

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

Direktor: Prof. Dr. med. Peter Falkai

**Der Zusammenhang zwischen den Membrane-associated Guanylate Kinase Inverted (MAGI)
-1, -2 und -3 Genen und Schizophrenie sowie kognitiven Leistungen**

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

vorgelegt von
Friederike Berlinghoff

aus
Berlin

2019

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Dan Rujescu

Mitberichterstatterin: Prof. Dr. Ortrud Steinlein

Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter: PD Dr. Ina Giegling

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

Tag der mündlichen Prüfung: 27.06.2019

Für meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

1 ZUSAMMENFASSUNG.....	1
2 EINLEITUNG.....	3
2.1 Schizophrenie.....	3
2.1.1 Symptomatik und Klassifikation.....	3
2.1.2 Epidemiologie.....	5
2.1.3 Der Krankheitsverlauf.....	6
2.1.4 Ätiopathogenese.....	7
2.1.5 Umweltfaktoren.....	7
2.1.6 Neuroanatomische Veränderungen.....	8
2.1.7 Genetische Faktoren.....	10
2.1.8 Neurobiochemische Veränderungen.....	15
2.2 Endophänotypen.....	18
2.2.1 Das Gedächtnis.....	19
2.2.2 Gedächtnis und Schizophrenie.....	21
2.2.3 Genomweite Assoziationsstudien zum Gedächtnis.....	22
2.3 Die MAGUKs.....	24
2.3.1 Die Gruppe der Membrane-associate Guanylate Kinases (MAGUKs).....	24
2.3.2 Die Membrane-associated Guanylate Kinase Inverted- Gene (MAGI)-Gene.....	27
3 FRAGESTELLUNG.....	34
4 MATERIAL UND METHODEN.....	35
4.1 Vorbedingungen der Studiendurchführung.....	35
4.2 Studienteilnehmer.....	35
4.3 Fall-Kontroll-Assoziationsstudie.....	35
4.3.1 Kontrollprobanden.....	36
4.3.2 Patienten.....	37
4.4 Endophänotypenstudie.....	38
4.5 Laborverfahren.....	41
4.5.1 DNA Extraktion.....	41
4.5.2 Konzentrationseinstellung der DNA.....	43
4.5.3 Genotypisierung.....	44
4.5.4 Statistische Auswertung.....	48
5 ERGEBNISSE.....	49
5.1 Fall-Kontroll-Assoziationsstudie.....	49
5.1.1 Der rs9880851-Marker des MAGI -1 Gens.....	49

Inhaltsverzeichnis

5.1.2 Der rs2868865-Marker des MAGI-2 Gens.....	50
5.1.3 Der rs1230661-Marker des MAGI-3 Gens.....	50
5.2 Endophänotypen Studie.....	51
5.2.1 Assoziation zwischen den WMS-R Indizes und dem Marker rs9880851 (MAGI-1 Gen).....	51
5.2.2 Assoziation zwischen den WMS-R Indizes und dem Marker rs2868865 (MAGI-2 Gen).....	53
5.2.3 Assoziation zwischen den WMS-R Indizes und dem Marker rs1230661 (MAGI 3 Gen).....	56
5.3 Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse.....	57
6 DISKUSSION.....	59
6.1 Methodische Darstellung und Interpretation der Ergebnisse.....	59
6.2 Inhaltliche Darstellung und Interpretation der Ergebnisse.....	62
7 LITERATURVERZEICHNIS.....	68
8 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	97
9 ABBILDUNGS- UND TABELLENVERZEICHNIS.....	98
10 DANKSAGUNG.....	100

1 Zusammenfassung

1 Zusammenfassung

Schizophrenie ist eine äußerst schwere psychiatrische Erkrankung, die durch genetische und umweltbedingte Einflüsse sehr unterschiedliche Ausprägungen in einzelnen Individuen aufweisen kann und sich unter anderem auf die kognitiven Fähigkeiten der betroffenen Personen auswirkt. Dies wurden bereits durch zahlreiche Studien nachgewiesen. Hervorzuheben sind dabei Assoziationsstudien, die Zusammenhänge zwischen genetischen Variationen, im vorliegenden Fall SNPs (*single nucleotide polymorphisms*) und Schizophrenie bzw. kognitiven Fähigkeiten überprüfen.

Die Familie der MAGI (*Membrane-Associated Guanylate Kinase Inverted*)-Gene konnte unter anderem in Verbindung mit unterschiedlichen psychiatrischen Erkrankungen, wie Schizophrenie, Depression und bipolaren Störungen gebracht werden, die alle durch kognitive Einschränkungen gekennzeichnet sind. Die Vermutung, dass diese Gene in die Ausprägungen kognitiver Leistungen involviert sind, wird verstärkt durch die Eigenschaften der durch sie kodierten Proteine, die Interaktionen mit Partnern eingehen können, die eine Rolle in den oben genannten Krankheiten spielen.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Zusammenhang zwischen den Genotyp- und Allelfrequenzen der drei SNPs rs9880851, rs2868865 und rs1230661 der MAGI Gene 1-3 und Schizophrenie bzw. kognitiven Fähigkeiten überprüft. Dafür wurden 316 neurologisch und psychiatrisch unauffällige Personen aus dem Großraum München und 139 Schizophrenie-Patienten kaukasischer Abstammung in die Studie eingeschlossen und ihre DNA mittels iPELX-Verfahren und anschließender MALDI-TOF Analyse genotypisiert. Die Kognition wurde mit Hilfe der revidierten Form der Wechsler Memory Scale (WMS-R) getestet.

Die statistische Auswertung zeigt einen Zusammenhang zwischen der Genotypfrequenz des SNPs rs9880851 des MAGI-1 Gens und dem Subtest verzögerte visuelle Wiedergabe der WMS-R. Der Polymorphismus des MAGI-2 Gens rs2868865 zeigte einen Trend zur Assoziation bei der Genotypenanalyse, allerdings mit dem Untertest verzögerte verbale Wiedergabe. Bei diesem SNP konnten auch Zusammenhänge zwischen Allelen und den Indizes unmittelbare und verzögerte Wiedergabe, sowie eine Tendenz bei der Aufmerksamkeits-/Blockspanne detektiert werden. Personen mit dem C-Allel bzw. dem Genotyp CC erzielten schlechtere Leistungen in diesen Subtests.

1 Zusammenfassung

Beim SNP des MAGI-3 Gens rs1230661 konnten weder durch die Genotypenanalyse noch bei den Allelen eine Assoziation mit der WMS-R festgestellt werden.

Einen Zusammenhang zwischen einem der drei untersuchten SNPs und Schizophrenie konnte in keinem Fal nachgewiesen werden.

Auf Grund der geringen Stichprobengröße müssen die gewonnenen Erkenntnisse kritisch hinterfragt und in weiteren Forschungsarbeiten repliziert werden. Die Resultate können jedoch als Ansatz für weitere Untersuchungen dienen und liefern damit einen Teil zum besseren Verständnis von Kognition und Schizophrenie.

2 Einleitung

2 Einleitung

2.1 Schizophrenie

Schizophrenie gehört der Hauptgruppe der endogenen Psychosen an und wurde als eine der bedrohlichsten Krankheiten des Menschen beschrieben (Nature Editorial, 1988), da sie oft lebenslang besteht. Ihr klinischer Verlauf kann symptomatisch sehr unterschiedlich sein, weswegen Schizophrenie als heterogene Störung gilt. Der Begriff „Schizophrenie“ stammt von Eugen Bleuler, der die psychopathologische Besonderheit der Erkrankung in einer Spaltung der verschiedensten psychischen Funktionen sah (Kuhn et al., 2004).

2.1.1 Symptomatik und Klassifikation

Schizophrenie wird durch diverse Positiv- und Negativsymptome charakterisiert. Dazu gehören z.B. Störungen des inhaltlichen und formalen Denkens sowie der Wahrnehmung, kognitive Einschränkungen, Störungen der Psychomotorik, Antriebslosigkeit, Apathie, Kommunikationsprobleme und eingeschränkte Affektivität (Falkai, 2011). In den einzelnen Patienten bzw. im Krankheitsverlauf können die psychopathologischen Ausprägungen sehr unterschiedlich sein.

Positivsymptome äußern sich durch übersteigerte und starke Fehlinterpretation des normalen Lebens bis hin zu chronischen Halluzinationen. Zu den inhaltlichen Denkstörungen gehören Realitätsverlust bzw. -verzerrung und bei ca. 90% der Betroffenen Wahnvorstellungen (Cutting, 2003). Wahninhalte können sich als Beziehungs-, Verfolgungs- und Beeinträchtigungsgedanken oder Größenideen äußern. Wahrnehmungsstörungen, also Halluzinationen, können bei allen fünf Sinnesorganen auftreten. Meistens existieren sie in Form akustischer Halluzinationen. Dazu zählen z.B. bedrohende oder anklagende Stimmen (Möller et al., 2008).

Negativsymptome führen zu Einschränkungen des normalen Erlebens. Dabei kommt es besonders oft zur Störung der Intentionalität bzw. des Antriebes (Abulia), was sich wiederum in einem sozialen Rückzug und einem Mangel an Energie äußert. Zu den formalen Denkstörungen gehören Gedankenabreißen, Danebenreden, Neologismen und Denkzerfahrenheit. Bei einer Ich-Störung verschwimmen die Grenzen zwischen dem Ich und der Umwelt (Nuechterlein et al., 2004).

2 Einleitung

Es kann zu einer **Affektverflachung** mit gereizter, depressiver Stimmung, Ratlosigkeit, erhöhter Ängstlichkeit und innerer Anspannung kommen.

Kognitive Defizite sind vor allem als Beeinträchtigung der Gedächtnisleistungen, der Konzentrationsfähigkeit, der Aufmerksamkeit und des Denkens zu erkennen.

Motorische Einschränkungen äußern sich durch einen Wechsel zwischen Zuständen extremer Erregung und völliger Passivität. Dies geht oft mit katatonen Symptomen einher.

Seit den 70-iger Jahren erfolgte die Einteilung der Krankheitsmerkmale in positive und negative Symptome. Dafür entwickelten Kay et al., (1987) ein System zur Typisierung der Merkmale schizophrener Psychosen, die Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS). Die Einteilung der Symptome erfolgt hierbei in drei Gruppen:

1. Die Positivskala (7 Elemente): formale Denkstörungen, Wahnvorstellungen, Halluzinationen, Hyperaktivität, Größenwahn, Misstrauen und Verfolgungswahn
2. Die Negativskala (7 Elemente): abgestumpfter Affekt, Mangel an Spontanität, schlechter Rapport, passiver bzw. apathischer sozialer Rückzug, Sprachflüssigkeit und Schwierigkeiten beim abstrakten Denken sowie stereotypes Denken
3. Psychopathologische Globalskala (16 Elemente), unter anderem: leibliche Befindlichkeitsstörung, Desorientierung, Schuldgefühle, Depressionen, verlangsamte Motorik, Unkooperativität, Mangel an Urteilsvermögen, Angst, Störung der Willensbildung, schlechte Impulskontrolle, Selbstbezogenheit (Kay et al., 1987).

Die PANSS ermöglicht eine Einteilung der Schizophrenie in zwei Typen. Typ 1 zeichnet sich vor allem durch Positivsymptomatik, fehlende intellektuelle Beeinträchtigung, gutes Ansprechen auf Medikamentengabe (Neuroleptika) und einen reversiblen Verlauf aus. Der Typ 2 hingegen weist überwiegend negative Symptome, hirnstrukturelle Veränderungen sowie eventuell vorhandene intellektuelle Beeinträchtigungen auf und hat im Allgemeinen eine schlechtere Verlaufsprognose (Crow, 1985).

Seit einigen Jahrzehnten sind zwei Klassifikationssysteme gebräuchlich, das International Statistical Classification and Related Health Problems System (ICD) und das Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder (DSM). Sie dienen unter anderem der Vereinheitlichung und Vergleichbarkeit der Diagnosen von schizophrenen Störungen.

2 Einleitung

Das ICD wird von der World Health Organization (WHO) herausgegeben und seit 1986 auch in Deutschland verwendet. Im Jahre 2015 erfolgte die Veröffentlichung der bis heute verwendeten Version 10 (ICD-10) (DIMDI.de). Die Einteilung der klinischen Symptome erfolgt in die paranoide (F 20.0), hebephrene (F 20.1), katatone (F 20.2) oder undifferenzierte Schizophrenie (F 20.3), des Weiteren in eine postschizophrene Depression (F 20.4), ein schizophreses Residuum (F 20.5), eine Schizophrenia simplex (F 20.6), die sonstige Schizophrenie (F 20.8) und die nicht näher bezeichnete Schizophrenie (F 20.9).

Die American Psychiatric Association gab 1952 das erste DSM heraus, seit 1996 wird es auch hier zu Lande verwendet. Die aktuelle fünfte Version, herausgegeben 2013, liegt seit 2014 in einer deutschen Übersetzung vor. Sie verzichtet auf eine weitere Subklassifikation der Schizophrenie.

2.1.2 Epidemiologie

Die Distribution einer Krankheit wird im Allgemeinen durch zwei Werte festgelegt, die Inzidenzrate und die Prävalenz. Die Inzidenzrate gibt die Anzahl der Neuerkrankungen in einer definierten Population und in einem definierten Zeitraum an. Die Prävalenz gibt die Gesamtanzahl der Erkrankten an, egal ob es sich um Neuerkrankung oder bekannte Fälle zu einem bestimmten Zeitpunkt (*point prevalence*) oder in einer bestimmten Zeitspanne (*period prevalence*) handelt (Tandon et al., 2008).

Die Lebenszeitprävalenz, also das Risiko eines Individuums an Schizophrenie zu erkranken, wird auf einen Bereich von 0,3% – 2,0% abgegrenzt, der Durchschnitt beträgt ca. 0,7% (Saha et al., 2005). In einer Metaanalyse von Saha et al., (2006) konnten keine Unterschiede bezüglich der Raten im Zusammenhang mit verschiedenen geographischen Regionen bzw. mit einem unterschiedlichen regionalen, ökonomischen Entwicklungsstand des Landes festgestellt werden. Es wurde jedoch die Hypothese bestätigt, dass eine urbane Herkunft das Risiko an Schizophrenie zu erkranken, deutlich erhöht. In diesem Zusammenhang gibt es zwei Theorien: Die „*Breeder Hypothesis*“, bei der davon ausgegangen wird, dass ein urbaner Lebensraum den Ausbruch der Krankheit fördert (Lewis et al., 1992; Mortensen et al., 1999; Kirkbride et al., 2006) und die „*Selection Hypothesis*“, die besagt, dass ein sogenannter „social drift“ bei Schizophrenen in die Städte auf Grund von billigeren Wohnräumen und relativer Anonymität besteht (Dohrenwend et al., 1992). Es konnte bisher keine abschließende Erklärung für eine dieser Thesen gefunden werden.

2 Einleitung

Der schon länger vermutete Unterschied zwischen dem Auftreten von Schizophrenie bei Männern und Frauen (Seeman, 1982), konnte in zwei aktuelleren Metaanalysen bestätigt werden. Dabei wurde bei Männern im Vergleich zu Frauen ein 1,4fach höheres Erkrankungsrisiko festgestellt (Aleman et al., 2003; McGrath et al., 2004). Das Alter der Erstmanifestation (Age at Onset - AaO) liegt bei 15-45 Jahren, die Erkrankung kann aber auch vor der Pubertät oder nach dem 50. Lebensjahr auftreten (Gross, 1997; Häfner et al., 1998; Häfner et al., 1999; American Psychiatric Association 2000). Je jünger die Person beim Ausbruch der Krankheit ist, desto gravierender sind oft die Negativsymptome und desto ungünstiger ist die allgemeine Prognose.

Von schizophrenen Psychosen sind gehäuft Personen mit niedriger sozioökonomischer Herkunft und geringerem Bildungsstand betroffen (Crow, 2007; McClellan et al., 2007, Sullivan et al., 2003). Dieses Phänomen hängt nicht damit zusammen, dass in den niedrigen sozioökonomischen Schichten gehäuft Schizophrenie auftritt, sondern damit, dass bereits im frühen Stadium der Erkrankung auftretende Beeinträchtigungen der sozialen Kompetenzen ein Abrutschen in tiefere soziale Schichten mit sich bringen (Drift-Hypothese) (Falkai und Maier, 2006).

2.1.3 Der Krankheitsverlauf

Schizophrenie ist im Allgemeinen durch eine sequentielle Verlaufskurve gekennzeichnet, auch wenn es große Variationsmöglichkeiten gibt. Die *prämorbid* Phase geht mit subtilen, nicht spezifischen kognitiven, motorischen und/oder sozialen Funktionsstörungen einher (Schenkel und Silverstein, 2004). Darauf folgt über einen längeren Zeitraum die *Prodromalphase* mit abgeschwächten Positivsymptomen und rückläufigen Funktionen bzw. unspezifischen Störungen im Bereich der Kognition, des Affektes und des sozialen Verhaltens (Rossler und Rossler, 1998, an der Heiden, 2003, Schultze-Lutter, 2009). Die *erste psychotische Episode* wird oft als formeller Beginn der Krankheit wahrgenommen und wiederholt sich bei 90% aller Patienten während ihres Lebens (Häfner, 1995). Die Dauer und der Grad der interepisodischen Remissionen kann dabei variieren. In der *Plateauphase* sind die psychotischen Symptome weniger prominent und die Negativsymptome und stabilen kognitiven Defizite sind zunehmend vorherrschend (Falkai, 2011). Nach Abklingen der akuten Symptome können postremessive Zustände (postpsychotische Depressionen oder postpsychotische Erschöpfungszustände) auftreten. Bei ihnen besteht die Möglichkeit, dass sie nach einigen Wochen oder Monaten wieder abklingen (Lambert et al., 2010). Eine unterschiedlich gute *Genesung* kann zu jedem Zeitpunkt auftreten (Harding et al., 1987). Bei etwa 50% der Erkrankten kommt es zu einem rezidivierenden Auftreten mit

2 Einleitung

Residualsymptomatik und massiven Störungen der sozialen Integration (Lambert et al., 2010, Fett et al., 2011). Laut längerfristigen Untersuchungen wurde bei 40% der Erkrankten eine deutliche Besserung nach durchschnittlich 5,6 Jahren festgestellt (Hegarty et al., 1994). Ein geringer Prozentsatz der Erkrankten entwickelte eine produktive Symptomatik (Falkai, 2011).

Die Prognose wird von mehreren Faktoren beeinflusst. So haben weibliches Geschlecht, das Auftreten des paranoiden Subtyps und eine stabile soziale Herkunft eine positive Auswirkung auf dem Verlauf, während prämorbid Persönlichkeit, akustische Halluzinationen und Zwangssymptomatiken negativ wirken (Arolt et al., 2006). Eine zutreffende Prognose im Einzelfall bei Krankheitsbeginn ist auf Grund der unterschiedlichen Verläufe nicht möglich (Emsley et al., 2008).

2.1.4 Ätiopathogenese

In den letzten zwei Jahrzehnten hat das Wissen über die Grundlagen der Entstehung von Schizophrenie zwar zugenommen, aber welche genauen Auslöser es für die Krankheit gibt, ist noch unbekannt. Es wird von mehreren Faktoren (genetisch, hirnanatomisch und psychosozial) ausgegangen, die sich gegenseitig beeinflussen und in der prämorbid Entwicklung eine Rolle spielen (Schmitt et al., 2016). Sie haben eine Vulnerabilität zur Folge, die unter ungünstigen psychosozialen Umständen zu einer Erstmanifestation bzw. zu einem erneuten Auftreten von Schizophrenie führen können (Möller und Deister, 2005).

2.1.5 Umweltfaktoren

Eine Vielzahl von Umweltfaktoren kann während aller Entwicklungsphasen, von der vorgeburtlichen Periode bis zum jungen Erwachsenenleben, eine Rolle für den Ausbruch von Schizophrenie spielen (Maki et al., 2005). Während der pränatalen Zeit können Mangelernährung und negative Lebensereignisse im Leben der Mutter im ersten und am Anfang des zweiten Trimesters das Risiko, die Krankheit zu bekommen, erhöhen (Susser et al., 1996, St. Clair, 2005, Penner und Brown, 2007, Meyer et al., 2007). Im gleichen Zeitraum auftretende Infektionskrankheiten, meistens Influenza (Arias et al., 2012), aber auch andere wie z.B. Rubella oder Toxoplasmose (Brown et al., 2001, Khandaker et al., 2012), wirken sich durch fetale und maternale Immunreaktionen negativ auf die normale Gehirnentwicklung aus. Die genauen neurobiologischen Mechanismen sind dabei noch nicht bekannt (Ashdown et al., 2006).

2 Einleitung

Bei der Geburt auftretende Komplikationen, wie z.B. Frühgeburt, Inkubator Behandlung oder Nabelschnurkomplikationen, können zu einer Verdopplung des Risikos an Schizophrenie zu erkranken führen (Cannon et al., 2002B, Byrne et al., 2007, Matheson et al., 2012). Die daraus resultierende Hypoxia unter der Geburt hat oft einen Zellverlust in der sensiblen Amygdala- und Hippocampusregion des kindlichen Gehirns zur Folge (Geddes et al., 1999, Byrne et al., 2007). Auch ein höheres Alter des Vaters scheint eine Ursache für größeres Schizophrenierisiko zu sein (Wohl und Gorwood, 2007, Matheson et al., 2012). Dabei wird von einer fehlerhaften Spermatogenese ausgegangen, die sowohl Neumutationen als auch aberrante epigenetische Veränderungen zur Folge hat (Byrne et al., 2003, Perrin et al., 2007, Cheng et al., 2008). Eine Geburt während der Wintermonate oder am Anfang des Frühjahres kann mit einer 5-10% höheren Wahrscheinlichkeit eine Schizophrenie zu entwickeln, assoziiert werden (Torrey et al., 1997, McGrath und Welham, 1999, Davies et al., 2003). Dieser Effekt wird anscheinend durch zunehmende Altitude und die Härte des Winters verstärkt. Eine fundierte wissenschaftliche Erklärung dafür gibt es nicht, aber es wird von einer Verstärkung der drei Hauptgründe ausgegangen (pränatale Infektion, pränatale Mangelernährung, Mutationsrisiken) aus (Thibuat et al., 2006).

Risiko-behaftet sind außerdem Kindheitstraumata (Read et al., 2005, Morgan und Fisher, 2007); Kopfverletzungen (David und Prince, 2005), Trennung oder Tod der Eltern (Morgan et al., 2006), sowie Migration und das schon vorher erwähnte Aufwachsen in einer urbanen Umgebung. Vermehrter Cannabiskonsum in der Jugendzeit erhöht das Risiko an Schizophrenie zu erkranken (Semple et al., 2005, Moore et al., 2007). Eine Kontroverse besteht, ob der Konsum der Droge ein auslösender oder ein kausaler Faktor ist (Degenhardt und Hall, 2006, Barnes et al., 2006). Einige der genannten Umweltfaktoren können zu morphologischen Veränderungen des Zentralen Nervensystems (ZNS) führen (van Os et al., 2005).

2.1.6 Neuroanatomische Veränderungen

Eine Gehirnvolumenreduktion bei an Schizophrenie erkrankten Personen wurde in den 1920er Jahren durch pneumo-encephalographische Studien nachgewiesen (Keshavan et al., 2008). Die modernen bildgebenden Verfahren (z.B. die Magnetresonanztomographie, MRT) trugen zur in vivo Identifikation einer Anzahl von Strukturveränderungen im ZNS bei, die die postmortem morphologisch veränderten Befunde bestätigten. Durch systematische Metaanalysen von strukturellen MRT-Studien wurde festgestellt, dass das gesamte Gehirnvolumen, insbesondere die graue Substanz, reduziert ist und die ventrikulären Volumina vergrößert sind (Shenton et al., 2001, Wright et al., 2006, Steen et al., 2006,

2 Einleitung

Haijma et al., 2012). Eine Darstellung der Orte mit der größten Variabilität in der grauen Substanz ist in Abbildung 1 dargestellt (Shepherd et al., 2012). Es konnte außerdem eine Veränderung der Konnektivität und Integrität der weißen Substanz nachgewiesen werden (Schmitt et al., 2011).

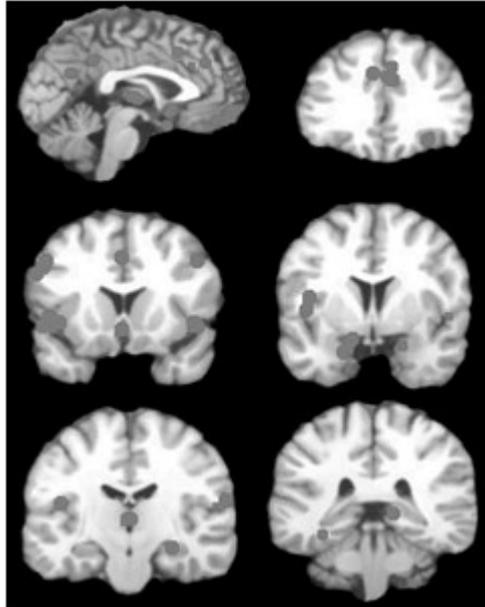


Abbildung 1: Verteilung der Loci mit vermindertem Volumen der grauen Substanz bei chronischer Schizophrenie (Shepherd et al., 2012)

Reduktionen sind im Temporallappen, speziell im Hippocampus, der Amygdala und den Gyri temporalis superioris (Lawrie und Abukmeil, 1998, Nelson et al., 1998), sowie dem präfrontalen Kortex, dem Thalamus (Konick und Friedemann, 2001), den Cinguli anterioris (Baiano et al., 2007) und dem Corpus Callosum (Woodruff et al., 1995) zu finden. Die Veränderungen betrafen nicht nur die von der Krankheit betroffenen Personen, sondern auch deren Verwandte (Sharma et al., 1999, Dragovic und Hammond, 2005). Diese Degenerationen bestehen bereits am Beginn der Krankheit (Steen et al., 2006, Vita et al., 2006) und je früher ihr Beginn, desto schwerer sind die neuroanatomischen Veränderungen (Kyriakopoulos und Frangon, 2007).

Bisher konnte nicht geklärt werden, ob die Veränderungen durch eine Störung der Hirnentwicklung oder degenerative Prozesse zu Stande kommen. Der fehlende Nachweis von Gliose in postmortalem Gewebe (Harrison 1999), sowie eine histologisch reduzierte Zellanzahl und Zellgröße und gestörte hippocampale Zellarchitektur (Kovelman und Scheibel, 1984, Portund Seybold, 1995, Sweatt, 2004) unterstützen die Theorie der

2 Einleitung

Hirnentwicklungsstörung. Es konnte jedoch eine fortschreitende Veränderung des ZNS im Verlauf der Krankheit beobachtet werden (Rapoport, 2005). Dies deutet auf einen degenerativen Prozess hin. Wahrscheinlich ist, dass sich beide Ansätze nicht ausschließen, sondern ergänzen, da abnorme Entwicklungsprozesse zu kausalen Faktoren führen können, die mit zum Ausbruch der Schizophrenie beitragen (z.B. Sucht) und neuroprogressive Erkrankungen hervorrufen, die einen degenerativen Einfluss ausüben können (Pantelis et al., 2005, Rapoport et al., 2005). Experten gehen davon aus, dass eine Störung in der Entwicklung der cerebralen Asymmetrie oder einer Abnormalität in der cerebralen Dominanz wichtig für die Ätiopathogenese ist und sie in Verbindung mit verdächtigen Genen gebracht werden können (Crow et al., 1989; DeLisi et al., 1994).

2.1.7 Genetische Faktoren

Aus genetischer Sicht ist Schizophrenie eine heterogene und polygene Krankheit, die als gemeinsame Ursache unter anderem multiple genetische Polymorphismen aufweist. Diese tragen jeweils einen Teil zur Prädisposition der Krankheit bei. Zu dieser Erkenntnis haben viele unterschiedliche Forschungsansätze geführt, unter anderem Familien-, Adoptions- und Zwillingsstudien.

2.1.7.1 Familienstudien

Es ist bekannt, dass Schizophrenie gehäuft in Familien auftritt (Giegling et al., 2008) und Verwandte von betroffenen Personen ein höheres Risiko besitzen, selbst an Schizophrenie zu erkranken (Kendell et al., 1993). Bei Verwandten ersten Grades beträgt das Risiko 6-17%, bei Verwandten zweiten Grades 2-6% und bei Verwandten dritten Grades 2% (siehe Abbildung 2). Allerdings muss berücksichtigt werden, dass Verwandte sowohl genetische Gemeinsamkeiten aufweisen als auch häufig ein familiäres Umfeld teilen und demzufolge keine klare Abgrenzung zwischen genetischen und Umweltfaktoren bei Familienstudien möglich ist.

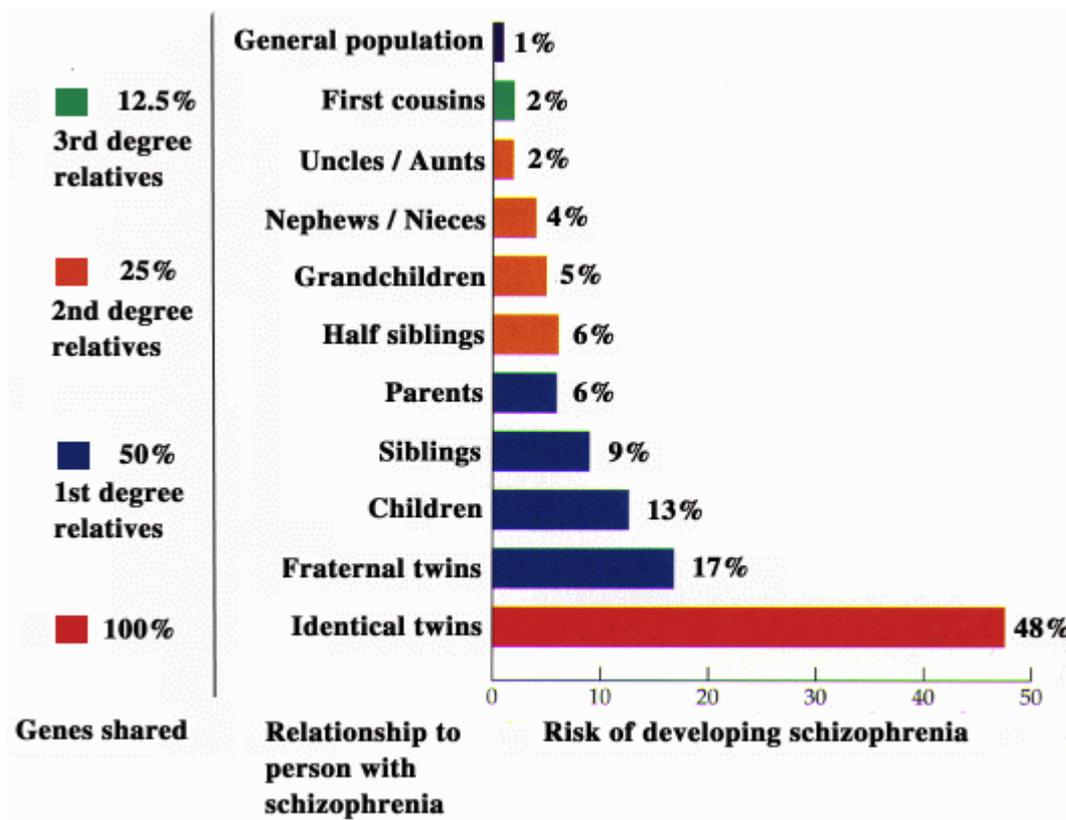


Abbildung 2: Erkrankungsrisiko für Angehörige schizophrener Patienten (Gottesman und Erlenmeyer-Kimling, 2001)

Um genetische von äußeren Einflüssen zu distinguieren, können Adoptions- und Zwillingsstudien eingesetzt werden (Ingraham und Kety, 2000; Owen et al., 2005).

