben Loci eine Assoziation zur Schizophrenie festgestellt werden, von denen fünf bis zum damaligen Zeitpunkt noch nicht bekannt waren. Das stärkste Ergebnis der fünf neuen Loci erzielte dabei das Gen für MIR137, einem wichtigem Regulator in der neuronalen Entwicklung. Eine erweiterte Analyse unter Einbeziehung der zusätzlichen Daten von 16374 bipolaren Patienten erbrachte insgesamt drei signifikante Loci auf CACNA1C, ANK3, und der ITIH3-ITIH4 Region {Schizophrenia Psychiatric Genome-Wide Association Study Consortium 2011}.

Eine nachfolgende GWAS von Ripke et al. aus dem Jahr 2013 identifizierte 22 signifikante Loci, worunter sich auch 13 neu entdeckte Loci befanden. Die Ergebnisse wiesen auf eine Beteiligung des neuronalen Calcium-Signalweges hin und bestätigten die Relevanz der MHC-

Region. Die Autoren des Forschungsberichtes schätzten zudem, dass insgesamt 8300 SNPs zum Erkrankungsrisiko beitragen {Ripke et al. 2013}.

Im Juli 2014 wurde eine sehr umfangreiche Metaanalyse des Psychiatric Genomic Consortiums veröffentlicht. Bei der Auswertung von 36989 Erkrankten und 113075 Kontrollpersonen konnten 128 Assoziationen auf 108 Loci identifiziert werden, darunter 83 Loci, über die zuvor noch nicht berichtet wurden. Erneut bestätigte sich hierbei die Bedeutung der neuronalen dopaminergen und glutaminergen Signalübertragung auf die Ätiologie der Schizophrenie, darüber hinaus konnte zudem ein Zusammenhang zwischen Genen des Immunsystems und der Erkrankung gezeigt werden {Psychiatric Genomics Consortium 2014}. Bei einer nachfolgenden Untersuchung dieser 108 Loci hinsichtlich ihrer Rolle bei der Modulation spezifischer psychopathologischer Merkmale konnte für eine schizophrenieassoziierte Variante (rs75059851) Auswirkungen auf die Ausprägung von Negativsymptomen belegt werden {Fabbri & Seretti 2017}.

Die bisher aktuellste Metaanalyse wurde im Februar 2018 von Pardiñas et al. veröffentlicht. Die Untersuchung schloss 11260 Patienten und 24542 Kontrollen ein. Insgesamt wurden dabei 145 Loci identifiziert, 50 davon bislang unentdeckt. Durch genomische Feinkartierung konnten zudem kausale Kandidatengene innerhalb von 33 Loci identifiziert werden {Pardiñas et al. 2018}.

1.2.5 Copy Number Variationen

Unter Copy Number Variationen (CNV) versteht man chromosomale Neuarrangements großer DNA-Segmente, die gelöscht, vervielfacht, umgedreht oder verlagert sein können. Ebenso wie Single Nucleotide Polymorphismen können sie potentielle Suszeptibilitätsorte für Erkrankungen darstellen. Während Single Nucleotide Polymorphismen jedoch bei genomweiten Assoziationsstudien relativ zahlreich gefunden werden, aber jeweils nur einen geringen Effekt auf das Krankheitsrisiko aufweisen, zeigen sich CNV wesentlich seltener (in weniger als 1 von 1000 Personen), aber mit jeweils eher großem Effekt auf das Krankheitsrisiko {Schmitt et al. 2014}.

Eine der ersten größeren Arbeiten zu CNVs bei Schizophrenie veröffentlichten Stefansson et al. im Jahre 2008. Dabei berichteten sie aus ihrer Stichprobe von 1433 Patienten über 66 de

novo CNVs und drei signifikanten Deletionen auf 1q21.1, 15q11.1 und 15q13.3 {Stefansson et al. 2008}.

Genomweite Analysen des International Schizophrenia Consortiums (ISC) bei 3391 Patienten entdeckten ausgedehnte Deletionen auf 1q21.1 und 15q13.3. Es zeigte sich zudem, dass CNVs, die in weniger als 1% der Gesamtstichprobe vorkommen und eine Mindestgröße von 100kb aufweisen, bei Schizophrenie-Patienten 1,15-mal häufiger auftreten als bei den Kontrollpersonen {The International Schizophrenia Consortium 2008}.

Die Untersuchung einer japanischen Stichprobe fand CNVs bei 16p13.1, 1q21.1 und dem Genlocus von NRXN 1, und konnte somit zu einem Teil die Ergebnisse von Stefansson et al. und dem ISC replizieren. In dieser Arbeit konnte ebenfalls ein häufigeres Auftreten seltener CNVs bei Schizophreniepatienten nachgewiesen werden, allerdings ließ sich der zuvor mit der Erkrankung in Verbindung gebrachte Zusammenhang mit sehr großen CNVs (>500kb) nicht bestätigen {Ikeda et al. 2010}.

Guilmatre et al. {Guilmatre et al. 2009} entdeckten, dass sich CNVs bei den drei Krankheitsbildern geistige Behinderung, Autismus und Schizophrenie teilweise wiederholen oder überlappen. Sie fanden unter anderem Deletionen auf 22q.11, einem Bereich, auf dem auch das ISC {The International Schizophrenia Consortium 2008} und Kirov et al. {Kirov et al. 2009} Deletionen identifizierten, und der bereits zuvor wegen des darauf liegenden PRODH Gens als möglicher Kandidatengenort für die Erkrankung galt {Willis et al. 2008}.

Kirov et al. untersuchten das Genom von 93 Schizophreniepatienten und entdeckten eine Deletion bei 2p16.3, dem Ort des Neurexin 1 Gens, sowie eine Duplikation bei 15q13.1, welche das APBA2 Gen betrifft {Kirov et al. 2008}.

Umfangreiche Untersuchungen von CNVs auf den Genen NRXN1, NRXN2 und NRXN3 erfolgten von Rujescu et al. bei 2977 Patienten und 33746 Kontrollpersonen aus sieben europäischen Populationen. Hierbei fanden sich auf NRXN1 66 Deletionen und 5 Duplikationen, während bei NRXN2 und NRXN3 keine CNVs entdeckt wurden {Rujescu et al. 2009}.

Walsh et al. untersuchten das Auftreten von Mikrodeletionen und Mikroduplikationen (>100kb) bei 150 Schizophreniepatienten und 268 Kontrollpersonen. Dabei entdeckten sie die gesuchten Strukturvarianten bei 5% der Kontrollpersonen, während diese bei 15 % der

Patienten und sogar bei 20% der Patienten mit frühem Krankheitsbeginn auftraten. Überproportional häufig waren dabei Gene mit einer Beteiligung an der Hirnentwicklung, sowie der Glutamat-Rezeptor Signalübertragung betroffen {Walsh et al. 2008}.

Bei einer zusammenfassenden Arbeit über CNVs bei Schizophrenie von Hosak et al. wurde berichtet, dass am häufigsten CNVs auf den Genorten 1q21.1, 2p16.3, 3q29, 15q11.2, 15q13.3, 16p13.1 und 22q11.2 mit der Erkrankung assoziiert waren. Deletionen zeigten einen größeren Effekt auf die Erkrankung als Duplikationen, zudem hatten größere CNVs stärkere Auswirkungen als kleinere CNVs {Hosak et al. 2012}.

Bei Rees et al. konnten für 11 von 15 zuvor schon diskutierten CNV-Loci starke Assoziationen zur Schizophrenie nachgewiesen werden. Die Autoren vermuten, dass etwa 2,5% der Personen mit Schizophrenie mindestens eine bekannte CNV tragen. Fast alle dieser CNVs sind auch mit einer Reihe von anderen Störungen der neuronalen Entwicklung assoziiert, wie zum Beispiel der Autismus-Spektrum-Störung oder intellektueller Minderbegabung. Interessanterweise ergaben sich für einige der CNVs auch Assoziationen mit physischen Erkrankungen wie Epilepsie (15q11.2 und 15q13.3), angeborene Herzfehler (1q21.1 und 22q11.2), Mikrozephalie (1q21.1, 3q29 und 16p11.2) und Fettleibigkeit (16p11.2) {Rees et al. 2014}.

In die bisher aktuellste Meta-Analyse flossen die Daten von 21094 Patienten und 20227 Kontrollpersonen ein. Auch in dieser Arbeit konnte eine Anreicherung von CNVs bei Schizophreniepatienten nachgewiesen werden, wobei von den CNVs häufig Gene betroffen waren, die mit der Synapsenfunktion und verhaltensneurologischen Phänotypen bei Mäusen in Verbindung stehen. Genomweit signifikante Hinweise wurden für acht Loci erhalten, einschließlich 1q21.1, 2p16.3 (NRXN1), 3q29, 7q11.2, 15q13.3, 16p11.2 distal, 16p11.2 proximal und 22q11.2 {Marshall et al. 2017}.

Die bisherigen Untersuchungen zeigten, dass die meisten CNVs so umfangreich sind, dass sie mehrere Gene umfassen und an der Entstehung verschiedener psychiatrischer und neurologischer Erkrankungen beteiligt sind. Obwohl CNVs selten sind, werden erste Möglichkeiten für die routinemäßige klinische Diagnostik bereits diskutiert {Lowther et al. 2017}.

1.3 Neurochemische Konzepte der Schizophrenie

1.3.1 Dopamin-Hypothese

Die älteste und am besten etablierte Hypothese zur Erklärung schizophrener Symptome ist die Dopamin-Hypothese. In ihrer ursprünglichen Form wurde dabei von einer allgemeinen Überfunktion der dopaminergen Transmission im ZNS ausgegangen. Vermutet wurde zunächst ein Überangebot an Dopamin, später eine Übersensitivität der dopaminergen Rezeptoren. Der Dopamin-D2-Rezeptor erregte dabei mit zunehmenden Erkenntnissen über die Dopamin-Rezeptoruntertypen besonderes Interesse, da über diesen im Wesentlichen die antipsychotische Wirkung der Neuroleptika vermittelt wird {Möller et al. 2011; Howes et al. 2015}.

Nach neueren Vorstellungen werden die dopaminergen Bahnen des limbischen Systems als relevant für die Erkrankung angesehen. So wird heute von einem mesolimbisch-mesokortikalem Ungleichgewicht ausgegangen, das die Entstehung negativer Symptome durch eine dopaminerge Hypoaktivität im präfrontalen Kortex und die Entstehung positiver Symptomatik durch eine dopaminerge Hyperfunktion im Striatum in Zusammenhang bringt {Möller et al. 2011}.

Verschiedene PET- und SPECT-Untersuchungen, die insbesondere eine dopaminerge Überfunktion bei Positivsymptomatik nachweisen, unterstützten die Dopamin-Hypothese {Salavati et al. 2015}.

Da sich die Dopamin-Hypothese allerdings durch empirische Befunde nicht vollständig untermauern ließ, wurde die Hypothese zunehmend durch die Einbindung weiterer Neurotransmittersysteme erweitert. In den Blickwinkel rückten dabei insbesondere die glutamatergen, serotonergen und GABAergen Systeme, ihre Wechselwirkungen und die Folgen ihres gestörten Gleichgewichts {Brisch et al. 2014; Yang & Tsai 2017}.

1.3.2 Glutamat-Hypothese

Die Glutamat-Hypothese der Schizophrenie geht von einer Unterfunktion des glutamatergen Systems aus. Dabei nehmen die glutamatergen Neurone des zerebralen Kortex (präfrontal, orbitofrontal, Zingulum) eine Schlüsselrolle ein. Diese erregen in einer absteigenden Bahn subkortikale dopaminerge Kerngebiete (ventrale tegmentale Area, ventrales Striatum), worauf in der Folge die dort aktivierten Dopaminneurone im meso-kortikalen Trakt wieder erregend in den Kortex zurückprojizieren. Zugleich üben glutamaterge Bahnen aus dem Kortex durch intermediäre GABAerge Neurone eine hemmende Funktion auf dopaminerge Neurone in der ventralen tegmentalen Area aus, welche schließlich als meso-limbischer Trakt in das ventrale Striatum projizieren. Eine Unterfunktion des kortikalen Glutamatsystems führt somit durch eine mangelnde Erregung des meso-kortikalen Traktes zu einer verminderten kortikalen Aktivität und zudem durch eine Enthemmung des meso-limbischen Traktes zu einer gesteigerten dopaminergen Aktivität im ventralen Striatum (siehe Abbildung 1) {Gallinat & Gudlowski 2008}.

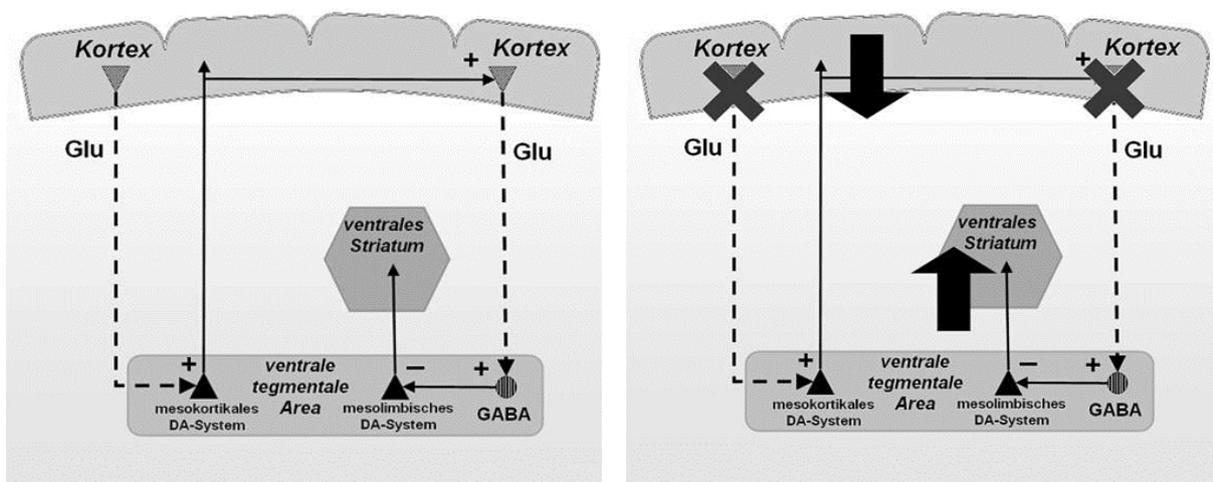


Abbildung 1: „Modell der kortikalen und subkortikalen Interaktion zwischen glutamatergen, dopaminergen und GABAergen Projektionen im gesunden Gehirn (links) und bei Schizophrenie (rechts). Eine gestörte kortikale Glutamatfunktion resultiert in einer verminderten präfrontalen glutamatergen Modulation dopaminergischer Strukturen. Dies führt zu einer reduzierten Aktivierung von Dopaminneuronen der ventralen tegmentalen Area (VTA), sodass es zu einer präfrontalen dopaminergen Minderaktivierung kommt. Gleichzeitig führt die verminderte Glutamataktivität auch zu einer Unterstimulation hemmender GABA-Neurone die in einer verstärkten Dopaminaktivität im ventralen Striatum resultiert. Glu – Glutamat; DA – Dopamin; GABA – gamma-amino-Buttersäure; + Aktivierung; – Inhibition.“ {Gallinat & Gudlowski 2008}

Insbesondere die glutamatergen NMDA-Rezeptoren haben für die Glutamat-Hypothese eine große Bedeutung. Wegweisend hierfür war die Beobachtung, dass durch eine Blockade der

NMDA-Rezeptoren mit Ketamin und Phencyklidin bei Gesunden sowohl paranoid-halluzinatorische Syndrome als auch Negativsyndrome erzeugt werden können, wie sie der Symptomatik einer Schizophrenie entsprechen {Hasan et al. 2014}.

1.4 Die Kynureninsäure-Hypothese und das AADAT-Gen

1.4.1 Kynureninsäure-Hypothese

Die Kynureninsäure-Hypothese basiert auf der Beobachtung, dass Schizophreniepatienten erhöhte Werte an Kynureninsäure in der Cerebrospinalflüssigkeit, sowie im postmortalen präfrontalen Kortex aufweisen {Linderholm et al. 2012; Plitman et al. 2017}.

Kynureninsäure ist ein Metabolit des Tryptophan-Stoffwechsels und wird im Gehirn von Astrozyten gebildet {Kegel et al. 2014; Badawy 2017}. Ebenso wie Ketamin und Phencyklidin ist sie an NMDA-Rezeptoren antagonistisch wirksam und fördert durch die Schwächung des Glutamat-Systems die glutamaterg-dopaminerge Dysbalance {Eggers 2015; Cadinu et al. 2017; Erhardt et al. 2017}. Des Weiteren ist die Kynureninsäure ebenfalls antagonistisch wirksam an Alpha-7-nikotinischen Acetylcholin ($\alpha 7nACh$) -Rezeptoren. Zahlreiche Untersuchungen der letzten Jahre belegten die Bedeutung einer funktionierenden Signalübertragung über $\alpha 7nACh$ -Rezeptoren für die kognitiven Funktionen {Albuquerque & Schwarcz 2013}.

Unterstützung erhält die Kynureninsäure-Hypothese durch die Ergebnisse aus Tierversuchen. Dabei zeigte sich, dass pharmakologisch erhöhte zerebrale Kynureninsäure-Spiegel klinische Symptome einer Schizophrenie verursachen, wie zum Beispiel Störungen des Lernvermögens und der Merkfähigkeit, sowie eine Verminderung der Präpulsinhibition {Linderholm 2012; Plitman et al. 2017}.

Nach der Entdeckung von Kynureninsäure im Hirngewebe wurde über dessen physiologische Rolle diskutiert, insbesondere auch deswegen, weil die gemessenen Konzentrationen im Hirngewebe oder in der Cerebrospinalflüssigkeit zu niedrig sind, um die NMDA- und $\alpha 7nACh$ -Rezeptoren zu inhibieren. Dennoch zeigten Tierversuche, dass die Kynureninsäure einen modulierenden Einfluss auf die neuronale Signalübertragung ausübt. Begründet wird diese

Diskrepanz mit der räumlichen Nähe der Kynureninsäure-produzierenden (und -freisetzenden) Astrozyten zu den relevanten Synapsen {Linderholm et al. 2012}.

In verschiedenen Studien konnte nachgewiesen werden, dass pharmakologisch erhöhte Kynureninsäurespiegel die Dopaminausschüttung im Mittelhirn erhöhen, wohingegen eine Verminderung des Kynureninsäurespiegels die Aktivität der betroffenen Neurone dämpft. Zudem konnte auch der Einfluss pharmakologisch veränderter Kynureninsäurespiegel auf die dopaminerge, cholinerge und glutamaterge Ausschüttung, sowie auf die Wirksamkeit verschiedener Stoffe wie Amphetamin, Clozapin oder Nikotin belegt werden {Linderholm et al. 2012; Plitman et al. 2017}.

Neben der Schizophrenie konnten veränderte Kynureninsäurespiegel auch bei anderen neuropsychiatrischen Erkrankungen wie affektiver Psychose, Morbus Huntington, Morbus Alzheimer, HIV-assoziiertes Demenz, sowie bei Clusterkopfschmerzen und chronischer Migräne nachgewiesen werden {Linderholm et al. 2012; Wirthgen et al. 2017}.

In jüngerer Zeit wurde auch die Rolle der Kynureninsäure auf immunregulatorische und entzündliche Prozesse immer offensichtlicher, insbesondere vermittelt durch die gezielte Beeinflussung der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren 35 (GPR35)- oder durch Aryl-Kohlenwasserstoff-Rezeptor (AhR)-assoziierte Signalwege {Wirthgen et al. 2017}.

1.4.2 Kynurenin-Stoffwechsel

Kynureninsäure wurde erstmalig im Jahre 1853 im Urin von Hunden entdeckt. Ein halbes Jahrhundert später erkannte man, dass es sich dabei um ein Nebenprodukt des Tryptophan-Stoffwechsels handelt. Tryptophan zählt zu den essentiellen Aminosäuren, die vom Menschen über die Nahrung aufgenommen werden müssen {Erhardt et al. 2009; Hoffer 2016}.

Neben seiner Funktion als Baustein in der Proteinbiosynthese wird Tryptophan zu einem kleineren Teil in Serotonin und darüber hinaus zu Melatonin umgewandelt. Der wesentlich größere Anteil des aufgenommenen Tryptophans, etwa 95%, wird im Rahmen des Kynurenin-Stoffwechsels über verschiedene Zwischenprodukte zu Nikotinamidadenindinukleotid (NAD⁺) transformiert.

Dabei wird im ersten Schritt Tryptophan durch Indolamin 2,3-Dioxygenase 1 (IDO1), IDO2 oder Tryptophan 2,3-Dioxygenase (TDO2) zu N-Formylkynurenin oxidiert. Durch die Kynureninformamidase erfolgt daraus eine rasche und nahezu vollständige Umwandlung zu L-Kynurenin, der Schlüsselkomponente des Kynureninstoffwechsels, von welchem schließlich drei mögliche Stoffwechselwege abzweigen (siehe Abbildung 2).

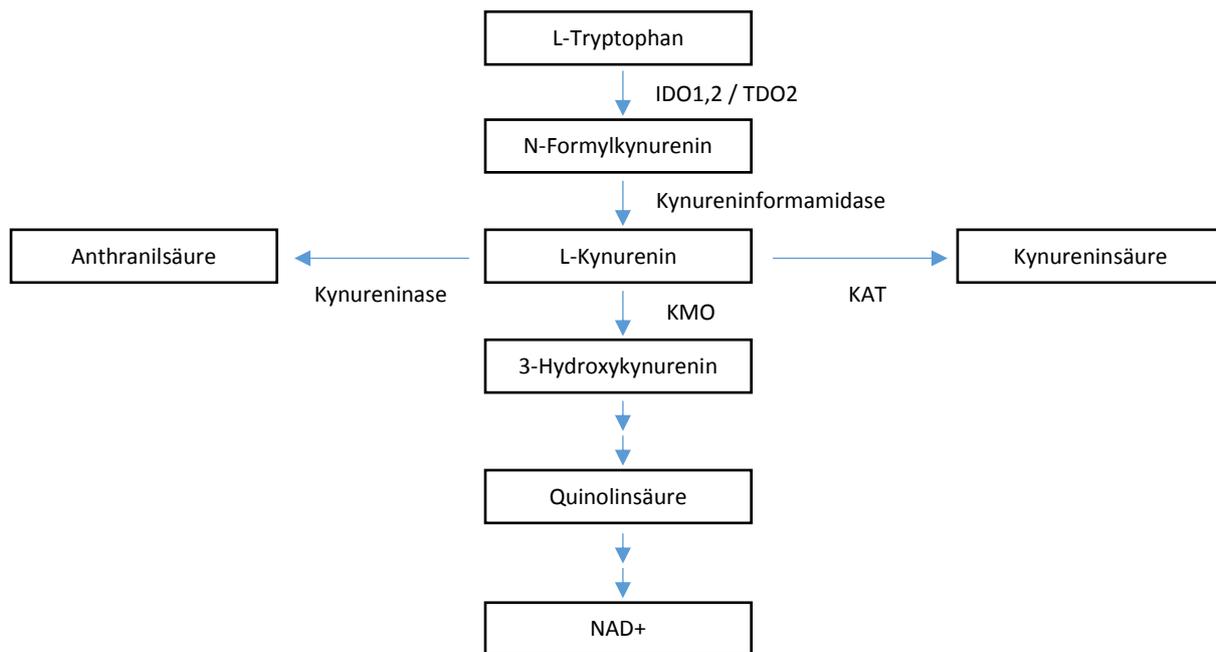


Abbildung 2: Vereinfachte Darstellung des Kynureninstoffwechsels. IDO1,2 - Indolamin 2,3-Dioxygenase 1/2; TDO2 - Tryptophan 2,3-Dioxygenase; KMO - Kynurenin 3-monooxygenase; KAT - Kynurenin-Aminotransferase; NAD+ - Nikotinamidadenindinukleotid

Im Hauptstoffwechselweg wird Kynurenin zunächst über die Kynurenin 3-monooxygenase (KMO) zu 3-Hydroxykynurenin und über weitere Reaktionschritte zu Quinolinsäure und schließlich zu NAD+ abgebaut.

Ein alternativer Stoffwechselweg liegt in der direkten Umwandlung von Kynurenin zu Anthranilsäure durch die Kynureninase vor.

Die Bildung der Kynureninsäure stellt schließlich den dritten möglichen Ast des Kynureninstoffwechsels dar. Dabei erfolgt in nur einem Reaktionsschritt die irreversible Transaminierung des Kynurenins unter Beihilfe einer Kynurenin-Aminotransferase (KAT). Das dabei entstehende Zwischenprodukt ist chemisch instabil und bildet umgehend durch

intramolekulare Ringbildung und H₂O- Abspaltung die Kynureninsäure {Erhardt et al. 2009; Han et al. 2010; Kegel et al. 2014; Badawy 2017}.

Verschiedene Studien deuten darauf hin, dass der Kynureninstoffwechsel bei Schizophreniepatienten aufgrund entzündlicher Prozesse gestört ist {Müller et al. 2015}. So wurden in der Cerebrospinalflüssigkeit von Schizophreniepatienten unter anderem erhöhte Konzentrationen der Interleukine IL-1 β , IL-6 und IL-8 vorgefunden {Wang & Miller 2018}. Zudem konnte gezeigt werden, dass insbesondereIDO und TDO durch Interleukine aktiviert werden, und dies in der Folge zu höheren Quinolin- und Kynureninsäurespiegeln führt {Kegel et al. 2014}. Daneben können auch genetische Ursachen, wie zum Beispiel Polymorphismen im KMO-Gen, den Kynureninstoffwechsel beeinträchtigen {Holtze et al. 2012}.

1.4.3 Die Familie der Kynurenin-Aminotransferasen im Hirngewebe

Da Kynureninsäure nur sehr schlecht die Blut-Hirnschranke überwinden kann, ist anzunehmen, dass die im Gehirn vorkommende Kynureninsäure dort auch produziert wurde {Albuquerque & Schwarcz 2013}. Im Gehirn von Nagetieren und Menschen wurden insgesamt vier unterschiedliche Proteine entdeckt, die an der Bildung von Kynureninsäure durch Transaminierung von Kynurenin beteiligt sind.

Tabelle 2: Übersicht der Synonyme aller vier Kynurenin-Aminotransferasen

| KAT1-4 | Synonyme |
|--------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| KAT1 | Glutamin-Transaminase K (GTK); Cystein-Konjugat-Beta-Lyase (CCBL) 1 |
| KAT2 | Aminoacidipat-Aminotransferase (AADAT) |
| KAT3 | Cystein-Konjugat-Beta-Lyase (CCBL) 2 |
| KAT4 | Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) 2; Mitochondriale Aspartat-Aminotransferase (ASAT) |

Alle vier Proteine zählen zu den Pyridoxal 5 – phospat (PLP) abhängigen Enzymen und wurden als KAT 1, KAT 2, KAT 3 und KAT 4 bezeichnet. Eine Übersicht der vier Kynurenien-Aminotransferasen und ihrer jeweiligen Synonyme zeigt Tabelle 2 {Han et al. 2010}.

1.4.4 Kynurenin-Aminotransferase 2/AADAT

Von den vier Kynurenin-Aminotransferasen ist zum überwiegenden Teil die KAT2 für die Bildung von Kynureninsäure im Gehirn verantwortlich {Song et al. 2018}. Das Protein wurde erstmals im Jahre 1969 in der Rattenleber entdeckt und wurde entsprechend seiner enzymatischen Funktion, der Transaminierung von Aminoacidipat zu Alpha-Oxoacidipat, als Aminoacidipat-Aminotransferase (AADAT) bezeichnet. Einige Jahre später wurde entdeckt, dass es sich bei der KAT2 und der AADAT um das identische Enzym handelt {Han et al. 2008 a}.

Aminoacidipat entsteht als Stoffwechselprodukt im Lysinabbau und findet sich naturgemäß unter anderem auch im Hirngewebe von Säugern {Hallen et al. 2013}. In verschiedenen Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass Aminoacidipat einen toxischen Effekt auf Astrozyten und andere verwandte Gliazellen ausübt. Die Rolle bei der Neutralisation des toxischen Aminoacidipats könnte somit das spezifische Auftreten des Enzyms in den Astrozyten erklären {Han et al. 2008 a; Lima et al. 2014}.

Aminoacidipat beeinflusst des Weiteren verschiedene Ebenen der glutamatergen Neurotransmission. So hemmen hohe Spiegel der Substanz den Glutamattransport, blockieren die Glutamin-Synthetase, verhindern die Aufnahme von Glutamat in die synaptischen Vesikel und wirken als Agonisten an NMDA-Rezeptoren. Bei verschiedenen neurologischen und anderen Erkrankungen fanden sich zudem erhöhte Werte von Aminoacidipat im Serum oder im Urin der Betroffenen {Han et al. 2008 a}.

Bei Untersuchungen mit KAT2-Knockout-Mäusen konnte eine deutliche Verringerung der Kynureninsäure-Konzentration im Hirngewebe und damit im Einklang stehende Veränderungen des Phänotyps nachgewiesen werden {Han et al. 2008 a}.

Erst kürzlich konnte eine hemmende Wirkung von Östrogen und Östrogenderivaten auf die KAT2 nachgewiesen werden. Insbesondere Estradioldisulfat zeigte eine starke inhibitorische Wirkung auf das Enzym. Die Autoren halten es für möglich, dass der Östrogenspiegel das Gleichgewicht der Kynurensäure im Gehirn beeinflusst. Besonders interessant erscheint dies, da sich hierin ein möglicher Erklärungsansatz für die vermutete Schutzwirkung des Östrogens vor der Schizophrenieerkrankung zeigt {Jayawickrama et al. 2017}.

