

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

Direktor: Herr Prof. Dr. med. Peter Falkai

**Das Gen CHRNA7 und die Erkrankung der Schizophrenie -
ein pathogenetischer Zusammenhang?**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Humanmedizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Marlene Craffonara

aus
München

2020

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dan Rujescu

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Thomas G. Schulze

Mitbetreuerin: PD Dr. rer. biol. hum. Ina Giegling

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

Tag der mündlichen Prüfung: 19.11.2020

Eidesstattliche Versicherung

von

Marlene Craffonara

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

**Das Gen CHRNA7 und die Erkrankung der Schizophrenie -
ein pathogenetischer Zusammenhang?**

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

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

Kaufbeuren, den 31.10.2019, Marlene Craffonara

Inhaltsverzeichnis

1 Zusammenfassung	1
2 Einleitung	3
2.1 Das Krankheitsbild der Schizophrenie	3
2.1.1 Medizinhistorische Entwicklung.....	3
2.1.2 Epidemiologie.....	4
2.1.3 Symptomatik.....	4
2.1.4 Diagnostik.....	5
2.1.5 Krankheitsverlauf.....	7
2.1.6 Sozialmedizinische Aspekte.....	7
2.1.7 Ätiopathologie.....	8
2.2 Genetik der Schizophrenie	9
2.2.1 Gen- und Umweltfaktoren.....	9
2.2.2 Genetische Heterogenität.....	11
2.2.3 Endophänotypen.....	11
2.2.4 Kandidatengene der Schizophrenie.....	12
2.2.5 Kopplungsstudien.....	15
2.2.6 Assoziationsstudien.....	16
2.3 Das Gen CHRNA7 und dessen Genprodukt	17
2.3.1 Das Gen CHRNA7.....	17
2.3.2 Nikotinische Acetylcholinrezeptoren.....	19
2.3.3 Aufbau des nikotinischen Acetylcholinrezeptors $\alpha 7$	21
2.3.4 Verteilung und Wirkung des nikotinischen ACh-Rezeptors $\alpha 7$ im Gehirn.....	22
2.3.5 Die Rolle von CHRNA7 bei der Erkrankung der Schizophrenie.....	23
3 Fragestellung	35
4 Material und Methoden	36
4.1 Klinisches Material	36
4.1.1 Standardisierte Anamnese.....	36
4.1.2 SKID.....	36
4.1.3 PANSS.....	37
4.2 Klinische Methoden	38

INHALTSVERZEICHNIS

4.2.1 Studiendesign.....	38
4.2.2 Studienteilnehmer.....	38
4.3 Laborverfahren.....	41
4.3.1 DNA-Isolierung.....	41
4.3.2 DNA-Konzentrationsbestimmung.....	42
4.3.3 Genotypisierung.....	43
4.4 Statistische Auswertung.....	49
5 Ergebnisse	50
5.1 Analyse des Markers rs11071503 im Gen CHRNA7.....	50
5.1.1 Allelverteilung.....	50
5.1.2 Genotypverteilung.....	51
5.2 Analyse des Markers rs6494211 im Gen CHRNA7.....	52
5.2.1 Allelverteilung.....	52
5.2.2 Genotypverteilung.....	52
5.3 Analyse des Markers rs6494212 im Gen CHRNA7.....	53
5.3.1 Allelverteilung.....	53
5.3.2 Genotypverteilung.....	54
5.4 Analyse des Markers rs7175581 im Gen CHRNA7.....	55
5.4.1 Allelverteilung.....	55
5.4.2 Genotypverteilung.....	56
5.4.3 A-Allelträger.....	57
5.5 Analyse des Markers rs12440480 im Gen CHRNA7.....	57
5.5.1 Allelverteilung.....	57
5.5.2 Genotypverteilung.....	58
5.6 Zusammenfassung der Ergebnisse.....	59
6 Diskussion	60
7 Abkürzungsverzeichnis	81
8 Literaturverzeichnis	84
9 Danksagung	108

1 Zusammenfassung

Die Schizophrenie stellt eine der schwerwiegendsten psychischen Erkrankungen des Menschen dar. Die Ätiologie der Schizophrenie ist noch weitgehend ungeklärt. Es wird von einer multifaktoriellen Ätiopathogenese ausgegangen, wobei der Anteil genetisch prädisponierender Faktoren bis zu 80% des Erkrankungsrisikos betragen kann.

Ein als Kandidatengen der Schizophrenie diskutiertes Gen stellt CHRNA7 (Cholinergic Receptor Nicotinic Alpha 7 Subunit) dar. Es befindet sich auf Chromosom 15q13.3-14 und kodiert für den nikotinischen Acetylcholinrezeptor $\alpha 7$ (nAChR $\alpha 7$). Genetische Studien zu Markern im Genbereich CHRNA7 erbrachten signifikante Kopplungen und Assoziationen mit der Schizophrenie. Auch biochemische, pharmakologische und histologische Studien deuten auf einen Zusammenhang des Rezeptors mit der Erkrankung hin. Es finden sich jedoch auch widersprüchliche Ergebnisse, so dass bis zum jetzigen Zeitpunkt keine endgültige Aussage über das Gen und seine Rolle bei der Schizophrenie getroffen werden kann.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, genetische Marker im Genbereich von CHRNA7 auf eine Assoziation mit der Schizophrenie hin zu untersuchen. Als Marker dienten fünf SNPs (Einzelnukleotidpolymorphismen) aus Intron 1 und 2 von CHRNA7: rs11071503, rs6494211, rs6494212, rs7175581 und rs12440480. Diese wurden bei 508 Patienten und 617 Kontrollen kaukasischer Herkunft genotypisiert und auf statistisch signifikante Unterschiede überprüft. Die Genotypverteilung des Markers rs7175581 wies eine statistisch signifikante Assoziation zur Schizophrenie auf ($p=0,019$). In der Allelverteilung ergaben sich keine positiven Assoziationen mit der Erkrankung. Die anderen vier Marker zeigten weder eine Signifikanz in der Genotyp- noch in der Allelverteilung.

Die vorliegende Studie unterstützt die These einer genetischen Beteiligung von CHRNA7 bei der Erkrankung Schizophrenie, muss jedoch aufgrund der negativen Ergebnisse einiger Referenzstudien und aktueller genomweiter Assoziationsstudien (GWAS) und der im Vergleich dazu sehr geringen Probandenzahl mit großer Vorsicht betrachtet werden.

Mehrere Faktoren kommen als Erklärung für die inkonsistenten Ergebnisse der Referenzstudien in Frage. Die Heterogenität der klinischen Diagnose Schizophrenie stellt eine mögliche Ursache dar. In einigen Studien wurde eine ethnisch inhomogene Population untersucht oder unklar definierte Ein- und Ausschlusskriterien angewandt. Eine zu geringe Studiengröße sowie eine ungenügende Markerdichte könnten weitere Faktoren für fehlerhafte

ZUSAMMENFASSUNG

Ergebnisse sein. Außerdem stellt die niedrige Penetranz der Einzelgene und Unterschiede im Studiendesign (Kopplungs- bzw. Assoziationsstudien) eine zusätzliche Ungenauigkeit bei der Auswertung der verschiedenen Studienergebnisse dar.

Weitere genetische Studien sind erforderlich, um CHRNA7 in seiner Rolle als Kandidatengen der Schizophrenie zu bestätigen.

2 Einleitung

Schizophrenie ist eine der schwerwiegendsten psychischen Erkrankungen des Menschen. Nach Kurt Schneider, einem bedeutenden deutschen Psychiater, ist sie charakterisiert durch „Störungen, die Empfinden und Wahrnehmen, Vorstellungen und Denken, Fühlen und Werten, Streben und Wollen sowie das Ich-Erlebnis betreffen“ (Brunnhuber 2004).

Schizophrenie zählt weltweit zu den zehn am meisten die Lebensqualität beeinträchtigenden Erkrankungen (Porcelli et al. 2018). Aufgrund der verminderten Arbeitsfähigkeit betroffener Personen und einer langen Hospitalisierungsdauer gilt die Schizophrenie laut WHO als eine der teuersten Erkrankungen weltweit (Ripke et al. 2014).

Die Ursache der Schizophrenie ist noch weitgehend unbekannt. Die derzeitige Forschung gründet sich auf der Annahme einer multifaktoriellen Genese. Der Ausbruch der Erkrankung wird hierbei durch das Vulnerabilitäts-Stress-Modell erklärt, bei der sowohl genetische als auch entwicklungsbedingte Faktoren und Umwelteinflüsse eine Rolle spielen (Ripke et al. 2014, Thibaut et al. 2015). Eine kausale Therapie steht bisher nicht zur Verfügung.

2.1 Das Krankheitsbild der Schizophrenie

2.1.1 Medizinhistorische Entwicklung

Die systematische, wissenschaftliche Erforschung psychischer Erkrankungen begann Anfang des 19. Jahrhunderts. Das Krankheitsbild der Schizophrenie wurde erstmals 1893 von dem deutschen Psychiater Emil Kraepelin als abgegrenzte psychische Störung unter dem Namen „Dementia praecox“ beschrieben (Ebert 2005). Der Begriff bezog sich auf die schweren kognitiven Einbußen mit konstanter Verschlechterung im Sinne eines dementiellen Abbaus im Verlauf der Erkrankung und auf das junge Erstmanifestationsalter (Möller et al. 2004).

Während Kraepelin stärker den Verlauf der Erkrankung hervorhob, betonte der Schweizer Psychiater Eugen Bleuler die im Querschnitt erfassbare Symptomatik. Er unterschied Grundsymptome (Assoziationslockerung, Affekt- und Antriebsstörungen) von akzessorischen Symptomen (Wahn, Halluzination, katatone Störung), wobei für ihn die Grundsymptome die

charakteristischen Symptome der Schizophrenie darstellten. Entgegen der Bezeichnung „Dementia praecox“ beobachtete er Fälle mit spätem Beginn und ohne Progredienz und führte für das Krankheitsbild den Begriff „Schizophrenie“ ein. Der Begriff Schizophrenie (altgriechisch für „gespaltenes Bewusstsein“) sollte das Nebeneinander von gesundem und kranken Verhalten im Sinne einer fehlenden geistigen Einheit ausdrücken (Ebert 2005).

Kurt Schneider, ein deutscher Psychiater, grenzte 1938 die Symptome ersten Ranges (dialogische und kommentierende Stimmen, Wahnwahrnehmung, Ich-Störungen, leibliche Beeinflussungserlebnisse) von Symptomen zweiten Ranges (Zönästhesien, Wahneinfällen, optische, olfaktorische oder gustatorische Halluzinationen) ab (Ebert 2005). Die von Kraepelin, Bleuler und Schneider beschriebenen Symptome und Kategorien bilden bis heute die Grundlage für die Klassifikation der Schizophrenie.

2.1.2 Epidemiologie

Symptome einer Schizophrenie treten in allen bisher untersuchten Ländern und Kulturen mit einer Lebenszeitprävalenz von 0,5-1 % etwa gleich häufig auf (Giegling et al. 2017). Die Inzidenz liegt bei 0,05% (Ripke et al. 2014). Männer zeigen eine leicht erhöhte Vulnerabilität für die Erkrankung. Erstmanifestationen wurden vom 1. bis zum 7. Lebensjahrzehnt beobachtet. Das Erstmanifestationsalter liegt bei Männern durchschnittlich im Alter von 21 und bei Frauen im Alter von 26 Jahren. 90% aller schizophrenen Männer erkrankten vor dem 30. Lebensjahr, jedoch nur 66% der schizophrenen Frauen. Zusätzlich zeigt sich bei diesen eine zweite Häufung erstmaliger Krankheitsausbrüche um das 49. Lebensjahr (Häfner 1991). Grund dafür ist möglicherweise ein hemmender Effekt von Östrogen in Bezug auf die Genexpression und die Funktion der Neurotransmitter (Häfner 2003).

2.1.3 Symptomatik

Die Symptomatik der Schizophrenie ist inter- und intraindividuell sehr variabel und abhängig vom Subtyp und dem Stadium der Erkrankung. Während in der akuten Krankheitsphase

meistens Positivsymptome (produktiv-psychotisch) vorhanden sind, ist die chronische Krankheitsphase vor allem von Negativsymptomen geprägt.

Folgende typische Symptome können bei einer Schizophrenie auftreten:

- *Inhaltliche Denkstörungen*: Wahnwahrnehmungen, Wahnstimmung, Wahneinfälle (z.B. Verfolgungs-, Vergiftungs-, Größenwahn)
- *Formale Denkstörungen*: Gedankensperrung, Gedankenabreißen, umständliches Denken, Neologismen, Denkzerfahrenheit
- *Halluzinationen*: dialogisierende, kommentierende und imperative Stimmen, optische Halluzinationen, Leib-, Geruchs- oder Geschmackshalluzinationen
- *Ich-Störungen*: Störungen des Denkens, Wollens und Handelns; Gedankeneingebungen, Gedankenentzug, Gedankenausbreitung, Gedankenlautwerden, Willensbeeinflussung
- *Störungen der Affektivität*: Anhedonie, Affektverflachung, Affektlabilität, Angst, Ambivalenz, parathymer Affekt, läppischer Affekt (v.a. bei hebephrenem Verlauf)
- *Störungen der Psychomotorik und des Antriebs*: Antriebslosigkeit oder motorische Unruhe, manirierte, bizarre Bewegungen, Sprach- oder Bewegungsstereotypien, Rigidität, Mutismus, Negativismus, Echopraxie und Echolalie

2.1.4 Diagnostik

2.1.4.1 Diagnosekriterien

Die Diagnose einer Schizophrenie gründet sich auf den psychopathologischen Befund, die Verlaufsbeobachtung und den Ausschluss einer anderen psychischen oder körperlichen Erkrankung. Es gibt keinen Parameter und kein psychopathologisches Symptom, das ausschließlich bei der Schizophrenie oder bei allen schizophrenen Erkrankten anzutreffen wäre (Schmitt et al. 2016). Zur Abgrenzung einzelner psychischer Krankheitsbilder voneinander existieren operationalisierte Klassifikationssysteme. Diese definieren durch explizite Vorgaben Ein- und Ausschluss-, sowie Zeitkriterien für die jeweilige Erkrankung. Die Rekrutierung der Teilnehmer für die vorliegende Studie erfolgte anhand des „Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders“ (4. Fassung) (DSM-IV) der *American*

Psychiatric Association (dt.: Saß et al. 1996) (Tabelle 1). Die aktuellste 5. Fassung des Buches war zum Zeitpunkt der Studiendurchführung noch nicht vorhanden.

Tabelle 1: Erforderliche Diagnosekriterien einer Schizophrenie nach DSM-IV (Saß et al. 1996)

<p>A. <i>Charakteristische Symptome</i>: mindestens 2 der folgenden, jedes bestehend für einen erheblichen Teil der Zeitspanne von 1 Monat:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Wahn 2. Halluzinationen 3. desorganisierte Sprache 4. grob desorganisiertes oder katatonisches Verhalten 5. negative Symptome <p><i>Nur eines der A-Symptome ist erforderlich, wenn ein bizarrer Wahn oder kommentierende und dialogische Stimmen vorhanden sind.</i></p>
<p>B. <i>Soziale/berufliche Einbuße</i>: seit Beginn der Störung mindestens ein Funktionsbereich des täglichen Lebens deutlich unter dem früheren Niveau</p>
<p>C. <i>Dauer</i>: mindestens 6 Monate mit 1 Monat florider Symptomatik und die restliche Zeit mit abgeschwächter oder negativer Symptomatik</p>
<p>D. <i>Ausschluss von schizoaffectiver oder affectiver Störung</i></p>
<p>E. <i>Ausschluss von Substanzeinfluss/ medizinischem Krankheitsfaktor</i></p>
<p>F. <i>Beziehung zu einer tiefgreifenden Entwicklungsstörung</i>: bei vordiagnostizierter autistischer Störung darf eine Schizophrenie nur diagnostiziert werden, wenn mindestens 1 Monat ausgeprägter Wahn oder Halluzinationen vorhanden sind.</p>

2.1.4.2 Subtypisierung

Anhand der vorherrschenden Symptome unterscheidet das DSM-IV fünf Subtypen der Schizophrenie: *paranoider Typus* (Wahnphänomene, Halluzinationen), *desorganisierter Typus* (desorganisierte Sprache und Verhalten, verflachter, inadäquater Affekt), *katatoner Typus* (psychomotorische Hyper- oder Hypokinesen, Negativismus, manirierte Bewegungen, Echolalie, Echopraxie), *undifferenzierter Typus* (A-Kriterien ohne Kriterien der anderen Subtypen), *residualer Typus* (keine floride Psychose, aber Hinweise auf Schizophrenie in

Form von abgeschwächten A-Kriterien oder Negativsymptomen). Die vorherrschende Symptomatik kann im Verlauf der Erkrankung wechseln.

2.1.5 Krankheitsverlauf

Der Krankheitsverlauf der Schizophrenie gliedert sich in die Prodromalphase, die aktive Krankheitsphase und die Residualphase. Die Prodromalphase kann der Akuterkrankung für einige Wochen bis zu ca. 6 Jahren vorausgehen und äußert sich vor allem in unspezifischen Negativsymptomen wie depressiver Verstimmung, erhöhter Reizbarkeit, Interessensverlust und Leistungsabfall (Häfner et al. 1995).

Schizophrene Psychosen können selten monophasisch, in den meisten Fällen aber rezidivierend mit unvollständiger Remission oder chronisch verlaufen. Eine einzige Episode tritt nur bei etwa 11,5% der Erkrankten auf (Marneros et al. 1991).

Die Residualphase äußert sich in Negativsymptomen, kognitiven Störungen und einzelnen abgeschwächten produktiven Symptomen (Möller et al. 2017). Davon abgegrenzt wird die postschizophrene Depression, bei der depressive Symptome im Vordergrund stehen.

Schizophreniekranken Patienten zeigen im Vergleich zur Normalbevölkerung eine 2,5fach höhere Mortalität (Saha 2007). Ursächlich ist vor allem eine Suizidrate von 4-13%, wobei 25-50% aller Schizophrenen mindestens einen Suizidversuch im Lauf ihres Lebens durchführen (Meltzer 2005). Je länger die erste Psychose unbehandelt bleibt, desto öfter entwickelt sich ein ungünstiger Verlauf (Bottlender et al. 2003, Haan et al. 2003). Seit der Einführung der Psychopharmaka hat sich die Individualprognose deutlich verbessert.

2.1.6 Sozialmedizinische Aspekte

Die Schizophrenie zählt zu den zehn Krankheiten mit der höchsten Anzahl der durch Behinderung verlorenen Lebensjahre, gemessen an dem Verlust von Lebensqualität und aufgrund verfrühter Sterblichkeit durch Suizid. Sie rangiert somit vor nicht-psychiatrischen Erkrankungen wie Krebs- oder Herzerkrankungen (Porcelli et al. 2018).

Symptomchronifizierung, soziale Behinderung und Stigmatisierung sind häufige, schwere Folgen von Schizophrenie (Gaebel und Wölwer 2010).

Die für die medizinische und rehabilitative Versorgung schizophrener Kranker anfallenden direkten Kosten sowie insbesondere die bis zu fünffach höheren indirekten Kosten, die durch den Verlust an Produktivität (z.B. durch Erwerbsunfähigkeit, Frühberentung, vorzeitige Mortalität) verursacht werden, sind mit denen somatischer Volkskrankheiten wie Diabetes mellitus oder Herz-Kreislaufkrankungen vergleichbar. Die Erkrankung gilt laut WHO somit als eine der teuersten Erkrankungen weltweit. Schätzungen zufolge werden ca. 2% bis 4% der Gesamtkosten für Gesundheitsleistungen in Deutschland für an Schizophrenie Erkrankte aufgewendet (Gaebel und Wölwer 2010).

2.1.7 Ätiopathologie

Die Ätiologie der Schizophrenie ist bis heute weitgehend ungeklärt (Thibaut et al. 2015). Neuropathologische Befunde zeigen ein erweitertes Ventrikelsystem bei ca. 30% der Patienten (Steen et al. 2006, Hirayasu 2007) sowie eine Volumenverminderung vorwiegend des Frontal- und Temporallappens und des Amygdala-Hippocampus-Komplexes bei einem Großteil schizophrener Patienten (Wright et al. 2000, Schmitt et al. 2016). Im subzellulären Bereich wurden Verluste von Synapsen, Axonen und Dendriten vor allem bei inhibitorischen Interneuronen entdeckt (Bogerts 2002, Möller et al. 2017). Dies betrifft vor allem den Gyrus cinguli (Benes 1995), den frontalen Kortex und den Hippocampus (Glantz et al. 2000, Sawada et al. 2005). Bezüglich der Neurotransmitter wurde in PET- und SPECT-Untersuchungen eine verminderte dopaminerge Aktivität im Frontalhirn und eine Überfunktion im striatalen und limbischen System beschrieben. Des Weiteren fanden sich in Magnetresonanztomographie-Studien erhöhte Glutamatspiegel im präfrontalen, parietalen und occipitalen Kortex, sowie im Thalamus und den Basalganglien. GABA war im präfrontalen Kortex schizophrener Patienten vermindert nachweisbar (Schmitt et al. 2016). Die genannten anatomischen, histologischen und biochemischen Veränderungen sind nur bei einem Teil der Patienten nachweisbar und somit nicht pathognomonisch verwertbar (Schmitt et al. 2016).

Das derzeitige Wissen über die Ätiopathogenese wird durch das Konzept des Vulnerabilitäts-Stress-Modells am besten abgebildet (Ripke et al. 2014). Genetische Faktoren führen zu

Hirnentwicklungsstörungen, synaptischen Fehlverknüpfungen, Rezeptorstörungen und pathologischen Neurotransmitterkonzentrationen, die eine Anfälligkeit für die Erkrankung darstellen. Diese Prädisposition kann im Laufe des Lebens durch später aktivierte Gene verstärkt werden. Die genetischen Faktoren werden durch exogene Einflüsse (Stressoren) wie Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen, Virusinfektionen, Drogenmissbrauch, belastende Lebensereignisse oder „high expressed emotion“-Familien verstärkt (Tarrier 1994, (Nakane 2007)). Auch das männliche Geschlecht, ein fortgeschrittenes Alter des Vaters bei Geburt sowie Hormonveränderungen werden als risikosteigernde Faktoren angesehen (Lang et al. 2007, Thibaut et al. 2015). Zur Krankheitsmanifestation kommt es, wenn das bereits vorgeschädigte Gehirn weitere Belastungen nicht mehr zu kompensieren vermag. Für die genannten neuropathologischen und biochemischen Veränderungen des Gehirns werden verschiedene genetische Defekte postuliert.

2.2 Genetik der Schizophrenie

2.2.1 Gen- und Umweltfaktoren

Die familiäre Häufung der Schizophrenie weist deutlich auf eine Beteiligung genetischer Faktoren bei der Krankheitsentstehung hin. Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien konnten zeigen, dass das Erkrankungsrisiko mit der genetischen Verwandtschaft zu einer erkrankten Person steigt. Der erblich bedingte Anteil des Erkrankungsrisikos wird derzeit auf 60-80% geschätzt (Thibaut et al. 2015). Familiäre Umgebungsfaktoren scheinen demgegenüber von untergeordneter Relevanz, wie Adoptionsstudien nachwiesen (Ingraham et al. 2000, Shih et al. 2004).

Im Verwandtenkreis schizophrenekranker Menschen finden sich gehäuft Personen mit einer schizoiden bzw. schizotypischen Persönlichkeitsstörung (Giegling et al. 2017). Diese Tatsache sowie die mit dem Verwandtschaftsgrad zu einer erkrankten Person ansteigende familiäre Häufung der Schizophrenie spricht gegen eine monogene und für eine polygene Vererbung mit mehreren interagierenden Genkonstellationen, von denen jede nur einen kleinen Teil zum Erkrankungsrisiko beiträgt. Durch Addition oder Potenzierung der Wirkung vieler Loci in einem oder unterschiedlichen Genen wird das Krankheitsrisiko erhöht (Schmitt et al. 2016). Da die Vererbung nicht den rezessiven oder dominanten Übertragungsregeln

nach G. Mendel folgt, wird sie als „komplex“ bezeichnet. Dabei liegen die krankheitsverursachenden Mutationen wahrscheinlich sowohl in kodierenden Bereichen des Genoms als auch an Spleiß-Stellen (regulieren das Zusammenfügen der Exons) oder in regulativen Regionen (steuern die Expression eines Gens, z.B. Promotor).

Zwillingsstudien untersuchen die Konkordanz zwischen monozygoten Zwillingen mit nahezu identischem Genom und dizygoten Zwillingen, die eine ca. 50%ige genetische Übereinstimmung zeigen. Die Heritabilität der Schizophrenie bei eineiigen Zwillingen beträgt 50 - 80 % und ist damit doppelt so hoch wie bei zweieiigen Zwillingen (Schmitt et al. 2016, Giegling et al. 2017). Dies unterstreicht die Relevanz genetischer Faktoren für das Auftreten der Schizophrenie. Die maximal 80%ige Konkordanzrate bei eineiigen Zwillingen spricht jedoch auch für den Einfluss zusätzlicher nicht-genetischer Faktoren.

Um genetische von umweltbedingten Faktoren zu trennen, sind Adoptionsstudien die am besten geeignete Methode. Früh adoptierte Kinder schizophrener leiblicher Eltern, die bei gesunden Adoptiveltern aufwachsen, zeigen dasselbe Erkrankungsrisiko wie Kinder betroffener Eltern ohne Adoption. Kinder nicht erkrankter leiblicher Eltern, die von einer erkrankten Person adoptiert werden, weisen keine erhöhte Erkrankungsrate gegenüber der Normalbevölkerung auf (Tienari et al. 2004, Giegling et al. 2017). Adoptions- wie Zwillingsstudien weisen somit eine genetische Teildetermination der Schizophrenie nach. Neben deutlichen genetischen Einflüssen spielen auch Umweltfaktoren eine entscheidende Rolle für den Ausbruch der Erkrankung, wie in einer finnischen Adoptionsstudie nachgewiesen werden konnte (Tienari et al. 2004). Diskutierte Umweltfaktoren sind Geburtskomplikationen, ein steigendes Alter des Vaters, Kannabiskonsum, äußere Stressfaktoren wie schwierige familiäre Verhältnisse, z.B. eine unsichere Familiensituation, ein wenig liebevoller zwischenmenschlicher Umgang, fehlende Anerkennung, hohes Konfliktpotential beziehungsweise emotionales Überengagement (sog. „high expressed emotion families“) oder das Aufwachsen in städtischer Umgebung (Owen et al. 2016, Giegling et al. 2017). Bei genetisch vorbelasteten Kindern kam es in der finnischen Studie von Tienari in Adoptivfamilien mit schwierigen familiären Verhältnissen signifikant häufiger zu einem Auftreten von Erkrankungen aus dem schizophrenen Formenkreis als bei Adoptivkindern aus intakten Adoptivfamilien.

2.2.2 Genetische Heterogenität

Aufgrund des äußerst variablen klinischen und pathophysiologisch-morphologischen Erscheinungsbildes ist von einer genetischen Heterogenität der Schizophrenie auszugehen. Bisher wurden keine Hauptgene für die Schizophrenie identifiziert. Es ist nicht bekannt, ob es eine bestimmte Anzahl obligater, prädisponierender Gene gibt und welches anteilige Risiko jeweils übertragen wird. Es wird von einer Vielzahl möglicher pathologischer Genkombinationen ausgegangen, die sich zwischen den erkrankten Personen und zwischen verschiedenen Ethnien unterscheiden (Lokus-Heterogenität). Dabei sind unterschiedliche Mutationen desselben Gens als Risikofaktoren denkbar (allelische Heterogenität) (Harrison et al. 2005, Thibaut et al. 2015). Moderatorogene können die Symptomatik der Erkrankung steuern, ohne selber eine risikosteigernde Wirkung auszuüben (Möller et al. 2017).

Die klassische Unterteilung der Schizophrenie in klinisch definierte Subtypen zeigt keine reproduzierbare familiäre oder genetische Homogenität (Kendler et al. 1993). Die Erkrankung der Schizophrenie tritt somit zwar gehäuft in Familien auf, nicht aber die jeweilige Unterform.

2.2.3 Endophänotypen

Die Diagnosekriterien von DSM-IV stellen eine Krankheitseinteilung nach klinischen Gesichtspunkten dar. Sie lassen keine Rückschlüsse auf zugrunde liegende genetische Faktoren zu. Auf der Suche nach Vulnerabilitätsindikatoren mit einem direkteren Bezug zu Geneffekten entstand das Konzept der Endophänotypen. Wesentliche Kriterien für diese Indikatoren waren der Nachweis der genetischen Verursachung dieser Normabweichung, das Vorliegen messbarer neurophysiologischer Defizite, die nicht nur bei Erkrankten, sondern auch bei nicht betroffenen Familienmitgliedern überzufällig häufig auftraten, sowie das zeitstabile Auftreten dieser Parameter. Diese Krankheitsindikatoren werden als intermediäre Phänotypen oder Endophänotypen bezeichnet (Schmitt et al. 2016). Es wird angenommen, dass Endophänotypen von einer kleineren Zahl von Genen und auf direktere Weise beeinflusst werden als die genetisch komplexe Erkrankung der Schizophrenie.

Gut bestätigte Endophänotypen der Schizophrenie sind:

- Sensorisches P50-*Gating*-Defizit (elektrophysiologisch messbare Bahnung eines akustischen Reizes (P50) nach einem Vorreiz) (Schmitt et al. 2016)
- Sakkadierte Augenfolgebewegungen bei der Beobachtung sich gleichmäßig bewegender Objekte (Thibaut et al. 2015)
- Störungen des Arbeitsgedächtnisses (Schmitt et al. 2016)
- Störungen des deklarativen bzw. episodischen Gedächtnisses (Cannon 2005)

Die genannten Normabweichungen finden sich mit überzufälliger Häufigkeit nicht nur bei Schizophrenen, sondern auch bei einem Teil ihrer gesunden Verwandten. Im Gegensatz zu fluktuierenden psychotischen Symptomen zeigen sie ein zeitstabiles Auftreten und gehen der Erkrankung zeitlich voraus (Thibaut et al. 2015).

2.2.4 Kandidatengene der Schizophrenie

Als Kandidaten- oder Suszeptibilitätsgene werden Gene bezeichnet, von denen ein Zusammenhang mit polygen verursachten Erkrankungen vermutet wird. Der Begriff grenzt sich ab von den kausalen Genen, die für eine monogene Störung verantwortlich sind.

Genetische Mutationen in Kandidatengenregionen könnten auf verschiedene Weisen das Erkrankungsrisiko für Schizophrenie modulieren. Befinden sie sich in einem kodierenden Bereich der DNA, so kann die Struktur eines Proteins verändert sein. In nicht-kodierenden Bereichen könnten sie regulatorischen Einfluss auf die Expression des Gens haben, indem sie die Transkriptions- und Translationsraten, das Spleißen oder die mRNA-Stabilität beeinflussen.

Das Auffinden krankheitsverursachender, chromosomaler Regionen gelingt entweder über genetische Rückschlüsse aufgrund der Pathophysiologie der Erkrankung (funktionelle Kandidatengene) oder orientiert sich an den Ergebnissen genetischer Kopplungs- und Assoziationsuntersuchungen (positionelle Kandidatengene). Hierfür sind genetische Marker notwendig. Als mögliche funktionelle Kandidatengene der Schizophrenie werden unter anderem folgende Gene diskutiert:

- RGS4 auf Chromosom 1q21-q22 (Mirnics et al. 2001, Chowdari 2002)
- DISC1 auf Chromosom 1q42 (Schmitt et al. 2016, Giegling et al. 2017)
- GRIA1 auf Chromosom 5q33 (Ripke et al. 2014)
- GRM3 auf Chromosom 7q21-q22 (Schmitt et al. 2016)
- NRG1 auf Chromosom 8p12-p21 (Schmitt et al. 2016, Giegling et al. 2017)
- PPP3CC auf Chromosom 8p21 (Yamada et al. 2007)
- CACNB2 auf Chromosom 10p12 (Ripke et al. 2014)
- DRD2 auf Chromosom 11q23.1 (Giegling et al. 2017)
- CACNA1C auf Chromosom 12p13.33 (Ripke et al. 2014)
- G72 auf Chromosom 13q32-q34 (Harrison et al. 2005)
- CHRNA7 auf Chromosom 15q13.3-14 (Luo et al. 2014, Bertelsen et al. 2015, Schmitt et al. 2016)
- GRIN2A auf Chromosom 16p13.2 (Ripke et al. 2014)
- COMT auf Chromosom 22q11 (Schmitt et al. 2016, Giegling et al. 2017)
- CACNA1I auf Chromosom 22q13.1 (Ripke et al. 2014)

Es wird vermutet, dass das Zusammenspiel unterschiedlicher Mutationen in einem oder mehreren dieser Gene für das genetische Risiko der Schizophrenie verantwortlich ist. Die Gene spielen eine Rolle bei der Neurogenese, der Zellmigration, der Bildung und dem Transport von Neurotransmittern sowie der Synapsenbildung und Plastizität des Gehirns.

2.2.4.1 Genetische Marker

Genetische Marker sind eindeutig identifizierbare DNA-Sequenzen, die in mindestens zwei Varianten in einer Population vorkommen. Die unterschiedlichen Ausprägungen treten jeweils zusammen mit einer bestimmten Form eines Gens (z.B. gesund oder mutiert) auf. Die Auswahl genetischer Marker erfolgt über den Kandidatengenansatz oder einen systematischen Genomscan. Beim Kandidatengenansatz werden Polymorphismen von Genen als Marker eingesetzt, die wahrscheinlich für die Pathophysiologie der Erkrankung relevant sind. Bei der Schizophrenie sind dies zum Beispiel Gene von Neurotransmittern oder deren Rezeptoren.

Der Genomscan hingegen deckt Polymorphismen im gesamten Genom auf. Angewandte Markertypen sind unter anderem Mikrosatellitenmarker, Copy Number Variants (CNVs) und Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs). Genomweite Kopplungsanalysen benötigen eine ausreichende Anzahl gleichmäßig über das Genom verteilter polymorpher Marker. Die Anzahl der Marker ist von der jeweiligen Informativität abhängig. Da Mikrosatelliten eine Abfolge von Nukleotiden darstellen, kann ein erfolgreicher Genomscan mit ca. 400 Mikrosatellitenmarkern durchgeführt werden. SNPs bestehen hingegen nur aus einem einzigen Nukleotid (2 Allele), so dass ca. 500.000-1.000.000 SNPs notwendig sind, um das gesamte Genom abzudecken. Um den geringeren Informationsgehalt auszugleichen, können benachbarte SNPs kombiniert ausgewertet (Haplotyp- und Multipoint-Analyse) (Hoffmann 2009). Um eine stabile Kosegregation (gemeinsame Vererbung) zwischen einer Störung und einem Gen über das gesamte Genom hinweg feststellen zu können, wird eine Markerdichte von 1 Marker/3kb empfohlen (Carlson et al. 2003). Auf der Suche nach aussagekräftigen Markern in einer vermuteten Kandidatenregion werden zuerst Marker untersucht, die sich über den gesamten suszeptiblen Genbereich verteilen. Diese vermitteln stichprobenartig einen Eindruck der Assoziationswahrscheinlichkeit in den verschiedenen Regionen. In einem zweiten Schritt wird dann ein begrenzter Genabschnitt, der initial eine hohe Wahrscheinlichkeit für positive Assoziationen aufwies, detaillierter untersucht.

2.2.4.2 SNPs

Als Einzelnukleotidpolymorphismen (Single Nucleotide Polymorphisms = SNPs) werden Basen bezeichnet, die sich an derselben genetischen Position befinden und verschiedene Allele zwischen Individuen aufweisen. Ein interindividuelles Abweichen von Allelen kommt in 0,1% des menschlichen Genoms vor, während 99,9% identisch sind. An der 0,1%igen Variabilität des Genoms zwischen Individuen haben SNPs einen Anteil von ca. 90% (Buselmaier 2007). Sie kommen in einer Frequenz von ca. 1 SNP / 1000 Basen vor. Im menschlichen Genom existieren ca. 10 Millionen SNPs, die bis auf einige seltene Varianten durch de novo-Sequenzierung und Sequenzvergleich prinzipiell alle genotypisiert wurden (1000 Genomes Project, 2019). Sie liegen sowohl in kodierenden als auch in nicht-

kodierenden Bereichen. Mit der Schizophrenie assoziierte SNPs können entweder selbst die verursachende genetische Variation darstellen oder Marker für eine solche Sequenz sein.

2.2.5 Kopplungsstudien

Als Kopplung wird die gemeinsame Vererbung von eng benachbarten Regionen (Loci) auf einem Chromosom bezeichnet. Je enger zwei Bereiche zusammenliegen, desto unwahrscheinlicher ist die Trennung der Loci bei der Rekombination durch Crossing-over.

Bei der Aufklärung genetisch verursachter Erkrankungen wird das Prinzip der Kopplung angewandt. Einer der beiden Loci ist der „Phänotyp“ mit unbekannter genetischer Lokalisation. Der andere Locus wird durch einen polymorphen Marker (DNA-Abschnitt mit mehr als einer Variante innerhalb einer Familie oder Population) repräsentiert, dessen Position im Genom bekannt sein muss. Die unterschiedlichen Varianten eines Markers werden Allele genannt. Die Anzahl der positiven Kopplungsereignisse gibt Auskunft über die Nähe des Markers zu der gesuchten Gensequenz (Hoffmann 2009).

Kopplungsstudien werden über das gesamte Genom durchgeführt. Sie eignen sich vor allem für Krankheiten mit klarem Mendelschen Erbgang und für große Familien. Sie können aber auch zur Identifikation von Kandidatengenregionen oder zur Suche von Genen mit starkem Einfluss auf die Entstehung einer Erkrankung (Hauptgene) eingesetzt werden (Förstl et al. 2006). Meist sind die Kandidatengenregionen in Kopplungsstudien sehr groß (>1Mb) und enthalten viele Gene (Weiland et al. 2000). Daher gestaltet sich die Suche nach Kandidatengen selbst bei positiven Kopplungsergebnissen oft als schwierig.

Zahlreiche Regionen konnten in Kopplungsstudien identifiziert werden, die zur Pathophysiologie einer Schizophrenie beitragen könnten.