2.1.7.2 Zwillingsstudien

Das Risiko von monozygoten Zwillingen an Schizophrenie zu erkranken, ist dreimal so hoch wie das von dizygoten Zwillingen (Gottesman et al., 1987, Sullivan et al., 2003). Dies ist der Tatsache geschuldet, dass dizygote Zwillinge sich nur 50% ihrer Gene teilen und dadurch nur ein 10 - 17%iges Risiko haben, die Krankheit zu bekommen, ähnlich wie bei leiblichen Geschwister (siehe Abbildung 2) (Cannon et al., 1998, Farmer et al., 1987, Franzek und Beckmann, 1996, Onstad et al., 1991). Monozygote Zwillinge hingegen haben ein fast 100%ig identisches Genom und ihr Risiko an Schizophrenie zu erkranken liegt bei 40-50% (siehe Abbildung 2) (Wong et al., 2005), wenn der erste Zwilling bereits erkrankt ist.

2 Einleitung

Da sich eineiige Zwillinge aber eine ähnlichere Umwelt als zweieiige Zwillinge teilen, z.B. durch ihr gleiches Geschlecht und Aussehen oder intrauterin dieselbe Plazenta, kann auch bei diesen Studien nicht eindeutig geklärt werden, ob die hohe Konkordanz nicht auch durch ihre Umweltfaktoren mit beeinflusst wurde. Zur Trennung dieser beiden Faktoren können Adoptionsstudien benutzt werden.

2.1.7.3 Adoptionsstudien

Adoptionsstudien stellen die beste Möglichkeit dar, Umwelteinflüsse und genetische Faktoren getrennt voneinander zu untersuchen (Ingraham und Kety, 2000). Dabei wurde deutlich, dass eine familiäre Häufung von Schizophrenie Erkrankungen nicht nur auf ähnliche Umwelteinflüsse, sondern auch auf unterschiedliche genetische Komponenten zurückgeführt werden muss (Tsuang und Farone, 1995; Ingraham und Kety, 2000). Kinder, die aus einer unbelasteten Familie zu Eltern mit einer Schizophrenie kamen, zeigten kein erhöhtes Erkrankungsrisiko gegenüber der Allgemeinbevölkerung (Kety 1988). Bei Kindern, deren leibliche Eltern an Schizophrenie litten und die von einer unbelasteten Familie adoptiert wurden, konnte ein erhöhtes Risiko nachgewiesen werden (Kety et al., 1994, Tienari et al., 2000).

2.1.7.4 Molekulargenetik der Schizophrenie

Das Vererbungsmuster der Schizophrenie ist ähnlich komplex wie das anderer Krankheiten, z.B. Diabetes mellitus (Lander und Schork, 1994; Corsico et al., 2001) und entspricht nicht den Mendelschen Gesetzen (McGue und Gottesman, 1998). Momentan wird von einem multifaktoriellen polygenen Übertragungsweg ausgegangen, d.h. es bestehen Mutationen in mehreren Genloci, die jeweils einen kleinen Beitrag zur Entstehung der Krankheit dazu steuern (Owen, 2000; Prasad and Keshavan, 2008). Als genetische Basis wird von einer Kombination aus mehreren häufig vorkommenden Allelen mit kleinem bis mittlerem Effekt und einigen seltener vorkommenden Allelen mit größerem Effekt ausgegangen (Wang et al., 2005, Craddock et al., 2007, Owen et al., 2009).

Zur Identifizierung von Genorten komplexer Erkrankungen werden Kopplungs- und Assoziationsstudien genutzt (Maier et al., 1999). Es gibt Annahmen, denen zufolge davon ausgegangen wird, dass sich verschiedene psychische Erkrankungen, z.B. bipolar affektive, schizo-affektive Störung und Schizophrenie, einige genetische Risikofaktoren teilen (Lichtenstein et al., 2009). Auf Grund dieser Hypothese ist es notwendig, größere Stichproben zu untersuchen, die eine hohe Teststärke und Aussagekraft auch über diagnostische Grenzen hinaus besitzen. Das Ziel von Kopplungsstudien ist ein Nachweis

2 Einleitung

gemeinsamer Heredität eines polymorphen Markers mit bekanntem chromosomalem Ort und einer bestimmten Erkrankung. Dies setzt voraus, dass zwei oder mehrere Mitglieder einer Familie von der Krankheit betroffen sind, wobei eine größere Anzahl hilfreich ist (Maier et al., 1999). Die meisten positiven Befunde von Kopplungsstudien zu Schizophrenie konnten jedoch nicht repliziert werden (Moldin, 1997) und wiesen auch keine stringente genomweite Signifikanz auf (Owen et al., 2004). Die gefundenen Kandidatenregionen waren sehr groß und ca. 58% des Genoms wurde in mindestens einer Kopplungsstudie mit der Krankheit in Verbindung gebracht (Sullivan et al., 2008). Diese Ergebnisse können unter anderem auf einen zu geringen genetischen Einfluss oder zu kleine Stichproben zurückgeführt werden (Owen et al., 2005).

Eine Metaanalyse von Ng et al., (2008) umfasste 32 genomweite Kopplungsstudien und erbrachte eine genomweite signifikante Kopplung für die Chromosomenabschnitte 2q und 5q. In einer erweiterten Analyse wurden ausschließlich Kopplungsstudien mit europäischstämmigen Personen in die Auswertung einbezogen. Diese Metaanalyse ergab, anders als die der Gesamtstichprobe, einen Kopplungshinweis für den speziellen Chromosomenabschnitt 8q (Ng et al., 2008). Diese Studien unterstützen die Theorie der multiplen Genloci. Die Kopplungen können erst als relevant betrachtet werden, wenn ihre Rolle bei der Krankheitsentwicklung geklärt wurde, d.h. die Gene in diesen Kopplungsregionen identifiziert wurden und sie mit der Krankheit assoziiert werden können, sowie eine funktionelle Bedeutung besitzen.

2.1.7.5 Assoziationsstudien

Assoziationsstudien stellen eine empfindliche Methode dar, um Suszeptibilitätsgene mit geringem Einfluss zu identifizieren.

2.1.7.6 Genomweite Assoziationsstudien (GWA) zur Schizophrenie

Mit genomweiten Assoziationsstudien (GWAs) wird die Häufigkeit der Allele spezieller Einzelnukleotidpolymorphismen (*Single Nucleotid Polymorphism*, SNPs) bei Patienten und gesunden Kontrollprobanden verglichen. Die genomweiten Assoziationsstudien sind im Gegensatz zu den Assoziationsstudien, die auf einem Kandidatengen beruhen, hypothesenfrei (Hirschhorn und Daly, 2005). Durch moderne Chiptechnologien können zeitgleich mehrere hunderttausende SNPs einer Testperson untersucht werden, unter anderem auch Polymorphismen, die im Vorfeld nicht als risikosteigernd angesehen wurden. Alle Allel-Frequenzen der auf dem Chip befindlichen Marker werden für jeden einzelnen Studienteilnehmer bestimmt. Bis zum heutigen Zeitpunkt konnten so einige

2 Einleitung

vielversprechende SNPs identifiziert werden. Die Autoren O`Donovan et al., führten 2008 eine genomweite Assoziationsstudie (GWA) durch und konnten einen Zusammenhang zwischen dem SNP rs1344706 des ZNF804 Gens (2q.32.1) und Schizophrenie aufzeigen, allerdings bestand keine genomweite Signifikanz. Es konnten außerdem Assoziationen mit einem SNP auf Chromosom 22 und mit mehr als 450 SNPs auf Chromosom 6 nachgewiesen werden (International Schizophrenia Consortium, Purcell et al., 2009).

Eine GWA von Stefansson et al., (2009) untersuchte 2663 Schizophreniepatienten und 13498 Kontrollen in acht europäischen Standorten. Dabei wurden 314868 SNPs analysiert, die zunächst keine erkennbare genomweite signifikante Assoziation zeigten. Eine Metaanalyse bestehend aus 1500 Markern ihrer eigenen GWA, Markern des International Schizophrenia Consortiums (International Schizophrenia Consortium, Purcell 2009) und denen von Shi et al., (2009) offenbarten eine signifikante Assoziation mit Genen der MHC- (major histocompatibility complex) Regionen auf den Chromosomen 6p.21.3-22.1, sowie Regionen auf 11q24.2 und 18q21.2 (Stefansson et al., 2009). Diese Ergebnisse unterstützen die Theorie, dass das Immunsystem an der Entwicklung von Schizophrenie maßgeblich beteiligt ist, da sich maternale und fetale Immunreaktionen negativ auf die Gehirnentwicklung auswirken können.

Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen auch Ripke et al., (2014), die durch eine mehrstufige genomweite Assoziationsstudie zur Schizophrenie 128 signifikante, voneinander unabhängige Assoziationen auf 108 unterschiedlichen Loci nachweisen. Sie konnten eine vermehrte Anreicherung in Genen, die das Immunsystem beeinflussen, nachweisen. Außerdem wurden Assoziationen mit Genen des Gehirns gefunden, so dass eine biologische Plausibilität der Ergebnisse besteht. Andere Assoziationen stehen im Zusammenhang mit Genen, die an glutamergen Neurotransmission involviert sind (Ripke et al., 2014) und damit die pathophysiologische Hypothese von neurobiochemischen Veränderungen bei Schizophrenieerkrankten unterstützt.

Weitere Forschungsansätze beruhen auf CNVs (Copy Number Variants, d.h. Genkopieanzahlvarianten). Diese strukturellen Varianten, entstehen durch Verdopplung, Vervielfachung oder Deletion größerer Teile eines chromosomalen Abschnittes. Die Mutationen besitzen eine hohe genetische Penetranz, so dass ihr alleiniges Vorliegen für die Ausbildung eines Phänotyps einer Krankheit ausreicht. Walsh et al., (2008) konnten in ihrer Studie 24 Gene bei Personen mit Schizophrenie ausmachen, die durch CNVs unterbrochen wurden. Davon sind 11 an Signalwegen im Gehirn beteiligt und ihre Mutationen können an neurobiochemischen Veränderungen beteiligt sein.

2 Einleitung

In einer groß angelegten ISC Studie zu seltenen CNVs konnten frühere Studien bestätigt werden, die eine Deletion in der Region 22q11 nachgewiesen hatten, die für das Velo-Cardio-Facial Syndrom verantwortlich ist und das Risiko einer Schizophrenieerkrankung um 30% erhöht. Die Autoren Stefansson et al., publizierten im Jahr 2008 eine Studie in der Zeitschrift Nature, in der sie eine Anzahl wiederkehrender Mikro-Deletionen nachwiesen, die mit Schizophrenie assoziiert sind. Es wurden drei Deletionen bei 1q21.1, 15q11.2 und 15q13.3 identifiziert, deren Auftreten signifikant mit Schizophrenie und verwandten Psychosen korreliert (Stephansson et al., 2008).

2015 wiesen Biamino et al., (2015) mit Hilfe einer CNV Untersuchung eine neue Deletion im 3q29 Chromosom in der Zentromerregion bei einem dreijährigen Kind und sechs seiner Verwandten nach, die an Intelligenzminderung, Schizophrenie und Übergewichtigkeit litten. Von den 10 durch diese Deletion betroffenen Genen postulieren die Verfasser einen Einfluss von ATPase type 13A4 bzw. Hairy/Enhancer of Split Drosophila homolog 1 (HES1) auf dem neuropsychologischen Phänotyp. Biamino et al., (2015) gehen in diesem Zusammenhang von einem neuen Gensyndrom aus, das mit neurobiochemischen Veränderungen am Gehirn einhergeht.

2.1.8 Neurobiochemische Veränderungen

Die Dopaminhypothese

Ein Überschuss an Dopamin in bestimmten Regionen ist eine der ältesten und weitverbreitetsten Theorien der Pathophysiologie von Schizophrenie (van Rossum, 1966, Carlsson, 1977, Carlsson und Carlsson 2006). Die Theorie wurde aufgrund der Tatsache entwickelt, dass Präparate die die Substanzklasse der Phenothiazine enthalten, in der Lage sind die Positivsymptomatik weitgehend zu unterdrücken (Javitt und Coyle, 2004). Patienten ohne eine Negativsymptomatik können daher von einer derartigen Medikation profitieren. Trotz leichter Einschränkungen ihrer kognitiven Fähigkeiten (Gedächtnis, lernen, Vorstellungsvermögen) sind sie in ihrem Alltagsleben kaum eingeschränkt. Patienten mit einer Dominanz von Negativsymptomen dagegen sind so nicht ausreichend therapierbar. Das führt zumeist zu sozialer Isolation und einer erheblichen Einschränkung ihrer kognitiven Kapazitäten (Fleischhacker und Hummer, 2006). Einige Autoren gehen davon aus, dass ein Ungleichgewicht zwischen Cortex und Subcortex besteht (Abi-Dargham et al., 2003). Eine Hyperaktivität der subcorticalen mesolimbischen Dopaminprojektionen (Abi-Dargham et al., 2003) steht dabei einer hypoaktiven mesocorticalen Dopaminprojektion im präfrontalen Cortex gegenüber (Remington et al., 2011). Erstere sind verantwortlich für die Positivsymptomatik (Miyake et al., 2011), letztere für die Negativsymptomatik (Remington et al., 2011).

2 Einleitung

In einem aktuellen Review aus dem Jahr 2015 wird die Dopamin-Hypothese nur mit Einschränkungen bestätigt. Post-mortem-Studien konnten Anomalien sowohl im präsynaptischen als auch im post-synaptischen dopaminergen System identifizieren. Eine mögliche Einschränkung von postmortem-Studien ist jedoch die Schwierigkeit, die Wirkungen von antipsychotischen Medikamenten zu kontrollieren und es ist nicht auszuschließen, dass die beobachteten prä- und post-synaptischen Veränderungen überwiegend iatrogener Natur sind. Ein weiteres Problem ist der Korrelationsnachweis zwischen den Veränderungen und der Symptomausprägung und dem Fortschritt der Erkrankung. Daher ist es immer notwendig auch in vivo Studien durchzuführen (Howes et al., 2015). Eine Reihe von in vivo-Studien konnte belegen, dass die präsynaptische Dopamin-Dysfunktion einen großen Einfluss auf den Krankheitsverlauf nimmt (Howes et al., 2015).

Die Forschung mit gesunden Zwillingspaaren hat gezeigt, dass Umweltfaktoren einen wesentlichen Anteil der Variation der normalen präsynaptischen Dopamin-Funktion erklären (Stokes et al., 2013). Dies passt zu den jüngsten Erklärungsmodellen für Psychosen, die davon ausgehen, dass Stress und andere Risikofaktoren zu einer Dysregulation des Dopamin-Systems führen (Howes und Murray, 2014). Somit scheint derzeit gesichert, dass der Schizophrenie eine dopaminerge Anomalie zugrunde liegt und dass diese in einer präsynaptischen Dopamin-Dysfunktion besteht (Howes et al., 2015). Allerdings gibt es nicht-dopaminerge Formen der Schizophrenie. Etwa jeder dritte Schizophrenie-Patient reagiert nicht auf die entsprechenden Antipsychotika (Mortimer et al., 2010) und das trotz hohen D2-Belegung (Kapur et al., 2000). Darüber hinaus reagieren diese Patienten auch nicht auf Medikationen, die präsynaptisches Dopamin abbauen (Remington et al., 2012).

Daraus muss gefolgert werden, dass bei einer signifikanten Anzahl von Schizophrenie-Patienten die pathophysiologische Basis ihrer Symptome nicht alleinig durch einen dopaminergen Überschuss oder eine dopaminerge Dysfunktion erklärt werden kann (Howes et al., 2015). Demjaha et al., haben gezeigt, dass die Dopamin-Synthesekapazität bei Personen mit einer dopamin-abhängigen Schizophrenie erhöht ist. Dies gilt jedoch nicht für die behandlungsresistenten Patienten (Demjaha et al., 2012). Insgesamt deuten diese Befunde darauf hin, dass es einen "nicht-dopaminergen" Subtyp der Schizophrenie gibt (Howes et al., 2015). Obwohl mittlerweile Konsens darüber besteht, dass die dopaminerge Dysfunktion mit negativen und kognitiven Symptomen korreliert, ist die Richtung der Kausalität noch nicht klar (Howes et al., 2012). Klinische Studien belegen, dass eine hohe Dopamin-Konzentration negative Symptome reduziert (Laruelle et al., 1999). Dies ist jedoch nicht ohne weiteres mit dem einfachen Modell der präsynaptischen Dopamin-Dysregulation herzuleiten. Dieses Phänomen könnte durch die Hypothese erklärt werden, dass es regional

2 Einleitung

selektive Veränderungen gibt, die zu einem niedrigen kortikalen Dopamin-Spiegel führen, welcher wiederum negative und kognitive Symptome beeinflusst (Laruelle, 2014). Allerdings sollte diese Hypothese durch zukünftige in vivo Studien getestet werden (Narendran et al., 2014).

Bisher sind die klinischen Erfolge von Dopaminantagonisten und partiellen Agonisten auf kognitive Beeinträchtigungen und negative Symptome eher als bescheiden anzusehen. Es kam zum Teil sogar zu einer Verschlechterung der kognitiven Funktion (Kim et al., 2013). Dies impliziert, dass entweder die derzeit verwendeten Medikationen unwirksam sind oder dass weitere Substanzen, wie z. B. Glutamat, zu der kognitiven Dysfunktion beitragen (Howes et al., 2015). Nicht wenige Schizophrenie-Patienten sind zusätzlich drogenabhängig (Buckley et al., 2009). Bei diesen Patienten wurde eine verminderte Amphetamin-induzierte Dopamin-Freisetzung im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe nachgewiesen (Thompson et al., 2013). Zudem zeigten Cannabis-Abhängige generell eine verminderte Dopamin-Freisetzung (Mizrahi et al., 2013). Die Bildgebung der Dopamin-Synthesekapazität bei Personen, die psychotische Symptome erleben, wenn sie Cannabis rauchen, zeigte eine signifikant reduzierte striatale [18F] -DOPA-Aufnahme im Vergleich zu gesunden Probanden (Bloomfield et al., 2014). Diese Ergebnisse zeigen, dass die Verbindung zwischen Substanzmissbrauch und Psychose einen Weg beinhalten kann, der sich von der oben beschriebenen striatalen präsynaptischen Dopamin-Dysfunktion unterscheidet (Howes et al., 2015).

Glutamathypothese

Als wegweisend für die Glutamathypothese gilt die Beobachtung, dass NDMA-Rezeptorblockaden, wie bei Ketamin oder Phencyklidin, paranoid-halluzinatorische Syndrome ähnlich einer symptomatischen Schizophrenie auslösen können. Dazu gehören sowohl Positivsymptome als auch Negativsymptome (Newcomer et al., 1999). Es wird eine Abnahme der Aktivität von NDMA-Rezeptoren bei Schizophrenie postuliert, da in postmortem Studien eine reduzierte Ausprägung des Glutamatrezeptors in verschiedenen Gehirnregionen, wie der präfrontale Kortex und dem Hippocampus, nachgewiesen werden konnte (Harrison et al., 2003). Bei einer Hypoaktivität des Rezeptors kommt es zu hohen Glutamatkonzentrationen (Moghaddam et al., 2012).

Gamma amino butyric acid (GABA)-Hypothese

Anfang des Jahrtausends konnten Variationen in corticalen und limbischen GABA-Neuronenpopulationen als Bestandteil der Neurobiologie der Schizophrenie nachgewiesen werden (Lewis, 2000; Benes & Berretta, 2001). Lewis et al., (2005) stellten während postmortem Studien eine verminderte GABA Produktion im präfrontalen Cortex fest. Außerdem konnte eine zusätzliche Ausbildung der GABA-Rezeptoren nachgewiesen werden, die als Kompensation für den niedrigen GABA-Spiegel gilt (Jarskog et al., 2007). Eine CNV Untersuchung von 2015 zeigte eine Anreicherung von CNVs, die in der GABA Signalkette eine Rolle spielen und die postmortalen Studienergebnisse unterstützen. Diese Veränderungen können zur Einschränkung des Arbeitsgedächtnisses führen (Lewis und Gonzales-Burgos, 2006).

Nikotinerge-Cholingerge Rezeptoren

Viele Patienten mit Schizophrenie sind Raucher. Dies wird als Versuch der Kompensation des Mangels an nikotinischen-cholingeren Rezeptoren angesehen. In neuropathologischen, bildgebenden und pharmakologischen Studien konnte die Assoziation eines Defizits der muskarinergen Aktivität im ZNS gezeigt werden (Raedler et al., 2007). Therapeutische Bedeutung erlangt diese Erkenntnis durch alpha-7-nikotinerge Agonisten, die in der Schizophrenietherapie von Nutzen sein könnten (Lieberman et al., 2005, Olincy and Stevens 2007). Neben dem Nachweis neurobiochemischer Veränderungen des Gehirns spielt auch der Einfluss von genetischen Veränderungen im Zusammenhang mit anderen Faktoren, wie z.B. Umwelteinflüssen auf den Phänotyp, eine Rolle. Außerdem können genetische Variationen Ursache für die neurobiochemischen Veränderungen sein.

2.2 Endophänotypen

Die genetischen Faktoren für Schizophrenie sind bislang ungeklärt, da ihr multifaktorielle Ursachen zu Grunde liegen und ihre Vererbung nicht dem klassischen Mendelschen Regeln folgt (Zerba et al., 2000, Sing et al., 1994, Province et al., 2001). Bei derartigen komplexen Krankheiten entsteht der Phänotyp aus einem Zusammenspiel von Genotyp, Umweltfaktoren und epigenetischen Faktoren, die sich bei den einzelnen Patienten unterscheiden können (Petronis, 2001, McGuffin et al., 2002, Lewis und Levitt, 2002, Glazier et al., 2002).

Von Endophänotypen wird angenommen, dass sie einen direkteren Bezug zur genetischen Basis zeigen und zu deren Entstehung im Gegensatz zu den vollständig ausgeprägten Krankheitsbildern weniger Gene beitragen. Kriterien für die Identifikation von Endophänotypen wurden von Gottesman und Gould (2003) zusammengestellt:

2 Einleitung

- 1) Der Endophänotyp ist mit der Krankheit assoziiert.
- 2) Der Endophänotyp ist erblich.
- 3) Der Endophänotyp ist stabil, also unabhängig vom jeweiligen Status der Krankheit.
- 4) Der Endophänotyp wird innerhalb einer Familie zusammen mit der Krankheit vererbt
- 5) Es liegt eine familiäre Häufung des Endophänotypen vor, die über dem Durchschnitt der Allgemeinbevölkerung liegt.

Das Gedächtnis bzw. die kognitiven Fähigkeiten schizophrener Patienten sind nachweislich häufiger gestört, als bei Gesunden (Schenkel und Silverstein, 2004). Das Gedächtnis rückt deshalb immer mehr in den Fokus von Studien, die Endophänotypen der Schizophrenie erforschen.

2.2.1 Das Gedächtnis

Als Gedächtnis wird die Fähigkeit des Nervensystems von Lebewesen, aufgenommene Informationen zu behalten, zu ordnen und wieder abzurufen, bezeichnet. Es ist das Ergebnis von bewussten und unbewussten Lernprozessen. Es gibt verschiedene Modelle für die Funktionsweise des Gedächtnisses. Die Einteilung erfolgt in drei Systeme (siehe Abbildung 3).

- a) Das *sensorische Gedächtnis*, das für eine unverzügliche, komplette Aufnahme der Informationen aus der Umgebung verantwortlich ist. Die Speicherzeit beträgt unter einer Sekunde. Durch selektive Aufmerksamkeit gelangen relevante Informationen in die nächste Gedächtnisebene (Atkinson und Shiffrin, 1968).
- b) Das *Kurzzeitgedächtnis*, welches eine Kapazität von sieben plus, minus zwei Items (Informationseinheiten) besitzt (Miller, 1956). Die Speicherzeit beträgt ca. 15 Sekunden.
- c) Zur längerfristigen Speicherung müssen die Informationen durch Wiederholung und Üben in das *Langzeitgedächtnis* übertragen werden (Atkinson und Shiffrin, 1968).

2 Einleitung

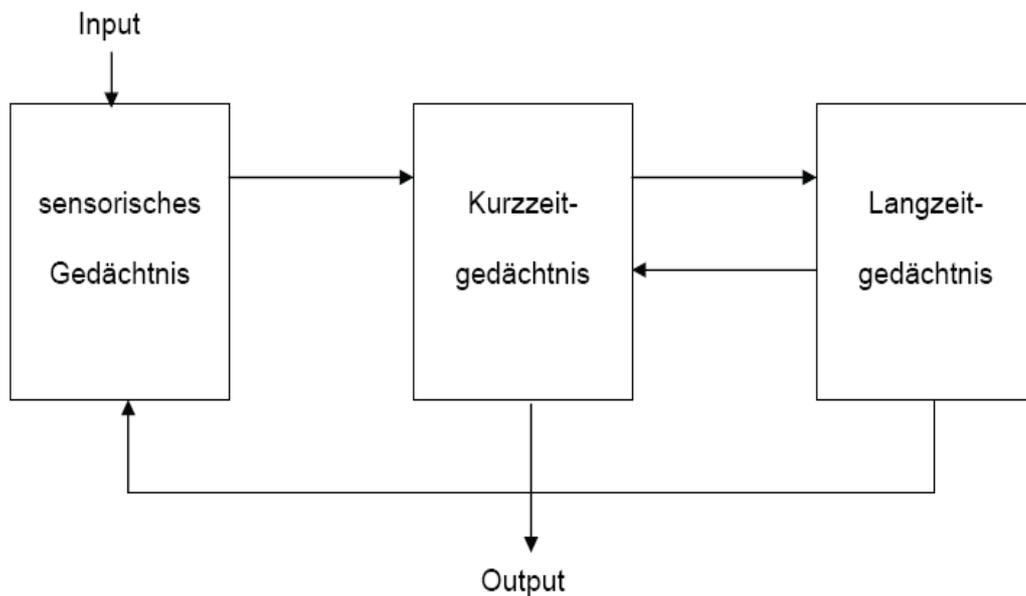


Abbildung 3: Mehrspeichermodell (Atkinson und Shiffrin, 1968)

Das Kurzzeitgedächtnis, auch Arbeitsgedächtnis genannt, wurde von Baddeley (1968, 1990) weiter untergliedert (siehe Abbildung 4). Einmal in die *zentrale Exekutive*, die die Kontrolle über die begrenzte Aufmerksamkeitskapazität hat, die selektive Aufmerksamkeit auf den getrennten sensorischen Speicher lenkt und eine Verteilung auf die folgenden zwei Speicher vornimmt:

1. Die *phonologische Schleife*. Sie ist für die Aufrechterhaltung und Manipulation sprachlicher Informationen verantwortlich
2. Den *visuellen und räumlichen Notizblock*, der für die Verarbeitung von objektbezogenen bzw. räumlichen Informationen zuständig ist

Durch das Arbeitsgedächtnis ist eine geringe Anzahl von Informationen immer in einem aktiven verfügbaren Stadium.

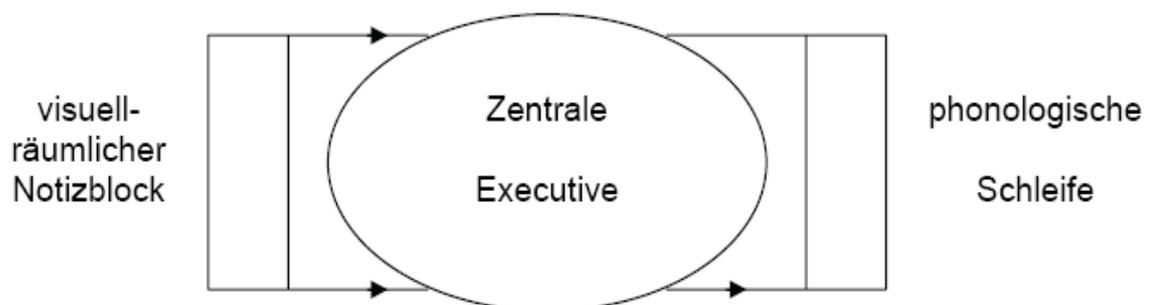


Abbildung 4: Arbeitsgedächtnismodell (Baddeley, 1968)

2 Einleitung

Auch das Langzeitgedächtnis wurde von Squire (1983, 1998) weiter in *deklaratives* und *non-deklaratives Gedächtnis* unterteilt. Das deklarative Gedächtnis wird durch explizites Lernen erworben und ist im Neokortex lokalisiert. Es kann weiterhin in das episodische Gedächtnis, das verantwortlich für autobiographische Daten und in das semantische Gedächtnis, welches für zeitunabhängiges (Welt-)Wissen zuständig ist, unterteilt werden. Das prozedurale Gedächtnis gehört zum non-deklarativen Part des Langzeitgedächtnisses. Darin sind Fertigkeiten gespeichert, die automatisch ablaufen, wie z.B. motorische Abläufe (laufen, schwimmen usw.), die durch impliziertes Lernen erworben werden. Des Weiteren gehören zum nicht-deklarativen Gedächtnis das Priming (unbewusstes Wiedererinnern), welches das leichtere Erkennen oder Prozessieren von Informationen durch eine vorangegangene Wahrnehmung ermöglicht, die klassische Konditionierung (verknüpft mit emotionsgebundenem Lernen) und nicht-assoziatives Lernen (Vorgang der Habituation und Sensitivierung) (Squire, 1998).

Laut Markowitsch (2002) finden vier Prozesse im Langzeitgedächtnis statt:

- a) Lernen/Enkodieren - das Einspeichern von neuen Informationen.
- b) Konsolidierung/Behalten – das Bewahren von wichtigen Informationen durch regelmäßiges Abrufen
- c) Erinnern/Abrufen – die Reproduktion/Rekonstruktion von Inhalten
- d) Vergessen – der Zerfall von Gedächtnisspuren durch konkurrierende Informationen.

2.2.2 Gedächtnis und Schizophrenie

Neben psychotischen Symptomen, wie z.B. Halluzinationen und Wahn (DSM-IV) kommt es bei Schizophrenen oft zu Beeinträchtigungen der kognitiven Funktionen (Goldberg et al., 1993, Bilder et al., 2000). Dazu gehören vor allem Beeinträchtigungen des Gedächtnisses, der Aufmerksamkeit und der exekutiven Funktion (Binder et al., 1998, Riley et al., 2000). Sie treten bei Ersterkrankten, noch nicht mit Neuroleptika behandelten Patienten auf und bleiben während des Krankheitsverlaufes stabil (Cannon et al., 1994, Riley et al., 2000). Palmer et al., (1997) führten eine ambulante Fallkontrollstudie mit gut integrierten schizophrenen Patienten durch. Das Ergebnis zeigte, dass 73% der Patienten pathologische kognitive Funktionen aufwiesen. Im Vergleich dazu waren es bei der Kontrollgruppe nur 5%. Nach den Kriterien von Gottesman und Gould (2003) sind bestimmte kognitive Funktionen als Endophänotypen für die Schizophrenie verwendbar.