1.4.5 Substratspezifität der humanen AADAT/KAT2

Das Enzym AADAT/KAT2 zeigt eine breite Substratspezifität. Von 24 untersuchten Aminosäuren konnte bei 20 Aminosäuren eine Transaminierung durch die humane AADAT/KAT2 erfolgen. Kinetische Untersuchungen zeigten eine besondere Effizienz für Aminoacidat, Kynurenin, Methionin und Glutamat. Von 16 untersuchten α -Ketosäuren konnten ausnahmslos alle vom Enzym als Aminogruppen-Akzeptor verwendet werden. Eine besonders hohe Effizienz lag hierbei für α -Ketoglutarat, α -Ketocaprinsäure und Phenylpyruvat vor {Han et al. 2008 a}.

Die maximale Aktivität zeigt das Enzym bei einer Temperatur von ca. 50° C und einem pH-Wert von 7-9 {Han et al. 2008 a}.

1.4.6 Kristallstruktur der humanen AADAT/KAT 2

Der humane AADAT/KAT2 - Enzym Komplex ist als Homodimer katalytisch wirksam und zählt zu den PLP-abhängigen Aminotransferasen der Subgruppe I β und 1 γ . Das katalytische Zentrum befindet sich an der gemeinsamen Grenzfläche der beiden Monomere. PLP als Cofaktor ist durch eine „Schiff-Base“-Reaktion kovalent mit Lys263 verbunden. Die Monomere bestehen jeweils aus 425 Aminosäureresten und werden in eine große und kleine Domäne unterteilt. Insgesamt besteht die Struktur des Enzyms aus 37% α -Helix, 15% β -Faltblatt, 12% Turns, 35% Coils und 1% 3_{10} -Helix. Die große Domäne enthält sieben β -Faltblätter (b3-b9), die kleine Domäne, welche auch als C-terminaler Arm bezeichnet wird, drei β -Faltblätter (b10- b12) mit einer angrenzenden Helix {Nematollahi et al. 2016 a}. Eine Illustration des Monomers mit PLP als Cofaktor ist Abbildung 3 ersichtlich.

Im Unterschied zu anderen PLP-abhängigen Enzymen vom Faltungstyp 1 zeigt sich in den ersten 64 Bausteinen des N-terminalen Abschnittes eine zweisträngige β -Faltblattstruktur (b1, b2). Diese Konformation ist so einzigartig, dass nach der Erforschung ihrer kristallinen Struktur vorgeschlagen wurde, die humane AADAT/KAT2 als eigene Unterklasse der PLP-abhängigen Enzyme zu betrachten. Die hohe Substratbreite des Enzyms erklärt sich durch die ausgeprägte Kettenverschiebbarkeit der N-terminalen Fraktion, die eine nach Erfordernis des jeweiligen Liganden angepasste Änderung der Konformation ermöglicht. So wandert die N-terminale Fraktion bei Bindung eines kleinen Liganden an der Untereinheit nahe zum aktiven Zentrum

hin, bei Bindung eines größeren Liganden entfernt sie sich vom aktiven Zentrum. Andere Möglichkeiten zur Konformationsänderungen durch Rotation der Domänen, wie sie bei anderen Aminotransferasen vorkommen, zeigen sich bei der humanen AADAT/KAT2 nicht {Han et al. 2008 a; Han et al. 2008 b}.

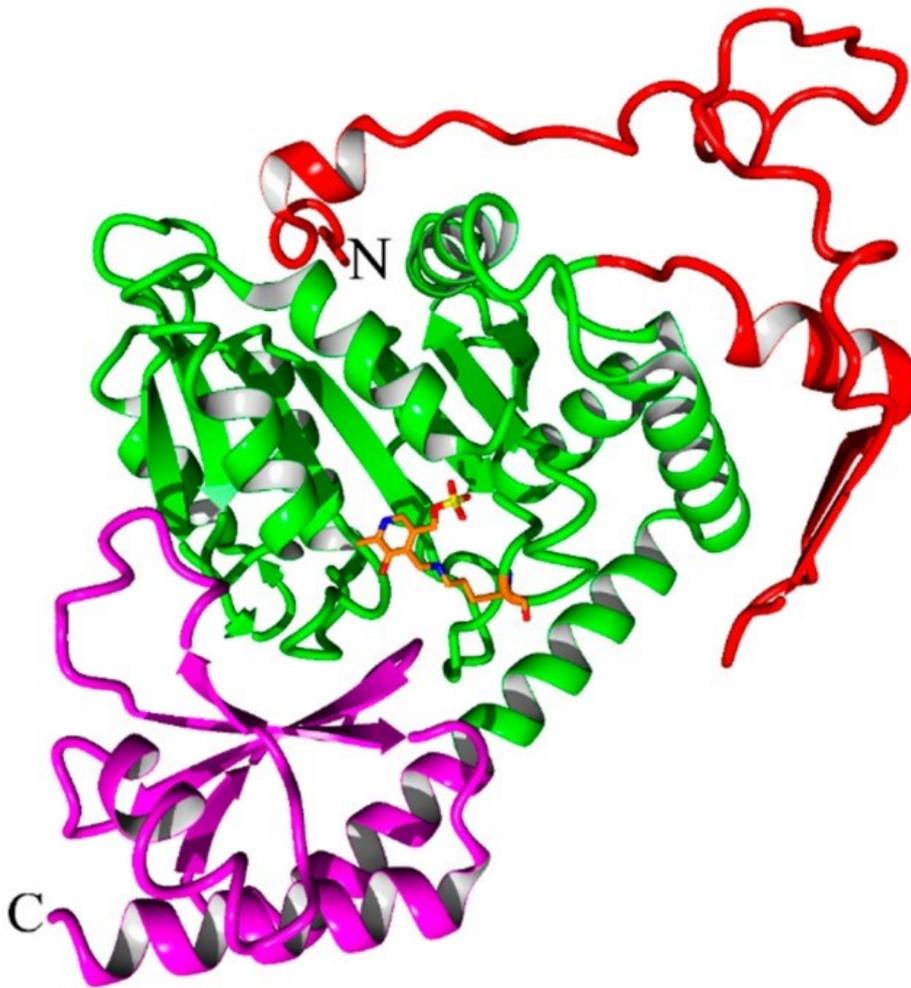


Abbildung 3: Schematische Darstellung der humanen AADAT/KAT2. Die sekundären Strukturelemente werden mit dem Cofaktor PLP dargestellt. Der N-terminale Arm ist rot dargestellt, die große Domäne grün, der C-terminale Arm magenta und LLP263 in orangefarbener Stabdarstellung. Die Termini sind mit N und C gekennzeichnet {Nematollahi et al. 2016 a}.

1.4.7 Das Gen der humanen AADAT/KAT2

Das Gen für die humane AADAT wurde auf Chromosom 4q33 lokalisiert und erstreckt sich über ca. 31kb. Insgesamt enthält die gesamte Struktur 18 Exons. Es werden 425 Aminosäuren codiert mit einem kalkulierten Molekulargewicht von 50,8 kDa und einem isoelektrischen Punkt bei 5,03 {Goh et al. 2002}.

Es wurden unterschiedliche Transkripte des Gens gefunden, die jeweils einer kürzeren oder einer längeren Isoform entsprechen. In verschiedenen Gewebetypen wurden die beiden Isoformen unterschiedlich häufig identifiziert. Die kürzere Isoform ist überrepräsentiert in der Leber, den Nieren und den Hoden, während im Herz, im Gehirn, im Pankreas und in der Prostata beide Isoformen ähnlich häufig vorzufinden sind. Insgesamt zeigte sich in der Leber die höchste Expression des Gens {Goh et al. 2002; The National Center for Biotechnology Information 2016}.

Bislang gibt es noch keine spezifischen Untersuchungen des Gens in Hinblick auf die Schizophrenie. Eine brasilianische Studie konnte allerdings eine Assoziation zwischen einem Einzelnukleotid-Polymorphismus im AADAT-Gen (AADAT +401C/T; rs1480544) und der individuellen Immunantwort bei bakterieller Meningitis nachweisen {de Souza et al. 2011}. Bei Folgeuntersuchungen derselben Forschungsgruppe konnten schließlich sogar erhöhte Kynureninsäurespiegel im Liquor mit dem AADAT +401C/T Einzelnukleotid-Polymorphismus assoziiert werden {Coutinho et al. 2014; Fontes et al. 2015}.

Bei der Untersuchung von chinesischen Familien mit an Autismus-Spektrum-Störung betroffenen Kindern wurde zudem erst kürzlich eine de novo Mutation im AADAT-Gen identifiziert {Li et al. 2018}.

1.4.8 Pharmakologische Hemmstoffe der Kynurenin-Aminotransferase 2

Angesichts des erhöhten Kynureninsäurespiegels bei an Schizophrenie erkrankten Personen und den beschriebenen Auswirkungen auf die unterschiedlichen Neurotransmittersysteme stellt die Entwicklung von Hemmstoffen der für die Kynureninsäuresynthese verantwortlichen Enzyme eine vielversprechende Möglichkeit für zukünftige Behandlungsstrategien dar {Jayawickrama et al. 2015; Jacobs et al. 2017}.

Als eine der ersten aussichtsreichen Hemmstoffe wurde hierfür S-ESBA erforscht. Bei Versuchen mit Ratten konnte nach Verabreichung der Substanz die KAT2 der Ratte selektiv gehemmt und die Kynureninsäurekonzentration im Rattenhirn vermindert werden {Pellicciari et al. 2006}. Bei vergleichenden in vitro Untersuchungen von Ratten KAT2 und humaner KAT2 zeigte sich jedoch ein wesentlich schwächerer Effekt der Substanz auf das humane Enzym, was

vermutlich auf strukturelle Unterschiede an den katalytischen Zentren zurückzuführen ist {Pellicciari et al. 2008}.

Für die etwas später identifizierte Substanz BFF-122 konnte ebenfalls eine selektive Hemmung der KAT2 bei Ratten nachgewiesen werden {Amori et al. 2009}. Bei diesem Wirkstoff konnte allerdings die stark inhibitorische Wirkung, anders als bei S-ESBA, auch bei rekombinater humaner KAT2 bestätigt werden {Rossi et al. 2010}.

Auf der Suche nach potenteren Wirkstoffen, die auch die Blut-Hirn Schranke überwinden könnten, stieß man im Hochdurchsatz-Screening auf PF-04859989. Die Substanz bindet an den PLP-Cofaktor und hemmt das Enzym irreversibel. In vivo Untersuchungen an Ratten belegten die Hirngängigkeit der Substanz und die Reduktion der cerebralen Kynureninsäurekonzentration um nahezu 50% innerhalb einer Stunde nach Verabreichung {Dounay et al. 2012}. In weiteren Tierversuchen konnte zudem die Wiederherstellung der zuvor durch erhöhte Kynureninsäurespiegel unterdrückten glutamatergen Signalübertragung {Koshy et al. 2014} sowie eine Verbesserung der kognitiven Funktionen anhand von verschiedenen Aufmerksamkeits- und Gedächtnisaufgaben nachgewiesen werden {Kozak et al. 2014}. Durch verschiedene chemische Modifikationen konnte die Wirksamkeit des Moleküls sowohl gesteigert als auch verringert werden {Dounay et al. 2013; Tuttle et al. 2013}.

Als erster oral verfügbarer Hemmstoff wurde schließlich BFF-816 entwickelt. Studien an Ratten belegten die hemmende Wirkung auf die KAT2 und zeigten eine Senkung der zerebralen Kynureninsäurespiegel um 30% nach Verabreichung einer Dosis von 30 mg/kg per os. Eine damit einhergehende Verbesserung des räumlichen und kontextuellen Gedächtnisses wurde dabei anhand des Morris-Wasserlabyrinth-Tests ermittelt {Wu et al. 2014}. Bei einer weiteren Untersuchung mit Ratten konnten nach der gleichzeitigen oralen Verabreichung von BFF-816 und der systemischen Injektion von Kynurenin eine erhöhte Kynureninsäureneosynthese und eine damit ansonsten einhergehende evozierte Glutamatfreisetzung im präfrontalen Kortex verhindert werden {Bortz et al. 2017}.

Im Jahr 2015 wurden von der Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation (Japan) eine Reihe von bi- und tricyclischen heterocyclischen Verbindungen zum Patent angemeldet, die ebenfalls Potential zur Behandlung von KAT2 assoziierten Erkrankungen bieten {Okuyama et al. 2015; Nematollahi et al. 2016 b; Jacobs et al. 2017}.

Klinische Studien am Menschen konnten für die bislang bekannten Substanzen noch nicht erfolgen, da sie aufgrund ihrer schlechten Bioverfügbarkeit, der Undurchlässigkeit gegenüber der Blut-Hirn-Schranke oder wegen schwerer Nebenwirkungen aufgrund der irreversiblen Bindung an den Cofaktor PLP nicht hinreichend geeignet erscheinen. Eine zum aktuellen Zeitpunkt vielversprechende Substanz ist der erst kürzlich entdeckte nicht kovalente Hemmstoff NS-1502. Bei Untersuchungen mit rekombinanter humaner KAT2 zeigte er eine 10-fach stärkere inhibitorische Potenz als S-ESBA. Weiterführende in vivo Studien stehen hierzu allerdings noch aus {Nematollahi et al. 2016 c}.

2 Fragestellung

In der Ätiopathogenese der Schizophrenie werden heute genetische Faktoren zu einem großen Teil für die Erkrankung verantwortlich gemacht. Vermutlich tragen mehrere Gene und vielfältige Polymorphismen mit jeweils unterschiedlichem Ausmaß dazu bei. Fall-Kontroll-Studien stellen ein anerkanntes molekularbiologisches Verfahren dar, um insbesondere Suszeptibilitätsorte mit eher geringem Effekt auf die Erkrankung aufzuspüren.

In der Cerebrospinalflüssigkeit von schizophrenen Patienten wurden erhöhte Werte von Kynureninsäure entdeckt. Kynureninsäure ist ein endogener Antagonist an NMDA- und α 7nACh-Rezeptoren. In klinischen Versuchen konnten nach pharmakologischer Erhöhung der zerebralen Kynureninsäurekonzentration typische Symptome einer Schizophrenie hervorgerufen werden. Die Bildung Kynureninsäure erfolgt im menschlichen Gehirn zum überwiegenden Teil durch die AADAT/KAT2.

Es stellt sich die Frage, ob ein Zusammenhang zwischen Variationen im AADAT codierenden Gen und der Erkrankung darstellbar ist. Hierzu wurden in der vorliegenden Arbeit acht Einzelnukleotid Polymorphismen auf dem AADAT-Gen (rs6553486, rs2466990, rs963660, rs2622068, rs17711677, rs716822, rs10213032 und rs2955256) bei 512 schizophrenen Patienten sowie 1319 gesunden Kontrollprobanden analysiert und hinsichtlich einer Assoziation zur Schizophrenie untersucht.

3 Material und Methoden

3.1 Vorbedingungen der Studie

Vor Beginn der Studie wurde die Genehmigung der lokalen Ethikkommission eingeholt. Alle Studienteilnehmer wurden vor der Teilnahme in einem Gespräch über den Inhalt, den Ablauf und das Ziel der Studie aufgeklärt, insbesondere auch über die Anonymisierung der Daten und der Blutproben. Sie wurden darauf hingewiesen, dass sie jederzeit die Teilnahme an der Studie ohne Angabe von Gründen beenden können. Das Einverständnis der Studienteilnehmer wurde durch Unterschrift auf einem Aufklärungsbogen dokumentiert.

3.2 Akquirierung der Studienteilnehmer

3.2.1 Kontrollprobanden

Die Auswahl der Kontrollprobanden erfolgte durch ein mehrstufiges Rekrutierungsverfahren. Dafür wurde zu Beginn beim Einwohnermeldeamt die Ziehung einer Stichprobe aus der allgemeinen Bevölkerung Münchens beantragt.

Die dabei ermittelten Personen erhielten auf dem Postweg ein Einladungsschreiben mit Informationen über den Zweck der Studie, den Ablauf und die Risiken im Falle einer Teilnahme.

Zeigten die Personen in ihrer Rückmeldung Interesse an einer Studienteilnahme, erfolgte ein standardisiertes Telefoninterview, bei dem die Eingangsvoraussetzungen für die Studie geprüft wurden.

Da in das Probandenkollektiv nur neuropsychiatrisch unauffällige Personen eingeschlossen werden sollten, waren die Voraussetzungen zur Teilnahme vor allem das Fehlen von psychiatrischen und neurologischen Beschwerden, einschließlich zurückliegender oder aktueller Substanzmissbrauch und Suizidalität beim Probanden und dessen biologischen Angehörigen. Des Weiteren sollten die Teilnehmer deutschstämmig sein.

Wurden bei diesem Telefonscreening keine Ausschlusskriterien ersichtlich, bekam der Proband für ausführlichere Angaben einen Anamnesebogen zugesandt. In diesem wurden allgemeine biographische Daten erhoben, unter anderem zu Nationalität und ethnischer Zugehörigkeit, zu Geburtskomplikationen, Kinderkrankheiten, Familienstand sowie zu Schullaufbahn und beruflichem Werdegang. Zudem wurde detailliert die psychiatrische und somatische Krankheitsgeschichte des Probanden und seiner biologischen Angehörigen ersten, zweiten und dritten Grades erfragt. Es interessierten vor allem das Vorkommen und die Behandlung neurologischer Beschwerden wie Epilepsie, Parkinson, Schlaganfall, Schädel-Hirn-Trauma, sowie affektiver Störungen, Angst und Zwangserkrankungen, Erkrankungen aus dem schizophrenen Formenkreis und psychosomatische Erkrankungen. Weiterhin wurde der Konsum von Alkohol, Tabak, Medikamenten und Drogen sowie das Auftreten von Suizidalität beim Probanden und dessen Familie erfragt.

Ergab sich bei der Auswertung des zurückgesandten Anamnesebogens weiterhin kein Grund zum Studienausschluss, wurde der Proband zu weiteren Untersuchungen in die Klinik eingeladen.

Bei diesem Besuch wurden mit Hilfe eines zweiten Anamnesebogens nochmals sehr detailliert die schulische und berufliche Laufbahn sowie Auffälligkeiten und Charaktereigenschaften im Kinder- und Jugendalter erfasst. Weiterhin wurden Fragen zu Partnerschaft und Familie behandelt und die derzeitige Lebenszufriedenheit ermittelt.

Es folgte die Durchführung des Strukturierten Klinischen Interviews für DSM-IV (SKID) {Wittchen et al. 1997}. Der erste Teil (SKID 1) dient der Diagnostik psychischer Syndrome und Störungen, die im Multiaxialen System des DSM-4 unter Achse 1 eingeordnet werden. Dazu zählen Affektive Störungen, Psychotische Störungen, Störungen durch Psychotrope Substanzen, Angststörungen, Somatoforme Störungen, Essstörungen und Anpassungsstörungen. Mit dem zweiten Teil (SKID 2) wurden die Teilnehmer auf die unter Achse 2 zu findenden Persönlichkeitsstörungen untersucht.

Das Family History Assessment Module {Rice et al. 1995} wurde angewendet, um das Vorkommen von psychiatrischen Erkrankungen bei Verwandten zu überprüfen.

Des Weiteren wurde als strukturiertes Interview das Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar {Richter & Guthke 1996} durchgeführt, um zurückliegende

Lebensereignisse und Belastungen, sowie deren Einfluss auf die persönlichen Lebensziele, zu erfassen.

Wenn sich auch nach diesen Tests keine Hinweise auf neurologische oder psychiatrische Erkrankungen beim Probanden und seiner Familie ergaben, konnte er in die Kontrollgruppe aufgenommen werden. Insgesamt wurden auf diese Weise 1319 Kontrollprobanden gewonnen.

3.2.2 Patienten

Für die Rekrutierung der Patientengruppe wurden Personen gesucht, bei denen zu einem früheren Zeitpunkt bereits eine Schizophrenie diagnostiziert wurde. Mittels klinikeigener Daten, sowie durch Vermittlung kooperierender Kliniken und Therapieeinrichtungen wurden die Patienten persönlich oder telefonisch kontaktiert und in einem Informationsgespräch über das Ziel und den organisatorischen Ablauf der Studie aufgeklärt. Zeigten sie Interesse an einer Teilnahme, wurden Einschluss- und Ausschlusskriterien überprüft. Auch hier wurde unter anderem die Abstammung des Patienten erfragt, da in das Patientenkollektiv nur Personen mit kaukasischer Herkunft eingeschlossen werden sollten. Zudem sollten sich die Patienten zum Zeitpunkt der Untersuchung in einem psychisch stabilen Zustand befinden. Sofern die Kriterien erfüllt waren, wurde ein Termin für das diagnostische Interview und die Blutabnahme vereinbart. In der Regel fanden die Untersuchungen in der Klinik statt, war dies aber für den Patienten nicht möglich, wurden auch Hausbesuche durchgeführt.

An dem darauf folgenden Termin wurden zu Beginn ebenfalls mittels der beiden Anamnesebögen verschiedene biografischen Daten, wie z. B. die familiäre Abstammung, die psychiatrische und somatische Krankengeschichte (einschließlich Häufigkeit und Dauer stationärer und ambulanter Behandlungen), zurückliegende Suizidversuche, sowie der Medikamenten-, Alkohol-, Tabak- und Drogenkonsum, erfasst. Es folgten Fragen zur Krankengeschichte der biologischen Verwandten ersten, zweiten und dritten Grades. Weiterhin interessierten insbesondere der schulische und berufliche Werdegang, Verhaltensauffälligkeiten und soziale Bindungen im Kinder- und Jugendalter, sowie belastende Lebensereignisse und bisherige Erfahrungen mit Partnerschaften und Familie.

Ferner wurden auch verschiedene Aspekte zur persönlichen Einschätzung der Lebenssituation erfragt.

Es schloss sich das Strukturierte Klinische Interview für DSM-IV (SKID) {Wittchen et al. 1997} an, um die Diagnose der Schizophrenie zu bestätigen und den entsprechenden Subtyp (paranoid, hebephren, kataton oder undifferenziert) zu bestimmen.

Das SKID ist in verschiedene Sektionen unterteilt, um systematisch das gesamte Spektrum psychiatrischer Erkrankungen zu diagnostizieren. Sektion A behandelt Affektive Syndrome, Sektion B Psychotische Symptome, Sektion C Differentialdiagnosen psychotischer Störungen, Sektion D Differentialdiagnosen affektiver Störungen, Sektion E Missbrauch und Abhängigkeit von psychotropen Substanzen, Sektion F Angststörungen, Sektion G Somatoforme Störungen, Sektion H Essstörungen, Sektion I Anpassungsstörungen und Sektion J Optionale Störungen.

Wie zuvor gezeigt, müssen nach den Kriterien des DSM-IV für eine Diagnose der Schizophrenie Symptome der Erkrankung seit mindestens sechs Monaten vorliegen.

Dabei müssen als Zeichen einer akuten Phase zumindest zwei der fünf krankheitstypischen Symptome (Wahn / Halluzinationen / desorganisierte Sprechweise / grob desorganisiertes oder katatones Verhalten / Negativsymptome wie Affektverflachung, Antriebshemmung, Alogie, Willensschwäche) für mindestens einen Monat bestehen.

Treten bei dem Patienten bizarre Wahnvorstellungen auf oder zeigen sich Halluzinationen in Form eines Dialogs oder kommentierender Stimmen, reicht dies als einzelnes Symptom für die Diagnose bereits aus. Die Prodromal- und Residualzeit kann durch das alleinige Existieren von Negativsymptomen oder einer lediglich sehr schwachen Positivsymptomatik geprägt sein. Weiterhin sollten beim Patienten soziale oder berufliche Leistungseinbußen im Vergleich zum früheren Niveau erkennbar sein.

Differentialdiagnostisch ausgeschlossen wurden substanzinduzierte (Drogen-, Alkohol- und Medikamentenmissbrauch) und körperliche Ursachen (z. B. Schädel-Hirn-Trauma, Autoimmun- und Stoffwechselstörungen), sowie schizophrenieverwandte Erkrankungsbilder (schizoaffektive Störungen, affektive Erkrankungen mit psychotischen Symptomen, schizophrenieforme Störungen, wahnhaftige Störungen, kurze psychotische Störungen, gemeinsame psychotische Störungen).

Weiterhin wurde mit Hilfe der Positive and Negative Syndroms Scale {Kay et al. 1987} die Schwere von verschiedenen Symptomen der Schizophrenie zum aktuellen Zeitpunkt, sowie zum Zeitpunkt der schwersten Beeinträchtigung ermittelt.

Tabelle 3: Items der PANSS {Mass 2010}

| | |
|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| P Positive Symptome | P1 Wahn P2 Formale Denkstörungen P3 Halluzinationen P4 Erregung P5 Größenwahn P6 Misstrauen/Verfolgungswahn P7 Feindseligkeit |
| N Negative Symptome | N1 Affektverflachung N2 Emotionale Isolation N3 Mangelnde Beziehungsfähigkeit N4 Passiv-apathische soziale Isolation N5 Erschwertes abstraktes Denkvermögen N6 Mangelnde Spontanität und Sprachflüssigkeit N7 Stereotypes Denken |
| G Globale Symptome | G1 Leibliche Befindlichkeitsstörungen G2 Angst G3 Schuldgefühle G4 Gespanntheit G5 Manieriertheit und Posieren G6 Depression G7 Verlangsamte Motorik G8 Unkooperativität G9 Ungewöhnliche Denkinhalte G10 Desorientiertheit G11 Aufmerksamkeitschwäche G12 Mangelnde Urteils- und Einsichtsfähigkeit G13 Störung der Willensbildung G14 Mangelnde Impulskontrolle G15 Selbstbezogenheit G16 Aktive soziale Meidung |

Dabei wurden im Rahmen eines Interviews verschiedene Merkmale betrachtet, von denen sich jeweils sieben auf Positiv- und Negativsymptome bezogen und weitere 16 Merkmale auf die allgemeine Psychopathologie (siehe Tabelle 3). Entsprechend der Schwere der vorhandenen Symptomatik wurden sie jeweils mit einem Punktwert zwischen 1 bis 7 versehen, wodurch sich eine Summe zwischen 30 und 210 ergeben konnte {Mass 2010}.

Aufgenommen in die Studie wurden nur Patienten, bei denen entsprechend der diagnostischen Kriterien eine Schizophrenie vorlag und deren Symptomatik nicht durch andere Ursachen erklärt werden konnten. Patienten, die intravenös Drogen konsumierten oder bei denen eine Hepatitis- oder HIV-Infektion vorlag, wurden ebenfalls nicht in die Studie einbezogen. Für eine komplette Liste der Ausschlusskriterien siehe untenstehende Tabelle 4.

Tabelle 4: Liste der Ausschlusskriterien im Patientenkollektiv

| | |
|---------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Neurologische Ausschlusskriterien | Polio (vor prodromal) FSME Meningitis (vor prodromal) Enzephalitis/Enzephalopathie Neuroborreliose ALS Chorea Huntington Apoplex (vor prodromal) Multiple Sklerose Muskeldystrophie Restless-Legs-Syndrom Fibromyalgie |
| Infektiöse Ausschlusskriterien | Lues Toxoplasmose Morbus Creutzfeldt-Jakob HIV floride Hepatitis B Hepatitis C i.v. Drogenkonsum (>1x) |
| Neurochirurgische Ausschlusskriterien | schweres Schädel-Hirn-Trauma (vor prodromal) Z.n. Gehirntumor |
| Internistische Ausschlusskriterien | Leberzirrhose |

Insgesamt konnten für die Studie 512 Patienten gewonnen werden. Für eine weitergehende und detailliertere Untersuchung des Patientenkollektives wurden aus der Gesamtgruppe der Patienten noch die Untergruppen Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Erstgradangehörigen, Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen und Patienten mit psychiatrisch erkrankten Angehörigen gebildet.

3.3 Laborverfahren

Während oder nach den Interviews erfolgte bei den Studienteilnehmern die Abnahme von 7 ml venösem Blut in EDTA-Monovetten (Sarstedt, Nümbrecht). Diese waren codiert, um die Anonymität der Patienten und Kontrollprobanden zu gewährleisten. Nach dem Zentrifugieren des Vollblutes für 10 min bei 3000 rpm (Rotixa RP Standzentrifuge, Hettich, Tuttlingen), wurde das vom Blutplasma abgetrennte Blutsediment für die spätere Untersuchung eingefroren.

Die Extraktion der DNA, Messung der Konzentration und die Genotypisierung erfolgten nach etablierten standardisierten Verfahren im assoziierten Labor der Sektion für Molekulare und Klinische Neurobiologie.

3.3.1 DNA-Extraktion

Für die Extraktion der DNA wurde das QIAamp Blood Maxi Kit gemäß der Anleitung {Qiagen 2005} verwendet. Eine Übersicht der verwendeten Verbrauchsmaterialien, Reagenzien und Geräte bietet die Tabelle 5.