- 1q21-22 (Brzustowicz 2000), 1p13.3-q23.3 (Arinami 2005)
- 2p12-23.3 (Giegling et al. 2017)
- 3p25.3-22.1 (Lewis 2003)
- 5q21-31 (Giegling et al. 2017)
- 6p24-22 (Schwab 2003, Harrison 2005)
- 8p22-21.1 (Giegling et al. 2017)
- 10p14 (De Lisi 2002), 10q25.3-26.3 (Giegling et al. 2017)

- 11q22.3-24.1 (Lewis 2003)
- 13q32-34 (Faraone et al. 2002a), 13q13-14 (Maziade et al. 2009)
- 14pter-13.1 (Lewis 2003)
- 15q13.3-14 (Fallin et al. 2004, Leonard et al. 2006), 15q26 (Vazza 2007)
- 20p12.3-11 (Lewis 2003)
- 22q11 (Giegling et al. 2017)

2.2.6 Assoziationsstudien

In Assoziationsstudien macht man sich das Vorhandensein von Polymorphismen in der DNA zu Nutze. In einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie werden Träger eines Merkmals mit einer Kontrollgruppe, die dieses Merkmal nicht aufweist, verglichen. Eine Assoziation liegt vor, wenn ein spezifischer genetischer Marker überzufällig häufig bei den Merkmalsträgern auftritt. Als genetische Marker werden biallelische Sequenzvariationen (z.B. SNPs) verwendet. Assoziationsuntersuchungen benötigen optimalerweise große Stichproben von mehreren tausend Teilnehmern. Sie sind sehr empfindlich gegenüber einer geringen Genwirkung und können Allele mit nur mäßigem Erkrankungsrisiko aufdecken (Nöthen et al. 1993, Sullivan et al. 2005). Assoziationsstudien zeigen eine hohe Sensitivität und eine geringe Spezifität (Förstl et al. 2006).

In Bezug auf die Schizophrenie wurden in genomweiten Assoziationsstudien bisher folgende Regionen am häufigsten repliziert und als krankheitsrelevant eingestuft.

- 1q21.1 (Schmitt et al. 2016)
- 2q32.3 (O'Donovan et al. 2008)
- 5q14.1 (Chen et al. 2011a)
- 6p21.32-p22.1 (Yue et al. 2011, Williams et al. 2011)
- 8p23.2, 8q21.3 (Ripke et al. 2011)
- 9q33.1 (Wang et al. 2010), 9p22.3 (Loe-Mie et al. 2010)
- 10q24.32-q24.33 (Ripke et al. 2011)
- 11p11.2 (Yue et al. 2011)
- 14q31.3 (Chen et al. 2011)

- 15q13.3-14 (Schmitt et al. 2016, Giegling et al. 2017)
- 18q21.2 (Duan et al. 2010, Williams et al. 2011)

Sind Kopplung und Assoziation gemeinsam vorhanden, so segregiert der Phänotyp über verschiedene Familien hinweg mit dem gleichen Allel (Böddeker et al. 2000).

Genomweite Assoziationsstudien (GWAS) ermöglichen die Detektion von Polymorphismen zwischen Individuen ohne eine vorherige Festlegung auf eine bestimmte Zielregion zu benötigen, indem sie das komplette Genom verschiedener Individuen analysieren und miteinander vergleichen. Sie geben Hinweise auf bisher unbekannte Kandidatengenregionen.

Die große Anzahl an Genloci, die in Kopplungs- und Assoziationsstudien mit der Schizophrenie in Zusammenhang gebracht werden, sprechen für eine multifaktorielle und polygene Vererbung dieser Erkrankung. In der vorliegenden Arbeit wurden genetische Marker der Genregion CHRNA7 mit Hilfe einer Assoziationsstudie in Bezug auf die Schizophrenie untersucht.

2.3 Das Gen CHRNA7 und dessen Genprodukt

2.3.1 Das Gen CHRNA7

Das Gen CHRNA7 liegt auf dem langen Arm des Chromosoms 15 auf dem codogenen Strang mit der Position 15q13.3-14, Genlokus 30110017–30248525 (Gen ID 1139; MIM 118511) (Chini et al. 1994). Die offizielle Nomenklatur (Human Genome Organisation: Gene Nomenclature Committee) des Gens lautet CHRNA7 (cholinergic receptor, neuronal nicotinic, alpha-7 subunit). Es kodiert für den nikotinischen Acetylcholinrezeptor $\alpha 7$.

Das Gen ist eines von elf Genen für die Kodierung der Untereinheiten von nikotinischen Acetylcholinrezeptoren. Entwicklungsgeschichtlich wird es als das älteste Gen dieser Gruppe angesehen, da es bereits in Archaeobakterien vorliegt (Sinkus et al. 2015).

Es enthält 10 Exons und besitzt eine Größe von ca. 138.523 Basen. Der Core-Promotor von CHRNA7 befindet sich am 5' Transkriptionsstart von Exon 1. Er enthält keine TATA-Box und zeichnet sich durch einen hohen GC-Gehalt von 77% aus (Gault et al. 1998). Es konnten Bindungsstellen für die Transkriptionsfaktoren SP1 (Specificity protein 1), EGR1 (Early growth response factor 1), AP-2 (Activating enhancer-binding protein 2- α) und CREB1

(cAMP response element-binding protein 1) nachgewiesen werden (Bertrand et al. 2015). Exon 1 kodiert die Signalsequenz für den Transport in das endoplasmatische Retikulum. Die Exons 2-6 enthalten Informationen für die Bildung der extrazellulären Ligandenbindungsstelle. Exon 7 und 8 kodieren die ersten drei transmembranären Regionen des Rezeptors, M1-M3. Exon 9 und 10 sind für die Bildung der vierten transmembranären Region, der extrazellulären C-terminalen Domäne und des intrazellulären, zytoplasmatischen Anteils notwendig (Sinkus et al. 2009).

Die Exons 5-10 von CHRNA7 finden sich in einer duplizierten Form 1,6 Mb aufwärts von CHRNA7 in Richtung Zentromer gelegen wieder. Das Duplikat hat eine Länge von ca. 250kb und besitzt eine >99,9%ige Homologie zu der Ursprungsregion (Gault et al. 1998). Gemeinsam mit Kopien der Gene ULK4 (Chromosom 3p22.1) und GOLGA8B (2,5Mb strangabwärts von CHRNA7), die das Gen FAM7A darstellen, bildet es die Genregion CHRFAM7A (Abb.3) (Sinkus et al. 2015). Das Gen wurde bisher ausschließlich im menschlichen Genom, jedoch nicht bei allen Individuen, nachgewiesen (Flomen et al. 2008, Kunii et al. 2015). Die Genabfolge von CHRFAM7A tritt normalerweise in spiegelverkehrter Orientierung zu CHRNA7 auf (Flomen et al. 2008). Exon 6 von CHRFAM7A enthält jedoch teilweise eine 2bp-Deletion (CHRFAM7A Δ 2), welche assoziiert ist mit einer Inversion des Gens, so dass dieses wie CHRNA7 ausgerichtet ist (Abb.3) (Flomen et al. 2008, Sinkus et al. 2009). Folge der 2 bp-Deletion sind drei UGA-Stopcodons in Exon 6 (Gault et al. 2003).

Die Genregion 15q11-14 enthält eine große Zahl von Deletionen, Duplikationen, Inversionen und Translokationen, so dass sie eine sehr dynamische Region innerhalb des menschlichen Genoms darstellt (Bertrand et al. 2015, Gillentine et al. 2015).

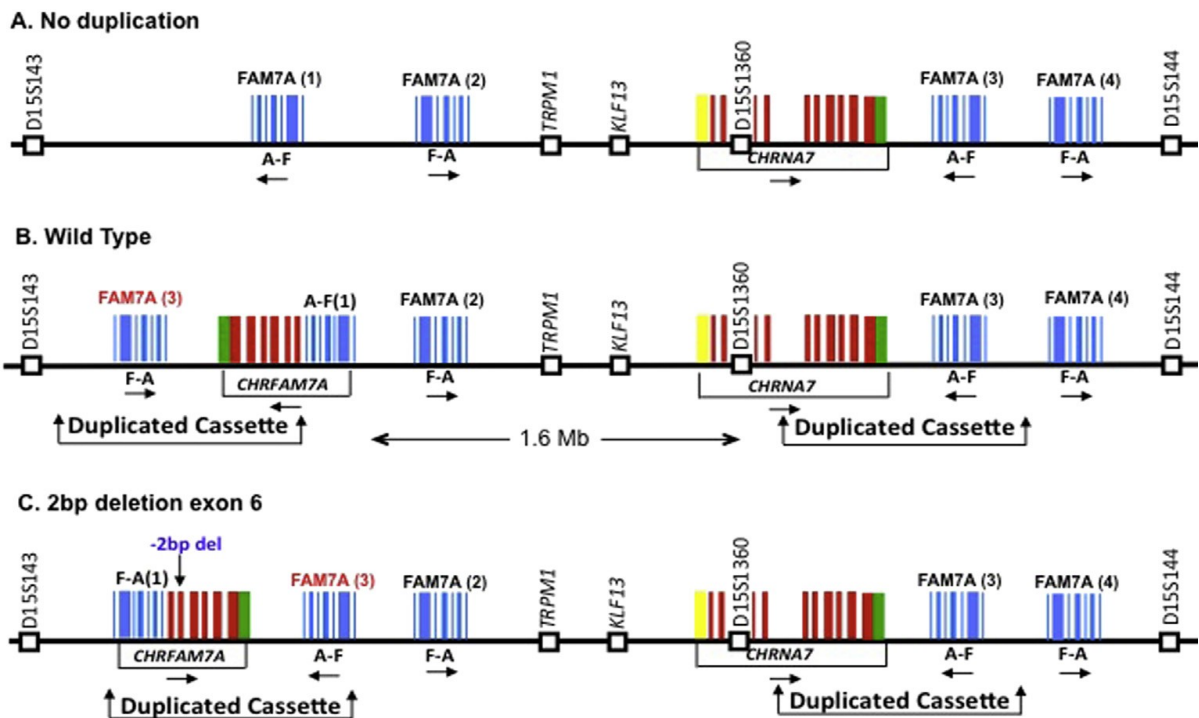


Abbildung 1: Genetische Karte der Genregion um CHRNA7 und der teilduplizierten Region CHRFAM7A (Sinkus et al. 2015). (A) CHRNA7 (rot) ohne teilduplizierte Region; FAM7A (blau) mit Exons A-F findet sich in mindestens vierfacher Ausführung auf Chr. 15; (B) Duplikat der Exons 5-10 von CHRNA7 mit den Exons A-F (1) von FAM7A bildet das Gen CHRFAM7A spiegelverkehrt zu CHRNA7; (C) 2bp-Deletion in Exon 6 von CHRFAM7A in einer invertierten Form des Gens

2.3.2 Nikotinische Acetylcholinrezeptoren

Acetylcholinrezeptoren sind membranständige Rezeptoren, die als Substrat Acetylcholin (ACh) binden. ACh ist einer der wichtigsten Neurotransmitter des menschlichen Gehirns. Neben Acetylcholin ist Nikotin ein weiterer Agonist am ACh-Rezeptor, woraus sich der Name des nikotinischen ACh-Rezeptors (nAChR) ableitet (Bertrand et al. 2015). ACh-bindende Rezeptoren sind ligandengesteuerte Ionenkanäle und bestehen aus fünf Untereinheiten (α , β , δ , γ/ϵ). Diese besitzen jeweils eine große extrazelluläre N-terminale Domäne, die an der Bildung der Ligandenbindungsstelle beteiligt ist und hauptsächlich aus β -Faltblatt-Strukturen sowie am N-Terminus aus einer α -Helix aufgebaut ist. Es finden sich vier membrandurchspannende Segmente (M1-M4), die aus α -Helices bestehen. Mit ihrem M2-Segment im Zentrum bilden die Untereinheiten gemeinsam einen Ionenkanal (Karlin et al.

1986, Law et al. 2005). Eine intrazelluläre Region trägt zur Selektivität des Kanals bei (Corringer et al. 2000). Das kurze C-terminale Ende befindet sich extrazellulär (Abb.2). Die Bindung eines passenden Substrats findet zwischen zwei Untereinheiten statt und bewirkt eine Konformationsänderung aller Untereinheiten, wodurch der Kanal geöffnet wird. Es kommt zum Einstrom von hauptsächlich Kationen und zur Depolarisation der Zelle (Bertrand et al. 2015).

Nikotinische ACh-Rezeptoren können anhand ihrer Untereinheiten und ihrer Lokalisation im Körper in drei Gruppen eingeteilt werden: die heteromeren muskulären (α_1 -, β_1 -, δ -, γ/ϵ -Einheiten), die heteromeren neuronalen (α_{2-10} -, β_{2-4} -Einheiten) und die homomeren neuronalen (α_{2-10} - oder β_{2-4} -Einheiten) Rezeptoren (Bertrand et al. 2015). Nikotinische ACh-Rezeptoren vom neuronalen Typ finden sich prä- und postsynaptisch im peripheren und zentralen Nervensystem (Seguela et al. 1993, Rubboli et al. 1994).

Neuronale nikotinische ACh-Rezeptoren sind beteiligt an Aufmerksamkeits- und Lernprozessen, Gedächtnisbildung, Erregung (Arousal), Sinneswahrnehmungen, Schmerzverarbeitung, inflammatorischen Prozessen und der Regulation der Körpertemperatur (Gotti et al. 2007). Diese Prozesse werden meist von präsynaptischen nACh-Rezeptoren durch die Freisetzung von Glutamat, GABA, Acetylcholin und Dopamin beeinflusst (Wonnacott 1997). Postsynaptische nACh-Rezeptoren spielen im Hirn vor allem bei der schnellen synaptischen Transmission im Hippocampus und im sensorischen Kortex eine Rolle (Jones et al. 1999, Chu et al. 2000).

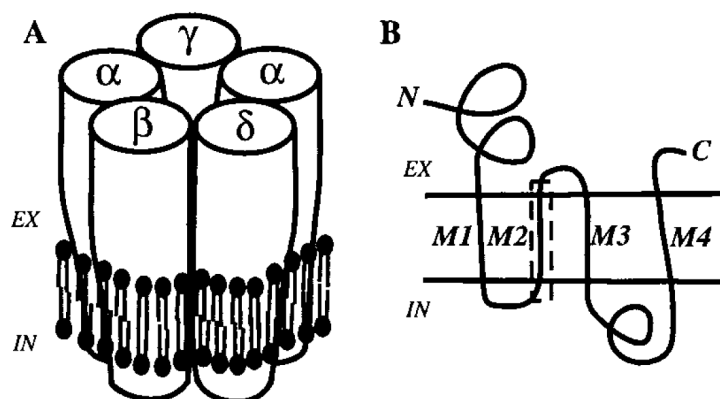


Abbildung 2: A: Modell eines ACh-gesteuerten Ionenkanals: fünf Untereinheiten ($\alpha, \alpha, \beta, \gamma, \delta$) mit extra (EX)- und intrazellulärer (IN) Domäne. **B: Schematische Darstellung einer Untereinheit:** membrandurchspannende Segmente M1-M4; Innenseite des Ionenkanals M2 (Wilson and Karlin 2001)

2.3.3 Aufbau des nikotinischen Acetylcholinrezeptors $\alpha 7$

Der nikotinische Acetylcholinrezeptor $\alpha 7$ (nAChR $\alpha 7$) ist ein Subtyp aus der Gruppe der homomeren, neuronalen nACh-Rezeptoren. Er besteht aus fünf identischen $\alpha 7$ -Untereinheiten und wird vom dem Gen CHRNA7 kodiert (Bertrand et al. 2015).

Der Rezeptor besteht aus 479 Aminosäuren mit einem Molekulargewicht von 56 kDa und ist der Hauptvertreter der nACh-Rezeptoren mit niedriger Affinität zu Nikotin im Hirn. Der nAChR $\alpha 7$ ist ein allosterischer Rezeptor mit Bindungsstellen für die Agonisten Acetylcholin, Nikotin und Cytisin und für spezifische Antagonisten wie das Schlangengift α -Bungarotoxin (Bertrand et al. 2015). Die Substrat-Bindungsstellen befinden sich jeweils zwischen den α -Untereinheiten. Des Weiteren besitzt der Rezeptor Bindungsstellen für Acetylcholinesterasehemmer, durch deren Wirkung es zu einem vermehrten Einstrom von Ionen in die Zelle kommt. Negativ allosterische Präparate sind Chlorpromazin, Barbiturate und Alkohole (Lloyd et al. 2000). Nach Bindung aktivierender Liganden findet eine Konformationsänderung mit Beteiligung aller Untereinheiten statt, so dass die Kationen Natrium, Kalium und Calcium in den Intrazellularraum gelangen. Der nAChR $\alpha 7$ weist eine schnelle Phase der Aktivierung und Desensibilisierung, also der Abnahme der Empfindlichkeit für Neurotransmitter, auf. Er zeigt eine besonders hohe Permeabilität für den Transport von Calciumionen, welche eine entscheidende Rolle bei der Freisetzung von Neurotransmittern und für die neuronale Exzitabilität spielen (Bertrand et al. 2015).

Das Genprodukt der teilduplizierten Region CHRFAM7A lautet dup $\alpha 7$. Eine Expression findet im menschlichen Gehirn vor allem im präfrontalen Kortex statt (Bertrand et al. 2015, Kunii et al. 2015). Das Peptid enthält alle transmembranären Anteile wie nAChR $\alpha 7$. Es fehlen jedoch die Signalpeptide und ein Teil der Ligandenbindungsstelle (Wang et al. 2014). Enthält das Gen CHRFAM7A die 2bp-Deletion in Exon 6 (CHRFAM7A Δ 2bp), so verursacht dies eine Leserasterverschiebung bei der Translation, was zu einem verkürzten Genprodukt mit fehlender Ligandenbindungsstelle, dup $\Delta\alpha 7$, und zu einer verminderten Expression von CHRFAM7A-mRNA führt (Wang et al. 2014, Kunii et al. 2015). Sowohl dup $\alpha 7$ - als auch dup $\Delta\alpha 7$ -Untereinheiten können gemeinsam mit nativen $\alpha 7$ -Einheiten einen funktionsfähigen Rezeptor bilden. Je nach Anzahl der integrierten Untereinheiten von dup $\alpha 7$ oder dup $\Delta\alpha 7$ kommt es jedoch aufgrund fehlender Bindungsstellen zu einer verminderten Sensitivität des

Rezeptors gegenüber Acetylcholin (Wang et al. 2014). CHRFAM7A fungiert somit als negativer Regulator der Genfunktion von CHRNA7 (Kunii et al. 2015, Akbarian et al. 2015).

2.3.4 Verteilung und Wirkung des nikotinischen ACh-Rezeptors $\alpha 7$ im Gehirn

Der nAChR $\alpha 7$ ist einer der häufigsten Acetylcholinrezeptoren des Hirns (Baranowska et al. 2017). Über Immunfluoreszenz und Messung der Bindung des spezifischen Antagonisten α -Bungarotoxin konnte die Verteilung des nAChR $\alpha 7$ im Hirn studiert werden. Er ist sowohl prä- als auch postsynaptisch lokalisiert. Präsynaptisch moduliert er die Freisetzung anderer Neurotransmitter wie Glutamat, GABA, Dopamin oder Noradrenalin (Baranowska et al. 2017). Postsynaptische nikotinische $\alpha 7$ ACh-Rezeptoren sind an der Phosphorylierung z.B. von Transkriptionsfaktoren und somit der Regulation der Genexpression beteiligt (Kunii et al. 2015).

Die höchste Dichte des Rezeptors findet sich im präfrontalen Kortex, im Hippocampus, im Nucleus reticularis des Thalamus, im Corpus geniculatum laterale et mediale, in den Nuclei olivares, dem Nucleus basalis Meynert, im auditorischen Kortex, dem Broca-Areal, den primären optischen Rindengebieten, im mesokortikal-mesolimbischen System und im Zerebellum (Jones et al. 1999, Bertrand et al. 2015, Kunii et al. 2015).

Im Gyrus dentatus findet sich eine große Anzahl des Rezeptortyps an Interneuronen der Molekularschicht, des Hilus und der glutamatergen Mooszellen (Freedman et al. 1993). Die Aktivierung dieser Rezeptoren an hilären Interneuronen ruft postsynaptisch GABAerge, inhibitorische Kreisläufe in benachbarten Granulazellen hervor (Buhler und Dunwiddie 2002, Liu et al. 2006, Morita et al. 2014).

Der nAChR $\alpha 7$ wurde an nahezu allen GABA- und glutamatergen Synapsen prä- und postsynaptisch im CA1 Stratum radiatum des Hippocampus nachgewiesen (Radcliffe et al. 1999, Fabian-Fine 2001). Der nAChR $\alpha 7$ zeigt eine besonders starke Expression in der CA1-Region von Feten, welche nach der Neonatalperiode stark abfällt und lebenslang etwa konstant bleibt (Court et al. 1999, Kunii et al. 2015). Auch im Tiermodell erreicht der Rezeptor in der frühen Embryonal- und Neonatalzeit seine höchste Dichte, was für seine

zentrale Rolle bei der Dendritenformation und neuronalen Migration spricht (Hohmann 1998, Broide and Leslie 1999).

Im mesolimbischen Bereich ist der nAChR α 7 in dopaminergen Schaltkreisen vertreten (Biton et al. 2007). Der Neurotransmitter Dopamin spielt eine zentrale Rolle bei dem Erkrankungsbild der Schizophrenie. Eine D₂-Rezeptorblockade führt zu einer erheblichen Verbesserung der produktiv-psychotischen Symptome (Weinberger 1997).

Der nAChR α 7 vermittelt selbst eine direkte und durch Aktivierung der Ryanodin- und der spannungsabhängigen L-Typ InsP₃-Kanäle (Inositoltriphosphatkinase) eine indirekte intrazelluläre Calciumerhöhung. Dies führt zur Aktivierung von Enzymen und Transkriptionskaskaden, die neuroprotektiv wirken und an kognitiven Prozessen wie Lernen und Gedächtniskonsolidierung beteiligt sind (Bertrand et al. 2015, Gillentine et al. 2015). Nachgewiesen ist dieser Zusammenhang beispielsweise für die Proteinkinase C, die Januskinase und die ERK1/2 (extracellular signal-regulated kinase). Als Folge davon kommt es zur Phosphorylierung des Transkriptionsfaktors CREB, welcher Einfluss auf die Konsolidierung des Langzeitgedächtnisses hat (Salehi et al. 2004, Bertrand et al. 2015).

Der nAChR α 7 ist involviert in die Differenzierung, die Migration und die Synapsenbildung von Nervenzellen. Er findet sich außerdem in Astrozyten, Oligodendroglia und Microglia (Slotkin 1998, Bertrand et al. 2015).

2.3.5 Die Rolle von CHRNA7 bei der Erkrankung der Schizophrenie

2.3.5.1 Expression des nikotinischen ACh-Rezeptors α 7 bei Schizophrenie

In Postmortem-Studien ließ sich eine verringerte Anzahl des nikotinischen ACh-Rezeptors α 7 im Hippocampus und im Gyrus cinguli von an Schizophrenie erkrankten Menschen nachweisen (Freedman et al. 1995, Leonard et al. 2000, Mexal et al. 2010). Es wurde eine Reduktion der Bindungsstellen des spezifischen α 7-Rezeptorantagonisten α -Bungarotoxin in der hippocampalen CA1- und CA3-Region um 50% beschrieben (Freedman et al 1995).

Verminderte α -Bungarotoxin-Bindung wurde auch im frontalen Kortex und im Nucleus reticularis thalami (NRT) gefunden (Bertrand et al. 2015). Eine verminderte Expression des nAChR α 7 im Nucleus reticularis thalami wurde außerdem von Leonard und Court und im

gesamten Kortex von Guan gemessen (Guan et al. 1999, Leonard et al 2000, Court et al. 1999).

In einigen Postmortem-Studien gelang der Nachweis einer verminderten Menge von CHRNA7-mRNA im Hippocampus, im Nucleus reticularis thalami und im präfrontalen Kortex bei an Schizophrenie erkrankten Patienten (Martin-Ruiz et al. 2003, Kunii et al. 2015, Akbarian et al. 2015). Die Ergebnisse waren unabhängig von einer vorangegangenen psychiatrischen Medikation oder dem Rauchverhalten der Patienten.

2.3.5.2 Nikotinkonsum und Schizophrenie

Der Anteil an Rauchern unter schizophrenen Patienten übertrifft mit knapp 85% deutlich den Raucheranteil in der Normalbevölkerung von ca. 25% (Kalman et al. 2005, Kunii et al. 2015). Die Behandlung mit Neuroleptika stellt nicht den Grund des massiv erhöhten Nikotinkonsums dar, da dieser bei unbehandelten Ersterkrankten genauso hoch ist (McEvoy et al. 1997). Der Beginn des Nikotinkonsums liegt zudem meist vor Ausbruch der Erkrankung und wird nicht durch diese ausgelöst. Schizophrene Patienten zeichnen sich durch ein besonders massives Rauchverhalten mit einem hohen Zigarettenkonsum (Dalack 1998, Kalman et al. 2005) und tiefer Inhalation des nikotinhaltigen Rauches aus (Olincy et al. 1997). Entwöhnungsversuche führen meist zu einer schweren Depression oder einer Exazerbation der Psychose (Glassman 1992). Eine Involvierung von Nikotinrezeptoren in den Krankheitsprozess der Schizophrenie ist daher wahrscheinlich (Leonard 2001).

Raucher mit der Erkrankung Schizophrenie zeigen ein signifikant früheres Ersterkrankungsalter als Nichtraucher, erreichen eine deutlich höhere Punktzahl bei der BPRS (*Brief Psychiatric Rating Scale*), zeigen stärkere Positiv- und Negativsymptome in der PANSS (*Positive And Negative Syndrome Scale*) und bedürfen durchschnittlich öfter einer stationären Behandlung (Goff et al. 1992, Covey et al. 1998).

Eine Blockade der $\alpha 7$ -Rezeptorfunktion führte im Mausmodell zu einem steigenden Verlangen nach Nikotin, während die Gabe eines selektiven $\alpha 7$ -Agonisten dieses herabsetzte (Brunzell und McIntosh 2012). In Studien wurde eine positive Wirkung von Nikotin bezüglich kognitiver Fähigkeiten und einer verbesserten Filterfunktion sensorischer Reize bei schizophrenen Patienten sowie am Tiermodell beobachtet (Adler et al. 1993, Mirza 1998,

Levin et al. 2000, Sacco et al. 2005, Leonard et al. 2007, Hambsch et al. 2014). Der selektive $\alpha 7$ -Agonist AR-R17779 übertraf bezüglich der Verbesserung von Lernen und Gedächtnis bei an Schizophrenie erkrankten Personen sogar die Wirkung von Nikotin (Levin 1999). Auch der $\alpha 7$ -Agonist Vareniclin wies eine positive Wirkung auf kognitive Funktionen auf und führte zu einer Verringerung des Nikotinkonsums (Smith et al. 2009, Williams et al 2012). Rezeptoren mit den Genprodukten $\text{dup}\alpha 7$ und $\text{dup}\Delta\alpha 7$ hatten eine verminderte Sensitivität für Vareniclin (Wang et al. 2014).

Chronischer Nikotinkonsum übt Einfluss auf die Expression zahlreicher Gene beim Menschen aus. Die Genexpression für CHRNA7 ist bei schizophrenen Nichtrauchern deutlich erniedrigt, steigt jedoch nach Nikotinkonsum auf Werte psychisch gesunder Raucher an (Mexal et al. 2010). Trotzdem weisen Menschen, die an Schizophrenie erkrankt sind und rauchen, eine 50% geringere Dichte an $\text{nAChR}\alpha 7$ im Hirn auf (Freedman et al. 1995). Als Grund hierfür wird eine fehlerhafte Zusammensetzung oder ein falscher Einbau des Rezeptors in die Zellmembran angenommen (Sinkus et al. 2015). Ursache dafür könnte ein Gendefekt in der Genregion CHRNA7 z.B. durch Einbau der fehlerhaften Genprodukte $\text{dup}\alpha 7$ und $\text{dup}\Delta\alpha 7$ bei schizophrenen Menschen sein.

2.3.5.3 Sensorische und kognitive Prozesse bei an Schizophrenie Erkrankten

Venables vermutete als Auslöser der schizophrenen Erkrankung defekte Filtermechanismen für sensorische Reize. Die Reizüberflutung des Hirns durch ungenügend gefilterte Sinneseindrücke führe zu den typischen paranoiden Zuständen und Sinnestäuschungen (Venables 1964).

Zur Festigung dieser Hypothese wurden Messungen verschiedener Parameter der sensorischen Reizverarbeitung durchgeführt. Abweichungen zu gesunden Personen wurden bezüglich des auditorischen Filterprozesses festgestellt. Mit Hilfe elektroencephalographischen Monitorings wird dabei an der Kopfhaut eine Reizantwort von zwei im Abstand von 50 msec präsentierten Lauten aufgezeichnet, wobei die Verarbeitung des zweiten Reizes aufgrund der geringen Latenzzeit nicht der bewussten Kontrolle unterworfen ist. Die Reizantwort ist das Ergebnis unbewusster Filterprozesse des Hirns. Bei gesunden Kontrollprobanden ist die Amplitude des zweiten Reizes im Vergleich zu dem

ersten Konditionierungsreiz um mehr als 40% erniedrigt oder nicht nachweisbar (Leonard et al. 2002). Bei schizophrenen Patienten findet dieses inhibitorische *Gating* des zweiten Reizes nicht statt (Adler et al. 1998, Clementz et al. 1998, Freedman et al. 2003). Dieses sogenannte P50-*Gating*-Defizit findet sich bei 85% der schizophrenen Patienten und 50% ihrer Erstgradangehörigen (Freedman et al. 1997, Clementz et al. 1998, Waldo et al. 2000). Zwillingsstudien belegen die Erbllichkeit dieses sensorischen Defizits (Myles-Worsley et al. 1996). Das P50-Defizit weist ein dominantes Vererbungsmuster auf und stellt eine Prädisposition für die Erkrankung der Schizophrenie dar (Clementz et al. 1998).

Das auditorische *Gating*-Defizit bei schizophrenen Patienten und bei davon betroffenen nichttrauchenden, nicht an Schizophrenie erkrankten Verwandten wird durch Nikotinkonsum normalisiert (Adler et al. 1992, 1993; Lloyd 2000). Die partiellen nAChR α 7-Agonisten Tropisetron und DMXB-A [3-(2,4-Dimethoxybenzyliden)-anabasein] führen zu einer signifikanten Verbesserung der P50-Welle und kognitiver Fähigkeiten bei schizophrenen Patienten (Koike et al. 2005, Olincy et al. 2006, Zhang et al. 2012). Auf fMRT-Bildern konnte eine verringerte hippocampale Aktivität bei schizophrenen Patienten unter DMXB-A-Einnahme während ruhiger Augenfolgebewegungen festgestellt werden, was für eine verbesserte inhibitorische Leistung spricht (Tregellas et al. 2010). Der Hippocampus ist eine der Hirnregionen, die eine besonders hohe Zahl an nAChR α 7 aufweist (Radcliffe et al. 1999, Fabian-Fine 2001). Des Weiteren konnten in genetischen Studien positive Assoziationen des P50-Defizits mit Polymorphismen in der Genregion des nikotinischen ACh-Rezeptors α 7 belegt werden (Lai et al. 2001, Leonard et al. 2002, Raux et al. 2002).

In Tiermodellen mit Mäusen wurde die Involvierung des nAChR α 7 bei sensorischen Filterprozessen bestätigt. Der nACh-Rezeptor α 7 weist bei Mäusen eine 90% Homologie zum Menschen auf, weshalb sie sich als Versuchstiere für diesen Rezeptor gut eignen (Chini et al. 1994). Eine Rezeptorblockade mit α -Bungarotoxin resultierte in einem Verlust des auditorischen *Gatings* ähnlich dem des Menschen (Luntz-Leybman et al. 1992), wohingegen GTS-21, ein spezifischer α 7 Rezeptors-Agonist, das *Gating*-Defizit normalisierte (Stevens et al. 1998). Antagonisten muskarinerge oder hochaffiner nACh-Rezeptoren zeigten keinen Effekt (Leonard et al. 2000). Polymorphismen im Chrna7-Gen der Maus resultierten in einer verringerten Expression der Rezeptoren (Stitzel et al. 1996) und gleichzeitig in einem signifikant reduzierten auditorischen *Gating* (Stevens et al. 1996).

An nAChR α 7- *Knockout*-Mäusen konnte eine verringerte Leistung des Arbeitsgedächtnisses, des episodischen Gedächtnisses und der P50-Inhibition festgestellt werden (Fernandes et al.

2006, Freund et al. 2016, Baranowska et al. 2017). Diese Funktionseinschränkungen zählen zu den Endophänotypen der Schizophrenie. Die Tiermodelle unterstützen somit die These eines Zusammenhangs von CHRNA7 mit der Schizophrenie.

2.3.5.4 Genetische Studien

Genetische Studien des Gens CHRNA7 sind erschwert durch das Vorliegen der teilduplizierten Region CHRFAM7A. Diese liegt nur 1,6 Mb von CHRNA7 entfernt und weist eine 99,9%ige Homologie zu den Exons 5-10 der Ursprungsregion auf (Gault et al. 1998). Die Bindung von Markern an diese Exons muss daher genau lokalisiert und zugeordnet werden, um Verwechslungen auszuschließen. Das CHRNA7-Gen weist mit Intron 2 und 4 zwei große, nicht duplizierte Introns auf, die sich gut für SNP-Analysen eignen (Sinkus et al. 2015).

Kopplungsstudien

Hinweise auf ein sensorisches *Gating*-Defizit bei schizophrenen Patienten und die Vermutung einer Beteiligung des nAChR α 7 an der Erkrankung veranlassten Freedman und Kollegen 1997 zur Durchführung einer Multipoint-Kopplungsanalyse der Genregion CHRNA7. Die Studie mit kaukasischer Studienpopulation untersuchte den Marker *D15S1360* in Intron 2 von CHRNA7 und die flankierenden Marker *L76630* und *ACTC*. Alle drei Polymorphismen bestehen aus Dinukleotidrepeats. Die höchste Signifikanz erreichte der Marker *D15S1360* bezogen auf das sensorische *Gating*-Defizit. Eine Kopplung mit der Diagnose Schizophrenie konnte nicht gefunden werden (Freedman et al. 1997).

Das National Institute of Mental Health (NIMH) untersuchte in einer genetischen Studie 71 schizophrene und 8 schizoaffektive Störungsbilder. In einer genomweiten Kopplungsanalyse ergaben sich zwei Marker, die bei Amerikanern afrikanischer Herkunft eine Kopplung zum P50-Defizit aufwiesen, *D15S128* ($p=0,027$) und *ATC3C11* ($p=0,358$) (Kaufmann et al 1998). Die von diesen Markern eingeschlossene Region beinhaltet den Marker *D15S1360*, welcher bei Freedman ebenfalls eine positive Kopplung zum P50-Defizit aufwies. Eine Kopplung bei Amerikanern europäischer Abstammung wurde nicht gefunden (Faraone et al. 1998).

Eine Feinkartierung dieser Region mit den Markern *D15S1360*, *D15S165* und *D15S144*, welche sich innerhalb einer Million Basenpaare sowohl zu *CHRNA7* als auch zu der teilduplizierten Region befinden, erbrachte eine signifikante Kopplung von *D15S1360* ($p=0,0024$) zur Schizophrenie (Leonard et al. 1998).

Weitere Kopplungsstudien konnten die Kandidatengen-These der Genregion *CHRNA7* für Schizophrenie replizieren. Riley untersuchte 20 Marker im Abstand von 0,5-1 cM über eine Strecke von 58cM in einer Gruppe von Bantu-sprechenden Südafrikanern. Er berichtet von einer signifikanten Kopplung der Allel- und Genotypverteilung des Markers *D15S1360* ($p=0,038$), *D15S1043* ($p=0,037$) und *D15S1010* ($p=0,039$) mit der Schizophrenie (Riley et al. 2000).

Eine Studie der Marker *D15S1010* und *D15S165* erbrachte in einer kaukasischen, nicht aber in einer afrikanischen Bevölkerung signifikante Kopplungen in Bezug auf schizophrene und schizoaffektive Störungen (Tsuang et al. 2001). Die Marker liegen in einer Entfernung von ungefähr 1cM zu dem häufigsten als positiv befundenen Marker *D15S1360*.

Gejman untersuchte in einer Kopplungsstudie 20 Mikrosatelliten-Marker des Chromosoms 15 über eine Distanz von 122 cM und erhielt signifikante Werte für die Marker *D15S144*, *ACTC*, *D15S659*, *D15S1039* und *D15S1036* mit $p<0,05$ (Gejman et al. 2001).

Fünf Marker der Genregion *CHRNA7*, unter ihnen *D15S1360* und *D15S165*, erbrachten in einer Studie mit Han-Chinesen eine signifikante Kopplung zur Schizophrenie (Liu et al. 2001).

Freedman deckte eine signifikante Kopplung ($p=0,0069$) der Genotypverteilung des Markers *D15S165* zu *CHRNA7* bei schizophrenen Patienten auf (Freedman et al. 2001). Die Studienpopulation bestand aus Amerikanern europäischer und afrikanischer Abstammung. Eine Kopplung des Markers *D15S144* war nur bei der Gruppe mit europäischer Abstammung in der Genotypverteilung feststellbar ($p=0,012$), wohingegen *D15S1360* keinerlei Hinweise einer Kopplung lieferte. Xu berichtete in 31 azorischen Familien, die durch ihre räumliche Isolation einen hohen Grad an genetischer Homogenität aufweisen, über eine Kopplung des Markers *L76630* ($p=0,0004$) zur Schizophrenie (Xu et al. 2001). *D15S1360* war mit $p=0,078$ nicht signifikant.

Assoziationsstudien

Neben Kopplungsstudien erbrachten auch Assoziationsstudien der Region 15q13-q14 in Bezug auf die Schizophrenie positive Ergebnisse. Eine Arbeitsgruppe um Stephens untersuchte 35 Polymorphismen in einer 2kb umfassenden regulatorischen Region aufwärts des Gens *CHRNA7*, von denen der SNP *rs3087454* (-1831 bp oberhalb von Exon 1, C/A) eine signifikante Assoziation zur Schizophrenie aufwies (Stephens et al. 2009). In der kaukasischen Population war der Genotyp „C/C“ und in der afroamerikanischen Population der Genotyp „A/A“ mit jeweils $p=0,0009$ und $p=0,013$ signifikant mit der Schizophrenie assoziiert. In der Allelverteilung ergaben sich keine signifikanten Unterschiede. Des Weiteren fand die Arbeitsgruppe um Stephens bei Amerikanern afrikanischer Abstammung eine signifikante Assoziation der SNPs *rs11071532* und *rs2651415* zur Schizophrenie (Stephens et al. 2012).