2 Einleitung

- 1) *Der Endophänotyp ist mit der Krankheit assoziiert:* Defizite im Bereich des verbalen Gedächtnisses bei schizophrenen Patienten und deren Verwandten konnten in verschiedenen Studien nachgewiesen werden, auch wenn sie nicht exklusiv für psychische Krankheiten sind (Snitz et al., 2006, van Erp et al., 2008)
- 2) *Der Endophänotyp ist erblich:* Es wurde eine moderate Heritabilität (ca. 0,5) für das Gedächtnis festgestellt (Bouchard, 1998). Eine Studie mit gesunden Zwillingen zeigte für junge Erwachsene eine Heritabilität von 0,47 und für ältere eine von 0,63. Dazu wurden ihre Ergebnisse des Untertests *Logisches Gedächtnis* der Wechsler Memory Scale ausgewertet. Tuulio-Henriksson und Kollegen (2002) schätzen die Erblichkeit der verbalen Leistung bei schizophrenen Patienten und deren Erstgradangehörigen auf 0.62, da die Effektstärken durch die unterschiedlichen verwendeten Tests variieren.
- 3) *Der Endophänotyp ist stabil:* Dieses Kriterium kann untersucht werden, in dem eine Unabhängigkeit des intermediären Phänotypen von dem aktuellen psychischen Zustand nachgewiesen werden kann (Addington et al., 1991). Davidson und Keefe (1995) konnten in ihren Studien eine Unabhängigkeit kognitiver Störungen von der Schwere der Positivsymptomatik feststellen. Dies bestätigt auch Nuechterlein (1986), der Patienten im psychotischen und nicht-psychotischen Zustand auf kognitive Beeinträchtigungen untersuchte, in der Störungen der Aufmerksamkeit und des Gedächtnisses als Messgrößen verwendete. Dabei stellten sich die Ergebnisse als stabil und unabhängig vom vorherrschenden psychischen Zustand dar.
- 4) *Der Endophänotyp cosegregiert innerhalb einer Familie mit der Krankheit:* Es existieren noch keine Studien, die die Cosegregation des verbalen Gedächtnisses und der Schizophrenie untersuchen. Allerdings konnte eine Studie zeigen, dass Patienten, die zwei an Schizophrenie erkrankte Erstgradangehörige haben, in diesem Bereich größere Defizite aufweisen als Personen, mit nur einem betroffenen Erstgradangehörigen (Faraone et al., 2000). Außerdem gibt es Hinweise, dass es eine Korrelation von der Häufigkeit zwischen Gedächtnisdefiziten und einer Anhäufung schizophrener bzw. schizophrenieartiger Symptome gibt.
- 5) *Der Endophänotyp von betroffenen Familienmitgliedern kommt bei deren Angehörigen häufiger vor, als in der Allgemeinbevölkerung:* Diverse Studien verglichen die Leistungen von adoleszenten bzw. erwachsenen Angehörigen, die nicht von der Erkrankung betroffen waren mit gesunden Kontrollprobanden. Dabei erzielten die Blutsverwandten oft schlechtere Leistungen in Tests des verbalen Gedächtnisses (Faraone et al., 1995, Cirillo und Seidman, 2003, Seidman et al., 2006).

2 Einleitung

Das Gedächtnis, vor allem das verbale, kann als Endophänotyp klassifiziert werden. Um genetische Faktoren zu finden, die eine Auswirkung darauf haben, wurden auch hierfür Assoziationsstudien durchgeführt.

2.2.3 Genomweite Assoziationsstudien zum Gedächtnis

In einer GWA Metaanalyse von Knowles et al., (2014) konnten mehrere vor allem exzitatorische Gene identifiziert werden, die einen Einfluss auf das Gedächtnis haben. Darunter das domain containing ion transport regulator 2 (FXDY2), welches für Membranproteine, die als Natrium- und Kalium-Transporter im Gehirn arbeiten, kodiert (Need et al., 2009). Dopamin inhibiert dieses Protein. Dopamin Überschuss wird in Schizophreniepatienten vermutet (siehe Dopamin Hypothese). Das bedeutet, nicht nur zwischen FXDY2 und der Gedächtnisleistung, sondern auch zwischen diesem Gen und Schizophrenie kann ein Zusammenhang bestehen, der in weiteren Studien überprüft werden sollte (Knowles et al., 2014).

Weiterhin wurde das Gen SCN1A identifiziert. Es codiert ein Protein, das an der Bildung von Natrium-Kanälen beteiligt ist (Papassotiropoulos et al., 2009). In Mäusen, deren SCN1A Gen ausgeschaltet wurde, ist der GABA-Signalweg in dem präfrontalen Cortex eingeschränkt (Knowles et al., 2014). Eine GABAerge Hypofunktion ist eine der neurobiochemischen Hypothesen für Schizophrenie und konnte schon in postmortem Studien nachgewiesen werden (Lewis et al., 2005). Die Verknüpfung zwischen genetischen Mutationen, Gedächtnisleistungen und Schizophrenie liegt auf Grund dieser Ergebnisse nahe. Auch das MAGI-1 Gen ist in Gedächtnisprozesse involviert. Es trägt als Faltprotein zur Plastizität von postsynaptischen Neuronen bei (Stetak et al., 2009).

2.3 Die MAGUKs

Zurzeit gibt es zwei Hauptansätze, um Zusammenhänge zwischen genetischen Veränderungen und Schizophrenie herzustellen. Einer ist das „*common disease-common allele*“ Modell, bei dem davon ausgegangen wird, dass eine Krankheit durch eine Kombination von häufigen Allelen, welche jeweils einen moderaten Effekt haben, verursacht wird (Lohmüller et al., 2003). Eine Assoziation zwischen der Erkrankung und den Allelen kann durch die Untersuchung von SNPs in bestimmten Kandidatengenen nachgewiesen werden.

Der zweite Ansatz geht von einigen wenigen individuellen, sehr penetranten Mutationen jüngerer Ursprungs aus, die spezifisch für nur einen Fall oder einzelne Familien sind. Dabei

2 Einleitung

spielen CNVs in beiden Theorien eine bedeutende Rolle (McClellan et al., 2007). Walsh et al., (2008) konnten in Untersuchungen des Erbmaterials von Schizophreniepatienten 24 Gene nachweisen, die eine strukturelle Mutation aufweisen. Davon sind nachweislich 11 in Signalkaskaden, die zur Gehirnentwicklung beitragen, involviert. Unter anderem die MAGI (*MAGUKs with Inverted Orientation*) Gene, die an neuronalen Synapsen lokalisiert sind und dadurch zur Entwicklung von zellulären Signalnetzwerken beitragen. Die MAGI Gene codieren für Proteine die zur Klasse der Gerüstproteinklasse der MAGUKs (*Membrane-associate guanylate kinase*) gehören (Dobrosotskaya et al., 1997).

Ein Review zu dieser Thematik aus dem Jahr 2009 favorisiert ebenfalls diesen zweiten Ansatz. Hier wird den seltenen genomischen Deletionen und Duplikationen ein hoher Stellenwert in der Ätiologie der Schizophrenie zugesprochen. Forschungsergebnisse deuten darauf hin, dass die genetische Architektur von neuropsychiatrischen Erkrankungen durch eine Konstellation von seltenen Mutationen in vielen verschiedenen Genen geprägt ist. Genetische Heterogenität ist ein Merkmal der Schizophrenie; Umgekehrt ist die phänotypische Heterogenität ein Merkmal aller Schizophrenie-assoziierten Mutationen. Beide Arten von Heterogenität spiegeln vermutlich die Komplexität der Neuroentwicklung wider (Sebat et al., 2009).

2.3.1 Die Gruppe der Membrane-associate Guanylate kinases (MAGUKs)

Die MAGUK Familie ist eine Gerüstproteinklasse (Dimitratos et al., 1999, Lye et al., 2010). Ihre Aufgabe besteht darin, Signalmoleküle zu lokalen multimolekularen Komplexen zusammen zu setzen. Sie erfüllen damit zwei sich überschneidende Funktionen:

- 1) Lokalisieren, Rekrutieren und Organisieren anderer Proteine an der Plasmamembran, um es extrazellulären Signalen zu ermöglichen, eine intrazelluläre Antwort auszulösen (Dimitratos et al., 1999)
- 2) Aktion als molekulares Gerüst- bzw. Ankerprotein, das wichtig für die Instandhaltung der Zellarchitektur ist (Dimitratos et al., 1999, Laura et al., 2002)

Es war möglich die MAGUKs in folgenden Lebewesen nachzuweisen: Drosophila, Caenorhabditis, Xenopus, Hydra, Kugelfisch und Säugetieren (Dimitratos et al., 1999).

2 Einleitung

MAGUKs weisen eine Reihe von charakteristischen Domänen auf, unter anderem (vom Amino- zu Carboxyl-Ende):

- 1) ein oder drei Kopien der PDZ (PSD95/Disc Large ZO-1) Domäne (Tsukita et al., 1999; Gonzalez-Mariscal et al., 2000, Oliva et al., 2012),
- 2) eine SH3 (Src-homology 3) Domäne und
- 3) eine Region, die homolog zur zytosolischen Guanylykinase (GUK) von Säugetieren und Hefe ist (Dobrosotskaya et al., 1997).

Alle drei Domänen sind involviert in Interaktionen zwischen Proteinen und machen dadurch die Rekrutierung und das Zusammensetzen von Signal- und Zytoskelettmolekülen zu größeren Komplexen möglich.

Für die MAGUK-Proteine sind drei Domänen beschrieben.

Eine **PDZ (PSD95/Disc Large/ZO-1) Domäne** ist ca. 80-100 Aminosäuren lang (Songyang et al., 1997). Die Benennung erfolgte nach den drei Proteinen (**PSD** (*post synaptic density*) 95/SAP90, *Septate Junction Protein Discs Large* aus *Drosophila melanogaster* und *Tight Junction Zonula occludens-1* (Hung and Sheng 2002)), in denen sie zu erst nachgewiesen werden konnten. Ihre Bindemechanismen sind bis jetzt mit am Besten charakterisiert worden (Dimitratos et al., 1999). Sie binden vorwiegend an die Carboxylenden von transmembranen und zytoplasmischen Proteinen, um sie zu verschiedenen unterschiedlichen intrazellulären Stellen zu dirigieren (Songyang et al., 1997). Außerdem beeinflussen sie die Organisation von größeren Proteinkomplexen an spezifischen, subzellulären Kompartimenten (Hung, 2002). Die verschiedenen PDZ Domänen ähneln sich in ihren Aminosequenzen und teilen sich Strukturelemente, sind aber unterschiedlich genug, um selektiv an Ziele zu binden (Dimitratos et al., 1999).

Die **SH3 (Src-homology 3) Domänen** wurden nach der Proteinkinase c-Scr benannt, in der sie zuerst beschrieben wurden. Sie falten sich in 5 antiparallele β -Stränge, die sich abwechselnd in zwei aufrechte Faltblätter anordnen (Dimitratos et al., 1999) und zeigen eine Affinität für linksgedrehte Polyprotein Helizes (Songyang et al., 1993, Cohen et al., 1995). Die SH3 Domänen sind präsent in Proteinen, die transmembrane Rezeptoren mit intrazellulären Signalmolekülen verbinden. Sie vermitteln durch das Erkennen von Prolinreichen Sequenzen spezifische intrazelluläre Proteininteraktionen (Weng et al., 1995). Ihre Anwesenheit in MAGUKs öffnet viele Möglichkeiten für Protein Wechselwirkungen durch Signaltransduktionswege (Dimitratos et al., 1999).

2 Einleitung

Die **GUK (Guanylkinasen) Domänen** sind zu 37% identisch in ihren Aminosäuresequenzen zum Guanylat-Kinase-Enzym. Trotzdem sind sie enzymatisch inaktiv und dienen hauptsächlich der Proteinbindung (Kim et al., 1997).

Die Präsenz von Domänen mit vermutlich enzymatischen Funktionen zusätzlich zu spezialisierten Protein-Protein Interaktionsdomänen unterscheidet die MAGUKs von anderen Gerüstproteinen (Dimitratos et al., 1999). Sie sind für die Entwicklung und Konservierung von Membrandomänen von großer Relevanz und stellen eine Verknüpfung zwischen den integralen Plasmamembranproteinen und dem Zytoskelett her. Die MAGUKs wurden mithilfe ihres Ursprungs in Choanoflagellaten in fünf Gruppen unterteilt (de Mendoza et al., 2010):

1. DLG (Disc Large)- Gruppe, mit DLG1-5, ZO 1-3- und CARMA (*Caspase Recruitment Domain*)
2. MPP (palmitoylated membrane protein)- Gruppe mit MPP 1-7 und CASK (Calcium/Calmodulin abhängige Proteinkinase), ein Protein, das auch als Proteinkinase fungiert.
3. CACNB (*Calcium Channel beta subunit*)- Gruppe
4. MAGI (*Membrane Associated Guanylate Kinase Inverted*)- Gruppe mit MAGI 1-3
5. DLG- ähnliche Gruppe. Dies sind MAGUKs mit zahlreichen PDZ- oder einer Tyrosin-Phosphatase-Domäne

MAGUKs sind auch an präsynaptischen und postsynaptischen Regionen des Zentralen Nervensystem zu finden (Dobrosotskaya et al., 1997). Dort spielen sie sowohl bei der synaptischen Entwicklung als auch bei Vorgängen, die für die synaptische Plastizität verantwortlich sind, eine Rolle in der Entwicklungsphase. Dabei sind sie u. a. für die postsynaptische Ausdehnung durch Verlinkungen mit anderen Gerüstproteinen und dem Zytoskelett verantwortlich und haben eine Clusterisierung von Rezeptoren (z.B. Glutamat) (Zheng et al., 2011). Außerdem sind MAGUKs in die Langzeitpotenzierung (LTP) und Langzeitdepression (LTD) involviert, in dem sie selbst oder ihre Bindungspartner phosphoryliert werden. Der gesamte Entwicklungsprozess einer Synapse hängt also vom Vorhandensein der MAGUKs ab (Zheng et al., 2011).

Roh und Margolis (2003) führten eine Studie zu MAGUKs bezüglich ihres Einflusses auf die Zellpolarität durch. In *Drosophila* konnten sie drei verschiedene PDZ-Komplexe nachweisen, die während der Entstehung von Zell-Adhäsionen und epithelialer Zellpolarität entscheidend sind. Diese sind: Bazooka/DmPar6/DaPKC (*Drosophila atypical PKC*), Crb (*Crumbs*, ein transmembranes Protein)/Std (*Stardust*)/Dlt (*Discs Lost*) und Scrib (*Scribble*)/Dlg (*Discs Large*)/Lgl (*Lethal Giant Larvae*). Der subapikal lokalisierte Komplex Baz/DmPar6/DaPKC ist

2 Einleitung

in die Morphogenese des Drosophila-Epithels involviert (Roh und Margolis 2003). Bei Fehlen von einem von drei Komplexen in Fliegenembryos kam es zu einer gravierenden Beeinträchtigung der apicobasalen Epithelpolarität. Es ergaben sich daraus grundlegende Veränderungen in der Struktur, sowie ein Ausbleiben der Anordnung in *Monolayers* (Wodarz et al., 1995). Außerdem entstand der Verdacht, dass es bei Verlust eines Komplexes zu Zellteilungsstörungen durch eine fehlerhaft ablaufende Mitose kommen könnte. Doe et al., (2001) führten dazu eine Untersuchung an *Caenorhabditis elegans* (*C.elegans*) Eizellen durch, in denen sie einen Komplex konservierten (Doe und Bowerman, 2001). Bezüglich des Crb/Sdt/Dlt-Komplexes, der sich ebenfalls in der subapikalen Region befindet, finden sich auch Untersuchungen, die eine Beteiligung an der epithelialen Zellpolarität haben (Knust und Boissinger, 2002). Sie weisen nach, dass bei fehlerhafter Expression von Crb-, Sdt-, oder Dlt-Expression eine Störung der apicobasalen Polarität vorliegen kann (Knust et al., 1993).

Auch in Epithelzellen von Vertebraten wurden Protein-Komplexe gefunden. Dies legt die Vermutung nah, dass eine Homologie zwischen den Funktionsweisen und zellulären Einflüssen der MAGUKs in z.B. *Drosophila* und wesentlich komplexeren Organismen wie dem Menschen bestehen könnte (Roh und Margolis, 2003).

2.3.2 Die Membrane-associated Guanylate Kinase Inverted- Gene (MAGI- Gene)

Die MAGI Gene 1-3 kodieren für Proteine, die in den verschiedensten Körperregionen zu finden sind. Sie unterscheiden sich durch drei Charakteristika von den anderen Mitgliedern der MAGUK Familie (Laura et al., 2002; Dobrosotskaya et al., 1997):

- 1) Die GUK Domäne ist am NH₂ Ende zu finden und nicht am COOH Ende, daher auch der Name *MAGUKS with Inverted orientation* (Dobrosotskaya et al., 1997)
- 2) Die SH3-Domäne wird durch zwei WW Domänen ersetzt, welche nach zwei konservierten Tryptophanresten benannt wurde (Sudol et al., 1995, Patrie 2005). Sie konnten in Zusammenhang mit verschiedenen Krankheiten, wie z.B. dem Liddle Syndrom, Muskeldystrophie und Alzheimer gebracht werden (Sudol, 1996).
- 3) Es sind fünf, und nicht die üblichen ein bis drei, PDZ-Domänen vorhanden (Dobrosotskaya et al., 1997). Diese interagieren mit einer Reihe von Liganden z.B. mit NMDA Rezeptoren oder Neuregulin (Ide et al., 1999, Patrie et al., 2001).

2 Einleitung

Die Interaktion der unterschiedlichen Domänen an verschiedenen Stellen im Körper, unter anderem im Gehirn, ist ein wichtiger Faktor in der Reizleitung. Sie stehen außerdem im Zusammenhang mit einer großen Anzahl von schon bekannten, bei psychiatrischen Krankheiten eine Rolle spielenden, Molekülen (Karlsson et al., 2012).

2.3.2.1 MAGI-1

Das MAGI-1 Gen ist auf dem kurzen Arm von Chromosom 3 lokalisiert (3p14.1). Es codiert für ein Gerüstprotein, dass für den Aufbau und die Aufrechterhaltung des Gerüsts multimolekularer Komplexe verantwortlich ist. Sie finden sich oft an der subzellulären Membranseite polarisierter Epithelzellen und Neuronen. Auch in Hundenieren konnte MAGI-1 nachgewiesen werden. Dort findet man die längste Variante des MAGI-1 Proteins (Dobrosotskaya et al., 1997). Andere Isoformen konnten in postsynaptischen Membranen im Gehirn gefunden werden (Laura et al., 2002).

Das MAGI-1 Protein spielt vermutlich außerdem eine Rolle bei der Übertragung von regulierenden Signalen von der Zelloberfläche zum Nukleus und ist dafür hauptsächlich in membran- und zytoplasmatischen Zellbestandteilen vorhanden (Dobrosotskaya et al., 1997). Es sind sieben Isoformen des MAGI-1-Transkripts im Menschen bekannt, die durch alternatives Splicen entstehen (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: Die MAGI-1-Isoformen (Uniprot 2012)

Isoform	TLL (aa)	TSL (bp)	Masse (Da)	Exons
1 (MAGI-1C- α - β 1)	1491	1462	164,6	23
2 (MAGI-1C- β)	1462	7062	161,6	23
3 (MAGI-1A- α - β 1)	1256	6178	136,9	23
4 (MAGI-1A- α)	1160	3555	126,9	21
5 (MAGI-1B- α - β)	1287	7235	140,4	25
6 (MAGI-1C- β 2)	1451	-	160,4	-
7 (MAGI1C- β 3)	1452	-	157,8	-

TLL = Translationslänge, aa = Aminosäure, TSL = Transkriptionslänge

MAGI-1 Proteine sind ein weitverbreiteter Bestandteil der Zonula occludens verschiedener Organe. Isoform 1,2 und 6 kommen u.a. in Kolon, Nieren und Leber vor, Isoform 3, 4 und 5 in Gehirn und Herz (Laura et al., 2002, Patrie et al., 2005). Isoform 7 reguliert wahrscheinlich

2 Einleitung

die Strömungen des Amiloridsensiblen-Kationen-Kanal-Proteins 3 (ACCN3). Dieses spielt eine entscheidende Rolle in der Regulation der pH-Kontrolle in der Zelle (Uniprot 2012). Vermutet wird, dass noch mehr als nur die sieben Isoformen existieren (Laura et al., 2002).

Eine potentielle Assoziation mit psychiatrischen Phänotypen ergibt sich aus den Interaktionen der MAGI-1 Proteine mit anderen Molekülen, von denen eine Beteiligung an der molekularen Pathologie von psychiatrischen Erkrankungen, speziell Schizophrenie als auch kognitive Störungen, bereits bekannt ist (Nishimura et al., 2002, Iida et al., 2004). Buxbaum et al., (2008) postulieren, dass MAGI-1 mit dem NRG1-ERBB4 Signalwegen gekoppelt ist und daher als potentielles Kandidatengene für Schizophrenie angesehen werden kann. MAGI-1 kann sich mit Neuroligin und dadurch auch mit Neurexin verbinden. Deletionen in diesen beiden Molekülen konnten in Schizophrenie nachgewiesen werden (Kirov et al., 2008; Rujescu et al., 2009). Ein möglicher Zusammenhang zwischen virusbedingten Infektionen der Mutter während der Schwangerschaft und dem Risiko an Schizophrenie zu erkranken, ist bereits seit längerem bekannt (Mednick et al., 1988, Brown et al., 2001, 2002). Kranjec und Banks (2011) waren in der Lage MAGI-1 als ein Hauptangriffsziel für virale Proteine zu identifizieren.

Dies stellt einen weiteren möglichen Zusammenhang zwischen pränataler viraler Exposition und neuronalen Gehirnentwicklungsstörungen bei Schizophrenie dar.

2.3.2.2 MAGI-2

Das Gen, welches für die MAGI-2 Proteine codiert, ist ein relativ großes (1.5 Mbp) und befindet sich auf dem langen Arm des Chromosom 7 an Position 7q21.11 (Koide et al., 2012). Das vom MAGI-2 Gen kodierte Protein ist ebenfalls ein Gerüstprotein an Synapsen und hilft Neurotransmitterrezeptoren und Zelladhäsionen zu organisieren. Es besteht die Annahme, dass es eine Rolle in aktivvermittelten Signalen in Neuronen spielt. Außerdem ist es an der Rekrutierung des *nerve growth* (NGF)-faktors für die späteren Endosomen und Neuriten Auswuchs (Uniprot 2012) beteiligt. Es konnten zwei MAGI-2 Isoformen (Tabelle 2) nachgewiesen werden. Die Vermutung liegt nah, dass noch mehr Varianten existieren.

2 Einleitung

Tabelle 2: Die MAGI-2 Isoformen (Uniprot 2012)

Isoform	TLL (aa)	TSL (bp)	Masse (Da)	Exons
1	1455	6861	18,8	22
2	1441	6800	157,2	21

TLL (Translationslänge in Aminosäureanzahl); TSL (Transkriptionslänge in Basenpaaren)

Es konnte nachgewiesen werden, dass MAGI-2 durch Bindung an den ERBB4-NRG1 Komplex, mit neuronalen Synapsen interagiert. Außerdem trägt MAGI-2 zur Bildung von neuronalen Signalnetzwerken, neuronalem Wachstum, Migration, Proliferation, Differentiation, Apoptosis und Synapsenformation bei (Giehl, 2007). In Schizophreniepatienten konnten strukturelle Veränderungen in diesem Gen nachgewiesen werden. Durch die oben beschriebenen Funktionen des Gens ist eine mögliche Beteiligung an der molekularen Pathogenese der Schizophrenie nicht auszuschließen (Walsh et al., 2008). Des Weiteren konnte nachgewiesen werden, dass MAGI-2 mit exzitatorischen NMDA-Rezeptoren interagiert (Danielson et al., 2012).

Diese Erkenntnis ist kongruent mit der o.g. Glutamat Hypothese. Koide et al., (2012) postulierten, dass SNP Variationen im MAGI-2 Gen das Risiko einer Psychose erhöhen, da es ein indirekter Modulator von NMDA-Neurotransmission ist und Einfluss auf mit NMDA assoziierte kognitive Funktionen hat, die auch im Zusammenhang mit Psychosen stehen.

2.3.2.3 MAGI-3

Das MAGI-3 Gen ist auf Chromosom 1 auf 1.p13.2. lokalisiert. Das Protein besteht aus 1506 Aminosäuren und fungiert als Gerüstprotein und ist an der Regulation von Signalkaskaden beteiligt (Adamsky et al., 2003). Es besitzt sechs PDZ-Domänen, eine GUK-Domäne und zwei WW-Domänen. Durch alternatives Splicen entstehen vier Isoformen (Tabelle 3). Auch hier liegt die Vermutung nah, dass noch mehr Isoformen existieren.

Tabelle 3: Die MAGI-3 Isoformen (Uniprot 2012)

Isoform	TLL (aa)	TSL (bp)	Masse (Da)	Exons
1	1506	3579	165,6	22
2	1150	3911	126,0	22
3	1125	6508	123,4	21
4	1481	6430	163,0	21

TLL (Translationslänge in Aminosäureanzahl); TSL (Transskriptionslänge in Basenpaaren)

2 Einleitung

Nachweise von MAGI-3 konnten in Neuronen des Cortex, vor allem im dentalen Gyrus, in Ependymalzellen und Astrozyten erbracht werden. Es spielt eine Rolle bei sekretorischen Pfaden und interagiert mit Wachstumsfaktoren (Franklin et al., 2005). MAGI-3 kodiert für ein Gerüstprotein an *cell junctions*, das verschiedene Zell- und Signalprozesse reguliert. Es geht Kooperationen mit PTEN (*Phosphatolinositol-3,4,5-triphosphat-3phosphatase*) ein und moduliert so die Kinaseaktivität von AKT (*Alpha serine/threonine-protein kinase*). Das MAGI-3 Protein interagiert mit PTPRB (*Protein Tyrosinphopatase Receptor Type B*) und tyrosinphosphorylierten Proteinen und könnte dadurch den Tyrosinphosphataserezeptor mit seinen Substraten an der Plasmamembran verbinden (Uniprot 2012). Außerdem dürfte es in polarisierten Zellen an dem Transport von TGFA (*Transforming growth factor, alpha*) zur Zelloberfläche beteiligt sein (Uniprot 2012). Mutationen im MAGI-3 Gen legen auf Grund seiner Funktionen eine Störung der Entwicklung des Gehirns nah.

MAGI-2 und kognitive Leistungen

Koide et al., (2012) publizierten eine Fall-Kontroll-Assoziation-Studie zu Schizophrenie und dem Zusammenhang mit MAGI-2 SNPs. Zusätzlich beleuchteten sie noch die Involvierung des MAGI-2 Proteins in Glutamataktivitäten im Zusammenhang mit kognitiven Fähigkeiten. Basierend auf Resultaten aus einer, in der japanischen Population durchgeführten, großen genomweiten Assoziationsstudie (JGWAS) (Ikeda et al., 2011), wurden vier SNPs des MAGI-2 Gen in einer weiteren unabhängigen japanischen Stichprobe (1624 Fälle, 1621 Kontrollen) auf einen potenziellen Zusammenhang mit Schizophrenie untersucht. Der WCST (*Wisconsin Card Sorting Test*) wurde in 114 Fällen und 91 Kontrollen zur Evaluierung der exekutiven Funktion durchgeführt. Koide et al., (2012) fanden mögliche Assoziationen zwischen Schizophrenie und den SNPs rs2190665 ($p=0,0033$) bzw. rs4729938 ($p=0,027$). Zusätzlich gab es ein signifikantes Ergebnis und eines mit Tendenz zur Signifikanz bzgl. kognitiver Fähigkeiten. Trotzdem kein eindeutiger Beweis für eine Assoziation zwischen den MAGI-2 Varianten und einer Schizophrenierkrankung hergestellt werden konnte, ist es möglich, dass sie ein erhöhtes Risiko für kognitive Einschränkungen in schizophrenen Patienten zur Folge haben (Koide et al., 2012).

SNPs in MAGIs und Schizophrenie

Neuregulin und ERBB4 konnten genetisch und funktionell mit Schizophrenie in Verbindung gebracht werden, vor allem weil sie in der Entwicklung des Gehirns eine wichtige Rolle spielen (Buxbaum et al., 2008). Buxbaum und Kollegen (2008) konnten mit Hilfe des *yeast-two-hybrid* Systems MAGI Gerüstproteine als ERBB4 bindende Proteine identifizieren. MAGI wird durch die Anwesenheit von ERBB 2 oder 3 und 4 tyrosinphosphoryliert. Dieser Effekt

2 Einleitung

wird durch Neuregulin noch verstärkt. Zusammen mit PTPRbeta (*Phosphotyrosin-Phosphatase-Rezeptor beta*), von dem bekannt ist, dass es mit MAGI Proteinen interagiert, und ERBB4, wird nachweislich ein Phosphotyrosinkinase/Phosphotyrosinphosphatase Komplex geformt (Buxbaum et al., 2008). Studien in kultivierten Zellen konnten eine räumliche und funktionelle Assoziation zwischen ERBB4, MAGI Protein und PTPRbeta nachweisen. Weiterführend wurden die MAGI und PTPRbeta Gene in einer Fall-Kontroll-Studie einer kaukasischen, großbritannischen Population (n=1400) bezüglich ihrer möglichen Assoziation mit Schizophrenie untersucht (Buxbaum et al., 2008). Zusätzlich wurden 18 SNPs im MAGI-1, 24 SNPs im MAGI-2 und 21 SNPs im MAGI-3 aus dem DNA-Pool analysiert. Buxbaum et al., (2008) konnten für mehrere Marker eine nominell signifikante Assoziation nachweisen und anschließend individuell genotypisieren. Signifikante Markersignale ergaben sich für MAGI-1 (rs9880852, p=0,033), MAGI-2 (rs2868865, p=0,011) und MAGI-3 (rs1230661, p=0,028). Eine genweite Signifikanz konnte allerdings für keinen dieser SNPs erreicht werden.

CNVs in MAGI Genen im Zusammenhang mit psychiatrischen Erkrankungen

Karlsson et al. (2012) untersuchten in einer Studie mögliche Zusammenhänge zwischen MAGI-1 sowie -2 und bipolaren Erkrankungen bzw. Schizophrenie. Sie gingen davon aus, dass diese Erkrankungen ähnliche genetische Risikofaktoren besitzen, so dass eine Stichprobe aus bipolaren und schizophrenen Patienten und Kontrollen gebildet wurde. Untersucht wurden potentielle genomweite CNVs (*Copy Number Variation*) von 48 Familien mit bipolarer Störung. Die Ergebnisse der signifikantesten CNVs von der familienbasierten Analyse wurden durch Untersuchung von 4048 Probanden mit bipolarer, schizoaffektiver Krankheit oder Schizophrenie verifiziert. Außerdem fand eine Analyse eigener und publizierter Daten mit 10 925 Fällen mit den o.g. Krankheiten und 16 747 Kontrollen statt (Karlsson et al., 2012). Karlsson und Kollegen (2012) konnten eine 200 kb umfassende Deletion im ersten Intron des MAGI-1 Gens (Chromosom 3: 65, 649, 762-65, 848, 146) im Stammbaum einer bipolar erkrankten Familie identifizieren. Die gepoolte Analyse detektierte sieben weitere Insertionen bzw. Deletionen über 100 kb in MAGI-1 bei betroffenen Personen im Gegensatz zu nur zwei CNVs bei den Kontrollen (p=0,023) (siehe Abbildung 5). Auf Grund von früheren Arbeiten, in denen MAGI-2 mit Schizophrenie assoziiert werden konnte (Walsh et al., 2008), wurde auch dieses Gen mit in die Studie einbezogen. In der gepoolten Analyse von MAGI-2 wurden zwei große Deletionen in Fällen und zwei Duplikationen in Kontrollen gefunden (Karlsson et al., 2012).