Tabelle 5: verwendete Verbrauchsmaterialien, Reagenzien und Geräte für die DNA-Extraktion

| | Bezeichnung | Hersteller | Verwendungszweck |
|-----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| Verbrauchsmaterialien | EDTA-Monovette | Sarstedt, Nümbrecht | Blutentnahme |
| | QIAamp Maxi Spin Column | Qiagen, Hilden | Bindung der DNA |
| | Mikroschraubröhrchen, 2,0 ml | Sarstedt, Nümbrecht | Lagerung der DNA |
| Reagenzien | 10x PBS-Puffer: 80g NaCl 2g KCl 14,4g Na ₂ HPO ₄ 2,4g KH ₂ PO ₄ Ad 1l mit Aqua dest. mit NaOH auf pH 7,4 | Reagenzien zur Eigenherstellung; Carl Roth, Karlsruhe | Herstellung des 1x PBS-Puffer |
| | 1x PBS-Puffer: 100ml 10xPBS-Puffer 900ml Aqua dest. | Eigene Herstellung | Resuspendierung des Blutsediments |
| | Protease | Qiagen, Hilden | Abbau der Zellproteine und Freisetzung der DNA |
| | Puffer AL | Qiagen, Hilden | Entfernung der Hydrathülle der DNA |
| | Ethanol Rotipuran ≥99,8 % | Carl Roth, Karlsruhe | Ausfällung der DNA |
| | Puffer AW1 | Qiagen, Hilden | Entfernung von Verunreinigungen |
| | Puffer AW2 | Qiagen, Hilden | Entfernung von Verunreinigungen |
| | Puffer AE | Qiagen, Hilden | Elution der DANN |
| Geräte | Rotixa RP Standzentrifuge | Hettich, Tuttlingen | Alle Zentrifugationschritte |
| | Vortex Genie | Scientific Industries, New York, USA | Durchmischung der Blut- Puffer-Suspensionen |
| | WB Wasserbad | Memmert, Schwabhausen | Inkubation der Blut-Puffer- Suspensionen |

1. Zelllyse und DNA-Freisetzung

Für die weitere Verarbeitung wurde zunächst das Blutsediment bei Zimmertemperatur wieder aufgetaut und mit 1x PBS-Puffer auf ein Volumen von 10ml eingestellt. Durch Zugabe von 500 µl Protease erfolgte die Lyse der Leukozyten, die Zugabe von 12 ml des Guanidin – HCL haltigen Puffers AL diente der Denaturierung der Proteine. Zur Vervollständigung der Zelllyse wurde die Lösung für eine Minute in einem Vortexgerät durchmischt und danach bei gleichmäßigem Schwenken für 30 Minuten in einem 70 °C warmen Wasserbad inkubiert. Zur Ausfällung der

DNA wurden dieser Lösung anschließend 10 ml Ethanol hinzugefügt und eine Durchmischung für 2 Minuten mit dem Vortexgerät durchgeführt.

2. Bindung der DNA an die Silikagelmembran

Im Anschluss wurde die Lösung auf eine QIAamp Maxi Spin Column pipettiert und diese für drei Minuten bei 3000 rpm zentrifugiert. Dabei verband sich die DNA mit der Silikagelmembran, während andere gelöste Bestandteile, wie Proteine und RNA, im Eluat verblieben und abgegossen werden konnten.

3. Auswaschung des Puffers

Noch übrig gebliebene Verunreinigungen der DNA wurden ausgewaschen durch Zugabe von 5 ml Guanidin – HCL haltigen Puffer AW1 und anschließendem Zentrifugieren mit 4000 rpm für 2 Minuten. Die restlichen Guanidiumsätze wurden durch die Zugabe von 5 ml des ethanolhaltigen, salzarmen Puffers AW2 und anschließendem Zentrifugieren mit 4000 rpm für 15 Minuten entfernt.

4. Elution der DNA von der Silikagelmembran

Um die zuvor bei saurer Umgebung an die Silikamembran gebundene DNA wieder zu eluieren, wurden zweimal 0,75 ml des basischen Puffers AE aufgetragen und jeweils nach einer fünfminütigen Inkubationszeit bei 5000 rpm für fünf Minuten zentrifugiert. Die dabei erhaltene DNA-Lösung wurde für die spätere Genotypisierung in 2 ml Mikroschraubröhrchen abgefüllt und tiefgefroren gelagert.

3.3.2 Bestimmung und Einstellung der DNA-Konzentration

Im nächsten Schritt wurde die Konzentration der vorliegenden DNA unter Verwendung der PicoGreen Methode bestimmt. Dabei wurde genutzt, dass der PicoGreen Farbstoff hochselektiv mit Doppelstrang-DNA interagiert und die dabei messbaren Fluoreszenzeigenschaften unter zur Hilfenahme einer Eichkurve Rückschlüsse auf die DNA-Konzentration in einer Probenlösung ermöglichen. Eine Übersicht der benötigten Verbrauchsmaterialien, Reagenzien und Geräte zeigt die Tabelle 6.

Tabelle 6: verwendete Verbrauchsmaterialien, Reagenzien und Geräte/Software für die Bestimmung und Einstellung der DNA-Konzentration

| | Bezeichnung | Hersteller | Verwendungszweck |
|-----------------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| Verbrauchsmaterialien | Thermo Fast 96 well Plate | ABgene, Hamburg | Vorverdünnung der Proben-DNA, Standardverdünnungsreihe |
| | 20, 200 und 1000 µl Conductive Roborack Tips | PerkinElmer, Inc., Waltham (Massachusetts), USA | Pipettierung der DNA und der Reagenzien |
| | 96 Well Flat Bottom Plate Black | Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen | Vorlageplatte für Standard- und Proben DNA |
| | Mikroschraubröhrchen, 2,0 ml | Sarstedt, Nümbrecht | Lagerung der DNA |
| Reagenzien | Human genomic DNA 100 ng/µl (DNA-Standard) | Clontech, Mountain View, USA | Erstellung der Standardverdünnungsreihe |
| | Quant iT PicoGreen dsDNA reagent | Invitrogen GmbH, Karlsruhe | Fluoreszenzmessung der DNA |
| Geräte/Software | Janus Automated Workstation | PerkinElmer, Inc., Waltham (Massachusetts), USA | Durchführung aller Pipettierschritte |
| | WinPREP | PerkinElmer, Inc., Waltham (Massachusetts), USA | Software zur Steuerung der Janus Automated Workstation |
| | Victor 3 Multilabel Counter 1420 | PerkinElmer, Inc., Waltham (Massachusetts), USA | Fluoreszenzmessung der DNA |
| | Wallace 1420 Workstation | PerkinElmer, Inc., Waltham (Massachusetts), USA | Software zur Steuerung des Victor 3 Multilabel Counters |
| | Computer Optiplex GX620 Pentium 4 HT | Dell | Berechnung der Mittelwerte aus den Ergebnissen der Fluoreszenzmessung |

1. Verdünnung der Standard-DNA

Zur Herstellung einer Eichkurve wurde auf einer 96-well Mikrotiterplatte mit standardisierter humaner DNA und destilliertem Wasser eine 1:2 Verdünnungsreihe durchgeführt, ausgehend von 100 ng/µl genomischer DNA in A1 bis 1,5262 ng/µl in G1. H1 blieb für Referenzzwecke frei von DNA. Damit die Verdünnungsreihe zweifach vorlag, wiederholte man das Vorgehen nach der gleichen Methode beginnend mit 100 ng/µl Standard-DNA in A2 bis 0 ng/µl in H2. Eine Übersicht über die DNA- Konzentrationen in den jeweiligen Vertiefungen der Mikrotiterplatte bietet Tabelle 7.

Tabelle 7: DNA-Konzentrationen (in ng/ μ l) in den Verdünnungsreihen

| Reihen/Säulen | 1 | 2 |
|---------------|--------|--------|
| A | 100 | 100 |
| B | 50 | 50 |
| C | 25 | 25 |
| D | 12,5 | 12,5 |
| E | 6,25 | 6,25 |
| F | 3,125 | 3,125 |
| G | 1,5262 | 1,5262 |
| H | 0 | 0 |

2. Verdünnung der zu messenden DNA-Lösung

Im nächsten Schritt wurde die zu messende DNA-Lösung aus der Patienten- bzw. Probandenblutprobe mit Aqua bidest. im Verhältnis 1:10 verdünnt, da deren DNA-Konzentration ansonsten erwartungsgemäß oberhalb des Messbereiches des Fluoreszenzmessgerätes liegen würde. Dazu wurden mit dem Roboter auf einer 96-well Mikrotiterplatte jeweils 5 μ l der DNA-Lösung mit 45 μ l Aqua bidest. versetzt.

3. Präparierung der Messplatte

Im Anschluss wurde die Messplatte vorbereitet. Dazu wurde auf einer schwarzen 96-well Mikrotiterplatte in jede Vertiefung 50 μ l Aqua bidest. einpipettiert. Entsprechend der Anordnung der Standard-Verdünnungsreihe wurden jeweils 5 μ l der Standardverdünnungen auf die Vertiefungen A1 bis H1 sowie A2 bis H2 übertragen, sowie jeweils Duplikate mit 5 μ l der vorverdünnten Stamm-DNA-Lösungen auf die nachfolgenden Reihen. Es konnten maximal 40 Proben pro Platte parallel gemessen werden.

4. Vorbereitung der PicoGreen Reagenz und Messung der DNA-Konzentration

Unmittelbar vor der Messung der DNA-Konzentration wurde die PicoGreen Reagenz in einem Behälter unter Lichtausschluss aufgetaut und im Verhältnis 1:156 verdünnt. Jeweils 145 μ l davon wurden zu den vorgelegten Standard- bzw. Proben- DNA-Lösungen hinzugefügt. Dabei ergab sich durch das zuvor in jede Vertiefung zugesetzte Wasser eine weitere Verdünnung des PicoGreen im Verhältnis 1:200.

Ein Greifarm der Janus Automated Workstation versetzte die Messplatte im Anschluss in ein Fluoreszenzmessgerät. Darin wurde die Messplatte zunächst für 30 Sekunden horizontal in

Doppelellipsen geschüttelt, um eine möglichst hohe Homogenität der Lösungen in den Vertiefungen zu erreichen. Die Messung erfolgte, indem zunächst die PicoGreen Lösungen mit Licht der Wellenlänge von 485 nm angeregt wurden und daraufhin für 0,1 Sekunde pro Vertiefung die Emissionen bei einer Wellenlänge von 535 nm erfasst wurden. Die Messwerte wurden an einen Computer weitergeleitet, der die Mittelwerte aus den jeweils doppelt vorliegenden Standard- und Probenlösungen berechnete.

5. Konzentrationseinstellung der DNA-Lösung

Nachdem mit Hilfe der Standard-Verdünnungsreihe die unbekannte DNA-Konzentration in den Proben ermittelt werden konnte, wurde diese vollautomatisch von der Janus Automated Workstation auf eine Konzentration von 50 ng/μl bei einem Endvolumen von 500 μl eingestellt. Im Anschluss wurden die Lösungen bei -80 °C tiefgefroren und vor der weiteren Verarbeitung bei 4 °C wieder aufgetaut.

3.3.3 Genotypisierung

Die Genotypisierung erfolgte in drei Schritten. Beginnend mit einer konventionellen Polymerase-Kettenreaktion folgten die IPLEX-Reaktion, ein Verfahren zur Einzelbasenextension, und eine anschließende massenspektrometrische Analyse, das MALDI-TOF (Matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight) Verfahren.

1. Die Polymerase-Kettenreaktion

Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) diente der mehrfachen Reproduktion der den SNP flankierenden DNA-Abschnitte. Tabelle 8 zeigt die hierfür benötigten Verbrauchsmaterialien, Reagenzien und Geräte. Die verwendeten Primer (Primer 1 + 2) sowie die Extensionsprimer aus der nachfolgenden iPlex-Reaktion sind in Tabelle 9 ersichtlich.

Zunächst wurden die vorliegenden DNA-Lösungen von 50 ng/μl auf 5 ng/μl verdünnt, indem der Pipettierroboter in jede Vertiefung einer 96 Mikrotiterplatte jeweils 90 μl destilliertes und steril filtriertes Wasser, sowie 10 μl der DNA-Lösung vorlegte und durch mehrmaliges Aufziehen der Pipette durchmischte.

Tabelle 8: verwendete Verbrauchsmaterialien, Reagenzien und Geräte für die Polymerase-Kettenreaktion

| | Bezeichnung | Hersteller | Verwendungszweck |
|-----------------------|-------------------------------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| Verbrauchsmaterialien | Thermo Fast 96 well Plate | ABgene, Hamburg | Vorbereitung des Mastermix |
| | Thermo Fast 384 well Plate | ABgene, Hamburg | PCR-Reaktion |
| | Easy Peel Heat Sealing Foil | ABgene, Hamburg | Verschluss der 96- und 384- well Platten |
| | Eppendorf Research Pipetten | Eppendorf, Hamburg | Pipettierung der Reagenzien |
| | e.T.I.P.S Pipettenspitzen (0,5-20 µl; 2-200 µl; 50-1000 µl) | Eppendorf, Hamburg | Pipettierung der Reagenzien |
| | Mikrotestplatte 96 K | Sarstedt, Nümbrecht | Pipettierung des PCR Mastermix |
| | Pipettierwanne für Mehrkanalpipetten | Ratiolab, Dreieich | Pipettierung des PCR Mastermix |
| | Spritzen 50 ml | Qualilab, Olivet, Frankreich | Wasserfiltration |
| | Spritzenvorsatzfilter 0,22 µl | Qualilab, Olivet, Frankreich | Wasserfiltration |
| Reagenzien | 1,850 µl Aqua bidest (Purelab ultra) | ELGA LabWater, Celle | Erstellung des Mastermixes (Volumen für je 1 Reaktion) |
| | 0,625 µl PCR Puffer mit MgCl ₂ | Qiagen, Hilden | Erstellung des Mastermixes (Volumen für je 1 Reaktion) |
| | 0,325 µl MgCl ₂ (25 mM) | Qiagen, Hilden | Erstellung des Mastermixes (Volumen für je 1 Reaktion) |
| | 0,100 µl dNTP Mix (25 mM) | ABgene, Hamburg | Erstellung des Mastermixes (Volumen für je 1 Reaktion) |
| | 1,000 µl Primer Mix (jeweils 500 nM) | Qiagen, Hilden | Erstellung des Mastermixes (Volumen für je 1 Reaktion) |
| | 0,100 µl HotStar Taq DNA Polymerase (5 U / µl) | Qiagen, Hilden | Erstellung des Mastermixes (Volumen für je 1 Reaktion) |
| | 1,000 µl Genomische DNA (5-10 ng / µl) | Eigene Herstellung | Reproduzierende DNA |
| | Danklorix | Colgate-Palmolive, Hamburg | Verhinderung von DNA-Kontaminationen |
| Geräte | Purelab ultra | ELGA LabWater, Celle | Reinstwasseranlage |
| | Microlab 4000 | Hamilton, USA | Pipettierroboter |
| | Centrifuge 5810R | Eppendorf, Hamburg | Zentrifugation der 96- und 384-well Platten |
| | GeneAmp PCR System 9700 | Applied Biosystems, Forster City, USA | Thermocycler |
| | ALPS-300 Microplate Sealer | ABgene, Hamburg | Verschluss der 96- und 384- well Platten |

Im nächsten Schritt wurde der Mastermix erstellt. Hierzu wurden die benötigten Reagenzien (siehe Tabelle 8) in einem Röhrchen vorgelegt und durchmischt. Direkt nach der Zugabe der Taq-Polymerase, wurden jeweils 3 µl des Mastermixes und 2,5 µl der DNA-Lösung mit dem Pipettierroboter in die Vertiefungen einer 384 Mikrotiterplatte übertragen. Dabei erfolgte nach jedem Pipettierschritt die Spülung der DNA exponierten Teile des Roboters mit Natriumhypochlorit-Lösung (DanKlorix), um Kontaminationen mit Fremd-DNA zu vermeiden. Danach wurde die 384 Mikrotiterplatte zentrifugiert, mit Heat Sealing Folie überzogen und für die anschließende Polymerase-Kettenreaktion in den Thermocycler gesetzt.

Durch Erhöhung der Temperatur auf 95 °C für 5 min erfolgte zu Beginn die initiale Denaturierung der DNA, bei der die Einzelstränge der DNA durch das Aufbrechen der Wasserstoffbrückenbindungen getrennt wurden. In den nachfolgenden Zyklen reichte es für die Denaturierung aus, die Proben lediglich für 20 Sekunden auf 95 °C zu erwärmen.

Im nächsten Schritt wurde die Temperatur auf 56 °C heruntergekühlt und für 30 Sekunden gehalten, wodurch die spezifische Anlagerung der Primer an die komplementären DNA-Abschnitte (Primer Annealing) ermöglicht wurde. Nach einer Temperaturerhöhung auf 72 °C, der optimalen Arbeitstemperatur der Taq-Polymerase, folgte die Elongation der DNA Stränge mit freien Nukleotiden (dNTPs) für eine Minute. Um eine ausreichende Menge an amplifizierter DNA für die weitere Verarbeitung zu erhalten, wurden insgesamt 45 Zyklen aus Denaturierung, Primer Annealing und Elongation benötigt. Im letzten Zyklus erfolgte zum Abschluss bei 72 °C eine finale drei-minütige Extension.

2. Behandlung mit Shrimp Alkaline Phosphatase

Zum Abschluss der Polymerase-Kettenreaktion wurden unter Verwendung des Enzyms Shrimp Alkaline Phosphatase (SAP) die nicht verbrauchten Nukleotide dephosphoryliert, da diese ansonsten die späteren Ergebnisse der Massenspektrometrie verfälscht hätten. Dazu wurden mit dem Pipettierroboter in jede Vertiefung ein SAP-Mix, zusammengesetzt aus 1,53 µl Wasser, 0,17 µl SAP-Puffer 10x und 0,3 µl Shrimp Alkaline Phosphatase Enzym mit einer Aktivität von 1,7 U/µl (Sequenom Inc., San Diego, USA), eingefügt. Die Proben wurden im Anschluss für 40 Minuten bei 37 °C inkubiert und schließlich zur Inaktivierung der SAP für fünf Minuten auf 85 °C erhitzt. Bis zur weiteren Verarbeitung wurden die Platten auf 4 °C herabgekühlt.

3. Die iPLEX- Reaktion

Es folgte die iPLEX-Reaktion, eine modifizierte PCR, bei der die Primer so entworfen werden, dass sie sich direkt neben dem zu analysierenden SNP anlagern. Anstatt Desoxyribonukleosidtriphosphate (dNTPs), wie bei der konventionellen Polymerase-Kettenreaktion, werden bei dieser Methode Didesoxyribonukleosidtriphosphate (ddNTPs) eingesetzt, bei welchen aufgrund der chemischen Struktur keine weitere Base angelagert

werden können. Somit erfolgt jeweils eine Elongation um nur ein einzelnes zum SNP komplementäres Nukleotid mit spezifischer Masse.

Zur Durchführung wurden zunächst alle benötigten Reagenzien vermengt und mit dem Pipettierroboter auf eine Mikrotiterplatte übertragen, sodass für die Reaktion in jeder Vertiefung 0,755 µl autoklaviertes Wasser, 0,2 µl iPLEX Puffer 10x, 0,2 µl iPLEX Termination-Mix, 0,8 µl Primer Mix im Verhältnis 7 µM : 14 µM und 0,041 µl iPLEX Enzyme (alle Reagenzien: Sequenom Inc., San Diego, USA) vorlagen. Danach wurde die Mikrotiterplatte für die iPLEX-Reaktion in den Thermocycler eingesetzt.

Tabelle 9: Eingesetzte Primer für die konventionelle PCR und das iPLEX-Verfahren

| SNP | Primer 1 | Primer 2 | Länge (bp) | Extensionsprimer |
|------------|------------------------------------|------------------------------------|------------|-------------------------------|
| rs2955256 | ACGTTGGATGGCCTGCGAGA AAACCAATAC | ACGTTGGATGCTGCGTTC AGAGACTTCAAG | 126 | GCTTAATAGCTGGGTGT |
| rs10213032 | ACGTTGGATGCCATTGACCCA TTTGGTCAT | ACGTTGGATGAAACCTTT CCCCAGACCTTC | 116 | gTCCCCAGACCTTCCTAAC C |
| rs716822 | ACGTTGGATGCCCCTGGCATT AGTTATTCC | ACGTTGGATGCAAAGT AGGACCACAGATG | 135 | ggTACATCTGTGGAGTTCC |
| rs17711677 | ACGTTGGATGCCAGGAAAA GTACATAGAC | ACGTTGGATGATTGGAG TTCCTGTAGCTC | 82 | ggaaCTGTAGCTCAGTCCTT AAA |
| rs2622068 | ACGTTGGATGGAGCTCACATG GTTCTAGAG | ACGTTGGATGTTGCAGG GTAGTTGCAACAG | 122 | TGTTTACTGTTTGGCCC |
| rs963660 | ACGTTGGATGCTGGAAGGAA CATGCATCAC | ACGTTGGATGTTTCTTGC CCCGTTTACGTC | 106 | atggTCTTGCAGTGGGCA ACAAATT |
| rs2466990 | ACGTTGGATGGGGACACAGT CAGGTACATA | ACGTTGGATGAAGCTCCC CAGAAATCTTTG | 98 | TTGAAAAATAAGAGAAAT GTGC |
| rs6553486 | ACGTTGGATGGGTGCATAAG AGACAAGGTG | ACGTTGGATGATAGCTTT CCCAAGGTGGTG | 110 | aaAGGCAGTCTGTCTCTAG |

Beginnend mit der initialen Denaturierung bei einer Temperatur von 94 °C für 30 Sekunden, folgte darauf ein Reaktionszyklus mit 40 Wiederholungen aus Denaturierung bei 94 °C für 5 Sekunden und einer integrierten Reaktionsschleife mit jeweils fünf Wiederholungen, bestehend aus einer Annealingphase bei 52 °C für 5 Sekunden und einer Extensionphase bei 80 °C für ebenfalls 5 Sekunden. Für die finale Extension wurde zum Abschluss die Temperatur drei Minuten lang auf 72 °C eingestellt und die Proben danach wieder auf 4 °C herabgekühlt.

4. Entsalzung der iPLEX-Reaktionsprodukte

Um die Untersuchungsbedingungen für die Massenspektrometrie zu optimieren, erfolgte eine Entsalzung der iPLEX-Reaktionsprodukte.

Dazu wurden insgesamt 6 mg Clean Resin (Sequenom Inc., San Diego, USA) mit einem Schaber gleichmäßig in jede Vertiefung einer dimple plate (Sequenom Inc., San Diego, USA) verteilt und diese für mindestens zwanzig Minuten ruhen gelassen. Währenddessen wurde zu jeder Probe 16 µl hochreines H₂O hinzugefügt und die Platte mit den Proben auf die dimple plate gesetzt. Dann wurden beide Platten um 180° gedreht, sodass das Clean Resin aus den Vertiefungen der dimple plate in die Proben fallen konnte. Im Anschluss wurde die Probenplatte mit dem zugefügten Clean Resin für jeweils fünf Minuten in einem Rotiergerät entlang der Längsachse rotiert und danach zentrifugiert.

5. Messung der iPLEX-Reaktionsprodukte im MALDI-TOF Massenspektrometer

Mit dem MassARRAY Nanodispenser (Sequenom Inc., San Diego, USA) wurden die iPLEX-Reaktionsprodukte auf einen SpectroCHIP (Sequenom Inc., San Diego, USA) mit einer Matrix aus 2-Hydroxypicolinsäure aufgetragen. Auf diesem befanden sich analog zur Mikrotiterplatte 384 Felder für die Proben und zehn weitere Felder zur Kalibrierung des Massenspektrometers durch Oligonukleotidlösungen bekannter Masse.

Mit einem Chipschlitten wurde der SpectroCHIP im Anschluss durch eine Vakuumschleuse in das MALDI-TOF Massenspektrometer eingebracht. Dort wurden die Proben für drei bis vier Nanosekunden mit einem gepulsten Laser bestrahlt, wodurch sie in die Gasphase übertraten und ionisiert wurden. Anschließend wurden die gasförmigen Moleküle in einem elektromagnetischen Feld beschleunigt. Durch die Messung der Flugzeit konnte die Masse der jeweiligen Teilchen bestimmt werden und einem Genotyp zugeordnet werden. Die Berechnungen erfolgten dabei mit der TYPER Analyzer 3.3.0 Software (Sequenom Inc., San Diego, USA).

3.4 Statistische Auswertungen

Die statistischen Auswertungen der vorliegenden Arbeit wurde mit Hilfe von PLINK {PLINK v1.07; Purcell et al. 2007} und R v2.13.0 {R Development Core Team 2011}, sowie der IBM SPSS Statistics 19 Software durchgeführt.

Mit dem exakten Test nach Fisher wurde die Abweichung der Genotypverteilung vom Hardy-Weinberg-Equilibrium (HWE) geprüft. Signifikante Abweichungen führten zu einer genaueren Prüfung des SNPs, um methodische Fehler (z. B. Genotypisierung) zu vermeiden.

Die Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollprobanden bezüglich der Häufigkeit der Allele und Genotypen wurden mit dem Chi-Quadratstest bestimmt. Dazu wurden verschiedene Modelle verwendet: Allelverteilung, Genotypmodell, sowie dominantes und rezessives Modell. Kovarianten wurden nicht in die Rechnung einbezogen.

Die Haplotyp-Analyse wurde mit Hilfe der Haploview Software {Haploview 4.2; Barrett et al. 2005} durchgeführt. Haplotyp Blöcke wurden nach der Methode von Gabriel {Gabriel et al. 2002} bestimmt. Haplotypfrequenzen zwischen Patienten und Kontrollen wurden mittels eines Chi Quadrat Tests verglichen. Der p- Wert wurde mit einem Permutationstest mit 50000 Permutationen bestimmt. Damit ist auch für multiples Testen korrigiert. Es wurden nur Haplotypen mit einer Frequenz über 1% in die Analyse miteinbezogen. Probanden mit mehr als 50% fehlenden Genotypen wurden ausgeschlossen.

Ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ wurde als statistische Berechnungsgrundlage festgelegt, während $p < 0,1$ als Trend gewertet wurde.

4 Ergebnisse

4.1 Darstellung der Stichprobe

An der Studie nahmen insgesamt 512 Patienten und 1319 Kontrollpersonen teil.

In der Patientengruppe betrug der Anteil an männlichen Personen 65,2%, der Anteil an weiblichen Personen betrug 34,8%. Das durchschnittliche Alter betrug 38 Jahre. 42,8% der Personen hatten einen einfachen Schulabschluss (Hauptschule), 26,0% einen mittleren (Realschule) und 31,3% einen hohen Schulabschluss (Abitur) (Tabelle 10 -12).

Die Kontrollgruppe bestand im Gegenzug zu 45,9% aus männlichen und zu 54,1% aus weiblichen Teilnehmern. Der Altersdurchschnitt lag hier bei 46 Jahren. In dieser Gruppe hatten 22,4% der Personen einen niedrigen Schulabschluss (Hauptschule), 32,8% einen mittleren (Realschule) und 44,7% einen hohen Schulabschluss (Abitur) (Tabelle 10-12).

Im Vergleich der beiden Gruppen zeigte sich ein signifikant höherer Anteil von Männern in der Patientengruppe ($p=9,9 \times 10^{-14}$; $df=1$; $\chi^2=55,4$), während in der Kontrollgruppe bei Frauen und Männern nahezu Gleichverteilung vorlag. Bei der Altersverteilung lag eine relativ ähnliche Altersstruktur zwischen Patienten und Kontrollen vor. Beim Bildungsniveau zeigte sich bei den Patienten eine signifikant ($p= 2,9 \times 10^{-17}$; $df=2$; $\chi^2=76,2$) niedrigerer Schulbildung im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Tabelle 10: Geschlechtsverteilung bei Patienten und Kontrollen

| Geschlechtsverteilung | | | Geschlecht | | Gesamt |
|-----------------------|------------|------|------------|----------|--------|
| | | | männlich | weiblich | |
| Status | Patienten | n | 334 | 178 | 512 |
| | | % | 65,2 | 34,8 | 100 |
| | Kontrollen | n | 605 | 714 | 1319 |
| | | % | 45,9 | 54,1 | 100 |
| Gesamt | n | 939 | 892 | 1831 | |
| | % | 51,3 | 48,7 | 100 | |

Tabelle 11: Altersverteilung bei Patienten und Kontrollen

| Status | | N | Durchschnitt | Std. Abweichung | Standardfehler |
|--------|------------|------|--------------|-----------------|----------------|
| Alter | Patienten | 512 | 37,71 | 11,341 | ,501 |
| | Kontrollen | 1319 | 46,26 | 15,704 | ,432 |

Tabelle 12: Verteilung der Schulabschlüsse bei Patienten und Kontrollen

| Schulabschlüsse | | Schule | | | Gesamt | |
|-----------------|------------|-------------|--------------|--------------|--------|------|
| | | niedrig(HS) | mittel(Real) | hoch(Abitur) | | |
| Status | Patienten | n | 219 | 133 | 160 | 512 |
| | | % | 42,8 | 26,0 | 31,3 | 100 |
| | Kontrollen | n | 296 | 433 | 590 | 1319 |
| | | % | 22,4 | 32,8 | 44,7 | 100 |
| Gesamt | n | 515 | 566 | 750 | 1831 | |
| | % | 28,1 | 30,9 | 41,0 | 100 | |

4.2 SNP-Lokalisationen auf AADAT

Tabelle 13 gibt eine Übersicht über die Position, Funktion und die Allele der untersuchten SNPs. Die Angaben basieren auf NCBI Assembly GRCh38.p2 {The National Center for Biotechnology Information 2016}.

Tabelle 13: Übersicht über die Position und Funktion der untersuchten Polymorphismen

| SNP | Chromosomen-Position | Funktion | Allel |
|------------|----------------------|-----------------|-------|
| rs2955256 | 170092682 | Intron Variante | (C/T) |
| rs10213032 | 170088209 | Intron Variante | (A/G) |
| rs716822 | 170086353 | Intron Variante | (A/G) |
| rs17711677 | 170079941 | Intron Variante | (C/G) |
| rs2622068 | 170078709 | Intron Variante | (A/G) |
| rs963660 | 170073915 | Intron Variante | (A/G) |
| rs2466990 | 170072620 | Intron Variante | (A/G) |
| rs6553486 | 170063674 | Intron Variante | (C/G) |

Die Darstellung der Introns und Exons sowie der Positionen der einzelnen Marker orientiert sich bei der vorliegenden Abbildung (Abbildung 4) an der Transskriptvariante XM_006714231.2. Insgesamt sind die acht untersuchten Marker über das gesamte Gen verteilt. Dabei liegt rs2955256 außerhalb des Gens in der potentiellen Promotorregion im 5'-Genbereich, die übrigen SNPs sind in den Introns 4, 5, 6, 7 und 13 lokalisiert.