Eine Arbeitsgruppe um Stassen fand hochsignifikante Assoziationen der Marker *D15S1360* ($p<0,0001$) und *L76630* ($p<0,0007$) in der Allel- und Genotypverteilung bei 50 schizophrenen, 29 schizoaffektiven und 48 bipolaren Kaukasiern (Stassen et al. 2000). Die Signifikanz der Marker wurde in absteigender Reihenfolge durch die schizoaffektiven, die bipolaren und am wenigsten durch die schizophrenen Patienten ausgelöst.

Es gibt Hinweise darauf, dass der vermehrte Nikotinkonsum schizophreniekranker Patienten mit einem Defekt des *nAChR α 7* in Zusammenhang stehen könnte. In einer kanadischen Kohorte von 108 an Schizophrenie erkrankten Rauchern und 69 erkrankten Nichtrauchern beobachtete De Luca eine signifikante Assoziation des Haplotyps aus dem Marker *D15S1360* in *CHRNA7* und dem SNP *-2344A/C* im benachbarten Gen des cholinergen Muskarinrezeptors 5 zu Rauchen ($p=0,015$) (De Luca 2004). Der signifikante Unterschied zwischen Rauchern und Nichtrauchern spiegelte sich stärker unter den schizophrenen als unter den gesunden Personen wider. Faraone untersuchte in einer Gruppe von 98 schizophrenen Rauchern europäischer und afrikanischer Abstammung 16 Gene, die jeweils für Untereinheiten verschiedener nikotinischer ACh-Rezeptoren kodieren (Faraone et al. 2004). Er nahm an, dass nicht die Mutation eines einzelnen Gens, sondern die Kombination von Mutationen dieser Gene eine Prädisposition für Rauchen bei schizophrenen Patienten darstelle. Es ergab sich eine signifikante Assoziation der Gesamtheit der Gene bei schizophrenen Rauchern. Bei der Einzelgenanalyse fanden sich nur für *CHRNA2* und *CHRN2* signifikante Assoziationen. *CHRNA7* erreichte einen p-Wert von $p=0,095$. In genomweiten Assoziationsstudien zur Schizophrenie wurden bisher keine signifikanten

Assoziationen im Genbereich von *CHRNA7* entdeckt (O'Donovan et al. 2008, Ripke et al. 2011, 2013, 2014).

Studien zum Promotorbereich

Einige Studien suchten nach genetischen Variationen im Promotorbereich von *CHRNA7*, welcher eine große Anzahl von polymorphen Bereichen vereint. Einzelstranganalysen auf Konformationspolymorphismen sowie die DNA-Sequenzierung des *CHRNA7*-Core-Promotors wiesen 21 Mutationen nach, die gehäuft bei schizophrenen Patienten auftraten und in in-vitro-Analysen in einer verminderten Transkription des Gens resultierten (Leonard et al. 2014, Fan et al. 2006). Leonard und Mitarbeiter fanden eine signifikante Assoziation der *-86T*-Variante des Promotor-Polymorphismus *-86C/T* (rs149637464) mit dem P50-Defizit ($p=0,041$) sowohl bei Patienten als auch bei Kontrollen in einer Population mit vorwiegend europäischer Abstammung (Leonard et al. 2002). Dieses Ergebnis konnte in weiteren Studien mit kaukasischen Populationen nicht repliziert werden (Bertelsen et al. 2015, Cabranes et al. 2013, Houy et al. 2004). Die *-194C*-Variante des Promotorpolymorphismus *-194G/C* (231bp aufwärts des Transkriptionstartpunkts) wies bei Houy einen protektiven Effekt bezüglich des P50-Defizits auf (Houy et al. 2004). Bertelsen beobachtete eine signifikante Assoziation dieses Polymorphismus mit der Schizophrenie (Bertelsen et al. 2015). Eine weitere Studie zu *-86C/T* in einer kaukasischen Bevölkerung mit 750 Patienten erbrachte keinen Hinweis einer Assoziation zur Schizophrenie oder zum Rauchverhalten (Zammit et al. 2007). Weitere Polymorphismen im Promotorbereich (*g.-213* und *g.-324*) sowie in Intron 2 (rs2337980, rs1909884, rs883473) in Han-chinesischen Populationen wiesen keine Assoziationen zur Schizophrenie auf (Li et al. 2004, Liu et al. 2013). Eine aktuelle Studie bezüglich des SNPs rs2337980 und rs11071511 konnte keine Assoziation zur Schizophrenie nachweisen, berichtete jedoch über eine signifikante Assoziation in Bezug auf das Ansprechen auf neuroleptische Behandlung (gemessen mit der PANSS) in einer koreanischen Kohorte (rs2337980: $p=0,014$; rs11071511: $p=0,02$) (Calabrò et al. 2018).

Studien zu kodierenden Regionen

Anhand von Sequenzanalysen wurde die DNA schizophrener und gesunder Menschen auf Polymorphismen in kodierenden Bereichen untersucht. Dabei wurden 21 polymorphe Varianten in den zehn Exons und zwölf an Exon-Intron-Übergängen gefunden. Gault konnte

jedoch keine korrelierenden Veränderungen in der Struktur des Rezeptors oder Assoziationen zum P50-Defizit oder der Schizophrenie nachweisen (Gault et al. 2003).

Einer Arbeitsgruppe um Tsuneki gelang der erste Nachweis einer veränderten Funktionsweise des Rezeptors aufgrund eines Polymorphismus in einer kodierenden Region bei 100 schizophrenen Japanern (Tsuneki et al. 2007). Die Allelvariation *-1267G/A* auf Position 423 (G423S) in Exon 10, welche sich in der großen zytoplasmatischen Schleife des Rezeptors befindet, resultiert in einer Substitution von Glycin durch Serin. Es konnte gezeigt werden, dass der mutierte Rezeptor bei Behandlung mit einem Proteinkinase-C-Aktivator vermindert elektrische Ladung transportiert. Ob und in welchem Maß dies Auswirkungen auf das Erkrankungsbild der Schizophrenie hat, wurde nicht untersucht.

Studien zur teilduplizierten Region CHRFAM7A

Ein Screening auf Mutationen in der teilduplizierten Region CHRFAM7A identifizierte eine Deletion zweier Basenpaare in Exon 6 (CHRFAM7A Δ 2bp). Diese verursacht eine Leserasterverschiebung bei der Translation, was zu einem verkürzten Genprodukt, dup Δ 7, mit fehlender Ligandenbindungsstelle führt (Wang et al. 2014). CHRFAM7A Δ 2bp ist bei Kaukasiern deutlich häufiger vertreten (42%) als bei Afroamerikanern (14%) (Sinkus et al. 2009). Beide Ethnizitäten wiesen eine Assoziation der 2bp-Deletion zur Schizophrenie, nicht jedoch zum P50-Defizit auf (Sinkus et al. 2009). In einer Studie mit Han-chinesischen Teilnehmern zeigte die Deletion eine Assoziation zum P50-Defizit, jedoch nicht zur Schizophrenie (Lai et al. 2001). Raux konnte diese Ergebnisse in einer kaukasischen Population in Bezug auf das P50-Defizit replizieren ($p < 0,2$) (Raux et al. 2002). Eine kaukasische Bevölkerung aus Schottland wies keine signifikante Assoziation der Deletion zur Diagnose der Schizophrenie oder zu Psychosen im Rahmen bipolarer Störungen auf (Flomen et al. 2006). Dempster untersuchte die 2bp-Deletion bei schizophrenen Patienten mit englischer Muttersprache und fand eine signifikante Assoziation des Markers zu Störungen des Arbeitsgedächtnisses als einem Endophänotyp der Schizophrenie (Dempster et al. 2006).

Studien mit negativen Ergebnissen

Einige Studien erzielten bei der Analyse der Genregion 15q13-q14 in Bezug auf die Schizophrenie negative Ergebnisse. Eine Fall-Kontroll-Studie aus Han-Chinesen wies bezüglich des (AC) n -Dinukleotidrepeats *D15S1360* keine Assoziation mit dem Erkrankungsbild der Schizophrenie auf (Fan et al. 2006). Curtis untersuchte die drei in der

Studie von Freedman (1997) bereits erwähnten Marker *D15S1360*, *L76630* und *ACTC* in einer kaukasischen Population schizophrener und schizoaffektiver Patienten (Curtis et al. 1999). Er fand keine Kopplung der Marker mit den Diagnosen, ebenso wenig wie Neves-Pereira, der ausschließlich den Marker *D15S1360* bei 36 schizophrenen und schizoaffektiven kanadischen Patienten untersuchte (Neves-Pereira et al. 1998). In derselben Population wurde jedoch eine Assoziation des Haplotyp *D15S1360/-2344A/C* in Intron 2 bei 177 größtenteils kaukasischen Patienten zu Rauchen beschrieben (De Luca et al. 2004).

Eine Studie mit 254 schizophrenen Patienten koreanischer Herkunft konnte bezüglich der SNPs *rs2337506*, *rs6494233* und *rs12916879* ebenso wenig eine Assoziation zur Schizophrenie nachweisen (Joo et al. 2010) wie Sanders an einer kaukasischen Population mit 1870 Patienten und den SNPs *rs10438342* und *rs2221223* (Sanders et al. 2008).

Iwata untersuchte 14 polymorphe Marker bei Han-Chinesen, die im Abstand von 10-20 kb über das *CHRNA7*- und das *CHRFAM7A*-Gen verteilt waren. Unter ihnen befanden sich 11 SNPs und drei Mikrosatellitenmarker (*D15S1360*, *D15S165*, *D15S1043*) (Iwata et al. 2007). Es wurde keine Assoziation zur Schizophrenie gefunden.

Eine Gruppe um Fallin untersuchte bei 59 an Schizophrenie (83%) oder schizoaffektiver Störung (17%) erkrankten Familienmitgliedern aus 29 aschkenasischen Familien verschiedene Marker der Genregion um *CHRNA7*, konnte jedoch für keinen der Marker eine signifikante Kopplung zu den Erkrankungen feststellen (Fallin et al. 2003).

In einer Studie mit 510 an Schizophrenie erkrankten Personen spanischer Herkunft und 793 Kontrollen wurden die intronischen SNPs *rs883473*, *rs6494223*, *rs904952* und der Promotor-Polymorphismus *-86C/T* genotypisiert ohne signifikante Ergebnisse zu erhalten (Ancin et al. 2010).

In der Zusammenschau bisheriger genetischer Studien zu Markern im Genbereich von *CHRNA7* fanden sich sowohl Studien mit positiven als auch mit negativen Ergebnissen bezüglich einer Assoziation oder Kopplung zur Schizophrenie (Tabelle 2 und 3). Einige Studien wiesen positive Assoziationen oder Kopplungen von Markern dieser Genregion mit Endophänotypen der Schizophrenie (P50-Defizit, Arbeitsgedächtnis) oder mit Rauchen auf. 15 der 37 untersuchten Studien erbrachten sowohl in Zusammenhang mit Endophänotypen als auch mit der Schizophrenie negative Ergebnisse. Positive Studienergebnisse zur Genregion *CHRNA7* fanden sich in verschiedenen ethnischen Gruppen, darunter Kaukasier, Afrikaner, Azorer, Han-Chinesen und aschkenasische Juden.

Tabelle 2: Assoziationsstudien zu CHRNA7

Marker	Signifikanz	Population	Anzahl Patient/Kontrolle	Einschluss-diagnose	Studie
D15S1360 L76630	Rauchen (-), Schiz. (+) Rauchen (-), Schiz. (+)	Deutschspr. Schweiz	127 Pat. 129 Kon.	Schiz., Schizoaff., Bipolar	Stassen et al., 2000
Haplotyp (D15S1360/ -2344A/C)	Rauchen (+)	92% kaukasisch (Kanada)	177 Pat.	Schiz.	de Luca et al., 2004
D15S1360	Schiz. (-)	Han-Chinesisch	432 Pat. 284 Kon.	Schiz.	Fan et al., 2006
D15S1360 D15S165 D15S1043	Schiz. (-) Schiz. (-) Schiz. (-)	Han-Chinesisch	188 Pat. 188 Kon.	Schiz.	Iwata et al., 2007
Promotor -86 C/T	P50-Defizit (-)	kaukasisch (Normandie)	111 Pat. 85 Kon.	Schiz.	Houy et al., 2004
Promotor -86 C/T rs883473 rs6494223 rs904952	P50-Defizit (-) P50-Defizit (-) P50-Defizit (-) P50-Defizit (-)	kaukasisch (Spanien)	153 Pat. 95 Kon.	Schiz.	Cabranes et al., 2013
Promotor -86 C/T -194 G/C	Schiz. (-), P50-Defizit (-) Schiz. (+), P50-Defizit (-)	kaukasisch (Dänemark)	95 Pat. 450 Kon.	Schiz.	Bertelsen et al., 2015
Promotor -86C/T	Schiz. (-)	kaukasisch (Spanien)	510 Pat. 793 Kon.	Schiz.	Ancin et al., 2010
Promotor -86 C/T	P 50-Defizit (+)	kauk. (65%)	195 Pat., 165 Kon.	Schiz.	Leonard et al. 2002
Promotor -86 C/T	Schiz. (-), Rauchen (-)	Kaukasisch (England, Irland)	750 Pat. 688 Kon.	Schiz.	Zammit et al., 2007
g.-213G>A g.-324A>G	Schiz. (-) Schiz. (-)	Han-Chinesisch	249 Pat. 273 Kon.	Schiz.	Li et al., 2004
2bp Deletion CHRFAM7AΔ2bp	Schiz. (-), P50-Defizit (+)	Han-Chinesisch	146 Pat. 151 Kon.	Schiz.	Lai et al., 2001
2bp Deletion CHRFAM7AΔ2bp	Schiz. (-), P50-Defizit (+)	kaukasisch (Normandie)	70 Pat. 77 Kon.	Schiz.	Raux et al., 2002
2bp Deletion CHRFAM7AΔ2bp	Arbeitsgedächtnisstrg. (+)	Englische Muttersprache	96 Pat. 155 Kon.	Schiz.	Dempster et al., 2006
2bp Deletion CHRFAM7AΔ2bp	Schiz. (+) bei Kauk., AfrA, P50-Defizit (-)	kaukasisch, AfrA	396 Pat. 289 Kon.	Schiz.	Sinkus et al., 2009
2bp Deletion CHRFAM7AΔ2bp	Schiz. (-)	kaukasisch (Schottland)	450 Pat. 197 Kon.	Schiz., Schizoaff. Bipolar	Flomen et al., 2006
33 Marker in kodierenden Regionen	Schiz. (-), P50-Defizit (-), Rezeptorveränderungen (-)	kauk., AfrA, HispA	171 Pat. 185 Kon.	Schiz.	Gault et al., 2003
-1267G/A (kodierend)	Schiz. (-), Rezeptorveränderungen (+)	japanisch	100 Pat. 100 Kon.	Schiz.	Tsuneki et al., 2007
rs2337506 rs6494223 Rs12916879	Schiz. (-) Schiz. (-) Schiz. (-)	koreanisch	254 Pat. 349 Kon.	Schiz.	Joo et al., 2010
rs10438342	Schiz. (-)	kaukasisch	1870 Pat. 2002 Kon.	Schiz.	Sanders et al., 2008
rs3087454	Schiz. (+)	kaukasisch, AfrA	410 Pat. 144 Kon.	Schiz.	Stephens et al., 2009
rs11071532 rs2651415 rs8028396	Schiz. (+) bei AfrA, Schiz. (+) bei AfrA, Rauchen (+) bei Kauk.	kaukasisch, AfrA	468 Pat. 144 Kon.	Schiz.	Stephens et al., 2012
rs2337980 rs1909884 Rs883473	P50-Defizit (-) P50-Defizit (-) P50-Defizit (-)	Han-Chinesisch	138 Pat. Keine Kon.	Schiz.	Liu et al., 2013
rs2337980 rs11071511	Ansprechen auf Neuroleptika: Koreaner (+), Kaukasier (-)	koreanisch, kauk. (italienisch)	176 korean. Pat. 83 kauk. Pat. 326 korean. Kon. 194 kauk. Kon.	Schiz.	Calabrò et al. 2018
D15S128	Rauchen (-)	kaukasisch, AfrA	98 Pat.	Schiz.	Faraone et al. 2004

Tabelle 3: Kopplungsstudien zu CHRNA7

Marker	Signifikanz	Population	Anzahl Patient/Kontrolle	Einschluss-diagnose	Studie
D15S1360 L76630 ACTC	P50-Defizit (+), Schiz. (-) P50-Defizit (-), Schiz. (-) P50-Defizit (-), Schiz. (-)	EuA (Utah)	104 Pat.	Schiz.	Freedman et al., 1997
D15S1360 D15S165 D15S144	Schiz. (+) Schiz. (+) Schiz. (-)	65% kaukasisch, 30% AfrA, 40% indigen	52 Pat.	Schiz.	Leonard et al., 1998
D15S1360 D15S165 D15S144 D15S113 D15S976 D15S1043	Schiz. (+) Schiz. (+) Schiz. (+) Schiz. (+) Schiz. (+) Schiz. (-)	Han-Chinesisch	109 Pat. 133 Kon.	Schiz.	Liu et al., 2001
D15S1360 D15S165 D15S144 D15S1010 D15S118 D15S641 D15S1043	Schiz. (+) Schiz. (-) Schiz. (-) Schiz. (+) Schiz. (-) Schiz. (-) Schiz. (+)	südafrikanisch (Bantu)	15 Multiplexfam.	Schiz.	Riley et al., 2000
D15S1360 D15S165 D15S144	Schiz. (-) Schiz. (+) Schiz. (+) bei EuA	EuA, AfrA	62 Eltem-Kind-Trios	Schiz.	Freedman et al., 2001
D15S1360 L76630 ACTC	Schiz./Schizoaff. (-) Schiz./Schizoaff. (-) Schiz./Schizoaff. (-)	amerikanisch (ethnische Herkunft: n.n.)	54 Familien	Schiz., Schizoaff.	Curtis et al., 1999
D15S1360	Schiz./Schizoaff. (-)	kanadisch (ethnische Herkunft: N.N.)	36 Pat. 66 Kon.	Schiz., Schizoaff.	Neves-Pereira et al., 1998
D15S1360 D15S165 L76630	Schiz. (-) Schiz. (-) Schiz. (+)	azorisch	41 Pat. 97 Kon.	Schiz.	Xu et al., 2001
D15S165 D15S1010	Schiz. (+) bei Kauk. Schiz. (+) bei Kauk.	37% kaukasisch 36% afrikanisch 27% andere	392 Pat. 366 Kon.	Schiz., Schizoaff.	Tsuang et al., 2001
D15S128 ATC3C11	P50-Defizit (+) P50-Defizit (+)	AfrA	79 Pat.	Schiz., Schizoaff.	Kaufmann et al., 1998
Promotor -86 C/T -194 G/C	P50-Defizit (+) P50-Defizit (+)	65% EuA 31% AfrA 4% HispA	195 Pat. 165 Kon.	Schiz.	Leonard et al., 2002
D15S659 ACTC D15S1039 D15S1036	Schiz. (+)	N.N.	68 Familien	Schiz.	Gejman et al., 2001
D15S128	Schiz. (-)	aschkenasisch	59 Pat. in 29 Multiplexfam.	Schiz., Schizoaff.	Fallin et al. 2003

Erläuterung zu Tabelle 2 und 3: +/-: positive bzw. negative Signifikanz. Kauk.: kaukasisch. EuA: Amerikaner europäischer Abstammung. AfrA: Amerikaner afrikanischer Abstammung. HispA: Amerikaner südamerikanischer oder spanischer Herkunft. Schiz.: Schizophrenie. Schizoaff.: schizoaffektive Störung. N.N.: nicht genannt.

3 Fragestellung

Bei der Erkrankung der Schizophrenie wird ätiologisch von einer multifaktoriellen Genese ausgegangen. Bis zu 80% des Erkrankungsrisikos werden genetischen Faktoren zugeschrieben. Obwohl bisher einige genomweite Assoziationsstudien durchgeführt und auf ihren Zusammenhang mit der Schizophrenie hin untersucht wurden, konnten noch keine klaren Ergebnisse erzielt werden.

Der nikotinische ACh-Rezeptor $\alpha 7$ und dessen Gen stellen auf der Suche nach Pathomechanismen der Schizophrenie einen interessanten Kandidaten dar. Angesichts des hohen Anteils an Rauchern unter schizophrenerkrankten Personen liegt die Vermutung einer gestörten Funktion von Nikotinrezeptoren nahe (Leonard 2001). Pharmakologische und biochemische Studien deuten auf eine Beteiligung des nAChR $\alpha 7$ sowohl bei kognitiven Prozessen als auch bei der Filterung sensorischer Reize hin (Zhang et al. 2012, Bertrand et al. 2015). Beide Fähigkeiten sind bei schizophrenen Patienten in ihrer Funktion eingeschränkt. Auch genetische Studien weisen unter Verwendung unterschiedlicher Marker signifikante Kopplungsungleichgewichte und Assoziationen von CHRNA7 mit der Schizophrenie auf (Liu et al. 2001, Tsuang et al. 2001, Leonard et al. 2002, Sinkus et al. 2009, Tsuneki et al. 2007, Stephens et al. 2012). Einige Studien erzielten diesbezüglich jedoch auch negative Ergebnisse (Flomen et al. 2006, Joo et al. 2010, Liu et al. 2013). Somit lässt sich bisher keine endgültige Aussage über die Rolle von CHRNA7 als Kandidatengen der Schizophrenie treffen.

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Analyse fünf bisher noch nicht untersuchter Marker im Genbereich des nACh-Rezeptors $\alpha 7$ (Gen CHRNA7). Die polymorphen Abschnitte wurden bei 508 an Schizophrenie erkrankten Patienten und 617 Kontrollprobanden genotypisiert. Es wurden jeweils sowohl die Allelfrequenz als auch der Genotyp der beiden Gruppen bestimmt. Ziel der Arbeit ist es zu überprüfen, ob erkrankte Personen bestimmte Marker häufiger oder seltener exprimieren als gesunde Kontrollprobanden und ob diese Marker als Hinweis für ein erhöhtes Schizophrenierisiko dienen können. Die Studie soll einen Beitrag zur Identifizierung genetischer Risikofaktoren der Schizophrenie leisten.

4 Material und Methoden

4.1 Klinisches Material

4.1.1 Standardisierte Anamnese

Die Anamnese der Patienten- und Kontrollgruppe erfolgte anhand eines standardisierten Anamnesebogens. Dieser beinhaltete Fragen zur Abstammung, zu psychischen Auffälligkeiten, zu Verhaltensweisen als Kind und Jugendlicher und zu partnerschaftlichen Erfahrungen. Eruiert wurden schulische, berufliche, familiäre und soziale Probleme sowie Alkohol-, Nikotin- und Drogenkonsum. Des Weiteren erfragt wurden bisherige Erkrankungen mit besonderem Schwerpunkt des nervenärztlichen Spektrums, Unfälle mit Beteiligung des Kopfes, Bewusstlosigkeit und Suizidversuche sowie bisher erfolgte ambulante und stationäre Behandlung. Der aktuelle Medikamentenstatus wurde erhoben. Den Abschluss bildete eine Familienanamnese, die vor allem neurologisch-psychiatrische Erkrankungen erfasste sowie Suizidversuche und erfolgte Suizide in der Familie abklärte.

4.1.2 SKID

Das SKID (Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV) (Wittchen et al. 1997) ist ein standardisierter, operationalisierter Interviewleitfaden, der zur Erfassung psychischer Syndrome und Störungen dient. Er besteht aus standardisierten Untersuchungsfragen, die sich an den Diagnosekriterien des DSM-IV für die jeweilige Störung orientieren. Entsprechend der dortigen Systematisierung psychiatrischer Erkrankungen in Achse I- bis Achse V-Störungen spiegelt auch das SKID diese Untergliederung wider. Demnach werden im SKID I (Teil A-J) psychopathologische Zustandsstörungen gemäß Achse I erfasst, wohingegen das SKID II der Kodierung von dauerhaften Persönlichkeitsstörungen nach Achse II dient. Die Erfassung der Achse III- (medizinische Krankheitsfaktoren), IV- (psychosoziale und Umgebungsfaktoren) und V-Kriterien (Global Assessment of Functioning: GAF-Skala) findet innerhalb von SKID I und II statt.

Das SKID ist in zwei Versionen im Gebrauch: eine für den klinischen Einsatz gekürzte Klinikversion sowie eine umfassende, für die jeweilige Studie anpassbare Forschungsversion. Letztere in dieser Arbeit angewandte Version bietet die Möglichkeit der Kodierung fast aller Störungen des DSM-IV und ihrer Subtypen sowie der Beurteilung des Schweregrads und des Verlaufs der jeweiligen Erkrankung.

Der A-Teil des SKID I kodiert affektive, der B-Teil psychotische Symptome sowie deren jeweiligen Verlauf. Eine Diagnosestellung findet hier noch nicht statt. Der C-Teil beschäftigt sich mit der Differentialdiagnostik psychotischer Störungen und dient der Diagnosesicherung. Psychosen, verursacht durch psychotrope Substanzen oder durch allgemeine medizinische Krankheitsfaktoren wie zerebrale Neoplasien, Stoffwechselerkrankungen oder endokrine Störungen, werden ebenso ausgeschlossen wie schizoaffective Störungen. Der C-Teil kodiert außerdem den Subtyp der Schizophrenie (paranoid, kataton, desorganisiert, undifferenziert), den Schweregrad zum aktuellen und zum schlimmsten Zeitpunkt der Erkrankung, das Alter bei Beginn der Prodromalsymptomatik, das Erstmanifestationsalter, die Anzahl psychotischer Episoden und den Zeitpunkt der letzten Psychose. Außerdem wird eine einmalige Episode von einem episodischen und kontinuierlichen Verlaufsmuster unterschieden und der jeweilige Remissionsgrad bezüglich Residualsymptomatik und Negativsymptomatik berücksichtigt.

Der D-Teil dient der differentialdiagnostischen Einordnung der im A-Teil erhobenen affektiven Symptome (Major Depression, Bipolare Störung I oder II, prodromale- bzw. postpsychotische depressive Störung). Der E-Teil erfragt Missbrauch und Abhängigkeit psychotroper Substanzen. Der F-Teil kodiert Angststörungen, der G-Teil somatoforme Störungen, der H-Teil Essstörungen, der I-Teil Anpassungsstörungen und der J-Teil optionale Störungen wie z.B. Stresstörungen.

4.1.3 PANSS

Die PANSS (Positive and Negative Syndroms Scale) (Kay et al.; 1987) ist ein Messinstrument zur dimensionalen Erfassung schizophrener Symptome. Sie bildet 7 Positiv-, 7 Negativ- und 16 Allgemeinsymptome der Schizophrenie ab und ermöglicht auf einer Skala von 0 bis 7 Punkten (0 = nicht vorhanden, 7 = extrem) eine Einordnung der Ausprägung des jeweiligen Symptoms. Dabei werden jeweils der Schweregrad zum derzeitigen Moment und

anhand von Anamnese und Arztbriefen der Schweregrad zum schlimmsten Zeitpunkt festgehalten.

4.2 Klinische Methoden

4.2.1 Studiendesign

Die Daten der vorliegenden Arbeit wurden auf der Basis einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie erhoben. Die Durchführung der Studie geschah mit Zustimmung der lokalen Ethikkommission. Alle Teilnehmer wurden über die Zielsetzung der Studie und die angewandten Methoden und Risiken in einem persönlichen Gespräch informiert. Die Teilnahme der Patienten und Kontrollen erfolgte nach deren Unterzeichnung einer Einverständniserklärung auf freiwilliger Basis. Alle erhobenen Daten und Blutproben wurden anonymisiert verarbeitet.

In die Studie eingeschlossen wurden 508 Patienten und 617 Kontrollprobanden. Die Studie basierte auf speziellen Auswahlverfahren, welche die Teilnahme für die Kontroll- und für die Patientengruppe regelten.

Des Weiteren beinhaltete die Studie eine venöse Blutentnahme zur Gewinnung von DNA. Im Genabschnitt des nACh-Rezeptors $\alpha 7$ wurden für diese Arbeit fünf polymorphe Marker bei beiden Gruppen genotypisiert und einer statistischen Signifikanzprüfung bezüglich ihres Zusammenhangs mit der Schizophrenie unterzogen.

4.2.2 Studienteilnehmer

4.2.2.1 Patienten

In die Patientengruppe eingeschlossen wurden ausschließlich kaukasische Personen zwischen dem 18. und dem 70. Lebensjahr, bei denen von ärztlicher Seite eine Schizophrenie nach ICD-10 oder DSM-IV diagnostiziert worden war.

In die Auswertung flossen Daten von 508 schizophrenen Patienten ein. Der Anteil männlicher Patienten betrug 65,0% (330 Teilnehmer) und übertraf damit den Frauenanteil von 35,0% (178 Teilnehmerinnen). Der Altersdurchschnitt lag bei 37,7 Jahren.

Die Rekrutierung fand in verschiedenen psychiatrischen Kliniken, Heimen und Arztpraxen statt. Der zum Studienzeitpunkt gültige Wohnort aller Teilnehmer beschränkte sich auf Bayern.

Einschlusskriterien

Die Zulassung zur Studie erfolgte bei positiver Diagnose einer Schizophrenie nach ICD-10 oder DSM-IV, die mit Hilfe standardisierter Anamnesebögen, des SKID und anhand von Patientenakten gestellt wurde.

Ausschlusskriterien

Ausschlusskriterien waren schwere Kopfverletzungen, Schädel-Hirn-Traumata (ab II. Grad), degenerative neurologische Störungen, zerebrovaskuläre Erkrankungen sowie sämtliche organische Erkrankungen, die als Ursache für eine Psychose in Frage kommen und zeitlich vor dem Ausbruch der ersten Psychose lagen (z.B. Meningitis, Enzephalopathie, Lues, offene Tuberkulose, FSME, Epilepsie, Schlaganfall oder TIA). Außerdem ausgeschlossen wurden Patienten mit einer Hepatitis C- oder HIV-Infektion auf Grund des Infektionsrisikos im Labor und Patienten mit intravenösem Heroingebrauch (> 2 Mal).

Ein Ausschluss von der Studie erfolgte bei schizoaffektiven, schizophreniformen, wahnhaften und kurzen psychotischen Störungen. Patienten mit Psychosen nach Alkoholmissbrauch sowie nach Konsum psychotroper Substanzen wurden ebenso ausgeschlossen wie Patienten mit einer Borderline-Persönlichkeitsstörung.

4.2.2.2 Kontrollprobanden

In die Studie eingeschlossen wurden Kontrollprobanden deutschen Ursprungs, deren Abstammung bis in die 2. Generation zurückreichte. Die Rekrutierung erfolgte mittels schriftlicher Studieneinladung nach dem Zufallsprinzip an beim Einwohnermeldeamt München gemeldete Personen. Es wurden Daten von 617 Personen erfasst mit einer

Geschlechterverteilung von 281 (45,5%) männlichen zu 336 (54,5%) weiblichen Teilnehmern. Das Altersspektrum reichte von 20 bis 72 Jahren, der Altersdurchschnitt lag bei 45,2 Jahre.

Einschlusskriterien

Bei einer positiven Rückantwort auf das Anschreiben erfolgte telefonisch ein erstes Auswahlverfahren, in dem anhand eines standardisierten Fragenkatalogs Herkunft, psychiatrische und neurologische Erkrankungen, Alkohol- und Drogenkonsum sowie Suizidversuche in der Familie eruiert wurden. Außerdem erfasst wurden wichtige organische Ausschlussdiagnosen (siehe Ausschlusskriterien). War die Person deutschstämmig und verneinte ein familiäres Auftreten psychiatrischer Erkrankungen, so wurden dieselben Anamnesebögen zugesandt, die auch bei den Patienten verwendet wurden. Ergab sich kein Hinweis auf Studienausschluss, wurde ein Gesprächstermin vereinbart. Bei diesem wurde nach einer ausführlichen Aufklärung über die Studie die Einverständniserklärung zur Teilnahme unterzeichnet.

Zu Beginn des Interviews erfolgte eine orientierende neurologische Untersuchung. Es schlossen sich das SKID I und II an, womit ein Ausschluss aller Achse I- und -II-Störungen erreicht werden sollte.

Anschließend folgten ein Test auf belastende Lebensereignisse (Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar, LEBI: Richter & Guthke, 1996) sowie auf zwanghaftes Verhalten (Maudsley Obsessional-Compulsive Inventory, MOCI: Hodgson & Rachman 1977; dt. Kallinke et al.1979). Zur Einordnung der Persönlichkeit des Probanden wurden das Minnesota Multiphasic Personality Inventory-2 (MMPI-2: Hathaway et al., 2000), das State-Trait-Ärgerausdrucks-Inventar (STAXI: Schwenkmezger et al., 1992) und der Fragebogen zur Erfassung von Aggressivitätsfaktoren angewandt (FAF: Hampel & Selg, 1998).

Um psychiatrische Erkrankungen in der Familie detailliert erfassen zu können, kam das Family History Assessment Module (FHAM: Rice et al., 1995) zur Anwendung.

Ausschlusskriterien

Ein Ausschluss erfolgte bei Erfüllung der Diagnosekriterien einer Achse I-oder II-Störung sowie bei neurologischen und anderen organischen Erkrankungen mit möglicher Beeinflussung der Hirnfunktion (z.B. Meningitis, Encephalitis, Neuroborreliose, Lues, Chorea Huntington, Toxoplasmose, Multiple Sklerose, Parkinson, Epilepsie, Gehirntumor, Schädel-

Hirn-Trauma ab II. Grad, Apoplex, M. Cushing, M. Wilson, M. Addison, FSME, Lupus erythematodes, Muskeldystrophie, Amyotrophe Lateralsklerose, M. Creutzfeld-Jakob, Fibromyalgie). Außerdem galt eine positive psychiatrische Familienanamnese als Ausschlusskriterium.

4.3 Laborverfahren

4.3.1 DNA-Isolierung

Zur Bestimmung der Einzelnukleotidpolymorphismen in der Patienten- und der Vergleichsgruppe war die Gewinnung von DNA notwendig. Dies erfolgte mittels einer venösen Blutentnahme in EDTA-Röhrchen der Firma Sarstedt (Sarstedt, Nümbrecht). Das Blut wurde bis zum Zeitpunkt der Probenverarbeitung bei -80 °C konserviert.

Zur Isolierung der DNA wurde der QIAamp Blood Maxi Kit (Qiagen, Hilden 2005) gemäß der angegebenen Anleitung verwendet.

Zellyse

Zur Freisetzung der DNA aus den Zellen wurde jedes Röhrchen mit 7,5ml venösen Bluts bei Raumtemperatur mit 500µl Qiagen-Proteinase K (Qiagen, Hilden) und 12ml AL-Puffer (Qiagen, Hilden) versetzt und mit einem Vortexer gemischt (Vortexer Reax, Heidolph, Schwabach). AL-Puffer enthält ein Salz auf Guanidium-Basis, das Zellmembranen degradiert und Proteine denaturiert. Proteinase K hydrolysiert enzymatisch Peptidbindungen und leistet so den Abbau von intrazellulären Proteinen (z.B. Hämoglobin, Histone, DNA etc.). Sie dient damit nicht nur der DNA-Freisetzung, sondern beugt auch einer Verunreinigung der Nukleinsäurepräparation durch Proteine in der PCR vor. Für einen maximalen DNA-Gewinn erfolgte anschließend eine Inkubation der Lösung bei 70 °C für 30 Minuten.

DNA-Aufreinigung

Zur DNA-Aufreinigung wurde eine QIAamp-Säule verwendet (QIAamp Maxi Spin Columns; Firma Qiagen, Hilden). Diese enthält eine Silicagel-Membran, die DNA zurückhält. DNA bindet bei einem pH-Wert $\leq 7,5$ in Gegenwart von 10ml Ethanol (96-100%) und hohen Salzkonzentrationen an Silica (Vogelstein, B; Gillespie, D. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1979,

76, 615-619.), wobei der genaue Mechanismus unbekannt ist. RNA und nukleinsäurebindende Proteine bleiben ungebunden. Die ethanolhaltige Lösung wurde für 2 Minuten mit einem Vortexer durchmischt (Vortexer Reax, Heidolph, Schwabach), auf die Säule gegeben und bei 3000 Umdrehungen pro Minute (rpm: revolutions per minute) für 3 Minuten zentrifugiert. Anschließend folgte der erste Waschschrift mit 5ml AW1-Puffer (Qiagen, Hilden), der ein guanidinhaltiges Salz enthält, so dass die Proteine in der Probe denaturiert und aus der Säule gespült wurden. Um verbliebene Salze auszuwaschen, erfolgte ein erneuter Waschschrift mit 5ml AW2-Puffer (Qiagen, Hilden) auf Ethanolbasis. Zuletzt wurde die gereinigte DNA mit 1,5ml basischem Tris-haltigem AE-Puffer (pH >9,0) (Qiagen, Hilden) versehen, fünf Minuten bei Raumtemperatur inkubiert und zwei Minuten bei 5000 rpm zentrifugiert. Die bei saurem Milieu an die Silicamembran gebundene DNA wurde durch den basischen Puffer aus der Säule eluiert. Dieser Vorgang wurde einmal wiederholt. Anschließend wurde die gewonnene DNA bei -80 °C bis zur Weiterverarbeitung verwahrt.

4.3.2 DNA-Konzentrationsbestimmung

Die Konzentrationsbestimmung der DNA für die PCR wurde mittels einer photometrischen Messung mit dem Fluoreszenzfarbstoff PicoGreen® dsDNA Quantitation-Reagent (PicoGreen Molecular Probes, Eugen, USA) in einem Mikrotiterplatten-Fluoreszenzleser (Tecan GENios Workstation 150, Tecan, Männedorf, Schweiz) durchgeführt. Der Farbstoff bindet ausschließlich an doppelsträngige DNA und eignet sich auf Grund seiner hohen Sensitivität zur Quantifizierung geringer DNA-Konzentrationen (1-80 ng/µl). Fluoreszierende Moleküle sind in der Lage, Licht zu emittieren, nachdem sie durch Energiezufuhr angeregt wurden. Die Intensität der Fluoreszenz gibt dabei Rückschlüsse auf die Menge an DNA. Als Standard der Messreihe wurde eine Kalibrierung aus humaner, genomischer DNA (Clontech Human Genomic DNA 100ng/µl; Firma Clontech, Mountain View, USA) mit abgestuften Konzentrationen (100 – 50 – 25 – 12,5 – 6,25 – 3,125 – 1,5625 – 0ng/µl) in 1x Tris-EDTA-Puffer (TE) pH 7,5 eingesetzt.