2 Einleitung

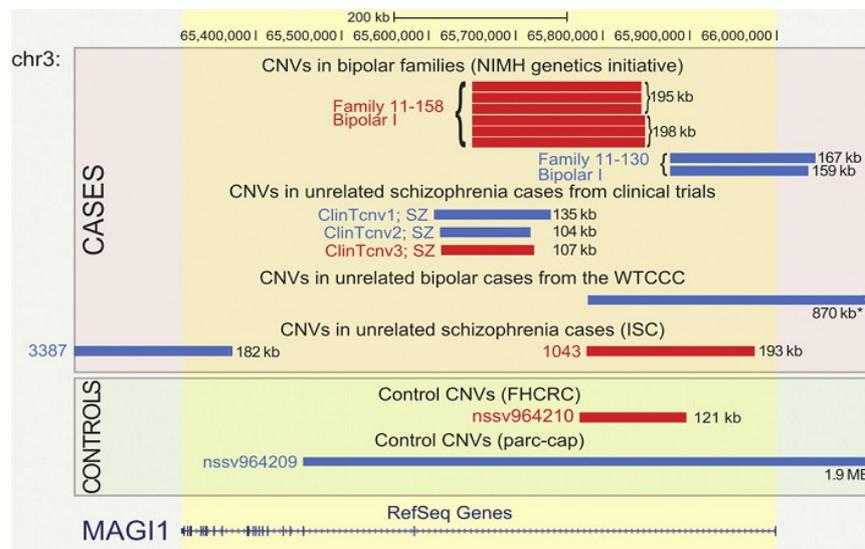


Abbildung 5: MAGI-1 CNVs <100kb, die in der Studie von Karlsson et al., 2012 identifiziert wurden. Rote Balken: Deletionen. Blaue Balken: Duplikationen. *: große CNVs, die die Breite dieser Abbildung überschreiten. Ch3: Chromosom 3. FHCRC: Fred Hutchinson Cancer Research Center. ISC: International Schizophrenia Consortium. MB: Megabasen. NIMH: National Institute of Mental Health. Par-cap: Pharmacogenomics and Risk of Cardiovascular Disease-Cholesterol and Pharmacogenetics. SZ: Schizophrenie. WTCCC: Wellcome Trust Case Control Consortium (Karlsson et al., 2012)

Psychiatrische Erkrankungen, also auch Schizophrenie, gehen oft mit kognitiven Einschränkungen einher (Keshevan et al., 2008). Verantwortlich dafür sind u.a. molekulare Mechanismen, in denen Gerüstproteine eine Rolle spielen. MAGUKs kodieren für solche Gerüstproteine (Dobrosotskaya et al., 1997). MAGI Gene gehören zu den MAGUKs und sind vor allem in Synapsen und an epithelialen Schnittstellen zu finden (Laura et al., 2002). Koide et al., (2012) fanden eine Assoziation zwischen SNPs des MAGI-2 Gens und Schizophrenie in einer japanischen Fall-Kontroll-Studie. MAGI-1 Proteine finden sich vor allem in postsynaptischen Zellen, wo sie mit einer Vielzahl von Molekülen interagieren und eine Rolle in bipolaren Erkrankungen und Schizophrenie spielen (Karlsson et al., 2012). Zu diesen Molekülen gehören unter anderem ERBB4 und der Glutamatrezeptor (Buxbaum et al., 2008), mit denen das MAGI Protein einen Komplex eingeht. Die genetische Assoziation mit Schizophrenie konnte hier aber nicht bestätigt werden. Für MAGI-3 konnten bisher keine Assoziationen mit Schizophrenie nachgewiesen werden. Da sie auch im Gehirn exprimiert werden, ist eine Beteiligung ihrerseits in der Schizophrenie oder kognitiven Störungen nicht unwahrscheinlich. Weitere Untersuchungen, auch für die Möglichkeit neue Therapieansätze zu gewinnen, werden empfohlen (Karlsson et al., 2012)

3 Fragestellung

3 Fragestellung

Schizophrenie ist eine schwere, bis heute nicht heilbare Erkrankung, die mit schweren kognitiven Störungen einhergeht. Durch wissenschaftliche Arbeiten konnte festgestellt werden, dass nicht nur Umweltfaktoren, sondern auch genetische Ursachen eine entscheidende Rolle in ihrer Entwicklung spielen. Durch Fall-Kontroll-Assoziationsstudien ist es bereits gelungen, einige Suszeptibilitätsgene für die Krankheit zu identifizieren und die Wirkung von Basenaustauschmutationen zu verifizieren.

MAGIs, als eine Untergruppe der MAGUKs, sind durch ihre vielfältigen Bindungsmöglichkeiten in der Lage viele verschiedenen Aufgaben in der Entwicklung von Zellen zu übernehmen und mit Partnern zu interagieren, die bereits mit Schizophrenie, kognitiven Störungen oder anderen psychischen Erkrankungen in Verbindung gebracht werden konnten.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die SNPs rs9880851 des MAGI-1 Gens, rs2868865 des MAGI-2 Gens und rs1230661 des MAGI-3 Gens in einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie und einer Endphänotypen Studie mit Schizophrenie oder kognitiven Einschränkungen zu assoziieren. Dafür wurden 316 gesunde Probanden aus dem Münchner Großraum und 139 Schizophrenie-Patienten kaukasischer Herkunft ausgewählt, deren genomische DNA genotypisiert wurde und deren kognitiven Fähigkeiten mit der Wechsler Memory Scale getestet wurden.

4 Material und Methoden

4 Material und Methoden

4.1 Vorbedingungen der Studiendurchführung

Vor dem Anfall der Untersuchungen stimmte die lokale Ethikkommission der Durchführung zu. Alle Teilnehmer partizipierten freiwillig und konnten sich zu jedem Zeitpunkt ohne Angabe von Gründen für einen Ausstieg aus der Studie entscheiden. Bei Beginn wurden alle potentiellen Probanden in einer Besprechung über den Charakter, den geplanten Ablauf und das Ziel der Studie informiert. Es erfolgte eine Aufklärung, über die Anonymisierung der erhobenen Daten inklusive der entnommenen Blutproben. Die Probanden unterzeichneten eine Einverständniserklärung und erklärten damit ihre Bereitschaft zur Teilnahme an der Studie.

4.2 Studienteilnehmer

Tabelle 4: Alters-, Geschlechtsverteilung und Bildungsstand der Stichprobe

Gruppe	Alter (Jahre) Mittelwert (SD)	Geschlecht n (%)		Bildung n (%)	
		männlich	weiblich	niedrig hoch	mittel
Kontrollen	47,73 (14,88)	149 (47,2)	167 (52,8)	67 (21,2)	126 (39,9)
Patienten	39,05 (10,33)	87 (62,6)	52 (37,4)	43 (30,9)	45 (32,4)
Gesamt (%)		236 (51,9)	219 (48,1)	110 (24,2)	171 (37,6)

Niedrig-Hauptschulabschluss (bzw. Äquivalent), mittel-mittlere Reife (bzw. Äquivalent), hoch-Abitur (bzw. Äquivalent)

4.3 Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

Der vorliegenden Arbeit liegt eine Fall-Kontroll-Assoziationsstudie zu Grunde, bei der der Zusammenhang von drei verschiedenen SNPs auf dem MAGI-1-, -2 und -3 Gen mit Schizophrenie untersucht wurde. Teilnehmer der Studie waren sowohl gesunde Personen (Kontrollprobanden) als auch Personen, die an Schizophrenie erkrankt waren.

4 Material und Methoden

4.3.1 Kontrollprobanden

Die Stichprobe der Kontrollprobanden bestand aus 316 Personen, 47,2% männliche und 52,8% weibliche. Die deutschstämmigen Personen waren alle zufällig ausgewählt und kamen aus München und Umgebung. Das Durchschnittsalter betrug 47,73 Jahre. Zur Rekrutierung der Probanden wurden nicht verwandte Personen angeschrieben. Bestand Interesse, wurde ein Telefonscreening durchgeführt, bei dem vorab geklärt wurde, ob bei dem potentiellen Probanden oder seinen Verwandten psychiatrische oder neurologische Erkrankungen vorlagen. War dies nicht der Fall, wurde eine ausführliche Anamnese durchgeführt, in der allgemeine biographische Daten, weitere Vorerkrankungen, das Rauchverhalten und Suizidalität erfragt wurden. Den Probanden wurden Inhalt, Verlauf und Ziel der Studie erläutert. Sprach auch nach dieser Befragung nichts gegen eine Teilnahme der Person, erfolgte eine Einladung zu einem Interview in die Klinik. Am Ende des Gespräches musste der Patient seine Bereitschaft freiwillig an der Studie teilzunehmen, durch eine Unterschrift unter eine Einverständniserklärung dokumentieren.

Während des Interviews wurde das *strukturierte klinische Interview für DSM-IV* (SKID) verwendet. DSM-IV (*Diagnostic and Statistical Manuals for Mental Disorders*) (Wittchen et al., 1997) ist eine internationale Klassifikation für psychiatrische Erkrankungen in der vierten Revision unterteilt in fünf Achsen. SKID I befasst sich mit Achse I (aktuelles psychopathologisches Syndrom, z.B. Missbrauch und Abhängigkeit, affektive und somatoforme Störungen, Essstörungen usw.) und SKID II mit Persönlichkeitsstörungen. Das Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI) (Richter und Guthke 1996) diente der Erfassung von kritischen Lebensereignissen und deren Relevanz für individuelle Lebensziele.

Zum Ausschluss psychiatrischer Diagnosen bei einem Familienmitglied wurde das Family History Assessment Module (FHAM) benutzt (Rice et al., 1995). Konnte während und durch das Interview ausgeschlossen werden, dass neurologische oder psychiatrische Erkrankungen bei den Probanden oder ihrer Verwandtschaft vorlagen, so kam es zum Einschluss in die Studie.

4 Material und Methoden

4.3.2 Patienten

Für die Patientengruppe wurden 139 Personen kaukasischer Herkunft ausgewählt, bei denen bereits eine Schizophrenie diagnostiziert wurde (lifetime). Beim Erstkontakt erfolgte eine ausführliche Aufklärung über Inhalt, Durchführung und Zielsetzung der Studie. Bei bestehendem Interesse folgte eine Einladung zu einem Gespräch in die Klinik. Es wurden nur stabile Patienten in die Studie eingeschlossen. Die Patienten unterschrieben, wie die Kontrollprobanden auch, eine Einverständniserklärung und nahmen freiwillig an der Studie teil.

Es erfolgte eine einleitende ausführliche Anamnese mit Hilfe von standardisierten Bögen, in der relevante biographische Daten (Alter, Schulabschluss, Familienstand, Wohnsituation usw.), psychiatrische und nicht-psychiatrische Erkrankungen, soziale Kontakte im Kindes- und Jugendalter, belastende Lebensereignisse, eventuelle Suizidversuche, Medikamenten-, Drogen- oder Alkoholmissbrauch, sowie Rauchverhalten erfasst wurden. Dokumentiert wurden ebenfalls Erkrankungen des neurologischen oder psychiatrischen Formenkreises bis zum dritten Grad biologischer Verwandter.

Danach wurde das SKID I zur Überprüfung der Diagnose und zur Erfassung der genauen klinischen Symptomatik und dem Verlauf der Schizophrenie gemäß DSM-IV (Saß und Houben 1996) durchgeführt. Für die Diagnose Schizophrenie müssen laut DSM-IV zwei von fünf nachfolgend genannten Symptomen über einen Zeitraum von mindestens einem Monat vorhanden sein: Negativsymptomatik (z.B. Antriebshemmung oder Alogie), Wahnvorstellungen, Halluzinationen, desorganisierte Sprechweise, grob desorganisiertes oder katatonies Verhalten. Traten ausgeprägte Wahnvorstellungen oder Halluzinationen in Form von kommentierenden dialogisierenden Stimmen auf, so reicht auch ein Merkmal für die Diagnose aus. Zusätzlich sollte zeitweilig eine negative Entwicklung in einem Funktionsbereich wie z.B. im Arbeitsbereich bemerkbar gewesen sein. Eine Störung muss mindestens sechs Monate bestehen, wovon ein Monat durch die Symptome einer akuten Phase gekennzeichnet sein muss. Während der Prodromal- und Residualphasen ist es ausreichend, wenn nur negative Symptome eruierbar waren.

Anhand der Ergebnisse von SKID I erfolgte ein differentialdiagnostischer Ausschluss von schizo-affektiven Störungen, wahnhaften Störungen, affektiven Störungen mit psychotischen Merkmalen, sowie kurzen oder nicht näher zu bestimmenden Störungen, die zu einem Ausschluss des Patienten geführt hätten. Lag der Verdacht einer Persönlichkeitsstörung vor,

4 Material und Methoden

wurde das SKID II durchgeführt. SKID I ermöglichte außerdem das Feststellen von eventuellen Komorbiditäten, die allerdings nur als eigenständige Diagnose codiert wurden, wenn sie nicht durch die Schizophrenie erklärt werden konnten. Weitere Ausschlussgründe waren der Ausbruch der Krankheit als eine direkte Folge psychotroper Substanzen (Drogen, Medikamente) oder eines allgemeinen Krankheitsfaktors (z.B. Stoffwechselerkrankungen, andere organische Erkrankungen). Hatten die Patienten vor Beginn der Schizophrenie eine bereits diagnostizierte Epilepsie, floride Hepatitis B oder C, Lues-II-Infektionen, Enzephalopathie, AIDS, schwere Schädel-Hirn-Trauma, oder Hinweise auf intravenösen Heroinkonsum, so konnten sie nicht in die Studie eingeschlossen werden.

Als zusätzliches diagnostisches Mittel wurde bei der Patientengruppe die Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS, Kay et al., 1987) angewandt, bei der 30 Symptome den drei Skalen (Positivskala, Negativskala, allgemeine Psychopathologie) zugeordnet wurden. Die Bewertung der Symptome erfolgt von 1 (nicht vorhanden) bis zu 7 (extrem ausgeprägt).

4.4 Endophänotypenstudie

Die Teilnehmer der Studie mussten mehre neuropsychologische Tests absolvieren, damit verschiedene Endophänotypen differenziert werden konnten. Dazu wurde u.a. der Wechsler-Gedächtnis-Test in der revidierten Fassung (WMS-R) verwendet.

Der Wechsler-Gedächtnis-Test - Revidierte Fassung (WMS-R)

Der WMS-R ist eine Testbatterie zur Bestimmung der Intelligenz und der Aufmerksamkeits- und Konzentrationsfähigkeit (Härting et al., 2000). Es ist die deutsche Adaption (Härting et al., 2000) der revidierten Fassung von 1987 (Wechsler 1987). Der WMS-R ist unterteilt in 13 Untertests zur Beurteilung von Gedächtnisstörungen, die im Vordergrund ihrer Symptomatik stehen (Härting et al., 2000).

Untertests

Information und Orientierung

Dieser Untertest dient vor allem der Berteilung der Durchführbarkeit des Tests und Interpretierbarkeit der einzelnen Ergebnisse. Dazu werden Fragen zur persönlichen, zeitlichen und örtlichen Orientierung, sowie zur Allgemeinbildung gestellt.

Mentale Kontrolle

4 Material und Methoden

Der Proband soll hierbei Reihen von Zahlen bzw. Buchstaben aufsagen. Dabei geht es darum, Rückwärts zu zählen, das Alphabet aufzusagen und in Dreierschritten zu zählen. Alle Aufgaben sollen so schnell wie möglich bewältigt werden.

Figurales Gedächtnis

Bei diesem Untertest geht es darum, die unmittelbare visuelle Wiedererkennung zu testen. Dafür sollen zuvor dargebotene Muster aus einer Anzahl von Mustern wiedererkannt werden.

Logisches Gedächtnis I

Dieser Test überprüft die unmittelbare Wiedergabe. Dem Teilnehmer werden zwei kurze Erzählungen vorgelesen, die jeweils aus 50 Sinneinheiten bestehen und die sofort so genau und wortgleich wie möglich wiedergegeben werden sollen.

Visuelle Paarerkennung I

Bei diesem Untertest werden dem Probanden sechs Strichfiguren für drei Sekunden gezeigt. Diese sind gepaart mit je einer Farbe. Im Anschluss werden die Strichfiguren allein dargeboten und der Proband soll nun auf die jeweils dazu gehörige Farbe zeigen.

Verbale Paarerkennung I

Dieser Test steht im Zusammenhang mit dem vorherigen. Dem Probanden werden acht Wortpaare vorgelesen, vier davon sind semantisch hoch assoziiert, die restlichen vier nicht. Anschließend wird das erste Wort vorgegeben und das zweite dazugehörige Wort soll vom Probanden erinnert werden.

Visuelle Wiedergabe I

Dem Probanden werden vier Karten mit unterschiedlichen Figuren für jeweils zehn Sekunden dargeboten. Unmittelbar im Anschluss an die Präsentation einer Figur soll diese von ihm frei nachgezeichnet werden.

Zahlenspanne

Der Untertest besteht aus zwei unterschiedlichen Aufgaben, der „Zahlenspanne vorwärts“ und der „Zahlenspanne rückwärts“. Bei der ersten Aufgabe werden dem Probanden länger werdende Zahlenreihen vorgelesen, die er dann unmittelbar wiederholen soll. Die Zahlenspanne rückwärts ist ähnlich aufgebaut, nur dass hierbei neben der kurzfristigen verbalen Abspeicherung auch die Reorganisation im Arbeitsgedächtnis durch das umgekehrte Wiedergeben der vorgelesenen Zahlenreihen überprüft werden kann.

Visuelle Merkspanne (Blockspanne)

4 Material und Methoden

Dieser Subtest setzt sich ebenfalls aus zwei Aufgabentypen zusammen - „Blockspanne vorwärts“ und „Blockspanne rückwärts“. Bei der „Blockspanne vorwärts“ werden dem Probanden auf dem Blockspannenbrett länger werdende Folgen gezeigt, die dieser unmittelbar wiederholen soll. Bei der „Blockspanne rückwärts“ gilt das selbe Prinzip, nur die Reihenfolge umgekehrt wiedergegeben werden soll.

Logisches Gedächtnis II

Der Proband soll die zwei vorgelesenen Geschichten aus dem Untertest *Logisches Gedächtnis I* nach 30 Minuten wiedergeben (verzögerte Wiedergabe).

Visuelle Paarererkennung II

Bei diesem Test besteht die Aufgabe darin, die Figuren vom Test *Visuelle Paarererkennung I* nach 30 Minuten erneut zu reproduzieren (verzögerte Wiedergabe).

Verbale Paarererkennung II

Die im *Verbale Paarererkennung I*- Test gelernten Wortpaare sollen, nach 30 Minuten und ohne erneutes Vorlesen, erneut nach Nennung des ersten Wortes vervollständigt werden (verzögerte Wiedergabe).

Visuelle Wiedergabe II

Die Figuren, die dem Probanden im Untertest *Visuelle Wiedergabe I* gezeigt wurden, sollen nach 30 Minuten so genau wie möglich reproduziert werden, ohne dass die Figuren ein weiteres Mal gezeigt wurden (verzögerte Wiedergabe).

Auswertung

Die erzielten Ergebnisse des Probanden werden in Rohwerte umgewandelt, die wiederum zu vier Indizes zusammengefasst werden. Die Rohwerte der Subtests *Logisches Gedächtnis I* und *Verbale Paarererkennung I* bilden zusammen den Indexwert für das Verbale Gedächtnis (unmittelbare Wiedergabe). Der Indexwert des Visuellen Gedächtnisses setzt sich zusammen aus dem *figuralen Gedächtnis*, der *visuellen Paarererkennung I* und der *visuellen Wiedergabe I*. Der Aufmerksamkeit/Konzentration Index besteht aus der *Mentalen Kontrolle*, der *Zahlen- und Blockspanne*. *Logisches Gedächtnis II*, *verbale Paarererkennung*, *Visuelle Paarererkennung II* und *Visuelle Wiedergabe II* ergeben den Indexwert für die verzögerte Wiedergabe. Jeder Index hat einen Mittelwert von 100 und eine Standardabweichung von 15.

Gütekriterien

4 Material und Methoden

Objektivität

Durch standardisierte Instruktionen ist die Durchführungsobjektivität des Tests vorhanden. Die Auswertungsobjektivität ist bis auf die beiden Untertests „Logisches Gedächtnis I und II“ sowie „Visuelle Wiedergabe I und II“ eindeutig. Zur exakten Auswertung dieser Tests gibt es im Anhang detaillierte Anweisungen mit einer Vielzahl von häufigen Antwortmöglichkeiten, die trotz großer interindividueller Unterschiede, eine gute Auswertungsobjektivität von 0,99 für „Logisches Gedächtnis I und II“ bzw. 0,97 für „Visuelle Wiedergabe I und II“ garantieren.

Reliabilität

Der Stabilitätskoeffizient wurde als Maß für die Reliabilität der Subtests ermittelt. Durch Retest Untersuchungen von 40 Probanden nach 6 Monaten ergaben sich Werte zwischen 0,42 (Visuelle Wiedergabe II) und 0,88 (Zahlenspanne) (Härting et al., 2000). Der Mittelwert lag bei 0,78 für die Subtests und lässt daher nur eine bedingte Interpretation der Testergebnisse zu. Die Retest Reliabilität hingegen kann als ausreichend betrachtet werden.

Validität

Als klinische Stichprobe wurden 125 Patienten stichprobenartig ermittelt und damit die Validität ermittelt. Es wurden sieben Untergruppen unterschieden, fünf mit unterschiedlichen Schädigungsmustern des Gehirns und zwei psychiatrische Auffälligkeiten. Beim Vergleich der Ergebnisse der Kontrollstichprobe und den verschiedenen Untergruppen konnten signifikante Differenzen in den Leistungen in bestimmten Bereichen nachgewiesen werden.

4.5 Laborverfahren

Um einen Zusammenhang zwischen den Polymorphismen der MAGI1-, MAGI2- und MAGI3-Gene und Schizophrenie bzw. schizophrenieassoziierten Endophänotypen examinieren zu können, wurde jedem Studienteilnehmer 7ml venöses Blut in EDTA - Monovetten abgenommen. Das Blut wurde zentrifugiert, das Plasma abgenommen und der so entstandene Blutkuchen wurde für die Extraktion von DNA verwendet.

4.5.1 DNA Extraktion

Für die DNA Extraktion wurde das QiAamp Blood Maxi Kit (Qiagen, Hilden, 2005) verwendet. Zur Vorbereitung der Extraktion war es notwendig, dass die DNA durch Zellyse zugänglich zumachen. Der Blutkuchen wurde dafür mit 1fach PBS auf ein Volumen von 10ml ergänzt, gemischt, mit 500µl QIAGEN Protease versetzt und erneut durchgemengt. Danach wurden

4 Material und Methoden

12ml eines Guanidiniumhydrochlorids(GHCL)-haltigen Lysepuffers AL (Qiagen, Hilden) zugegeben und für 60s mit Hilfe eines Vortexer gründlich homogenisiert (Friedl 2011). Es folgte ein Wasserbad bei 70° für 30 min um optimale Lysbedingungen und eine maximalen Ertrag zu erreichen. Das GHCL, ein chaotropes Salz, gewährleistet, dass Proteine denaturiert und damit inaktiviert werden. Dies ist eine wichtige Voraussetzung für die Bindung von DNA an die Silikalgeloberfläche.

Es wurden nun 10ml Ethanol zu dem Gemisch hinzugegeben, um die Mischung nach Ethanolzugabe für die Bindung an der Silikalmembran zu präparieren. Damit die DNA an die Membran gebunden werden kann, wurde diese entstandene Lösung nach und nach auf eine QIAamp Maxi Säule überführt und bei 3000rpm 3min (Friedl, 2011). Zur Entfernung der restlichen Protein- und RNA- Kontaminationen wurden 5ml Puffer AW1 (Qiagen, Hilden) zur Lösung hinzugegeben. Es folgte eine Zentrifugation bei 4000rpm für 2min. Des Weiteren war es nötig, die GHCL- Salze mit 5ml ethanolhaltigem, salzarmen Puffer AW2 (Qiagen, Hilden) quantitativ auszuwaschen. Es folgte eine weitere Zentrifugation für 15min bei 4000rpm für eine restlose Rückstandeliminierung.

Die Elution erfolgte dann durch zweifache Inkubation der Silikalmembran bei Raumtemperatur für 5min mit 1,5ml Tris-haltiger AE-Puffer (Qiagen, Hilden) und anschließender Zentrifugation für 2min bei 5000rpm. Danach wurde die entstandene Lösung bei -80° gelagert.

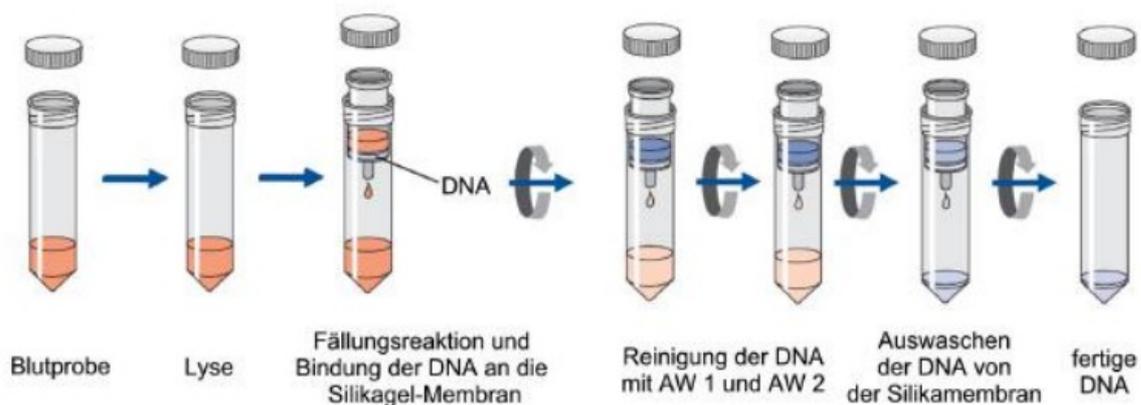


Abbildung 6: DNA Extraktion gemäß der Anleitung des QiaAmp DNA Blood Midi/MaxiKit Handbook (Qiagen 2005)

4.5.2 Konzentrationseinstellung der DNA

Die aus der Extraktion gewonnenen DNA- Lösungen wiesen durchschnittlich eine Konzentration von 120-150ng/µl auf.

Tabelle 5: Verbrauchsmaterialien, Puffer, und Reagenzien für die Konzentrationseinstellung

	Verwendungszweck	Hersteller
Materialien		
96 Well Flat Bottom Plate Black	Vorlagenplatte für Standard- und Proben DNA	Greiner Bio- one, Frickenhausen
Micro- Schraubröhre, 2,0ml	Lagerung der DNA	Sarstedt, Nürnbergrecht
Thermo Fast 96 Well Plate	Vorverdünnung der Proben DNA, Standardverdünnungsreihe	Abgene, Hamburg
20µl Conducitve Roborack Tips	Pipettierung der DNA und Reagenzien	Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA
200µl Conducitve Roborack Tips	Pipettierung der DNA und Reagenzien	Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA
500µl Conducitve Roborack Tips	Pipettierung der DNA und Reagenzien	Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA
Geräte		
Janus Automated Workstation	Durchführung aller Pipettierschritte	Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA
Victor 3 Multilabel Counter 1420	Fluoreszenzmessung der DNA	Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA
Wallace 1420 Workstation	Software zur Steuerung des Victor 3 Multilabel Counters	Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA
WinPREP	Software zur Steuerung des Janus Piperttieroboters	Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA
Reagenzien		
Humans genomic DNA 100ng/µl	Standardverdünnungsreihe	Clontech, Mountain View, USA
Quant iT PicoGreen dsDNA reagent	Fluoreszenzmessung der DNA	Invitrogen GmbH, Karlsruhe

Alle Lösungen wurden in folgenden Schritten, mit Hilfe der in Tabelle 5 aufgeführten Materialien, auf eine Konzentration von 50ng/µl eingestellt. Es wurde ein auf dem Fluoreszenzfarbstoff PicoGreen (Invitrogen, Karlsruhe) basierender Assay zur Konzentrationsmessung durchgeführt. PicoGreen ist ein Fluorophor, welches selektiv an doppelsträngige DNA bindet und einen DNA-Farbstoff-Komplex bildet. Dieser absorbiert Licht der Wellenlänge 480nm und kann durch Lichtbestrahlung angeregt werden, wodurch Licht der Wellenlänge 520nm im grünen Bereich des sichtbaren Lichtes emittiert wird. Die Menge der ausströmenden Lichtquanten ist dabei direkt proportional zur doppelsträngigen DNA. Durch eine interpolierte Standardkurve aus bekannten Konzentrationen konnte so eine Analyse der extrahierten DNA- Lösung vorgenommen werden (Friedl, 2011).

4 Material und Methoden

Als Standardkurve diente eine Verdünnungsreihe im Verhältnis 1:2 eines 100ng/µl DNA-Standards (Friedl 2011). Dafür wurde eine Thermo fast 96 well plate (Abgene, Hamburg) benutzt und ihre „A1“ bezeichnete Vertiefung mit 200µl dieses Standards aus genomischer DNA befüllte. In die Vertiefung B1 bis H1 kamen 100µl autoklaviertes, destilliertes Wasser (Friedl 2011). Nun wurde eine Pipette benutzt um 100µl aus A1 zu entnehmen um diese nach B1 zu transferieren und durch mehrmaliges Aufziehen zu durchmischen. Dieser Prozess wurde bis zur Vertiefung G1 nach gleichem Prinzip durchgeführt um die Verdünnungsreihe herzustellen (Friedl 2011). Ein Referenzwert ohne DNA befand sich im Well H1 (Tabelle 6).

Tabelle 6: Position, Volumina und Konzentration der DNA Verdünnungsreihe

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

Es erfolgte eine Vorverdünnung der zu messenden DNA- Lösung ebenfalls in einer 96 well plate (Abgene, Hamburg) mit destilliertem, autoklaviertem Wasser. Das Verhältnis betrug 1:10 (5µl DNA und 45µl H₂O). Die Standardkurve wurde nicht mehr weiter verdünnt. Eine weitere 96 well flat bottom plate (Abgene, Hamburg) diente zum Befüllen mit jeweils 50µl autoklaviertem, destilliertem Wasser, zu dem entweder 5µl der Standardverdunnungsreihe oder der vorverdünntem DNA dazu gegeben wurden.

Unter möglichst geringem Lichteinfall erfolgte, kurz vor der Messung der Konzentration des photosensible PicoGreen (Invitrogen, Karlsruhe), eine erneute Delution mit autoklaviertem, destilliertem Wasser im Verhältnis 1:156. Von dieser wurden dann 145µl zu der vorverdünnten Proben- bzw. Standard- DNA gegeben. Am Ende ergab sich eine Verdünnung des PicoGreens (Invitrogen, Karlsruhe) von 1:200 (Friedl, 2011).

Durch einen Greifarm der Janus workstation (Perkin Elmer Inc., USA) gelangte die 96 well plate in den Victor3 Multilabel Counter 1420 (Perkin Elmer Inc., USA). Um eine gleichmäßige Durchmischung der Lösung zu erreichen, wurde die Platte horizontal und in Doppellellipsen für 30 Sekunden geschüttelt. Als Impuls für das PicoGreen (Invitrogen, Karlsruhe) diente Licht der Wellenlänge 485nm und die Emissionsmessung rfolgte dann bei 520nm.

4 Material und Methoden

Die Fluoreszenzmessung konnte mit Hilfe der Wallace 1420 Workingstation Software (Perkin Elmer Inc., USA) online verfolgt werden. Mit den gemessenen Werten wurde durch einen Computer die Konzentration der DNA-Lösung anhand der Fluoreszenzwerte der Standardkurve automatisch berechnet. Die erhaltenen Werte wurden automatisch in eine Excel-Tabelle übertragen. Eine fehlerhafte Ausgangskonzentration ($<50\text{ng}/\mu\text{l}$) oder ein niedrigeres Ausgangsvolumen initiierten eine Wiederholung der DNA-Extraktion der betreffenden Probe, um eine vergleichbare Zusammensetzung aller Proben zu gewährleisten.

Der Janus Pipettierroboter (Perkin Elmer Inc., USA) führte die Einstellung der Konzentration auf $50\text{ng}/\mu\text{l}$ auf Basis der vorhandenen Messdaten automatisch durch. Das Endvolumen betrug $500\mu\text{l}$. Die Aufbewahrung der Lösung erfolgte bei -80°C und wurde, wenn nötig, bei 4°C aufgetaut. Die Hochsatzgenotypisierung erfolgte in 96-Well-Plates (Invitrogen, Karlsruhe), die bei -20° bis zur weiteren Verwendung gelagert werden konnten (Friedl 2011).