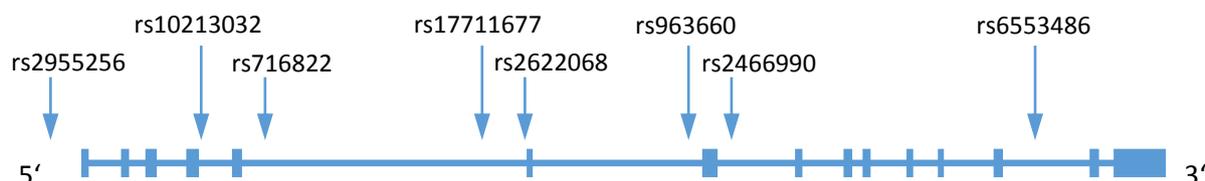


Abbildung 4: Das AADAT-Gen mit den Positionen der untersuchten SNPs. Die vertikalen Linien stellen die Exons dar, die horizontalen Linien zwischen den Exons repräsentieren die Introns. Die relative Größe der Exons und Introns ist maßstabsgetreu wiedergegeben.

4.3 Ergebnisse des Hardy-Weinberg Equilibriums

Zur Beurteilung der Genotypverteilung in der betrachteten Population wurde das Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) mit dem exakten Test nach Fisher geprüft. Dabei zeigte sich, dass die Genotypverteilungen bei allen untersuchten SNPs in der Kontrollgruppe im Gleichgewicht lagen (Tabellen 14 - 16), in der Patienten- und Gesamtstichprobe war nur bei SNP rs963660 eine geringfügige Abweichung festzustellen (Tabellen 14 und 16).

Tabelle 14: HWE der untersuchten SNPs bei den Patienten

| SNP | Allele | Patienten Genotyp (N) | | | HWE | |
|------------|--------|-----------------------|-----------|-----------|---------|--------|
| | A B | Allele AA | Allele AB | Allele BB | F | p-Wert |
| rs2955256 | T C | 51 | 191 | 254 | 0,0749 | 0,1052 |
| rs10213032 | G A | 5 | 84 | 409 | 0,0133 | 0,7910 |
| rs716822 | A G | 3 | 77 | 423 | -0,0111 | 1,0000 |
| rs17711677 | C G | 1 | 25 | 468 | 0,0481 | 0,3059 |
| rs2622068 | A G | 98 | 228 | 184 | 0,0797 | 0,0830 |
| rs963660 | A G | 9 | 80 | 402 | 0,0932 | 0,0445 |
| rs2466990 | G A | 98 | 225 | 170 | 0,0673 | 0,1410 |
| rs6553486 | G C | 86 | 222 | 189 | 0,0665 | 0,1348 |

Tabelle 15: HWE der untersuchten SNPs bei den Kontrollen

| SNP | Allele | Kontrollen Genotyp (N) | | | HWE | |
|------------|--------|------------------------|-----------|-----------|---------|--------|
| | A B | Allele AA | Allele AB | Allele BB | F | p-Wert |
| rs2955256 | T C | 125 | 547 | 632 | 0,0116 | 0,6954 |
| rs10213032 | G A | 10 | 241 | 1051 | -0,0262 | 0,4413 |
| rs716822 | A G | 18 | 215 | 1056 | 0,0510 | 0,0790 |
| rs17711677 | C G | 2 | 59 | 1232 | 0,0401 | 0,1730 |
| rs2622068 | A G | 259 | 660 | 392 | -0,0173 | 0,5767 |
| rs963660 | A G | 23 | 254 | 1011 | 0,0417 | 0,1360 |
| rs2466990 | G A | 258 | 617 | 383 | 0,0093 | 0,7329 |
| rs6553486 | G C | 219 | 648 | 422 | -0,0310 | 0,2781 |

Tabelle 16: HWE der untersuchten SNPs bei der Gesamtstichprobe

| SNP | Allele | Gesamtgenotyp (N) | | | HWE | |
|------------|--------|-------------------|-----------|-----------|---------|--------|
| | A B | Allele AA | Allele AB | Allele BB | F | p-Wert |
| rs2955256 | T C | 176 | 738 | 886 | 0,0289 | 0,2196 |
| rs10213032 | G A | 15 | 325 | 1460 | -0,0156 | 0,5962 |
| rs716822 | A G | 21 | 292 | 1479 | 0,0359 | 0,1248 |
| rs17711677 | C G | 3 | 84 | 1700 | 0,0426 | 0,0992 |
| rs2622068 | A G | 357 | 888 | 576 | 0,0104 | 0,6687 |
| rs963660 | A G | 32 | 334 | 1413 | 0,0551 | 0,0232 |
| rs2466990 | G A | 356 | 842 | 553 | 0,0259 | 0,2869 |
| rs6553486 | G C | 305 | 870 | 611 | -0,0037 | 0,9223 |

4.4 Analyse der Einzelmarker auf eine Assoziation mit Schizophrenie

Die Analyse der Polymorphismen erfolgte in den vier Untergruppen:

- Patienten vs. Kontrollen
- Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Erstgradangehörigen vs. Kontrollen
- Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen vs. Kontrollen
- Patienten mit psychiatrisch erkrankten Angehörigen vs. Kontrollen

Bei jeder Untergruppe wurde untersucht:

- die Allelverteilung
(A1 vs. A2) = die Häufigkeit der Allele zwischen zwei Gruppen wird verglichen
- die Genotypverteilung

(A1A1 vs. A1A2 vs. A2A2) = die Häufigkeit der Genotypen zwischen zwei Gruppen wird verglichen

- das dominante Modell

(A1A1 + A1A2 vs. A2A2) = die Genotypen mit dem selteneren Allel werden in einer Gruppe zusammengefasst (= Träger des minoren Allels) und mit dem homozygoten Genotyp des häufigeren Allels verglichen

- das rezessive Modell

(A1A1 vs. A1A2 + A2A2) = die Genotypen mit dem häufigeren Allel werden in einer Gruppe zusammengefasst (= Träger des majoren Allels) und mit dem homozygoten Genotyp des selteneren Allels verglichen

4.4.1 Patienten vs. Kontrollen

Zunächst wurden die acht Polymorphismen im AADAT-Gen innerhalb des vollständigen Patientenkollektivs und der Kontrollgruppe auf Assoziationen mit dem Krankheitsstatus der Schizophrenie untersucht. Die Gesamtstichprobengröße betrug 1831 Personen, bestehend aus 512 Patienten und 1319 Kontrollen (Tabelle 17).

Tabelle 17: Allel- und Genotypverteilung Patienten vs. Kontrollen

| | | | | Allel (A1 vs. A2) | | | | Genotyp A1A1 vs. A1A2 vs. A2A2 | | | | | | | |
|------------|----|----|---|----------------------|-------|-------|-------|--------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| SNP | A1 | A2 | | Pat | | Kon | | p-Wert | Pat | | | Kon | | | p-Wert |
| rs2955256 | T | C | n | 293 | 699 | 797 | 1811 | 0,570 | 51 | 191 | 254 | 125 | 547 | 632 | 0,412 |
| | | | % | 29,54 | 70,46 | 30,56 | 69,44 | | 10,28 | 38,51 | 51,21 | 9,59 | 41,95 | 48,47 | |
| rs10213032 | G | A | n | 94 | 902 | 261 | 2343 | 0,618 | 5 | 84 | 409 | 10 | 241 | 1051 | 0,635 |
| | | | % | 9,44 | 90,56 | 10,02 | 89,98 | | 1,00 | 16,87 | 82,13 | 0,77 | 18,51 | 80,72 | |
| rs716822 | A | G | n | 83 | 923 | 251 | 2327 | 0,180 | 3 | 77 | 423 | 18 | 215 | 1056 | 0,297 |
| | | | % | 8,25 | 91,75 | 9,74 | 90,26 | | 0,60 | 15,31 | 84,10 | 1,40 | 16,68 | 81,92 | |
| rs17711677 | C | G | n | 27 | 961 | 63 | 2523 | 0,633 | 1 | 25 | 468 | 2 | 59 | 1232 | 0,873 |
| | | | % | 2,73 | 97,27 | 2,44 | 97,56 | | 0,20 | 5,06 | 94,74 | 0,15 | 4,56 | 95,28 | |
| rs2622068 | A | G | n | 424 | 596 | 1178 | 1444 | 0,069 | 98 | 228 | 184 | 259 | 660 | 392 | 0,033 |
| | | | % | 41,57 | 58,43 | 44,93 | 55,07 | | 19,22 | 44,71 | 36,08 | 19,76 | 50,34 | 29,90 | |
| rs963660 | A | G | n | 98 | 884 | 300 | 2276 | 0,171 | 9 | 80 | 402 | 23 | 254 | 1011 | 0,251 |
| | | | % | 9,98 | 90,02 | 11,65 | 88,35 | | 1,83 | 16,29 | 81,87 | 1,79 | 19,72 | 78,49 | |
| rs2466990 | G | A | n | 421 | 565 | 1133 | 1383 | 0,212 | 98 | 225 | 170 | 258 | 617 | 383 | 0,255 |
| | | | % | 42,70 | 57,30 | 45,03 | 54,97 | | 19,88 | 45,64 | 34,48 | 20,51 | 49,05 | 30,45 | |
| rs6553486 | G | C | n | 394 | 600 | 1086 | 1492 | 0,185 | 86 | 222 | 189 | 219 | 648 | 422 | 0,071 |
| | | | % | 39,64 | 60,36 | 42,13 | 57,87 | | 17,30 | 44,67 | 38,03 | 16,99 | 50,27 | 32,74 | |
| | | | | A1A1 + A1A2 vs. A2A2 | | | | A1A1 vs. A1A2 + A2A2 | | | | | | | |
| SNP | A1 | A2 | | Pat | | Kon | | p-Wert | Pat | | | Kon | | | p-Wert |
| rs2955256 | T | C | n | 242 | 254 | 672 | 632 | 0,316 | 51 | 445 | 125 | 1179 | 0,658 | | |
| | | | % | 48,79 | 51,21 | 51,53 | 48,47 | | 10,28 | 89,72 | 9,59 | 90,41 | | | |
| rs10213032 | G | A | n | 89 | 409 | 251 | 1051 | 0,545 | 5 | 493 | 10 | 1292 | 0,574 | | |
| | | | % | 17,87 | 82,13 | 19,28 | 80,72 | | 1,00 | 99,00 | 0,77 | 99,23 | | | |
| rs716822 | A | G | n | 80 | 423 | 233 | 1056 | 0,299 | 3 | 500 | 18 | 1271 | 0,222 | | |
| | | | % | 15,90 | 84,10 | 18,08 | 81,92 | | 0,60 | 99,40 | 1,40 | 98,60 | | | |
| rs17711677 | C | G | n | 26 | 468 | 61 | 1232 | 0,624 | 1 | 493 | 2 | 1291 | 1,000 | | |
| | | | % | 5,26 | 94,74 | 4,72 | 95,28 | | 0,20 | 99,80 | 0,15 | 99,85 | | | |
| rs2622068 | A | G | n | 326 | 184 | 919 | 392 | 0,012 | 98 | 412 | 259 | 1052 | 0,844 | | |
| | | | % | 63,92 | 36,08 | 70,10 | 29,90 | | 19,22 | 80,78 | 19,76 | 80,24 | | | |
| rs963660 | A | G | n | 89 | 402 | 277 | 1011 | 0,131 | 9 | 482 | 23 | 1265 | 1,000 | | |
| | | | % | 18,13 | 81,87 | 21,51 | 78,49 | | 1,83 | 98,17 | 1,79 | 98,21 | | | |
| rs2466990 | G | A | n | 323 | 170 | 875 | 383 | 0,110 | 98 | 395 | 258 | 1000 | 0,792 | | |
| | | | % | 65,52 | 34,48 | 69,55 | 30,45 | | 19,88 | 80,12 | 20,51 | 79,49 | | | |
| rs6553486 | G | C | n | 308 | 189 | 867 | 422 | 0,039 | 86 | 411 | 219 | 1070 | 0,889 | | |
| | | | % | 61,97 | 38,03 | 67,26 | 32,74 | | 17,30 | 82,70 | 16,99 | 83,01 | | | |

A1= Allel 1; A2= Allel 2; Pat= Patienten; Kon= Kontrollen; n= Anzahl; Variationen zwischen den einzelnen SNPs sind auf vereinzelte Ausfälle in der Genotypisierung zurückzuführen.

Bei **SNP rs2622068** lag in der Patientengruppe das seltenere A-Allel tendenziell ($p=0,069$) seltener vor. In der Genotypverteilung zeigte sich eine signifikant unterschiedliche Verteilung ($p=0,033$) zwischen Patienten und Kontrollen. Hier lag bei den Patienten der AA- und AG-Genotyp seltener und der GG-Genotyp häufiger vor. Die Genotypen mit dem selteneren A-Allel lagen bei den Patienten zudem signifikant ($p=0,012$) seltener vor.

SNP rs6553486 zeigte bei der Genotypverteilung einen Trend ($p=0,071$) zu unterschiedlicher Verteilung zwischen den beiden Gruppen. Der GC-Genotyp lag dabei in der Patientengruppe tendenziell seltener vor. Bei der Gegenüberstellung der G-Allel Träger (G/G und G/C) mit den homozygoten C-Allel Trägern (C/C) zeigte sich zudem in der Patientengruppe ein signifikant ($p=0,039$) selteneres Auftreten der Genotypen mit dem selteneren G-Allel.

Bei den **SNPs rs2955256, rs10213032, rs716822, rs17711677, rs963660 und rs2466990** konnte in keiner der vier Vergleichskategorien ein tendenzieller oder signifikanter Unterschied nachgewiesen werden. In Abbildung 5 werden die Untersuchungsergebnisse (p-Werte) zu den jeweiligen SNPs graphisch dargestellt.

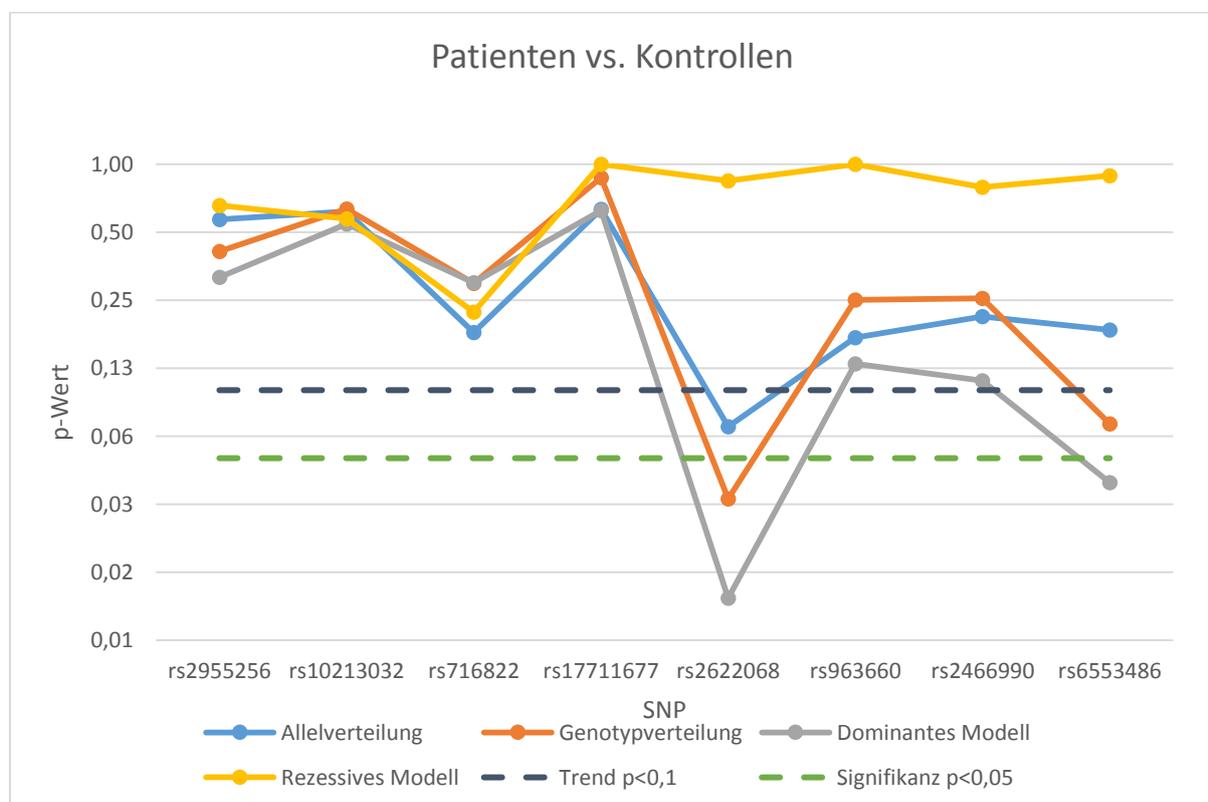


Abbildung 5: Assoziation der untersuchten Polymorphismen mit dem Phänotyp Patienten vs. Kontrollen

4.4.2 Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Erstgradangehörigen vs. Kontrollen

Es folgte der Vergleich zwischen Patienten mit an Schizophrenie leidenden Erstgradangehörigen und allen Kontrollpersonen. Die Stichprobengröße betrug 1416 Personen, bestehend aus 97 Patienten und 1319 Kontrollprobanden. Die Ergebnisse werden in Tabelle 18 und Abbildung 6 dargestellt.

Tabelle 18: Allel- und Genotypverteilung Patienten mit schizophrenen Erstgradangehörigen (Pat (1st)) vs. Kontrollen

| | | | | Allel (A1 vs. A2) | | | | Genotyp A1A1 vs. A1A2 vs. A2A2 | | | | | | | |
|------------|----|----|---|----------------------|-------|-------|-------|--------------------------------|-----------|--------|-------|-------|-------|-------|--------|
| SNP | A1 | A2 | | Pat (1st) | | Kon | | p-Wert | Pat (1st) | | | Kon | | | p-Wert |
| rs2955256 | T | C | n | 59 | 129 | 797 | 1811 | 0,806 | 12 | 35 | 47 | 125 | 547 | 632 | 0,456 |
| | | | % | 31,38 | 68,62 | 30,56 | 69,44 | | 12,77 | 37,23 | 50,00 | 9,59 | 41,95 | 48,47 | |
| rs10213032 | G | A | n | 25 | 165 | 261 | 2343 | 0,173 | 1 | 23 | 71 | 10 | 241 | 1051 | 0,296 |
| | | | % | 13,16 | 86,84 | 10,02 | 89,98 | | 1,05 | 24,21 | 74,74 | 0,77 | 18,51 | 80,72 | |
| rs716822 | A | G | n | 13 | 175 | 251 | 2327 | 0,247 | 0 | 13 | 81 | 18 | 215 | 1056 | 0,546 |
| | | | % | 6,91 | 93,09 | 9,74 | 90,26 | | 0,00 | 13,83 | 86,17 | 1,40 | 16,68 | 81,92 | |
| rs17711677 | C | G | n | 9 | 179 | 63 | 2523 | 0,058 | 0 | 9 | 85 | 2 | 59 | 1232 | 0,099 |
| | | | % | 4,79 | 95,21 | 2,44 | 97,56 | | 0,00 | 9,57 | 90,43 | 0,15 | 4,56 | 95,28 | |
| rs2622068 | A | G | n | 89 | 105 | 1178 | 1444 | 0,823 | 23 | 43 | 31 | 259 | 660 | 392 | 0,449 |
| | | | % | 45,88 | 54,12 | 44,93 | 55,07 | | 23,71 | 44,33 | 31,96 | 19,76 | 50,34 | 29,90 | |
| rs963660 | A | G | n | 16 | 170 | 300 | 2276 | 0,234 | 3 | 10 | 80 | 23 | 254 | 1011 | 0,048 |
| | | | % | 8,60 | 91,40 | 11,65 | 88,35 | | 3,23 | 10,75 | 86,02 | 1,79 | 19,72 | 78,49 | |
| rs2466990 | G | A | n | 88 | 96 | 1133 | 1383 | 0,490 | 22 | 44 | 26 | 258 | 617 | 383 | 0,714 |
| | | | % | 47,83 | 52,17 | 45,03 | 54,97 | | 23,91 | 47,83 | 28,26 | 20,51 | 49,05 | 30,45 | |
| rs6553486 | G | C | n | 73 | 107 | 1086 | 1492 | 0,697 | 16 | 41 | 33 | 219 | 648 | 422 | 0,646 |
| | | | % | 40,56 | 59,44 | 42,13 | 57,87 | | 17,78 | 45,56 | 36,67 | 16,99 | 50,27 | 32,74 | |
| | | | | A1A1 + A1A2 vs. A2A2 | | | | A1A1 vs. A1A2 + A2A2 | | | | | | | |
| SNP | A1 | A2 | | Pat (1st) | | Kon | | p-Wert | Pat (1st) | | | Kon | | | p-Wert |
| rs2955256 | T | C | n | 47 | 47 | 672 | 632 | 0,831 | 12 | 82 | 125 | 1179 | 0,286 | | |
| | | | % | 50,00 | 50,00 | 51,53 | 48,47 | | 12,77 | 87,23 | 9,59 | 90,41 | | | |
| rs10213032 | G | A | n | 24 | 71 | 251 | 1051 | 0,180 | 1 | 94 | 10 | 1292 | 0,541 | | |
| | | | % | 25,26 | 74,74 | 19,28 | 80,72 | | 1,05 | 98,95 | 0,77 | 99,23 | | | |
| rs716822 | A | G | n | 13 | 81 | 233 | 1056 | 0,331 | 0 | 94 | 18 | 1271 | 0,628 | | |
| | | | % | 13,83 | 86,17 | 18,08 | 81,92 | | 0,00 | 100,00 | 1,40 | 98,60 | | | |
| rs17711677 | C | G | n | 9 | 85 | 61 | 1232 | 0,049 | 0 | 94 | 2 | 1291 | 1,000 | | |
| | | | % | 9,57 | 90,43 | 4,72 | 95,28 | | 0,00 | 100,00 | 0,15 | 99,85 | | | |
| rs2622068 | A | G | n | 66 | 31 | 919 | 392 | 0,648 | 23 | 74 | 259 | 1052 | 0,358 | | |
| | | | % | 68,04 | 31,96 | 70,10 | 29,90 | | 23,71 | 76,29 | 19,76 | 80,24 | | | |
| rs963660 | A | G | n | 13 | 80 | 277 | 1011 | 0,088 | 3 | 90 | 23 | 1265 | 0,413 | | |
| | | | % | 13,98 | 86,02 | 21,51 | 78,49 | | 3,23 | 96,77 | 1,79 | 98,21 | | | |
| rs2466990 | G | A | n | 66 | 26 | 875 | 383 | 0,725 | 22 | 70 | 258 | 1000 | 0,426 | | |
| | | | % | 71,74 | 28,26 | 69,55 | 30,45 | | 23,91 | 76,09 | 20,51 | 79,49 | | | |
| rs6553486 | G | C | n | 57 | 33 | 867 | 422 | 0,487 | 16 | 74 | 219 | 1070 | 0,885 | | |
| | | | % | 63,33 | 36,67 | 67,26 | 32,74 | | 17,78 | 82,22 | 16,99 | 83,01 | | | |

A1= Allel 1; A2= Allel 2; Pat (1st)= Patienten mit schizophrenen Erstgradangehörigen; Kon= Kontrollen; n= Anzahl; Variationen zwischen den einzelnen SNPs sind auf vereinzelte Ausfälle in der Genotypisierung zurückzuführen.

SNP rs17711677 zeigte bei der Allelverteilung ein tendenziell ($p=0,058$) häufigeres Vorkommen des selteneren C-Allels in der Patientengruppe.

Bei der Genotypanalyse bestand ein weiterer Trend ($p=0,100$) zu unterschiedlicher Verteilung wobei in der Patientengruppe der CG-Genotyp häufiger vorlag.

Signifikant zahlreicher ($p=0,049$) waren zudem in der Patientengruppe die Genotypen, die das seltenere C-Allel einschlossen (C/C, C/G) in Bezug zu den homozygoten G-Allel Trägern (G/G).

Bei **SNP rs963660** fiel ein signifikanter Unterschied ($p=0,048$) hinsichtlich der Genotypverteilung zwischen den beiden Vergleichsgruppen auf. Der AG-Genotyp trat dabei in der Patientengruppe seltener auf.

Bei der Gegenüberstellung der A-Allel Träger (A/A und A/G) mit den homozygoten G-Allel Trägern (G/G) zeigte sich zudem in der Patientengruppe ein tendenziell ($p=0,088$) selteneres Auftreten der Genotypen mit dem selteneren A-Allel.

Bei den **SNPs rs2955256, rs10213032, rs716822, rs2622068, rs2466990 und rs6553486** konnte in keiner der vier Vergleichskategorien ein tendenzieller oder signifikanter Unterschied nachgewiesen werden.

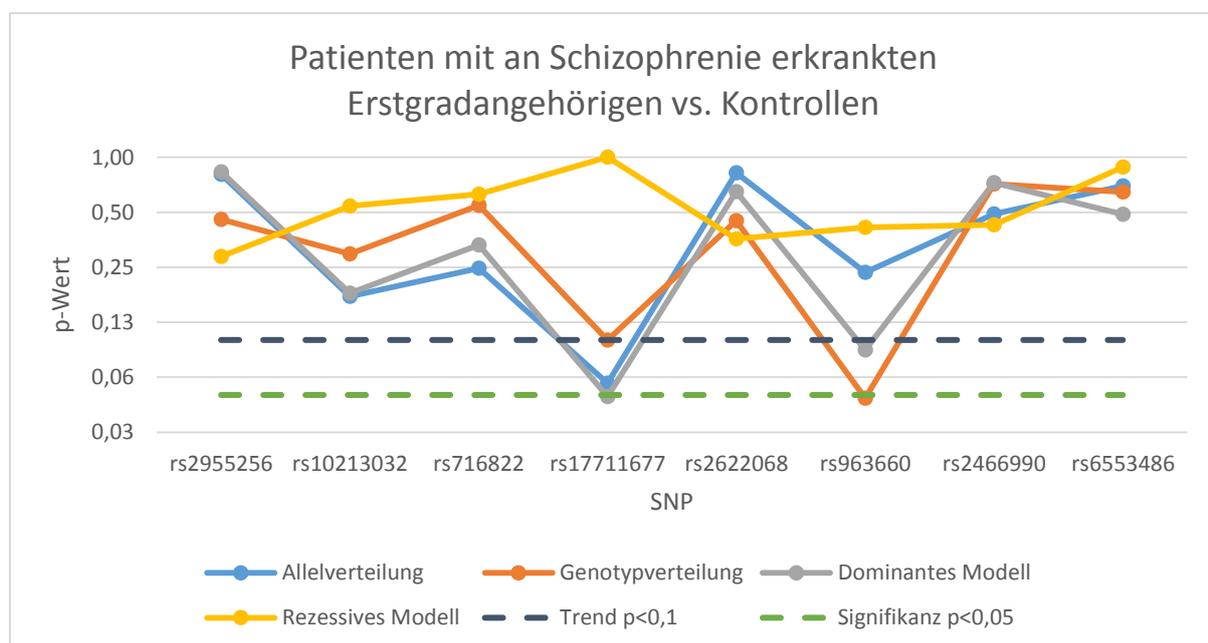


Abbildung 6: Assoziation der untersuchten Polymorphismen mit dem Phänotyp Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Erstgradangehörigen vs. Kontrollen

4.4.3 Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen vs. Kontrollen

Bei der Gegenüberstellung der Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen und den Kontrollprobanden betrug die Stichprobengröße 1466 Personen, bestehend aus 147 Patienten und 1319 Kontrollprobanden. Die Ergebnisse werden in Tabelle 19 und Abbildung 7 dargestellt.