Das PicoGreen®-Reagenz (PicoGreen Molecular Probes, Eugen, USA) wurde 1:156 in Wasser verdünnt und in einem lichtundurchlässigen 50ml Polypropylen-Röhrchen auf Eis aufbewahrt. Von der zu bestimmenden DNA-Probe (Stammlösung) wurden je 5µl mit je 45µl

H₂O (aqua bidestillata) mit Hilfe des Pipettierroboters Janus Automated Workstation (Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA) verdünnt, um eine im Messbereich liegende Konzentration zu erhalten. Anschließend pipettierte der Roboter die Standard DNA-Verdünnungsreihe in eine Messplatte mit 96 Vertiefungen in Reihe eins und zwei (96 well flat bottom plate, black; Greiner Bio-one, Frickenhausen). Replikate von je 5µl der verdünnten Stammlösung wurden in die restlichen zehn Reihen übertragen. Vor Verwendung des PicoGreen®-Reagenz (PicoGreen Molecular Probes, Eugen, USA) für die Fluoreszenz wurde es zur Homogenisierung in einem Vortexer (Vortexer Reax, Heidolph, Schwabach) gemischt. Anschließend wurden je 145µl des Reagenz auf alle Proben gegeben, die Platten mit Hilfe eines Grippers in das Fluoreszenzmessgerät (Victor³ 1420 Multilabel Counter; Firma Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA) transportiert und anschließend durch Kreisen für 30 Sekunden gut gemischt.

Zur Energiezufuhr wurde eine Anregungswellenlänge von 485 nm verwendet und die Emission bei 535 nm gemessen. Die Detektion der einzelnen Photonen fand mit Hilfe eines Sekundärelektronenvervielfachers (Photomultiplier) statt. Die Messergebnisse wurden direkt von einem Computer (Optiplex GX620 Pentium 4 HT) ausgewertet.

Die gewonnenen Werte wurden in einer 8-Punkt-Kalibrierung mit der Kurve der Standardwerte abgeglichen. Dabei sollte diese einen Pearson-Korrelationskoeffizienten von mindestens $r = 0.99$ ergeben. Für die qualitative SNP-Genotypisierung wurde eine Genauigkeit von +/- 10% akzeptiert.

4.3.3 Genotypisierung

Die in dieser Arbeit untersuchten fünf SNPs befinden sich in Intron 1 und 2 des Gens CHRNA7 im chromosomalen Abschnitt 15q13.3 (National Center for Biotechnology Information NCBI: www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP).

Die Positionen der einzelnen SNPs und deren Allelausprägung sind in Tabelle 4 aufgelistet. Die Genotypisierung der SNPs wurde mit Hilfe des iPLEX-Verfahrens und einer sich anschließenden MALDI-TOF Massenspektrometrie durchgeführt.

Tabelle 4: SNP-Positionen, Chromosomale Position nach Reference assembly, Build 36.3

ID/Accession Number	Contig. Position	Chromosom. Position	Intron	Allele
rs11071503	3125513	30122248	1	C/T
rs6494211	3168145	30164880	1	A/T
rs6494212	3175676	30172411	1	C/T
rs7175581	3176024	30172759	1	A/G
rs12440480	3181948	30178683	2	A/G

4.3.3.1 IPLEX-Verfahren

Das iPLEX-Verfahren (increased Plexing Efficiency and Flexibility for MassARRAY® System through Single Base Primer Extension with Mass-Modified Terminators) besteht aus zwei nacheinander stattfindenden PCR-Schritten (Polymerase Chain Reaction). Es wurde mit dem MassARRAY System der Firma Sequenom (Sequenom, San Diego, USA) nach dem Schema der Sequenom iPLEX Application Note durchgeführt. Im ersten Schritt findet eine Standard-PCR der den jeweiligen SNP umgebenden genomischen Bereiche statt. Nachfolgend wird eine spezielle PCR der vervielfältigten Sequenzen angeschlossen, die ausschließlich der Verlängerung der DNA um die gesuchte Base dient. Für die PCR werden für jeden SNP eigene Primer benötigt. Primer sind Oligonukleotide, die sich spezifisch an die DNA vor die zu bestimmende Sequenz anlagern. Von diesem Startpunkt aus verlängert eine Polymerase dann den gesuchten DNA-Abschnitt. In Tabelle 5 sind die Primer der jeweiligen SNPs aufgeführt.

Tabelle 5: Primersequenzen der zu bestimmenden SNPs

ID/Accession No.	PCR-Primer forward	PCR-Primer reverse	Fragmentlänge
rs11071503	ACGTTGGATGGTTCCTGATG CAAGAAGCTC	ACGTTGGATGAGTTCATCC TGTGTGTTCCC	138 bp
rs6494211	ACGTTGGATGGTGCTAAGTT TCTTTGTATGC	ACGTTGGATGCATTAGAGT GCCTGACATTG	118 bp
rs6494212	ACGTTGGATGCCACAAATG CCTTGGTTAC	ACGTTGGATGAGGACCCCA ATTGTGATGAG	125 bp
rs7175581	ACGTTGGATGTCACTACCCA TTGTCAGCTC	ACGTTGGATGTCAAAGGAC CTACCTCTTGG	129 bp
rs12440480	ACGTTGGATGGAAGATGAGT AGAGGACAGC	ACGTTGGATGTGTTTGCAG TGACAAGGTCC	129 bp

Die benötigten Primer wurden mit Hilfe der Spectrodesigner Software von Sequenom (Sequenom, San Diego, USA) entworfen. Es wurde sichergestellt, dass jeder Primer nicht mit anderen Primern interagiert.

Das Besondere am iPLEX-Verfahren ist die Genotypisierung im Hochdurchsatz mit Hilfe von Multiplex-Reaktionen. In jeder Vertiefung einer 384well Mikroplatte (ABgene, Hamburg) können gleichzeitig bis zu 36 unterschiedliche PCR-Reaktionen ablaufen. Zur schnelleren Bewältigung anfallender Analysen und zur Verringerung der Kontaminationsgefahr wurde ein Pipettierroboter (Microlab 4000; Firma Hamilton) eingesetzt. Die für die PCR benötigten Reagenzien sind im Folgenden aufgeführt.

Standard-PCR

Für die initiale PCR wurden folgende Komponenten in jede Vertiefung pipettiert:

1. 1,850µl H₂O, steril (Purelab ultra, ELGA)
2. 0,625µl PCR-Puffer mit MgCl₂ (Qiagen, Hilden)
3. 0,325µl MgCl₂ (25nM) (Qiagen, Hilden)
4. 0,100µl dNTP Mix (Desoxyribonukleosidtriphosphate) (25nM) (ABgene, Hamburg)
5. 1,000µl Primer Mix (je 500nM) (Qiagen, Hilden)
6. 1,000µl zu bestimmende DNA (5-10ng/µl)
7. 0,100µl Hot Start Taq (Thermus aquaticus)-Polymerase (5U/µl) (Qiagen, Hilden)

Die Platte wurde vorsichtig für eine Minute gevortext (Vortexer Reax, Heidolph, Schwabach) und für die PCR in einen Thermocycler gegeben (GeneAmp, PCR System 9700, Firma Applied Biosystems) mit folgendem Reaktionsablauf:

1. *Initialisierung*: Erhitzen des Reaktionsansatzes auf ca. 95°C für 5 Minuten zur Aktivierung der Hot Start Taq-Polymerase
2. *Denaturierung*: Halten der Temperatur von 95°C für 30 Sekunden; dadurch Trennung der Wasserstoffbrückenbindungen zwischen DNA-Doppelstrang und Erzeugung von Einzelsträngen
3. *Annealing (Primerhybridisierung)*: Abkühlen auf ca. 56°C für 30 Sekunden; Primer (forward bzw. reverse, Tabelle 5) lagern sich jeweils an Matrizenstrang (5'-3'-Richtung) und an Komplementärstrang (3'-5'-Richtung) an

4. *Elongation*: Temperaturerhöhung auf 72°C für eine Minute (Arbeitsoptimum der Taq-Polymerase); Polymerase fügt Nukleotide an Primer an (Zweitstrangsynthese)
5. *Finale Elongation*: bei einer Temperatur von 72°C für 10 Minuten

Schritt zwei bis vier wurden 45 Mal wiederholt, um eine ausreichend hohe Zahl an Templates (Matrizen) für das weitere Vorgehen zu haben. Bei einer Temperatur von 4°C wurden die Proben bis zur Weiterverarbeitung aufbewahrt.

Entfernen freier Nukleotide (Dephosphorylierung)

Bei der initialen PCR werden nicht alle freien Nukleotide des Reaktionsansatzes eingebaut. Da sie bei der Messung des Massenspektrometers störenden Einfluss hätten, wurden sie mit Hilfe der Shrimp Alkaline Phosphatase (SAP) dephosphoryliert. In dieser Form können sie nicht mehr von der Polymerase verwendet werden.

Die Reaktion benötigt folgenden Ansatz:

- 1,530µl H₂O, steril
- 1,700µl SAP-Puffer (Sequenom, San Diego, USA)
- 0,300µl SAP-Enzym (Sequenom, San Diego, USA)

In jede Vertiefung wurden 2µl des obigen Ansatzes gegeben und vorsichtig gevortext (Vortexer Reax, Heidolph, Schwabach). Ein Thermocycler kontrollierte den Reaktionsablauf des kälteresistenten und hitzeempfindlichen Enzyms SAP. Es wurde bei 37°C für 20 Minuten inkubiert und bei 85°C für 5 Minuten inaktiviert. Der Ansatz wurde anschließend zur Aufbewahrung auf 4°C herabgekühlt.

Die iPLEX-Reaktion

Drei Eigenschaften charakterisieren diese PCR-Reaktion:

1. Die Extensionsprimer (Tabelle 6) lagern sich unmittelbar vor den zu untersuchenden SNP an.
2. Zur Basenverlängerung stehen anstatt der üblichen Desoxynukleosidtriphosphate vier Didesoxynukleosidtriphosphate (ddNTP) zur Verfügung. Diese besitzen keine 3'-Hydroxygruppe, über welche die Polymerase Phosphodiesterbindungen zu weiteren Nukleotiden knüpfen könnte. Wurde der Primer also um ein einziges Nukleotid

verlängert, erfolgt ein Kettenabbruch (Prober et al. 1987). Die ddNTPs tragen außerdem spezielle funktionelle Gruppen, die später die Massenunterscheidung erleichtern.

3. Es wird eine spezielle Polymerase verwendet, die ddNTP anhängen kann.

Reaktionsansatz pro Vertiefung:

- 0,755µl H₂O, steril
- 0,200µl iPLEX-Puffer 10x(Sequenom, San Diego, USA)
- 0,200µl iPLEX Abbruch-Mix (Sequenom, San Diego, USA)
- 0,800µl Primer-Mix (7µM-14µM) (Sequenom, San Diego, USA)
- 0,041 µl iPLEX Enzyme (Sequenom, San Diego, USA)

Tabelle 6: Sequenzen der Extensionsprimer

ID/Accession Number	Extensionsprimer
rs11071503	ATCCTGTGTGTTCCCCTCTTAG
rs6494211	ccCTCTGCTACTTTATATATTTTCTGT
rs6494212	ggTTGTTGCAGCTAGCTTT
rs7175581	gGGATCATGAGAGCAGAC
rs12440480	gccgGCTGCCCTATGCACA

Nach Zugabe des Reaktionsgemisches wurde die DNA nach folgendem Schema im Thermocycler prozessiert:

1. *Initiale Denaturierung:* bei 94°C für 30 Sekunden
2. *Denaturierung:* bei 94°C für 5 Sekunden
3. *Annealing:* bei 52°C für 5 Sekunden (5-fache Durchführung)
4. *Extension:* bei 80°C für 5 Sekunden (5-fache Durchführung)
5. *Finale Extension:* bei 72°C für 3 Minuten

Schritt drei und vier wurden jeweils fünf Mal wiederholt und gemeinsam mit Schritt zwei bis fünf 40 Mal durchgeführt. Nach Durchführung des gesamten Programms wurden die Proben auf 4°C abgekühlt.

Zur Probenaufbereitung für das Massenspektrometer wurden alle Alkali- und Erdalkalitionen entfernt, die aufgrund ihrer hohen Affinität zur DNA störende Signale aussenden. Die

Reinigung geschah mit dem Ionenaustauscherharz SpectroClean™ (Sequenom, San Diego, USA).

Messung der Extensionsprodukte im MALDI-TOF

Der MALDI-TOF Massenspektrometer (**M**atrix **A**ssisted **L**aser **D**esorption/**I**onization–**T**ime-**o**f-**F**light) (Sequenom, San Diego, USA) dient zur Massenanalyse von chemischen Verbindungen. Laserbeschuss führt bei der zu analysierenden Substanz je nach Masse und Ladung zur Entstehung von Ionen, die von einem Detektor aufgefangen und in ein elektrisches Signal umgewandelt werden (Abbildung 4). Aufgrund der spezifischen Massen von DNA-Basen erlaubt dieses Verfahren bei sehr hoher Sensitivität (Fehlerrate <0.5%) eine automatisierte Genotypisierung im Hochdurchsatz. Für eine genauere Differenzierung der Basen wurden die im iPLEX-Verfahren angehängten Didesoxynukleotide so modifiziert, dass zwischen ihnen mindestens ein Massenunterschied von 15 Dalton lag. Massenspektren aller nicht eindeutigen Genotypen wurden individuell geprüft und mehrdeutige Genotypen verworfen.

Zur Messung der basenspezifischen Massen wurden die Extensionsprodukte mit dem *MassARRAY Nanodispenser* (Sequenom, San Diego, USA) auf Siliziumchips (SpectroCHIP®bioarray; Sequenom, San Diego, USA) aufgebracht. Auf je einem Chip befanden sich 384 Aussparungen für die zu analysierenden Proben. Auf jeder Position wurde die Probe einer Person analysiert. Jede Vertiefung war mit einer organischen Säure (2-Hydroxypicolinsäure) beladen. Diese verhinderte das Auskristallisieren der DNA-Probe, was die Messung stark erschweren würde. Zur Kalibrierung der unbekannt Basenprodukte wurden Oligonukleotide bekannter Massen aufgetragen.

Die Genchips wurden durch eine Vakuumschleuse in das Massenspektrometer eingeführt. Mittels eines gepulsten Lasers von Nanosekundendauer wurden die Analyten im Hochvakuum beschossen. Das Probenmaterial verdampfte explosionsartig und wurde gleichzeitig ionisiert. Die Ionen wurden in einem elektrischen Feld beschleunigt und deren Flugzeit mittels eines TOF (**T**ime-**O**f-**F**light)-Analysators durch einen Sekundärelektronenvervielfacher (Detektor) gemessen. Das Auftreffen der Ionen erzeugte in ihm einen Sekundärelektronenstrom, dessen Signal an einen Computer weitergegeben wurde. Dieser berechnete in Abhängigkeit von Flugzeit (tof) und Ladungszahl (z) die Masse (m) des Analyten.

Dabei gilt: $t_{of} \sim \sqrt{\frac{m}{z}}$.

Die Flugzeit ist demnach umso länger, je größer der m/z -Quotient ist. Somit gelangen leichte Moleküle mit hoher Ladung schneller an den Detektor als schwere, wenig geladene Moleküle. Aufgrund der unterschiedlichen Massen und Ladungen der angehängten Didesoxynukleotide konnten mit Hilfe der TYPER Analyzer 3.3.0 Software (Sequenom, San Diego, USA) die Basen der einzelnen SNPs identifiziert werden.

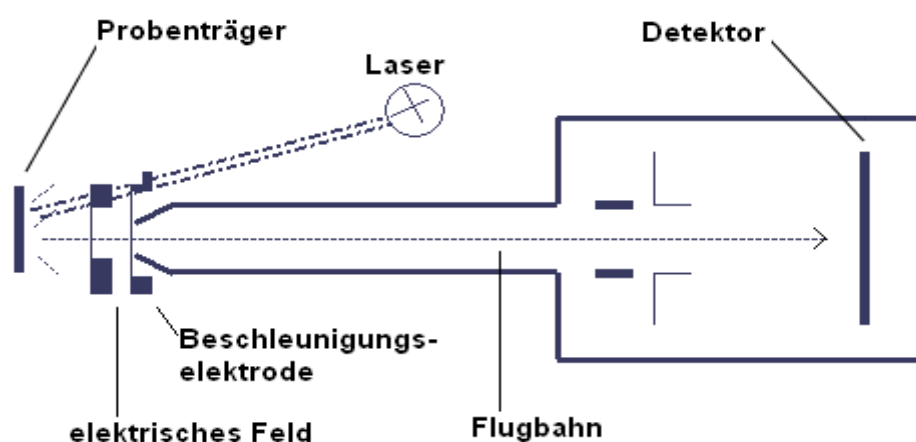


Abbildung 3: Schema zum Aufbau eines Massenspektrometers

4.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der in dieser Arbeit untersuchten 5 SNPs des Gens CHRNA7 erfolgte mit der Software *SPSS 14.0* (Statistical Package for Social Sciences 14.0; SPSS Inc Chicago, USA, 2005). Die Genotypverteilung der Patienten und Kontrollprobanden wurde für jeden SNP mit der Hardy-Weinberg-Formel überprüft. Eine Population liegt außerhalb des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts, wenn bei einem Freiheitsgrad von eins ($df=1$) der Wert von $\chi^2 \geq 3,84$ erreicht wird. Anschließend erfolgte die Signifikanzprüfung der Unterschiede in der Allel- und Genotypverteilung zwischen Patienten und Kontrollen mittels Chi-Quadrat-Test. Für alle statistischen Berechnungen wurde ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ und ein Trend zur Signifikanz ab $p < 0,10$ angenommen.

5 Ergebnisse

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Analyse fünf verschiedener Marker in Intron 1 und 2 des Gens des nikotinischen Acetylcholinrezeptors $\alpha 7$ (CHRNA7). Die in dieser Studie verwendeten Marker waren Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs). Die polymorphen Abschnitte wurden bei schizophreniekranken Personen und einem gesunden Kontrollkollektiv genotypisiert und einer statistischen Signifikanzprüfung unterzogen. Als Signifikanzniveau wurde $p < 0,05$ und als Trend zur Signifikanz $p < 0,10$ gewertet.

Die genotypisierten Marker auf dem Plusstrang waren: rs11071503, rs6494211, rs6494212, rs7175581 und rs12440480. Das Studienkollektiv bestand aus 1125 Personen, von denen 508 an Schizophrenie erkrankte Patienten und 617 gesunde Kontrollprobanden waren.

5.1 Analyse des Markers rs11071503 im Gen CHRNA7

5.1.1 Allelverteilung

Der SNP rs11071503 auf Intron 1 von CHRNA7 zeigt im menschlichen Genom die Ausprägung eines C- oder T-Allels. Das C-Allel zeigte mit ca. 77,9% bei den Kontrollen und 75,9% bei den Patienten ein deutlich häufigeres Auftreten als das T-Allel (Tabelle 7)

Tabelle 7: Allelverteilung des SNP rs11071503

	C-Allel n (%)	T-Allel n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	950 (77,9)	270 (22,1)	1220 (100)
Patienten	757 (75,9)	241 (24,1)	998 (100)
Gesamt	1707 (77,0)	511 (23,0)	2218 (100)

Die Berechnung der Allelverteilung ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen der Patienten- und der Kontrollgruppe (Tabelle 8).

Tabelle 8: Statistische Auswertung der Allelverteilung des SNP rs11071503

χ^2	OR	CI	df	p
1,260	0,916	0,787-1,067	1	0,262

5.1.2 Genotypverteilung

Der am häufigsten anzutreffende Genotyp war der Genotyp C/C mit 61,5% bei den Kontrollen und 57,3% bei den Patienten (Tabelle 9).

Tabelle 9: Genotypverteilung des SNP rs11071503

	Genotyp C/C n (%)	Genotyp C/T n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	375 (61,5)	200 (32,8)	35 (5,7)	610 (100)
Patienten	286 (57,3)	185 (37,1)	28 (5,6)	499 (100)
Gesamt	661 (59,6)	385 (34,7)	63 (5,7)	1109 (100)

Die Genotypverteilung befand sich bei den Patienten, bei den Kontrollen und in der Gesamtstichprobe entsprechend der Hardy-Weinberg-Formel im Gleichgewicht (Tabelle 10).

Tabelle 10: Ergebnisse der Hardy-Weinberg-Berechnung des SNP rs11071503

	χ^2	df	p
Kontrollen	1,452	1	0,228
Patienten	0,073	1	0,787
Gesamt	0,491	1	0,484

Die Genotypverteilung zwischen Patienten und Kontrollen war statistisch nicht signifikant (Tabelle 11).

Tabelle 11: Statistische Auswertung der Genotypverteilung des SNP rs11071503

χ^2	df	p
2,258	2	0,323

5.2 Analyse des Markers rs6494211 im Gen CHRNA7

5.2.1 Allelverteilung

Der SNP rs6494211 auf Intron 1 von CHRNA7 zeigt im menschlichen Genom die Ausprägung eines A- oder eines T-Allels. Das A-Allel war bei den Kontrollen und Patienten mit 64,3% bzw. 66,1% fast doppelt so häufig vertreten wie das T-Allel (Tabelle 12).

Tabelle 12: Allelverteilung des SNP rs6494211

	A-Allel n (%)	T-Allel n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	785 (64,3)	435 (35,7)	1220 (100)
Patienten	670 (66,1)	344 (33,9)	1014 (100)
Gesamt	1455 (65,1)	779 (34,9)	2234 (100)

Bei der Berechnung der Allelverteilung dieses Markers ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen der Patienten- und der Kontrollgruppe (Tabelle 13).

Tabelle 13: Statistische Auswertung der Allelverteilung des SNP 6494211

χ^2	OR	CI	df	p
0,730	1,051	0,938-1,178	1	0,393

5.2.2 Genotypverteilung

Die Genotypen mit der Allelausprägung A/A und A/T waren bei Patienten und Kontrollen am häufigsten vertreten. Der Anteil der beiden Genotypen bei den Kontrollen betrug zusammen 87,4%. Bei den Patienten belief er sich auf 87,2% (Tabelle 14).

Tabelle 14: Genotypverteilung des SNP rs6494211

	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/T n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	252 (41,3)	281 (46,1)	77 (12,6)	610 (100)
Patienten	228 (45,0)	214 (42,2)	65 (12,8)	507 (100)
Gesamt	480 (43,0)	495 (44,3)	142 (12,7)	1117 (100)

Die Genotypverteilung befand sich bei den Patienten, bei den Kontrollen und in der Gesamtstichprobe entsprechend der Hardy-Weinberg-Formel im Gleichgewicht (Tabelle 15).

Tabelle 15: Ergebnisse der Hardy-Weinberg Berechnung des SNP rs6494211

	χ^2	df	p
Kontrollen	0,01	1	0,920
Patienten	1,738	1	0,187
Gesamt	0,663	1	0,415

Die Genotypverteilung zwischen Patienten und Kontrollen war statistisch nicht signifikant (Tabelle 16).

Tabelle 16: Statistische Auswertung der Genotypverteilung des SNP rs6494211

χ^2	df	p
1,800	2	0,407

5.3 Analyse des Markers rs6494212 im Gen CHRNA7

5.3.1 Allelverteilung

Der SNP rs6494212 auf Intron 1 von CHRNA7 zeigt im menschlichen Genom die Ausprägung eines C- oder eines T-Allels. Das C-Allel ist mit 69,5% bei den Kontrollen und 66,6% bei den Patienten doppelt so häufig vorzufinden wie das T-Allel (Tabelle 17).

ERGEBNISSE

Tabelle 17: Allelverteilung des SNP rs6494212

	C-Allel n (%)	T-Allel n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	848 (69,5)	372 (30,5)	1220 (100)
Patienten	675 (66,6)	339 (33,4)	1014 (100)
Gesamt	1523 (68,2)	711 (31,8)	2234 (100)

Die Berechnung der Allelverteilung ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen der Patienten- und der Kontrollgruppe (Tabelle 18).

Tabelle 18: Statistische Auswertung der Allelverteilung des SNP rs6494212

χ^2	OR	CI	df	p
2,206	0,912	0,808-1,030	1	0,137

5.3.2 Genotypverteilung

Genotyp C/C und C/T fanden sich bei der Patienten- und der Kontrollgruppe ungefähr gleich häufig mit insgesamt 45,7% (homozygot für C) und 45,0% (heterozygot) (Tabelle 19).

Tabelle 19: Genotypverteilung des SNP rs6494212

	Genotyp C/C n (%)	Genotyp C/T n (%)	Genotyp 3 T/T n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	288 (47,2)	272 (44,6)	50 (8,2)	610 (100)
Patienten	222 (43,8)	231 (45,6)	54 (10,7)	507 (100)
Gesamt	510 (45,7)	503 (45,0)	104 (9,3)	1117 (100)

Die Genotypverteilung befand sich bei den Patienten, bei den Kontrollen und in der Gesamtstichprobe entsprechend der Hardy-Weinberg-Formel im Gleichgewicht (Tabelle 20).

Tabelle 20: Ergebnisse der Hardy-Weinberg-Formel des SNP rs6494212

	χ^2	df	p
Kontrollen	1,645	1	0,200
Patienten	0,284	1	0,594
Gesamt	1,590	1	0,207

Die Genotypverteilung zwischen Patienten und Kontrollen war statistisch nicht signifikant (Tabelle 21).

Tabelle 21: Statistische Auswertung der Genotypverteilung des SNP rs6494212

χ^2	df	p
2,258	2	0,323

5.4 Analyse des Markers rs7175581 im Gen CHRNA7

5.4.1 Allelverteilung

Der SNP rs7175581 auf Intron 1 von CHRNA7 zeigt im menschlichen Genom die Ausprägung eines A- oder eines G-Allels. Das G-Allel zeigte sich etwas häufiger in der Patienten- als in der Kontrollgruppe. Im gegenseitigen Vergleich der beiden Allele war das G-Allel insgesamt leicht überrepräsentiert (Tabelle 22).

Tabelle 22: Allelverteilung des SNP rs7175581

	A-Allel n (%)	G-Allel n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	546 (44,7)	676 (55,3)	1222 (100)
Patienten	433 (43,4)	565 (56,6)	998 (100)
Gesamt	979 (44,1)	1241 (55,9)	2220 (100)

Die Berechnung der Allelverteilung ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen der Patienten- und der Kontrollgruppe (Tabelle 23).

Tabelle 23: Statistische Auswertung der Allelverteilung des SNP rs7175581

χ^2	OR	CI	df	p
0,373	0,977	0,907-1,052	1	0,541

5.4.2 Genotypverteilung

Das häufigere Auftreten des G-Allels bei den Patienten äußerte sich auf der Ebene der Genotypen in einem deutlichen Überwiegen des homozygoten Genotyps G/G, wohingegen der heterozygote Genotyp A/G bei den Kontrollen sehr stark vertreten war (Tabelle 24).

Tabelle 24: Genotypverteilung des SNP rs7175581

	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	113 (18,5)	320 (52,4)	178 (29,1)	611 (100)
Patienten	107 (21,4)	219 (43,9)	173 (34,7)	499 (100)
Gesamt	220 (19,8)	539 (48,6)	351 (31,6)	1110 (100)

Die Genotypverteilung befand sich bei den Kontrollen und in der Gesamtstichprobe im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht, wich bei den Patienten jedoch leicht davon ab (Tabelle 25).

Tabelle 25: Ergebnisse der Hardy-Weinberg-Formel des SNP rs7175581

	χ^2	df	p
Kontrollen	2,16	1	0,142
Patienten	5,671	1	0,017
Gesamt	0,253	1	0,615

Die Genotypverteilung dieses Einzelnukleotids zeigte zwischen Patienten und Kontrollen statistisch signifikante Unterschiede (Tabelle 26).

Tabelle 26: Statistische Auswertung der Genotypverteilung des SNP rs7175581

χ^2	df	p
7,941	2	0,019

5.4.3 A-Allelträger

Die deutliche Überrepräsentanz des homozygoten Genotyps G/G bei den Patienten war Grund für die Gegenüberstellung dieses Genotyps mit den Genotypen A/A und A/G (Tabelle 27).

Tabelle 27: Häufigkeitsverteilung von Genotyp A/A+A/G und Genotyp G/G des SNP rs7175581

	Genotyp A/A+A/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	433 (70,9)	178 (29,1)	611 (100)
Patienten	326 (65,3)	173 (34,7)	499 (100)
Gesamt	759 (68,4)	351 (31,6)	1110 (100)

Bei der Zusammenfassung aller A-Allel-Träger (A/A+A/G) gegen die homozygoten G-Allel Träger fiel eine leichte statistische Signifikanz auf. An Schizophrenie erkrankte Personen wiesen signifikant häufiger den homozygoten Genotyp G/G auf als gesunde Kontrollen (Tabelle 28).

Tabelle 28: Statistische Auswertung der Häufigkeitsverteilung von Genotyp A/A+A/G und Genotyp G/G des SNP rs7175581

χ^2	OR	CI	df	p
3,894	0,840	0,707-0,999	1	0,048

5.5 Analyse des Markers rs12440480 im Gen CHRNA7

5.5.1 Allelverteilung

Der SNP rs12440480 auf Intron 2 von CHRNA7 zeigt im menschlichen Genom die Ausprägung eines A- oder eines G-Allels. Das G-Allel war in beiden Gruppen deutlich häufiger vertreten und überwog leicht in der Patientengruppe (Tabelle 29).

ERGEBNISSE

Tabelle 29: Allelverteilung des SNP rs12440480

	A-Allel n (%)	G-Allel n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	187 (15,2)	1047 (84,8)	1234 (100)
Patienten	130 (12,8)	886 (87,2)	1016 (100)
Gesamt	317 (14,1)	1933 (85,9)	2250 (100)

Die Berechnung der Allelverteilung ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen der Patienten- und der Kontrollgruppe (Tabelle 30).

Tabelle 30: Statistische Auswertung der Allelverteilung des SNP rs12440480

χ^2	OR	CI	df	p
2,561	0,973	0,941-1,006	1	0,110

5.5.2 Genotypverteilung

Der homozygote Genotyp G/G überwog in beiden Gruppen deutlich mit 74% mit einer verstärkten Ausprägung bei den Patienten (76%) (Tabelle 31).

Tabelle 31: Genotypverteilung des SNP rs12440480

	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n (%)
Kontrollen	17 (2,8)	153 (24,8)	447 (72,4)	617 (100)
Patienten	8 (1,6)	114 (22,4)	386 (76)	508 (100)
Gesamt	25 (2,2)	267 (23,7)	833 (74)	1125 (100)

Die Genotypverteilung befand sich bei den Patienten, bei den Kontrollen und in der Gesamtstichprobe entsprechend der Hardy-Weinberg-Formel im Gleichgewicht (Tabelle 32).

Tabelle 32: Ergebnisse der Hardy-Weinberg-Formel des SNP rs12440480

	χ^2	df	p
Kontrollen	0,785	1	0,376
Patienten	0,016	1	0,899
Gesamt	0,432	1	0,511

Die Genotypverteilung des SNP rs12440480 war zwischen Patienten und Kontrollen nicht von statistischer Signifikanz (Tabelle 33).

Tabelle 33: Statistische Auswertung der Genotypverteilung des SNP rs12440480

χ^2	df	p
2,870	2	0,238

5.6 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die Bestimmung der Allel- und Genotypverteilung der in dieser Arbeit untersuchten polymorphen Marker ergab nur für den Marker rs7175581 auf Intron 1 einen statistisch signifikanten Unterschied ($p=0,019$) in der Genotypverteilung zwischen Patienten und Kontrollen. Der Genotyp G/G war bei den Patienten häufiger vertreten als in der Kontrollgruppe. Zusätzlich konnte festgestellt werden, dass die A-Allelträger signifikant häufiger in der Kontrollgruppe vertreten waren ($p=0,048$). In der Allelverteilung ließen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen nachweisen ($p=0,541$). Die Marker rs11071503, rs6494211, rs6494212 und rs12440480 wiesen keine signifikanten Differenzen in der Allel- oder Genotypausprägung zwischen Patienten und Kontrollen auf.

6 Diskussion

Die vorliegende Fall-Kontroll-Assoziationsstudie ergab eine signifikante Assoziation des Markers rs7175581 im Bereich von Intron 1 des Gens CHRNA7 mit der Schizophrenie. Der Befund ist vereinbar mit einer Beteiligung des nikotinischen Acetylcholinrezeptors $\alpha 7$ bei dieser Erkrankung. Zahlreiche Studien haben in den letzten Jahren unterschiedliche Marker des Gens CHRNA7 im Zusammenhang mit der Schizophrenie untersucht und diesbezüglich abweichende Ergebnisse erhalten, siehe Kapitel 2.3.5.4 Genetische Studien.

Ethnische Zusammensetzung der Studienpopulation

Menschen verschiedener Herkunft zeigen hinsichtlich der Allelausprägung an polymorphen Loci deutliche Differenzen. Dies belegt das internationale HapMap-Projekt, das der Aufzeichnung menschlicher Haplotypen in verschiedenen Bevölkerungsgruppen dient. Der Genotyp A/A einer der hier untersuchten SNPs (rs7175581) ist bei Japanern mit 51% vertreten, wohingegen er bei Europäern mit 15% und bei Afrikanern mit 1,7% auftritt. Der bei Afrikanern mit 87% am stärksten vertretene Genotyp G/G ist bei Han-Chinesen mit 9% deutlich seltener nachweisbar (Hapmap 2019). Ähnlich divergierende Ergebnisse bezüglich der Genotypausprägung zeigen sich auch bei Betrachtung der anderen vier SNPs. Um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten, sollte die Untersuchung von SNPs somit innerhalb einer genetisch möglichst homogenen Population durchgeführt werden. Eine Zusammenfassung verschiedener Bevölkerungsgruppen in einer Stichprobe kann durch die stark variierende Frequenz der Marker zu falschen Ergebnissen führen.

Die ethnischen Auswahlkriterien sollten in jeder Studie genau beschrieben werden, um eine richtige Interpretation der Daten zu ermöglichen. In diesem Punkt liefern einige der Referenzstudien keine Klarheit. In der Studie von de Luca und Mitarbeitern über den Marker D15S1360 wird als Ethnizität der Patienten für 92% kaukasisch angegeben. Die Ethnizität der restlichen 8% bleibt unklar (de Luca et al. 2004). Die Studienbeschreibung von Curtis liefert keine genetische Differenzierung der untersuchten amerikanischen Population (Curtis et al. 1999). Dempster gab bei der Beschreibung der Studienteilnehmer als deren gemeinsames Merkmal die englische Muttersprache an, was keine Aussage über die ethnische Herkunft der Teilnehmer zulässt (Dempster et al. 2006). Auch die Studienbeschreibung von Neves-Pereira und Mitarbeitern liefert keine genetische Präzisierung der von ihnen untersuchten

kanadischen Bevölkerung (Neves-Pereira et al. 1998). Die Ergebnisse der oben erwähnten Studien müssen in Hinblick auf die unklare ethnische Herkunft der Studienpopulation mit Vorbehalt betrachtet werden. Eine Replikation der Ergebnisse in klar definierten, einheitlichen ethnischen Gruppen würde die Aussagekraft der Studien deutlich steigern.

Stephens und Kollegen konnten zeigen, dass in unterschiedlichen ethnischen Populationen verschiedene Allele eines SNPs mit der Erkrankung der Schizophrenie assoziiert sein können (Stephens et al. 2009). So wies eine kaukasische Population bezüglich des SNPs rs3087454 (-1831 bp C/A) mit dem Genotyp „C/C“ eine signifikante Assoziation zu Schizophrenie auf ($p=0,009$), eine afroamerikanische Population jedoch mit dem Genotyp „A/A“ ($p=0,013$). Es wird vermutet, dass in verschiedenen genetischen Populationen variierende Loci und Allelvarianten für die Erkrankung verantwortlich sind (Calabrò et al. 2018). Assoziationen verschiedener Allele des gleichen Genlokus in unterschiedlichen Ethnizitäten sind auch bei anderen Erkrankungen, wie zum Beispiel dem Morbus Parkinson bekannt (Singleton et al. 2003, Tan et al. 2003). Allerdings gibt es auch Berichte positiver Assoziationen verschiedener Allele eines SNPs innerhalb einer Ethnizität (Chen et al. 2004, Sanders et al. 2005). Möglicherweise stellen diese Allele keine für die Krankheit ursächlichen Genvarianten dar, sondern stehen selbst nur in unvollständigem Kopplungsungleichgewicht mit einem krankheitsverursachenden Genlokus (Lin et al. 2007). Dadurch erscheinen sie selbst als positiv mit der Erkrankung assoziiert.

In der vorliegenden Arbeit wurden ausschließlich Personen kaukasischer Abstammung rekrutiert. Es besteht somit eine einheitliche Ethnizität innerhalb des untersuchten genetischen Materials. Allerdings weist die Bevölkerung von Nordamerika und Zentraleuropa hinsichtlich ihrer Allelfrequenzen eine besonders große Bandbreite auf (Weiland et al. 2000). Kaukasische Studienpopulationen besitzen demnach keine optimale genetische Homogenität, was die Aussagekraft von Assoziationsstudien einschränkt.

Populationsgröße

Neben der genetischen Homogenität ist eine ausreichend große Studienpopulation ein wichtiger Faktor bei der Identifizierung suszeptibler Gene multigenetischer Erkrankungen. Um mit 80%iger Wahrscheinlichkeit in Kopplungsstudien einen Locus identifizieren zu können, der mit 5% Varianz zu der Erkrankungswahrscheinlichkeit beiträgt, bedarf es einer Untersuchung von 4.900 Familien. Weniger optimistische Berechnungen für Loci mit einem niedrigeren Beitrag für die Erkrankung führen zu einer Studiengröße von 1 Million

verwandter Individuen (Sullivan et al. 2005). Keine der bisher durchgeführten Studien weisen diese Größenordnung auf. Die erste Kopplungsstudie zu CHRNA7 von Freedman (1997) schloss 9 Familien mit 104 Mitgliedern ein. Alle übrigen Kopplungsstudien bewegten sich in einem Spektrum von 36 bis 392 untersuchten Patienten (arithmetisches Mittel 126 Patienten). Diese Populationsgrößen liegen deutlich unter den oben geforderten Werten. Um die Aussagekraft genetischer Kopplungsstudien zu erhöhen, muss die Größe der Studienpopulationen demnach deutlich angehoben werden.