4.5.3 Genotypisierung

Die Genotypisierung wurde mit Hilfe des iPLEX-Verfahrens (Increased Plexing Efficiency and Flexibility for Mass ARRAY) durchgeführt. Dieses beruht im Wesentlichen auf folgenden Schritten:

- a) konventionelle Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zur Vervielfältigung des Genombereiches, der untersucht werden soll
- b) spezielle PCR, die sogenannte iPLEX-Reaktion, bei der für jedes Allel eines SNPs massenspezifische Produkte entstehen
- c) Messung der Daten im MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization – Time of Flight) Massenspektrometer

4 Material und Methoden

Tabelle 7: Primersequenzen

ID/Accession No.	Primer 1	Primer 2	Fragmentlänge	Extend Primer
rs9880851	ACGTTGGATGGG TTATGTGACTTGT GCCAG	ACGTTGGATG GATGCAGAAT GAGTTCAGG G	102bp	ctCCACACAG CCAGCAGAG
rs2868865	ACGTTGGATGCA AAGGTTTTGGGC TCTCTG	ACGTTGGATG GCAAACCTCTG GGAATGATCG	100bp	AGGTTTATGC TATCAGGT
rs1230661	ACGTTGGATGGC TATCATGATTGCC TCTGC	ACGTTGGATG AAGAGCTAGC ATCTCTGTGG	96bp	CCTCTGCAGA ACAGATTAA

a) Die konventionelle PCR-Reaktion

Tabelle 8: Reagenzien der konventionellen PCR

Reagenzien	Volumen	Hersteller
Autoklaviertes H ₂ O	1,850µl	Purelab ultra, ELGA
PCR Buffer mit MgCl ₂	0,625µl	Qiagen
MgCl ₂ (25mM)	0,325µl	Qiagen
dNTP mix (25mM)	0,100µl	Qiagen
Primer mix (je 500nm)	1,000µl	Qiagen
Genomische DNA (5-10ng/µl)	1,000µl	
Holstar Taq (5U/µl)	0,100µl	Qiagen

Die konventionelle PCR dient zur Amplifikation des DNA-Abschnittes, in welchem die zu genotypisierenden SNPs untersucht werden soll. Der Mastermix (Tabelle 8) wird aus einer 96 well Platte (Invitrogen, Karlsruhe) auf die 384er well Platte (Invitrogen, Karlsruhe) übertragen. Die DNA wird aus vier 96 well Platten auf eine 384 well zusammengestellt.

Die eigentliche Reaktion folgt im Thermocycler, in dem das Gemisch initial für 15min auf 94°C erwärmt wird (initiale Denaturierung). Danach folgen weitere 20 Sekunden bei 94°C, in denen die DNA vollständig denaturiert, d.h. der Doppelstrang diffundiert in zwei Einzelstränge. Der zweite Schritt ist das so genannte Annealing. Hierbei wird die DNA auf 55°C abgekühlt und die Primersequenzen können sich an die denaturierten Stränge anlagern. Als nächstes folgt die Elongation, bei der die Temperatur für eine Minute auf 72°C erhöht wird, bei der die Taq-Polymerase ihr Arbeitsoptimum hat. Sie fügt Nukleotide an die Primer an (Zweitstrangsynthese).

Während der PCR werden nicht alle Desoxynukleotidtriphosphate (dNTPs) eingebaut und

4 Material und Methoden

die überschüssigen Nukleotide würden die Folgereaktionen stören. Um dies zu verhindern, gibt man Shrimp Alkaline Phosphatase (SAP, Sequenom, Tabelle 9) zu dem Ansatz hinzu, welche die freien Nukleotide dephosphoryliert, so dass sie nicht mehr von Polymerasen eingebaut werden können. Der Ansatz wurde bei 37°C für 20min in einem Thermocycler inkubiert und zum Deaktivieren des SAP Enzyms anschließend für 5min auf 85°C erhitzt.

Tabelle 9: Reagenzien für die Dephosphorlierung der Nukleotide

Reagenzien	Volumina
Autoklaviertes H ₂ O	1,530µl
10x SAP Buffer	0,170µl
SAP Enzyme	0,300µl

b) Die iPLEX-Reaktion

Die für diese Reaktion verwendeten Extendprimer wurden so designed, dass sie sich unmittelbar neben dem zu untersuchenden SNP anlagert, wodurch für jedes Allel ein massenspezifisches Primerextent Produkt entsteht. Durch die Verwendung von Didesoxynukleotiden, wird immer nur eine einzige Base, von einer speziell mutierten Polymerase zusätzlich an den Primer angehängt (*single base extension*). Die Didesoxynukleotiden haben spezielle funktionelle Gruppen, um ihre Masse besser unterscheiden zu können.

Tabelle 10: Reagenzien für die iPLEX- Reaktion

Reagenzien	Volumina	Hersteller
Autoklaviertes H ₂ O	0,755µl	Sequenom
iPLEX Buffer (10x)	0,200µl	Sequenom
iPLEX Abbruch Mix	0,200µl	Sequenom
Primer Mix (7µM:14µM)	0,804µl	Sequenom
IPLEX enzyme	0,041µl	Sequenom

In jedes well der 384 well Platte wurde ein iPLEX-Mix (Tabelle 10) pipettiert und anschließend wurde die Platte für die Reaktion in einen Thermocycler gegeben. Es erfolgt erneut eine initiale Denaturierung bei 94°C für 30 Sekunden, eine Denaturierung bei ebenfalls 94°C für 5 Sekunden, ein Annealing bei 52°C für 5 Sekunden und eine Elongation bei 80°C für 5 Sekunden. Der Annealing-Elongations-Prozess wiederholt sich fünfmal, bevor sich eine erneute Denaturierung für 5 Sekunden bei 94°C anschloss. Der Zyklus von Denaturierung und Annealing-Elongation fand 40 Mal statt. Danach schloss sich eine finale Extension bei 72°C für 3 Minuten an. Nach der zweiten PCR ist es nötig, die Proben zu entsalzen, damit die Messung später nicht durch z.B. Natriumionen gestört wird. Zum Entsalzen wurden 25µl autoklaviertes Wasser und 6mg Clean Resin (Sequenome) und eine dimple plate verwendet.

4 Material und Methoden

c) Messung der Daten im MALDI-TOF

Bei der MALDI-Methode werden die Proben (Primer Extensionsprodukte) auf eine Matrix aufgebracht, die sich auf einem 384-Format SpectroChip (Sequenom) befindet und aus 2-Hydroxypicolinsäure besteht. Diese verhindert das Auskristallisieren der Proben-DNA, welches die Messung stark erschweren würde. Die Chips wurden durch eine Vakuumschleuse in das Massenspektrometer eingeschleust und mit einem gepulsten Laser einige Nanosekunden lang beschossen. Dadurch wurde das Probenmaterial verdampft und zugleich ionisiert. Die Ionisation ist wichtig, denn nur geladene Teilchen können im MALDI gemessen werden. Die Ionen wurden dann in einem (nahezu) Vakuum beschleunigt und es wurde die Zeit gemessen, die die Ionen brauchen, um durch einen Flugkanal zu fliegen. Die Zuordnung eines spezifischen Genotyps für die erzeugten DNA-Fragmente erfolgte mit Hilfe der TYPER Analyzer 3.3.0 Software (Sequenom).

4.5.4 Statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung wurde die SPSS 14.0 Software (Statistical Package for Social Sciences, Inc Chicago, 2005) verwendet. Die Genotypen der einzelnen SNPs wurden mit dem Hardy-Weinberg-Equilibrium getestet. Um die Signifikanz der Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollprobanden bezüglich ihrer Häufigkeiten der Allel und Genotypen zu überprüfen, wurde der χ^2 -Test verwendet. Für die einzelnen Aspekte des WMS-R Verbales Gedächtnis, Visuelles Gedächtnis, Allgemeines Gedächtnis, Aufmerksamkeit/Konzentration und Verzögertes Gedächtnis und deren 13 Subtests wurde mit Hilfe einer MANCOVA (multiple analysis of covariance) eine Varianzanalyse durchgeführt.

Dabei wurden folgende Faktoren berücksichtigt: Genotyp (C/C, C/T, T/T), Allel (C/T), Geschlecht (männlich, weiblich), Alter, Ausbildung und Gesundheitsstand (Schizophrenie/ohne psychiatrische Erkrankung), wobei die Genotypen oder Allele als unabhängige Variablen (UV) mit einberechnet wurden. Die Resultate der 13 Untertests des WMS-R konnten in der statistischen Berechnung als abhängige Variablen (AV) ein. Für alle statistischen Berechnungen wurde ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ festgelegt. Ein Trend zur Signifikanz wurde bis $p < 0,10$ gewertet.

5 Ergebnisse

5 Ergebnisse

5.1 Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

In der vorliegenden Fall-Kontroll-Assoziationsstudie wurde an 139 Patienten mit klinisch gesicherter Diagnose der Schizophrenie und einer Kontrollgruppe aus 316 gesunden Probanden überprüft, ob eine Assoziation zwischen je einem untersuchten SNP der MAGI-1, MAGI-2 und MAGI-3 Gene und Schizophrenie besteht. Ein signifikantes Ergebnis liegt vor, wenn $p < 0,05$ beträgt, ein Trend bei $p < 0,1$. Die Allel- und Genotypenverteilung stellte sich für die einzelnen SNPs wie unten beschrieben dar.

5.1.1 Der rs9880851-Marker des MAGI -1 Gens

Genotypenverteilung

Die Genotypenverteilung für die Gesamtstichprobe ($F=0,01$; $df=1$; $p=0,81$) war im Hardy-Weinberg-Equilibrium (HWE).

Tabelle 11: Darstellung der Genotypenverteilung des Polymorphismus rs9880851

Gruppe	Genotyp CC <i>n (%)</i>	Genotyp CT <i>n (%)</i>	Genotyp TT <i>n (%)</i>	Gesamt n
Kontrollen	31 (9,8)	132 (41,8)	153 (48,4)	316
Patienten	11 (7,9)	57 (41,0)	71 (51,1)	139
Gesamt	42 (9,2)	189 (41,5)	224 (49,3)	455

Die Genotypenverteilung (Tabelle 11) war nicht signifikant unterschiedlich zwischen Kontrollprobanden und Patienten ($\chi^2=0,529$; $df=2$; $p=0,768$).

Allelverteilung

Die Allelverteilung des rs9880851 stellt sich statistisch wie folgt dar:

Tabelle 12: Darstellung der Allelverteilung des Polymorphismus rs9880851

Gruppe	C-Allel n (%)	T-Allel n(%)	Gesamt n
Kontrollen	326 (51,6)	306 (48,4)	632
Patienten	136 (48,9)	142 (51,1)	278
Gesamt	462 (50,8)	448 (49,2)	910

Das Ergebnis der untersuchten Verteilung war nicht signifikant ($\chi^2=0,547$; $OR=1,112$ ($CI=0,839-1,475$); $df=1$; $p=0,459$).

5 Ergebnisse

5.1.2 Der rs2868865-Marker des MAGI-2 Gens

Genotypenverteilung

Die Genotypen des SNPs rs2868865 waren in der Gesamtstichprobe im Hardy-Weinberg-Equilibrium ($F=0,01$; $df=1$; $p=0,98$).

Tabelle 13: Darstellung der Genotypenverteilung des Polymorphismus rs2868865

Gruppe	Genotyp CC <i>n (%)</i>	Genotyp CT <i>n (%)</i>	Genotyp TT <i>n (%)</i>	Gesamt n
Kontrollen	198 (63,1)	103 (32,8)	13 (4,1)	314
Patienten	88 (63,8)	44 (31,9)	6 (4,3)	138
Gesamt	286 (63,3)	147 (32,5)	19 (4,2)	452

Es konnte keine Assoziation der untersuchten Genotypen mit Schizophrenie festgestellt werden ($\chi^2=0,42$; $df=0 2$; $p=0,979$).

Allelverteilung

Tabelle 14: Darstellung der Allelverteilung des Polymorphismus rs2868865

Gruppe	C-Allel n (%)	T-Allel n(%)	Gesamt n
Kontrollen	301 (95,9)	13 (4,1)	314
Patienten	132 (95,7)	6 (4,3)	138
Gesamt	433 (95,8)	19 (4,2)	452

Die Allelverteilung zwischen Kontrollgruppe und Patientengruppe wies keine signifikanten Unterschiede auf ($\chi^2=0,010$; $OR=1,052$ ($CI=0,392-2,892$); $df=1$; $p=0,919$).

5.1.3 Der rs1230661-Marker des MAGI-3 Gens

Genotypenverteilung

In der Gesamtstichprobe waren die Genotypen leicht außerhalb des Hardy-Weinberg-Equilibrium ($F=0,09911$; $df=1$; $p=0,04$).

Tabelle 15: Darstellung der Genotypenverteilung des Polymorphismus rs1230661

Gruppe	Genotyp CC <i>n (%)</i>	Genotyp CT <i>n (%)</i>	Genotyp TT <i>n (%)</i>	Gesamt n
Kontrollen	188 (60,7)	96 (30,9)	27 (8,7)	311
Patienten	83 (59,7)	50 (36,0)	6 (4,3)	139
Gesamt	271 (60,2)	146 (32,4)	33 (7,3)	450

Bezüglich der Genotypenverteilung (Tabelle 13) war kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und Patientengruppe feststellbar ($\chi^2=3,276$; $df=2$; $p=0,194$).

5 Ergebnisse

Allelverteilung

Tabelle 16: Darstellung der Allelverteilung des Polymorphismus rs1230661

Gruppe	C-Allel n (%)	T-Allel n(%)	Gesamt n
Kontrollen	472 (75,9)	150 (24,1)	622
Patienten	216 (31,9)	62 (9,1)	678
Gesamt	688 (76,4)	212 (23,6)	900

Die Allele waren in beiden Gruppen gleich verteilt ($\chi^2=0,351$; OR=0,903 (CI=0,645-1,265); df=1; p=0,554).

5.2 Endophänotypen Studie

Es wurde die Assoziation der Genotypen (CC, CT, TT) und der Allele (C, T) der untersuchten SNP der MAGI-1, MAGI-2 und MAGI-3 Gene mit der Leistung bei der WMS-R untersucht. Betrachtet wurden die Ergebnisse der 5 Leistungsaspekte Verbales, Visuelles, Allgemeines und Verzögertes Gedächtnis sowie die Aufmerksamkeit, als auch die 13 Untertests. Die Verteilung der Genotypen und Allele wurde ebenfalls bezüglich einer Verbindung zwischen der Erkrankung Schizophrenie und den SNPs in der untersuchten Stichprobe verglichen.

5.2.1 Assoziation zwischen den WMS-R Indizes und dem Marker rs9880851 (MAGI-1 Gen)

Genotypenverteilung

Zwischen der verzögerten visuellen Wiedergabe (WMS-R) und den Genotypen des Markers rs9880851 konnte eine signifikante Assoziation festgestellt werden (F=5,190; df=2/441; p=0,006). Dabei wiesen Personen mit dem Genotyp CT eine schlechtere Leistung auf, als Patienten mit Genotyp TT oder CC. Personen mit dem Genotyp CC zeigten im Mittel die besten Leistungen (Tabelle 17, Abbildung 7). Die restlichen Indizes zeigten keine Assoziation mit dem Marker.

5 Ergebnisse

Tabelle 17: Darstellung der Zusammenhänge der einzelnen Indizes des WMS-R und der Genotypen des Markers rs9880851

WMSR Indiz	Genotypen			F (df=2/441)
	CC (n=42) MW (SD)	CT (n=189) MW (SD)	TT (n=224) MW (SD)	
unmittelbare verbale Wiedergabe	81,19 (15,08)	80,19 (17,70)	78,43 (16,35)	0,603
unmittelbare visuelle Wiedergabe	57,43 (7,58)	54,71 (8,80)	55,51 (8,15)	1,398
Aufmerksamkeits-/Blockspanne	70,48 (11,99)	68,63 (12,91)	68,83 (11,39)	0,707
verzögerte verbale Wiedergabe	24,63 (3,918)	23,57 (4,75)	23,56 (4,56)	1,638
verzögerte visuelle Wiedergabe	22,69 (2,69)	20,76 (4,15)	21,23 (3,75)	5,190

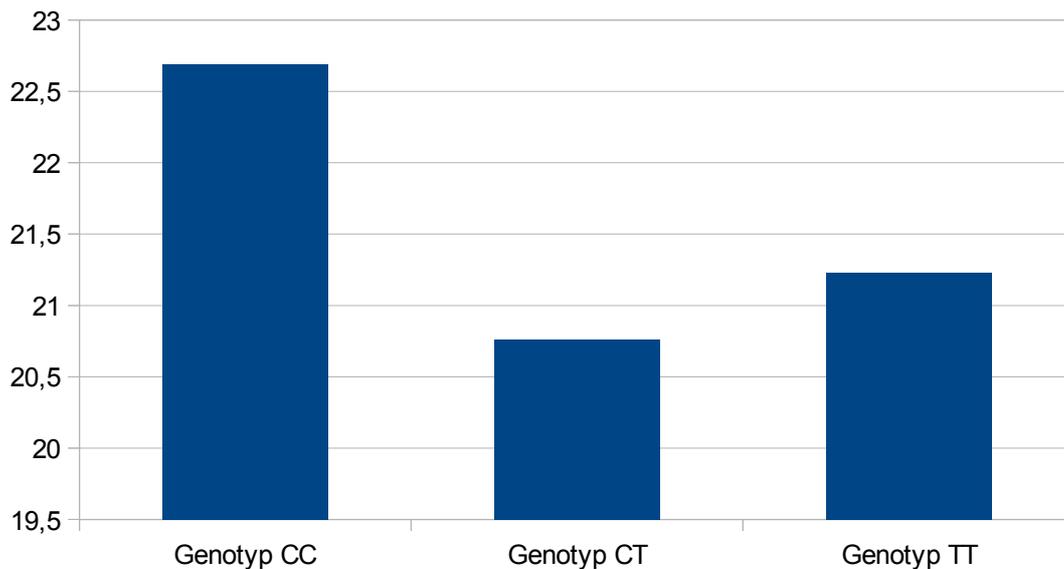


Abbildung 7: Ergebnisse der Kategorie verzögerte visuelle Wiedergabe in der WMS-R für die unterschiedlichen Genotypen des SNPs rs9880851

5 Ergebnisse

Tabelle 18: Darstellung der Zusammenhänge der einzelnen Indizes des WMS-R und der Allele des Markers rs9880851

WMS-R Indizes		Allele		
		C (n=462)	T (n=448)	F (df=1/900)
		MW (SD)	MS (SD)	
unmittelbare Wiedergabe	verbale	80,37 (17,21)	78,43 (16,34)	2,151
unmittelbare Wiedergabe	visuelle	55,21 (8,63)	55,51 (8,14)	1,273
Aufmerksamkeits-/Blocks panne		68,97 (12,73)	68,83 (11,38)	0,045
verzögerte Wiedergabe	verbale	23,77 (4,61)	23,56 (4,55)	0,0307
verzögerte Wiedergabe	visuelle	21,11 (3,98)	21,23 (3,74)	0,0155

5.2.2 Assoziation zwischen den WMS-R Indizes und dem Marker rs2868865 (MAGI-2 Gen)

Zwischen den Genotypen und dem Marker bestand ebenfalls ein Trend zur Assoziation für den Bereich verzögerte verbale Wiedergabe, bei dem Personen mit dem Genotyp CC schlechtere Ergebnisse erzielten. (F=2,538; df=2/438; p=0,080).

Tabelle 19: Darstellung der Zusammenhänge der einzelnen Indizes des WMS-R und der Genotypen des Markers rs1230661

WMSR Indiz		Genotypen			F (df=2/438)
		CC (n=286)	CT (n=147)	TT (n=19)	
		MW (SD)	MW (SD)	MW (SD)	
unmittelbare Wiedergabe	verbale	78,87 (16,86)	79,67 (16,77)	85,74 (15,68)	1,974
unmittelbare Wiedergabe	visuelle	55,25 (8,28)	55,67 (8,31)	55,32 (10,84)	0,197
Aufmerksamkeits-/Bl ockspanne		69,03 (11,99)	68,40 (12,54)	71,47 (10,73)	1,630
verzögerte Wiedergabe	verbale	23,50 (4,57)	23,71 (4,53)	25,97 (4,33)	2,538
verzögerte Wiedergabe	visuelle	21,19 (3,83)	21,11 (3,96)	21,21 (4,09)	0,290

5 Ergebnisse

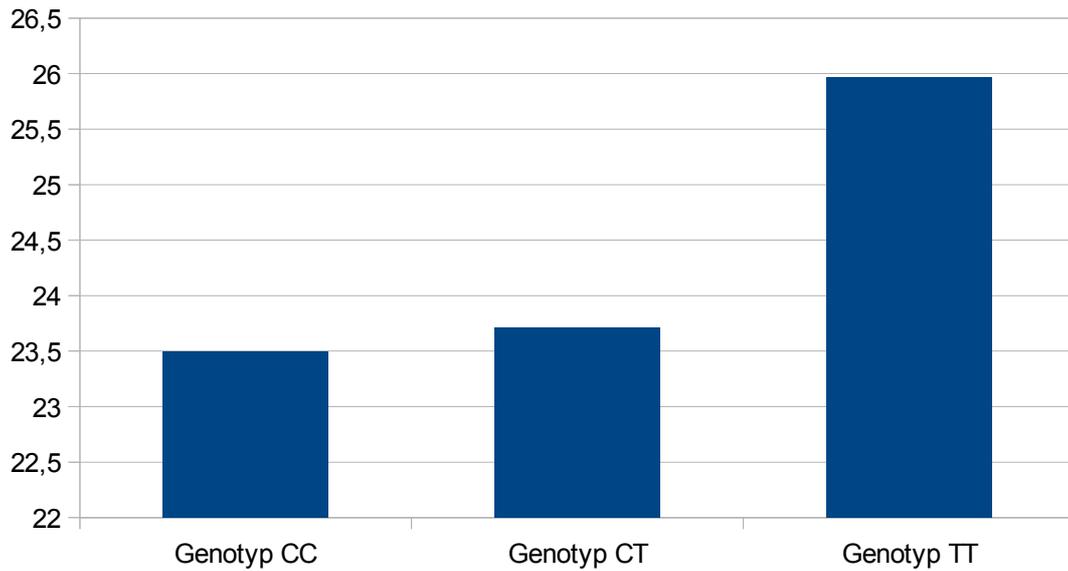


Abbildung 8: Ergebnisse der Kategorie verzögerte verbale Wiedergabe in der WMS-R für die unterschiedlichen Genotypen des SNPs rs2868865

Tabelle 20: Darstellung der Zusammenhänge der einzelnen Indizes des WMS-R und der Allele des Markers rs2868865

WMS-R Indizes	Allele		F (df=1/442)
	C (n=433) MW (SD)	T (n=19) MS (SD)	
unmittelbare verbale Wiedergabe	79,14 (16,8)	85,74 (15,68)	3,879
unmittelbare visuelle Wiedergabe	55,39 (8,28)	55,32 (10,84)	0,298
Aufmerksamkeits-/Bl ockspanne	68,82 (12,17)	71,47 (10,73)	3,115
verzögerte verbale Wiedergabe	23,57 (4,56)	25,33 (4,33)	4,959
verzögerte visuelle Wiedergabe	21,16 (3,87)	21,21 (4,09)	0,047

5 Ergebnisse

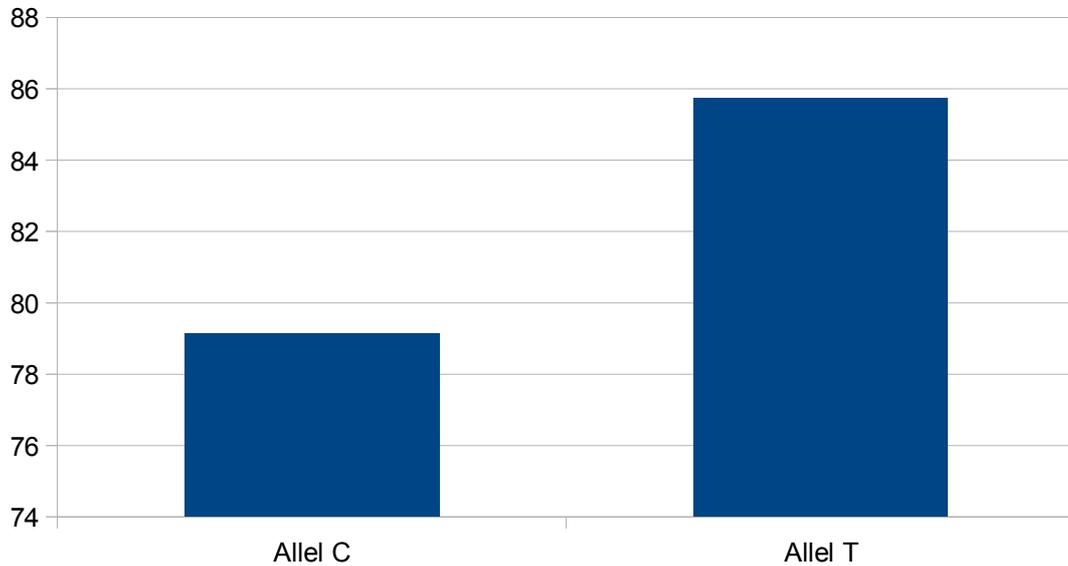


Abbildung 9: Ergebnisse der Kategorie unmittelbare verbale Wiedergabe in der WMS-R für die unterschiedlichen Allele des SNPs rs2868865

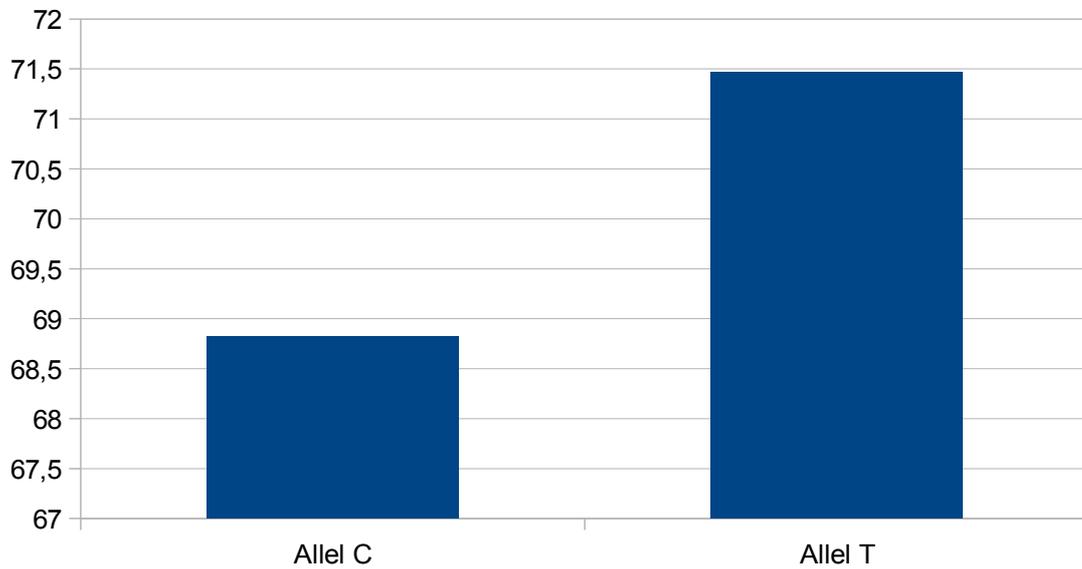


Abbildung 10: Ergebnisse der Kategorie Aufmerksamkeits-/Blockspanne in der WMS-R für die unterschiedlichen Allele des SNPs rs2868865

5 Ergebnisse

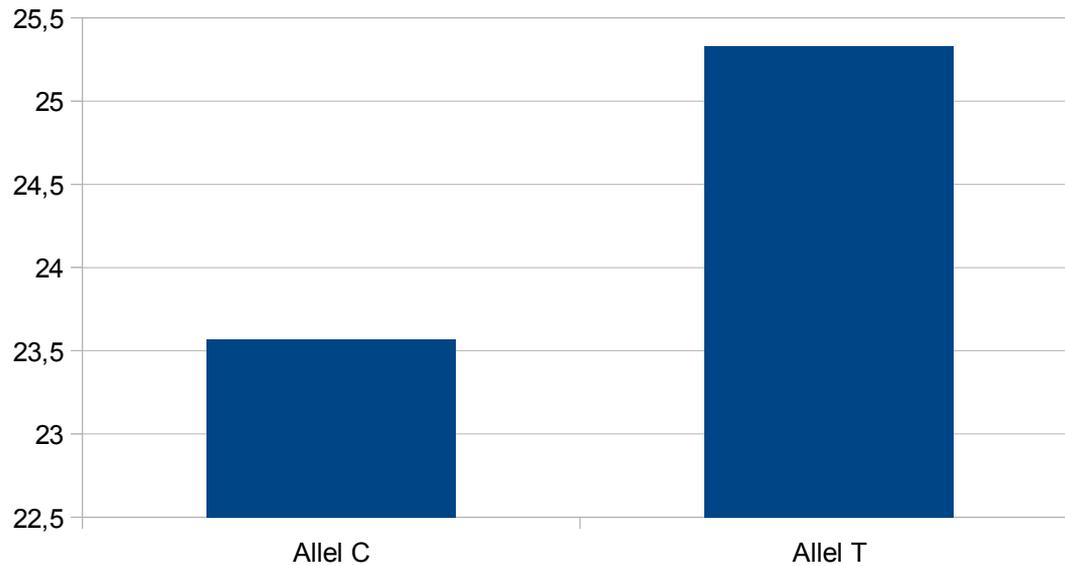


Abbildung 11: Ergebnisse der Kategorie verzögerte verbale Wiedergabe in der WMS-R für die unterschiedlichen Allele des SNPs rs286886

5.2.3 Assoziation zwischen den WMS-R Indizes und dem Marker rs1230661 (MAGI 3 Gen)

Es konnte keine Assoziation zwischen den Allelen oder Genotypen des rs1230661-Markers und den Indizes des WMS-R in der statistischen Auswertung nachgewiesen werden.

Tabelle 21: Darstellung der Zusammenhänge der einzelnen Indizes des WMS-R und der Genotypen des Markers rs1230661

WMSR Indiz	Genotypen			F (df=2/436)
	CC (n=271) MW (SD)	CT (n=146) MW (SD)	TT (n=33) MW (SD)	
unmittelbare verbale Wiedergabe	79,75 (17,13)	78,77 (17,29)	77,55 (15,74)	0,062
unmittelbare visuelle Wiedergabe	55,56 (8,78)	55,15 (8,17)	54,61 (6,86)	0,167
Aufmerksamkeits-/Blockspanne	69,10 (12,37)	68,52 (11,88)	68,36 (10,94)	0,601
verzögerte verbale Wiedergabe	23,72 (4,58)	23,43 (4,95)	23,43 (4,28)	0,103
verzögerte visuelle Wiedergabe	21,20 (3,95)	21,10 (3,91)	21,12 (3,35)	0,270

5 Ergebnisse

Tabelle 22: Darstellung der Zusammenhänge der einzelnen Indizes des WMS-R und der Allele des Markers rs1230661

WMS-R Indizes		Allele		
		C (n=688)	T (n=212)	F (df=1/890)
		MW (SD)	MS (SD)	
<i>unmittelbare Wiedergabe</i>	<i>verbale</i>	79,54 (17,14)	78,39 (16,76)	0,004
<i>unmittelbare Wiedergabe</i>	<i>visuelle</i>	55,48 (8,64)	54,98 (7,76)	0,081
<i>Aufmerksamkeits-/Blocks panne</i>		68,98 (12,25)	68,47 (11,54)	0,108
<i>verzögerte Wiedergabe</i>	<i>verbale</i>	23,66 (4,65)	23,43 (4,73)	0,108
<i>verzögerte Wiedergabe</i>	<i>visuelle</i>	21,18 (3,94)	21,11 (3,73)	0,014

5.3 Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse

In dieser Arbeit wurde untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen Polymorphismen zwischen den MAGI 1-3 Genen und Schizophrenie bzw. kognitiven Fähigkeiten besteht. Dazu wurde je ein SNP des jeweiligen Gens – rs9880851, rs2868865 und rs1230661 – bezüglich ihrer Genotypen und Allele untersucht und versucht in Zusammenhang mit den 13 Untertests der WMS-R (*Wechsler-Memory-Scale, revised version*) zu bringen.

Zusammenfassung der Ergebnisse der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

In der vorliegenden Studie konnten keine Zusammenhänge zwischen den Polymorphismen des MAGI-1, MAGI-2 oder MAGI-3 Gens und Schizophrenie gefunden werden.