Tabelle 19: Allel- und Genotypverteilung Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen vs. Kontrollen

| | | | | Allel (A1 vs. A2) | | | | Genotyp A1A1 vs. A1A2 vs. A2A2 | | | | | | | |
|------------|----|----|---|----------------------|-------|-------|-------|--------------------------------|----------|--------|-------|-------|-------|-------|--------|
| SNP | A1 | A2 | | Pat (sz) | | Kon | | p-Wert | Pat (sz) | | | Kon | | | p-Wert |
| rs2955256 | T | C | n | 84 | 200 | 797 | 1811 | 0,786 | 16 | 52 | 74 | 125 | 547 | 632 | 0,428 |
| | | | % | 29,58 | 70,42 | 30,56 | 69,44 | | 11,27 | 36,62 | 52,11 | 9,59 | 41,95 | 48,47 | |
| rs10213032 | G | A | n | 34 | 250 | 261 | 2343 | 0,302 | 2 | 30 | 110 | 10 | 241 | 1051 | 0,343 |
| | | | % | 11,97 | 88,03 | 10,02 | 89,98 | | 1,41 | 21,13 | 77,46 | 0,77 | 18,51 | 80,72 | |
| rs716822 | A | G | n | 26 | 258 | 251 | 2327 | 0,833 | 1 | 24 | 117 | 18 | 215 | 1056 | 1,000 |
| | | | % | 9,15 | 90,85 | 9,74 | 90,26 | | 0,70 | 16,90 | 82,39 | 1,40 | 16,68 | 81,92 | |
| rs17711677 | C | G | n | 11 | 273 | 63 | 2523 | 0,164 | 0 | 11 | 131 | 2 | 59 | 1232 | 0,270 |
| | | | % | 3,87 | 96,13 | 2,44 | 97,56 | | 0,00 | 7,75 | 92,25 | 0,15 | 4,56 | 95,28 | |
| rs2622068 | A | G | n | 132 | 160 | 1178 | 1444 | 0,951 | 34 | 64 | 48 | 259 | 660 | 392 | 0,298 |
| | | | % | 45,21 | 54,79 | 44,93 | 55,07 | | 23,29 | 43,84 | 32,88 | 19,76 | 50,34 | 29,90 | |
| rs963660 | A | G | n | 25 | 257 | 300 | 2276 | 0,198 | 4 | 17 | 120 | 23 | 254 | 1011 | 0,047 |
| | | | % | 8,87 | 91,13 | 11,65 | 88,35 | | 2,84 | 12,06 | 85,11 | 1,79 | 19,72 | 78,49 | |
| rs2466990 | G | A | n | 128 | 150 | 1133 | 1383 | 0,751 | 33 | 62 | 44 | 258 | 617 | 383 | 0,535 |
| | | | % | 46,04 | 53,96 | 45,03 | 54,97 | | 23,74 | 44,60 | 31,65 | 20,51 | 49,05 | 30,45 | |
| rs6553486 | G | C | n | 114 | 160 | 1086 | 1492 | 0,898 | 28 | 58 | 51 | 219 | 648 | 422 | 0,190 |
| | | | % | 41,61 | 58,39 | 42,13 | 57,87 | | 20,44 | 42,34 | 37,23 | 16,99 | 50,27 | 32,74 | |
| | | | | A1A1 + A1A2 vs. A2A2 | | | | A1A1 vs. A1A2 + A2A2 | | | | | | | |
| SNP | A1 | A2 | | Pat (sz) | | Kon | | p-Wert | Pat (sz) | | | Kon | | | p-Wert |
| rs2955256 | T | C | n | 68 | 74 | 672 | 632 | 0,427 | 16 | 126 | 125 | 1179 | 0,550 | | |
| | | | % | 47,89 | 52,11 | 51,53 | 48,47 | | 11,27 | 88,73 | 9,59 | 90,41 | | | |
| rs10213032 | G | A | n | 32 | 110 | 251 | 1051 | 0,373 | 2 | 140 | 10 | 1292 | 0,334 | | |
| | | | % | 22,54 | 77,46 | 19,28 | 80,72 | | 1,41 | 98,59 | 0,77 | 99,23 | | | |
| rs716822 | A | G | n | 25 | 117 | 233 | 1056 | 1,000 | 1 | 141 | 18 | 1271 | 1,000 | | |
| | | | % | 17,61 | 82,39 | 18,08 | 81,92 | | 0,70 | 99,30 | 1,40 | 98,60 | | | |
| rs17711677 | C | G | n | 11 | 131 | 61 | 1232 | 0,152 | 0 | 142 | 2 | 1291 | 1,000 | | |
| | | | % | 7,75 | 92,25 | 4,72 | 95,28 | | 0,00 | 100,00 | 0,15 | 99,85 | | | |
| rs2622068 | A | G | n | 98 | 48 | 919 | 392 | 0,449 | 34 | 112 | 259 | 1052 | 0,327 | | |
| | | | % | 67,12 | 32,88 | 70,10 | 29,90 | | 23,29 | 76,71 | 19,76 | 80,24 | | | |
| rs963660 | A | G | n | 21 | 120 | 277 | 1011 | 0,080 | 4 | 137 | 23 | 1265 | 0,332 | | |
| | | | % | 14,89 | 85,11 | 21,51 | 78,49 | | 2,84 | 97,16 | 1,79 | 98,21 | | | |
| rs2466990 | G | A | n | 95 | 44 | 875 | 383 | 0,772 | 33 | 106 | 258 | 1000 | 0,379 | | |
| | | | % | 68,35 | 31,65 | 69,55 | 30,45 | | 23,74 | 76,26 | 20,51 | 79,49 | | | |
| rs6553486 | G | C | n | 86 | 51 | 867 | 422 | 0,295 | 28 | 109 | 219 | 1070 | 0,342 | | |
| | | | % | 62,77 | 37,23 | 67,26 | 32,74 | | 20,44 | 79,56 | 16,99 | 83,01 | | | |

A1= Allel 1; A2= Allel 2; Pat (sz)= Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen; Kon= Kontrollen; n= Anzahl; Variationen zwischen den einzelnen SNPs sind auf vereinzelte Ausfälle in der Genotypisierung zurückzuführen.

SNP **rs963660** zeigte bei der Verteilung der Genotypen einen signifikanten Unterschied ($p=0,047$). Der AG-Genotyp lag hierbei in der Patientengruppe seltener vor.

Die Gegenüberstellung der A-Allel Träger (A/A, A/G) mit den homozygoten G-Allel Trägern (G/G) offenbarte zudem ein tendenziell ($p=0,080$) selteneres Auftreten der Genotypen mit dem selteneren A-Allel in der Patientengruppe.

Bei den SNPs **rs2955256**, **rs10213032**, **rs716822**, **rs17711677**, **rs2622068**, **rs2466990** und **rs6553486** konnte in keiner der vier Vergleichskategorien ein tendenzieller oder signifikanter Unterschied nachgewiesen werden.

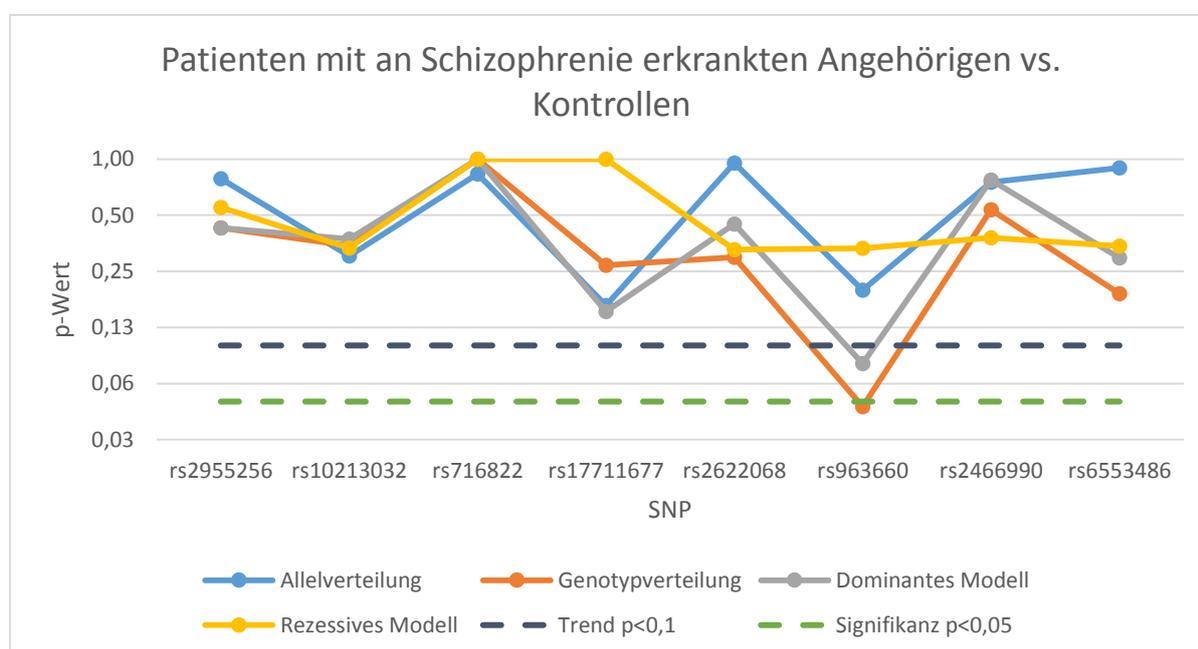


Abbildung 7: Assoziation der untersuchten Polymorphismen mit dem Phänotyp Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Erstgradangehörigen vs. Kontrollen

4.4.4 Patienten mit psychiatrisch erkrankten Angehörigen vs. Kontrollen

Abschließend wurden Patienten mit psychiatrisch erkrankten Angehörigen und die Kontrollgruppe verglichen. Die Stichprobengröße betrug 1693 Personen, bestehend aus 374 Patienten und 1319 Kontrollprobanden. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 20 und Abbildung 8.

Tabelle 20: Allel- und Genotypverteilung Patienten mit psychiatrisch erkrankten Angehörigen vs. Kontrollen

| | | | | Allel (A1 vs. A2) | | | | Genotyp A1A1 vs. A1A2 vs. A2A2 | | | | | | | |
|------------|----|----|---|----------------------|-------|-------|-------|--------------------------------|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| SNP | A1 | A2 | | Pat (psy) | | Kon | | p-Wert | Pat (psy) | | | Kon | | | p-Wert |
| rs2955256 | T | C | n | 206 | 520 | 797 | 1811 | 0,272 | 36 | 134 | 193 | 125 | 547 | 632 | 0,215 |
| | | | % | 28,37 | 71,63 | 30,56 | 69,44 | | 9,92 | 36,91 | 53,17 | 9,59 | 41,95 | 48,47 | |
| rs10213032 | G | A | n | 78 | 648 | 261 | 2343 | 0,579 | 5 | 68 | 290 | 10 | 241 | 1051 | 0,520 |
| | | | % | 10,74 | 89,26 | 10,02 | 89,98 | | 1,38 | 18,73 | 79,89 | 0,77 | 18,51 | 80,72 | |
| rs716822 | A | G | n | 60 | 676 | 251 | 2327 | 0,223 | 2 | 56 | 310 | 18 | 215 | 1056 | 0,373 |
| | | | % | 8,15 | 91,85 | 9,74 | 90,26 | | 0,54 | 15,22 | 84,24 | 1,40 | 16,68 | 81,92 | |
| rs17711677 | C | G | n | 23 | 701 | 63 | 2523 | 0,290 | 1 | 21 | 340 | 2 | 59 | 1232 | 0,383 |
| | | | % | 3,18 | 96,82 | 2,44 | 97,56 | | 0,28 | 5,80 | 93,92 | 0,15 | 4,56 | 95,28 | |
| rs2622068 | A | G | n | 309 | 437 | 1178 | 1444 | 0,095 | 69 | 171 | 133 | 259 | 660 | 392 | 0,108 |
| | | | % | 41,42 | 58,58 | 44,93 | 55,07 | | 18,50 | 45,84 | 35,66 | 19,76 | 50,34 | 29,90 | |
| rs963660 | A | G | n | 63 | 657 | 300 | 2276 | 0,031 | 6 | 51 | 303 | 23 | 254 | 1011 | 0,052 |
| | | | % | 8,75 | 91,25 | 11,65 | 88,35 | | 1,67 | 14,17 | 84,17 | 1,79 | 19,72 | 78,49 | |
| rs2466990 | G | A | n | 305 | 411 | 1133 | 1383 | 0,250 | 68 | 169 | 121 | 258 | 617 | 383 | 0,479 |
| | | | % | 42,60 | 57,40 | 45,03 | 54,97 | | 18,99 | 47,21 | 33,80 | 20,51 | 49,05 | 30,45 | |
| rs6553486 | G | C | n | 282 | 440 | 1086 | 1492 | 0,146 | 59 | 164 | 138 | 219 | 648 | 422 | 0,143 |
| | | | % | 39,06 | 60,94 | 42,13 | 57,87 | | 16,34 | 45,43 | 38,23 | 16,99 | 50,27 | 32,74 | |
| | | | | A1A1 + A1A2 vs. A2A2 | | | | A1A1 vs. A1A2 + A2A2 | | | | | | | |
| SNP | A1 | A2 | | Pat (psy) | | Kon | | p-Wert | Pat (psy) | | | Kon | | | p-Wert |
| rs2955256 | T | C | n | 170 | 193 | 672 | 632 | 0,123 | 36 | 327 | 125 | 1179 | 0,841 | | |
| | | | % | 46,83 | 53,17 | 51,53 | 48,47 | | 9,92 | 90,08 | 9,59 | 90,41 | | | |
| rs10213032 | G | A | n | 73 | 290 | 251 | 1051 | 0,709 | 5 | 358 | 10 | 1292 | 0,341 | | |
| | | | % | 20,11 | 79,89 | 19,28 | 80,72 | | 1,38 | 98,62 | 0,77 | 99,23 | | | |
| rs716822 | A | G | n | 58 | 310 | 233 | 1056 | 0,314 | 2 | 366 | 18 | 1271 | 0,279 | | |
| | | | % | 15,76 | 84,24 | 18,08 | 81,92 | | 0,54 | 99,46 | 1,40 | 98,60 | | | |
| rs17711677 | C | G | n | 22 | 340 | 61 | 1232 | 0,279 | 1 | 361 | 2 | 1291 | 0,523 | | |
| | | | % | 6,08 | 93,92 | 4,72 | 95,28 | | 0,28 | 99,72 | 0,15 | 99,85 | | | |
| rs2622068 | A | G | n | 240 | 133 | 919 | 392 | 0,037 | 69 | 304 | 259 | 1052 | 0,657 | | |
| | | | % | 64,34 | 35,66 | 70,10 | 29,90 | | 18,50 | 81,50 | 19,76 | 80,24 | | | |
| rs963660 | A | G | n | 57 | 303 | 277 | 1011 | 0,018 | 6 | 354 | 23 | 1265 | 1,000 | | |
| | | | % | 15,83 | 84,17 | 21,51 | 78,49 | | 1,67 | 98,33 | 1,79 | 98,21 | | | |
| rs2466990 | G | A | n | 237 | 121 | 875 | 383 | 0,245 | 68 | 290 | 258 | 1000 | 0,551 | | |
| | | | % | 66,20 | 33,80 | 69,55 | 30,45 | | 18,99 | 81,01 | 20,51 | 79,49 | | | |
| rs6553486 | G | C | n | 223 | 138 | 867 | 422 | 0,059 | 59 | 302 | 219 | 1070 | 0,812 | | |
| | | | % | 61,77 | 38,23 | 67,26 | 32,74 | | 16,34 | 83,66 | 16,99 | 83,01 | | | |

A1= Allel 1; A2= Allel 2; Pat (psy)= Patienten mit psychiatrisch erkrankten Angehörigen; Kon= Kontrollen; n= Anzahl; Variationen zwischen den einzelnen SNPs sind auf vereinzelte Ausfälle in der Genotypisierung zurückzuführen.

Bei SNP **rs2622068** zeigte sich das seltenere A-Allel tendenziell ($p=0,095$) seltener bei den Patienten. Die Gegenüberstellung der A-Allel Träger (A/A, A/G) mit den homozygoten G-Allel

Trägern (G/G) ergab zudem eine signifikant ($p=0,037$) selteneres Auftreten von A-Allel enthaltenden Genotypen in dieser Gruppe.

Bei SNP **rs963660** trat das seltener A-Allel in der Patientengruppe signifikant ($p= 0,031$) seltener auf als in der Kontrollgruppe. Bei der Genotypverteilung gab es zudem eine tendenziell ($p=0,052$) unterschiedliche Verteilung, wobei der AA- und AG- Genotyp in der Patientengruppe seltener vorlag.

Bei der Gegenüberstellung der A-Allel Träger (A/A, A/G) mit den homozygoten G-Allel Trägern (G/G) wurde ersichtlich, dass in der Patientengruppe der Anteil an Genotypen mit dem selteneren A-Allel signifikant ($p=0,018$) geringer ist als bei den Kontrollpersonen.

SNP **rs6553486** zeigte bei der Gegenüberstellung der G-Allel Träger (G/G und G/C) mit den homozygoten C-Allel Trägern (C/C) eine tendenziell ($p=0,059$) geringerer Häufigkeit der Genotypen mit dem selteneren G-Allel in der Patientengruppe.

Bei den SNPs **rs2955256**, **rs10213032**, **rs716822**, **rs17711677** und **rs2466990** konnte in keiner der vier Vergleichskategorien ein tendenzieller oder signifikanter Unterschied nachgewiesen werden.

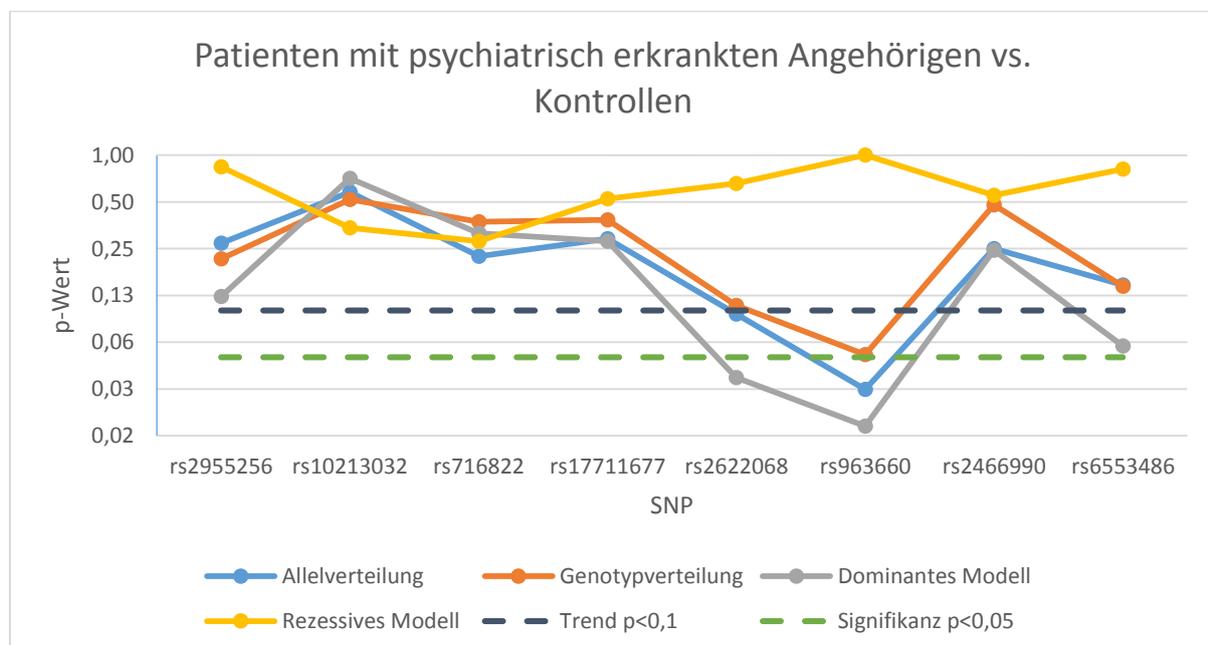


Abbildung 8: Assoziation der untersuchten Polymorphismen mit dem Phänotyp Patienten mit psychiatrisch erkrankten Angehörigen vs. Kontrollen

4.5 Haplotypen

Für das AADAT Gen wurden anhand der acht genotypisierten SNPs zwei Linkage Disequilibrium (LD)-Blöcke identifiziert.

Block 1 umfasst mit den beiden SNPs rs6553486 und rs2466990 einen rund acht Kilobasenpaare großen Genombereich und erstreckt sich über Intron 7 bis Intron 9, während Block 2 mit den SNPs rs2622068, rs716822 und rs10213032 einen 9 Kilobasenpaare großen Bereich abdeckt und bei Intron 4 und Intron 5 lokalisiert ist (Abbildung 9).

Die SNPs rs963660 und rs2955256 waren in keinem der beiden LD-Blöcke enthalten, zudem wurde SNP rs17711677 aufgrund einer zu geringen minoren Allelfrequenz von der weiteren Haplotypanalyse ausgeschlossen.

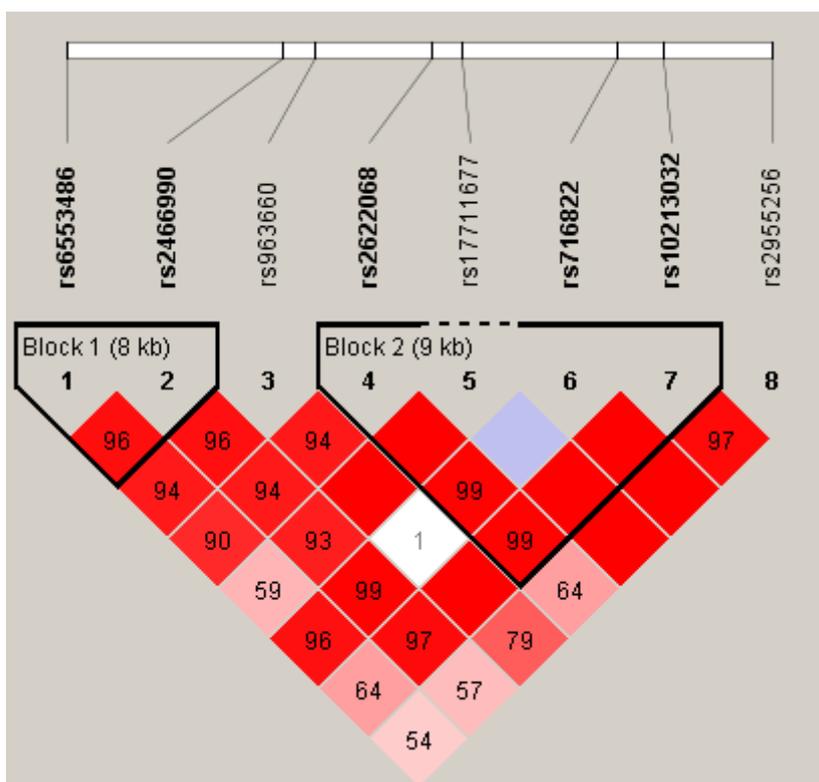


Abbildung 9: Blockstruktur der untersuchten Marker mit den haploscores für das Kopplungsungleichgewicht. Rote Kästchen ohne Zahl entsprechen einem Wert von 100.

Beim Vergleich der Schizophreniepatienten mit den gesunden Kontrollen zeigten sich hinsichtlich der Haplotypfrequenzverteilung keine Trends oder signifikanten Unterschiede für die Haplotypen aus Block 1 (CA, CG oder GG). Ebenso wies keiner der Haplotypen aus Block 2 (AAA, AGA oder GGA) einen Trend oder einen signifikante Zusammenhang mit der Erkrankung auf (siehe Tabelle 21).

Tabelle 21: Zusammenfassung der Haplotypfrequenzen

| Block | rs Nummern | Haplotyp | Haplotyp Frequenz Patienten | Haplotyp Frequenz Kontrollen | χ^2 | p-Wert |
|-------|---------------------------------------|----------|-----------------------------------|------------------------------------|----------|--------|
| 1 | rs6553486, rs2466990 | CA | 0,570 | 0,542 | 2,274 | 0,7098 |
| | | CG | 0,030 | 0,036 | 0,681 | 0,9909 |
| | | GG | 0,395 | 0,413 | 0,985 | 0,9643 |
| 2 | rs2622068, rs716822, rs10213032 | AAA | 0,082 | 0,097 | 2,001 | 0,7750 |
| | | AGA | 0,240 | 0,252 | 0,552 | 0,9955 |
| | | AGG | 0,093 | 0,101 | 0,458 | 0,9978 |
| | | GGA | 0,585 | 0,551 | 3,533 | 0,4302 |

5 Diskussion

5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Insgesamt zeigten sich in der Gesamtgruppe der Patienten und/oder einer der gebildeten Untergruppen bei vier der acht untersuchten Polymorphismen Assoziationen mit der Erkrankung. Eine Übersicht der tendenziellen und signifikanten Ergebnisse bietet Tabelle 22.

Tabelle 22: Zusammenfassende Darstellung der tendenziellen und signifikanten Ergebnisse bei den untersuchten Polymorphismen

| SNP | Mit Schizophrenie assoziierte Allele oder Genotypen | | | |
|------------|--------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| | Gesamtgruppe der Patienten | Untergruppe der Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Erstgradangehörigen | Untergruppe der Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen | Untergruppe der Patienten mit psychisch erkrankten Angehörigen |
| rs17711677 | | C-Allel ↑ Genotyp CC, GG ↓; CG ↑ C-Allelträger ↑↑ | | |
| rs2622068 | A-Allel ↓ Genotyp GG ↑↑; AA, AG ↓↓ A-Allelträger ↓↓ | | | A-Allel ↓ A-Allelträger ↓↓ |
| rs963660 | | Genotyp AA, GG ↑↑; AG ↓↓ A-Allelträger ↓ | Genotyp AA, GG ↑↑; AG ↓↓ A-Allelträger ↓ | A-Allel ↓↓ Genotyp GG ↑; AA, AG ↓ A-Allelträger ↓↓ |
| rs6553486 | Genotyp GG, CC ↑; GC ↓ G-Allelträger ↓↓ | | | G-Allelträger ↓ |

↑/↓: Allel/Genotyp tendenziell häufiger/seltener bei den Schizophrenieerkrankten

↑↑/↓↓: Allel/Genotyp signifikant häufiger/seltener bei den Schizophrenieerkrankten

Bei rs2622068 und rs6553486 konnten tendenzielle und/oder signifikante Ergebnisse in der Gesamtgruppe und zudem in mindestens einer weiteren Subgruppe nachgewiesen werden. Bei rs963660 wurde in allen drei Untergruppen, aber nicht in der Gesamtgruppe, und bei rs17711677 lediglich in der Untergruppe der „Patienten mit an Schizophrenie erkrankten

Angehörigen“ ein tendenzielles oder signifikantes Ergebnis erzielt. Weitergehende Erörterungen zu den jeweiligen SNPs erfolgt unter Kapitel 5.3.

5.2 Diskussion der Methoden

Die vorliegende Arbeit wurde als Fall-Kontroll-Assoziationsstudie konzipiert, um die Auswirkungen genetischer Polymorphismen im AADAT-Gen auf die Ätiologie der Schizophrenie zu untersuchen. Hierzu wurde die Häufigkeit bestimmter Allele und Genotypen bei erkrankten und nichterkrankten Personen verglichen. Assoziationsstudien bieten die Möglichkeit, Gene mit geringem Effekt auf die Krankheitsentstehung nachzuweisen {Tandon et al. 2008}. Dadurch eignen sie sich insbesondere für genetische Untersuchungen zur Schizophrenie, da hier von einem polygenen Erbgang ausgegangen wird, mit jeweils eher geringem Effekt der einzelnen genetischen Veränderungen {Owen et al. 2009}. Ein Nachteil dieses Studiendesigns zeigt sich allerdings in der erhöhten Anfälligkeit für falsch positive oder falsch negative Ergebnisse, verursacht zum Beispiel durch die gleichzeitige Analyse sehr vieler SNPs oder auch durch die zu geringe Stichprobengröße bei seltenen Genvariationen. Ebenso können genetische Differenzen zwischen den einzelnen Stichproben die Vergleichbarkeit der Ergebnisse beeinträchtigen {Owen 2000; McClellan et al. 2007; Hunter & Kraft 2007}.

Für die Entdeckung von Polymorphismen mit kleinem Beitrag für die Krankheitsentstehung ist die Größe der Patientenstichprobe ein wesentlicher Faktor {Colhoun et al. 2003}. Bei der vorliegenden Untersuchung wurden 512 Patienten und 1319 Kontrollpersonen eingeschlossen, womit im Vergleich zu anderen Assoziationsstudien zwar eine relativ umfangreiche Stichprobengröße erreicht wurde {Chumakov et al. 2002; de Souza et al. 2011}, diese jedoch gemessen an dem erwarteten Effekt der SNPs deutlich zu gering für eine reliable Aussage ist, so dass die Ergebnisse als erstes Screening eingeschätzt werden müssen. Bei größeren Patientenstichproben, wie sie in nachfolgenden Assoziationsstudien oder Metaanalysen umgesetzt werden können, besteht die Möglichkeit, weitere seltene Genvariationen mit Auswirkungen auf die Ätiopathogenese der Schizophrenie aufzufinden.

Für die Vergleichbarkeit der Patienten und der Kontrollpersonen ist eine ähnliche Altersstruktur zwischen den beiden Gruppen erforderlich. Da das Prädilektionsalter der Schizophrenie zwischen dem 22. und 32. Lebensjahr liegt {Häfner & an der Heiden 1999}, sollte

zudem beachtet werden, dass es im Falle eines zu niedrigen Altersdurchschnittes bei den Kontrollpersonen zu falsch negativen Ergebnissen kommen könnte, da zukünftige Krankheitsausbrüche bei vermeintlich gesunden Kontrollpersonen nicht ausgeschlossen werden können. Bei zu jungen Patienten kann hingegen noch nicht der vollständige Krankheitsverlauf sowie die Symptomatik in der schwerwiegendsten Krankheitsphase eingeschätzt werden, was insbesondere bei Studien relevant ist, welche Endophänotypen oder die Erforschung neurokognitiver Defizite einbeziehen. In der vorliegenden Stichprobe lagen das durchschnittliche Alter der Patienten bei 37,7 Jahren mit einer Standardabweichung von 11,34 Jahren, und das der Kontrollpersonen bei 46,3 Jahren mit einer Standardabweichung von 11,3 Jahren. Somit befand sich der Altersdurchschnitt beider Gruppen über dem Prädilektionsalter, wobei einzelne fehlerhafte Ergebnisse jedoch nicht völlig ausgeschlossen werden können.