Assoziationsstudien dienen der Detektion von Genen mit sehr geringer Auswirkung auf die gesuchte Erkrankung und untersuchen nicht-verwandte Personen. Es werden deutlich mehr Studienteilnehmer benötigt als bei Kopplungsstudien. Auch bei Assoziationsstudien steigt die Aussagekraft mit der Anzahl der Studienteilnehmer. Studienpopulationen sollten mindestens einige tausend Patienten und Kontrollen aufweisen, um Allele mit einem mittleren Risikopotential für die Schizophrenie reliabel detektieren zu können (Giegling et al. 2017). Eine der größten Assoziationsstudien zu CHRNA7 und Schizophrenie umfasste 1870 Patienten und 2002 Kontrollen (Sanders et al. 2008). Alle übrigen Assoziationsstudien zu diesem Gen schlossen wesentlich weniger Patienten ein (70 bis 750, arithmetisches Mittel 324). Einen deutlichen Fortschritt in der genetischen Erforschung der Schizophrenie stellen genomweite Assoziationsstudien (GWAS) dar. Diese ermöglichen die Detektion von Allelunterschieden zwischen zwei Gruppen über das gesamte humane Genom, benötigen jedoch große Studienpopulationen, um aussagekräftig zu sein (mindestens 10.000 Probanden). Der Nachteil dieser großangelegten Studien ist die schwierigere Durchführbarkeit einer detaillierten Phänotypisierung (Calabrò et al. 2018). Ein internationaler Zusammenschluss von Forschern (International Psychiatric Consortium) untersuchte in der bisher größten genomweiten Assoziationsstudie zur Schizophrenie über 20.000 Patienten und ca. 40.000 Kontrollen, konnte jedoch für CHRNA7 keinen Nachweis der Assoziation mit der Schizophrenie erbringen (Ripke et al. 2013).

Mit 508 Patienten und 617 Kontrollprobanden stellt unsere Studie eine relativ kleine Fall-Kontroll-Assoziationsstudie zu CHRNA7 dar. Die Ergebnisse sollten demnach unter Vorbehalt betrachtet werden. Eine Replikation der Ergebnisse in größeren Studien wäre erstrebenswert.

Einschlussdiagnosen

Die Aussagekraft einer genetischen Studie wird nicht allein durch die Stichprobengröße bestimmt. Von besonderer Wichtigkeit ist die Gewährleistung einer homogenen Einschlussdiagnose. Von den 35 Referenzstudien zu CHRNA7 untersuchten 28 Studien ausschließlich schizophrene und 7 Studien zusätzlich schizoaffektive oder bipolare Patienten (Tabelle 2 und 3). Fraglich ist, inwiefern Studien mit verschiedenen Einschlussdiagnosen miteinander verglichen werden können. Eine Assoziationsstudie von Stassen und Kollegen lieferte dazu folgende Ergebnisse: Sie beobachteten einen signifikanten Zusammenhang zweier Marker im Genbereich von CHRNA7 bei schizophrenen, schizoaffektiven und bipolaren Patienten. Die höchste Korrelation von Marker und Erkrankung ergab sich bei schizoaffektiv Erkrankten, gefolgt von schizophrenen und zuletzt von bipolaren Patienten (Stassen et al. 2000). Weitere Kopplungs- und Assoziationsstudien konnten bei bipolar Erkrankten einen signifikanten Zusammenhang zu CHRNA7 nachweisen (Craddock 1999; Turecki 2001; Neves-Pereira et al. 1999; Hong et al. 2004). Die Vermutung liegt nahe, dass schizophrene, schizoaffektive und bipolar erkrankte Patienten in der Genregion von CHRNA7 einen gemeinsamen Suszeptibilitätsloкус aufweisen. Das Konzept der Endophänotypen trägt dieser Beobachtung Rechnung. Diese stellen neurobiologische, zeitstabile Korrelate mit messbaren Dysfunktionen dar (z.B. auditorisches P50-Inhibitionsdefizit, Störungen des Arbeitsgedächtnisses). Es wird angenommen, dass sie eine unmittelbarere Auswirkung eines Defekts auf Genebene darstellen als beispielsweise die Diagnose Schizophrenie. Sekundär könnten sie so zur Entstehung unterschiedlicher, psychopathologisch definierter Krankheitsbilder führen (Schmitt et al. 2016). Sollten Endophänotypen von Geneffekten direkter beeinflusst werden, könnten sie die Suche nach Kandidatengen für Erkrankungen mit ätiologischer Heterogenität erleichtern. Eine Endophänotypenstudie, die sich mit Störungen des Arbeitsgedächtnisses beschäftigte, stellte eine signifikante Assoziation der 2bp-Deletion im Fusionsgen CHRFAM7A bei an Schizophrenie Erkrankten fest (Dempster et al. 2006). Es fanden sich jedoch auch positive Assoziationen von Polymorphismen in CHRNA7 mit kognitiven Defiziten bei der bipolaren Störung, der Trisomie 21 und dem Morbus Parkinson (Quik et al. 2013, Deutsch et al. 2014)

Der Endophänotyp des auditorischen *Gating*-Defizits wurde nicht nur bei schizophrenen Patienten und deren nahen Verwandten gefunden (Clementz et al. 1998, Freedman 1997). Auch bipolar Erkrankte zeigten ein P50-*Gating*-Defizit während manischer Phasen (Baker et al. 1987). Sanchez-Morla fand in einer Studie eine Häufung des P50-Inhibitionsdefizits bei

schizophrenen Patienten von 69% und bei bipolar Erkrankten mit psychotischen Symptomen von 66% (Sanchez-Morla et al. 2008). In einer Studie von Martin bewegte sich der mittlere P50-Wert schizoaffectiver Patienten zwischen dem gesunder und dem schizophrener Teilnehmer. Die Studie wies eine Assoziation eines Markers in *CHRNA7* bei schizoaffectiven Patienten mit dem P50-Defizit nach (Martin et al. 2007). Weitere Studien zeigten bei bipolar Erkrankten signifikante Kopplungen und Assoziationen von Markern aus *CHRNA7* mit dem auditorischen *Gating*-Defizit (Craddock 1999; Turecki 2001, Neves-Pereira et al. 1999, Hong et al. 2004).

Der Endophänotyp des auditorischen P50-Defizits findet sich demnach bei bipolaren, schizoaffectiven und schizophrenen Patienten und bei gesunden Verwandten. Dies unterstützt die Annahme, dass sich genetische Variationen in Form eines Endophänotypen äußern und zum Ausbruch verschiedener Erkrankungen beitragen können. Außerdem lässt sich vermuten, dass das Auftreten eines einzigen Endophänotypen nicht ausreicht, um eine psychiatrische Erkrankung zu verursachen. Psychopathologische Symptome finden sich erst nach dem Zusammentreffen mehrerer Endophänotypen. Bipolare, schizoaffectiv oder schizophrene Störungen weisen ähnliche Symptome, wenn auch in unterschiedlicher Gewichtung, auf. Patienten aus dem affektiven Spektrum können psychotische Symptome entwickeln, ebenso wie schizophrene Patienten häufig affektive Störungen aufweisen (Ebert 2005). Ein häufig replizierter Befund ist die These, dass gleiche Kandidatengene für die Pathogenese von Psychosen bei schizophrenen, schizoaffectiven und bipolaren Erkrankungen verantwortlich sein könnten (Craddock et al. 2006). So fand sich in mehreren Studien eine positive Kopplung der Genregion *CHRNA7* mit der bipolaren Erkrankung bei dem Subtyp, der psychotische Symptome aufwies (Edenberg et al. 1997, Faraone et al. 2004a, Turecki et al. 2001). Dies deutet auf Überschneidungen genetischer Mutationen bei diesen psychiatrischen Störungen hin (Schmitt et al. 2016, Giegling et al. 2017).

Ähnliche Symptome bei unterschiedlichen Erkrankungen könnten somit auf gemeinsamen genetischen Ursachen beruhen. Ein Vergleich genetischer Studien mit den Krankheitsbildern Schizophrenie, schizoaffectiv und bipolare Störung erscheint vor allem dann als sinnvoll, wenn die Gegenüberstellung an gemeinsamen Symptomkomplexen ausgerichtet ist. In dieser Studie wurden ausschließlich Patienten mit der Einschlussdiagnose Schizophrenie untersucht. Für zukünftige Kandidatengenstudien scheint es ratsam, die Auswahl des Patientenkollektivs unter Berücksichtigung von Endophänotypen anstelle von klinisch-psychiatrischen Diagnosen vorzunehmen, da erstere ein direkteres Abbild der genetischen Ebene darstellen.

Möglicherweise ist die Ausrichtung an Endophänotypen auch bei der Suche nach wirksameren Medikamenten hilfreich (Wallace und Bertrand 2013).

Gütekriterien

Objektivität, Reliabilität und Validität stellen die wichtigsten Gütekriterien empirischer Untersuchungen dar. Obwohl die Diagnosesysteme ICD-10 und DSM-IV zur Verbesserung der Objektivität und Reliabilität bei der Diagnosestellung beitragen, existieren für die meisten psychischen Erkrankungen wie die Schizophrenie keine messbaren Laborwerte oder pathognomonischen Indizien. Die Diagnose beruht auf der Einschätzung des jeweiligen Untersuchers. Um das Risiko einer Fehldiagnose möglichst gering zu halten, erfolgte in unserer Studie eine zweifache Diagnoseabsicherung. Erstens wurden nur Patienten in die Studie eingeschlossen, bei denen schon mindestens einmal im Vorfeld die Diagnose Schizophrenie von einem Psychiater gestellt worden war. In einem zweiten Schritt wurde die Diagnose mit Hilfe des standardisierten Interviewleitfadens für DSM-IV (SKID) überprüft. Die hierfür notwendigen Informationen wurden vom Untersucher durch Anamnese und Verhaltensbeobachtung gewonnen. Dies erforderte die Mithilfe des Patienten und von Seiten des Untersuchers eine Einschätzung des Wahrheitsgehalts der Angaben. Bei psychisch Erkrankten ist dies mit besonderen Schwierigkeiten verbunden. Zum einen fällt es vielen Patienten – vor allem Ersterkrankten – schwer, offen über ihre Symptome zu sprechen. Zum anderen liegt es am Wesen der schizophrenen Erkrankung, dass psychotische Symptome oft nur ungenügend erinnert werden können. Dies kann in einer fehlerhaften Diagnosestellung seitens des Untersuchers resultieren. Auch das Verhältnis zwischen Untersucher und Patient bestimmt den Wahrheitsgehalt der Angaben und hat so Auswirkungen auf die Diagnosestellung.

Bei einigen Fragen des SKID ist der Untersucher aufgefordert, das Vorliegen bestimmter Symptome nach eigener Meinung zu beurteilen, wie etwa das Ausmaß der Denkzerfahrenheit, des desorganisierten Verhaltens oder des inadäquaten Affektes. Schwierigkeiten der Objektivierung eines Symptoms ergeben sich am ehesten bei Merkmalen mit fließendem Übergang von gesund zu krank, z.B. bei der Beurteilung der Affektivität. Für die Mehrzahl der Befundmerkmale ist die Grenze zum Gesunden nicht eindeutig definiert. Sie ist vielmehr unscharf wie z.B. bei Konzentrationsstörungen. Um so mehr nimmt der subjektive Ermessensspielraum des Untersuchers zu, was sich in abweichenden Diagnosen zwischen den Untersuchern äußern kann (Arbeitsgemeinschaft für Methodik und Dokumentation in der

Psychiatrie, 2007). Auch die Angaben in Arztbriefen beruhen auf subjektiven Einschätzungen des betreuenden Arztes und entziehen sich einer nachträglichen Überprüfung.

Das Instruktionsmanual des SKID fordert für dessen Durchführung „klinisch erfahrene Untersucher, die vertraut sind mit der DSM-IV Klassifikation und der Anwendung der entsprechenden diagnostischen Kriterien“ (Wittchen et al. 1997). Um dies zu gewährleisten, wurden alle Untersucher einheitlich in die Bedienung des SKID eingearbeitet und intensiv geschult. Vor Zulassung zur selbstständigen Durchführung des SKID wurden alle Interviewer von der Studienleitung auf möglichst objektive Durchführung und Einhaltung der Diagnosevorgabe geprüft. Trotz ausführlicher Schulung und standardisierter Fragebögen bleibt ein Rest an Subjektivität bei der Diagnosestellung bestehen. Differierende Einschätzungen zwischen den einzelnen Interviewern können nicht vollständig ausgeschlossen werden. Unklare oder grenzwertige Fälle wurden jeweils von derselben Person aus der Studienleitung beurteilt, um so eine weitgehend einheitliche Stichprobe zu garantieren.

Eine Erklärung für die Inhomogenität der Studienergebnisse zu CHRNA7 stellt also unter anderem die Schwierigkeit einer objektiven und reliablen Diagnosestellung in der Psychiatrie dar.

Studiendesign

Ein Teil der Referenzstudien basierte auf Kopplungsanalysen, andere wendeten bei der Untersuchung der Genregion CHRNA7 die Technik der Assoziation an (Tabelle 2 und 3). Beide Studiendesigns dienen der Suche nach Kandidatengen, haben aber verschiedene Ansätze. Kopplungsstudien werden innerhalb möglichst großer Familien durchgeführt und eignen sich vor allem für Krankheiten mit klarem Mendelschen Erbgang. Sie können aber auch bei heterogen verursachten Erkrankungen zur Suche von Genen mit erhöhter Suszeptibilität für das Ausbrechen der Erkrankung eingesetzt werden (Förstl et al. 2006). Die Chance, dabei ein Kandidatengen zu identifizieren, steigt mit der Anzahl an Informationen zu dem gesuchten Gen wie beispielsweise zu dem wahrscheinlich vorliegenden Vererbungsmodus, der Genfrequenz und der Höhe der Penetranz des Gens (Weiland et al. 2000). Diese Angaben können bezüglich der Gene für die Schizophrenie nur gemutmaßt werden. Falsche Annahmen bei der Durchführung der Kopplungsanalysen wirken sich jedoch auf das Ergebnis der Studie aus. Meist sind die Kandidatengenregionen in Kopplungsstudien sehr groß (>1Mb) und enthalten viele Gene (Weiland et al. 2000). Daher gestaltet sich die

Suche nach Kandidatengen selbst bei positiven Kopplungsergebnissen oft als schwierig. Kopplungsanalysen haben also gewisse Schwächen, die beim Einsatz für die Kandidatengensuche heterogener Erkrankungen berücksichtigt werden müssen.

Assoziationsstudien sind hilfreich bei der Eingrenzung der Suche eines Kandidatengens in einer erfolgversprechenden Region. Ihr Vorteil ist die höhere statistische Aussagekraft verglichen mit Kopplungsstudien bei der Identifikation von Regionen mit geringerem Einfluss auf die Erkrankung.

Wie aus Tabelle 2 und 3 ersichtlich, haben sowohl Kopplungs- als auch Assoziationsstudien widersprüchliche Ergebnisse bezüglich der Frage nach einem Zusammenhang von CHRNA7 und der Erkrankung Schizophrenie geliefert. In genomweiten Assoziationsstudien wurde CHRNA7 bisher nicht als Kandidatengen bestätigt. Grund für diese Ergebnisse ist wohl weniger das Studiendesign als vielmehr die Schwierigkeit, Suszeptibilitätsgene komplexer genetischer Erkrankungen nachzuweisen. Möglicherweise besteht für CHRNA7 keine genomweite Signifikanz. Sollten Polymorphismen in CHRNA7 eher seltenere Varianten der Erkrankung Schizophrenie darstellen, muss die Stichprobengröße zur Bestimmung der Genotypen noch erhöht werden. Fehlende Genotypen werden in genomweiten Assoziationsstudien meist geschätzt und stellen somit eine Quelle der Ungenauigkeit dar, die ebenfalls die fehlende Signifikanz von CHRNA7 erklären könnte. Die Durchführung sowohl von Kopplungs- als auch von Assoziationsstudien stellt eine sinnvolle Kombination dar, um jeweils die Vorteile der beiden Studiendesigns auszunutzen.

Heterogenität der Schizophrenie

Eine Schwierigkeit bei der Suche nach Kandidatengen für Schizophrenie bildet das heterogene Erscheinungsbild der Erkrankung. Das Spektrum der Symptome beinhaltet affektive Störungen, hyper- und hypomotorische Bilder, Halluzinationen und Wahnvorstellungen. Dabei variieren die Symptome nicht nur zwischen den Erkrankten, sondern können bei demselben Individuum neben- oder nacheinander existieren.

Abweichende Studienergebnisse bezüglich der Kandidatengene der Schizophrenie könnten durch folgende Überlegungen erklärt werden:

1. Verschiedene Symptome der Schizophrenie könnten Mutationen unterschiedlicher Gene als Ursache haben (Tsuang et al. 1995).
2. Gleiche Symptome könnten durch Gendefekte unterschiedlicher Gene hervorgerufen werden (Lokus-Heterogenität) (Tsuang et al. 1995).

3. Die genetischen Variationen für Schizophrenie weisen eine inkomplette Penetranz auf (Freedman et al. 1997).
4. Verschiedene Mutationen im gleichen Gen könnten dieselben Symptome hervorrufen (Allel-Heterogenität) (Tsuang et al. 1995).

Die in der klinischen Diagnostik übliche Unterteilung in paranoide, hebephrene und desorganisierte Subtypen der Schizophrenie erbrachte bezüglich der genetischen Homogenisierung keine Fortschritte (Zobel et al. 2004). Auch Einzelsymptome oder Kernsymptome schizophrener Patienten wiesen keine stärkere Heritabilität auf als die klinisch-psychiatrische Diagnose der Schizophrenie (Cardno et al. 2002). Das Konzept der Endophänotypen ist eine Möglichkeit, die Probleme einzugrenzen, die das heterogene Erscheinungsbild der Schizophrenie mit sich bringt. Der Vorteil im Vergleich zur Diagnose Schizophrenie liegt in der Annahme, dass weniger Gene mit einer höheren Penetranz die Endophänotypen bedingen und dass Umwelteinflüsse eine geringere Rolle bei deren Entstehen spielen (Gottesmann et Gould 2003). Der Endophänotyp und die ihm zugrundeliegende genetische Variation erlauben im Idealfall Rückschlüsse auf die genetische Konstellation der übergeordneten Erkrankung. Das Konzept der Endophänotypen als neurobiologisch orientierte Klassifikation verspricht demnach bessere Chancen, geeignete Kandidatengene für die Schizophrenie zu finden als die ätiologisch heterogene klinische Diagnose der Schizophrenie (Schmitt et al. 2016).

Während einige Forscher Schizophrenie als eine heterogene Störung beurteilen, die zur besseren Diagnostik in einzelne Subtypen aufgegliedert werden müsse (Tsuang und Faraone 1995), argumentieren andere für das Zusammenfassen schizophrenieartiger Störungen zu einem breiteren Spektrum schizoider Störungen (McGue und Gottesman 1989). Als Begründung wird die These angeführt, dass sich die Auswirkung einer einzelnen Mutation auf ein Kontinuum von Symptomen von leichter bis starker Ausprägung erstreckt. Am Beispiel der formalen Denkstörung kann dies von Aufmerksamkeitsproblemen bis hin zu starker Denkzerfahrenheit reichen. Der unterschiedliche Schweregrad der Symptome hängt dabei nicht nur von der Aktivierung verschiedener mutierter Gene oder Allelvarianten ab, sondern wird auch durch epigenetische und Umweltfaktoren beeinflusst. Epigenetik bezeichnet die zelluläre Weitergabe von nicht in DNA-Sequenzen gespeicherter Information mit Effekten auf molekulargenetischer Ebene (Szyf 2015). Dazu gehören z.B. DNA-Methylierungen oder die Änderung von Histon- und Chromatinstrukturen, was zu Über- oder Unterexpression

entsprechender Gene führen kann. Der epigenetische Status wird möglicherweise zum Teil vererbt, teilweise jedoch auch im Lauf des Lebens erworben durch Umweltfaktoren wie Ernährung, Medikamente, Toxine oder Stress (Giegling et al. 2017). Neben den DNA-Sequenzvariationen versprechen epigenetische Faktoren wichtige Impulse für das Verständnis der Entstehung der Schizophrenie (Owen et al. 2016). Diese Mechanismen könnten die unvollständige Penetranz der Erkrankung bei genetisch identischen Zwillingen im Sinne einer nur 80%igen Erkrankungswahrscheinlichkeit neben Umwelteinflüssen erklären. Bei eineiigen Zwillingen mit und ohne Schizophrenie fanden sich deutliche Hinweise auf eine intraindividuelle epigenetische Varianz relevanter Krankheitsgene (Petronis et al. 2003, Giegling et al. 2017).

Marker

Positive Kopplungen und Assoziationen zur Schizophrenie wurden auf fast allen menschlichen Chromosomen gefunden (Vazza 2007, Maziade et al. 2009, Ripke et al. 2011, Chen et al. 2011, Williams et al. 2011, Stephens et al. 2012, Rees et al. 2014, Ripke et al. 2014, Schmitt et al. 2016, Giegling et al. 2017). Eine Replikation der Ergebnisse in nachfolgenden Studien fiel jedoch teilweise negativ aus (Tsuang et al. 1999, Sanders et al. 2008, Iwata et al. 2007, Cabranes et al. 2013). Die untersuchten Regionen sind meist groß (>1Mb) und enthalten viele Gene, was die Suche nach Kandidatengenen erschwert. Bisher gab es keinen Marker, der in allen Studien positive Ergebnisse erzielte.

Die in dieser Arbeit vorgestellten Referenzstudien untersuchten insgesamt über 100 verschiedene Marker in der Genregion 15q13-14. Am vielversprechendsten erschienen Marker von Studien im teilduplizierten Gen *CHRFAM7A* und in Intron-Regionen von *CHRNA7*, wobei sich das Intron 2 mit den meisten positiven Ergebnissen besonders abhob. In dieser Region befindet sich der am häufigsten untersuchte Marker D15S1360. Weitgehend negative Befunde bezüglich Assoziation oder Kopplung fanden sich bei Markern im Promotorbereich und in Exons (Tabelle 2 und 3).

Der am häufigsten untersuchte Marker D15S1360 wies in kaukasischen Bevölkerungen sowohl positive als auch negative Kopplungsergebnisse bezüglich der Schizophrenie auf (Freedman et al. 1997, Leonard et al. 1998, Stassen et al. 2000, Freedman et al. 2001). Han-chinesische Studien erbrachten ebenfalls divergierende Ergebnisse bei Verwendung des gleichen Markers (Liu et al. 2001, Fan et al. 2006, Iwata et al. 2007). Die Kopplungs- und

Assoziationsereignisse der Marker variieren also nicht nur zwischen unterschiedlichen Populationen, sondern auch in gleichen ethnischen Gruppierungen.

Die vorliegende Arbeit untersuchte fünf bisher nicht publizierte Marker in Intron 1 und 2: rs11071503, rs6494211, rs6494212, rs7175581 und rs12440480. Die Bestimmung der Allel- und Genotypverteilung ergab nur für den Marker rs7175581 auf Intron 1 eine statistisch signifikante Assoziation in der Genotypverteilung der Patientengruppe ($p=0,019$). Die Allelverteilung erbrachte keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollprobanden ($p=0,541$). Das Ergebnis dieser Arbeit unterstützt, wenn auch nur schwach, die Annahme, dass *CHRNA7* einen suszeptiblen Genort für Schizophrenie darstellt. Dabei sind verschiedene Wege der Einflussnahme durch den Polymorphismus rs7175581 denkbar. Der in der Patientengruppe signifikant häufiger aufgetretene Genotyp G/G könnte in einem regulatorischen DNA-Bereich liegen und somit Einfluss auf die Genexpression haben (Greenwood et Kelsoe 2003). Der Genotyp könnte sich auch in einem Kopplungsungleichgewicht mit einem benachbarten, krankheitsverursachenden Genlokus befinden (Lin et al. 2007). Des Weiteren wäre über epigenetische Mechanismen eine Über- oder Unterexpression des Gens *CHRNA7* bei der Genotypkonstellation G/G des SNP rs7175581 denkbar.

Die unterschiedlichen Studienergebnisse zu Markern im Genbereich *CHRNA7* lassen sich am ehesten auf die intra- und interfamiliäre Heterogenität der Schizophrenie zurückführen (Lin et al. 2007). Die Erkrankung wird ausgelöst durch ein komplexes Zusammenspiel von Mutationen multipler Loci und durch äußere Einflüsse (Howes et al. 2004, Thibaut et al. 2015). Es wird angenommen, dass jeweils Kombinationen verschiedener Kandidatengene gemeinsam mit prädisponierenden Umweltfaktoren zum Ausbruch der Erkrankung führen (Lin et al. 2007). Faraone gelang es, für eine Kombination von 16 Genen, die gemeinsam für das Funktionieren von nikotinischen Acetylcholinrezeptoren verantwortlich sind, eine signifikante Kopplung bei schizophrenen Rauchern nachzuweisen (Faraone et al. 2004). Bei einer individuellen Testung jedes einzelnen Gens ergaben sich jedoch nur für das Gen *CHRNA2* und *CHRNA2* signifikante Kopplungen. Die bisher üblichen Kandidatengenstudien zu Schizophrenie befassen sich mit der Analyse einzelner Gene. Die Studie von Faraone legt jedoch nahe, die Gene biologisch interagierender Einheiten in Zukunft gemeinsam zu untersuchen, um zugrundeliegende Pathomechanismen der Schizophrenie zu erkennen. Stephens und Mitarbeiter fanden eine positive Assoziation der Gene *TRPM1*, *KLF13*, *RYR3* und *CHRNA7* in der Region 15q13-14 mit der Schizophrenie. Sie vermuten daher, dass eine

Interaktion der Gene in dieser Region krankheitsverursachend wirkt (Stephens et al. 2012). Nicht alle an Schizophrenie erkrankten Menschen weisen Mutationen in den gleichen Genen auf. Viele verschiedene Konstellationen unterschiedlicher Mutationen sind denkbar, die sich in der klinisch inhomogenen Diagnose der Schizophrenie äußern (Thibaut et al. 2015)

Des Weiteren besteht die Möglichkeit, dass verschiedene Allele eines Kandidatengens mit dem Erkrankungsrisiko assoziiert sind (Lewis et al. 2003). Freedman erbrachte in einer Studie den Nachweis, dass jeweils verschiedene Allele eines Gens für Unterschiede bei der Ausprägung der Erkrankung verantwortlich sind, wie beispielsweise für das Erstmanifestationsalter oder die Schwere der Symptomatik (Freedman et al. 2006). Dies würde bedeuten, dass nicht nur verschiedene Konstellationen von Kandidatengenen bei schizophrenen Patienten untersucht werden müssten, sondern auch verschiedene Allelkombinationen innerhalb eines Genlokus.

Variable Kopplungsungleichgewichte identischer genetischer Regionen bei Individuen derselben Ethnizität führen ebenfalls zu ambivalenten Studienergebnissen (Schneider et al. 2003, Nielsen et al. 2004, Faraone et al. 2002). Kopplungsungleichgewichte werden beeinflusst durch lokale Rekombinationsraten, das Gleichgewicht zwischen Mutation und Selektion und dem genetischen Drift einer Population. Sie zeigen starke Unterschiede zwischen verschiedenen Populationen, auch innerhalb einer Ethnizität (Müllerova et Hozak 2004). Somit ist es denkbar, dass eine Studienpopulation bei einem bestimmten Marker eine positive Krankheitsassoziation aufweist, während der gleiche Marker in einer anderen Population derselben Ethnizität nicht mit der Krankheit assoziiert ist.

Sensorische und kognitive Prozesse

Die Genregion CHRNA7 zeigt als eine der wenigen bekannten Regionen des Genoms eine direkte Assoziation zu einem Phänotypen, der beim Menschen einfach gemessen werden kann, dem auditorischen P50-Inhibitionsdefizit (Freedman et al. 2000). Dieses stellt einen anerkannten Endophänotyp der Schizophrenie dar. Ein Großteil schizophrener Patienten und ihrer nahen Verwandten weisen eine verminderte zerebrale Filterreaktion auf auditorische Reize auf, die mit einer Verzögerung von 50 msec auf einen Erstreiz angeboten werden (Schmitt et al. 2016).

Verschiedene Studien bestätigen die Involvierung des nikotinischen Acetylcholinrezeptors $\alpha 7$ bei diesem auditorischen *Gating*-Defizit. Der nAChR $\alpha 7$ findet sich vor allem in Hirnarealen, denen bei der Filterung sensorischer Reize eine wichtige Aufgabe zukommt, wie

beispielsweise dem Thalamus, dem Hippocampus und dem Corpus geniculatum mediale (Bertrand et al. 2015). Dieses vermittelt als Teil der Hörbahn zwischen dem Colliculus inferior und dem auditorischen Kortex. Es spielt somit eine entscheidende Rolle bei der Prozessierung sensorischer Informationen, was sich gut mit dem P50-*Gating*-Defizit auditorischer Reize bei an Schizophrenie erkrankten Menschen vereinbaren lässt.

Des Weiteren ist der Rezeptor zerebral verstärkt in inhibitorischen Kreisläufen integriert (Morita et al. 2014). Fällt durch eine verminderte Anzahl des Rezeptors diese Inhibition geringer aus, könnte dies zu einer verstärkten Weiterleitung sensorischer Reize in kortikale Areale führen. Die elektroencephalographisch gemessene, erhöhte auditorische Reizantwort wäre ein Korrelat dafür.

Eine Verbesserung dieses *Gating*-Defizits wurde bei der Verabreichung von Nikotin beobachtet (Adler et al. 1992, 1993; Lloyd et al. 2000; Raux et al. 2002). Das atypische Neuroleptikum Clozapin führt ebenso wie die partiellen nAChR α 7-Agonisten Tropisetron und DMXB-A [3-(2,4-Dimethoxybenzyliden)-anabasein] zu einer signifikanten Verbesserung der P50-Welle und kognitiver Leistungen bei schizophrenen Patienten (Koike et al. 2005, Olincy et al. 2006, Zhang et al. 2012). Auf fMRT-Bildern konnte eine verringerte hippocampale Aktivität bei schizophrenen Patienten unter DMXB-A-Einnahme während ruhiger Augenfolgebewegungen festgestellt werden, was für eine verbesserte inhibitorische Leistung spricht (Tregellas et al. 2010). Diese Daten unterstützen die Annahme einer Beteiligung des Rezeptors nAChR α 7 an dem P50-Inhibitionsdefizit und in diesem Zusammenhang an der Schizophrenie.

Im Mausmodell konnte bei einer Blockade des Rezeptors eine auditorische Filterstörung nachgewiesen werden, während der selektive, positive allosterische Modulator PNU-120596 zu einer Verbesserung des *Gating*-Defizits führte (Stevens et al. 1998, Stevens et al. 2015). Antagonisten muskarinerges oder hochaffiner nACh-Rezeptoren zeigten keinen Effekt (Leonard et al. 2000). Polymorphismen in CHRNA7 bei der Maus resultieren in einer verringerten Expression der Rezeptoren (Stitzel et al. 1996) und gleichzeitig in einem signifikant reduzierten auditorischen *Gating* (Stevens et al. 1996). Eine Studie an α 7-*knock-out* Mäusen stellte eine leichte Verschlechterung des Arbeitsgedächtnisses dieser Tiere fest (Fernandes et al. 2006). Tierstudien bekräftigen demnach die These einer Beteiligung von nAChR α 7 bei auditorischen *Gating*-Prozessen und bei kognitiven Aufgaben. Diese beiden Eigenschaften stellen Endophänotypen der Schizophrenie beim Menschen dar (Cannon et al.

2005, Freedman et al. 2001b). Die Ergebnisse dieser Studien sprechen für eine Involvierung des Gens CHRNA7 und seines Rezeptors bei dem Krankheitsprozess der Schizophrenie.

In genetischen Studien wurden wiederholt positive Kopplungen und Assoziationen des P50-Defizits mit Polymorphismen in der Genregion des nikotinischen ACh-Rezeptors $\alpha 7$ nachgewiesen (Leonard et al. 2002). Unter anderem fanden sich positive Assoziationen mit der 2bp-Deletion der teilduplizierten Region CHRFAM7A (Lai et al. 2001, Raux et al. 2002). Die vorliegende Arbeit ergab eine signifikante Assoziation des SNPs rs7175581 in Intron 1 von CHRNA7 mit der Schizophrenie. Auf eine Assoziation mit Endophänotypen wurde nicht getestet.

Rauchen und Schizophrenie

Die Erkrankung der Schizophrenie und der Nikotinabhängigkeit sind eng miteinander verbunden. Dies wird deutlich durch die hohe Prävalenz an starken Rauchern unter schizophrenen Patienten (Kalman et al. 2005, Kunii et al. 2015), das deutlich frühere Ersterkrankungsalter von Rauchern (Goff et al. 1992), eine ausgeprägtere Positiv- und Negativsymptomatik und die durchschnittlich höhere stationäre Aufenthaltsdauer von Rauchern unter Schizophrenie-Kranken (Covey et al. 1998). Für einen Zusammenhang der beiden Größen sprechen außerdem die verminderte Anzahl und Funktion nikotinischer ACh-Rezeptoren $\alpha 7$ im Hippocampus, im Nucleus reticularis thalami und präfrontalen Kortex bei schizophrenen Patienten (Mexal et al. 2010, Bertrand et al. 2015, Kunii et al. 2015), die Verminderung von Negativsymptomen unter Nikotinkonsum (Smith et al. 2002) und eine Verbesserung von Aufmerksamkeit, Arbeitsgedächtnis und ruhiger Augenfolgebewegungen nach Nikotinkonsum (Mirza 1998, Olincy et al. 1998, Levin et al. 2000, Sherr et al. 2002, Depatie et al. 2002, Sacco et al. 2005, Smith et al. 2006, Leonard et al. 2007, Hamsch et al. 2014).

Der ätiologische Zusammenhang beider Größen ist bisher nicht geklärt. Es werden vier Modelle diskutiert, von denen das erste eine voneinander unabhängig erhöhte Vulnerabilität für beide Störungen postuliert – beispielsweise im Rahmen eines gestörten Stressbewältigungsmechanismus oder einer prädisponierenden Persönlichkeitsausprägung. Das Modell der sekundären Substanzstörung betrachtet den Nikotinkonsum als Selbstmedikation zur Verbesserung schizophrener Symptome. Das dritte Modell sieht den Substanzkonsum als Auslöser der psychotischen Erkrankung an, während das bidirektionale Modell von einer Aufrechterhaltung beider Störungen durch die gemeinsame

neurobiologische oder psychologische Interaktion ausgeht (Müser et al. 1998, Wobrock et al. 2005).

Mehrere Studien unterstützen die These der Selbstmedikation und plädieren für einen Zusammenhang beider Faktoren auf biologischer Ebene (Leonard 1998, Akbarian et al. 2015). Dieser könnte unter anderem über den nACh-Rezeptor $\alpha 7$ bestehen. Das auditorische *Gating*-Defizit, ein Endophänotyp der Schizophrenie, der nachweislich mit obigem Rezeptor in Zusammenhang steht, normalisiert sich bei schizophrenen Patienten und bei nichtrauchenden, nicht an Schizophrenie erkrankten Verwandten unter Nikotinkonsum (Adler et al. 1992, 1993; Lloyd et al. 2000, Raux et al. 2002). Das atypische Neuroleptikum Clozapin führt einerseits zu einer Verminderung des Rauchverhaltens unter Schizophrenie-Kranken (McEvoy 1999) und bewirkte andererseits eine Normalisierung des P50-Defizits (Nagamoto et al. 1996). Als Antagonist des 5HT₃-Rezeptors vermittelt Clozapin unter anderem die Ausschüttung von Acetylcholin (Shirazi 2000). Dessen Wirkung über den nAChR $\alpha 7$ stellt eine mögliche Erklärung für die Reduktion des Rauchverhaltens und die verbesserte Prozessierung sensorischer Reize dar. Die beschriebene Wirkung von Clozapin unterstützt die Hypothese der Selbstmedikation schizophrener Patienten mit Rezeptor-Agonisten wie Nikotin. Die genannten Effekte konnten bei dem Neuroleptikum Haloperidol, das hauptsächlich über eine Blockade des D₂-Rezeptors wirkt, nicht nachgewiesen werden (Adler et al. 1986). Auch der $\alpha 7$ -Agonist Vareniclin führte zu einer Verringerung des Nikotinkonsums und wies eine positive Wirkung auf kognitive Funktionen auf (Smith et al. 2009, Williams et al. 2012). Eine Studie zum selektiven $\alpha 7$ -Agonisten AR-R17779 lässt vermuten, dass die Verbesserung von Lernen und Gedächtnis bei schizophrenen Patienten über den nACh-Rezeptor $\alpha 7$ beeinflusst wird, da der Rezeptoragonist die Wirkung von Nikotin diesbezüglich übertraf (Levin 1999). Mexal konnte im Hirn von schizophrenen Nichtrauchern sowohl eine Verminderung der Transkription als auch der Translation des Rezeptors nAChR $\alpha 7$ im Vergleich zu Kontrollprobanden feststellen. Durch Nikotinkonsum der schizophrenen Patienten stieg die Genexpression auf den Level der Kontrollen an (Mexal et al. 2010). Trotzdem weisen Menschen, die an Schizophrenie erkrankt sind und rauchen, eine 50% geringere Dichte an nAChR $\alpha 7$ im Hirn auf (Freedman et al. 1995, Breese et al. 2000). Grund hierfür könnte eine fehlerhafte Zusammensetzung oder ein falscher Einbau des Rezeptors in die Membran der Nervenzellen sein (Sinkus et al. 2015). Als mögliche Ursache kommt beispielsweise ein Gendefekt in der Genregion CHRNA7 z.B. durch Einbau der fehlerhaften Genprodukte dup $\alpha 7$ und dup $\Delta\alpha 7$ der teilduplizierten Region CHRFAM7A in Frage.