Zusammenfassung der Ergebnisse der Endophänotypenstudie

Bei zwei der drei untersuchten SNPs konnte eine Assoziation mit unterschiedlichen Subtests der WMS-R nachgewiesen werden.

a) Der Marker rs9880851 zeigte ein signifikantes Ergebnis im Zusammenhang mit dem WMS-R-Index *verzögerte visuelle Wiedergabe* des WMS-R. Personen, die den Genotyp CT besaßen, zeigten ein schlechteres Ergebnis, als Personen mit den homozygoten Genotypen ($p=0.006$).

b) Der Basenaustauschpolymorphismus rs2868865 zeigte im Bereich der *unmittelbaren verbalen Wiedergabe* ($p=0,050$) und der *verzögerten verbalen Wiedergabe* ($p=0,026$) des WMS-R für das C-Allel signifikant schlechtere Leistungen. Für das selbe Allel konnte eine

5 Ergebnisse

Tendenz für schlechtere Ergebnisse im Bereich *Aufmerksamkeits-/Blockspanne* ($p=0,078$) nachgewiesen werden. Damit konform ist das Ergebnis der statistischen Auswertung der Genotypen, die eine Tendenz für den Index *verzögerte verbale Wiedergabe* ($p=0,080$) zu Gunsten des Genotypen TT aufzeigt. Beim Marker rs1230661 konnten keine signifikanten Ergebnisse nachgewiesen werden.

6 Diskussion

6.1 Methodische Darstellung und Interpretation der Ergebnisse

Ergebnisse von Assoziationsstudien können durch populationstypische genetische Eigenschaften beeinflusst werden (Zimbarbo und Gerrig, 2004). Zur Vermeidung dieses Einflusses in der vorliegenden Arbeit, wurden nur per Zufallsverfahren ausgewählte Personen aus der Münchener Umgebung eingeladen, deren Eltern und Großeltern aus Deutschland kommen sollten. Zusätzlich trug dieses Verfahren dazu bei, die Stichprobe auch geographisch einzugrenzen. Im Vergleich zu den Hapmap-Frequenzen zeigt sich, dass diese Selektion sinnvoll ist und dass ein Vergleich ethnischer Gruppen nur unter Berücksichtigung von Stratifikationsmarkern gezogen werden kann.

Tabelle 23: Hapmap-Frequenz des MAGI-1 SNPs rs9880851

Bevölkerungsgruppe	C-Allel	T-Allel
Europäer (CEU)	25,7%	74,3%
Asiaten (HCB)	4,7%	95,3%
Asiaten (JPT)	12,8%	87,2%
Westafrikaner (YRI)	33,3%	66,5%
Afroamerikaner (ASW)	28,6%	71,4%
Großraum München	30,8%	69,2%

CEU: Einwohner Utahs mit Nord-und Westeuropäischen Vorfahren, HCB: Han Chinesen aus Peking (China), JPT: Japaner aus Tokio (Japan), YRI: Yoruba aus Ibadan (Nigeria), ASW: Südwest-Amerikaner mit afrikanischer Abstammung

In Tabelle 23 sind die Hapmap-Frequenzen für den SNP rs9880851 aufgelistet. Auffällig ist zum Beispiel, dass das T-Allel bei Han Chinesen und Japanern häufiger als in der vorliegenden Stichprobe vorkommt.

Bei dem hier untersuchten SNP des MAGI-2 Gens rs2868865 ist das C-Allel der Europäischen Stichprobe im Vergleich etwas niedriger als in den anderen Populationen. Dies ist aus Tabelle 24 ersichtlich.

6 Diskussion

Tabelle 24: Hapmap-Frequenz des MAGI-2 SNPs rs2868865

Bevölkerungsgruppe	C-Allel	T-Allel
Europäer (CEU)	84,1%	15,9%
Asiaten (HCB)	87,2%	12,8%
Asiaten (JPT)	91,3%	8,7%
Westafrikaner (YRI)	91,2%	8,8%
Afroamerikaner (ASW)	86,7%	13,3%
Großraum München	81,7%	18,3%

CEU: Einwohner Utahs mit Nord- und Westeuropäischen Vorfahren, HCB: Han Chinesen aus Peking (China), JPT: Japaner aus Tokio (Japan), YRI: Yoruba aus Ibadan (Nigeria), ASW: Südwest-Amerikaner mit afrikanischer Abstammung

Beim Polymorphismus rs1230661 wird aus Tabelle 25 ersichtlich, dass das C-Allel bei Westafrikanern und auch Afroamerikanern deutlich verstärkt auftritt. Im Vergleich dazu kam es bei den asiatischen Stichproben weniger vor.

Tabelle 25: Hapmap-Frequenz des MAGI-3 SNPs rs1230661

Bevölkerungsgruppe	C-Allel	T-Allel
Europäer (CEU)	77,4%	22,6%
Asiaten (HCB)	33,7%	66,3%
Asiaten (JPT)	43,6%	56,4%
Westafrikaner (YRI)	100%	0,0%
Afroamerikaner (ASW)	95,9%	4,1%
Großraum München	76,0%	24,0%

CEU: Einwohner Utahs mit Nord- und Westeuropäischen Vorfahren, HCB: Han Chinesen aus Peking (China), JPT: Japaner aus Tokio (Japan), YRI: Yoruba aus Ibadan (Nigeria), ASW: Südwest-Amerikaner mit afrikanischer Abstammung

Die in der vorliegenden Arbeit verwendete Stichprobe kann am ehesten mit den Hapmap-Frequenzen der CEU-Werte verglichen werden, was durch deren europäische Abstammung erklärbar ist. Die unterschiedlichen Verteilungen der Allelfrequenzen und Genotypen in den verschiedenen ethnischen Kollektiven macht deutlich, dass es wichtig ist, eine möglichst homogene Stichprobe zu selektieren, um den Einfluss der populationstypischen genetischen Eigenschaften zu minimieren. Die Überprüfung der Probandenkollektive von Untersuchungen mit abweichenden Ergebnissen ist daher essentiell, um Fehlerquellen zu ermitteln.

6 Diskussion

An der vorliegenden Studie nahmen 316 gesunde Kontrollpersonen und 139 Patienten teil. Von der Kontrollgruppe waren 51,9% der Probanden männlich und 48,1% weiblich. Sie alle waren volljährig, europäischer Herkunft und kamen aus dem Großraum München. Sie wurden per Zufallsprinzip angeschrieben und bei Interesse eingeladen. Zum Ausschluss von neuropsychiatrischen Erkrankungen und um Cases und Controls sicher voneinander unterscheiden zu können, wurde ein mehrstufiges Auswahlverfahren durchgeführt. Dazu wurden die potentiellen Probanden dem SKID I und II, dem *Family History Assessment Module* und einer körperlich-neurologischen Untersuchung unterzogen. Menschen mit psychischen oder kognitiven Erkrankungen konnten in der Studie nicht berücksichtigt werden, da kognitive Defizite keinen Einfluss auf die Ergebnisse haben durften. Da die Testungen aber durch verschiedene Testleiter durchgeführt wurden, könnte es, trotz intensiver Schulung sein, dass subjektiv unterschiedliche Einschätzungen der Probanden erfolgten.

Auch der Missbrauch von Alkohol, Drogen oder Medikamenten musste ausgeschlossen werden. Zum Assessment von Schulbildung, beruflicher Karriere, der eigenen und familiären Krankheitsgeschichte wurden die Studienteilnehmer gebeten, Anamnesebögen auszufüllen. Dabei waren die Angaben sehr von dem Wissen oder der Aussagewilligkeit der Probanden abhängig. Gerade bei schwierigen Themen wie Suchtproblemen oder gesellschaftlich ausschließenden Krankheiten ist es vielen Menschen unangenehm, darüber Auskunft zu erteilen. Das Ziel der ganzen Ausschlussverfahren war es, eine nach dem heutigen Wissenstand neurologisch und psychisch gesunde Kontrollgruppe zu selektieren. Die Ergebnisse von Assoziationsstudien sind generell durch die Möglichkeit von ungenauer Selektion der Studienteilnehmer oder subjektiven klinischen Diagnoseverfahren mit einem potentiellen Bias versehen. Durch die oben genannten Verfahren, wie objektivierbare Testungen oder genaue Auswahl der Teilnehmer wurde versucht, dieser Verzerrung entgegen zu wirken.

Die kognitiven Leistungen aller Studienteilnehmer wurden durch die *Wechsler Memory Scale* in revidierter Form getestet. Hierbei werden verschiedene Gedächtnisfunktionen in 13 Subtests überprüft. Das Alter der Personen kann dabei eine Rolle spielen. Kognitive Funktionen können sich mit zunehmendem Alter verändern, allerdings sind diese Veränderungen sehr unterschiedlich und von sozialen, psychologischen und gesundheitlichen Faktoren abhängig (Glisky et al., 2007). Bei Erwachsenen verschiedenen Alters waren, trotz gleicher verwendeter Testung, in bildgebenden Verfahren unterschiedliche Gehirnareale aktiviert (Grady et al., 2002). Die WMS-R ist für eine Altersspanne von 16-90 Jahren konzipiert, wobei in der neuesten Version der WMS-R eine kürzere Testversion für

6 Diskussion

ältere Patienten ab 69 Jahren (Lepach und Petermann, 2012) existiert. Die Auswertung ist altersnormiert, so dass die Leistungen der Probanden mit der gleichen Alterskategorie verglichen wurden. Auch die Schulbildung spielt eine Rolle und muss als zusätzliche Variabel berücksichtigt werden. Assoziationsstudien sind auch von der Teststärke der verwendeten Testbatterie abhängig. Um genetische Einflüsse $< 1\%$ Varianz zu finden und Typ-1-Fehler zu vermeiden, sind große Stichproben nötig. Dafür verlangt die Power Kalkulation ca. 1000 Probanden (Wüst und de Geus, 2011). An der vorliegenden Untersuchung waren jedoch nur 455 Personen beteiligt. Eine Replikation der Ergebnisse mit einer größeren Stichprobe ist daher nötig.

Die Durchführung der WMS-R dauert ca. 90 bis 120 Minuten. Es wurde versucht die Testungsbedingungen für die Teilnehmer und Testleiter zu optimieren, in dem jeder Test in einem Einzelgespräch in einer ruhigen Umgebung und Atmosphäre durchgeführt wurde. Auf Grund der Teilnehmerzahl mussten verschiedene Testleiter eingesetzt werden. Diese machten sich mit den Anweisungen des Testhandbuches vertraut, wurden intensiv geschult und von der Studienleitung überprüft. Trotzdem haben Tageszeit, Motivation, Angst, Nervosität einen Einfluss auf die Testleiter und Probanden und damit auch auf die Testergebnisse. Trotz genauer Anweisungen ist ein gewisser Spielraum in der Punktevergabe vom Testleiter möglich. Probanden würden also eventuell bei unterschiedlichen Testern anders abschneiden. Diese menschlichen Einflüsse können zwar optimiert, aber nie ganz vermieden werden, so dass sie bei der Auswertung der Ergebnisse immer berücksichtigt werden sollten.

6.2 Inhaltliche Darstellung und Interpretation der Ergebnisse

Intention der vorliegenden Studie war, einen Zusammenhang zwischen den drei SNPs rs9880851, rs2868865 und rs1230661 der MAGI Gene 1-3 und Schizophrenie beziehungsweise kognitiven Fähigkeiten herzustellen. Die Lokalisation aller drei SNPs befindet sich in der Intronregion des jeweiligen MAGI Gens. Bedingt durch die Basenaustauschmutationen findet jeweils der Austausch von der Base Cytosin durch Thymin in der DNA statt. Intronregionen sind Regionen der DNA, die nicht für ein Protein kodieren. Sie werden nur transkribiert, aber vor der Translation durch Splicen entfernt. Durch alternatives Splicen können unterschiedliche Isoformen des Proteins entstehen (siehe Tabellen 1,2 und 3). Eine funktionelle Konsequenz der drei SNPs ist auf Grund ihrer intronischen Lage unwahrscheinlich, da es zu keinem Austausch einer Aminosäure kommt. Auf Grund des Kopplungsgleichgewichtes könnte es trotzdem sein, dass die SNPs Einfluss auf die Funktion von Proteinen haben. Als Kopplungsgleichgewicht versteht man die

6 Diskussion

gemeinsame Lagebeziehung von funktionellem und nicht funktionellem SNPs auf einem LD Block. Laut Hapmap (2012) befindet sich rs9880851 zusammen mit 6 anderen SNPs auf einem 12kb umfassenden LD-Block, rs2868865 des MAGI-2 Gens auf einem 22kb Block mit 20 anderen SNPs und rs1230661 zusammen mit 50 Polymorphismen auf einem 111kb Block. Basenaustauschmutationen können außerdem Einfluss auf regulatorische Sequenzen und damit auch auf den Phänotyp haben. Es könnte ein Effekt auf die Transkription, das alternative Splicen, die Polyadenierung und die mRNA haben. Die Stabilität der DNA ist damit nicht mehr gewährleistet und deswegen kann auch das Protein bzw. dessen Umsatzrate beeinflusst werden.

Die drei untersuchten SNPs sollten im Hinblick auf eine Assoziation zur Schizophrenie untersucht und mit den 13 Untertests der WMS-R in Verbindung gebracht werden, um so eine Assoziation mit den jeweiligen Endophänotypen herzustellen. Keiner der untersuchten Polymorphismen konnte in der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie direkt mit Schizophrenie in Verbindung gebracht werden.

Tabelle 26: Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse der vorliegenden Studie

Marker	Assoziation mit Schizophrenie	Assoziation mit Endophänotypen
rs9880851	Keine	verzögerte visuelle Wiedergabe (WMS-R): Genotyp CT ↓↓ (p=0,006)
rs2868865	Keine	unmittelbare und verzögerte Wiedergabe (WMS-R): Allel C ↓↓ (p=0,050; p=0,026); Aufmerksamkeits-/Blockspanne Allel C↓ (p=0,078); verzögerte verbale Wiedergabe: Genotyp CC ↓↓ (p=0,080)
rs1230661	Keine	Keine

Zwischen dem Polymorphismus rs9880851 des MAGI-1 Gens und dem Untertest des WMS-R verzögert visuelle Wiedergabe konnte eine Assoziation nachgewiesen werden (siehe Tabelle 24). Personen mit dem heterozygoten Genotyp CT erzielten dabei eine schlechtere Leistung, als die beiden homozygoten Genotypen. Studienteilnehmer mit dem SNP rs2868865 zeigten für das C-Allel eine schlechtere Leistung in den WMS-R Untertests unmittelbare und verzögerte Wiedergabe, sowie eine negative Tendenz bei der Aufmerksamkeits-/Blockspanne.

Der SNP rs1230661 des MAGI-3 Gens zeigt in den Auswertungen keinen Zusammenhang in Bezug auf die Genotypen- oder Allelverteilung, weder durch signifikante Werte noch eine Tendenz zur Signifikanz.

6 Diskussion

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen eine Assoziation zwischen dem rs9880851 des MAGI-1 Gens und rs2868865 des MAGI-2 Gens und bestimmten Aspekten der Kognition. Die vorliegenden Resultate wurden bis jetzt noch nicht repliziert, so dass die Ergebnisse noch nicht als endgültig, sondern als vorläufig angesehen werden sollten.

In einer vergleichbaren Studie versuchten Buxbaum et al., (2008) einen möglichen Interaktionspartner für ERBB4, einem Neuregulin Rezeptor nachzuweisen, der sowohl eine funktionelle als auch eine genetische Assoziation mit Schizophrenie zeigt. Dabei stießen sie auf das MAGI-2 Protein, welches zusammen mit RPTP-beta, einem weiteren Interaktionspartner, einen Komplex mit ERBB4 bilden kann. Neben vielen anderen SNPs wurden unter anderem rs9880851, rs2868865 und rs1230661 untersucht und genotypisiert. Allerdings konnte für keinen dieser SNPs eine genomweite Assoziation nachgewiesen werden (Buxbaum et al., 2008).

Auch Koide et al., (2012) analysierten in ihrer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie Polymorphismen des MAGI-2 Gens und das erhöhte Risiko an Schizophrenie zu erkranken. Sie nahmen dafür japanische Stichproben zu Hilfe und führten mit 114 Fällen und 91 Kontrollen den Wisconsin Card Sorting Test durch (Koide et al., 2012). Zwei SNPs des MAGI-2 Gens wurden näher untersucht, da die Resultate auf eine Assoziation zwischen MAGI-2 und Schizophrenie hinwiesen. Die SNPs stimmen nicht mit den hier untersuchten überein. Es ergaben sich ein signifikantes genotypisches Ergebnis und ein tendenziell signifikanter SNP (Koide et al., 2012). Die Probanden erzielten schlechtere Ergebnisse bei der verbalen und visuellen Lernfähigkeit, bei der Prozessgeschwindigkeit und hatten ein schlechteres Arbeitsgedächtnis (Koide et al., 2012). Das MAGI-2 Gen ist ein sehr großes Gen (1,5Mbps) auf Chromosom 7 (Koide et al., 2007). Walsh et al., konnten 2008 in einer CNV Studie eine Deletion innerhalb der kodierenden Region des MAGI-2 Gens bei Schizophrenie finden. Diese Veränderungen könnten eine schlechtere synaptische Plastizität zur Folge haben, die wiederum die schlechten kognitiven Leistungen von Schizophreniepatienten erklären würden (Stephan et al., 2009).

Die vorliegende Arbeit konnte keinen Zusammenhang zwischen dem MAGI-2 Gen und Schizophrenie herstellen. Bei den kognitiven Endophänotypen hingegen gab es eine signifikante Assoziation zwischen rs2868865 und den Untertests der WMS-R unmittelbare ($p=0,050$) und verzögerte ($p=0,026$) verbale Wiedergabe. Patienten mit dem C-Allel schnitten schlechter ab, als diejenigen mit T-Allel. Eine Tendenz des Genotypen TT bei der Block-/Aufmerksamkeitsspanne wurde ebenfalls gefunden. Der rs2868865 liegt in einem Intron und

6 Diskussion

kodiert selbst für keine Aminosäure. Er befindet sich aber in einem LD-Block mit weiteren SNPs, mit denen er auf den Endophänotyp Einfluss haben könnte. Da das MAGI-2 Gen noch weitere LD-Blöcke beinhaltet (Hapmap, 2012) befinden sich möglicherweise auch funktionelle SNPs auf dem MAGI-2 Gen, die einen direkten Effekt auf die synaptische Plastizität haben und die Ergebnisse der oben genannten Studien unterstützen könnten.

MAGI-1 kann mit vielen Molekülen interagieren, unter anderem β -Catenin im Gehirn (Dobrosotskaya und James 2002). β -Catenin kommt gehäuft in Neuronen vor. Dort reagiert es mit MAGI-1 und beispielsweise N-Cadherin. Dadurch kommt es zum Kontakt zwischen MAGI-1 und β -Catenin, die mit ihren C-terminalen Enden aneinander binden (Nishimura et al., 2002). Auf Grund dieser Interaktion wird angenommen, dass MAGI-1 an der Organisation synaptischer Strukturen beteiligt ist. MAGI-1 wird als Verbindung zwischen Cadherinen und Neuroliginen angesehen. Cadherine beeinflussen das Gedächtnis und seine Leistungen durch ihren Einfluss auf die Synapsenbildung und Organisation. Durch die Assoziation von MAGI-1 mit Cadherin wird für MAGI-1 eine ähnliche Wirkung vermutet (Iida et al., 2004).

Der hier untersuchte Polymorphismus rs9880851 auf dem MAGI-1 Gen hatte ein signifikantes Ergebnis für den Untertest verzögerte visuelle Wiedergabe ($p=0,006$) des WMS-R. Probanden mit dem Genotyp CT schnitten in diesem Untertest schlechter ab, als die homozygoten Genotypen. Diese Ergebnisse geben Grund zur Annahme, dass MAGI-1 eine Rolle bei kognitiven Leistungen spielt. Der SNP rs9880851 liegt mit weiteren SNPs auf einem 12kb großen LD-Block (Hapmap, 2012). Es ist möglich, dass im MAGI Gen funktionelle SNPs vorhanden sind, die Einfluss auf die kognitiven Fähigkeiten haben. Dies könnte ein alleiniger Effekt von MAGI-1 sein oder durch die vielfältigen Interaktionsmöglichkeiten und damit durch das Potenzial zur Komplexbildung bedingt sein.

Für MAGI-3 konnten bisher in keiner publizierten Studie positive oder negative Effekte auf Schizophrenie oder kognitive Fähigkeiten nachgewiesen werden. Auch in der vorliegenden Untersuchung wurden keine signifikanten Resultate erzielt. Rs1230661 ist im MAGI-3 Gen auf Chromosom 1 lokalisiert. Es ist ein intronischer SNP, also nicht kodierend. Zusammen mit 50 weiteren SNPs liegt er in einem 111kb LD-Block (Hapmap, 2012). Durch das Kopplungsgleichgewicht ist es nicht auszuschließen, dass der SNP einen Einfluss auf das Erkrankungsrisiko für Schizophrenie und kognitive Störungen haben könnte. Dieses ist durch die Verwandtschaft mit den anderen MAGI Genen eine nahe liegende Vermutung.

Karlsson et al., (2012) untersuchten den Zusammenhang zwischen den MAGI Genen, bipolar affektiver Störung, schizo-affektiver Störung und Schizophrenie in drei Schritten.

6 Diskussion

Dabei arbeiteten sie nicht mit SNPs, sondern untersuchten CNVs. Zunächst führten die Autoren als Hypothese entwickelnden Schritt eine familienbasierte Analyse durch. Dabei fanden sie eine über 100kb große Deletion im ersten Intron des MAGI-1 Gens, die bei allen an bipolar affektiver Störung leidenden Familienmitgliedern auftrat. Des Weiteren konnte eine Duplikation (160kb) im Bereich vom Promotor des MAGI-1 Gens, über das erste Exon bis hin zum ersten Intron in zwei von drei erkrankten Angehörigen lokalisiert werden. Neuere Untersuchungen lassen vermuten, dass bipolare affektive Störungen, Schizophrenie und schizo-affektive Störungen einige genetische Risikofaktoren teilen (Lichtenstein et al., 2009). Auf Grund dessen folgte als zweiter Schritt die Untersuchung einer größeren Stichprobe des DNA-Materials von nicht-verwandten, an Schizophrenie erkrankten Personen. Dadurch konnten drei CNVs (eine Deletion, zwei Duplikationen) größer als 100kb identifiziert werden, die mit der Deletion aus Schritt eins überlappten. In einer dritten Datenanalyse von öffentlich erhältlichen Daten konnten wiederum drei CNVs über 100kb festgestellt werden.

In der vorliegenden Untersuchung konnte keine Assoziation zwischen dem SNP rs9880851 des MAGI-1 Gens und Schizophrenie nachweisen. Dabei ist vor allem die unterschiedliche Forschungsmethode als Hauptgrund für die nicht konformen Ergebnisse der beiden Studien zu nennen. CNVs sind sehr viel spezifischer und individueller als SNPs und haben einen größeren Einfluss (Walsh et al., 2008). Außerdem wurden für die Untersuchung nicht nur Patienten mit Schizophrenie heran gezogen, sondern auch schizoaffektive und bipolare Störungen eingeschlossen. Die Distinguierung, für welche Krankheiten die Veränderungen im MAGI-1 Gen verantwortlich sind, konnte also noch nicht abschließend geklärt werden.

Es gibt viele Studien, die belegen, dass sowohl auf Schizophrenie als auch auf die Kognition nicht nur die Umwelt Einfluss hat, sondern auch genetische Faktoren einen großen Einfluss einnehmen. Es gibt bereits Studien, in denen einzelne Polymorphismen in Fall-Kontroll-Assoziationsstudien mit bestimmten Krankheiten bzw. mit Ergebnissen aus Gedächtnistestungen in Verbindung gebracht werden konnten. Die Untersuchung von SNPs ermöglicht es, Zusammenhänge zwischen genetischen Variationen und komplexen Phänotypen im großen Maßstab nachzuweisen. Der Nachweis des Einflusses von Genen auf Phänotypen kann ohne eine komplette Gensequenzierung erfolgen und damit schneller Ergebnisse erzielen, die der Forschung für medikamentöse Therapieansätzen zur Verfügung gestellt werden können. Trotzdem sind noch viele Aspekte ungeklärt. Es bleibt die Frage, wie genau die Identifikation von Kandidatengenen stattfinden und eingeschränkt werden soll und wie viel Einfluss die genetischen Varianten auf die Phänotypen besitzen.

6 Diskussion

Ein möglicher genetischer Einfluss auf die Kognition sollte in der vorliegenden Arbeit untersucht werden. Dieser konnte für rs9880851 auf dem MAGI-1 Gen und rs2868865 auf dem MAGI-2 Gen konnten in der vorliegenden Arbeit nachgewiesen werden. Es ergab sich kein Hinweis auf einen Zusammenhang mit Schizophrenie. Notwendig wäre die Replikation der hier gefunden Ergebnisse. Eine größere Stichprobe, die die Realibilität der Resultate bestätigt, wäre essentiell. Weitere SNPs sollten untersucht werden, um einen Zusammenhang mit der Schizophrenie zu klären. Eventuell sollten andere Untersuchungsmethoden, wie die Analyse von CNVs, in Betracht gezogen (Walsh et al., 2008) und mit den SNP-Analysen zusammengefasst werden.

7 Literaturverzeichnis

7 Literaturverzeichnis

Abi-Dargham, A., Gil, R., Krystal, J., Baldwin, R.M., Seibyl, J.P., Bowers, M., van Dyck, C.H., Charney, D.S., Innis, R.B., Laruelle, M. (1998). Increased striatal dopamine transmission in schizophrenia: confirmation in a second cohort. *Am J Psychiatry* 155(6): 761-767

Abi-Dargham, A., Moore, H. (2003). Prefrontal DA Transmission at D1 Receptors and the Pathology of Schizophrenia. *The Neuroscientist* 9(5): 404-416

Adamsky, K., Arnold, K., Sabanay, H., Peles, E. (2003). Junctional protein MAGI-3 interacts with receptor tyrosine phosphatase beta (RPTP beta) and tyrosine-phosphorylated proteins. *J. Cell Sci.* 116: 1279–1289

Addington, J., Addington, D., Maticka-Tyndale, E. (1991). Cognitive functioning and positive and negative symptoms in schizophrenia. *Schizophr Res.* 5(2):123-34

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

American Psychiatric Association. (2000). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 4th edition. American Psychiatric Association, Washington D.C. Text Revision (DSM-IV-TR)

American Psychiatric Association (2017). DSM History. URL: <https://www.psychiatry.org/psychiatrists/practice/dsm/history-of-the-dsm>; abgerufen am 04.10.2017

Arias, I., Sorlozano, A., Villegas, E., Luna, J. d. D., McKenney, K., Cervilla, J., Gutierrez, B., Gutierrez, J. (2012). Infectious agents associated with schizophrenia: A metaanalysis. *Schizophr Res* 136(1–3): 128-136

Arolt, V., Ohrmann, P., Rothermundt, M. (2006). Schizophrenie und verwandte Störungen - Neurobiologie. *Neurobiologie psychischer Störungen*:345-386

7 Literaturverzeichnis

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

Atkinson, R. C., Schiffrin, R. M. (1968). *Human Memory: A Proposed System and its Control Processes*11This research was supported by the National Aeronautics and Space Administration, Grant No. NGR-05-020-036.

Baddeley, A. (1986). *Working Memory*. New York: Oxford University Press

Baddeley, A. D. (1990). *Human Memory: Theory and Practice*. Hove: Lawrence Erlbaum Associates

Baiano, M., David, A., Versace, A., Churchill, R., Balestrieri, M., Brambilla, P. (2007). Anterior cingulate volumes in schizophrenia: a systematic review and a meta-analysis of MRI studies. *Schizophrenia Research* 93:1–12

Barnes, T.R.E., Mutsatsa, S.H., Hutton, S.B., Watt, H.C., Joyce, E.M. (2006). Comorbid substance abuse and age of onset of schizophrenia. *Br. J. Psychiatry* 188:237–242

Benes, F. M., Berretta, S. (2001). GABAergic interneurons: implications for understanding schizophrenia and bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology* 25(1):1-27

Biamino, E., Di Gregorio, E., Belligni, E.F., Keller, R., Riberi, E., Gandione, M., Calcia, A., Mancini, C., Giorgio, E., Cavalieri, S., Pappi, P., Talarico, F., Fea, A.M., De Rubeis, S., Cirillo, Silengo, M., Ferrero, GB., Brusco, A. (2015). A novel 3q29 deletion associated with autism, intellectual disability, psychiatric disorders, and obesity. *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet.* 71B(2):290-9

Bilder, R. M., Goldman, R. S., Robinson, D., Reiter, G., Bell, L., Bates, J. A., Pappadopulos, E., Willson, D. F., Alvir, J. M., Woerner, M. G., Geisler, S., Kane, J. M., Lieberman, J. A. (2000). Neuropsychology of first-episode schizophrenia: initial characterization and clinical correlates. *Am J Psychiatry* 157(4):549-559

7 Literaturverzeichnis

Binder, J., Albus, M., Hubmann, W., Scherer, J., Sobizack, N., Franz, U., Mohr, F., Hecht, S. (1998). Neuropsychological impairment and psychopathology in first-episode schizophrenic patients related to the early course of illness. *Eur. Archive Psychiatry Clinical Neuroscience* 248(2):70-77

Bleuler, E. (1911). Dementia praecox oder Gruppe der Schizophrenien. In Aschaffenburg G (ed) *Handbuch der Psychiatrie*. Leipzig: Franz Deuticke.