Allel- und Genotypfrequenzen zwischen verschiedenen Ethnien weisen eine hohe Variabilität auf, wodurch es zu verzerrten Ergebnissen in der Studie kommen könnte. Um dies zu vermeiden, ist auf ein ethnisch homogenes Untersuchungskollektiv zu achten. In unserer Studie wurden ausschließlich Patienten aus dem kaukasischen Raum eingeschlossen, deren Eltern und Großeltern ebenfalls kaukasischer Abstammung waren. Das Kontrollkollektiv setzte sich aus deutschen Probanden mit deutschstämmigen Eltern und Großeltern zusammen. Im „International HapMap Project“ analysierten Wissenschaftler aus mehreren Nationen die unterschiedlichen Allel- und Genotypverteilungen bei verschiedenen ethnischen Gruppen. Untersucht wurden dabei US-Amerikaner mit Vorfahren aus Nord- und Westeuropa (HapMap-CEU), Han Chinesen aus Peking (HapMap-HCB), Japaner aus Tokyo (HapMap-JPT) und Afrikaner aus dem Volk der Yoruba aus Ibadan, Nigeria (HapMap-YRI) {International HapMap Consortium 2012}. Die dabei gewonnenen Ergebnisse für die hier untersuchten SNPs sowie die eigenen Daten sind in Tabelle 23 aufgelistet. Die großen Verteilungsunterschiede zwischen den ethnischen Gruppen werden darin gut ersichtlich. Besonders deutlich zeigt sich dies beispielsweise bei SNP rs2622068. Hier liegt das A-Allel in der kaukasischen Gruppe mit 37,2% deutlich seltener vor als in der chinesischen (97,7%), japanischen (92,9%) oder afrikanischen Gruppe (81,4%).

Tabelle 23: Allel- und Genotyp-Verteilungen der untersuchten SNP bei verschiedenen Ethnien sowie bei der Patienten- und Kontrollgruppe (HapMap-CEU: US-Amerikaner mit Vorfahren aus Nord- und Westeuropa; HapMap-HCB: Han Chinesen aus Peking; HapMap-JPT: Japaner aus Tokyo; HapMap-YRI: Afrikaner aus dem Volk der Yoruba aus Ibadan, Nigeria) {International HapMap Consortium 2012}

| rs2955256 | Genotyp C/C | Genotyp C/T | Genotyp T/T | Allel C | Allel T |
|------------|-------------|-------------|-------------|---------|---------|
| HapMap-CEU | 49,6% | 41,6% | 8,8% | 70,4% | 29,6% |
| HapMap-HCB | 4,7% | 37,2% | 58,1% | 23,3% | 76,7% |
| HapMap-JPT | 11,6% | 44,2% | 44,2% | 33,7% | 66,3% |
| HapMap-YRI | 37,2% | 42,5% | 20,4% | 58,4% | 41,6% |
| Patienten | 51,2% | 38,5% | 10,3% | 70,5% | 29,5% |
| Kontrollen | 48,5% | 41,9% | 9,6% | 69,4% | 30,6% |
| rs10213032 | Genotyp A/A | Genotyp A/G | Genotyp G/G | Allel A | Allel G |
| HapMap-CEU | 76,7% | 23,3% | 0,0% | 88,3% | 11,7% |
| HapMap-HCB | 60,0% | 37,8% | 2,2% | 78,9% | 21,1% |
| HapMap-JPT | 57,8% | 35,6% | 6,7% | 75,6% | 24,4% |
| HapMap-YRI | 65,0% | 31,7% | 3,3% | 80,8% | 19,2% |
| Patienten | 82,1% | 16,9% | 1,0% | 90,6% | 9,4% |
| Kontrollen | 80,7% | 18,5% | 0,8% | 90,0% | 10,0% |
| rs716822 | Genotyp A/A | Genotyp A/G | Genotyp G/G | Allel A | Allel G |
| HapMap-CEU | 0,9% | 12,4% | 86,7% | 7,1% | 92,9% |
| HapMap-HCB | 0,0% | 0,0% | 100,0% | 0,0% | 100,0% |
| HapMap-JPT | 0,0% | 0,0% | 100,0% | 0,0% | 100,0% |
| HapMap-YRI | 2,7% | 26,5% | 70,8% | 15,9% | 84,1% |
| Patienten | 0,6% | 15,3% | 84,1% | 8,3% | 91,7% |
| Kontrollen | 1,4% | 16,7% | 81,9% | 9,7% | 90,3% |
| rs17711677 | Genotyp C/C | Genotyp C/G | Genotyp G/G | Allel C | Allel G |
| HapMap-CEU | 0,0% | 1,8% | 98,2% | 0,9% | 99,1% |
| HapMap-HCB | 0,0% | 25,6% | 74,4% | 12,8% | 87,2% |
| HapMap-JPT | 4,7% | 29,1% | 66,3% | 19,2% | 80,8% |
| HapMap-YRI | 0,0% | 1,8% | 98,2% | 0,9% | 99,1% |
| Patienten | 0,2% | 5,1% | 94,7% | 2,7% | 97,3% |
| Kontrollen | 0,1% | 4,6% | 95,3% | 2,4% | 97,6% |
| rs2622068 | Genotyp A/A | Genotyp A/G | Genotyp G/G | Allel A | Allel G |
| HapMap-CEU | 12,4% | 49,6% | 38,1% | 37,2% | 62,8% |
| HapMap-HCB | 95,3% | 4,7% | 0,0% | 97,7% | 2,3% |
| HapMap-JPT | 88,2% | 9,4% | 2,4% | 92,9% | 7,1% |
| HapMap-YRI | 67,3% | 28,3% | 4,4% | 81,4% | 18,6% |
| Patienten | 19,2% | 44,7% | 36,1% | 41,6% | 58,4% |
| Kontrollen | 19,8% | 50,3% | 29,9% | 44,9% | 55,1% |
| rs963660 | Genotyp A/A | Genotyp A/G | Genotyp G/G | Allel A | Allel G |
| HapMap-CEU | 0,0% | 20,0% | 80,0% | 10,0% | 90,0% |
| HapMap-HCB | 22,2% | 51,1% | 26,7% | 47,8% | 52,2% |
| HapMap-JPT | 13,3% | 57,8% | 28,9% | 42,2% | 57,8% |
| HapMap-YRI | 0,0% | 3,3% | 96,7% | 1,7% | 98,3% |
| Patienten | 1,8% | 16,3% | 81,9% | 10,0% | 90,0% |
| Kontrollen | 1,8% | 19,7% | 78,5% | 11,7% | 88,3% |
| rs2466990 | Genotyp A/A | Genotyp A/G | Genotyp G/G | Allel A | Allel G |
| HapMap-CEU | 39,8% | 44,2% | 15,9% | 61,9% | 38,1% |
| HapMap-HCB | 0,0% | 7,0% | 93,0% | 3,5% | 96,5% |
| HapMap-JPT | 2,3% | 9,3% | 88,4% | 7,0% | 93,0% |
| HapMap-YRI | 0,0% | 39,3% | 60,7% | 19,6% | 80,4% |
| Patienten | 34,5% | 45,6% | 19,9% | 57,3% | 42,7% |
| Kontrollen | 30,5% | 49,0% | 20,5% | 55,0% | 45,0% |
| rs6553486 | Genotyp C/C | Genotyp C/G | Genotyp G/G | Allel C | Allel G |
| HapMap-CEU | 41,7% | 40,0% | 18,3% | 61,7% | 38,3% |
| HapMap-HCB | 11,1% | 33,3% | 55,6% | 27,8% | 72,2% |
| HapMap-JPT | 15,6% | 40,0% | 44,4% | 35,6% | 64,4% |
| HapMap-YRI | 63,3% | 35,0% | 1,7% | 80,8% | 19,2% |
| Patienten | 38,0% | 44,7% | 17,3% | 60,4% | 39,6% |
| Kontrollen | 32,7% | 50,3% | 17,0% | 57,9% | 42,1% |

Analog liegt auch die Häufigkeit des A/A-Genotyps in der kaukasischen Gruppe lediglich bei 12,4%, während dieser in der chinesischen Gruppe mit 95,3%, in der japanischen Gruppe mit 88,2% und in der afrikanischen Gruppe mit 67,3% wesentlich häufiger vertreten ist. Die Ergebnisse zeigen weiterhin, dass sich die Allel- und Genotypverteilungen des Untersuchungskollektivs in einem ähnlichen Rahmen befinden wie die des kaukasischen US-Kollektivs aus der „International HapMap Project“ Untersuchung, womit die Vergleichbarkeit der hier vorliegenden Untersuchungsergebnisse mit anderen Stichproben kaukasischen Ursprungs unterstrichen wird.

Das Krankheitsbild der Schizophrenie zeigt sich so vielfältig, dass schon lange darüber diskutiert wird, ob es sich dabei um eine einzelne Erkrankung oder vielmehr um ein Konglomerat phänotypisch ähnlicher Krankheitsbilder und Syndrome handelt {Tandon et al. 2009; Häfner et al. 2013; Kendler 2015}. Da zudem noch keine objektiv messbaren Diagnosekriterien zur Verfügung stehen, und die Diagnose der Erkrankung zu einem gewissen Teil von der subjektiven Einschätzung des jeweiligen Untersuchers abhängt, besteht bei der Erkrankung eine nicht zu vernachlässigende Diagnoseunsicherheit. Um dennoch bestmögliche Ergebnisse bei der Auswertung zu erzielen, wurde für die vorliegende Untersuchung eine umfassende Diagnostik mit strengen Ein- und Ausschlusskriterien festgelegt. Vor dem Einschluss in die Patientengruppe erfolgten bei den Teilnehmern eine ausführliche Anamneseerhebung sowie gegebenenfalls die Auswertung der früheren Arztbriefe. Zur Sicherung der vorliegenden Diagnose wurde das Strukturierte Klinische Interview für DSM-IV (SKID) durchgeführt. Das SKID erwies sich in Untersuchungen als Diagnosetool mit hoher Reliabilität und wurde auch bereits bei verschiedenen anderen Studien angewendet {Fogelson et al. 1991; Sullivan et al. 2008; Athanasiu et al. 2010}. Das dazu basierende DSM-4 wird zudem im Vergleich zum ICD10 als Klassifikationssystem in der internationalen wissenschaftlichen Literatur bevorzugt {Möller et al. 2011}. Trotz einiger Hinweise auf mögliche gemeinsame genetische Ursachen {Cardno & Owen 2014} wurden Patienten mit schizoaffektiver Erkrankung nicht in die Untersuchung aufgenommen. Obwohl dies mit einer geringeren Teilnehmerzahl einherging, sollte dadurch eine krankheitsspezifischere Auswertung gewährleistet werden. Aus demselben Grund waren ebenso Patienten von der Teilnahme ausgeschlossen, die in der Vergangenheit Faktoren ausgesetzt waren, welche eventuell mit hirnnorganischen Schädigungen einhergehen und somit die Ursache schizophrenie-ähnlicher Krankheitsbilder sein könnten. Dazu zählten zum Beispiel Unfälle mit zentralnervöser

Beteiligung, neurologische Erkrankungen oder auch Drogenkonsum. Um die Diagnose der Schizophrenie weiter zu erhärten und die Ausprägung der Positiv- und Negativsymptome eingehender zu analysieren, wurde bei den Patienten neben dem SKID auch die Positiv- und Negativ-Syndrom Skala (PANSS) angewendet, welche ebenfalls eine hohe Reliabilität und Validität bietet {Kay et al. 1988; Peralta & Cuesta 1994; Kumari et al. 2017}. Da die Ergebnisse beider Diagnoseinstrumente allerdings zum großen Teil auf den persönlichen Aussagen der Betroffenen beruhen, lassen sich methodische Fehler aufgrund bewusster oder unbewusster Falschangaben nicht vollständig ausschließen. Wegen der großen Heterogenität der Erkrankung könnte zudem die fehlende Untergruppierung der Patienten in die entsprechenden Schizophrenie-Subtypen als Schwäche der Untersuchung ausgelegt werden, da dies möglicherweise zu noch spezifischeren Ergebnissen beigetragen hätte. Allerdings spielt die Einteilung in Untergruppen in Zukunft wohl keine große Rolle mehr, da eine dementsprechende Differenzierung der Schizophrenie in der aktuellen Version des DSM (DSM V) gestrichen wurde {American Psychiatric Association 2013}.

Bei genetischen Vergleichsuntersuchungen zwischen Erkrankten und Nichterkrankten ist der bestmögliche Ausschluss der Erkrankung in der Kontrollgruppe ebenso sinnvoll wie die Sicherung der Diagnose in der Patientengruppe. Hierzu wurden die potentiellen Teilnehmer der Kontrollgruppe ausführlichen Interviews und Fragebögen unterzogen, um ungeeignete Teilnehmer in Bezug auf ihre Eigen- und Familienanamnese zu erkennen. Da der damit anfallende Zeit- und Arbeitsaufwand nicht unerheblich ist, wird in anderen Studien häufig auf eine ebenso strenge Auswahl der Kontrollprobanden verzichtet. In GWAS von Kirov et al. {Kirov et al. 2009} oder zum Teil auch bei O'Donovan et al. {O'Donovan et al. 2008} wurden zum Beispiel lediglich Blutspender ohne Screening auf psychiatrische Erkrankungen als Kontrollprobanden eingesetzt. Allerdings kann dieses Vorgehen bei einer ausreichend großen Stichprobe und der Untersuchung einer seltenen Erkrankung wie der Schizophrenie auch als zulässig gewertet werden, obgleich darin eine erhöhte Möglichkeit besteht, Variationen mit sehr geringem Effekt falsch negativ zu deuten.

Bei der Schizophrenie liegt ein komplexer Erbgang vor, bei dem die Erkrankungswahrscheinlichkeit mit dem Verwandtschaftsgrad zu einem Betroffenen korreliert. Da sich die Suszeptibilitätsorte für Schizophrenie und andere psychiatrische Erkrankungen, wie zum Beispiel Autismus oder bipolare Erkrankung, teilweise überschneiden,

wurden in dieser Arbeit neben der Gesamtgruppe der Patienten auch die Untergruppe der Patienten mit schizophrenen Erstgradangehörigen, die Untergruppe der Patienten mit schizophrenen Angehörigen und die Untergruppe der Patienten mit psychisch erkrankten Angehörigen mit den Kontrollprobanden verglichen. Hinsichtlich des AADAT-Gens wurde eine vergleichbare Studie bislang noch nicht durchgeführt. Obwohl anzunehmen wäre, dass sich eine unterschiedliche Genotyp-/Allelverteilung zwischen Patienten und Kontrollen umso stärker zeigen sollte, je größer die familiäre Belastung ist, konnte dies in der vorliegenden Studie aufgrund der inkonsistenten Befunde zwischen den verschiedenen Subgruppen nur bedingt untermauert werden. Allerdings unterstützte insbesondere die Untersuchung der Subgruppe „Patienten mit psychiatrisch erkrankten Angehörigen“ zu einem Teil die Hypothese einer Pleiotropie psychischer Erkrankungen.

5.3 Diskussion der Ergebnisse

Trotz vieler Erkenntnisse und Theorien ist die Ätiopathogenese der Schizophrenie bislang nicht vollkommen geklärt. In den letzten Jahren konnten allerdings bei molekulargenetischen Untersuchungen mehrere hundert genomische Loci identifiziert werden, die mit der Schizophrenieerkrankung assoziiert sind. Der schon in früheren Jahren vermutete hochpolygene Erbgang der Schizophrenie konnte hierdurch bestätigt werden. Dabei zeigte sich, dass viele der identifizierten Genorte mit der dopaminergen und glutamatergen Neurotransmission in Zusammenhang stehen. Weiterhin erbrachten die Untersuchungen starke Hinweise für die Pleiotropie psychischer Erkrankungen und beschäftigten sich sehr mit den Einflüssen von Umweltfaktoren auf die Genexpression {Owen et al. 2016}.

In der vorliegenden Arbeit wurden Polymorphismen im AADAT-Gen untersucht. AADAT codiert das Enzym Kynureninaminotransferase 2 (KAT2), welches im Rahmen des Tryptophan-/Kynureninstoffwechsels Kynureninsäure produziert {Goh et al. 2002; Nematollahi 2016 a}.

Kynureninsäure liegt in der Cerebrospinalflüssigkeit und in bestimmten Hirnarealen von Schizophreniepatienten in erhöhten Konzentrationen vor {Linderholm et al. 2012}. In der Metaanalyse von Plitman et al. konnte dies erneut bestätigt werden. Dabei gab es auch Hinweise, dass die Merkmale Alter des Patienten, antipsychotische Medikation sowie männliches Geschlecht mit dem zentralen Kynureninsäurespiegel positiv korrelieren.

Erwähnenswert ist zudem, dass bei peripheren Messungen der Kynureninsäure, wie zum Beispiel im Plasma oder Serum, keine Unterschiede zu gesunden Kontrollpersonen gefunden werden konnten {Plitman et al. 2017}.

Es existieren zahlreiche Belege, dass Kynureninsäure in inverser bidirektionaler Beziehung zu mehreren Neurotransmittern steht, darunter Glutamat, Dopamin, Acetylcholin und GABA. Auch der direkte Einfluss der Kynureninsäure auf die neuronale Aktivität konnte umfassend nachgewiesen werden, insbesondere die Aktivierung dopaminerger Neuronen im Mittelhirn, welche mutmaßlich auf die antagonistische Wirkung der Kynureninsäure auf glutamaterge Rezeptoren zurückzuführen ist. Daneben konnte auch ein direkter Einfluss von Kynureninsäure auf Verhaltensebene vielfach nachgewiesen werden. Bei Tierversuchen führten beispielsweise eine gezielte Erhöhungen der cerebralen Kynureninsäurespiegel zu schizophrenietypischen kognitiven Beeinträchtigungen, wohingegen eine Verminderung der Kynureninsäure die kognitiven Funktionen verbesserte {Linderholm et al. 2012; Erhardt et al. 2017; Plitman et al. 2017}.

Angesichts dieser Beobachtungen erscheint eine mögliche Beteiligung von Kynureninsäure bei der Ätiopathogenese der Schizophrenie sehr plausibel. Es stellt sich in der Folge die Frage warum und durch welche Mechanismen es zu erhöhten zerebralen Kynureninsäurekonzentrationen bei schizophrenen Patienten kommen kann. Hierbei stehen insbesondere ein möglicher gestörter Kynureninstoffwechsel und die daran beteiligten Substrate und Enzyme im Focus des Interesses {Kegel et al. 2014}.

Wie zuvor beschrieben entsteht Kynureninsäure im Rahmen des Tryptophanstoffwechsel über Kynurenin. Kynurenin kann im Gegensatz zu Kynureninsäure gut die Blut-Hirn Schranke überwinden {Fukui et al. 1991}. Im Hirn steht Kynurenin schließlich der KAT2 als Substrat zur Bildung von Kynureninsäure zur Verfügung {Albuquerque & Schwarcz 2013}. Es wäre denkbar, dass eine höhere Verfügbarkeit von Kynurenin in der Folge auch zu höheren Kynureninsäurespiegeln führt. Hierfür passend gehen bei schizophrenen Patienten erhöhte periphere Kynureninspiegel auch mit erhöhten cerebralen Kynurenin- und Kynureninsäurespiegeln einher {Linderholm et al. 2012}. Es wird vermutet, dass entzündliche Prozesse die Enzyme des Kynureninstoffwechsels aktivieren und somit zu einer Zunahme des peripheren Kynurenins führen könnten {Schwieler et al. 2015; Erhardt et al. 2017}.

Bei Untersuchungen zu Aktivität und Expression der Kynureninstoffwechelenzyme zeigte sich bei schizophrenen Patienten insbesondere eine erhöhte TDO2- und eine verringerte KMO-Aktivität und teilweise auch eine damit einhergehende erhöhte Kynureninsäurekonzentration {Plitman et al. 2017}. Es konnte zudem gezeigt werden, dass Polymorphismen im KMO-Gen mit erhöhten zerebralen Kynureninsäurespiegel assoziiert sind {Holtze et al. 2012}, darüber hinaus wurden in präklinischen Studien nach Verabreichung von KMO-Blockern ebenfalls erhöhte Kynureninsäurespiegel beobachtet {Jacobs et al. 2017}.

Eine weitere Möglichkeit zur Erhöhung der zerebralen Kynureninsäure könnte in der Aktivierung von Astrozyten liegen, in welchen die für die Kynureninsäureproduktion verantwortliche KAT2 hauptsächlich vorliegen. Zur Unterstützung hierfür wurde bei Schizophreniepatienten Erhöhungen von S100B, einem Marker für die Astrozytenfunktion gefunden, die eine erhöhte astrozytische Aktivität widerspiegeln {Aleksavska et al. 2014}. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass die Verabreichung von Interleukin 6 an kultivierte menschliche Astrozyten die Kynureninsäure erhöht, und dies somit auch im Einklang mit den diskutierten Entzündungsmechanismen steht {Schwieler et al. 2015}.

Bislang liegen kaum Studien vor, die gezielt das AADAT-Gen in Hinblick auf die Schizophrenie untersuchen. Bei GWAS konnten keine relevanten (i.e. signifikanten) Ergebnisse erzielt werden {Psychiatric Genomics Consortium 2014; Pardiñas et al. 2018}. Beachtenswert sind allerdings die Untersuchungsergebnisse von Coutinho et al., welche eine Assoziation zwischen einem Polymorphismus im AADAT Gen und erhöhten Kynureninsäurespiegeln bei Patienten mit Meningitis nachweisen konnte {Coutinho et al. 2014}. Interessanterweise liegt der betroffene SNP (rs1480544) aus deren Veröffentlichung in hohem Kopplungsungleichgewicht mit den beiden SNPs rs6553486 ($r^2=0,76$; $D'=1$) und rs2466990 ($r^2=0,73$; $D'=0,89$) aus der vorliegenden Arbeit, welche beide auf Haplotypblock 1 liegen.

Die Studie von Li et al., welche eine Assoziation zwischen de-novo Mutationen im AADAT-Gen und Autismus belegte {Li et al. 2018}, könnte zudem einen weiteren Hinweis für die Pleiotropie psychischer Erkrankungen liefern.

In der vorliegenden Arbeit konnten bei vier der acht untersuchten Polymorphismen tendenzielle oder signifikante Assoziationen zur Schizophrenie nachgewiesen werden.

Alle vier betroffenen Polymorphismen liegen in verschiedenen Introns des AADAT-Gens. Introns stellen nichtcodierende Bereiche eines Gens dar, da die entsprechenden Sequenzen nach der Transkription aus der prä-mRNA gespleißt werden. Introns können jedoch Bindungsstellen für Spleißfaktoren oder Transkriptionsfaktoren enthalten, so dass bei Polymorphismen in diesen Bereichen zwar kein direkter Einfluss auf das Genprodukt zu erwarten ist, wohl jedoch z.B. eine Modulation der Proteinmenge durch reduzierte oder erhöhte Expression der mRNA oder des Mengenverhältnisses der Isoformen zueinander möglich ist {Kabat et al. 2006}.

Auffällig in den Befunden sind die sehr heterogenen Ergebnisse zwischen den vier verschiedenen Patientensubgruppen. Näheres hierzu in den folgenden Erläuterungen zu den einzelnen Polymorphismen.

rs2622068

In der Gesamtgruppe der Schizophreniepatienten lagen die stärksten Ergebnisse bei Polymorphismus rs2622068 vor. Hier zeigte sich das seltenere A-Allel bei den Patienten tendenziell seltener, die A-Allelträger kamen in dieser Gruppe signifikant seltener vor. Es zeigte sich zudem ein signifikanter Unterschied in der Genotypverteilung. Dabei kam der GG-Genotyp häufiger, und der AA- und AG-Genotyp seltener bei den Patienten vor.

In den Untergruppen konnten die Resultate der Gesamtgruppe jedoch nicht in dieser Stärke reproduziert werden. Lediglich in der Gruppe der „Patienten mit psychisch erkrankten Angehörigen“ lag ebenfalls das A-Allel tendenziell seltener und die Anzahl der A-Allelträger signifikant niedriger vor.

Aus den Ergebnissen lässt sich interpretieren, dass das A-Allel bei diesem Polymorphismus möglicherweise eine schützende Komponente vor der Erkrankung darstellt. Sowohl in der Gesamtgruppe als auch in der beschriebenen Untergruppe kommen die A-Allele oder die A-Allelträger tendenziell oder signifikanter seltener bei den Patienten vor. Bestärkt wird diese Hypothese durch das seltenere Auftreten des AA- und AG-Genotyps in der Gesamtgruppe der schizophrenen Patienten.

Die inkonsistenten Ergebnisse zwischen den Untergruppen sind möglicherweise dem komplexen Erbgang der Schizophrenie geschuldet. Es wäre denkbar, dass das Fehlen des A-

Allels öfter bei einer spontanen Manifestation der Erkrankung auftritt als bei Erkrankten mit familiärer Belastung. Möglicherweise liegt die Ursache der Inkonsistenz auch in Schwächen der angewendeten statistischen Verfahren. Diese ließen sich mit Tests zur Reliabilität prüfen. Da hierfür jedoch eine Mindestgröße der Stichprobe erforderlich ist, könnte es sein, dass der Effekt des Polymorphismus in den Subgruppen nicht mehr signifikant nachweisbar ist, da die Subgruppen kleiner als die Gesamtgruppe der Schizophreniepatienten sind.

rs6553486

Bei Polymorphismus rs6553486 zeigte sich in der Gesamtgruppe der Schizophreniepatienten ein signifikant selteneres Auftreten der G-Allelträger, sowie eine tendenziell unterschiedliche Genotypverteilung im Vergleich zur Kontrollgruppe.

In den Untergruppen sind die Ergebnisse der Gesamtkohorte auch bei diesem Polymorphismus nicht replizierbar. Lediglich in der Untergruppe der „Patienten mit psychisch erkrankten Angehörigen“ findet sich auch ein tendenziell niedrigerer Wert bei den G-Allelträgern.

Möglicherweise zeigt sich das seltenere Auftreten eines G-Allels eher bei spontan erkrankten Patienten sowie bei Patienten, deren Familienmitglieder einen anderen Phänotyp von psychiatrischer Erkrankung aufweisen. Ein weiterer Erklärungsansatz für die differierenden Ergebnisse könnte auch hier in methodischen oder statistischen Gründen liegen, insbesondere in der kleinen Stichprobengröße.

rs17711677

Bei SNP rs17711677 zeigten sich tendenzielle oder signifikante Werte nur in der Untergruppe der „Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Erstgradangehörigen“. Hier lag das seltenere C-Allel tendenziell häufiger vor, die Anzahl der C-Allelträger war signifikant erhöht. Bei der Genotypverteilung zeigte sich zudem eine tendenziell unterschiedliche Verteilung im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Scheinbar prägt das Risikoallel rs17711677-C seinen Effekt nur im 1. Grad der Verwandtschaft aus, während weiter entfernte Verwandte oder spontan Erkrankte davon nicht berührt

werden. Auch hier läge ein alternativer Erklärungsansatz in methodischen oder statistischen Mängeln.

rs963660

Während bei Polymorphismus rs963660 in der Gesamtgruppe der Schizophreniepatienten keine tendenziellen oder signifikanten Ergebnisse vorlagen, zeigte sich in allen Untergruppen eine tendenziell oder signifikant erniedrigte Anzahl von A-Allelträgern. In der „Untergruppe Patienten mit psychisch erkrankten Angehörigen lag das A-Allel zudem signifikant seltener vor. Zusätzlich zeigte sich in allen drei Untergruppen ein tendenzieller oder signifikanter Unterschied in der Genotypverteilung.

Offensichtlich spielt der Polymorphismus bei spontan Erkrankten keine größere Rolle, wohingegen die unterschiedlichen Ergebnisse in den Subgruppen möglicherweise wieder dem komplexen Erbgang der Schizophrenie geschuldet sind. Wie zuvor könnten aber auch hier methodische oder statistische Effekte vorliegen.

Für die Polymorphismen rs2955256, rs10213032, rs716822, rs2466990 konnten keine Assoziation nachgewiesen werden.

Die Ergebnisse legen insgesamt die Vermutung nahe, dass das AADAT-Gen Einfluss auf die Ätiopathogenese der Schizophrenie nimmt. Eine weitere Untersuchung des Gens wäre wünschenswert, insbesondere dabei auch unter Einbeziehung weiterer SNPs in deutlich größeren Stichproben, und hinsichtlich einer möglichen Replikation der Ergebnisse in anderen ethnischen Untersuchungskollektiven. Darüber hinaus sollte untersucht werden, ob die betroffenen Polymorphismen mit veränderten Kynureninsäurespiegel einhergehen und welche strukturellen Änderungen gegebenenfalls die Funktionalität des Enzyms beeinflussen. Weiterhin sollte das Zusammenspiel mit anderen Genen, insbesondere solchen, die ebenfalls in Kynureninstoffwechsel beteiligt sind, und deren Substrate und Produkte weiter untersucht werden. Längsmessungen von Kynureninsäure im Krankheitsverlauf könnten zudem helfen, deren Rolle in der Pathophysiologie der Schizophrenie genauer zu definieren.

6 Zusammenfassung

Die Schizophrenie ist eine der schwerwiegendsten psychiatrischen Erkrankungen, mit großen Auswirkungen auf die Erkrankten, deren Angehörigen und die Gesellschaft. Weltweit sind derzeit ca. 21 Millionen Menschen daran erkrankt, wobei die Erkrankungszahlen und Krankheitsverläufe zwischen den verschiedenen Kulturen und geographischen Regionen vergleichbar sind.

Die Ätiologie ist noch nicht vollständig geklärt, allerdings wird von einer multifaktoriellen Genese ausgegangen, welche sowohl genetische Faktoren als auch Umweltfaktoren einschließt.

Bei verschiedenen Studienansätzen konnten bereits zahlreiche Suszeptibilitätssorte für die Schizophrenie identifiziert werden. Fall-Kontroll-Assoziationsstudien eignen sich dabei besonders, um Risikoallele mit eher geringem Effekt auf die Erkrankung aufzuspüren.