Das Rauchverhalten scheint durch eine familiäre Vulnerabilität für Schizophrenie beeinflusst zu sein. So wies eine Zwillingsstudie bei nicht erkrankten Zwillingen schizophrener Patienten eine erhöhte Anfälligkeit für Nikotinkonsum nach (Lyons et al. 2002). Genetische Studien erbrachten bisher keine einheitlichen Ergebnisse bezüglich einer Kopplung oder Assoziation von Rauchen bei Schizophrenie zu der Genregion CHRNA7. De Luca und Mitarbeiter berichteten von einer signifikanten Assoziation des Haplotyps (D15S1360/-2344A/C) in CHRNA7 zu Rauchern, der bei schizophrenen Rauchern besonders stark ausgeprägt war (De Luca et al. 2004). Die Arbeitsgruppe um Stassen fand eine Assoziation verschiedener Marker in CHRNA7 mit Schizophrenie, wies aber keinen Unterschied zwischen Rauchern und Nichtrauchern nach (Stassen et al. 2000). Eine weitere Studie zu CHRNA7 erbrachte keinen Hinweis einer Assoziation zum Rauchverhalten der schizophrenen Patienten (Zammit et al. 2007). Faraone gelang es, für eine Kombination von Genen, die gemeinsam für das Funktionieren von nACh-Rezeptoren verantwortlich sind, eine signifikante Kopplung bei schizophrenen Rauchern nachzuweisen (Faraone et al. 2004). Bei einer individuellen Testung jedes einzelnen Gens ergaben sich jedoch nur für das Gen CHRNA2 und CHRNB2 signifikante Kopplungen. CHRNA7 erreichte einen p-Wert von $p=0,095$.

Die genannten Ergebnisse lassen einen Zusammenhang zwischen dem Verlangen nach Nikotin und einer Minderfunktion des nACh-Rezeptor $\alpha 7$ vermuten. In der vorliegenden Studie wurden Raucher und Nichtraucher nicht gesondert evaluiert.

Anatomische und funktionelle Korrelate

Eine Arbeitsgruppe um Breese untersuchte Veränderungen der nACh-Rezeptor $\alpha 7$ -Dichte im Hirn von schizophrenen Patienten (Breese et al. 1997). Sie erbrachte eine verminderte Rezeptordichte vor allem in den Hirnregionen des Hippocampus, Thalamus, Striatum, Gyrus cinguli und des frontalen Kortex. In einer Postmortem-Studie fand sich eine Reduktion der Bindungsstellen des spezifischen $\alpha 7$ -Rezeptorantagonisten α -Bungarotoxin in der hippocampalen CA1- und CA3-Region um 50% (Freedman et al 1995). Eine verminderte α -Bungarotoxin-Bindung und eine verminderte nAChR $\alpha 7$ -Immunreaktivität wurden außerdem im präfrontalen Kortex und im Nucleus reticularis thalami gefunden (Bertrand et al. 2015). Eine verminderte Expression des nAChR $\alpha 7$ im Nucleus reticularis thalami wurde auch von Leonard und Court und im gesamten Kortex von Guan gemessen (Leonard et al 2000; Court et al. 1999; Guan et al. 1999). Mexal und Kollegen gelang der Nachweis, dass die verminderte Rezeptordichte möglicherweise Folge einer gestörten Anordnung der Rezeptoren an der

Zelloberfläche der Neuronen sei, welche durch eine Mutation in *CHRNA7* bedingt sein könnte (Mexal et al. 2010). Die Integration von Genprodukten der teilduplizierten Region *CHRFAM7A* (*dupα7*- und *dupΔα7*-Untereinheiten) in den Rezeptor resultiert zusätzlich in einer verminderten Sensitivität des Rezeptors gegenüber Acetylcholin und dem $\alpha7$ -Agonisten Vareniclin (Wang et al. 2014).

Ein Funktionsverlust der betroffenen Areale führt zu Symptomen, wie sie bei einer Schizophrenie typisch sind. Der Hippocampus wird als entscheidende Hirnregion für die Gedächtniskonsolidierung und die Koordinierung von Gedächtnisinhalten angesehen. Er übernimmt eine wichtige Aufgabe bei Lernprozessen und der Generierung von Informationen für das Langzeitgedächtnis (Behrends et al. 2009). Die verminderte Expression des *nAChRα7* in diesem Bereich bei schizophrenen Patienten wäre eine Erklärung für die kognitiven Defizite dieser Personen.

Der Thalamus erfüllt im Zusammenspiel mit Striatum und Pallidum eine wichtige Aufgabe bei der Reizfilterung sensorischer Eindrücke (Bertrand et al. 2015). Die vom Kortex als unwichtig eingestuft Reize führen zu einer Inhibition des Thalamus. Dadurch wird der Reizeinstrom unterbrochen (Behrends et al. 2009). Sinn des komplexen Filtermechanismus könnte ein Schutz des Kortex vor Überlastung durch irrelevante Stimuli sein. Bei schizophrenen Patienten scheint diese Filterfunktion gestört zu sein, was zu entsprechenden Symptomen im Sinne einer Reizüberflutung führt (Möller et al. 2017).

Die vorgefundene, verminderte Anzahl von *nAChRα7* im Thalamus schizophrener Patienten ist gut vereinbar mit der Hypothese einer inadäquaten Prozessierung sensorischer Reize, an welcher der Rezeptor beteiligt zu sein scheint (Koike et al. 2005, Olincy et al. 2006, Bertrand et al. 2015). Der Nucleus reticularis thalami ist der wichtigste Knotenpunkt für inhibitorische Impulse im Thalamus, umgibt alle Kerne des Thalamus und wird von allen thalamo-kortiko-thalamischen Schleifen durchlaufen (De Biasi 1986, Mitrofanis 1993). Er erhält durch abzweigende Faserbündel Kopien aller Projektionen des Kortex auf den Thalamus in Form von erregenden Signalen. Reziprok inhibiert er das vom Kortex erregte thalamische Areal mit zeitlicher Verzögerung (Behrends et al. 2009). Der Nucleus reticularis thalami ist eines der Hauptzentren der *nAChRα7*-Expression bei Gesunden (Breese et al. 1997). Die in diesem Kern vorgefundene, verminderte Rezeptoranzahl schizophrener Menschen resultiert möglicherweise in einem Funktionsverlust inhibitorischer Impulse, welcher für die verringerte Filterfunktion auditorischer Reize verantwortlich sein könnte (Leonard et al. 2000, Court et al. 1999, Freedman et al. 2000).

Das Frontalhirn hat eine enge Verbindung zu sensorischen Assoziationsgebieten, dem limbischen System und den Basalganglien. Es dient der emotionalen Integration sensorischer Signale und ist das oberste Kontrollzentrum für eine situationsangemessene Handlungssteuerung (Behrends et al. 2009). Störungen im Frontalhirn führen zu Funktionsverlusten des Kurzzeitgedächtnisses und der Langzeitplanung sowie zu perseverierendem und unflexiblem Verhalten. Da diese Symptome einer gestörten Frontalhirnfunktion bei einem Großteil der schizophrenen Patienten anzutreffen sind, deutet der Befund einer verminderten Expression des nAChR α 7 in dieser Region auf eine Beteiligung des Rezeptors bei der Schizophrenie hin (Brunnhuber 2004, Freedman et al. 2000).

Eine Studie von Zell- und Kortexdichte im dorsolateralen präfrontalen Kortex schizophrener Patienten ergab eine Gewebeschrumpfung bei erhaltener Zellzahl, was auf einen Verlust von Nervenfasern, Synapsen, Axonen und Dendriten hinweist. Dies war nicht Folge einer neuroleptischen Behandlung. Unter Neuroleptikagabe wurden entgegengesetzte Effekte beobachtet. Bei den Veränderungen handelte es sich nicht um Zellausfälle wie bei klassischen neurodegenerativen Krankheiten, sondern um subtile Alterationen im subzellulären, synaptischen und dendritischen Bereich (Möller et al. 2017). Eine Verminderung dendritischer Ausläufer an frontalen Pyramidenzellen und im Hippocampus zeigte sich vor allem an Interneuronen und in inhibitorisch wirkenden Kreisläufen (Glantz et al. 2000; Sawada et al. 2003). In diesen ist der nACh-Rezeptor α 7 besonders häufig vertreten (Freedman et al. 1993, Morita et al. 2014). Die verringerte Arborisierung von Neuronen im frontalen Kortex wird demnach möglicherweise durch einen Funktionsverlust von nAChR α 7 an Interneuronen und in inhibitorischen Kreisläufen ausgelöst. Der nACh-Rezeptors α 7 hat eine wichtige Funktion bei der Kontrolle des intrazellulären Calciumhaushalts (Ren et al. 2005, Bertrand et al. 2015). Eine erniedrigte oder zu hohe intrazelluläre Calciumkonzentration kann zu Neuritenretraktion, Wachstumsinhibition, Dendritenverkürzung und im schlimmsten Fall zur Apoptose führen (Bertrand et al. 2015). Neben Störungen in dopaminergen Kreisläufen scheinen Fehlfunktionen von Calciumkanälen bei der Ätiologie der Schizophrenie eine entscheidende Rolle zu spielen (Ripke et al. 2013, Schmitt et al. 2016).

Der Rezeptor wird in besonders hoher Zahl in der fetalen Hirnentwicklungsphase exprimiert (Hohmann 1998). Dies unterstreicht seine wichtige Funktion bei der Differenzierung, der Migration und der Synapsenbildung von Nervenzellen (Bertrand et al. 2015).

Perspektiven

Die vorliegende Arbeit ergab eine signifikante Assoziation in der Genotypverteilung des SNP-Markers rs7175581 in Intron 1 des Gens *CHRNA7* zur Schizophrenie. Dies deutet auf einen Zusammenhang des Gens mit der Erkrankung hin. Insgesamt fielen die Ergebnisse genetischer Studien diesbezüglich jedoch ambivalent aus. Zahlreiche Studien zu Rezeptorexpression und Agonisten/Antagonisten-Wirkung unterstützen die These einer Beteiligung des nikotinischen Acetylcholinrezeptors $\alpha 7$ bei der Schizophrenie. Ob das genannte Gen ein Kandidatengen der Schizophrenie darstellt, kann noch nicht abschließend beurteilt werden. Für aussagekräftige Ergebnisse bei der Erforschung von Kandidatengenen der Schizophrenie sollten in zukünftigen Studien folgende Kriterien beachtet werden:

1. Die Studienpopulation muss ausreichend groß sein. Assoziationsstudien sollten mindestens jeweils tausend Patienten und Kontrollen aufweisen, um Allele mit einem mittleren Risikopotential für die Schizophrenie reliabel detektieren zu können (Giegling et al. 2017). Nur in großen Populationen ist es möglich, die Effekte von Sequenzvariationen mit geringer, aber vorhandener Auswirkung auf die Erkrankung zu messen. Die aktuellen GWAS stellen einen Schritt in diese Richtung dar.
2. Die genetische Herkunft der untersuchten Population muss homogen sein. Einige wenige Studien konzentrierten sich auf die Untersuchung genetisch äußerst spezifischer Populationen (z.B. azorische oder aschkenasisch-jüdische Bevölkerung (Xu et al. 2001, Fallin et al. 2003)). Die meisten Studien orientierten sich bei der Rekrutierung jedoch an großen Volksgruppen (Afrikaner, Kaukasier, Han-Chinesen, indigene Bevölkerung Amerikas), die eine Vielzahl verschiedener Völker subsumieren. Da Menschen gleicher Ethnizität jedoch Unterschiede bei Kopplungsungleichgewichten in identischen genetischen Regionen aufweisen, könnte eine genauere Beachtung der Subpopulationen exaktere Daten bezüglich genetischer Marker für die jeweilige Bevölkerung liefern (Schneider et al. 2003, Nielsen et al. 2004, Müllerova et Hozak 2004).
3. Genetische Kopplungs- oder Assoziationsanalysen sollten nicht nur auf klinisch-psychiatrischen Diagnosen nach ICD-10 oder DSM-V fundieren. Die Studienpopulation muss auf neuropsychologische und neurophysiologische Normabweichungen, sogenannte Endophänotypen, hin untersucht und genetisch getestet werden. Endophänotypen scheinen ein näheres Abbild der Wirkung bestimmter Gene zu sein und könnten somit das

Auffinden suszeptibler Gene erleichtern. Einige der Referenzstudien konnten signifikante Kopplungen und Assoziationen bestimmter Marker der Genregion CHRNA7 mit dem Endophänotyp des verminderten auditorischen *Gatings* (P50-Defizit) nachweisen (Freedman et al. 1997, Kaufmann et al. 1998, Lai et al. 2001, Leonard et al. 2002, Raux et al. 2002). Da auch biochemische und pharmakologische Studien eine Beteiligung des nACh-Rezeptors $\alpha 7$ bei der Filterung sensorischer Reize nahelegen, eignen sich Endophänotypen möglicherweise auch für die Entwicklung neuer medikamentöser Behandlungsansätze (Wallace und Bertrand 2013). Weitere Studien sind nötig, um den Zusammenhang des Gens CHRNA7 und seines Rezeptors mit dem auditorischen *Gating*-Defizit zu klären.

4. Bei der Auswahl der Marker sollte die Abdeckung des Gens im Sinne des Kopplungsungleichgewichts berücksichtigt werden. Je enger die Markerdichte ist, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit, die Rolle von CHRNA7 als Suszeptibilitätslokus der Schizophrenie bestätigen zu können. Um eine stabile Kosegregation zwischen einer Störung und einem Gen über das gesamte Genom hinweg feststellen zu können, wird eine Markerdichte von 1 Marker/3kb empfohlen (Carlson et al. 2003).
5. Gene von funktionell zusammenhängenden Einheiten, die möglicherweise zum Ausbruch der Schizophrenie beitragen, sollten gemeinsam untersucht werden. Dies könnte die Chance erhöhen, relevante Kandidatengene aufzudecken.
6. Es muss sowohl auf funktionelle Sequenzvariationen als auch auf epigenetische Phänomene und Mutationen in regulatorischen DNA-Bereichen geachtet werden (Giegling et al. 2017).

Die bisherigen Ergebnisse zu CHRNA7 als Kandidatengen der Schizophrenie sind uneinheitlich. Neue Erkenntnisse über eine Veränderung der Rezeptorfunktion oder -anzahl bei an Schizophrenie Erkrankten sind Voraussetzung für die Entwicklung von Medikamenten mit gezielterem Wirkspektrum. SNP-Analysen eröffnen je nach Auswirkung der Mutation dabei die Möglichkeit einer personalisierten Medizin (Bertrand et al. 2015).

Die erste klinische Studie einer Medikamentenwirkung am nAChR $\alpha 7$ erfolgte mit DMXB-A [3-(2,4-Dimethoxybenzyliden)-anabasein], einem partiellen Agonisten des Rezeptors (Olincy et al. 2006). Dieser verbesserte sowohl das P50-Defizit als auch die Aufmerksamkeit bei an Schizophrenie erkrankten Menschen. Eine Studie mit dem $\alpha 7$ -Agonisten Vareniclin führte bei Patienten mit einer Schizophrenie zu einer Abnahme des Nikotinkonsums sowie zu einer

Verbesserung der kognitiven Funktionen (Smith et al. 2009, Williams et al. 2012). Bei dem $\alpha 7$ -Agonisten RG3487 wurde eine erhöhte Dopamin- und ACh-Freisetzung im präfrontalen Kortex und Hippocampus der Ratte beobachtet. Bei schizophrenen Patienten führte dessen Gabe zu einer leichten Abnahme der Negativsymptomatik. In einer weiteren randomisierten, Placebo-kontrollierten Phase 2-Doppelblindstudie mit Enceniclin und Tropicisetron, zwei $\alpha 7$ -Agonisten und 5HT₃-Rezeptor-Antagonisten, konnte eine Verbesserung der Aufmerksamkeit und des sensorischen Gating-Defizits bei schizophrenen Patienten nachgewiesen werden (Bertrand et al. 2015).

Mögliche Ansatzpunkte für weiterführende Studien im Genbereich von CHRNA7 stellen die teilduplizierte Region CHRFAM7A sowie die teils auftretende 2bp-Deletion CHRFAM7A Δ 2bp dar, welche in mehreren Studien positive Assoziationen mit dem P50-Defizit, Störungen des Arbeitsgedächtnisses und mit der Schizophrenie aufwies (Lai et al. 2001, Raux et al. 2002, Sinkus et al. 2009). Die Schwierigkeit von Medikamentenstudien zu der teilduplizierten Region besteht darin, dass sich diese nur im menschlichen Genom wiederfindet und somit eine Testung an Tieren nicht möglich ist (Sinkus et al. 2015). In einer Arbeit von Kalmady und Kollegen wurde ein signifikanter Anstieg der Genexpression von CHRFAM7A in Lymphozyten bei 38 Neuroleptika-naiven Patienten nach Beginn einer antipsychotischen Behandlung gemessen (Kalmady et al. 2018). Die Genexpression stand in inverser Assoziation mit der bei den Patienten gemessenen Negativsymptomatik. Calabrò und Kollegen wiesen ein besseres Ansprechen auf Neuroleptika gemessen an den Positiv- und Negativsymptomen bei Koreanern im Vergleich zu Kaukasiern in Assoziation mit verschiedenen Markern des Gens CHRNA7 nach (Calabrò et al. 2018).

Die Studienergebnisse zu Agonisten und positiven allosterischen Modulatoren am nikotinischen ACh-Rezeptor $\alpha 7$ sprechen für eine Beteiligung des Rezeptors an kognitiven Prozessen (Baranowska et al. 2017). Die medikamentöse Behandlung kognitiver Defizite, welche ein wichtiger Prädiktor für eine positive Langzeitprognose schizophreniekranker Menschen sind, gestaltet sich aktuell noch als äußerst schwierig. Es bleibt abzuwarten, ob sich der nikotinische ACh-Rezeptor $\alpha 7$ tatsächlich als „eine der vielversprechendsten Zielstrukturen für Medikamente bei kognitiver Beeinträchtigung im Rahmen der Schizophrenie“ (Bertrand et al. 2015) herausstellt.

7 Abkürzungsverzeichnis

5-HT	5-Hydroxy-Tryptamin (Serotonin)
A	Adenin
ACh	Acetylcholin
AL	Aluminium
AMDP	Arbeitsgemeinschaft für Methodik und Dokumentation in der Psychiatrie
AP2	Activating enhancer-binding protein 2- α
bp	Basenpaare
BPRS	Brief psychiatric rating scale, kurze psychiatrische Bewertungs-Skala
C	Cytosin
C-terminal	Carboxyl/Kohlenstoff-haltiges Ende eines Proteins
CA	Cornu ammonis, Ammonshorn, anatomische Struktur im Hippocampus
CHRFAM7A	Hybrid aus dem Gen CHRNA7 und FAM7A
CHRNA7	cholinergic receptor, neuronal nicotinic, alpha-7 subunit; Gen des neuronalen nikotinergen Acetylcholinrezeptors $\alpha 7$
CI	Konfidenzintervall
cM	centi Morgan, Masseinheit für Basenabstände auf der DNA
CREB1	cAMP response element-binding protein 1
D	Dopamin
ddNTP	Didesoxynukleotidtriphosphat
df	degree of freedom, Freiheitsgrad
DISC1	Disrupted-In-Schizophrenia-1, vermutetes Kandidatengen der Schizophrenie
DNasen	Enzyme für den Abbau der DNA
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphat
ds	Doppelstrang
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Diagnostischen und Statistischen Manuals psychischer Störungen
DTNB ₁	Gen für Dysbindin
DTNBP1	Dystrobrevin bindendes Protein 1, Kandidatengen der Schizophrenie
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EGR1	Early growth response factor 1
FAF	Fragebogen zur Erfassung von Aggressivitätsfaktoren
FAM7A	family with sequence similarity 7A
FHAM	Family History Assessment Module

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

FSME	Frühsommermeningoenzephalitis
G	Guanin
GABA	γ -Aminobuttersäure
GABA _A R	bestimmter Subtyp unter den GABA-Rezeptoren
GAD	Glutaminsäuredecarboxylase, katalysiert die Synthese von GABA im Gehirn
GAF	global assessment of functioning, globale Erfassung des Funktionsniveaus
GTS-21	spezifischer $\alpha 7$ Rezeptors-Agonist
ICD-10	International Classification of Diseases, Internationale Klassifikation von Krankheiten
InsP ₃	Inositoltriphosphatkinase
kb	Kilobasen, entspricht tausend Basen der DNA
LD	linkage disequilibrium, Kopplungsungleichgewicht
LEBI	Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar
m	Masse
MALDI-TOF	Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization–Time-of-Flight
MMPI-2	Minnesota Multiphasic Personality Inventory-2
MOCI	Maudsley Obsessional-Compulsive Inventory, Maudsley Zwangs-Inventar
mRNA	messenger ribonucleic acid, Boten-Ribonukleinsäure
N-terminal	Ende eines Proteins, das eine Aminosäure mit freier Aminogruppe besitzt
nAChR $\alpha 7$	nikotinerger Acetylcholinrezeptor, Subtyp $\alpha 7$
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NIMH	National Institute of Mental Health
nm	Nanometer
NRG-1	Gen für Neuregulin 1
NRT	Nucleus reticularis thalami
OR	Odds Ratio
p (statistisch)	p-Wert, probability, Wahrscheinlichkeit; Wert für Signifikanzniveau
p (chromosomal)	kurzer Arm eines Chromosoms
P50	akustisch evoziertes, elektrisches Potenzial eines Reizes, der 0,5s nach einem ersten Reiz angeboten wird
PANSS	Positive and negative syndrome scale, Skala zur Messung der Positiv- und Negativsymptome
PCR	polymerase chain reaction, Polymerasekettenreaktion
q (chromosomal)	langer Arm eines Chromosoms
r	Pearson-Korrelationskoeffizient
rpm	revolutions per minute, Umdrehungen pro Minute
SAP	Shrimp Alkaline Phosphatase

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

SKID I	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM IV, Achse I-Störungen
SKID II	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM IV, Achse II-Störungen
SNP	single nucleotide polymorphism, Einzelnukleotidpolymorphismus
SP1	Specificity protein 1
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
STAXI	State-Trait-Ärgerausdrucks-Inventar
T	Thymin
Taq	Thermus aquaticus, Bakterium, aus dem die Taq-Polymerase stammt
TATA-Box	Thymin-Adenin reiche Region; DNA-Sequenz im Promotorbereich eines Gens
TE	Tris-EDTA-Puffer
TIA	Transitorisch ischämische Attacke
tof	time of flight, Flugzeit
WHO	World Health Organisation
z	Ladung
ZNS	Zentrales Nervensystem
μl	Mikroliter
μs	Mikrosekunden
σ	Sigma, Variable der Standardabweichung
χ ²	Chi-Quadrat-Test; Test zur Überprüfung der Unabhängigkeit zweier (oder mehr) Variablen

8 Literaturverzeichnis

- ADLER, L. E.; HOFFER, L. D.; WISER, A.; FREEDMAN, R. (1993): Normalization of auditory physiology by cigarette smoking in schizophrenic patients. *Am J Psychiatry*, 150 (12), S. 1856-61.
- ADLER, L. E.; HOFFER, L. D.; GRIFFITH, J.; WALDO, M. C.; FREEDMAN, R. (1992): Normalization by nicotine of deficient auditory sensory gating in the relatives of schizophrenics. *Biological psychiatry*, 32 (7), S. 607–616.
- ADLER, L. E.; OLINCY, A.; WALDO, M.; HARRIS, J. G.; GRIFFITH, J.; STEVENS, K., FLACH, K.; NAGAMOTO, H.; BICKFORD, P.; LEONARD, S.; FREEDMAN, R. (1998): Schizophrenia, sensory gating, and nicotinic receptors. *Schizophrenia bulletin* 24 (2), S. 189-202
- ADLER, L. E., ROSE, G. & FREEDMAN, R. (1986): Neurophysiological studies of sensory gating in rats: effects of amphetamine, phencyclidine, and haloperidol. *Biological psychiatry*, 21 (8-9), S. 787–798.
- AKBARIAN, S.; KUNDAKOVIC, M. (2015): CHRNA7 and CHRFAM7A: psychosis and smoking? Blame the neighbors! *Am J Psychiatry*, 172 (11), S. 1054-56.
- ANCÍN, I.; BARABASH, A.; VÁZQUEZ-ÁLVAREZ, B.; SANTOS, J.-L.; SÁNCHEZ-MORLA, E.; MARTINEZ, J.-L. (2010): Evidence for association of the non-duplicated region of CHRNA7 gene with bipolar disorder but not with Schizophrenia. *Psychiatr Genet* 20 (6), S. 289-297.
- ARBEITSGEMEINSCHAFT FÜR METHODIK UND DOKUMENTATION IN DER PSYCHIATRIE (2007): *Das AMDP-System: Manual zur Dokumentation psychiatrischer Befunde*. 8. Aufl. Göttingen: Hogrefe.
- ARINAMI, T.; OHTSUKI, T.; ISHIGURO, H.; UJIKE, H.; TANAKA, Y.; MORITA, Y. (2005): Genomewide high-density SNP linkage analysis of 236 Japanese families supports the existence of schizophrenia susceptibility loci on chromosomes 1p, 14q, and 20p. *Am J Hum Genet* 77 (6), S. 937-944.
- BAKER, N.; ADLER, L. E.; FRANKS, R. D.; WALDO, M.; BERRY, S.; NAGAMOTO, H. ; MUCKLE, A.; FREEDMAN, R. (1987): Neurophysiological assessment of sensory gating in psychiatric inpatients: comparison between schizophrenia and other diagnoses. *Biological psychiatry*, 22 (5), S. 603–617.
- BARANOWSKA, U.; WISNIEWSKA, R. J. (2017): The alpha7-nACh nicotinic receptor and its role in memory and selected diseases of the central nervous system. *Postepy Hig Med Dosw*, 71, S. 633-648.
- BEHREND, J. (2009): *Duale Reihe, Physiologie*: Thieme.
- BENES, F. M. (1995): Altered glutamatergic and GABAergic mechanisms in the cingulate cortex of the schizophrenic brain. *Archives of general psychiatry*, 52 (12), S. 1015-1024.
- BERTRAND, D; LEE, C-H L; FLOOD, D; MARGER, F; DONNELLY-ROBERTS, D.(2015): Therapeutic Potential of alpha 7 Nicotinic Acetylcholine Receptors. *Pharmacol Rev* 67, S. 1025-73.
- BIASI, S. de, FRASSONI, C. & SPREAFICO, R. (1986): GABA immunoreactivity in the thalamic reticular nucleus of the rat. A light and electron microscopical study. *Brain research*, 399 (1), S. 143–147.

LITERATURVERZEICHNIS

- BITON, B.; BERGIS, O.E.; GALLI, F.; NEDELEC, A.; LOCHEAD, A.W.; JEGHAM, S.; GODET, D.; LANNEAU, C.; SANTAMARIA, R.; CHESNEY, F.; LÉONARDON, J.; GRANGER, P.; DEBONO, M.W.; BOHME, G.A.; SGARD, F.; BESNARD F, GRAHAM D, COSTE A, OBLIN A, CURET O, VIGÉ X, VOLTZ C, ROUQUIER L, SOUILHAC J, SANTUCCI V, GUEUDET C, FRANÇON D, STEINBERG R, GRIEBEL G, OURY-DONAT F, GEORGE P, AVENET P, SCATTON B. (2007): SSR180711, a novel selective alpha7 nicotinic receptor partial agonist: (1) binding and functional profile. *Neuropsychopharm* 32:S. 1-16.
- BÖDDEKER, I. & ZIEGLER, A. 2000. Association and linkage studies for the analysis of candidate genes. *Deutsche medizinische Wochenschrift*, 125 (25-26), S. 810–815.
- BOGERTS B. 2002. Bedeutung des Frontalhirns für die Pathophysiologie schizophrener Erkrankungen. In: Förstl H. (Hrsg.) *Das Frontalhirn - Funktionen und Erkrankungen*. Springer, S. 181-205.
- BOTTLENDER, R.; SATO, T.; JÄGER, M.; WEGENER, U.; WITTMANN, J.; STRAUSS, A.; MÖLLER, H. J. (2003): The impact of the duration of untreated psychosis prior to first psychiatric admission on the 15-year outcome in schizophrenia. *Schizophrenia research*, 62 (1-2), S. 37–44.
- BREESE, C. R.; ADAMS, C.; LOGEL, J.; DREBING, C.; ROLLINS, Y.; BARNHART, M.; SULLIVAN, B.; DEMASTERS, B.K.; FREEDMAN, R.; LEONARD, S. (1997): Comparison of the regional expression of nicotinic acetylcholine receptor alpha7 mRNA and 125I-alpha-bungarotoxin binding in human postmortem brain. *The Journal of comparative neurology*, 387 (3), S. 385–398.
- BREESE, C. R.; LEE, M.J.; ADAMS, C.E.; SULLIVAN, B.; LOGEL, J.; GILLEN, K.M.; MARKS, M. J.; COLLINS, A.C.; LEONARD, S. (2000): Abnormal regulation of high affinity nicotinic receptors in subjects with schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 23 (4), S. 351-364.
- BROIDE, R. S.; LESLIE, F. M. (1999): The alpha7 nicotinic acetylcholine receptor in neuronal plasticity. *Molecular neurobiology* 20 (1), S. 1-16.
- BRUNNHUBER, S. (2004): *Intensivkurs Psychiatrie und Psychotherapie*: Urban und Fischer Verlag/Elsevier GmbH; 5. Auflage.
- BRUNZELL, D. H.; McINTOSH, J. M. (2012): Alpha7 Nicotinic Acetylcholine Receptors Modulate Motivation to Self-Administer Nicotine: Implications for Smoking and Schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 37(5), 1134–43.
- BRZUSTOWICZ, L. M.; K. A. HODGKINSON; E. W. CHOW; W. G. HONER; A. S. BASSETT (2000): Location of a major susceptibility locus for familial schizophrenia on chromosome 1q21-q22. *Science* 288 (5466), S. 678-682.
- BUHLER, A. V.; DUNWIDDIE, T. V. (2002): Alpha7 nicotinic acetylcholine receptors on GABAergic interneurons evoke dendritic and somatic inhibition of hippocampal neurons. *Journal of neurophysiology* 87 (1), S. 548-557.
- BUSELMAIER, W. & TARIVERDIAN, G. (2007): *Humangenetik*. 4. Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer.

LITERATURVERZEICHNIS

- CABRANES, J. A.; ANCIN, I.; SANTOS, J. L.; SANCHEZ-MORLA, E.; GARCIA-JIMENEZ, M.A.; LOPEZ-IBOR, J.; BARABASH, A. (2013): No effect of polymorphisms in the non-duplicated region of the CHRNA7 gene on sensory gating P50 ratios in patients with schizophrenia and bipolar disorder. *Psychiatry Res.*, 205 (3), S. 276-8.
- CALABRO, M.; PORCELLI, S.; CRISAFULLI, C.; WANG, S. M.; LEE, S. J.; HAN, C.; PATKAR, A.; MASAND, P.; ALBANI, D.; RAIMONDI, I.; FORLONI, G.; BIN, S.; CRISTALLI, C.; MANTOVANI, V.; PAE, C.; SERRETTI, A. (2018): Genetic variants within molecular targets of antipsychotic treatment: Effects on treatment response, schizophrenia risk and psychopathological features. *J Mol Neurosci.*, 64 (1), S. 62-74.
- CANNON, T. D. (2005): The inheritance of intermediate phenotypes for schizophrenia. *Current opinion in psychiatry*, 18 (2), S. 135–140.
- CARDNO A. G.; E. J. MARSHALL; B. COID; A. M. MACDONALD; T. R. RIBCHESTER; DAVIES, N.J.; VENTURI, P.; JONES, L.A.; LEWIS, S.W.; SHAM, P.C.; GOTTESMAN, I.I.; FARMER, A.E.; MCGUFFIN, P.; REVELEY, A.M.; MURRAY, R.M. (1999): Heritability estimates for psychotic disorders: the Maudsley twin psychosis series. *Arch Gen Psychiatry* 56 (2), S. 162-168.
- CARDNO, A. G.; SHAM, P. C.; FARMER, A. E.; MURRAY, R. M.; MCGUFFIN, P. (2002): Heritability of Schneider's first-rank symptoms. *Br J Psychiatry* 180, S. 35-38.
- CARLSON, C. M.; DUPUY, A. J.; FRITZ, S.; ROBERG-PEREZ, K. J.; FLETCHER, C. F.; LARGAESPADA, D. A. (2003): Transposon mutagenesis of the mouse germline. *Genetics*, 165 (1), S. 243–256.
- CHEN, J.; LEE, G.; FANOUS, A. H.; ZHAO, Z.; JIA, P.; O'NEILL, A. ET AL. (2011): Two non-synonymous markers in PTPN21, identified by genome-wide association study data-mining and replication, are associated with schizophrenia. *Schizophr Res* 131 (1-3), S. 43-51.
- CHEN, W.-J.; SHI, Y.-Y.; ZHENG, Y.-L.; ZHAO, X.-Z.; ZHANG, G.-J.; CHEN, S.-Q. (2004): Case-control study and transmission disequilibrium test provide consistent evidence for association between schizophrenia and genetic variation in the 22q11 gene ZDHHC8. *Hum Mol Genet* 13 (23), S. 2991-2995.
- CHEN, X.; LEE, G. MAHER, B.S.; FANOUS, A.H.; CHEN, J.; ZHAO, Z.; GUO, A.; VAN DEN OORD, E.; SULLIVAN, P.F.; SHI, J.; LEVINSON, D.F.; GEJMAN, P.V.; SANDERS, A.; DUAN, J.; OWEN, M.J.; CRADDOCK, N.J.; O'DONOVAN, M.C.; BLACKMAN, J.; LEWIS, D.; KIROV, G.K.; QIN, W., SCHWAB, S.; WILDENAUER, D.; CHOWDARI K, NIMGAONKAR V, STRAUB RE, WEINBERGER DR, O'NEILL FA, WALSH D, BRONSTEIN M, DARVASI A, LENCZ T, MALHOTRA AK, RUJESCU D, GIEGLING I, WERGE T, HANSEN T, INGASON A, NÖETHEN MM, RIETSCHEL M, CICHON S, DJUROVIC S, ANDREASSEN OA, CANTOR RM, OPHOFF R, CORVIN A, MORRIS DW, GILL M, PATO CN, PATO MT, MACEDO A, GURLING HM, MCQUILLIN A, PIMM J, HULTMAN C, LICHTENSTEIN P, SKLAR P, PURCELL SM, SCOLNICK E, ST CLAIR D, BLACKWOOD DH, KENDLER KS; GROUP INVESTIGATORS; INTERNATIONAL SCHIZOPHRENIA CONSORTIUM.

LITERATURVERZEICHNIS

- (2011): GWA study data mining and independent replication identify cardiomyopathy-associated 5 (CMYA5) as a risk gene for schizophrenia. *Mol Psychiatry* 16 (11), S. 1117-29.
- CHINI, B.; RAIMOND, E.; ELGOYHEN, A. B.; MORALLI, D.; BALZARETTI, M.; HEINEMANN, S. (1994): Molecular cloning and chromosomal localization of the human alpha 7-nicotinic receptor subunit gene (CHRNA7). *Genomics*, 19 (2), S. 379–381.
- CHOWDARI, K.-V.; MIRNICS, K.; SEMWAL, P.; WOOD, J.; LAWRENCE, E.; BHATIA, T.; DESHPANDE SN, B K T, FERRELL RE, MIDDLETON FA, DEVLIN B, LEVITT P, LEWIS DA, NIMGAONKAR VL. (2002): Association and linkage analyses of RGS4 polymorphisms in schizophrenia. In: *Hum Mol Genet* 11 (12), S. 1373-1380.
- CHU, Z. G., ZHOU, F. M. & HABLITZ, J. J. (2000): Nicotinic acetylcholine receptor-mediated synaptic potentials in rat neocortex. *Brain research*, 887 (2), S. 399–405.
- CLEMENTZ, B. A., GEYER, M. A. & BRAFF, D. L. (1998): Multiple site evaluation of P50 suppression among schizophrenia and normal comparison subjects. *Schizophrenia research*, 30 (1), S. 71–80.
- CORRINGER, P. J., LE NOVÈRE, N. & CHANGEUX, J. P. (2000): Nicotinic receptors at the amino acid level. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 40, S. 431–458.
- COURT, J.; SPURDEN, D.; LLOYD, S.; MCKEITH, I.; BALLARD, C.; CAIRNS, N.; KERWIN, R.; PERRY, R.; PERRY, E. (1999): Neuronal nicotinic receptors in dementia with Lewy bodies and schizophrenia: alpha-bungarotoxin and nicotine binding in the thalamus. *Journal of neurochemistry*, 73 (4), S. 1590–1597.
- COVEY, L. S., GLASSMAN, A. H. & STETNER, F. (1998): Cigarette smoking and major depression. *Journal of addictive diseases*, 17 (1), S. 35–46.
- CRADDOCK, N.; LENDON, C. (1999): Chromosome Workshop: chromosomes 11, 14, and 15. *American journal of medical genetics*, 88 (3), S. 244–254.
- CRADDOCK, N.; C O'DONOVAN, M.; OWEN, M. J. (2006): Genes for schizophrenia and bipolar disorder? Implications for psychiatric nosology. *Schizophr Bull* 32 (1), S. 9-16.
- CURTIS, L.; BLOUIN, J. L.; RADHAKRISHNA, U.; GEHRIG, C.; LASSETER, V. K.; WOLYNIEC, P.; NESTADT G, DOMBROSKI B, KAZAZIAN HH, PULVER AE, HOUSMAN D, BERTRAND D, ANTONARAKIS SE. (1999): No evidence for linkage between schizophrenia and markers at chromosome 15q13-14. *American journal of medical genetics*, 88 (2), S. 109–112.
- DALACK, G. W., HEALY, D. J. & MEADOR-WOODRUFF, J. H. (1998): Nicotine dependence in schizophrenia: clinical phenomena and laboratory findings. *The American journal of psychiatry*, 155 (11), S. 1490–1501.
- DELISI, L.-E.; MESEN, A.; RODRIGUEZ, C.; BERTHEAU, A.; LAPRADE, B.; LLACH, M. ET AL. (2002): Genome-wide scan for linkage to schizophrenia in a Spanish-origin cohort from Costa Rica. *Am J Med Genet* 114 (5), S. 497-508.