Bloomfield, M. A., C. J. Morgan, A. Egerton, S. Kapur, H. V. Curran and O. D. Howes (2014). Dopaminergic function in cannabis users and its relationship to cannabis-induced psychotic symptoms. *Biol Psychiatry* 75(6):470-478

Bouchard, T.J. Jr. (1998). Genetic and environmental influences on adult intelligence and special mental abilities. *Hum Biol* 70(2):257-279

Breier, A., Su, T.P., Saunders, R., Carson, R.E., Kolachana, B.S., de Bartolomeis, A., Weinberger, D.R., Weisenfeld, N., Malhotra, A.K., Eckelman, W.C., Pickar, D. (1997). Schizophrenia is associated with elevated amphetamine-induced synaptic dopamine concentrations: evidence from a novel positron emission tomography method. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94(6):2569-2574

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

Brown, A.S., Schaefer, C.A., Quesenberry, C.P. (2002.). Maternal exposure to toxoplasmosis and risk of schizophrenia in adult offspring. *Am J Psychiatry* 162:767–773

Buckley PF, Miller BJ, Lehrer DS, Castle DJ. (2009). Psychiatric comorbidities and schizophrenia. *Schizophr Bull* 35:383–402

Buxbaum, J.D., Georgieva, L., Young, J.J., Plescia, C., Kajiwara, Y., Jiang, Y., Moskvina, V., Norton, N., Peirce, T., Williams, H., Craddock, N.J., Carroll, L., Corfas, G., Davis, K.L., Owen, M.J. Harroch, S., Sakurai, T., O'Donovan, M.C. (2008). Molecular dissection of NRG1-ERBB4 signaling implicates PTPRZ1 as a potential schizophrenia susceptibility gene. *Mol Psychiatry* 13:162–172

7 Literaturverzeichnis

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

Byrne, M., Agerbo, E., Bennedsen, B., Eaton, W.W., Mortensen, P.B. (2007). Obstetric conditions and risk of first admission with schizophrenia: a Danish national register based study. *Schizophr Res* 97:51–59

Cannon, T. D., Zorrilla, L. E., Shtasel, D., Gur, R. E., Gur, R. C., Marco, E. J., Moberg, P., Price, R. A. (1994). Neuropsychological functioning in siblings discordant for schizophrenia and healthy volunteers. *Arch Gen Psychiatry* 51(8):651-661

Cannon, T.D., Kaprio, J., Lonqvist, J., Huttunen M., Koskenvuo M. (1998b). The genetic epidemiology of schizophrenia in a Finnish twin cohort. A population-based modeling study. *Arch Gen Psychiatry* 55:67–74

Cannon, M., Jones, P.B., Murray, R.M. (2002b). Obstetrical complications and schizophrenia: historical and meta-analytic review. *Am J Psychiatry* 159:1080–1092

Carlsson, A. (1977). Does dopamine play a role in schizophrenia? *Psychological Medicine* 7:583–597

Carlsson, A., Carlsson, M.L. (2006). A dopaminergic deficit hypothesis of schizophrenia: the path to discovery. *Dialogues in Clinical Neuroscience* 8:137–142

Censits, D. M., Ragland, J. D., Gur, R. C., & Gur, R. E. (1997). Neuropsychological evidence supporting a neurodevelopmental model of schizophrenia: a longitudinal study. *Schizophr Res* 24(3):289-298

Cheng, J.Y., Ko, J.S., Chen, R.Y., Ng, E.M. (2008). Meta-regression analysis using latitude as moderator of paternal age-related schizophrenia risk. *Schizophr Res* 99: 71–76

Cirillo, M.A., Seidman, L.J. (2003). Verbal declarative memory dysfunction in schizophrenia: from clinical assessment to genetics and brain mechanisms. *Neuropsychol. Rev.* 13(2):43-77

Cohen G., Ren, R., Baltimore, D. (1995). Modular binding domains in signal transduction proteins. *Cell* 80:237-248

7 Literaturverzeichnis

Corsico, A. und McGuffin, P. (2001). Psychiatric genetics: recent advances and clinical implications. *Epidemiol Psychiatr Soc* 10(4): 253-9

Craddock, N., O'Donovan, M.C., Owen, M.J. (2007). Phenotypic and genetic complexity of psychosis. Invited commentary on Schizophrenia: a common disease caused by multiple rare alleles. *Br J Psychiatry* 190:200-203

Crow, T.J. (1985). The two-syndrome concept: origins and current status. *Schizophr Bull* 11(3):471-486

Crow, T.J., Ball, J., Bloom, S.R., Brown, R., Bruton, C.J., Colter, N., Frith, C.D., Johnstone, E.C., Owens, D.G., Roberts, G.W. (1989). Schizophrenia as an anomaly of development of cerebral asymmetry. A postmortem study and a proposal concerning the genetic basis of the disease. *Archives of General Psychiatry* 46:1145–1150

Crow, T.J. (2007). How and why genetic linkage has not solved the problem of psychosis: review and hypothesis. *Am J Psychiatry* 164:13-21

Cutting, J. (2003). Descriptive psychopathology. In Hirsch SR & Weinberger DR (eds.). *Schizophrenia*. Oxford: Blackwell

Dalman, C., Allebeck, P., Gunnell, D., Harrison, G., Kristensson, K., Lewis, G., Lofving, S., Rasmussen, F., Wicks, S., Karlsson, H. (2008). Infection in the CNS during childhood and the risk of subsequent psychotic illness: a cohort study of more than one million Swedish subjects. *Am J Psychiatry* 165:59–65

Danielson, E., Zhang, N., Metallo, J., Kaleka, K., Shin, S.M., Gerges, N., Lee, S.H. (2012). S-SCAM/MAGI-2 is an essential synaptic scaffolding molecule for the GluA2-containing maintenance pool of AMPA receptors. *J Neurosci* 16;32(20):6967-80

Davies, G., Welham, J., Chant, D., Torrey, E.F., McGrath, J. (2003). A systematic review and meta-analysis of northern hemisphere season of birth studies in schizophrenia. *Schizophr Bull* 29:587–593

David, A.S., Prince, M. (2005). Psychosis following head injury: a critical review. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 76 (Suppl 1):453–460

7 Literaturverzeichnis

Davidson, M. und Keefe, R.S. (1995). Cognitive impairment as a target for pharmacological treatment in schizophrenia. *Schizophr Res* 17(1):123-9

Degenhardt, L., Hall, W. (2006). Is cannabis use a contributory cause of psychosis? *Can J Psychiatry* 51:566–574

DeLisi, L.E., Hoff, A.L., Neale, C., Kushner, M. (1994). Asymmetries in the superior temporal lobe in male and female first-episode schizophrenic patients: measures of the planum temporale and superior temporal gyrus by MRI. *Schizophrenia Research* 12:19–28

Demjaha, A., Murray, R.M., McGuire, P.K., Kapur, S., Howes, O.D. (2012). Dopamine synthesis capacity in patients with treatment-resistant schizophrenia. *Am J Psychiatry* 169:1203 -1210

DIMDI, d. I. f. M. D. u. I. (2013) *ICD-10-GM: Die Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme, 10. Revision, German Modifikation Version 2013*. Available at: <http://www.dimdi.de/static/de/klassi/icd-10-gm/kodesuche/onlinefassungen/htmlgm2013/block-f20-f29.htm>

Dimitratos, S., Woods, D., Stathakis, D., Bryant, P. (1999). Signaling Pathways are focused at specialized regions of the plasma membrane by the scaffolding proteins of MAGUK family. *BioEssays* 21:912-921

Dobrosotskaya, I., Guy, R.K., James, G.L. (1997). Magi-1, a membrane-associated guanylate kinase with unique arrangement of protein-protein interaction domains. *J Biol Chem* 272(50): 31589-31597

Doe, C.Q., Bowerman, B. (2001). Asymmetric cell division: fly neuroblast meets worm zygote. *Curr Opin Cell Biol* Feb 13(1):68-75

Dohrenwend, B.P., Levav, I., Shrout, P.E., Schwartz, S., Naveh, G., Link, B.G., Skodol, A.E., Stueve, A. (1992). Socioeconomic status and psychiatric disorders: the causation-selection issue. *Science* 255(5047):946-952

Dragovic, M., Hammond, G. (2005). Handedness in schizophrenia: a quantitative review of evidence. *Acta Psychiatrica Scandinavica* 111:410–419

7 Literaturverzeichnis

- Drubin, D., Nelson, W. (1996). Origins of cell polarity. *Cell* 84:335-344
- Emsley, R., Chiliza, B., Schoeman, R. (2008). Predictors of long-term outcome in schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry* 21(2):173-177
- Emtage, L., Chang, H., Tiver, R., Rongo, C. (2009). MAGI-1 modulates AMPA receptor synaptic localization and behavioral plasticity in response to prior experience. *PLoS ONE* 4:e4613
- Editorial. (1988). Where next with psychiatric illness?. *Nature* 336:95–96
- Falkai, P., Maier W. (2006). Fortschritte in der neurobiologischen Erforschung der Schizophrenie. *Nervenarzt*, 77 Suppl 2:65-74
- Falkai P. (2011). A desperate search for biomarkers in schizophrenia. What is going wrong? *World Psychiatry* 10:38–39
- Farde, L., Wiesel, F.A., Stone-Elander, S., Halldin, C., Nordström, A.L., Hall, H., Sedvall, G. (1990). D2 dopamine receptors in neuroleptic-naive schizophrenic patients. A positron emission tomography study with [¹¹C]raclopride. *Arch Gen Psychiatry* 47:213-219
- Farmer, A.E., McGuffin, P., Gottesman, I.I. (1987). Twin concordance for DSM-III schizophrenia. Scrutinizing the validity of the definition: *Arch Gen Psychiatry* 44:634-641
- Faraone, S.V., Seidman, L.J., Kremen, W.S., Pepple, J.R., Lyons, M.J., Tsuang, M.T. (1995). Neuropsychological functioning among the nonpsychotic relatives of schizophrenic patients: a diagnostic efficiency analysis. *J Abnorm Psychol* 104(2):286-304 Review
- Fleischhacker, W. W., Hummer, M. (2006). Pharmakotherapie der Schizophrenie. *Nervenarzt* 77, Nr. 2:77-98
- Franklin, J.L., Kenta Yoshiurab, K., Dempsey, P.J., Galina Bogatcheva, G., Jeyakumar, L., Meisea, K., Pearsall, R.S., Threadgill, D., Coffey, R.J. (2005). Identification of MAGI-3 as a transforming growth factor- β binding protein. *Experimental Cell Research* 303:457– 470
- Franzek, E., Beckmann, H. (1996). Genetic heterogeneity of schizophrenia. Results of a systematic twin study. *Nervenarzt* 67:583-594

7 Literaturverzeichnis

- Friedl, M. (2011). Die Bedeutung des Serotonin-2A-Rezeptorgens in der Schizophrenie. Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität München urn:nbn:de:bvb:19-132969
- Geddes, J.R., Verdoux, H., Takei, N., Lawrie, S.M., Bovet, P., Eagles, J.M., Heun, R., McCreadie, R.G., McNeil, T.F., O'Callaghan, E., Stöber, G., Willinger, U., Murray, R.M. (1999). Schizophrenia and complications of pregnancy and labor: an individual patient data meta-analysis. *Schizophr Bull* 25:413–423
- Fett, A.K., Viechtbauer, W., Dominguez, M.D., Penn, D.L., van Os, J., Krabbendam, L. (2011). The relationship between neurocognition and social cognition with functional outcomes in schizophrenia: a meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev*. 35:573–588
- Giegling, I., Hartmann, A.-M., Genius, J., Benninghoff, J., Moller, H. J., Rujescu, D. (2008). Systems biology and complex neurobehavioral traits. *Pharmacopsychiatry* 41 Suppl. 1:32-6
- Giehl, K.M. (2007). Neuronal development. *Prog Exp Tumor Res* 39:1
- Glazier, A.M., Nadeau, J.H., Aitman, T.J. (2002). Finding genes that underlie complex traits. *Science* 298:2345–2349
- Glisky, E.L. (2007). Changes in Cognitive function in Human Aging. *Brain Aging: Models, Methods, and Mechanisms*. Boca Raton (FL): CRC Press. Editorial
- Grady, C.L., Bernstein, L.J., Beig, S., Siegenthaler, A.L. (2002). The effects of encoding task on age-related differences in the functional neuroanatomy of face memory. *Psychol Aging* 17:7
- Gross, G. (1997). The onset of schizophrenia. *Schizophr Res* 28: 187–198
- Goldberg, T.E., Torrey, E.F., Gold, J.M., Ragland, J.D., Bigelow, L.B., Weinberger, D.R. (1993). Learning and memory in monozygotic twins discordant for schizophrenia. *Psychol Med* 23(1):71-85 Review
- Gonzalez-Mariscal, L., Betanzos, A., Avila-Flores, A. (2000). MAGUK proteins: Structure and role in the tight junction. *Cell Dev Biol* 11:315-324

7 Literaturverzeichnis

Gottesman, I.I., McGuffin, P., Farmer, A.E. (1987). Clinical genetics as clues to the “real” genetics of schizophrenia. *Schizophr Bull* 13:23–47

Gottesman, I.I., Erlenmeyer-Kimling, L. (2001). Family and twin strategies as a head start in defining prodromes and endophenotypes for hypothetical early-interventions in schizophrenia. *Schizophrenia Research* 1;51(1):93-102

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

Guillin, O., Abi-Dargham, A., Laruelle, M. (2007). Neurobiology of dopamine in schizophrenia. *International Review of Neurobiology* 78:1–39

Gur, R.E., Calkins, M.E., Gur, R.C., Horan, W.P., Nuechterlein, K.H., Seidman, L.J., Stone, W.S. (2006). The Consortium on the Genetics of Schizophrenia: neurocognitive endophenotypes. *Schizophr Bull* 33(1):49-68 13. Review

Haijma, S. V., Van Haren, N., Cahn, W., Koolschijn, P. C., Hulshoff Pol, H. E., Kahn, R. S. (2012). Brain Volumes in Schizophrenia: A Meta-Analysis in Over 18 000 Subjects. *Schizophrenia Bulletin*

Häfner, H. (1995). *Was ist Schizophrenie?* Stuttgart, Jena, New York, Fischer

Häfner, H., an der Heiden, W., Behrens, S. (1998). Causes and consequences of the gender differences in age of onset of schizophrenia. *Schizophr Bull* 24:99–113

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

Häfner, H., an der Heiden, W. (2003). Course and outcome of schizophrenia. In Hirsch SR, Weinberger DR (eds) *Schizophrenia*. Massachusetts, Oxford, Victoria, Berlin: Blackwell Science

Harding, C.M., Brooks, G.W., Ashikaga, T., Strauss, J.S., Breier, A. (1987). The Vermont longitudinal study of persons with severe mental illness, II: Long-term outcome of subjects who retrospectively met DSM-III criteria for schizophrenia. *Am J Psychiatry* 144:727–735

7 Literaturverzeichnis

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

Harrison, P.J., Law, A.J., Eastwood, S.L. (2003). Glutamate receptors and transporters in the hippocampus in schizophrenia. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1003:94–101

Härting, C., Markowitsch, H.J., Neufeld, H., Calabrese, P., Deisinger, K., Kessler, J. (2000). Wechsler Gedächtnistest; Revidierte Fassung. WMS-R. Bern: Huber

Hegarty, J.D., Baldessarini, R.J., Tohen, M., Waternaux, C., Oepen, G. (1994). One hundred years of schizophrenia: a meta-analysis of the outcome literature. *Am J Psychiatry* 151(10): 1409-1416

Hiller, Wolfgang (2015). Schizophrenie-Spektrum und andere psychotische Störungen I, URL: http://klinische-psychologie-mainz.de/downloads/materialien/script_psychot_I.pdf, S. 1-17; Zitat S. 3)

Hirschhorn, J.N., Daly, M.J. (2005). Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. *Nat Rev Genet* 6(2):95–108

Howes, O., Fusar-Poli, P., Bloomfield, M., Selvaraj, S., McGuire, P. (2012). From the Prodrome to Chronic Schizophrenia: the neurobiology underlying psychotic symptoms and cognitive impairments. *Curr Pharm Des* 18:459-465

Howes O, Murray R. (2014). Schizophrenia: an integrated sociodevelopmental-cognitive model. *Lancet* 6736:1–11

Howes, O., McCutcheon, R., Stone, J. (2015). Glutamate and dopamine in schizophrenia: an update for the 21st century. *J Psychopharmacol* 2:97-115

Iida J., Hirabayashi S., Sato Y., Hata Y. (2004). Synaptic scaffolding molecule is involved in the synaptic clustering of neuroligin. *Mol Cell Neurosci* 27:497–508

7 Literaturverzeichnis

Ide, N., Hata, Y., Nishioka, H., Hirao, K., Yao, I., Deguchi, M., Mizoguchi, A., Nishimori, H., Tokino, T., Nakamura, Y., Takai, Y. (1999). Localization of membrane-associated guanylate kinase (MAGI-1/Bai-associated protein (BAP) 1) at tight junctions of epithelia cells. *Oncogene* 18:7810-7815

Ikeda, M., Aleksic, B., Kinoshita, Y., Okochi, T., Kawashima, K. (2011). Genome-wide association study of schizophrenia in a Japanese population. *Biol Psychiatry* 69:472–478

Ingraham, L.J., Kety, S.S. (2000). Adoption studies of schizophrenia. *Am. J. Med. Genet.* 97(1): 18-22

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

Invitrogen (2011). Life technologies. <http://www.lifetechnologies.com/de/de/home.html>

Jarskog, L.F., Miyamoto, S., Lieberman, J.A. (2007). Schizophrenia: new pathological insights and therapies. *Annual Review of Medicine* 58:49–61

Javitt, D. C., Coyle J. T. (2004). Wenn Hirnsignale verrücktspielen. *Spektrum der Wissenschaft* Nr. 12:62-68

Kaech, SM., Whitfield CW, Kim SK. (1998). Basolateral membrane localization of the receptor tyrosine kinase LET-23 is mediated by the LIN-2/LIN-7/LIN-10 protein complex in the vulval precursor cells of *C-elegans*. *Cell* 94:761-771

Kapur, S., Zipursky, R., Jones, C., Remington, G., Houle, S. (2000). Relationship between dopamine D(2) occupancy, clinical response, and side effects: a double-blind PET study of first-episode schizophrenia. *Am J Psychiatry* 157:514–20

Karlsson, R., Graae, L., Lekman, M., Wang, D., Favis, R., Axelsson, T., Galter, D., Belin, A.B., Paddock, S. (2012). MAGI1 Copy Number Variation in Bipolar Affective Disorder and Schizophrenia. *Biol Psychiatry* 71:922–930

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

7 Literaturverzeichnis

Kendell, R.E., Malcolm, D.E., Adams, W. (1993). The problem of detecting changes in the incidence of schizophrenia. *Br J Psychiatry* 162:212–218

Kety, S.S. (1988). Schizophrenic illness in the families of schizophrenic adoptees: findings from the Danish national sample. *Schizophr Bull* 14(2):217-222

Kety, S.S., Wender, P.H., Jacobsen, B., Ingraham, L.J., Jansson, L., Faber, B., Kinney, D.K. (1994). Mental illness in the biological and adoptive relatives of schizophrenic adoptees. Replication of the Copenhagen Study in the rest of Denmark. *Arch Gen Psychiatry* 51(6):442-455

Keshavan, M.S., Tandon, R., Nasrallah, H.A. (2008). Schizophrenia, “just the facts”: What we know in 2008. *Schizophrenia Research*, doi:10.1016/j.schres.2008.07.020

Khandaker, G. M., Zimbron, J., Dalman, C., Lewis, G., Jones, P. B. (2012). Childhood infection and adult schizophrenia: A meta-analysis of population-based studies. *Schizophr Res* 139(1–3):161-168

Kim, E., O. D. Howes, F. E. Turkheimer, B. H. Kim, J. M. Jeong, J. W. Kim, J. S. Lee, I. J. Jang, S. G. Shin, S. Kapur and J. S. Kwon (2013). The relationship between antipsychotic D2 occupancy and change in frontal metabolism and working memory: A dual [(11)C]raclopride and [(18) F]FDG imaging study with aripiprazole. *Psychopharmacology (Berl)* 227(2):221-229

Kirkbride, J.B., Fearon, P., Morgan, C., Dazzan, P., Morgan, K., Tarrant, J., Lloyd, T., Holloway, J., Hutchinson, G., Leff, J.P., Mallett, R.M., Harrison, G.L., Murray, R.M., Jones P.B. (2006). Heterogeneity in incidence rates of schizophrenia and other psychotic syndromes: findings from the 3-center AeSOP study. *Arch Gen Psychiatry* 63(3):250-258

Kirov, G., Gumus, D., Chen, W., Norton, N., Georgieva, L., Sari, M. (2008). Comparative genome hybridization suggests a role for NRXN1 and APBA2 in schizophrenia. *Hum Mol Genet* 17:458–465

Knowles, E.E., Mathias, S.R., McKay, D.R., Sprooten, E., Blangero, J., Almasy, L., Glahn, D.C. (2014). Genome-Wide Analyses of Working-Memory Ability: A Review. *Curr Behav Neurosci Rep* 1(4):224-233

Koide, T., Banno, M., Aleksic, B., Yamashita, S., Kikuchi, T., Kohmura, K., Adachi, Y.,

7 Literaturverzeichnis

Kawano, N., Kushima, I., Nakamura, Y., Okada, T., Ikeda, M., Ohi, K., Yasuda, Y., Hashimoto, R., Inada, T., Ujike, H., Iidaka, T., Suzuki, M., Takeda, M., Iwata, N., Ozaki, N. (2012). Common Variants in MAGI2 Gene are Associated with Increased Risk for cognitive Impairment in Schizophrenic Patients. PLoS ONE 7(5):e36836

Knust, E., Bossinger, O. (2002). Composition and formation of intercellular junctions in epithelial cells. Science 298(5600):1955-1959

Knust, E., Tepass, U., Wodarz, A. (1993). Crumbs and stardust, two genes of Drosophila required for the development of epithelial cell polarity. Dev Suppl:261-268

Konick, L.C., Friedman, L. (2001). Meta-analysis of thalamic size in schizophrenia. Biological Psychiatry 49:28–38

Kovelman, J. A. und Scheibel, A. B. (1984). A neurohistological correlate of schizophrenia. Biol Psychiatry 19(12):1601-21

Kranjec, C., Banks, L. (2011). A systematic analysis of human papillomavirus (HPV) E6 PDZ substrates identifies MAGI-1 as a major target of HPVtype 16 (HPV-16) and HPV-18 whose loss accompanies disruption of tight junctions. J Virol 85:1757–1764

Krollner, B., Krollner, Dirk M. (2017). ICD Code 2017. URL: <http://www.icd-code.de/icd/code/F20.-.html> ; abgerufen am 04.10.2017

Kuhn, R., Cahn, C.H. (2004). Eugen Bleuler's Concepts of Psychopathology. History of Psychiatry 15(3):361-366

Kyriakopoulos, M., Frangou, S. (2007). Pathophysiology of early onset schizophrenia. International Review of Psychiatry (Abingdon, England) 19:315–324

Lambert, M., Karow, A., Leucht, S., Schimmelmann, B., Naber, D. (2010). Remission in schizophrenia: validity, frequency, predictors, and patients' perspective 5 years later. Dialogues Clin Neurosci 12:393–407

Laura, R., Ross, S., Koeppen, H., Lasky, L. (2002). MAGI-1: A widely expressed, alternatively spliced tight junction protein. Experimental Cell Research 275:155-170

Lander, E. S. und Schork, N. J. (1994). Genetic dissection of complex traits. Science

265(5181):2037-48

Laruelle, M., Abi-Dargham, A., van Dyck, C.H., Gil, R., D'Souza, C.D., Erdos, J., McCance, E., Rosenblatt, W., Fingado, C., Zoghbi, S.S., Baldwin, R.M., Seibyl, J.P., Krystal, J.H., Charney, D.S., Innis, R.B. (1996). Single photon emission computerized tomography imaging of amphetamine-induced dopamine release in drug-free schizophrenic subjects. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93:9235–9240

Laruelle, M. (1998). Imaging dopamine transmission in schizophrenia. A review and meta-analysis. *Quarterly Journal of Nuclear Medicine* 42:211–221

Laruelle, M., Abi-Dargham A., Gil, R., Kegeles, L., Innis, R. (1999). Increased dopamine transmission in schizophrenia: relationship to illness phases. *Biol Psychiatry* 46:56-72.

Laruelle M. (2014). Schizophrenia: from dopaminergic to glutamatergic interventions. *Curr Opin Pharmacol* 14C:97–102

Lawrie, S.M., Abukmeil, S.S. (1998). Brain abnormality in schizophrenia. A systematic and quantitative review of volumetric magnetic resonance imaging studies. *British Journal of Psychiatry* 172:110–120

Lepach, A.C., Petermann, F. (2012). Gedächtnisdiagnostik mit der Wechsler Memory Scale-Fourth Edition. *Zeitschrift für Neuropsychologie* 23 (3):123-132

Lewis, G., David, A., Andreasson, S., Allebeck, P. (1992). Schizophrenia and city life. *Lancet* 340:137–140

Lewis, D.A., Levitt, P. (2002). Schizophrenia as a disorder of neurodevelopment. *Annu Rev Neurosci* 25:409–432

Lewis, C. M., Levinson, D. F., Wise, L. H., DeLisi, L. E., Straub, R. E., Hovatta, I., Williams, N. M., Schwab, S. G., Pulver, A. E., Faraone, S. V., Brzustowicz, L. M., Kaufmann, C. A., Garver, D. L., Gurling, H. M., Lindholm, E., Coon, H., Moises, H. W., Byerley, W., Shaw, S. H., Mesen, A., Sherrington, R., O'Neill, F. A., Walsh, D., Kendler, K. S., Ekelund, J., Paunio, T., Lonnqvist, J., Peltonen, L., O'Donovan, M. C., Owen, M. J., Wildenauer, D. B., Maier, W., Nestadt, G., Blouin, J. L., Antonarakis, S. E., Mowry, B. J., Silverman, J. M., Crowe, R. R., Cloninger, C. R., Tsuang, M. T., Malaspina, D., Harkavy-Friedman, J. M., Svrakic, D. M.,

7 Literaturverzeichnis

Bassett, A. S., Holcomb, J., Kalsi, G., McQuillin, A., Brynjolfson, J., Sigmundsson, T., Petursson, H., Jazin, E., Zoega, T., Helgason, T. (2003). Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia. *Am J Hum Genet* 73(1):34-48

Lewis, D.A., Hashimoto, T., Volk, D.W. (2005). Cortical inhibitory neurons and schizophrenia. *Nature Reviews* 6: 312–324

Lewis, D.A., Gonzalez-Burgos, G. (2006). Pathophysiologically based treatment interventions in schizophrenia. *Nature Medicine* 12:1016–1022

Li, D., Collier, D.A., He, L. (2006). Meta-analysis shows strong positive association of the neuregulin 1 (NRG1) gene with schizophrenia. *Hum Mol Genet* 15:1995–2002

Lichtenstein, P., Yip, B.H., Björk, C., Pawitan, Y., Cannon, T.D., Sullivan, P.F., Hultman, C.M. (2009). Common genetic determinants of schizophrenia and bipolar disorder in Swedish families: a population-based study. *Lancet* 373(9659):234-239

Lieberman, J.A., Tollefson, G.D., Charles, C., Zipursky, R., Sharma, T., Kahn, R.S., Keefe, R.S., Green, A.I., Gur, R.E., McEvoy, J., Perkins, D., Hamer, R.M., Gu, H., Tohen, M. (2005). Antipsychotic drug effects on brain morphology in first episode psychosis. *Archives of General Psychiatry* 62:361–370

Lohmueller, K.E., Pearce, C.L., Pike, M., Lander, E.S., Hirschhorn, J.N. (2003). Meta-analysis of genetic association studies supports a contribution of common variants to susceptibility to common disease. *Nat Genet* 33(2):177-182

Lye, M.F., Fanning, A. S., Su, Y., Anderson, J.M., Lavie, A. (2010). Insights into Regulated Ligand Binding Sites from the structure of ZO-1 Src Homology 3-Guanylate Kinase Module. *The Journal of Biological Chemistry* 285:13907-13917

Mackay, A.V., Bird, E.D., Iversen, L.L., Spokes, E.G., Creese, I., Snyder, S.H. (1980a). Dopaminergic abnormalities in postmortem schizophrenic brain. *Adv Biochem Psychopharmacol* 24:325-333

7 Literaturverzeichnis

Maier, W., Lichtermann, D., Rietschel, M., Held, T., Falkai, P., Wagner, M., Schwab, S. (1999). Genetics of schizophrenic disorders. New concepts and findings. *Nervenarzt* 70(11):955-69

Maki, P., Veijola, J., Jones, P.B., Murray, G.K., Koponen, H., Tienari, P., Miettunen, J., Tanskanen, P., Wahlberg, K.E., Koskinen, J., Lauronen, E., Isohanni, M. (2005). Predictors of schizophrenia — a review. *Br Med Bull* 73/74:1–15

Markowitsch, H.-J. (2002). *Dem Gedächtnis auf der Spur. Vom Erinnern und Vergessen.* Darmstadt: Wissenschaftliche Buchgesellschaft

Martinot, J.L., Paillère-Martinot, M.L., Loc'h, C., Hardy, P., Poirier, M.F., Mazoyer, B., Beaufile, B., Mazière, B., Allilaire, J.F., Syrota, A. (1991). The estimated density of D2 striatal receptors in schizophrenia. A study with positron emission tomography and ⁷⁶Br-bromolisuride. *Br J Psychiatry* 158:346-350

Matheson, S. L., Shepherd, A. M., Laurens, K. R., Carr, V. J. (2012). A systematic metareview grading the evidence for non-genetic risk factors and putative antecedents of schizophrenia. *Schizophr Res* 133(1–3):133-142

McClellan, J.M., Susser, E., King, M.C. (2007). Schizophrenia: a common disease caused by multiple rare alleles: *Br J Psychiatry* 190:194-199

McGrath, J., Saha S., Welham J., El Saadi O., MacCauley C., Chant D. (2004). A systematic review of the incidence of schizophrenia: the distribution of rates and the influence of sex, urbanicity, migrant status and methodology. *BMC Med* 2:13

McGue, M. und Gottesman, I.I. (1989). Genetic linkage in schizophrenia: perspectives from genetic epidemiology. *Schizophr Bull* 15(3):453-464

McGuffin, P., Owen, M.J., Gottesman, I.I. (2002). *Psychiatric Genetics and Genomics.* Oxford, UK, Oxford University Press

Meyer, U., Yee, B.K., Feldon, J. (2007). The neurodevelopmental impact of prenatal infections at different times in pregnancy: the earlier the worse. *Neuroscientist* 13:241–266

7 Literaturverzeichnis

- Miller, G. A. (1956). The magical number seven plus or minus two: some limits on our capacity for processing information. *Psychol Rev* 63(2):81-97
- Mizrahi, R., J. Addington, P. M. Rusjan, I. Suridjan, A. Ng, I. Boileau, J. C. Pruessner, G. Remington, S. Houle and A. A. Wilson (2012). "Increased stress-induced dopamine release in psychosis." *Biol Psychiatry* 71(6):561-567
- Miyake, N., Thompson, J., Skinbjerg, M., Abi-Dargham, A. (2011). Presynaptic Dopamine in Schizophrenia. *CNS Neuroscience & Therapeutics* 17(2): 104-109
- Moghaddam, B., Javitt, D. (2012). From Revolution to Evolution: The Glutamate Hypothesis of Schizophrenia and its Implication for Treatment. *Neuropsychopharmacology* 37(1):4-15
- Moldin, S. O. (1997). The maddening hunt for madness genes. *Nat Genet* 17(2):127-129
- Möller, H.-J., Deister, A. (2005). Schizophrenie. In Möller, H.-J., Laux, G., Deister, A. (eds). *Psychiatrie und Psychotherapie*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag
- Möller, H.-J., Laux, G., Kapfhammer, H.-P. (2008). *Psychiatrie und Psychotherapie Bd. 1 und Bd. 2 Allgemeine Psychiatrie*. Heidelberg, Springer Medizin Verlag. 3: 978-3-540-24583-4
- Moore, T.H.M., Zammit, S., Lingford-Hughes, A., Barnes, T.R., Jones, P.B., Burke, M., Lewis, G. (2007). Cannabis use and risk of psychotic or affective mental health outcomes: a systematic review. *Lancet* 370:319–328
- Morgan, C., Fisher, H. (2007). Environmental factors in schizophrenia: childhood trauma — a critical review. *Schizophr Bull* 33:3–10
- Morgan, C., Kirkbride, J., Leff, J., Craig, T., Hutchinson, G., McKenzie, K., Morgan, K., Dazzan, P., Doody, G.A., Jones, P., Murray, R., Fearon, P. (2006). Parental separation, loss and psychosis in different ethnic groups: a case–control study. *Psychol Med* 37:495–503
- Mortensen, P.B, Pedersen, C.B., Westergaard, T. (1999). Effects of family history and place and season of birth on the risk of schizophrenia. *N Engl J Med* 340:603–608

7 Literaturverzeichnis

Mortimer A, Singh P, Shepherd C, Puthiryackal J. (2010). Clozapine for Treatment-Resistant Schizophrenia: National Institute of Clinical Excellence (NICE) Guidance in the Real World. *Clin Schizophr Relat Psychoses* 4:49–55

Muller, H. (2000). Genetic control of epithelia cell polarity: Lessons from *Drosophila*. *Dev Dyn* 218:52-67

Narendran, R., Jedema, H. P., Lopresti, B. J., Mason, N. S., Gurnsey, K., Ruszkiewicz, J., Chen, C. M., Deutch, L., Frankle, W. G., Bradberry, C. W. (2014). Imaging dopamine transmission in the frontal cortex: a simultaneous microdialysis and [11C]FLB 457 PET study. *Mol Psychiatry* 19:302–10

Need, A.C., Attix, D.K., McEvoy, J.M., Cirulli, E.T., Linney, K.L., Hunt, P. (2009). A genome-wide study of common SNPs and CNVs in cognitive performance in the CANTAB. *Hum. Mol. Genet.* 18(23):4650–4661

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

Newcomer, J.W., Farber, N.B., Jevto vic-Todorovic V., Selke, G., Melson, A.K., Hershey, T., Craft, S., Olney, J.W. (1999). Ketamine-induced NMDA receptor hypofunction as a model of memory impairment and psychosis. *Neuropsychopharmacology* 20:106–118

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

7 Literaturverzeichnis

wide linkage studies of schizophrenia. *Mol Psychiatry* 14(8):774–785

Nishimura, W., Yao, I., Iida, J., Tanaka, N., Hata, Y. (2002). Interaction of synaptic scaffolding molecule and beta-catenin. *J Neurosci* 22:757–765

Norton, N., Williams, H.J., Owen, M.J. (2006). An update on the genetics of schizophrenia. *Curr. Opin. Psychiatry* 19(2):158-164

Nuechterlein, K.H. (1986). Childhood precursors of adult schizophrenia. *J Child Psychol Psychiatry* 27(2):133-44 Review