Die Aminoacidat-Aminotransferase ist hauptverantwortlich für die Bildung von Kynureninsäure im menschlichen Gehirn. Kynureninsäure ist antagonistisch wirksam an NMDA- und $\alpha 7nACh$ -Rezeptoren. Bei Schizophreniepatienten wurden erhöhte Spiegel der Substanz in der Cerebrospinalflüssigkeit sowie im präfrontalen Kortex nachgewiesen. Bei verschiedenen Untersuchungen konnten durch pharmakologisch erhöhte Kynureninsäure-Spiegel klinische Symptome einer Schizophrenie ausgelöst werden, zudem wurden Auswirkungen auf die dopaminerge, glutamaterge und cholinerge Signalübertragung belegt.

In der vorliegenden Untersuchung wurden acht Single Nukleotid Polymorphismen im AADAT-Gen auf eine Assoziation zur Schizophrenie untersucht. Das Untersuchungskollektiv setzte sich aus 512 Patienten und 1319 Kontrollpersonen zusammen. Aus dem Patientenkollektiv wurden zudem noch die drei Untergruppen „Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Erstgradangehörigen“, „Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen“ und „Patienten mit psychisch erkrankten Angehörigen“ gebildet und jeweils gesondert mit den Kontrollpersonen verglichen. Die Sicherung der Diagnose erfolgte bei den Patienten unter anderem mit der Durchführung des SKID.

Für die vier Polymorphismen rs6553486, rs963660, rs2622068 und rs17711677 konnten tendenzielle oder signifikante Ergebnisse entweder im Case-Control-Vergleich und/oder einer der gebildeten Subgruppen gefunden werden. Entsprechend liegt die Vermutung nahe, dass das AADAT-Gen Einfluss auf die Ätiopathogenese der Schizophrenie nimmt.

Für die Zukunft wäre eine weitere Erforschung des Gens wünschenswert, insbesondere hinsichtlich einer Ausweitung der Untersuchung auf weitere Single Nukleotid Polymorphismen in größeren Stichproben sowie einer Replikation der Ergebnisse in anderen ethnischen Untersuchungskollektiven. Interessant wäre auch eine weitere Fokussierung des Forschungsschwerpunktes auf das Zusammenspiel mit anderen Genen, um dem komplexen Erbgang der Schizophrenie und anderen psychiatrischen Erkrankungen gerecht zu werden.

7 Abkürzungsverzeichnis

AADAT *Aminoacidipat-Aminotransferase*

ALS *Amyotrophe Lateralsklerose*

ANA *Anamnesebogen*

CNV *Copy number variation*

ddNTP *Didesoxyribonukleosidtriphosphate*

DSM *Diagnostical and Statistical Manual of Mental Disorders*

DNA *deoxyribonucleic acid*

dNTP *Desoxyribonukleosidtriphosphat*

EDTA *Ethylendiamintetraacetat*

GABA *Gamma Amino-Buttersäure*

GWAS *Genomweite Assoziationsstudie(n)*

HIV *Humanes Immundefizienz-Virus*

ICD *International Classification of Diseases*

ISC *International Schizophrenia Consortium*

KAT *Kynurenin-Aminotransferase*

kb *Kilobasen*

LD *Linkage Disequilibrium*

MALDI-TOF *Matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight*

MHC *Major Histocompatibility Complex*

mRNA *messenger ribonucleic acid*

NAD⁺ *Nikotinamidadenindinukleotid*

ng *Nanogramm*

nm *Nanometer*

NMDA *N-Methyl-D-Aspartat*

PANSS *Positive and Negative Syndrome Scale*

PBS *phosphate buffered saline*

PCR *Polymerase Chain Reaction*

PET *Positronen-Emissions-Tomographie*

PLP *Pyridoxalphosphat*

rpm *revolutions per minute*

SAP *Shrimp Alkaline Phosphatase*

S-ESBA *(S)-4-(ethylsulfonyl)benzoylalanine*

SKID *Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV*

SNP *Einzelnukleotid-Polymorphismus; Single Nucleotide Polymorphism*

SPECT *Single Photon Emission Computed Tomography*

Taq *Thermus aquaticus*

WHO *World Health Organisation*

ZNS *Zentralnervensystem*

$\alpha 7nACh$ *Alpha-7-nikotinischer Acetylcholinrezeptor*

μl *Mikroliter*

8 Literaturverzeichnis

Aboraya, Ahmed; Nasrallah, Henry A. (2016): Perspectives on the Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS). Use, misuse, drawbacks, and a new alternative for schizophrenia research. In: *Annals of clinical psychiatry: official journal of the American Academy of Clinical Psychiatrists* 28 (2), S. 125–131.

Addington, Jean; Liu, Lu; Buchy, Lisa; Cadenhead, Kristin S.; Cannon, Tyrone D.; Cornblatt, Barbara A. et al. (2015): North American Prodrome Longitudinal Study (NAPLS 2). The Prodromal Symptoms. In: *The journal of nervous and mental disease* 203 (5), S. 328–335. DOI: 10.1097/NMD.0000000000000290.

Albuquerque, Edson X.; Schwarcz, Robert (2013): Kynurenic acid as an antagonist of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors in the brain. Facts and challenges. In: *Biochemical pharmacology* 85 (8), S. 1027–1032. DOI: 10.1016/j.bcp.2012.12.014.

Aleksovskaja, Katina; Leoncini, Emanuele; Bonassi, Stefano; Cesario, Alfredo; Boccia, Stefania; Frustaci, Alessandra (2014): Systematic review and meta-analysis of circulating S100B blood levels in schizophrenia. In: *PloS one* 9 (9), e106342. DOI: 10.1371/journal.pone.0106342.

Allen, Nicole C.; Bagade, Sachin; McQueen, Matthew B.; Ioannidis, John P A; Kavvoura, Fotini K.; Khoury, Muin J. et al. (2008): Systematic meta-analyses and field synopsis of genetic association studies in schizophrenia: the SzGene database. In: *Nature genetics* 40 (7), S. 827–834. DOI: 10.1038/ng.171.

American Psychiatric Association (2000): *Diagnostic and statistical manual of mental disorders. DSM-IV-TR. 4th ed., text revision.* Washington, DC.

American Psychiatric Association (2013): *Diagnostic and statistical manual of mental disorders (5th Ed).* Washington DC.

Amori, Laura; Guidetti, Paolo; Pellicciari, Roberto; Kajii, Yasushi; Schwarcz, Robert (2009): On the relationship between the two branches of the kynurenine pathway in the rat brain in vivo. In: *Journal of neurochemistry* 109 (2), S. 316–325. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2009.05893.x.

an der Heiden, Wolfram; Häfner, Heinz (2015): Investigating the long-term course of schizophrenia by sequence analysis. In: *Psychiatry research* 228 (3), S. 551–559. DOI: 10.1016/j.psychres.2015.04.056.

Andreasen, Nancy C. (1982): Negative v Positive Schizophrenia. In: *Arch Gen Psychiatry* 39 (7), S. 789. DOI: 10.1001/archpsyc.1982.04290070025006.

Athanasios, Lavinia; Mattingsdal, Morten; Kahler, Anna K.; Brown, Andrew; Gustafsson, Omar; Agartz, Ingrid et al. (2010): Gene variants associated with schizophrenia in a Norwegian genome-wide study are replicated in a large European cohort. In: *Journal of Psychiatric Research* 44 (12), S. 748–753. DOI: 10.1016/j.jpsychires.2010.02.002.

Badawy, Abdulla A-B (2017): Kynurenine Pathway of Tryptophan Metabolism. Regulatory and Functional Aspects. In: *International journal of tryptophan research: IJTR* 10, 1178646917691938. DOI: 10.1177/1178646917691938.

Barrett, J. C.; Fry, B.; Maller, J.; Daly, M. J. (2005): Haploview. Analysis and visualization of LD and haplotype maps. In: *Bioinformatics (Oxford, England)* 21 (2), S. 263–265. DOI: 10.1093/bioinformatics/bth457.

Böddeker, I.; Ziegler, A. (2000): Assoziations- und Kopplungstudien zur Analyse von Kandidatengenen. In: *Deutsche medizinische Wochenschrift (1946)* 125 (25-26), S. 810–815. DOI: 10.1055/s-2007-1024524.

Bortz, D. M.; Wu, H-Q; Schwarcz, R.; Bruno, J. P. (2017): Oral administration of a specific kynurenic acid synthesis (KAT II) inhibitor attenuates evoked glutamate release in rat prefrontal cortex. In: *Neuropharmacology* 121, S. 69–78. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2017.04.023.

Braehler, Christine; Valiquette, Luc; Holowka, Darren; Malla, Ashok K.; Joober, Ridha; Ciampi, Antonio et al. (2013): Childhood trauma and dissociation in first-episode psychosis, chronic schizophrenia and community controls. In: *Psychiatry research* 210 (1), S. 36–42. DOI: 10.1016/j.psychres.2013.05.033.

Brisch, Ralf; Saniotis, Arthur; Wolf, Rainer; Biela, Hendrik; Bernstein, Hans-Gert; Steiner, Johann et al. (2014): The role of dopamine in schizophrenia from a neurobiological and

evolutionary perspective. Old fashioned, but still in vogue. In: *Frontiers in psychiatry* 5, S. 47. DOI: 10.3389/fpsyt.2014.00047.

Brown, Alan S. (2011): The environment and susceptibility to schizophrenia. In: *Progress in neurobiology* 93 (1), S. 23–58. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2010.09.003.

Cadinu, Daniela; Grayson, Ben; Podda, Giovanni; Harte, Michael K.; Doostdar, Nazanin; Neill, Joanna C. (2017): NMDA receptor antagonist rodent models for cognition in schizophrenia and identification of novel drug treatments, an update. In: *Neuropharmacology*. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2017.11.045.

Cardno, Alastair G.; Owen, Michael J. (2014): Genetic relationships between schizophrenia, bipolar disorder, and schizoaffective disorder. In: *Schizophrenia Bulletin* 40 (3), S. 504–515. DOI: 10.1093/schbul/sbu016.

Chaumette, B.; Kebir, O.; Mam Lam Fook, C.; Bourgin, J.; Godsil, B. P.; Gaillard, R. et al. (2016): Stress et transition psychotique. Revue de la littérature. Stress and psychotic transition: A literature review. In: *L'Encephale* 42 (4), S. 367–373. DOI: 10.1016/j.encep.2015.10.001.

Chumakov, Ilya; Blumenfeld, Marta; Guerassimenko, Oxana; Cavarec, Laurent; Palicio, Marta; Abderrahim, Hadi et al. (2002): Genetic and physiological data implicating the new human gene G72 and the gene for D-amino acid oxidase in schizophrenia. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99 (21), S. 13675–13680. DOI: 10.1073/pnas.182412499.

Colhoun, Helen M.; McKeigue, Paul M.; Smith, George Davey (2003): Problems of reporting genetic associations with complex outcomes. In: *The Lancet* 361 (9360), S. 865–872. DOI: 10.1016/S0140-6736(03)12715-8.

Coutinho, Leonam G.; Christen, Stephan; Bellac, Caroline L.; Fontes, Fabrícia Lima; Souza, Fladjule Rejane Soares de; Grandgirard, Denis et al. (2014): The kynurenine pathway is involved in bacterial meningitis. In: *Journal of neuroinflammation* 11, S. 169. DOI: 10.1186/s12974-014-0169-4.

Cutting, J. (2015): First rank symptoms of schizophrenia. Their nature and origin. In: *History of psychiatry* 26 (2), S. 131–146. DOI: 10.1177/0957154X14554369.

Davis, Justin; Eyre, Harris; Jacka, Felice N.; Dodd, Seetal; Dean, Olivia; McEwen, Sarah et al. (2016): A review of vulnerability and risks for schizophrenia. Beyond the two hit hypothesis. In: *Neuroscience and biobehavioral reviews* 65, S. 185–194. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2016.03.017.

de Souza, Fladjule Rejane Soares; Fontes, Fabrícia Lima; da Silva, Thayse Azevedo; Coutinho, Leonam Gomes; Leib, Stephen L.; Agnez-Lima, Lucymara Fassarella (2011): Association of kynurenine aminotransferase II gene C401T polymorphism with immune response in patients with meningitis. In: *BMC medical genetics* 12, S. 51. DOI: 10.1186/1471-2350-12-51.

Dick, Danielle M.; Agrawal, Arpana; Keller, Matthew C.; Adkins, Amy; Aliev, Fazil; Monroe, Scott et al. (2015): Candidate gene-environment interaction research. Reflections and recommendations. In: *Perspectives on psychological science: a journal of the Association for Psychological Science* 10 (1), S. 37–59. DOI: 10.1177/1745691614556682.

Dilling, Horst (Hg.) (2014): Internationale Klassifikation psychischer Störungen. ICD-10 Kapitel V (F), Klinisch-diagnostische Leitlinien. 9. Aufl., unter Berücksichtigung der Änderungen entsprechend ICD-10-GM 2014. Bern: Huber.

Donoghue, Kim; Doody, Gillian A.; Murray, Robin M.; Jones, Peter B.; Morgan, Craig; Dazzan, Paola et al. (2014): Cannabis use, gender and age of onset of schizophrenia. Data from the ÆSOP study. In: *Psychiatry research* 215 (3), S. 528–532. DOI: 10.1016/j.psychres.2013.12.038.

Dorrington, Sarah; Zammit, Stan; Asher, Laura; Evans, Jonathan; Heron, Jonathan; Lewis, Glyn (2014): Perinatal maternal life events and psychotic experiences in children at twelve years in a birth cohort study. In: *Schizophr. Res.* 152 (1), S. 158–163. DOI: 10.1016/j.schres.2013.11.006.

Dounay, Amy B.; Anderson, Marie; Bechle, Bruce M.; Campbell, Brian M.; Claffey, Michelle M.; Evdokimov, Artem et al. (2012): Discovery of Brain-Penetrant, Irreversible Kynurenine Aminotransferase II Inhibitors for Schizophrenia. In: *ACS Medicinal Chemistry Letters* 3 (3), S. 187–192. DOI: 10.1021/ml200204m.

Dounay, Amy B.; Anderson, Marie; Bechle, Bruce M.; Evrard, Edelweiss; Gan, Xinmin; Kim, Ji-Young et al. (2013): PF-04859989 as a template for structure-based drug design: identification

of new pyrazole series of irreversible KAT II inhibitors with improved lipophilic efficiency. In: *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 23 (7), S. 1961–1966. DOI: 10.1016/j.bmcl.2013.02.039.

Du, Zhongxiang (2015): Predisposition to Schizophrenia. An Update of Current Understanding. In: *Cell biochemistry and biophysics* 73 (1), S. 187–190. DOI: 10.1007/s12013-015-0614-8.

Eggers, C. (2015): Schizophrenie des Kindes- und Jugendalters: MWV Medizinisch Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH & Company KG. Online verfügbar unter <https://books.google.de/books?id=iSOzBgAAQBAJ>.

Erhardt, Sophie; Olsson, Sara K.; Engberg, Göran (2009): Pharmacological Manipulation of Kynurenic Acid. In: *CNS Drugs* 23 (2), S. 91–101. DOI: 10.2165/00023210-200923020-00001.

Erhardt, Sophie; Schwieler, Lilly; Imbeault, Sophie; Engberg, Göran (2017): The kynurenine pathway in schizophrenia and bipolar disorder. In: *Neuropharmacology* 112 (Pt B), S. 297–306. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2016.05.020.

Fabbri, Chiara; Serretti, Alessandro (2017): Role of 108 schizophrenia-associated loci in modulating psychopathological dimensions in schizophrenia and bipolar disorder. In: *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics: the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics* 174 (7), S. 757–764. DOI: 10.1002/ajmg.b.32577.

Falkai, P.; Rossner, M. J.; Schulze, T. G.; Hasan, A.; Brzózka, M. M.; Malchow, B. et al. (2015): Kraepelin revisited. Schizophrenia from degeneration to failed regeneration. In: *Mol Psychiatry* 20 (6), S. 671–676. DOI: 10.1038/mp.2015.35.

Farrell, M. S.; Werge, T.; Sklar, P.; Owen, M. J.; Ophoff, R. A.; O'Donovan, M. C. et al. (2015): Evaluating historical candidate genes for schizophrenia. In: *Molecular psychiatry* 20 (5), S. 555–562. DOI: 10.1038/mp.2015.16.

Fervaha, Gagan; Agid, Ofer; McDonald, Krysta; Foussias, George; Remington, Gary (2014): Daily activity patterns in remitted first-episode schizophrenia. In: *Comprehensive psychiatry* 55 (5), S. 1182–1187. DOI: 10.1016/j.comppsy.2014.04.001.

Fogelson, D. L.; Nuechterlein, K. H.; Asarnow, R. F.; Subotnik, K. L.; Talovic, S. A. (1991): Interrater reliability of the Structured Clinical Interview for DSM-III-R, Axis II: schizophrenia spectrum and affective spectrum disorders. In: *Psychiatry research* 39 (1), S. 55–63.

Fontes, Fabrícia Lima; Araújo, Luíza Ferreira de; Coutinho, Leonam Gomes; Leib, Stephen L.; Agnez-Lima, Lucymara Fassarella (2015): Genetic polymorphisms associated with the inflammatory response in bacterial meningitis. In: *BMC medical genetics* 16, S. 70. DOI: 10.1186/s12881-015-0218-6.

Franzek, Ernst Josef; Musalek, M. (2009): Die Klassifikation der Psychosen. Geschichte, Gegenwart und Zukunft. In: *Fortschritte der Neurologie-Psychiatrie* 77 (8), S. 464. DOI: 10.1055/s-0028-1109325.

Fukui, Shinsuke; Schwarcz, Robert; Rapoport, Stanley I.; Takada, Yoshiaki; Smith, Quentin R. (1991): Blood-Brain Barrier Transport of Kynurenines: Implications for Brain Synthesis and Metabolism. In: *J Neurochem* 56 (6), S. 2007–2017. DOI: 10.1111/j.1471-4159.1991.tb03460.x.

Gallinat, J.; Gudlowski, Y. (2008): Die Glutamathypothese der Schizophrenie. In: *Nervenheilkunde* 27 (4), S. 317–325.

Gatt, Justine M.; Burton, Karen L. O.; Williams, Leanne M.; Schofield, Peter R. (2015): Specific and common genes implicated across major mental disorders. A review of meta-analysis studies. In: *Journal of Psychiatric Research* 60, S. 1–13. DOI: 10.1016/j.jpsychires.2014.09.014.

Gazdag, Gábor; Takács, Rozalia; Ungvari, Gabor S. (2017): Catatonia as a putative nosological entity. A historical sketch. In: *World journal of psychiatry* 7 (3), S. 177–183. DOI: 10.5498/wjp.v7.i3.177.

Giegling, Ina; Hosak, Ladislav; Mössner, Rainald; Serretti, Alessandro; Bellivier, Frank; Claes, Stephan et al. (2017): Genetics of schizophrenia. A consensus paper of the WFSBP Task Force on Genetics. In: *The world journal of biological psychiatry: the official journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry* 18 (7), S. 492–505. DOI: 10.1080/15622975.2016.1268715.

Gogos, Andrea; Sbisà, Alyssa M.; Sun, Jeehae; Gibbons, Andrew; Udawela, Madhara; Dean, Brian (2015): A Role for Estrogen in Schizophrenia: Clinical and Preclinical Findings. In: *International journal of endocrinology* 2015, S. 615356. DOI: 10.1155/2015/615356.

Goh, Denise L.M; Patel, Ankita; Thomas, George H.; Salomons, Gajja S.; Schor, Danielle S.M; Jakobs, Cornelis; Geraghty, Michael T. (2002): Characterization of the human gene encoding α -aminoacidase aminotransferase (AADAT). In: *Molecular Genetics and Metabolism* 76 (3), S. 172–180. DOI: 10.1016/S1096-7192(02)00037-9.

Guilmatre, Audrey; Dubourg, Christèle; Mosca, Anne-Laure; Legallic, Solenn; Goldenberg, Alice; Drouin-Garraud, Valérie et al. (2009): Recurrent rearrangements in synaptic and neurodevelopmental genes and shared biologic pathways in schizophrenia, autism, and mental retardation. In: *Archives of general psychiatry* 66 (9), S. 947–956. DOI: 10.1001/archgenpsychiatry.2009.80.

Gusev, Alexander; Lee, S. Hong; Trynka, Gosia; Finucane, Hilary; Vilhjálmsson, Bjarni J.; Xu, Han et al. (2014): Partitioning heritability of regulatory and cell-type-specific variants across 11 common diseases. In: *American journal of human genetics* 95 (5), S. 535–552. DOI: 10.1016/j.ajhg.2014.10.004.

Häfner, H.; an der Heiden, W. (1999): The course of schizophrenia in the light of modern follow-up studies: the ABC and WHO studies. In: *European Archives of Psychiatry and Clinical Neurosciences* 249 (S4), S. S14-S26. DOI: 10.1007/PL00014180.

Häfner, H.; Maurer, K.; An der Heiden, W (2013): Schizophrenie - eine einheitliche Krankheit?: Ergebnisse aus 25 Jahren ABC-Studie. In: *Der Nervenarzt* 84 (9), S. 1093. DOI: 10.1007/s00115-013-3788-6.

Hallen, André; Jamie, Joanne F.; Cooper, Arthur J. L. (2013): Lysine metabolism in mammalian brain: an update on the importance of recent discoveries. In: *Amino acids* 45 (6), S. 1249–1272. DOI: 10.1007/s00726-013-1590-1.

Han, Qian; Cai, Tao; Tagle, Danilo A.; Robinson, Howard; Li, Jianyong (2008 a): Substrate specificity and structure of human aminoacidase aminotransferase/kynurenine aminotransferase II. In: *Bioscience reports* 28 (4), S. 205–215. DOI: 10.1042/BSR20080085.

Han, Qian; Cai, Tao; Tagle, Danilo A.; Li, Jianyong (2010): Structure, expression, and function of kynurenine aminotransferases in human and rodent brains. In: *Cell. Mol. Life Sci.* 67 (3), S. 353–368. DOI: 10.1007/s00018-009-0166-4.

Han, Qian; Robinson, Howard; Li, Jianyong (2008 b): Crystal structure of human kynurenine aminotransferase II. In: *The Journal of biological chemistry* 283 (6), S. 3567–3573. DOI: 10.1074/jbc.M708358200.

Haploview 4.2. Version. Online verfügbar unter <https://www.broadinstitute.org/haploview/downloads>.

Hasan, A.; Malchow, B.; Falkai, P.; Schmitt, A. (2014): Die Glutamathypothese der Schizophrenie. In: *Fortschritte der Neurologie-Psychiatrie* 82 (8), S. 447–456. DOI: 10.1055/s-0034-1366571.

Henquet, Cécile; Murray, Robin; Linszen, Don; van Os, Jim (2005): The environment and schizophrenia: the role of cannabis use. In: *Schizophrenia Bulletin* 31 (3), S. 608–612. DOI: 10.1093/schbul/sbi027.

Hoffer, L. J. (2016): Human Protein and Amino Acid Requirements. In: *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 40 (4), S. 460–474. DOI: 10.1177/0148607115624084.

Holtze, Maria; Saetre, Peter; Engberg, Göran; Schwieler, Lilly; Werge, Thomas; Andreassen, Ole A. et al. (2012): Kynurenine 3-monooxygenase polymorphisms. Relevance for kynurenic acid synthesis in patients with schizophrenia and healthy controls. In: *Journal of psychiatry & neuroscience: JPN* 37 (1), S. 53–57. DOI: 10.1503/jpn.100175.

Hosak, Ladislav; Silhan, Petr; Hosakova, Jirina (2012): Genomic copy number variations: A breakthrough in our knowledge on schizophrenia etiology? In: *Neuro endocrinology letters* 33 (2), S. 183–190.

Howes, Oliver; McCutcheon, Rob; Stone, James (2015): Glutamate and dopamine in schizophrenia. An update for the 21st century. In: *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)* 29 (2), S. 97–115. DOI: 10.1177/0269881114563634.

Hunter, David J.; Kraft, Peter (2007): Drinking from the fire hose--statistical issues in genomewide association studies. In: *The New England journal of medicine* 357 (5), S. 436–439. DOI: 10.1056/NEJMp078120.

Ikeda, Masashi; Aleksic, Branko; Kirov, George; Kinoshita, Yoko; Yamanouchi, Yoshio; Kitajima, Tsuyoshi et al. (2010): Copy number variation in schizophrenia in the Japanese population. In: *Biological Psychiatry* 67 (3), S. 283–286. DOI: 10.1016/j.biopsych.2009.08.034.

International HapMap Consortium (IHC) (2012): The International HapMap Project.

Jääskeläinen, Erika; Juola, Pauliina; Hirvonen, Noora; McGrath, John J.; Saha, Sukanta; Isohanni, Matti et al. (2013): A systematic review and meta-analysis of recovery in schizophrenia. In: *Schizophrenia Bulletin* 39 (6), S. 1296–1306. DOI: 10.1093/schbul/sbs130.

Jacobs, Kelly R.; Castellano-Gonzalez, Gloria; Guillemain, Gilles J.; Lovejoy, David B. (2017): Major Developments in the Design of Inhibitors along the Kynurenine Pathway. In: *Current medicinal chemistry* 24 (23), S. 2471–2495. DOI: 10.2174/0929867324666170502123114.

Jäger, M.; Becker, T.; Wigand, M. E. (2018): Hebephrenie – ein brauchbares psychopathologisches Konstrukt? In: *Der Nervenarzt* 89 (1), S. 18–26. DOI: 10.1007/s00115-017-0366-3.

Janoutová, Jana; Janácková, Petra; Serý, Omar; Zeman, Tomáš; Ambroz, Petr; Kovalová, Martina et al. (2016): Epidemiology and risk factors of schizophrenia. In: *Neuro endocrinology letters* 37 (1), S. 1–8.

Jayawickrama, Gayan S.; Nematollahi, Alireza; Sun, Guanchen; Gorrell, Mark D.; Church, W. Bret (2017): Inhibition of human kynurenine aminotransferase isozymes by estrogen and its derivatives. In: *Scientific reports* 7 (1), S. 17559. DOI: 10.1038/s41598-017-17979-7.

Jayawickrama, Gayan; Sadig, Richard; Sun, Guanchen; Nematollahi, Alireza; Nadvi, Naveed; Hanrahan, Jane et al. (2015): Kynurenine Aminotransferases and the Prospects of Inhibitors for the Treatment of Schizophrenia. In: *CMC* 22 (24), S. 2902–2918. DOI: 10.2174/0929867322666150608094054.

Jonsson, Arnar Jan; Birgisdottir, Hera; Sigurdsson, Engilbert (2014): Does the use of cannabis increase the risk for psychosis and the development of schizophrenia? In: *Laeknabladid* 100 (9), S. 443–451.

Kabat, Jennifer L.; Barberan-Soler, Sergio; McKenna, Paul; Clawson, Hiram; Farrer, Tracy; Zahler, Alan M. (2006): Intronic alternative splicing regulators identified by comparative genomics in nematodes. In: *PLoS computational biology* 2 (7), e86. DOI: 10.1371/journal.pcbi.0020086.

Kahn, René S.; Sommer, Iris E.; Murray, Robin M.; Meyer-Lindenberg, Andreas; Weinberger, Daniel R.; Cannon, Tyrone D. et al. (2015): Schizophrenia. In: *Nature reviews. Disease primers* 1, S. 15067. DOI: 10.1038/nrdp.2015.67.

Kay, S. R.; Fiszbein, A.; Opler, L. A. (1987): The Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) for Schizophrenia. In: *Schizophrenia Bulletin* 13 (2), S. 261–276. DOI: 10.1093/schbul/13.2.261.

Kay, S. R.; Opler, L. A.; Lindenmayer, J. P. (1988): Reliability and validity of the positive and negative syndrome scale for schizophrenics. In: *Psychiatry research* 23 (1), S. 99–110.

Keefe, Richard S. E. (2014): The longitudinal course of cognitive impairment in schizophrenia. An examination of data from premorbid through posttreatment phases of illness. In: *The Journal of clinical psychiatry* 75 Suppl 2, S. 8–13. DOI: 10.4088/JCP.13065su1.02.

Kegel, Magdalena E.; Bhat, Maria; Skogh, Elisabeth; Samuelsson, Martin; Lundberg, Kristina; Dahl, Marja-Liisa et al. (2014): Imbalanced kynurenine pathway in schizophrenia. In: *International journal of tryptophan research: IJTR* 7, S. 15–22. DOI: 10.4137/IJTR.S16800.

Kendler, K. S. (2015): A joint history of the nature of genetic variation and the nature of schizophrenia. In: *Molecular psychiatry* 20 (1), S. 77–83. DOI: 10.1038/mp.2014.94.

Kirov, George; Grozeva, Detelina; Norton, Nadine; Ivanov, Dobril; Mantripragada, Kiran K.; Holmans, Peter et al. (2009): Support for the involvement of large copy number variants in the pathogenesis of schizophrenia. In: *Human molecular genetics* 18 (8), S. 1497–1503. DOI: 10.1093/hmg/ddp043.

Kirov, George; Gumus, Dilihan; Chen, Wei; Norton, Nadine; Georgieva, Lyudmila; Sari, Murat et al. (2008): Comparative genome hybridization suggests a role for NRXN1 and APBA2 in schizophrenia. In: *Hum Mol Genet* 17 (3), S. 458–465. DOI: 10.1093/hmg/ddm323.

Koshy Cherian, Ajeesh; Gritton, Howard; Johnson, David E.; Young, Damon; Kozak, Rouba; Sarter, Martin (2014): A systemically-available kynurenine aminotransferase II (KAT II) inhibitor restores nicotine-evoked glutamatergic activity in the cortex of rats. In: *Neuropharmacology* 82, S. 41–48. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2014.03.004.