LITERATURVERZEICHNIS

- DEMPSTER, E. L.; TOULOPOULOU, T.; MCDONALD, C.; BRAMON, E.; WALSH, M.; WICKHAM, H.; SHAM PC, MURRAY RM, COLLIER DA. (2006): Episodic memory performance predicted by the 2bp deletion in exon 6 of the "alpha 7-like" nicotinic receptor subunit gene. *The American journal of psychiatry*, 163 (10), S. 1832–1834.
- DÉPATIE, L.; O'DRISCOLL, G. A.; HOLAHAN, A.-L. V.; ATKINSON, V.; THAVUNDAYIL, J. X.; YING KIN, N. NG.; LAL, S. (2002): Nicotine and behavioral markers of risk for schizophrenia: a double-blind, placebo-controlled, cross-over study. *Neuropsychopharmacology* 27 (6), S. 1056-1070.
- DEUTSCH, S. I.; BURKET, J. A.; BENSON, A. D. (2014): Targeting the alpha (7) nicotinic acetylcholine receptor to prevent progressive dementia and improve cognition in adults with Down's syndrome. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 54, S. 131-139.
- DGPPN (1998): *Praxisleitlinien in Psychiatrie und Psychotherapie*. Darmstadt:Steinkopf. (1).
- DUAN, J.; SANDERS, A. R.; GEJMAN, P. V. (2010): Genome-wide approaches to schizophrenia. *Brain Res Bull* 83 (3-4), S. 93-102.
- EBERT, D. (2005): *Psychiatrie systematisch*. 6. Aufl. Bremen: UNI-MED-Verlag
- EDENBERG, H. J.; T. FOROUD; P. M. CONNEALLY; J. J. SORBEL; K. CARR; C. CROSE; WILLIG, C.; ZHAO, J.; MILLER, M.; BOWMAN, E.; MAYEDA, A.; RAU, N.L.; SMILEY, C.; RICE, J.P.; GOATE, A.; REICH, T.; STINE, O.C.; MCMAHON, F.; DEPAULO, J.R.; MEYERS, D.; DETERA-WADLEIGH, S.D.; GOLDIN, L.R.; GERSHON, E.S.; BLEHAR, M.C.; NURNBERGER, J.I. JR. (1997): Initial genomic scan of the NIMH genetics initiative bipolar pedigrees: chromosomes 3, 5, 15, 16, 17, and 22. *Am J Med Genet* 74 (3), S. 238-246.
- FABIAN-FINE, R.; SKEHEL, P.; ERRINGTON, M.; DAVIES, H.; SHER, E.; STEWART, M.; FINE, A. (2001): Ultrastructural distribution of the alpha7 nicotinic acetylcholine receptor subunit in rat hippocampus. *The Journal of neuroscience*, 21 (20), S. 7993–8003.
- FALLIN, M.-D.; LASSETER, V. K.; WOLYNIEC, P. S.; MCGRATH, J. A.; NESTADT, G.; VALLE, D. ET AL. (2003): Genomewide linkage scan for schizophrenia susceptibility loci among Ashkenazi Jewish families shows evidence of linkage on chromosome 10q22. *Am J Hum Genet* 73 (3), S. 601-611.
- FAN, J. B.; MA, J.; LI, X.; ZHANG, C.; SUN, W.; HE, G.; GU NF, FENG GY, ST CLAIR D, HE L. (2006): Population-based and family-based association studies of an (AC)n dinucleotide repeat in alpha-7 nicotinic receptor subunit gene and schizophrenia. *Schizophrenia research*, 84 (2-3), S. 222–227.
- FARAONE, S. V.; SKOL, A. D.; TSUANG, D. W.; BINGHAM, S.; YOUNG, K. A.; PRABHUDESAI, S.; HAVERSTOCK SL, MENA F, MENON AS, BISSET D, PEPPLER J, SAUTTER F, BALDWIN C, WEISS D, COLLINS J, KEITH T, BOEHNKE M, TSUANG MT, SCHELLENBERG GD. (2002A): Linkage of chromosome 13q32 to schizophrenia in a large veterans affairs cooperative study sample. *Am J Med Genet* 114 (6), S. 598-604.

LITERATURVERZEICHNIS

- FARAONE, S. V.; SU, J.; TAYLOR, L.; WILCOX, M.; VAN EERDEWEGH, P.; TSUANG, M. T. (2004): A novel permutation testing method implicates sixteen nicotinic acetylcholine receptor genes as risk factors for smoking in schizophrenia families. *Hum Hered* 57 (2), S. 59-68.
- FARAONE, S. V.; MATISE, T.; SVRAKIC, D.; PEPPLER, J.; MALASPINA, D.; SUAREZ, B.; HAMPE C, ZAMBUTO CT, SCHMITT K, MEYER J, MARKEL P, LEE H, HARKAVY FRIEDMAN J, KAUFMANN C, CLONINGER CR, TSUANG MT. (1998): Genome scan of European-American schizophrenia pedigrees: results of the NIMH Genetics Initiative and Millennium Consortium. *American journal of medical genetics*, 81 (4), S. 290–295.
- FARAONE, S. V.; GLATT, S.; SU, J.; TSUANG, M. (2004A): Three potential susceptibility loci shown by a genome-wide scan for regions influencing the age at onset of mania. *Am J Psychiatry* 161 (4), S. 625-630.
- FARAONE, S.; TAYLOR, L.; TSUANG, M. (2002): The molecular genetics of schizophrenia: an emerging consensus. *Expert reviews in molecular medicine* 4 (14), S. 1-13.
- FERNANDES, C.; HOYLE, E.; DEMPSTER, E.; SCHALKWYK, L. C.; COLLIER, D. A. (2006): Performance deficit of alpha7 nicotinic receptor knockout mice in a delayed matching-to-place task suggests a mild impairment of working/episodic-like memory. *Genes, brain, and behavior*, 5 (6), S. 433–440.
- FLOMEN, R. H.; COLLIER, D.A.; OSBORNE, S.; MUNRO, J.; BREEN, G.; ST CLAIRE, D.; MAKOFF, A.J. (2006): Association study of CHRFAM7A copy number and 2 bp deletion polymorphisms with schizophrenia and bipolar affective disorder. *Am J Med Genet Part B*. 141 B (6), S. 571-575.
- FLOMEN, R. H.; DAVIES, A.F.; FORTI, DI M.; LA CASCIA, C.; MACKIE-OGILVIE C, MURRAY R, MAKOFF AJ. (2008): The copy number variant involving part of the alpha 7 nicotinic receptor gene contains a polymorphic inversion. *European Journal of Human Genetics* 16, S. 1364–1371
- FÖRSTL, HAUTZINGER & ROTH (2006): *Neurobiologie psychischer Störungen*: Springer.
- FREEDMAN, R., ADAMS, C. E. & LEONARD, S. (2000): The alpha7-nicotinic acetylcholine receptor and the pathology of hippocampal interneurons in schizophrenia. *Journal of chemical neuroanatomy*, 20 (3-4), S. 299–306.
- FREEDMAN, R.; COON, H.; MYLES-WORSLEY, M.; ORR-URTREGER, A.; OLINCY, A.; DAVIS, A. ET AL. (1997): Linkage of a neurophysiological deficit in schizophrenia to a chromosome 15 locus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94 (2), S. 587–592.
- FREEDMAN, R.; HALL, M.; ADLER, L. E.; LEONARD S (1995): Evidence in postmortem brain tissue for decreased numbers of hippocampal nicotinic receptors in schizophrenia. *Biological psychiatry*, 38 (1), S. 22–33.
- FREEDMAN, R.; LEONARD S; GAULT, J. M.; HOPKINS, J.; CLONINGER, C. R.; KAUFMANN, C. A.; TSUANG, M.T.; FARAONE, S.V.; MALASPINA, D.; SVRAKIC, D.M.; SANDERS, A.; GEJMAN, P. (2001A): Linkage disequilibrium for schizophrenia at the chromosome 15q13-14 locus of the alpha7-

LITERATURVERZEICHNIS

- nicotinic acetylcholine receptor subunit gene (CHRNA7). *American journal of medical genetics*, 105 (1), S. 20–22.
- FREEDMAN, R.; S. LEONARD; A. OLINCY; C. A. KAUFMANN; D. MALASPINA; C. R. CLONINGER; SVRAKIC, D.; FARAONE, S.V.; TSUANG, M.T. (2001B): Evidence for the multigenic inheritance of schizophrenia. *Am J Med Genet* 105 (8), S. 794-800.
- FREEDMAN, R.; LEONARD, S.; WALDO, M.; GAULT, J.; OLINCY, A.; ADLER, L. E.; (2006): Characterization of allelic variants at chromosome 15q14 in schizophrenia. *Genes Brain Behav.* 5 Suppl 1, S. 14-22.
- FREEDMAN, R.; WETMORE, C.; STRÖMBERG, I.; LEONARD S; OLSON, L. (1993): Alpha-bungarotoxin binding to hippocampal interneurons: immunocytochemical characterization and effects on growth factor expression. *The Journal of neuroscience*, 13 (5), S. 1965–1975.
- FREUND, R. K.; GRAW, S.; CHOO, K. S.; STEVENS, K. E.; LEONARD, S.; DELL'AQUA, M. L. (2016): Genetic knockout of the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor gene alters hippocampal long-term potentiation in a background strain-dependent manner. *Neurosci Lett*, 627, S. 1-6.
- GAEBEL, W.; WOELWER, W. (2010): *Gesundheitsberichterstattung des Bundes, Heft 50, Schizophrenie*. Robert Koch-Institut, Berlin.
- GAULT, J.; HOPKINS, J.; BERGER, R.; DREBING, C.; LOGEL, J.; WALTON, C.; SHORT, M.; VIANZON, R.; OLINCY, A.; ROSS, R.G.; ADLER, L.E.; FREEDMAN, R.; LEONARD, S. (2003): Comparison of polymorphisms in the alpha7 nicotinic receptor gene and its partial duplication in schizophrenic and control subjects. *American journal of medical genetics*, 123 (1), S. 39–49.
- GAULT, J.; ROBINSON, M.; BERGER, R.; DREBING, C.; LOGEL, J.; HOPKINS, J.; MOORE T, JACOBS S, MERIWETHER J, CHOI MJ, KIM EJ, WALTON K, BUITING K, DAVIS A, BREESE C, FREEDMAN R, LEONARD S. (1998): Genomic organization and partial duplication of the human alpha7 neuronal nicotinic acetylcholine receptor gene (CHRNA7). *Genomics*, 52 (2), S. 173–185.
- GEJMAN, P. V.; A. R. SANDERS; J. A. BADNER; Q. CAO; J. ZHANG (2001): Linkage analysis of schizophrenia to chromosome 15. *Am J Med Genet*, 105 (8), S. 789-793.
- GIEGLING, I.; HOSAK, L.; MOESSNER, R.; SERRETTI, A.; BELLIVIER, F.; CLAES, S.; COLLIER, D. A.; CORRALES, A.; DELISI, L. E.; GALLO, C.; GILL, M.; KENNEDY, J. L.; LEBOYER, M.; MAIER, W.; MIGUEL, M.; MASSAT, I.; MORS, O.; MUGLIA, P.; NÖTHEN, M. M.; OSPINA-DUQUE, J.; OWEN, M. J.; PROPPING, P.; SHI, Y. Y.; ST CLAIR, D.; THIBAUT, F.; CICHON, S.; MENDLEWICZ, J.; O'DONOVAN, M. C.; RUJESCU, D. (2017): Genetics of schizophrenia: A consensus paper of the WFSBP Task Force on Genetics. *The World Journal of Biological Psychiatry*, 18 (7), S. 492-505.
- GILLENLINE, M. A.; SCHAAF, C. P. (2015): The human clinical phenotypes of altered CHRNA7 copy number. *Biochem Pharmacol*, 97(4), S. 352-362.

LITERATURVERZEICHNIS

- GLANTZ, L. & LEWIS, D. (2000): Decreased dendritic spine density on prefrontal cortical pyramidal neurons in schizophrenia. *Archives of general psychiatry*, 57 (1), S. 65–73.
- GLASSMAN, A. H.; COVEY, L. S.; DALACK, G.; STETNER, F. (1992): Cigarette smoking, major depression, and schizophrenia. *Clinical neuropharmacology*, 15 Suppl 1 Pt A, S. 560A-561A.
- GOFF, D. C., HENDERSON, D. C. & AMICO, E. (1992): Cigarette smoking in schizophrenia: relationship to psychopathology and medication side effects. *The American journal of psychiatry*, 149 (9), S. 1189–1194.
- GOTTESMAN, I.; GOULD, T.(2003): The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *The American journal of psychiatry*, 160 (4), S. 636–645.
- GOTTI, C.; MORETTI, M.; GAIMARRI, A.; ZANARDI, A.; CLEMENTI, F.; ZOLI, M. (2007): Heterogeneity and complexity of native brain nicotinic receptors. *Biochem. Pharmacol.* 74, S. 1102–1111.
- GREENWOOD, T. A.; JOHN R KELSOE (2003): Promoter and intronic variants affect the transcriptional regulation of the human dopamine transporter gene. *Genomics* 82 (5), S. 511-520.
- GUAN, Z. Z.; ZHANG, X.; BLENNOW, K.; NORDBERG, A. (1999): Decreased protein level of nicotinic receptor alpha7 subunit in the frontal cortex from schizophrenic brain. *Neuroreport*, 10 (8), S. 1779–1782.
- HAAN, L. DE; LINSZEN, D. H.; LENIOR, M. E.; DE, WINE D.; GORSIRA, R. (2003): Duration of untreated psychosis and outcome of schizophrenia: delay in intensive psychosocial treatment versus delay in treatment with antipsychotic medication. *Schizophrenia bulletin*, 29 (2), S. 341–348.
- HÄFNER, H., MAURER, K. & LÖFFLER, W. (1995): Onset and early course of schizophrenia. In: Häner H, Gattaz W.F.: *Search for the causes of schizophrenia III*. Springer, S. 43-66.
- HÄFNER, H.; RIECHER, A.; MAURER, K.; FÄTKENHEUER, B.; LÖFFLER, W.; AN DER HEIDEN W.; MUNK-JØRGENSEN P, STRÖMGREN E.(1991): Sex differences in schizophrenic diseases. *Fortschritte der Neurologie-Psychiatrie*, 59 (9), S. 343–360.
- HÄFNER, H. (2003): Gender differences in schizophrenia. *Psychoneuroendocrinology*. Suppl. 2: S. 17-54.
- HAMBSCH, B.; KEYWORTH, H.; LIND, J.; OTTE, D. M.; RACZ, I.; KITCHEN, I.; BAILEY, A.; ZIMMER, A. (2014). Chronic nicotine improves short-term memory selectively in a G72 mouse model of schizophrenia. *British Journal of Pharmacology*, 171(7), 1758–1771.
- HAMPEL, R. & SELG, H. (1998): *FAF. Fragebogen zur Erfassung von Aggressivitätsfaktoren ; Handanweisung*. Göttingen: Hogrefe.
- HAPMAP (2019): www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=7175581
- HARRISON, P. J.; WEINBERGER, D. R. (2005): Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Molecular psychiatry* 10 (1), S. 40-68; image 5.
- HATHAWAY, S. R., MACKINLEY, J. Charnley & ENGEL, R. R. (2000): *MMPI-2 - Minnesota multiphasic personality inventory-2. Manual*. 1. Aufl. Bern: Huber.
- HIRAYASU, Y. (2007): Brain imaging in schizophrenia. *Neuropathology*, 27 (6), S. 601–603.

LITERATURVERZEICHNIS

- HODGSON & RACHMAN (1977): Obsessional-compulsive complaints. *Behavior Research and Therapy* (15), S. 389–395.
- HOFFMANN, K. (2009): *Kopplungsanalysen zur Aufklärung monogener und komplexer Krankheiten*. Habilitationsschrift an der Charité, Universitätsmedizin Berlin. <https://refubium.fu-berlin.de/handle/fub188/1896>
- HOHMANN, C. F. & BERGER-SWEENEY, J. (1998): Cholinergic regulation of cortical development and plasticity. New twists to an old story. *Perspectives on developmental neurobiology*, 5 (4), S. 401–425.
- HONG, C. J.; LAI, I. C.; LIOU, L. L.; TSAI, S. J. (2004): Association study of the human partially duplicated alpha7 nicotinic acetylcholine receptor genetic variant with bipolar disorder. *Neuroscience letters*, 355 (1-2), S. 69–72.
- HOUY, E.; RAUX, G.; THIBAUT, F.; BELMONT, A.; DEMILY, C.; ALLIO, G.; HAOUZIR S, FOULDRIN G, PETIT M, FREBOURG T, CAMPION D. (2004): The promoter -194 C polymorphism of the nicotinic alpha 7 receptor gene has a protective effect against the P50 sensory gating deficit. *Molecular psychiatry*, 9 (3), S. 320–322.
- HOWES, O. D.; MCDONALD, C.; CANNON, M.; ARSENEAULT, L.; BOYDELL, J.; MURRAY, R. M. (2004): Pathways to schizophrenia: the impact of environmental factors. *Int J Neuropsychopharmacol* 7 Suppl 1, S. S7-S13.
- INGRAHAM, L. J. & KETY, S. S. (2000): Adoption studies of schizophrenia. *American journal of medical genetics*, 97 (1), S. 18–22.
- IWATA, Y.; NAKAJIMA, M.; YAMADA, K.; NAKAMURA, K.; SEKINE, Y.; TSUCHIYA, K. (2007): Linkage disequilibrium analysis of the CHR7A7 gene and its partially duplicated region in schizophrenia. *Neuroscience research*, 57 (2), S. 194–202.
- JABLENSKY, A. (2000): Epidemiology of schizophrenia: the global burden of disease and disability. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*, 250 (6), S. 274–285.
- JONES, S., SUDWEEKS, S. & YAKEL, J. L. (1999): Nicotinic receptors in the brain: correlating physiology with function. *Trends in neurosciences*, 22 (12), S. 555–561.
- JONNALA, R. R. & BUCCAFUSCO, J. J. (2001): Relationship between the increased cell surface alpha7 nicotinic receptor expression and neuroprotection induced by several nicotinic receptor agonists. *Journal of neuroscience research*, 66 (4), S. 565–572.
- JOO, E.-J.; KYU YOUNG LEE; HYUN SOOK KIM; SE HYUN KIM; YONG MIN AHN; YONG SIK KIM (2010): Genetic Association Study of the Alpha 7 Nicotinic Receptor (CHR7A7) with the Development of Schizophrenia and Bipolar Disorder in Korean Population. *Psychiatry Investig* 7 (3), S. 196-201.
- KALLINKE, D. & KALLINKE-LUTZ-RAMSAY (1979): *Die Behandlung von Zwängen. Eine verhaltenstherapeutische Kontroverse*. München: Urban & Schwarzenberg. (Fortschritte der klinischen Psychologie; 21).

LITERATURVERZEICHNIS

- KALMADY, S. V.; AGRAWAL, R.; VENUGOPAL, D.; SHIVAKUMAR, V.; AMARESHA, A. C.; AGARWAL, S.M.; SUBBANA, M.; RAJASEKARAN, A.; NARAYANASWAMY, C.; DEBNATH, M.; VENKATASUBRAMANIAN, G. (2018): CHRFAM7A gene expression in schizophrenia: clinical correlates and the effect of antipsychotic treatment. *Journal of Neural Transmission*, 125 (4), S. 741-748.
- KALMAN, D., MORISSETTE, S. B. & GEORGE, T. P. (2005): Co-morbidity of smoking in patients with psychiatric and substance use disorders. *The American journal on addictions*, 14 (2), S. 106–123.
- KARLIN, A.; COX, R.; DIPAOLO, M.; HOLTZMAN, E.; KAO, P.; LOBEL, P. (1986): Functional domains of the nicotinic acetylcholine receptor. *An. N Y Acad Sci* 463, S. 53-69.
- KAUFMANN, C.A.; SUAREZ, B.; MALASPINA, D.; PEPPLER, J.; SVRAKIC, D.; MARKEL, P.D.; MEYER J, ZAMBUTO CT, SCHMITT K, MATISE TC, HARKAVY FRIEDMAN JM, HAMPE C, LEE H, SHORE D, WYNNE D, FARAONE SV, TSUANG MT, CLONINGER CR. (1998): NIMH Genetics Initiative Millenium Schizophrenia Consortium: linkage analysis of African-American pedigrees. *American journal of medical genetics*, 81 (4), S. 282–289.
- KAY, S. R.; FISZBEIN, A.; OPLER, L. A. (1987): The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophrenia bulletin* 13 (2), S. 261-276.
- KENDLER, K. S. & DIEHL, S. R. (1993): The genetics of schizophrenia: a current, genetic-epidemiologic perspective. *Schizophrenia bulletin*, 19 (2), S. 261–285.
- KOIKE, K.; HASHIMOTO, K.; TAKAI, N.; SHIMIZU, E.; KOMATSU, N.; WATANABE, H.; NAKAZATO M, OKAMURA N, STEVENS KE, FREEDMAN R, IYO M (2005): Tropisetron improves deficits in auditory P50 suppression in schizophrenia. *Schizophrenia research*, 76 (1), S. 67–72.
- KUNII, Y.; ZHANG, W.; XU, Q.; HYDE, T. M.; MC FADDEN, W.; SHIN, J. H.; DEEP-SOBOSLAV, A.; YE, T.; LI, C.; KLEINMAN, J. E.; WANG, K. H.; LIPSKA, B. K.; (2015): CHRNA7 and CHRFAM7A mRNAs: co-localized and their expression levels altered in the postmortem dorsolateral prefrontal cortex in major psychiatric disorders. *Am J Psychiatry*, 172 (11), S. 1122-30.
- LAI, I. C., HONG, C. J. & TSAI, S. J. (2001): Association study of a nicotinic receptor variant with schizophrenic disorders. *Neuropsychobiology*, 43 (1), S. 15–18.
- LANG, U. E.; PULS, I.; MULLER, D. J.; STRUTZ-SEEBOHM, N.; GALLINAT, J. (2007): Molecular mechanisms of schizophrenia. *Cellular Physiology and Biochemistry* 20 (6), S. 687–702.
- LAW, R. J., HENCHMAN, R. H. & MCCAMMON, J. A. (2005): A gating mechanism proposed from a simulation of a human alpha7 nicotinic acetylcholine receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102 (19), S. 6813–6818.
- LEONARD, S. (2014): Nicotinic receptors and mental illness. In: Lester, R. (Ed.): *Nicotinic receptors*, Springer, New York, S. 417- 434.
- LEONARD, S.; ADLER, L. E.; BENHAMMOU, K.; BERGER, R.; BREESE, C. R.; DREBING, C.; GAULT J, LEE MJ, LOGEL J, OLINCY A, ROSS RG, STEVENS K, SULLIVAN B, VIANZON R, VIRNICH DE,

LITERATURVERZEICHNIS

- WALDO M, WALTON K, FREEDMAN R.(2001): Smoking and mental illness. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* 70 (4), S. 561-570.
- LEONARD, S.; BREESE, C.; ADAMS, C.; BENHAMMOU, K.; GAULT, J.; STEVENS, K.; LEE M, ADLER L, OLINCY A, ROSS R, FREEDMAN R. (2000): Smoking and schizophrenia: abnormal nicotinic receptor expression. *European journal of pharmacology*, 393 (1-3), S. 237–242.
- LEONARD, S.; GAULT, J.; HOPKINS, J.; LOGEL, J.; VIANZON, R.; SHORT, M.; DREBING C, BERGER R, VENN D, SIROTA P, ZERBE G, OLINCY A, ROSS RG, ADLER LE, FREEDMAN R. (2002): Association of promoter variants in the alpha7 nicotinic acetylcholine receptor subunit gene with an inhibitory deficit found in schizophrenia. *Archives of general psychiatry*, 59 (12), S. 1085–1096.
- LEONARD, S.; GAULT, J.; MOORE, T.; HOPKINS, J.; ROBINSON, M.; OLINCY, A.; ADLER LE, CLONINGER CR, KAUFMANN CA, TSUANG MT, FARAONE SV, MALASPINA D, SVRAKIC DM, FREEDMAN R. (1998): Further investigation of a chromosome 15 locus in schizophrenia: analysis of affected sibpairs from the NIMH Genetics Initiative. *American journal of medical genetics*, 81 (4), S. 308–312.
- LEONARD, S.; MEXAL, S.; FREEDMAN, R. (2007): Smoking, Genetics and Schizophrenia: Evidence for Self Medication. *Journal of Dual Diagnosis*, 3(3-4), 43–59.
- LEONARD, S.; ROBERT FREEDMAN (2006): Genetics of chromosome 15q13-q14 in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 60 (2), S. 115-122.
- LEVIN, E. D.; BETTEGOWDA, C.; BLOSSER, J.; GORDON, J. (1999): AR-R17779, and alpha7 nicotinic agonist, improves learning and memory in rats. *Behavioural pharmacology* 10 (6-7), S. 675-680.
- LEVIN E.D. & REZVANI A.H. (2000): Development of nicotinic drug therapy for cognitive disorders. *Eur J Pharmacol*, 393, S. 141–146.
- LEWIS, C. M.; LEVINSON, D. F.; WISE, L. H.; DELISI, L. E.; STRAUB, R. E.; HOVATTA, I.; WILLIAMS NM, SCHWAB SG, PULVER AE, FARAONE SV, BRZUSTOWICZ LM, KAUFMANN CA, GARVER DL, GURLING HM, LINDHOLM E, COON H, MOISES HW, BYERLEY W, SHAW SH, MESEN A, SHERRINGTON R, O'NEILL FA, WALSH D, KENDLER KS, EKELUND J, PAUNIO T, LÖNNQVIST J, PELTONEN L, O'DONOVAN MC, OWEN MJ, WILDENAUER DB, MAIER W, NESTADT G, BLOUIN JL, ANTONARAKIS SE, MOWRY BJ, SILVERMAN JM, CROWE RR, CLONINGER CR, TSUANG MT, MALASPINA D, HARKAVY-FRIEDMAN JM, SVRAKIC DM, BASSETT AS, HOLCOMB J, KALSIG, MCQUILLIN A, BRYNJOLFSON J, SIGMUNDSSON T, PETURSSON H, JAZIN E, ZOËGA T, HELGASON T. (2003): Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia. *American journal of human genetics*, 73 (1), S. 34–48.
- LI, C. H., LIAO, H. M. & CHEN, C. H. (2004): Identification of molecular variants at the promoter region of the human alpha 7 neuronal nicotinic acetylcholine receptor subunit gene but lack of association with schizophrenia. *Neuroscience letters*, 372 (1-2), S. 1–5.

LITERATURVERZEICHNIS

- LIN, P.-I.; JEFFERY M VANCE; MARGARET A PERICAK-VANCE; EDEN R MARTIN (2007): No gene is an island: the flip-flop phenomenon. *Am J Hum Genet* 80 (3), S. 531-538.
- LIU, C. M.; HWU, H. G.; LIN, M. W.; OU-YANG, W. C.; LEE, S. F.; FANN, C. S.; WONG SH, HSIEH SH (2001): Suggestive evidence for linkage of schizophrenia to markers at chromosome 15q13-14 in Taiwanese families. *American journal of medical genetics*, 105 (8), S. 658–661.
- LIU, H.; HEATH, S. C.; SOBIN, C.; LOUW ROOS, J.; GALKE, B. L.; BLUNDELL, M. L.; LENANE M, ROBERTSON B, WIJSMAN EM, RAPOPORT JL, GOGOS JA, KARAYIORGOU M (2002): Genetic variation at the 22q11 PRODH2/DGCR6 locus presents an unusual pattern and increases susceptibility to schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99 (6), S. 3717-3722.
- LIU, X.; HONG, X.; CHAN, R.C.; KONG, F.; PENG, Z.; WAN, Z.; WANG, C.; CHENG, L. (2013): Association study of polymorphisms in the alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor subunit and catechol-o-methyl transferase genes with sensory gating in first-episode schizophrenia. *Psychiatry Res.* 209 (3), S. 431-8.
- LIU, Z.; NEFF, R. A.; BERG, D. K. (2006): Sequential interplay of nicotinic and GABAergic signaling guides neuronal development. *Science*, 314, S. 1610–1613.
- LLOYD, G. K. & WILLIAMS, M. (2000): Neuronal nicotinic acetylcholine receptors as novel drug targets. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 292 (2), S. 461–467.
- LOE-MIE, Y.; LEPAGNOL-BESTEL, A.-M.; MAUSSION, G.; DORON-FAIGENBOIM, A.; IMBEAUD, S.; DELACROIX, H.; AGGERBECK L, PUPKO T, GORWOOD P, SIMONNEAU M, MOALIC JM (2010): SMARCA2 and other genome-wide supported schizophrenia-associated genes: regulation by REST/NRSF, network organization and primate-specific evolution. *Hum Mol Genet* 19 (14), S. 2841-2857.
- LUCA, V. DE; WONG, A. H.; MULLER, D. J.; WONG, G. W.; TYNDALE, R. F.; KENNEDY, J. L. (2004): Evidence of association between smoking and alpha7 nicotinic receptor subunit gene in schizophrenia patients. *Neuropsychopharmacology*, 29 (8), S. 1522–1526.
- LUNTZ-LEYBMAN, V., BICKFORD, P. C. & FREEDMAN, R. (1992): Cholinergic gating of response to auditory stimuli in rat hippocampus. *Brain research*, 587 (1), S. 130–136.
- LUO, X.; HUANG, L.; HAN, L.; LUO, Z.; HU, F.; TIEU, R.; GAN, L. (2014): Systematic prioritization and integrative analysis of copy number variations in schizophrenia reveal key schizophrenia susceptibility genes. *Schizophrenia Bulletin*, 40 (6), S. 1285–1299.
- LYONS, M.-J.; BAR, J.L.; KREMEN, W.S.; TOOMEY, R.; EISEN, S.A.; GOLDBERG, J.; FARAONE, S.V.; TSUANG, M. (2002): Nicotine and familial vulnerability to schizophrenia: a discordant twin study. *J Abnorm Psychol* 111 (4), S. 687-693.
- MARNEROS, A., DEISTER, A. & ROHDE-MARNEROS, A. (1991): *Affektive, schizoaffektive und schizophrene Psychosen. Eine vergleichende Langzeitstudie*. Berlin: Springer. (Bd. 65).

LITERATURVERZEICHNIS

- MARTIN-RUIZ, C. M.; HAROUTUNIAN, V. H.; LONG, P.; YOUNG, A. H.; DAVIS, K. L.; PERRY, E. K.; COURT, J. A. (2003): Dementia rating and nicotinic receptor expression in the prefrontal cortex in schizophrenia. *Biological psychiatry*, 54 (11), S. 1222–1233.
- MARTIN, L. F.; LEONARD S; HALL, M. H.; TREGELLAS, J. R.; FREEDMAN, R.; OLINCY, A. (2007): Sensory gating and alpha-7 nicotinic receptor gene allelic variants in schizoaffective disorder, bipolar type. *American journal of medical genetics*, 144 (5), S. 611–614.
- MAZIADE, M.; YVON C CHAGNON; MARC-ANDRÉ ROY; ALEXANDRE BUREAU; ALAIN FOURNIER; CHANTAL MÉRETTE (2009): Chromosome 13q13-q14 locus overlaps mood and psychotic disorders: the relevance for redefining phenotype. *Eur J Hum Genet* 17 (8), S. 1034-1042.
- MCEVOY, J. P. & BROWN, S. (1999): Smoking in first-episode patients with schizophrenia. *The American journal of psychiatry*, 156 (7), S. 1120–1121.
- MCGUE, M. & GOTTESMAN, I. I. (1989): Genetic linkage in schizophrenia: perspectives from genetic epidemiology. *Schizophrenia bulletin*, 15 (3), S. 453–464.
- MELTZER, H. Y. (2005): Suicide in schizophrenia, clozapine, and adoption of evidence-based medicine. *The Journal of clinical psychiatry*, 66 (4), S. 530–533.
- MEXAL, S.; BERGER, R.; JUDY LOGEL; RANDAL G ROSS; ROBERT FREEDMAN; SHERRY LEONARD (2010): Differential regulation of alpha7 nicotinic receptor gene (CHRNA7) expression in schizophrenic smokers. *J Mol Neurosci* 40 (1-2), S. 185-195.
- MIRNICS, K.; F. A. MIDDLETON; G. D. STANWOOD; D. A. LEWIS; P. LEVITT (2001): Disease-specific changes in regulator of G-protein signaling 4 (RGS4) expression in schizophrenia. *Mol Psychiatry* 6 (3), S. 293-301.
- MIRZA, N. R. & STOLERMAN, I. P. (1998): Nicotine enhances sustained attention in the rat under specific task conditions. *Psychopharmacology*, 138 (3-4), S. 266–274.
- MITROFANIS, J. & GUILLERY, R. W. (1993): New views of the thalamic reticular nucleus in the adult and the developing brain. *Trends in neurosciences*, 16 (6), S. 240–245.
- MOGHADDAM G, KRYSTAL J. H. (2002): *The neurochemistry of schizophrenia*. In: Hirsch RS, Weinberger DR (Hrsg) Schizophrenia. Oxford: *Blackwell Science*. S. 249-364.
- MÖLLER, H.-J. (2004): *Schizophrenie. Langzeitverlauf und Langzeittherapie*. Wien: Springer.
- MÖLLER, H.-J.; LAUX, G.; KAPFHAMMER, H.-P. (2017): *Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie*. 5. Aufl. Berlin: Springer.
- MORITA, Y.; CALLICOTT, J. H.; TESTA, L. R.; MIGHDOLL, M. I.; DICKINSON, D.; CHEN, Q.; TAO, R.; LIPSKA, B. K.; KOLACHANA, B.; LAW, A. J.; YE, T.; STRAUB, R.E.; WEINBERGER, D.R. (2014): Characteristics of the cation cotransporter NKCC1 in human brain: alternate transcripts, expression in development and potential relationships to brain function and schizophrenia. *J Neuroscience* 34, S. 4929-4940.

LITERATURVERZEICHNIS

- MORTON (1995): Sequential tests for the detection of linkage. *Am J Hum Genet* 7 (3), S. 277-318.
- MUESER, K. T.; DRAKE, R. E.; WALLACH, M. A. (1998): Dual diagnosis: a review of etiological theories. *Addictive behaviors* 23 (6), S. 717-734.
- MÜLLEROVÁ, J.; PAVEL HOZÁK (2004): Use of recombinant congenic strains in mapping disease-modifying genes. *News Physiol Sci* 19, S. 105-109.
- MYLES-WORSLEY, M.; COON, H.; BYERLEY, W.; WALDO, M.; YOUNG, D.; FREEDMAN, R. (1996): Developmental and genetic influences on the P50 sensory gating phenotype. *Biological Psychiatry*, 39 (4), S. 289–295.
- NAGAMOTO, H. T.; L. E. ADLER; R. A. HEA; J. M. GRIFFITH; K. A. MCRAE; R. FREEDMAN (1996): Gating of auditory P50 in schizophrenics: unique effects of clozapine. *Biological Psychiatry*, 40 (3), S. 181–188.
- NAKANE, A. 2007. Stressful life events influence occurrence, recurrence and the course of schizophrenia. *Seishin shinkeigaku zasshi*, 109 (8), S. 751–758.
- NATIONAL FOUNDATION FOR BRAIN RESEARCH. (1992): *The care of disorders of the brain*. Washington D.C.: National Foundation for Brain Research.
- NEVES-PEREIRA M, BRAGANZA-KING N, WALKER ML, KENNEDY JL (1999): TDT studies of CHRNA7 in schizophrenia and bipolar disorder. *Schizophrenia research*, 36 (93).
- NEVES-PEREIRA, M.; BASSETT, A. S.; HONER, W. G.; LANG, D.; KING, N. A.; KENNEDY, J. L. (1998): No evidence for linkage of the CHRNA7 gene region in Canadian schizophrenia families. *American journal of medical genetics*, 81 (5), S. 361–363.
- NIELSEN, R.; MELISSA J HUBISZ; ANDREW G CLARK (2004): Reconstituting the frequency spectrum of ascertained single-nucleotide polymorphism data. *Genetics* 168 (4), S. 2373-2382.
- NÖTHEN, M. M., PROPPING, P. & FIMMERS, R. (1993): Association versus linkage studies in psychosis genetics. *Journal of medical genetics*, 30 (8), S. 634–637.
- O'DONOVAN, M.-C.; CRADDOCK, N.; NORTON, N.; WILLIAMS, H.; PEIRCE, T.; MOSKVINA, V.; NIKOLOV I, HAMSHERE M, CARROLL L, GEORGIEVA L, DWYER S, HOLMANS P, MARCHINI 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 (9), S. 1053-1055.