Nuechterlein, K.H., Barch, D.M., Gold, J.M., Goldberg, T.E., Green, M.F., Heaton, R.K. (2004). Identification of separable cognitive factors in schizophrenia. *Schizophr Res* 72:29–39

O'Donovan MC1, Craddock N, Norton N, Williams H, Peirce T, Moskvina V, Nikolov I, Hamshere M, Carroll L, Georgieva L, Dwyer S, Holmans P, Marchini JL, Spencer CC, Howie B, Leung HT, Hartmann AM, Möller HJ, Morris DW, Shi Y, Feng G, Hoffmann P, Propping P, Vasilescu C, Maier W, Rietschel M, Zammit S, Schumacher J, Quinn EM, Schulze TG, Williams NM, Giegling I, Iwata N, Ikeda M, Darvasi A, Shifman S, He L, Duan J, Sanders AR, Levinson DF, Gejman PV, Cichon S, Nöthen MM, Gill M, Corvin A, Rujescu D, Kirov G, Owen MJ, Buccola NG, Mowry BJ, Freedman R, Amin F, Black DW, Silverman JM, Byerley WF, Cloninger CR, Molecular Genetics of Schizophrenia Collaboration. (2008). Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up. *Nat Genet* 40: 1053-1055

Olincy, A., Stevens, K.E. (2007). Treating schizophrenia symptoms with an alpha7 nicotinic agonist, from mice to men. *Biochemical Pharmacology* 74:1192–1201

Oliva, C., Escobedo, P., Astorga, C., Molina, C. and Sierralta, J. (2012). Role of the MAGUK protein family in synapse formation and function. *Devel Neurobio* 72:57–72

Onstad, S., Skre, I., Torgersen, S., Kringlen, E. (1991). Twin concordance for DSMIII-R schizophrenia: *Acta Psychiatr Scand* 83:395-401

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

7 Literaturverzeichnis

- Owen, M.J., Williams, N.M., O'Donovan, M.C. (2004). The molecular genetics of schizophrenia: new findings promise new insights. *Mol Psychiatry* 9(1):14-27
- Owen, M.J., Craddock, N., O'Donovan, M.C. (2005). Schizophrenia: genes at last? *Trends Genet* 21(9):518-525
- Owen, M.J., Williams, H.J., O'Donovan, M.C. (2009). Schizophrenia genetics: advancing on two fronts. *Curr Opin Genet Dev* 19(3):266-270
- Palmer, B.W., Heaton, R.K., Paulsen, J.S., Kuck, J., Braff, D., Harris, M.J., Zisook, S., Jeste, D.V. (1997). Is it possible to be schizophrenic yet neuropsychologically normal? *Neuropsychology* 11(3):437-46
- Pantelis, C., Yücel, M., Wood, S.J., Velakoulis, D., Sun, D., Berger, G., Stuart, G.W., Yung, A., Phillips, L., McGorry, P.D. (2005). Structural brain imaging evidence for multiple pathological processes at different stages of brain development in schizophrenia. *Schizophr Bull* 31(3): 672-696
- Papassotiropoulos, A., Henke, K., Stefanova, E., Aerni, A., Muller, A., Demougin, P. (2011). A genome-wide survey of human short-term memory. *Mol Psychiatry* 16(2):184–92
- Patrie, K., Drescher, A., Goyal, M., Wiggins, R., Margolis, B. (2001). The membrane-associated guanylate kinase protein MAGI-1 binds megalin and is present in glomerular podocytes. *J Am Soc Nephrol* 12:667-677
- Patrie, K.M. (2005). Identification and characterization of a novel tight junction-associated family of proteins that interacts with a WW domain of MAGI-1. *Biochem Biophys Acta* 1745(1):131-144
- Penner, J.D., Brown, A.S. (2007). Prenatal infectious and nutritional factors and risk of schizophrenia. *Expert Rev Neurotherapeutics* 7:797–805
- Perrin, M.C., Brown, A.S., Malaspina, D. (2007). Aberrant epigenetic regulation could explain the relationship of paternal age to schizophrenia. *Schizophr Bull* 33:1270–1273
- Petronis, A. (2001). Human morbid genetics revisited: relevance of epigenetics. *Trends Genet* 17:142–146

7 Literaturverzeichnis

Pilowsky, L.S., Costa, D.C., Ell, P.J., Verhoeff, N.P., Murray, R.M., Kerwin, R.W. (1994). D2 dopamine receptor binding in the basal ganglia of antipsychotic-free schizophrenic patients. An ¹²³IIBZM single photon emission computerised tomography study. *Br J Psychiatry* 164:16-26

Port, R. L. und Seybold, K. S. (1995). Hippocampal synaptic plasticity as a biological substrate underlying episodic psychosis. *Biol Psychiatry* 37(5):318-324

Prasad, K.M., Keshavan, M.S. (2008). Structural Cerebral Variations as Useful Endophenotypes in Schizophrenia: Do They Help Construct "Extended Endophenotypes"? *Schizophr Bull* 34(4):774-790

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

Raedler, T.J., Bymaster, F.P., Tandon, R., Copolov, D., Dean, B. (2007). Towards a muscarinic hypothesis of schizophrenia. *Molecular Psychiatry* 12:232–246

Rapoport, J.L., Addington, A.M., Frangou, S., Psych MR (2005). The neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2005. *Mol Psychiatry* 10:434-449

Read, J., van Os, J., Morrison, A.P., Ross, C.A. (2005). Childhood trauma, psychosis, and schizophrenia: a literature review with theoretical and clinical implications. *Acta Psychiatr Scand* 112:330–350

Remington, G., Agid, O., Foussias, G. (2011). Schizophrenia as a disorder of too little dopamine: implications for symptoms and treatment. *Expert Review of Neurotherapeutics* 11(4):589-607

Remington, G., Kapur, P.S., Foussias, G., Agid, O., Mann, S., Borlido, C., Richards, S., Javaid, N. (2012). Tetrabenazine Augmentation in Treatment-Resistant Schizophrenia. *J Clin Pharmacol* 32:95–99

Rice, J.P., Reich, T., Buchholz, K.K., Neumann, R.J., Neumann, R.F. (1995). Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence. *Alcoholism, Clinical and*

7 Literaturverzeichnis

Experimental Research 19:1018-1023

Richter V., Guthke J. (1996). Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI). Göttingen: Hogrefe

Riley, E.M., McGovern, D., Mockler, D., Doku, V.C., Fannon, D. G., Tennakoon, L., Santamaria, M., Soni, W., Morris, R.G., Sharma, T. (2000). Neuropsychological functioning in first-episode psychosis--evidence of specific deficits. *Schizophr Res* 43(1):47-55

Roh, M., H., Margolis, B. (2003). Composition and function of PDZ protein complexes during cell polarization. *Am J Physiol Renal Physiol* 285(3):F377-387

Rosler, A.R., Rosler, W. (1998). The course of schizophrenic psychoses: what do we really know? A selective review from the epidemiological perspective. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 248:189–202

Rujescu, D., Ingason, A., Cichon, S., Pietilainen, O.P.H., Barnes, M.R., Toulopoulou, T., Picchioni, M., Vassos, E., Ettinger, U., Bramon, E., Murray, R., Ruggeri, M., Tosato, S., Bonetto, C., Steinberg, S., Sigurdsson, E., Sigmundsson, T., Petursson, H., Gylfason, A., Olason, P.I., Hardarsson, G., Jonsdottir, G.A., Gustafsson, O., Fossdal, R., Giegling, I., Möller, H.J., Hartmann, A.M., Hoffmann, P., Crombie, C., Fraser, G., Walker, N., Lonnqvist, J., Suvisaari, J., Tuulio-Henriksson, A., Djurovic, S., Melle, I., Andreassen, O.A., Hansen, T., Werge, T., Kiemenev, L.A., Franke, B., Veltman, J., Buizer-Voskamp, J.E., Group Investigators, Sabatti, C., Ophoff, R.A., Rietschel, M., Nöthen, M.M., Stefansson, K., Peltonen, L., St. Clair, D., Stefansson, H., Collier, D.A. (2009). Disruption of the neurexin 1 gene is associated with schizophrenia. *Hum Mol Genet* 18:988–996

Saha, S., Chant, D., Welham, J., McGrath, J. (2005). A systematic review of the prevalence of schizophrenia. *PLoS.Med.* 2:E141

Saha, S., Welham, J., Chant D., McGrath J. (2006). Incidence of schizophrenia does not vary with economic status of the country: evidence from a systematic review. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol* 41:338-340

Saß, H. und Houben, I. (1996). DSM-IV: Übersetzt nach der vierten Auflage des Diagnostic and statistical Manual of mental Disorders der American Psychiatric Association. Göttingen, Hogrefe

7 Literaturverzeichnis

Schenkel, L.S., Silverstein, S.M. (2004). Dimensions of premorbid functioning in schizophrenia: a review of neuromotor, cognitive, social, and behavioral domains. *Genetic, Social and General Psychol Monogr* 130:241–270

Schmitt, A., Rujescu, D., Gawlik, M., Hasan, A., Hashimoto, K., Iceta, S., Jarema, M., Kambeitz, J., Kasper, S., Keeser, D., Kornhuber, J., Koutsouleris, N., Lanzenberger, R., Malchow, B., Saoud, M., Spies, M., Stöber, G., Thibaut, F., Riederer, P., Falkai, P. WFSBP Task Force on Biological Markers. (2016). Consensus paper of the WFSBP Task Force on Biological Markers: Criteria for biomarkers and endophenotypes of schizophrenia part II: Cognition, neuroimaging and genetics. *The World Journal of Biological Psychiatry*:1562-2975

Schultze-Lutter, F. (2009). Subjective symptoms of schizophrenia in research and the clinic: the basic symptom concept. *Schizophr Bull* 35:5–8

Schmitt, A., Hasan, A., Gruber, O., Falkai, P. (2011). Schizophrenia as a disorder of disconnectivity. *Eur. Arch. Psychiatry. Clin Neurosci* 261 Suppl 2:150-14

Sebat, J., D. L. Levy and S. E. McCarthy (2009). Rare structural variants in schizophrenia: one disorder, multiple mutations; one mutation, multiple disorders. *Trends Genet* 25(12):528-535

Seeman, M.V. (1982). Gender differences in schizophrenia. *Can. J Psychiatry* 27:107–112

Seeman, P., Ulpian, C., Bergeron, C., Riederer, P., Jellinger, K., Gabriel, E., Reynolds, G.P., Tourtellotte, W.W. (1984). Bimodal distribution of dopamine receptor densities in brains of schizophrenics. *Science* 225:728-731

Seidman, L.J., Giuliano, A.J., Smith, C.W., Stone, W.S., Glatt, S.J., Meyer, E., Faraone, S.V., Tsuang, M.T., Cornblatt, B. (2006). Neuropsychological functioning in adolescents and young adults at genetic risk for schizophrenia and affective psychoses: results from the Harvard and Hillside Adolescent High Risk Studies. *Schizophr Bull* 32(3):507-524

Semple, D.M., McIntosh, A.M., Lawrie, S.M. (2005). Cannabis as a risk factor for psychosis: systematic review. *J Psychopharmacol* 19:187–194

Sharma, T., Lancaster, E., Sigmundsson, T., Lewis, S., Takei, N., Gurling, H., Barta, P., Pearson, G., Murray, R. (1999). Lack of normal pattern of cerebral asymmetry in familial

7 Literaturverzeichnis

schizophrenic patients and their relatives-the Maudsley Family Study. *Schizophrenia Research* 40:111–120

Shenton, M.E., Dickey, C.C., Frumin, M., McCarley, R.W. (2001). A review of MRI findings in schizophrenia. *Schizophrenia Research* 49:1–52

Shepherd, A. M., Laurens, K. R., Matheson, S.L., Carr, V.J., Green, M.J. (2012). Systematic meta-review and quality assessment of the structural brain alterations in schizophrenia. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 36(4):1342-1356

Shi, J., Levinson, D.F., Duan, J., Sanders, A.R., Zheng, Y., Pe'er, I., Dudbridge, F., Holmans, P.A., Whittemore, A.S., Mowry, B.J., Olincy, A., Amin, F., Cloninger, C.R., Silverman, J.M., Buccola, N.G., Byerley, W.F., Black, D.W., Crowe, R.R., Oksenberg, J.R., Mirel, D.B., Kendler, K.S., Freedman, R., Gejman, P.V. (2009). Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia. *Nature* 460(7256):753-757

Sing, C.F., Zerba, K.E., Reilly, S.L. (1994). Traversing the biological complexity in the hierarchy between genome and CAD endpoints in the population at large. *Clin Genet* 46 (1 special number):6–14

Snitz, B.E., Macdonald, A.W. 3rd, Carter, C.S. (2006). Cognitive deficits in unaffected first-degree relatives of schizophrenia patients: a meta-analytic review of putative Endophenotypes. *Schizophr Bull* 32(1):179-194

Songyang, Z., Shoelson, S., Chaudhuri, M., Gish, G., Pawson, T., Haser, W., King, F., Roberts, T., Ratnofsky, S., Lechleider, R. (1993). SH2 domains recognize specific phosphopeptide sequences. *Cell* 72:767-778

Songyang, Z., Fanning, A.S., Fu, C., Xu, J., Marfatia, S.M., Chishti, A.H. Crompton, A., Chan, A.C., Anderson, J.M., Cantley, L.C. (1997). Recognition of unique carboxyl-terminal motifs by distinct Pdz Domains. *Science* 275 (5296):73-77

Squire, L. R. (1983). The hippocampus and the neuropsychology of memory. In W. Seifert (Ed.), *Neurobiology of the Hippocampus*. New York: Academic Press

Squire, L.R. (1998). Memory systems. *C R Acad Sci III* 321(2-3):153-156

7 Literaturverzeichnis

St Clair, D., Xu, M., Wang, P., Yu, Y., Fang, Y., Zhang, F., Zheng, X., Gu, N., Feng, G., Sham, P., He, L. (2005). Rates of adult schizophrenia following prenatal exposure to the Chinese famine of 1959–61. *JAMA* 294:557–562

Stefansson, H., Sigurdsson, E., Steinthorsdottir, V., Bjornsdottir, S., Sigmundsson, T., Ghosh, S. (2002). Neuregulin 1 and susceptibility to schizophrenia. *Am J Hum Genet* 71:77–892

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

Stefansson, H., Rujescu, D., Cichon, S., Pietiläinen, O., Ingason, A., Steinberg, S., Fossdal, R., Sigurdsson, E., Sigmundsson, T., Buizer-Voskamp, J., Hansen, T., Jakobsen, K., Muglia, P., Francks, C., Matthews, P., Gylfason, A., Halldorsson, B., Gudbjartsson, D., Thorgeirsson, T., Sigurdsson, A., Jonasdottir, A., Jonasdottir, A., Bjornsson, A., Mattiasdottir, S., Blondal, T., Haraldsson, M., Magnusdottir, B., Giegling, I., Moller, H.-J., Hartmann, A., Shianna, K., Ge, D., Need, A., Crombie, C., Fraser, G., Walker, N., Lonnqvist, J., Suvisaari, J., Tuulio-Henriksson, A., Paunio, T., Touloupoulou, T., Bramon, E., Di Forti, M., Murray, R., Ruggeri, M., Vassos, E., Tosato, S., Walshe, M., Li, T., Vasilescu, C., Muhleisen, T., Wang, A., Ullum, H., Djurovic, S., Melle, I., Olesen, J., Kiemene, L., Franke, B., Sabatti, C., Freimer, N., Gulcher, J., Thorsteinsdottir, U., Kong, A., Andreassen, O., Ophoff, R., Georgi, A., Rietschel, M., Werge, T., Petursson, H., Goldstein, D., Nothen, M., Peltonen, L., Collier, D., St Clair, D., Stefansson, K. (2008). Large recurrent microdeletions associated with schizophrenia. *Nature* 455:232-236

7 Literaturverzeichnis

Steen, R.G., Mull, C., McClure, R., Hamer, R.M., Lieberman, J.A. (2006). Brain volume in first-episode schizophrenia: systematic review and metaanalysis of magnetic resonance imaging studies. *British Journal of Psychiatry* 188:510–518

Stetak, A., Horndli, F., Maricq, A.V., van den Heuvel, S., Hajna, I. A. (2009). Neuron-specific regulation of associative learning and memory by MAGI-1 in *C. elegans*. *PLoS One* 4:e6019

Stevenson, B. (1998). The tight junction: Morphology to molecules. *Annu Rev Cell Dev Biol* 14:89-109

Stokes, P.R., Shotbolt, P. Mehta, M. A., Turkheimer, E, Benecke, A. Copeland, C. Turkheimer, F. E., Lingford-Hughes, A. R., Howes, O. D. (2013). Dopamine Function: an [18F]-DOPA PET Study. *Neuropsychopharmacology* 38(3):485–491

Sudol, M., Bork, P., Einbond, A., Kastury, K., Druck, T., Negrini, M., Huebner, K., Lehmann, D. (1995). Characterization of the mammalian YAP (Yes-associated protein) gene and its role in defining a novel protein module, the WW domain. *J Biol Chem* 270:14733-14741

Sudol, M. (1996). Structure and function of the WW domain. *Prog Biophys Mol Biol* 65:113-132

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

Sullivan, P.F., Lin, D., Tzeng, J.Y., van den Oord, E., Perkins, D., Stroup, T.S., Wagner, M., Lee, S., Wright, F.A., Zou, F., Liu, W., Downing, A.M., Lieberman, J., Close, S.L. (2008). Genomewide association for schizophrenia in the CATIE study: results of stage 1. *Mol Psychiatry* 13(6):570-584

Susser, E., Neugebauer, R., Hoek, H.W., Lin, S., Labovitz, D., Gorman, J.M. (1996). Schizophrenia after prenatal famine. Further evidence. *Arch Gen Psychiatry* 53:25–31

Sweatt, J. D. (2004). Hippocampal function in cognition. *Psychopharmacology (Berl)* 174(1): 99-110

Tandon, R., Keshavan, M., Nashrallah, H. (2008). Schizophrenia, just the facts: What we

7 Literaturverzeichnis

know in 2008. 2. Epidemiology and etiology

Thibaut F. (2006). Schizophrenia: An example of complex genetic disease. *World J Biol Psychiatry* 7:194–197

Thompson, J. L., N. Urban, M. Slifstein, X. Xu, L. S. Kegeles, R. R. Girgis, Y. Beckerman, J. M. Harkavy-Friedman, R. Gil and A. Abi-Dargham (2013). Striatal Dopamine Release in Schizophrenia Comorbid with Substance Dependence. *Molecular psychiatry* 18(8):909-915

Tienari, P., Wynne, L.C., Moring, J., Läksy, K., Nieminen, P., Sorri, A., Lahti, I., Wahlberg, K.E., Naarala, M., Kurki-Suonio, K., Saarento, O., Koistinen, P., Tarvainen, T., Hakko, H., Miettunen, J. (2000). Finnish adoptive family study: sample selection and adoptee DSM-III-R diagnoses. *Acta Psychiatr Scand* 101(6):433-443

Torrey, E.F., Miller, J., Rawlings, R., Yolken, R.H. (1997). Seasonality of birth in schizophrenia and bipolar disorder: a review of the literature. *Schizophr Res* 28:1–38

Tsuang, M.T., Faraone, S.V. (1995). Genetic heterogeneity of schizophrenia. *Seishin Shinkeigaku Zasshi* 97(7):485-501

Tsundo, S., Sierralte, J., Sun, Y., Bodner, R., Suzuki, E., Becker, A., Socolich, M., Zuker, CS. (1997). A multivalent PDZ-domain protein assembles signaling Complexes in a G-protein-coupled cascade. *Nature* 388:243-249

Tsukita, S., Furuse M., Itoh, M. (1999). Structural and signalling molecules come together at tight junctions. *Curr Opin Cell Biol* 11:628-633

Tuulio-Henriksson, A., Haukka, J., Partonen, T., Varilo, T., Paunio, T., Ekelund, J., Cannon, T.D., Meyer, J.M., Lönqvist, J. (2002). Heritability and number of quantitative trait loci of neurocognitive functions in families with schizophrenia. *Am J Med Genet* 8;114(5):483-490

van Erp, T.G., Therman, S., Pirkola, T., Tuulio-Henriksson, A., Glahn, D.C., Bachman, P., Huttunen, M.O., Lönqvist, J., Hietanen, M., Kaprio, J., Koskenvuo, M., Cannon, T.D. (2008). Verbal recall and recognition in twins discordant for schizophrenia. *Psychiatry Res* 159(3): 271-280

van Os, J., Krabbendam, L., Myin-Germeys, I., Delespaul, P. (2005). The schizophrenia envirome. *Current Opinion in Psychiatry* 18:141–145

7 Literaturverzeichnis

van Rossum, J.M. (1966). The significance of dopamine-receptor blockade for the mechanism of action of neuroleptic drugs. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie* 160:492–494

Vita, A., De Peri, L., Silenzi, C., Dieci, M. (2006). Brain morphology in first episode schizophrenia: a meta-analysis of quantitative magnetic resonance imaging studies. *Schizophrenia Research* 82:75–88

Walsh, T., McClellan, J.M., McCarthy, S.E., Addington, A.M., Pierce, S.B., Cooper, G.M., Nord, A.S., Kusenda, M., Malhotra, D., Bhandari, A., Stray, S.M., Rippey, C.F., Roccanova, P., Makarov, V., Lakshmi, B., Findling, R.L., Sikich, L., Stromberg, T., Merriman, B., Gogtay, N., Butler, P., Eckstrand, K., Noory, L., Gochman, P., Long, R., Chen, Z., Davis, S., Baker, C., Eichler, E.E., Meltzer, P.S., Nelson, S.F., Singleton, A.B., Lee, M.K., Rapoport, J.L., King, M.C., Sebat, J. (2008). Rare structural variants disrupt multiple genes in neurodevelopmental pathways in schizophrenia. *Science* 320:539–543

Weltgesundheitsorganisation: Internationale Klassifikation psychischer Störungen. ICD-10 Kapitel V (F). Klinisch-diagnostische Leitlinien. 5., durchgesehene und ergänzte Auflage (2005). Bern: Huber

Wittchen, H. U., Zaudig, M. und T., F. (1997) *Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV*. Göttingen: Hogrefe, Verlag für Psychologie.

Wohl, M., Gorwood, P. (2007). Paternal ages below or above 35 years old are associated with a different risk of schizophrenia in the offspring. *Eur Psychiatry* 22:22–26

Wong, A.H., Gottesman, I.I., Petronis, A. (2005). Phenotypic differences in genetically identical organisms: the epigenetic perspective: *Hum Mol Genet* 14(1):11-18

Woodruff, P.W., McManus, I.C., David, A.S. (1995). Meta-analysis of corpus callosum size in schizophrenia. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 58:457–461

Wright, I.C., Rabe-Hesketh, S., Woodruff, P.W., David, A.S., Murray, R.M., Bullmore, E.T. (2000). Meta-analysis of regional brain volumes in schizophrenia. *The American Journal of Psychiatry* 157:16–25

7 Literaturverzeichnis

Wüst, S., de Geus, E. (2011). Bedeutung der Genetik für Psychoneuroendokrinologie und Psychoimmunologie. *Psychoendokrinologie und Psychoimmunologie*. Editorial, Berlin, Heidelberg, Springer:163-185

Zakzanis, K.K., Hansen, K.T. (1998). Dopamine D2 densities and the schizophrenic brain. *Schizophrenia Research* 32:201–206

Zerba, K.E., Ferrell, R.E., Sing, C.F. (2000). Complex adaptive systems and human health: the influence of common genotypes of the apolipoprotein E (ApoE) gene polymorphism and age on the relational order within a field of lipid metabolism traits. *Hum Genet* 107:466–475

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

8 Abkürzungsverzeichnis

8 Abkürzungsverzeichnis

AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
ATP	Adenosintriphosphat
AoO	Age of Onset
CNV	Copy number variation
df	Degrees of freedom
DNA	Desoxyribonucleicacid
dNTP	Desoxynucleotidtriphosphat
DSM IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Version IV
ERBB4	Rezeptor Tyrosin-protein Kinase erbB-4
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
FHAM	Family History Assessment Module
GABA	Gamma Amino butyric Acid
GDP	Guanindiphosphat
GMP	Guaninmonophosphat
GUK	Guanylkinase
GWA	Genomweite Assoziations Studien
HWE	Hardy-Weinberg-Equilibrium
ICD-10	International Statistical Classification and related Health Problems, Version 10
iPLEX	Increased Plexing Efficiency and Flexibility for Mass ARRAY
LEBI	Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar
mM	Millimol
MAGI	MAGUK with inverted orientation
MAGUK	Membrane-associated guanylate kinase
MHC	Major histocompatibility complex
MALDI-TOF	Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization - Time of Flight
MRT	Magnetresonanztomographie
Ng	Nanogramm
nm	Nanometer
NMDA	N-Methyl-D-aspartic acid
NRG1	Neuregulin 1
OR	Odds ratio
PANSS	Positive and Negative Syndrome Scale
PCR	Polymerase Chain Reaction
PDZ	PSD95/Disc Large ZO-1
PET	Positronen Emissions Tomographie
Rpm	Umdrehungen pro Minute
SAP	Shrimp Alkaline Phosphatase
SH3	Src-homology 3
SKID I + II	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV Achse II
WHO	World Health Organization
WMS-R	Wechsler Memory Scale – Revidierte Fassung
WW-Domäne	Protein Domäne, die zwei konservierte Tryptophanreste enthält
X ²	Chi-Quadrat
ZNS	Zentrales Nervensystem

9 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildungen

Abbildung 1: Verteilung der Loci mit vermindertem Volumen der grauen Substanz bei chronischer Schizophrenie (Shepherd et al., 2012)	9
Abbildung 2: Risiko für Angehörige schizophrener Patienten selbst an Schizophrenie zu erkranken (Gottesman und Erlenmeyer-Kimling, 2001).....	11
Abbildung 3: Mehrspeichermodell (Atkinson und Shiffrin, 1968)	20
Abbildung 4: Arbeitsgedächtnismodell (Baddeley, 1968)	20
Abbildung 5: MAGI-1 CNVs <100kb, die in der Studie von Karlsson et al., 2012 identifiziert wurden.	33
Abbildung 6: DNA Extraktion gemäß der Anleitung des QiaAmp DNA Blood Midi/MaxiKit Handbook (Qiagen 2005)	42
Abbildung 7: Ergebnisse der Kategorie verzögerte visuelle Wiedergabe in der WMS-R für die unterschiedlichen Genotypen des SNPs rs9880851	52
Abbildung 8: Ergebnisse der Kategorie verzögerte verbale Wiedergabe in der WMS-R für die unterschiedlichen Genotypen des SNPs rs2868865	54
Abbildung 9: Ergebnisse der Kategorie unmittelbare verbale Wiedergabe in der WMS-R für die unterschiedlichen Allele des SNPs rs2868865	55
Abbildung 10: Ergebnisse der Kategorie Aufmerksamkeits-/Blockspanne in der WMS-R für die unterschiedlichen Allele des SNPs rs2868865	55
Abbildung 11: Ergebnisse der Kategorie verzögerte verbale Wiedergabe in der WMS-R für die unterschiedlichen Allele des SNPs rs286886	55

Tabellen

Tabelle 1: Die MAGI-1-Isoformen (Uniprot 2012)	28
Tabelle 2: Die MAGI-2 Isoformen (Uniprot 2012)	30
Tabelle 3: Die MAGI-3 Isoformen (Uniprot 2012)	30
Tabelle 4: Alters-, Geschlechtsverteilung und Bildungsstand der Stichprobe	35
Tabelle 5: Verbrauchsmaterialien, Puffer, und Reagenzien für die Konzentrationseinstellung	43
Tabelle 6: Position, Volumina und Konzentration der DNA Verdünnungsreihe	44
Tabelle 7: Primersequenzen	46
Tabelle 8: Reagenzien der konventionellen PCR	46
Tabelle 9: Reagenzien für die Dephosporlierung der Nukleotide	47

9 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Tabelle 10: Reagenzien für die iPLEX- Reaktion	47
Tabelle 11: Darstellung der Genotypenverteilung des Polymorphismus rs9880851	49
Tabelle 12: Darstellung der Allelverteilung des Polymorphismus rs9880851.....	49
Tabelle 13: Darstellung der Genotypenverteilung des Polymorphismus rs2868865.....	50
Tabelle 14: Darstellung der Allelverteilung des Polymorphismus rs2868865.....	50
Tabelle 15: Darstellung der Genotypenverteilung des Polymorphismus rs1230661.....	50
Tabelle 16: Darstellung der Allelverteilung des Polymorphismus rs1230661.....	51
Tabelle 17: Darstellung der Zusammenhänge der einzelnen Indizes des WMS-R und der Genotypen des Markers rs9880851.....	52
Tabelle 18: Darstellung der Zusammenhänge der einzelnen Indizes des WMS-R und der Allele des Markers rs9880851	53
Tabelle 19: Darstellung der Zusammenhänge der einzelnen Indizes des WMS-R und der Genotypen des Markers rs1230661.....	53
Tabelle 20: Darstellung der Zusammenhänge der einzelnen Indizes des WMS-R und der Allele des Markers rs2868865	54
Tabelle 21: Darstellung der Zusammenhänge der einzelnen Indizes des WMS-R und der Genotypen des Markers rs1230661.....	56
Tabelle 22: Darstellung der Zusammenhänge der einzelnen Indizes des WMS-R und der Allele des Markers rs1230661	57
Tabelle 23: Hapmap-Frequenz des MAGI-1 SNPs rs9880851	59
Tabelle 24: Hapmap-Frequenz des MAGI-2 SNPs rs2868865	60
Tabelle 25: Hapmap-Frequenz des MAGI-3 SNPs rs1230661	60
Tabelle 26: Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse der vorliegenden Studie	63

10 Danksagung

10 Danksagung

Mein Dank gilt dem ehemaligen Leiter der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität München, Herrn Prof. Dr. med. H.-J. Möller, für die Möglichkeit diese Dissertation verfassen zu dürfen.

Ich möchte Herrn Prof. Dr. med. Dan Rujescu für die Möglichkeit danken, als Doktorandin in seiner Arbeitsgruppe für Molekulare und Klinische Neuobiologie promovieren zu dürfen. Weiterhin gilt mein Dank Fr. PD Dr. Ina Giegling für Ihre Hilfe und Betreuung bei der schriftlichen Umsetzung.

Für ihr Engagement, das Heranführen an die Thematik während der Studiendurchführung, die zuverlässige Betreuung und das vielfache Korrekturlesen der schriftlichen Umsetzung möchte ich mich herzlich bei Frau Dr. rer. biol. hum. Annette Hartmann, Frau Dr. rer. biol. hum. Heike Konnerth und Fr. Dr. rer. biol. hum. Marion Friedl bedanken.

Außerdem gilt mein Dank allen weiteren Mitarbeitern und Doktoranden der Arbeitsgruppe, sowie den zahlreichen Studienteilnehmern ohne deren Unterstützung und Zusammenarbeit die Entstehung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Abschließend möchte ich mich bei meiner Familie, insbesondere meinen Eltern und meinen Freunden bedanken, deren Motivation, Unterstützung und Verständnis die Entstehung dieser Dissertation begleitet haben.

11 Lebenslauf

11 Lebenslauf

Eidesstattliche Erklärung

Friederike Berlinghoff, geboren am 16.03.1987 in Berlin.

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Titel „Der Zusammenhang zwischen den Membrane-associated Guanylatkinase Inverted (MAGI) -1, -2 und -3 Genen und Schizophrenie sowie kognitiven Leistungen“ selbständig und ohne unzulässige fremde Hilfe angefertigt und verfasst habe, dass alle Hilfsmittel und sonstigen Hilfen angegeben und dass alle Stellen, die ich wörtlich oder dem Sinne nach aus anderen Veröffentlichungen entnommen habe, kenntlich gemacht worden sind, dass die Dissertation in der vorgelegten oder einer ähnlichen Fassung noch nicht zu einem früheren Zeitpunkt an der Ludwig-Maximilians-Universität München oder einer anderen in- oder ausländischen Hochschule als Dissertation eingereicht worden ist.

Berlin, 27.07.2019

Friederike Berlinghoff