Kozak, Rouba; Campbell, Brian M.; Strick, Christine A.; Horner, Weldon; Hoffmann, William E.; Kiss, Tamas et al. (2014): Reduction of brain kynurenic acid improves cognitive function. In: *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience* 34 (32), S. 10592–10602. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1107-14.2014.

Kumari, Suneeta; Malik, Mansoor; Florival, Christina; Manalai, Partam; Sonje, Snezana (2017): An Assessment of Five (PANSS, SAPS, SANS, NSA-16, CGI-SCH) commonly used Symptoms Rating Scales in Schizophrenia and Comparison to Newer Scales (CAINS, BNSS). In: *Journal of addiction research & therapy* 8 (3). DOI: 10.4172/2155-6105.1000324.

Lang, F. U.; Kösters, M.; Lang, S.; Becker, T.; Jäger, M. (2013): Psychopathological long-term outcome of schizophrenia -- a review. In: *Acta psychiatrica Scandinavica* 127 (3), S. 173–182. DOI: 10.1111/acps.12030.

Lange, Claudia; Deutschenbaur, Lorenz; Borgwardt, Stefan; Lang, Undine E.; Walter, Marc; Huber, Christian G. (2017): Experimentally induced psychosocial stress in schizophrenia spectrum disorders. A systematic review. In: *Schizophr. Res.* 182, S. 4–12. DOI: 10.1016/j.schres.2016.10.008.

Laursen, Thomas Munk; Nordentoft, Merete; Mortensen, Preben Bo (2014): Excess early mortality in schizophrenia. In: *Annual review of clinical psychology* 10, S. 425–448. DOI: 10.1146/annurev-clinpsy-032813-153657.

Leucht, Stefan (2014): Measurements of response, remission, and recovery in schizophrenia and examples for their clinical application. In: *The Journal of clinical psychiatry* 75 Suppl 1, S. 8–14. DOI: 10.4088/JCP.13049su1c.02.

Lewis, Cathryn M.; Levinson, Douglas F.; Wise, Lesley H.; DeLisi, Lynn E.; Straub, Richard E.; Hovatta, Iris et al. (2003): Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia. In: *American journal of human genetics* 73 (1), S. 34–48. DOI: 10.1086/376549.

Li, Shi-Jun; Yu, Shan-Shan; Luo, Hong-Yu; Li, Xin; Rao, Bin; Wang, Yi et al. (2018): Two de novo variations identified by massively parallel sequencing in 13 Chinese families with children diagnosed with autism spectrum disorder. In: *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. DOI: 10.1016/j.cca.2018.01.025.

Lima, A.; Sardinha, V. M.; Oliveira, A. F.; Reis, M.; Mota, C.; Silva, M. A. et al. (2014): Astrocyte pathology in the prefrontal cortex impairs the cognitive function of rats. In: *Molecular psychiatry* 19 (7), S. 834–841. DOI: 10.1038/mp.2013.182.

Linderholm, Klas R.; Skogh, Elisabeth; Olsson, Sara K.; Dahl, Marja-Liisa; Holtze, Maria; Engberg, Göran et al. (2012): Increased levels of kynurenine and kynurenic acid in the CSF of patients with schizophrenia. In: *Schizophrenia Bulletin* 38 (3), S. 426–432. DOI: 10.1093/schbul/sbq086.

Lowther, Chelsea; Costain, Gregory; Baribeau, Danielle A.; Bassett, Anne S. (2017): Genomic Disorders in Psychiatry-What Does the Clinician Need to Know? In: *Current psychiatry reports* 19 (11), S. 82. DOI: 10.1007/s11920-017-0831-5.

Maatz, Anke; Hoff, Paul (2014): The birth of schizophrenia or a very modern Bleuler. A close reading of Eugen Bleuler's 'Die Prognose der Dementia praecox' and a re-consideration of his contribution to psychiatry. In: *History of psychiatry* 25 (4), S. 431–440. DOI: 10.1177/0957154X14546606.

Maier, W.; Lichtermann, D.; Rietschel, M.; Held, T.; Falkai, P.; Wagner, M.; Schwab, S. (1999): Genetik schizophrener Störungen Neuere Konzepte und Befunde. In: *Nervenarzt* 70 (11), S. 955–969. DOI: 10.1007/s001150050524.

Marshall, Christian R.; Howrigan, Daniel P.; Merico, Daniele; Thiruvahindrapuram, Bhooma; Wu, Wenting; Greer, Douglas S. et al. (2017): Contribution of copy number variants to

schizophrenia from a genome-wide study of 41,321 subjects. In: *Nature genetics* 49 (1), S. 27–35. DOI: 10.1038/ng.3725.

Martin, E. A. (2010): *Concise medical dictionary*. 8th ed. Oxford, New York: Oxford University Press (Oxford paperback reference).

Mass, Reinhard (2010): *Diagnostik der Schizophrenie*. Göttingen: Hogrefe (Kompendien psychologische Diagnostik, Bd. 11).

McClellan, Jon M.; Susser, Ezra; King, Mary-Claire (2007): Schizophrenia: a common disease caused by multiple rare alleles. In: *The British journal of psychiatry: the journal of mental science* 190, S. 194–199. DOI: 10.1192/bjp.bp.106.025585.

Meli, Giampiero; Ottl, Birgit; Paladini, Angela; Cataldi, Luigi (2012): Prenatal and perinatal risk factors of schizophrenia. In: *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine: the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians* 25 (12), S. 2559–2563. DOI: 10.3109/14767058.2012.699118.

Millier, A.; Schmidt, U.; Angermeyer, M. C.; Chauhan, D.; Murthy, V.; Toumi, M.; Cadi-Soussi, N. (2014): Humanistic burden in schizophrenia: a literature review. In: *Journal of Psychiatric Research* 54, S. 85–93. DOI: 10.1016/j.jpsychires.2014.03.021.

Möller, Hans-Jürgen; Laux, Gerd; Kapfhammer, Hans-Peter (2011): *Psychiatrie, Psychosomatik, Psychotherapie*. Band 1: *Allgemeine Psychiatrie*. 4., erw. und vollständig neu bearb. Aufl. Berlin: SpringerMedizin.

Müller, Norbert; Weidinger, Elif; Leitner, Bianka; Schwarz, Markus J. (2015): The role of inflammation in schizophrenia. In: *Frontiers in neuroscience* 9, S. 372. DOI: 10.3389/fnins.2015.00372.

Nematollahi, Alireza; Sun, Guanchen; Harrop, Stephen J.; Hanrahan, Jane R.; Church, W. Bret (2016 a): Structure of the PLP-Form of the Human Kynurenine Aminotransferase II in a Novel Spacegroup at 1.83 Å Resolution. In: *International journal of molecular sciences* 17 (4), S. 446. DOI: 10.3390/ijms17040446. Zu Abbildung 4: © 2016 liegt bei den Autoren; Lizenzgeber MDPI, Basel, Schweiz. Der Artikel ist ein Open-Access-Artikel, der unter den Bedingungen der

Creative Commons by Attribution (CC-BY) Lizenz vertrieben wird (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>). Es wurden keine Änderungen vorgenommen. Haftung ausgeschlossen.

Nematollahi, Alireza; Sun, Guanchen; Jayawickrama, Gayan S.; Church, W. Bret (2016 b): Kynurenine Aminotransferase Isozyme Inhibitors. A Review. In: International journal of molecular sciences 17 (6). DOI: 10.3390/ijms17060946.

Nematollahi, Alireza; Sun, Guanchen; Jayawickrama, Gayan S.; Hanrahan, Jane R.; Church, W. Bret (2016 c): Study of the Activity and Possible Mechanism of Action of a Reversible Inhibitor of Recombinant Human KAT-2. A Promising Lead in Neurodegenerative and Cognitive Disorders. In: Molecules (Basel, Switzerland) 21 (7). DOI: 10.3390/molecules21070856.

Ng, M Y M; 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. In: Molecular psychiatry 14 (8), S. 774–785. DOI: 10.1038/mp.2008.135.

O'Donovan, Michael C.; Craddock, Nicholas; Norton, Nadine; Williams, Hywel; Peirce, Timothy; Moskva, Valentina et al. (2008): Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up. In: Nature genetics 40 (9), S. 1053–1055. DOI: 10.1038/ng.201.

Okuyama M., Fukunaga K., Usui K., Hayashi N., Iijima D., Horiuchi H., Itagaki N. (2015): Novel bicyclic or tricyclic heterocyclic compounds and their pharmaceutical compositions for prophylactic and therapeutic treatment of KAT (kynurenine aminotransferase) II-associated disorders. Veröffentlichungsnr: WO2015163339A1.

Oldereid, Nan B.; Wennerholm, Ulla-Britt; Pinborg, Anja; Loft, Anne; Laivuori, Hannele; Petzold, Max et al. (2018): The effect of paternal factors on perinatal and paediatric outcomes. A systematic review and meta-analysis. In: Human reproduction update. DOI: 10.1093/humupd/dmy005.

Ott, Jurg; Wang, Jing; Leal, Suzanne M. (2015): Genetic linkage analysis in the age of whole-genome sequencing. In: Nature reviews. Genetics 16 (5), S. 275–284. DOI: 10.1038/nrg3908.

Owen, M. J. (2000): Molecular genetic studies of schizophrenia. In: Brain research. Brain research reviews 31 (2-3), S. 179–186.

Owen, Michael J.; Sawa, Akira; Mortensen, Preben B. (2016): Schizophrenia. In: The Lancet 388 (10039), S. 86–97. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)01121-6.

Owen, Michael J.; Williams, Hywel J.; O'Donovan, Michael C. (2009): Schizophrenia genetics: advancing on two fronts. In: Current opinion in genetics & development 19 (3), S. 266–270. DOI: 10.1016/j.gde.2009.02.008.

Pardiñas, Antonio F.; Holmans, Peter; Pocklington, Andrew J.; Escott-Price, Valentina; Ripke, Stephan; Carrera, Noa et al. (2018): Common schizophrenia alleles are enriched in mutation-intolerant genes and in regions under strong background selection. In: Nat Genet 50 (3), S. 381–389. DOI: 10.1038/s41588-018-0059-2.

Patnala, Radhika; Clements, Judith; Batra, Jyotsna (2013): Candidate gene association studies. A comprehensive guide to useful in silico tools. In: BMC genetics 14, S. 39. DOI: 10.1186/1471-2156-14-39.

Pellicciari, Roberto; Rizzo, Rosa C.; Costantino, Gabriele; Marinozzi, Maura; Amori, Laura; Guidetti, Paolo et al. (2006): Modulators of the kynurenine pathway of tryptophan metabolism: synthesis and preliminary biological evaluation of (S)-4-(ethylsulfonyl)benzoylalanine, a potent and selective kynurenine aminotransferase II (KAT II) inhibitor. In: ChemMedChem 1 (5), S. 528–531. DOI: 10.1002/cmdc.200500095.

Pellicciari, Roberto; Venturoni, Francesco; Bellocchi, Daniele; Carotti, Andrea; Marinozzi, Maura; Macchiarulo, Antonio et al. (2008): Sequence variants in kynurenine aminotransferase II (KAT II) orthologs determine different potencies of the inhibitor S-ESBA. In: ChemMedChem 3 (8), S. 1199–1202. DOI: 10.1002/cmdc.200800109.

Peralta, V.; Cuesta, M. J. (1994): Psychometric properties of the positive and negative syndrome scale (PANSS) in schizophrenia. In: Psychiatry research 53 (1), S. 31–40.

PLINK v1.07. Version. Online verfügbar unter <http://zzz.bwh.harvard.edu/plink/download.shtml>.

Plitman, Eric; Iwata, Yusuke; Caravaggio, Fernando; Nakajima, Shinichiro; Chung, Jun Ku; Gerretsen, Philip et al. (2017): Kynurenic Acid in Schizophrenia. A Systematic Review and Meta-analysis. In: *Schizophrenia Bulletin* 43 (4), S. 764–777. DOI: 10.1093/schbul/sbw221.

Popovic, D.; Benabarre, A.; Crespo, J. M.; Goikolea, J. M.; González-Pinto, A.; Gutiérrez-Rojas, L. et al. (2014): Risk factors for suicide in schizophrenia. Systematic review and clinical recommendations. In: *Acta psychiatrica Scandinavica* 130 (6), S. 418–426. DOI: 10.1111/acps.12332.

Power, R. A.; Verweij, K. J. H.; Zuhair, M.; Montgomery, G. W.; Henders, A. K.; Heath, A. C. et al. (2014): Genetic predisposition to schizophrenia associated with increased use of cannabis. In: *Mol Psychiatry* 19 (11), S. 1201–1204. DOI: 10.1038/mp.2014.51.

Psychiatric Genomics Consortium (2014): Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. In: *Nature* 511 (7510), S. 421–427. DOI: 10.1038/nature13595.

Purcell, Shaun; Neale, Benjamin; Todd-Brown, Kathe; Thomas, Lori; Ferreira, Manuel A. R.; Bender, David et al. (2007): PLINK. A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. In: *American journal of human genetics* 81 (3), S. 559–575. DOI: 10.1086/519795.

Purcell, Shaun M.; Wray, Naomi R.; Stone, Jennifer L.; Visscher, Peter M.; O'Donovan, Michael C.; Sullivan, Patrick F.; Sklar, Pamela (2009): Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. In: *Nature* 460 (7256), S. 748–752. DOI: 10.1038/nature08185.

Qiagen (2005): QIAamp DNA Blood Midi/Maxi Handbook. Hilden.

R Development Core Team (2011): R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: the R Foundation for Statistical Computing.

Rangaswamy, Thara; Greeshma, Mohan (2012): Course and outcome of schizophrenia. In: *International review of psychiatry (Abingdon, England)* 24 (5), S. 417–422. DOI: 10.3109/09540261.2012.707973.

Rasic, Daniel; Hajek, Tomas; Alda, Martin; Uher, Rudolf (2014): Risk of mental illness in offspring of parents with schizophrenia, bipolar disorder, and major depressive disorder. A meta-analysis of family high-risk studies. In: *Schizophrenia Bulletin* 40 (1), S. 28–38. DOI: 10.1093/schbul/sbt114.

Rees, Elliott; Walters, James T. R.; Georgieva, Lyudmila; Isles, Anthony R.; Chambert, Kimberly D.; Richards, Alexander L. et al. (2014): Analysis of copy number variations at 15 schizophrenia-associated loci. In: *The British journal of psychiatry: the journal of mental science* 204 (2), S. 108–114. DOI: 10.1192/bjp.bp.113.131052.

Rice, John P.; Reich, Theodore; Bucholz, Kathleen K.; Neuman, Rosalind J.; Fishman, Roberta; Rochberg, Nanette et al. (1995): Comparison of Direct Interview and Family History Diagnoses of Alcohol Dependence. In: *Alcoholism Clin Exp Res* 19 (4), S. 1018–1023. DOI: 10.1111/j.1530-0277.1995.tb00983.x.

Richter, V.; Guthke, J. (1996): *Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar: (LEBI): Hogrefe, Verlag für Psychologie.* Online verfügbar unter <https://books.google.de/books?id=ATnAngEACAAJ>.

Ripke, Stephan; O'Dushlaine, Colm; Chambert, Kimberly; Moran, Jennifer L.; Kähler, Anna K.; Akterin, Susanne et al. (2013): Genome-wide association analysis identifies 13 new risk loci for schizophrenia. In: *Nature genetics* 45 (10), S. 1150–1159. DOI: 10.1038/ng.2742.

Rittmannsberger, Hans (2012): THE DIAGNOSIS "SCHIZOPHRENIA": PAST, PRESENT AND FUTURE. In: *Psychiatria Danubina* 24 (4), S. 408–414.

Rossi, Franca; Valentina, Casazza; Garavaglia, Silvia; Sathyaikumar, Korrapati V.; Schwarcz, Robert; Kojima, Shin-Ichi et al. (2010): Crystal structure-based selective targeting of the pyridoxal 5'-phosphate dependent enzyme kynurenine aminotransferase II for cognitive enhancement. In: *Journal of medicinal chemistry* 53 (15), S. 5684–5689. DOI: 10.1021/jm100464k.

Rujescu, Dan (2007): Genetik der Schizophrenie. In: *BIOspektrum* 13 (7), S. 727–729.

Rujescu, Dan; Ingason, Andres; Cichon, Sven; Pietiläinen, Olli P H; Barnes, Michael R.; Toulopoulou, Timothea et al. (2009): Disruption of the neurexin 1 gene is associated with schizophrenia. In: *Human molecular genetics* 18 (5), S. 988–996. DOI: 10.1093/hmg/ddn351.

Sahin, Seda; Yüksel, Çağrı; Güler, Julide; Karadayı, Gülşah; Akturan, Elçin; Göde, Evrim et al. (2013): The history of childhood trauma among individuals with ultra high risk for psychosis is as common as among patients with first-episode schizophrenia. In: *Early intervention in psychiatry* 7 (4), S. 414–420. DOI: 10.1111/eip.12022.

Salavati, Bahar; Rajji, Tarek K.; Price, Rae; Sun, Yinming; Graff-Guerrero, Ariel; Daskalakis, Zafiris J. (2015): Imaging-based neurochemistry in schizophrenia. A systematic review and implications for dysfunctional long-term potentiation. In: *Schizophrenia Bulletin* 41 (1), S. 44–56. DOI: 10.1093/schbul/sbu132.

Sanders, Alan R.; Duan, Jubao; Levinson, Douglas F.; Shi, Jianxin; He, Deli; Hou, Cuiping et al. (2008): No significant association of 14 candidate genes with schizophrenia in a large European ancestry sample: implications for psychiatric genetics. In: *The American journal of psychiatry* 165 (4), S. 497–506. DOI: 10.1176/appi.ajp.2007.07101573.

Schenkel, Lindsay S.; Silverstein, Steven M. (2004): Dimensions of premorbid functioning in schizophrenia: a review of neuromotor, cognitive, social, and behavioral domains. In: *Genetic, social, and general psychology monographs* 130 (3), S. 241–270. DOI: 10.3200/MONO.130.3.241-272.

Schizophrenia Psychiatric Genome-Wide Association Study Consortium (2011): Genome-wide association study identifies five new schizophrenia loci. In: *Nature genetics* 43 (10), S. 969–976. DOI: 10.1038/ng.940.

Schlier, Björn; Schmick, Sylvia; Lincoln, Tania Marie (2014): No matter of etiology. Biogenetic, psychosocial and vulnerability-stress causal explanations fail to improve attitudes towards schizophrenia. In: *Psychiatry research* 215 (3), S. 753–759. DOI: 10.1016/j.psychres.2013.12.056.

Schmitt, A.; Malchow, B.; Keeser, D.; Falkai, P.; Hasan, A. (2014): Neurobiologie der Schizophrenie. Aktuelle Befunde von der Struktur zu den Molekülen. In: *Der Nervenarzt*. DOI: 10.1007/s00115-014-4115-6.

Schwab, Sibylle G.; Wildenauer, Dieter B. (2013): Genetics of psychiatric disorders in the GWAS era: an update on schizophrenia. In: *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience* 263 Suppl 2, S. 54. DOI: 10.1007/s00406-013-0450-z.

Schwieler, Lilly; Larsson, Markus K.; Skogh, Elisabeth; Kegel, Magdalena E.; Orhan, Funda; Abdelmoaty, Sally et al. (2015): Increased levels of IL-6 in the cerebrospinal fluid of patients with chronic schizophrenia--significance for activation of the kynurenine pathway. In: *Journal of psychiatry & neuroscience: JPN* 40 (2), S. 126–133.

Shi, Jianxin; Levinson, Douglas F.; Duan, Jubao; Sanders, Alan R.; Zheng, Yonglan; Pe'er, Itsik et al. (2009): Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia. In: *Nature* 460 (7256), S. 753–757. DOI: 10.1038/nature08192.

Singh, Shweta; Kumar, Ashok; Agarwal, Sarita; Phadke, Shubha R.; Jaiswal, Yamini (2014): Genetic insight of schizophrenia. Past and future perspectives. In: *Gene* 535 (2), S. 97–100. DOI: 10.1016/j.gene.2013.09.110.

Song, Chang; Clark, Sarah M.; Vaughn, Chloe N.; Nicholson, James D.; Murphy, Kelley J.; Mou, Ta-Chung M. et al. (2018): Quantitative Analysis of Kynurenine Aminotransferase II in the Adult Rat Brain Reveals High Expression in Proliferative Zones and Corpus Callosum. In: *Neuroscience* 369, S. 1–14. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2017.11.001.

Stefansson, Hreinn; Ophoff, Roel A.; Steinberg, Stacy; Andreassen, Ole A.; Cichon, Sven; Rujescu, Dan et al. (2009): Common variants conferring risk of schizophrenia. In: *Nature* 460 (7256), S. 744–747. DOI: 10.1038/nature08186.

Stefansson, Hreinn; Rujescu, Dan; Cichon, Sven; Pietiläinen, Olli P H; Ingason, Andres; Steinberg, Stacy et al. (2008): Large recurrent microdeletions associated with schizophrenia. In: *Nature* 455 (7210), S. 232–236. DOI: 10.1038/nature07229.

Straub, Richard E.; Weinberger, Daniel R. (2006): Schizophrenia genes - famine to feast. In: *Biological Psychiatry* 60 (2), S. 81–83. DOI: 10.1016/j.biopsych.2006.06.002.

Sullivan, P. F.; Lin, D.; Tzeng, J-Y; van den Oord, E; Perkins, D.; Stroup, T. S. et al. (2008): Genomewide association for schizophrenia in the CATIE study: results of stage 1. In: *Molecular psychiatry* 13 (6), S. 570–584. DOI: 10.1038/mp.2008.25.

Tandon, Rajiv; Gaebel, Wolfgang; Barch, Deanna M.; Bustillo, Juan; Gur, Raquel E.; Heckers, Stephan et al. (2013): Definition and description of schizophrenia in the DSM-5. In: *Schizophr. Res.* 150 (1), S. 3–10. DOI: 10.1016/j.schres.2013.05.028.

Tandon, Rajiv; Keshavan, Matcheri S.; Nasrallah, Henry A. (2008): Schizophrenia, \"just the facts\" what we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology. In: *Schizophrenia research* 102 (1-3), S. 1–18. DOI: 10.1016/j.schres.2008.04.011.

Tandon, Rajiv; Nasrallah, Henry A.; Keshavan, Matcheri S. (2009): Schizophrenia, \"just the facts\" 4. Clinical features and conceptualization. In: *Schizophrenia research* 110 (1-3), S. 1–23. DOI: 10.1016/j.schres.2009.03.005.

The International Schizophrenia Consortium (2008): Rare chromosomal deletions and duplications increase risk of schizophrenia. In: *Nature* 455 (7210), S. 237–241. DOI: 10.1038/nature07239.

The National Center for Biotechnology Information (NCBI) (Hg.) (2016).

Tuttle, Jamison B.; Anderson, Marie; Bechle, Bruce M.; Campbell, Brian M.; Chang, Cheng; Dounay, Amy B. et al. (2013): Structure-Based Design of Irreversible Human KAT II Inhibitors: Discovery of New Potency-Enhancing Interactions. In: *ACS Medicinal Chemistry Letters* 4 (1), S. 37–40. DOI: 10.1021/ml300237v.

van der Werf, M.; Hanssen, M.; Köhler, S.; Verkaaik, M.; Verhey, F. R.; van Winkel, R. et al. (2014): Systematic review and collaborative recalculation of 133,693 incident cases of schizophrenia. In: *Psychological medicine* 44 (1), S. 9–16. DOI: 10.1017/S0033291712002796.

Vieland, Veronica J.; Walters, Kimberly A.; Lehner, Thomas; Azaro, Marco; Tobin, Kathleen; Huang, Yungui; Brzustowicz, Linda M. (2014): Revisiting schizophrenia linkage data in the NIMH Repository. Reanalysis of regularized data across multiple studies. In: *The American journal of psychiatry* 171 (3), S. 350–359. DOI: 10.1176/appi.ajp.2013.11121766.

Walsh, Tom; McClellan, Jon M.; McCarthy, Shane E.; Addington, Anjené M.; Pierce, Sarah B.; Cooper, Greg M. et al. (2008): Rare structural variants disrupt multiple genes in neurodevelopmental pathways in schizophrenia. In: *Science (New York, N.Y.)* 320 (5875), S. 539–543. DOI: 10.1126/science.1155174.

Wang, Alexandre K.; Miller, Brian J. (2018): Meta-analysis of Cerebrospinal Fluid Cytokine and Tryptophan Catabolite Alterations in Psychiatric Patients. Comparisons between Schizophrenia, Bipolar Disorder, and Depression. In: *Schizophrenia Bulletin* 44 (1), S. 75–83. DOI: 10.1093/schbul/sbx035.

WHO (2014): Schizophrenia. What is schizophrenia? Online verfügbar unter http://www.who.int/mental_health/management/schizophrenia/en/.

WHO (2018): The 11th Revision of the International Classification of Diseases (ICD-11) is due by 2018! Online verfügbar unter <http://www.who.int/classifications/icd/revision/en/>.

Williams, H. J.; Norton, N.; Dwyer, S.; Moskvina, V.; Nikolov, I.; Carroll, L. et al. (2011): Fine mapping of ZNF804A and genome-wide significant evidence for its involvement in schizophrenia and bipolar disorder. In: *Molecular psychiatry* 16 (4), S. 429–441. DOI: 10.1038/mp.2010.36.

Williams, Hywel J.; Owen, Michael J.; O'Donovan, Michael C. (2009): New findings from genetic association studies of schizophrenia. In: *Journal of human genetics* 54 (1), S. 9–14. DOI: 10.1038/jhg.2008.7.

Willis, Alecia; Bender, Hans Uli; Steel, Gary; Valle, David (2008): PRODH variants and risk for schizophrenia. In: *Amino acids* 35 (4), S. 673–679. DOI: 10.1007/s00726-008-0111-0.

Wirthgen, Elisa; Hoeflich, Andreas; Rebl, Alexander; Günther, Juliane (2017): Kynurenic Acid. The Janus-Faced Role of an Immunomodulatory Tryptophan Metabolite and Its Link to Pathological Conditions. In: *Frontiers in immunology* 8, S. 1957. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01957.

Wittchen, H.-U.; Wunderlich, U.; Gruschwitz, S.; Zaudig, M. (1997): *Strukturiertes klinisches Interview für DSM-IV, Achse-I (SKID)*. Göttingen: Hogrefe, 1997.

Wójciak, Paweł; Remlinger-Molenda, Agnieszka; Rybakowski, Janusz (2016): Stages of the clinical course of schizophrenia – staging concept. In: *Psychiatria polska* 50 (4), S. 717–730. DOI: 10.12740/PP/58723.

Wu, Hui-Qiu; Okuyama, Masahiro; Kajii, Yasushi; Pocivavsek, Ana; Bruno, John P.; Schwarcz, Robert (2014): Targeting Kynurenine Aminotransferase II in Psychiatric Diseases: Promising Effects of an Orally Active Enzyme Inhibitor. In: *Schizophrenia Bulletin* 40 (Suppl 2), S. S152-S158. DOI: 10.1093/schbul/sbt157.

Yang, Albert C.; Tsai, Shih-Jen (2017): New Targets for Schizophrenia Treatment beyond the Dopamine Hypothesis. In: *International journal of molecular sciences* 18 (8). DOI: 10.3390/ijms18081689.

Zammit, Stanley; Allebeck, Peter; Andreasson, Sven; Lundberg, Ingvar; Lewis, Glyn (2002): Self reported cannabis use as a risk factor for schizophrenia in Swedish conscripts of 1969: historical cohort study. In: *BMJ* 325 (7374), S. 1199. DOI: 10.1136/bmj.325.7374.1199.

Zipursky, Robert B.; Reilly, Thomas J.; Murray, Robin M. (2013): The myth of schizophrenia as a progressive brain disease. In: *Schizophrenia Bulletin* 39 (6), S. 1363–1372. DOI: 10.1093/schbul/sbs135.

9 Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. Dan Rujescu, seit 2012 Direktor der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychotherapie und Psychosomatik an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, es mir ermöglicht zu haben, diese Arbeit in seiner Abteilung Molekulare und Klinische Neurobiologie an der Ludwig-Maximilians-Universität München durchzuführen.

Ebenso danke ich dem ehemaligen Direktor Herrn Prof. Dr. med. Hans-Jürgen Möller, wie auch seinem Nachfolger Herrn Prof. Dr. med. Peter Falkai, Direktor der Psychiatrischen Klinik und Poliklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München, dass ich die Arbeit an der von ihnen geleiteten Klinik absolvieren durfte.

Frau PD Dr. Ina Giegling danke ich für ihre stets sehr menschliche und wohlwollende Unterstützung bei sämtlichen organisatorischen und fachlichen Belangen.

Für die gründliche Einarbeitung und intensive Betreuung während des praktischen Teils dieser Arbeit möchte ich ganz herzlich Frau Dr. biol. hum. Heike Konnerth danken.

Besonderer Dank gebührt auch Frau Dr. biol. hum. Annette Hartmann für ihre große Geduld und die kompetente Beratung bei fachlichen und stilistischen Fragen während der schriftlichen Ausarbeitung.

Weiterhin danke ich auch den übrigen Mitarbeitern der Abteilung Molekulare und Klinische Neurobiologie sowie meinen Doktoranden-Kolleginnen und Kollegen für die stets freundliche Zusammenarbeit und gegenseitige Hilfe.

Nicht zuletzt möchte ich mich aber auch bei meiner Familie und meinen Freunden bedanken. Sie haben mich fortwährend unterstützt und darin bestärkt diese Arbeit erfolgreich zu vollenden.

10 Eidesstattliche Versicherung

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

„Der Einfluss genetischer Polymorphismen im AADAT-Gen auf die Schizophrenie“

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

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

München, 04.06.2019

Alexander Towfigh