LITERATURVERZEICHNIS

- OLINCY, A.; HARRIS, J.G.; JOHNSON, L.L.; PENDER, V.; KONGS, S.; ALLENSWORTH, D.; ELLIS, J.; ZERBE, G.O.; LEONARD, S.; STEVENS, K.E.; STEVENS JO, MARTIN L, ADLER LE, SOTI F, KEM WR, FREEDMAN R. (2006): Proof-of-concept trial of an alpha7 nicotinic agonist in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 63 (6), S. 630-638.
- OLINCY, A.; ROSS, R. G.; YOUNG, D. A.; ROATH, M.; FREEDMAN, R. (1998): Improvement in smooth pursuit eye movements after cigarette smoking in schizophrenic patients. *Neuropsychopharmacology* 18 (3), S. 175-185.
- OLINCY, A., YOUNG, D. A. & FREEDMAN, R. (1997): Increased levels of the nicotine metabolite cotinine in schizophrenic smokers compared to other smokers. *Biological psychiatry*, 42 (1), S. 1–5.
- OS, J. VAN; SELTEN, J. P. (1998): Prenatal exposure to maternal stress and subsequent schizophrenia. The May 1940 invasion of The Netherlands. *Br J Psychiatry* 172, S. 324-326.
- OWEN, M.-J.; WILLIAMS, H. J.; O'DONOVAN, M. C. (2009): Schizophrenia genetics: advancing on two fronts. *Curr Opin Genet Dev* 19 (3), S. 266-270.
- OWEN, M.-J.; SAWA, A.; MORTENSEN, P. B. (2016): Schizophrenia. *Lancet* 388 (10039), S. 86-97
- PETRONIS, A.; GOTTESMAN, I. I.; KAN, P.; KENNEDY, J. L.; BASILE, V. S.; PATERSON, A. D.; POPENDIKYTE, V. (2003): Monozygotic twins exhibit numerous epigenetic differences: clues to twin discordance? *Schizophrenia bulletin*, 29 (1), S. 169–178.
- PORCELLI, S.; LEE, S. J.; HAN, C.; PATKAR, A.; ALBANI, D.; JUN, T.-Y.; PAE, C.-U.; SERRETTI, A.: (2018): Hot genes in schizophrenia: How clinical datasets could help to refine their role. *Journal of Molecular Neuroscience*, 64, S. 273–286.
- PROBER, J. M.; TRAINOR, G. L.; DAM, R. J.; HOBBS, F. W.; ROBERTSON, C. W.; ZAGURSKY, R. J.; COCUZZA AJ, JENSEN MA, BAUMEISTER K (1987): A system for rapid DNA sequencing with fluorescent chain-terminating dideoxynucleotides. *Science*, 238 (4825), S. 336–341.
- Molecular targets ranked. *Psychiatr News*. 2006;41, S.16–17. Psychiatric News.
- QIAGEN. 2005. *QIAamp DNA Blood Midi/Maxi Handbook*. 2nd Edition.
- QUIK, M.; CAMPOS, C.; GRADY, S. R. (2013): Multiple CNS nicotinic receptors mediate L-dopa-induced dyskinesias: studies with parkinsonian nicotinic receptor knockout mice. *Biochem. Pharmacol.* 86, S. 1153-1162.
- RADCLIFFE, K. A.; FISHER, J. L.; GRAY, R.; DANI, J. A. (1999): Nicotinic modulation of glutamate and GABA synaptic transmission of hippocampal neurons. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 868, S. 591–610.
- RAUX, G.; BONNET-BRILHAULT, F.; LOUCHART, S.; HOUY, E.; GANTIER, R.; LEVILLAIN, D.; ALLIO G, HAOUZIR S, PETIT M, MARTINEZ M, FREBOURG T, THIBAUT F, CAMPION D (2002): The -2 bp deletion in exon 6 of the 'alpha 7-like' nicotinic receptor subunit gene is a risk factor for the P50 sensory gating deficit. *Molecular psychiatry*, 7 (9), S. 1006–1011.

LITERATURVERZEICHNIS

- REES E, WALTERS JT, GEORGIEVA L, ISLES AR, CHAMBERT KD, RICHARDS AL, MAHONEY-DAVIES G, LEGGE SE, MORAN JL, MCCARROLL SA, O'DONOVAN MC, OWEN MJ, KIROV G. (2014): Analysis of copy number variations at 15 schizophrenia-associated loci. *Br J Psychiatry*, 204 (2), S. 108-114.
- REN, K.; PUIG, V.; PAPKE, R. L.; ITOH, Y.; HUGHES, J. A.; MEYER, E. M. (2005): Multiple calcium channels and kinases mediate alpha7 nicotinic receptor neuroprotection in PC12 cells. *Journal of neurochemistry*, 94 (4), S. 926–933.
- RICE, J.P.; REICH, T.; BUCHOLZ, K.K.; NEUMAN, R.J.; FISHMAN, R.; ROCHBERG, N.; HESSELBROCK, V.M.; NURNBERGER, J.I. JR; SCHUCKIT, M.A.; BEGLEITER, H. (1995): Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res* 19 (4), S. 1018-1023.
- RICHTER, V. & GUTHKE, J. (1996): *Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar. (LEBI) ; Handanweisung.* Göttingen: Hogrefe Verl. für Psychologie.
- RILEY, B. P.; MAKOFF, A.; MOGUDI-CARTER, M.; JENKINS, T.; WILLIAMSON, R.; COLLIER, D.; MURRAY, R. (2000): Haplotype transmission disequilibrium and evidence for linkage of the CHRNA7 gene region to schizophrenia in Southern African Bantu families. *American journal of medical genetics*, 96 (2), S. 196–201.
- RILEY, B.; WILLIAMSON, M.; COLLIER, D.; WILKIE, H.; MAKOFF, A. (2002): A 3-Mb map of a large Segmental duplication overlapping the alpha7-nicotinic acetylcholine receptor gene (CHRNA7) at human 15q13-q14. *Genomics*, 79 (2), S. 197–209.
- RIPKE S, SANDERS AR, KENDLER KS, LEVINSON DF, SKLAR P, HOLMANS PA ET AL. (2011): Genome-wide association study identifies five new schizophrenia loci. *Nat Genet* 43 (10), S. 969-976.
- RIPKE S, NEALE BM, CORVIN A, WALTERS JT, FARH KH, HOLMANS PA, LEE P, BULIK-SULLIVAN B, COLLIER DA, HUANG H, PERS TH, AGARTZ I, AGERBO E, ALBUS M, ALEXANDER M, AMIN F, BACANU SA, BEGEMANN M, BELLIVEAU RA JR, BENE J, BERGEN SE, BEVILACQUA E, BIGDELI TB, BLACK DW, BRUGGEMAN R, BUCCOLA NG, BUCKNER RL, BYERLEY W, CAHN W, CAI G, CAMPION D, CANTOR RM, CARR VJ, CARRERA N, CATTS SV, CHAMBERT KD, CHAN RC, CHEN RY, CHEN EY, CHENG W, CHEUNG EF, CHONG SA, CLONINGER CR, COHEN D, COHEN N, CORMICAN P, CRADDOCK N, CROWLEY JJ, CURTIS D, DAVIDSON M, DAVIS KL, DEGENHARDT F, DEL FAVERO J, DEMONTIS D, DIKEOS D, DINAN T, DJUROVIC S, DONOHOE G, DRAPEAU E, DUAN J, DUDBRIDGE F, DURMISHI N, EICHHAMMER P, ERIKSSON J, ESCOTT-PRICE V, ESSIUX L, FANOUS AH, FARRELL MS, FRANK J, FRANKE L, FREEDMAN R, FREIMER NB, FRIEDL M, FRIEDMAN JI, FROMER M, GENOVESE G, GEORGIEVA L, GIEGLING I, GIUSTI-RODRÍGUEZ P, GODARD S, GOLDSTEIN JI, GOLIMBET V, GOPAL S, GRATTEN J, DE HAAN L, HAMMER C, HAMSHERE ML, HANSEN M, HANSEN T, HAROUTUNIAN V, HARTMANN AM, HENSKENS FA, HERMS S, HIRSCHHORN JN, HOFFMANN P, HOFMAN A, HOLLEGAARD MV, HOUGAARD DM, IKEDA M, JOA I, JULIÀ A, KAHN RS, KALAYDJIEVA L, KARACHANAK-

LITERATURVERZEICHNIS

- YANKOVA S, KARJALAINEN J, KAVANAGH D, KELLER MC, KENNEDY JL, KHRUNIN A, KIM Y, KLOVINS J, KNOWLES JA, KONTE B, KUCINSKAS V, AUSRELE KUCINSKIENE Z, KUZELOVA-PTACKOVA H, KÄHLER AK, LAURENT C, KEONG JL, LEE SH, LEGGE SE, LERER B, LI M, LI T, LIANG KY, LIEBERMAN J, LIMBORSKA S, LOUGHLAND CM, LUBINSKI J, LÖNNQVIST J, MACEK M JR, MAGNUSSON PK, MAHER BS, MAIER W, MALLET J, MARSAL S, MATTHEISEN M, MATTINGSDAL M, MCCARLEY RW, MCDONALD C, MCINTOSH AM, MEIER S, MEIJER CJ, MELEGH B, MELLE I, MESHOLAM-GATELY RI, METSPALU A, MICHIE PT, MILANI L, MILANOVA V, MOKRAB Y, MORRIS DW, MORS O, MURPHY KC, MURRAY RM, MYINGERMEYS I, MÜLLER-MYHSOK B, NELIS M, NENADIC I, NERTNEY DA, NESTADT G, NICODEMUS KK, NIKITINA-ZAKE L, NISENBAUM L, NORDIN A, O'CALLAGHAN E, O'DUSHLAINE C, O'NEILL FA, OH SY, OLINCY A, OLSEN L, VAN OS J, PANTELIS C, PAPADIMITRIOU GN, PAPIOL S, PARKHOMENKO E, PATO MT, PAUNIO T, PEJOVIC-MILOVANCEVIC M, PERKINS DO, PIETILÄINEN O, PIMM J, POCKLINGTON AJ, POWELL J, PRICE A, PULVER AE, PURCELL SM, QUESTED D, RASMUSSEN HB, REICHENBERG A, REIMERS MA, RICHARDS AL, ROFFMAN JL, ROUSSOS P, RUDERFER DM, SALOMAA V, SANDERS AR, SCHALL U, SCHUBERT CR, SCHULZE TG, SCHWAB SG, SCOLNICK EM, SCOTT RJ, SEIDMAN LJ, SHI J, SIGURDSSON E, SILAGADZE T, SILVERMAN JM, SIM K, SLOMINSKY P, SMOLLER JW, SO HC, SPENCER CA, STAHL EA, STEFANSSON H, STEINBERG S, STOGMANN E, STRAUB RE, STRENGMAN E, STROHMAIER J, STROUP TS, SUBRAMANIAM M, SUVISAARI J, SVRAKIC DM, SZATKIEWICZ JP, SÖDERMAN E, THIRUMALAI S, TONCHEVA D, TOSATO S, VEIJOLA J, WADDINGTON J, WALSH D, WANG D, WANG Q, WEBB BT, WEISER M, WILDENAUER DB, WILLIAMS NM, WILLIAMS S, WITT SH, WOLEN AR, WONG EH, WORMLEY BK, XI HS, ZAI CC, ZHENG X, ZIMPRICH F, WRAY NR, STEFANSSON K, VISSCHER PM, ADOLFSSON R, ANDREASSEN OA, BLACKWOOD DH, BRAMON E, BUXBAUM JD, BØRGLUM AD, CICHON S, DARVASI A, DOMENICI E, EHRENREICH H, ESKO T, GEJMAN PV, GILL M, GURLING H, HULTMAN CM, IWATA N, JABLENSKY AV, JÖNSSON EG, KENDLER KS, KIROV G, KNIGHT J, LENCZ T, LEVINSON DF, LI QS, LIU J, MALHOTRA AK, MCCARROLL SA, MCQUILLIN A, MORAN JL, MORTENSEN PB, MOWRY BJ, NÖTHEN MM, OPHOFF RA, OWEN MJ, PALOTIE A, PATO CN, PETRYSHEN TL, POSTHUMA D, RIETSCHEL M, RILEY BP, RUJESCU D, SHAM PC, SKLAR P, ST CLAIR D, WEINBERGER DR, WENDLAND JR, WERGE T, DALY MJ, SULLIVAN PF, O'DONOVAN MC (2014): Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium: Biological insight from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature* 511 (7510), S. 421-427.
- RIPKE S, O'DUSHLAINE C, CHAMBERT K, MORAN JL, KÄHLER AK, AKTERIN S, BERGEN SE, COLLINS AL, CROWLEY JJ, FROMER M, KIM Y, LEE SH, MAGNUSSON PK, SANCHEZ N, STAHL EA, WILLIAMS S, WRAY NR, XIA K, BETTELLA F, BORGLUM AD, BULIK-SULLIVAN BK, CORMICAN P, CRADDOCK N, DE LEEUW C, DURMISHI N, GILL M, GOLIMBET V, HAMSHERE ML, HOLMANS P, HOUGAARD DM, KENDLER KS, LIN K, MORRIS DW, MORS O, MORTENSEN PB, NEALE BM, O'NEILL FA, OWEN MJ, MILOVANCEVIC MP, POSTHUMA D, POWELL J, RICHARDS AL, RILEY BP, RUDERFER D, RUJESCU D, SIGURDSSON E, SILAGADZE T, SMIT AB,

LITERATURVERZEICHNIS

- STEFANSSON H, STEINBERG S, SUVISAARI J, TOSATO S, VERHAGE M, WALTERS JT; MULTICENTER GENETIC STUDIES OF SCHIZOPHRENIA CONSORTIUM., LEVINSON DF, GEJMAN PV, KENDLER KS, LAURENT C, MOWRY BJ, O'DONOVAN MC, OWEN MJ, PULVER AE, RILEY BP, SCHWAB SG, WILDENAUER DB, DUDBRIDGE F, HOLMANS P, SHI J, ALBUS M, ALEXANDER M, CAMPION D, COHEN D, DIKEOS D, DUAN J, EICHHAMMER P, GODARD S, HANSEN M, LERER FB, LIANG KY, MAIER W, MALLET J, NERTNEY DA, NESTADT G, NORTON N, O'NEILL FA, PAPANIMITRIOU GN, RIBBLE R, SANDERS AR, SILVERMAN JM, WALSH D, WILLIAMS NM, WORMLEY B; PSYCHOSIS ENDOPHENOTYPES INTERNATIONAL CONSORTIUM., ARRANZ MJ, BAKKER S, BENDER S, BRAMON E, COLLIER D, CRESPO-FACORRO B, HALL J, IYEGBE C, JABLENSKY A, KAHN RS, KALAYDJIEVA L, LAWRIE S, LEWIS CM, LIN K, LINSZEN DH, MATA I, MCINTOSH A, MURRAY RM, OPHOFF RA, POWELL J, RUJESCU D, VAN OS J, WALSHE M, WEISBROD M, WIERSMA D; WELLCOME TRUST CASE CONTROL CONSORTIUM 2., DONNELLY P, BARROSO I, BLACKWELL JM, BRAMON E, BROWN MA, CASAS JP, CORVIN AP, DELOUKAS P, DUNCANSON A, JANKOWSKI J, MARKUS HS, MATHEW CG, PALMER CN, PLOMIN R, RAUTANEN A, SAWCER SJ, TREMBATH RC, VISWANATHAN AC, WOOD NW, SPENCER CC, BAND G, BELLENGUEZ C, FREEMAN C, HELLENTHAL G, GIANNOULATOU E, PIRINEN M, PEARSON RD, STRANGE A, SU Z, VUKCEVIC D, DONNELLY P, LANGFORD C, HUNT SE, EDKINS S, GWILLIAM R, BLACKBURN H, BUMPSTEAD SJ, DRONOV S, GILLMAN M, GRAY E, HAMMOND N, JAYAKUMAR A, MCCANN OT, LIDDLE J, POTTER SC, RAVINDRARAJAH R, RICKETTS M, TASHAKKORI-GHANBARIA A, WALLER MJ, WESTON P, WIDAA S, WHITTAKER P, BARROSO I, DELOUKAS P, MATHEW CG, BLACKWELL JM, BROWN MA, CORVIN AP, MCCARTHY MI, SPENCER CC, BRAMON E, CORVIN AP, O'DONOVAN MC, STEFANSSON K, SCOLNICK E, PURCELL S, MCCARROLL SA, SKLAR P, HULTMAN CM, SULLIVAN PF. (2013): Genome-wide association analysis identifies 13 new risk loci for schizophrenia. *Nat Genet* 45 (10), S. 1150-1159.
- RÖSSLER, W.; SALIZE, H. J.; VAN OS, J.; RIECHER-RÖSSLER, A. (2005): Size of burden of schizophrenia and psychotic disorders. *European neuropsychopharmacology* 15 (4), S. 399-409.
- RUBBOLI, F.; J. A. COURT; C. SALA; C. MORRIS; E. PERRY; F. CLEMENTI (1994): Distribution of neuronal nicotinic receptor subunits in human brain. *Neurochem Int* 25 (1), S. 69-71.
- SACCO, K. A.; TERMINE, A.; SEYAL, A.; DUDAS, M. M.; VESSICCHIO, J. C. (2005): Effects of cigarette smoking on spatial working memory and attentional deficits in schizophrenia: involvement of nicotinic receptor mechanisms. *Archives of general psychiatry*, 62:649–659.
- SAHA, S., CHANT, D. & MCGRATH, J. (2007): A systematic review of mortality in schizophrenia: is the differential mortality gap worsening over time? *Archives of general psychiatry*, 64 (10), S. 1123–1131.
- SALEHI, A., DELCROIX, J. D. & SWAAB, D. F. (2004): Alzheimer's disease and NGF signaling. *Journal of neural transmission*, 111 (3), S. 323–345.

LITERATURVERZEICHNIS

- SÁNCHEZ-MORLA, E. M.; GARCÍA-JIMÉNEZ; M. A. A. BARABASH; V. MARTÍNEZ-VIZCAÍNO; J. MENA; J. A. CABRANES-DÍAZ, BACA-BALDOMERO E, SANTOS JL. (2008): P50 sensory gating deficit is a common marker of vulnerability to bipolar disorder and schizophrenia. *Acta Psychiatr Scand* 117 (4), S. 313-318.
- SANDERS A. R.; I. RUSU; J. DUAN; J. E. VANDER MOLEN; C. HOU; S. G. SCHWAB , WILDENAUER DB, MARTINEZ M, GEJMAN PV. (2005): Haplotypic association spanning the 22q11.21 genes COMT and ARVCF with schizophrenia. *Mol Psychiatry* 10 (4), S. 353-365.
- SANDERS, A.R.; DUAN, J.; LEVINSON, D.F.; SHI, J.; HE, D.; HOU, C.; BURRELL, G.J.; RICE, J.P.; NERTNEY, D.A.; OLINCY, A.; ROZIC, P.; VINOGRADOV, S., BUCCOLA, N.G.; MOWRY, B.J.; FREEDMAN R, AMIN F, BLACK DW, SILVERMAN JM, BYERLEY WF, CROWE RR, CLONINGER CR, MARTINEZ M, GEJMAN PV (2008): No significant association of 14 candidate genes with schizophrenia in a large European ancestry sample: implications for psychiatric genetics. *Am J Psychiatry* 165 (4), S. 497-506.
- SASS, H. 2003. *Diagnostische Kriterien des Diagnostischen und Statistischen Manuals psychischer Störungen DSM-IV-TR*. Göttingen: Hogrefe.
- SAWADA, K.; BARR, A. M.; NAKAMURA, M.; ARIMA, K.; YOUNG, C. E.; DWORK, A. J.; FALKAI, P.; PHILLIPS AG, HONER WG (2005): Hippocampal complexin proteins and cognitive dysfunction in schizophrenia. *Archives of general psychiatry*, 62 (3), S. 263–272.
- SCHMITT A, RUJESCU D, GAWLIK M, HASAN A, HASHIMOTO K, ICETA S, JAREMA M, KAMBEITZ J, KASPER S, KEESER D, KORNUBER J, KOUTSOULERIS N, LANZENBERGER R, MALCHOW B, SAOUD M, SPIES M, STÖBER G, THIBAUT F, RIEDERER P, FALKAI P (2016): Consensus paper of the WFSBP Task Force on Biological Markers: Criteria for biomarkers and endophenotypes of schizophrenia part II: cognition, neuroimaging and genetics. *World J Biol Psychiatry*, 17(6), S. 406-428.
- SCHNEIDER, J. A.; MANISH S PUNGLIYA; JULIE Y CHOI; RUHONG JIANG; XIAO JENNY SUN; BENJAMIN A SALISBURY; J. CLAIBORNE STEPHENS (2003): DNA variability of human genes. *Mech Ageing Dev* 124 (1), S. 17-25.
- SCHOSSER A, K. J. Mossaheb N. Aschauer H. (2006): Genetische Aspekte affektiver Erkrankungen und der Schizophrenie. *Journal für Neurologie, Neurochirurgie und Psychiatrie*, 7 (4), S. 19–24.
- SCHWAB, S. G.; KNAPP, M.; MONDABON, S.; HALLMAYER, J.; BORRMANN-HASSENBACH, M.; ALBUS, M. (2003): Support for association of schizophrenia with genetic variation in the 6p22.3 gene, dysbindin, in sib-pair families with linkage and in an additional sample of triad families. *Am J Hum Genet* 72 (1), S. 185-190.
- SCHWENKMEZGER, P., HODAPP, V. & SPIELBERGER, C. D. (1992): *Das State-Trait-Ärgerausdrucks-Inventar. STAXI*. Bern: Huber.

LITERATURVERZEICHNIS

- SÉGUÉLA, P.; J. WADICHE; K. DINELEY-MILLER; J. A. DANI; J. W. PATRICK (1993): Molecular cloning, functional properties, and distribution of rat brain $\alpha 7$: a nicotinic cation channel highly permeable to calcium. *J Neurosci* 13 (2), S. 596-604.
- SHERR, J. D.; CAROL MYERS; MATTHEW T AVILA; AMIE ELLIOTT; TERESA A BLAXTON; GUNVANT K THAKER (2002): The effects of nicotine on specific eye tracking measures in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 52 (7), S. 721-728.
- SHIH, R. A., BELMONTE, P. L. & ZANDI, P. P. (2004): A review of the evidence from family, twin and adoption studies for a genetic contribution to adult psychiatric disorders. *International review of psychiatry*, 16 (4), S. 260–283.
- SHINAWI, M.; CHRISTIAN P SCHAAF; SAMARTH S BHATT; ZHILIAN XIA; ANKITA PATEL; SAU WAI CHEUNG. (2009): A small recurrent deletion within 15q13.3 is associated with a range of neurodevelopmental phenotypes. *Nat Genet* 41 (12), S. 1269-1271.
- SHIRAZI, S. (2000): Effects of typical and atypical antipsychotic drugs on acetylcholine release in the hippocampus. *Soc Neurosci Abstr*, 26, S. 2144.
- SINKUS, M. L.; LEE, M. J., GAULT, J.; LOGEL, J.; SHORT, M.; FREEDMAN, R.; LEONARD, S. (2009): A 2-Base Pair Deletion Polymorphism in the Partial Duplication of the $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Gene (*CHRFAM7A*) on Chromosome 15q14 is associated with Schizophrenia. *Brain Research*, 1291, S. 1–11.
- SINKUS, M. L.; GRAW, S.; FREEDMAN, R.; ROSS, R. G.; LESTER, H. A.; LEONARD, S. (2015): The human *CHRNA7* and *CHRFAM7A* genes: A review of the genetics, regulation and function. *Neuropharmacology*, 96, S. 274-288.
- SLOTKIN, T. A. (1998): Fetal nicotine or cocaine exposure: which one is worse? *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 285 (3), S. 931–945.
- SMITH, R. C.; LINDENMAYER, J.-P.; DAVIS, J.M.; CORNWELL, J.; NOTH, K.; GUPTA, S.; SERSHEN, H.; LAJTHA, A. (2009): Cognitive and antismoking effects of varenicline in patients with schizophrenia or schizoaffective disorder. *Schizophr. Res.* 110, S. 149-155.
- SMITH, R. C.; SINGH, A.; INFANTE, M.; KHANDAT, A.; KLOOS, A. (2002): Effects of cigarette smoking and nicotine nasal spray on psychiatric symptoms and cognition in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 27 (3), S. 479-497.
- SMITH, R. C.; WARNER-COHEN, J.; MATUTE, M.; BUTLER, E.; KELLY, E.; VAIDHYANATHASWAMY, S.; KHAN, A. (2006): Effects of nicotine nasal spray on cognitive function in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 31 (3), S. 637-643.
- STASSEN, H. H.; BRIDLER, R.; HÄGELE, S.; HERGERSBERG, M.; MEHMANN, B.; SCHINZEL, A.; WEISBROD M; SCHARFETTER C (2000): Schizophrenia and smoking: evidence for a common neurobiological basis? *American journal of medical genetics*, 96 (2), S. 173–177.

LITERATURVERZEICHNIS

- STEEN, R. G.; MULL, C.; MCCLURE, R.; HAMER, R. M.; LIEBERMAN, J. A. (2006): Brain volume in first-episode schizophrenia: systematic review and meta-analysis of magnetic resonance imaging studies. *The British journal of psychiatry*, 188, S. 510–518.
- STEFANSSON, H.; SIGURDSSON, E.; STEINTHORSDOTTIR, V.; BJORNSDOTTIR, S.; SIGMUNDSSON, T.; GHOSH, S.; BRYNJOLFSSON J, GUNNARSDOTTIR S, IVARSSON O, CHOU TT, HJALTASON O, BIRGISDOTTIR B, JONSSON H, GUDNADOTTIR VG, GUDMUNSDOTTIR E, BJORNSSON A, INGVARSSON B, INGASON A, SIGFUSSON S, HARDARDOTTIR H, HARVEY RP, LAI D, ZHOU M, BRUNNER D, MUTEL V, GONZALO A, LEMKE G, SAINZ J, JOHANNESSEN G, ANDRESSON T, GUDBJARTSSON D, MANOLESCU A, FRIGGE ML, GURNEY ME, KONG A, GULCHER JR, PETURSSON H, STEFANSSON K. (2002): Neuregulin 1 and susceptibility to schizophrenia. *Am J Hum Genet* 71 (4), S. 877-892.
- STEFANSSON, H.; RUJESCU, D.; CICHON, S.; PIETILÄINEN, O. P. H.; INGASON, A.; STEINBERG, S.;...STEFANSSON, K. (2008): Large recurrent microdeletions associated with schizophrenia. *Nature*, 455(7210), S. 232–236.
- STEPHENS, S. H.; LOGEL J, BARTON A, FRANKS A, SCHULTZ J, SHORT M, DICKENSON J, JAMES B, FINGERLIN TE, WAGNER B, HODGKINSON C, GRAW S, ROSS RG, FREEDMAN R, LEONARD S. (2009): Association of the 5'-upstream regulatory region of the alpha7 nicotinic acetylcholine receptor subunit gene (CHRNA7) with schizophrenia. *Schizophr Res* 109 (1-3), S. 102-112.
- STEPHENS, S. H.; FRANKS, A.; BERGER, R.; PALIONYTE, M.; FINGERLIN, T. E.; WAGNER, B.; LEONARD, S. (2012). Multiple genes in the 15q13-q14 chromosomal region are associated with schizophrenia. *Psychiatric Genetics*, 22(1), 10.
- STEVENS, K. E.; FREEDMAN, R.; COLLINS, A. C.; HALL, M.; LEONARD S; MARKS, M. J.; ROSE, G. M. (1996): Genetic correlation of inhibitory gating of hippocampal auditory evoked response and alpha-bungarotoxin-binding nicotinic cholinergic receptors in inbred mouse strains. *Neuropsychopharmacology*, 15 (2), S. 152–162.
- STEVENS, K. E.; KEM, W. R.; MAHNIR, V. M.; FREEDMAN, R. (1998): Selective alpha7-nicotinic agonists normalize inhibition of auditory response in DBA mice. *Psychopharmacology*, 136 (4), S. 320–327.
- STEVENS, K. E.; ZHENG, L.; FLOYD, K. L.; STITZEL, J. A. (2015): Maximizing the effect of an alpha7-nicotinic receptor PAM in a mouse model of schizophrenia-like sensory inhibition deficits. *Brain research*, Vol. 1611, S.8-17.
- STITZEL, J. A., FARNHAM, D. A. & COLLINS, A. C. (1996): Linkage of strain-specific nicotinic receptor alpha 7 subunit restriction fragment length polymorphisms with levels of alpha-bungarotoxin binding in brain. *Brain research*, 43 (1-2), S. 30–40.
- SULLIVAN, P. F. (2005): The genetics of schizophrenia. *PLoS medicine*, 2 (7), S. 212.
- SZYF M. (2015): Epigenetics. A key for unlocking complex CNS disorders? Therapeutic implications . *Eur Neuropsychopharmacol*, 25, S. 682-702.

LITERATURVERZEICHNIS

- TAN, E.-K.; TAN C, SHEN H, CHAI A, LUM SY, TEOH ML, YIH Y, WONG MC, ZHAO Y (2003): Alpha synuclein promoter and risk of Parkinson's disease: microsatellite and allelic size variability. *Neurosci Lett* 336 (1), S. 70-72.
- TARRIER, N.; BARROWCLOUGH, C.; PORCEDDU, K.; FITZPATRICK, E. (1994): The Salford Family Intervention Project: relapse rates of schizophrenia at five and eight years. *The British journal of psychiatry*, 165 (6), S. 829–832.
- THIBAUT F, BOUTROS NN, JAREMA M, ORANJE B, HASAN A, DASKALAKIS ZJ, WICHNIAK A, SCHMITT A, RIEDERER P, FALKAI P, RIEDERER P, JABLENSKY A, SAITO T, YODIM MB, BERETTA P, COWEN P, DECKERT J, GALLO C, GERLACH M, HAN SW, HIEMKE C, JAREMA M, KIM DK, KIM YK, LOPEZ MATO A, MIKOVA O, MÜLLER N, OZAWA H, REYNOLDS GP, REZNIK I, SAOUD M, SCHALLING M, THIBAUT F, THOME J, UZBEKOV MG (2015): Consensus paper of the WFSBP Task Force on Biological Markers: Criteria for biomarkers and endophenotypes of schizophrenia part 1: Neurophysiology. *World J Biol Psychiatry*, 16(5), S. 280-290.
- TIENARI, P.; WYNNE, L. C.; SORRI, A.; LAHTI, I.; LÄKSY, K.; MORING, J.; NAARALA M, NIEMINEN P, WAHLBERG KE (2004): Genotype-environment interaction in schizophrenia-spectrum disorder. Long-term follow-up study of Finnish adoptees. *The British journal of psychiatry*, 184, S. 216–222.
- TREGELLAS, J. R.; OLINCY A, JOHNSON L, TANABE J, SHATTI S, MARTIN LF, SINGEL D, DU YP, SOTI F, KEM WR, FREEDMAN R. (2010): Functional magnetic resonance imaging of effects of a nicotinic agonist in schizophrenia. In: *Neuropsychopharmacology* 35 (4), S. 938-942.
- TSUANG, D. W.; SKOL, A. D.; FARAONE, S. V.; BINGHAM, S.; YOUNG, K. A.; PRABHUDESAI, S.; HAVERSTOCK SL, MENA F, MENON AS, BISSET D, PEPPLER J, SAUTER F, BALDWIN C, WEISS D, COLLINS J, BOEHNKE M, SCHELLENBERG GD, TSUANG MT; (2001): Examination of genetic linkage of chromosome 15 to schizophrenia in a large Veterans Affairs Cooperative Study sample. *American journal of medical genetics* 105 (8), S. 662-668.
- TSUANG, M. T.; S. V. FARAONE (1995): The case for heterogeneity in the etiology of schizophrenia. *Schizophr Res* 17 (2), S. 161-175.
- TSUANG, M. T.; W. S. STONE; S. V. FARAONE (1999): Schizophrenia: a review of genetic studies. *Harv Rev Psychiatry* 7 (4), S. 185-207.
- TSUNEKI, H.; KOBAYASHI, S.; TAKAGI, K.; KAGAWA, S.; TSUNODA, M.; MURATA, M.; MATSUOKA T, WADA T, KURACHI M, KIMURA I, SASAOKA T (2007): Novel G423S mutation of human alpha7 nicotinic receptor promotes agonist-induced desensitization by a protein kinase C-dependent mechanism. *Molecular pharmacology* 71 (3), S. 777-786.
- TURECKI, G.; GROF, P.; GROF, E.; D'SOUZA, V.; LEBUIS, L.; MARINEAU, C. (2001): Mapping susceptibility genes for bipolar disorder: a pharmacogenetic approach based on excellent response to lithium. *Molecular psychiatry*, 6 (5), S. 570–578.

LITERATURVERZEICHNIS

- VAZZA, G.; C. BERTOLIN; E. SCUDELLARO; A. VETTORI; F. BOARETTO; S. RAMPINELLI (2007): Genome-wide scan supports the existence of a susceptibility locus for schizophrenia and bipolar disorder on chromosome 15q26. *Mol Psychiatry* 12 (1), S. 87-93.
- VENABLES P.H. (1964): Input dysfunction in schizophrenia. *Progress in experimental personality research*, 72, S. 1-47.
- VOGELSTEIN, B. & GILLESPIE, D. (1979): Preparative and analytical purification of DNA from agarose. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 76 (2), S. 615-619.
- WALDO, M. C.; ADLER, L. E.; LEONARD, S.; OLINCY, A.; ROSS, R.G., HARRIS, J.G.; FREEDMAN, R. (2000): Familial transmission of risk factors in the first-degree relatives of schizophrenic people. *Biol Psychiatry* 47(3), S. 231-9.
- WALLACE, T. L.; BERTRAND, D. (2013): Importance of the nicotinic acetylcholine receptor system in the prefrontal cortex. *Biochem. Pharmacol.* 85, S. 1713-1720.
- WANG, K.; LIU, X; ARAGAM, N. (2010): A genome-wide meta-analysis identifies novel loci associated with schizophrenia and bipolar disorder. *Schiz Res* 124 (1-3), S. 192-199.
- WANG, Y.; XIAO, C.; INDERSMITTEN, T.; FREEDMAN, R.; LEONARD, S.; LESTER, H. A. (2014): The Duplicated $\alpha 7$ Subunits Assemble and Form Functional Nicotinic Receptors with the Full-length $\alpha 7$. *The Journal of Biological Chemistry*, 289 (38), S. 26451-63.
- WEILAND, S.; D. BERTRAND; S. LEONARD (2000): Neuronal nicotinic acetylcholine receptors: from the gene to the disease. *Behav Brain Res* 113 (1-2), S. 43-56.
- WEINBERGER, D. R. (1997): The biological basis of schizophrenia: new directions. *The Journal of clinical psychiatry*, 58 Suppl 10, S. 22-27.
- WILLIAMS, H.; CRADDOCK, N.; RUSSO, G.; HAMSHERE, M.; MOSKVINA, V.; DWYER, S (2011): Most genome-wide significant susceptibility loci for schizophrenia and bipolar disorder reported to date cross-traditional diagnostic boundaries. *Hum Mol Genet* 20 (2), S. 387-391.
- WILLIAMS, J. M.; ANTHENELLI, R. M.; MORRIS, C. D.; TREADOW, J.; THOMPSON, J. R.; YUNIS, C.; GEORGE, T. R. (2012): A randomized, double-blind, placebo-controlled study evaluating the safety and efficacy of varenicline for smoking cessation in patients with schizophrenia or schizoaffective disorder. *J. Clin. Psychiatry* 73, S. 654-660.
- WILSON, G.; A. KARLIN (2001): Acetylcholine receptor channel structure in the resting, open, and desensitized states probed with the substituted-cysteine-accessibility method. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98 (3), S. 1241-48.
- WITTCHEN, H.-U., ZAUDIG, M. & FYDRICH, T. (1997): *SKID. Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV; Achse I und II*. Göttingen: Hogrefe.
- WOBROCK T, PAJONIK FG DÂ'AMELIO R. FALKAI P. (2005): Schizophrenie und Sucht. *PsychoNeuro*, 31, S. 433-440.

LITERATURVERZEICHNIS

- WONNACOTT, S. (1997): Presynaptic nicotinic ACh receptors. *Trends in neurosciences*, 20 (2), S. 92–98.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (2005): *Internationale Klassifikation psychischer Störungen. ICD-10 Kapitel V (F)*. Klinisch diagnostische Leitlinien, durchgesehen und ergänzte Auflage. Bern: Huber.
- 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 (1), S. 16–25.
- XU, J.; PATO, M. T.; TORRE, C. D.; MEDEIROS, H.; CARVALHO, C.; BASILE, V. S.; BAUER A, DOURADO A, VALENTE J, SOARES MJ, MACEDO AA, COELHO I, FERREIRA CP, AZEVEDO MH, MACCIARDI F, KENNEDY JL, PATO CN. (2001): Evidence for linkage disequilibrium between the alpha 7-nicotinic receptor gene (CHRNA7) locus and schizophrenia in Azorean families. *American journal of medical genetics*, 105 (8), S. 669–674.
- YAMADA, K.; GERBER, D. J.; IWAYAMA, Y.; OHNISHI, T.; OHBA, H.; TOYOTA, T.; ARUGA J, MINABE Y, TONEGAWA S, YOSHIKAWA T (2007): Genetic analysis of the calcineurin pathway identifies members of the EGR gene family, specifically EGR3, as potential susceptibility candidates in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104 (8), S. 2815-2820.
- YUE, W.-H.; WANG, H.-F.; SUN, L.-D.; TANG, F.-L.; LIU, Z.-H.; ZHANG, H.-X.; LI WQ, ZHANG YL, ZHANG Y, MA CC, DU B, WANG LF, REN YQ, YANG YF, HU XF, WANG Y, DENG W, TAN LW, TAN YL, CHEN Q, XU GM, YANG GG, ZUO XB, YAN H, RUAN YY, LU TL, HAN X, MA XH, WANG Y, CAI LW, JIN C, ZHANG HY, YAN J, MI WF, YIN XY, MA WB, LIU Q, KANG L, SUN W, PAN CY, SHUANG M, YANG FD, WANG CY, YANG JL, LI KQ, MA X, LI LJ, YU X, LI QZ, HUANG X, LV LX, LI T, ZHAO GP, HUANG W, ZHANG XJ, ZHANG D (2011): Genome-wide association study identifies a susceptibility locus for schizophrenia in Han Chinese at 11p11.2. *Nat Genet* 43 (12), S. 1228-1231.
- ZAMMIT, S.; SPURLOCK, G.; WILLIAMS, H.; NORTON, N.; WILLIAMS, N.; O'DONOVAN, M. C.; OWEN, M. J. (2007): Genotype effects of CHRNA7, CNR1 and COMT in schizophrenia: interactions with tobacco and cannabis use. *The British journal of psychiatry*, 191, S. 402–407.
- ZHANG, X. Y.; LIU, L.; LIU, S.; HONG, X.; CHEN, DA C.; XIU, M.H.... KOSTEN T.R.: (2012): Short-term tropisetron treatment and cognitive and P50 auditory gating deficits in schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 169(9):974-81.
- ZOBEL, MAIER (2004): Endophänotypen – ein neues Konzept zur biologischen Charakterisierung psychischer Störungen. *Der Nervenarzt* 75, S. 205–214.
- 1000 GENOMES PROJECT (2019): www.internationalgenome.org

9 Danksagung

Die praktische Arbeit der vorliegenden Studie wurde in der Abteilung der molekularen und klinischen Neurobiologie der Psychiatrischen Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München unter der damaligen Leitung von Prof. Dr. med. Hans-Jürgen Möller absolviert. Ich danke ihm für die Möglichkeit zur Durchführung dieser Studie sowie Herrn Prof. Dr. med. Dan Rujescu für die Aufnahme als Doktorandin in seine Arbeitsgruppe. Ein Dank geht auch an den jetzigen ärztlichen Direktor der Klinik Prof. Dr. med. Peter Falkai.

Mein besonderer Dank gilt Frau PD Dr. rer. biol. hum. Ina Giegling für die interessante Fragestellung, für ihre ständige Bereitschaft bei Fragen im praktischen Teil der Arbeit und für ihre Hilfe bei der statistischen Auswertung. Frau Dr. rer. biol. hum. Annette Hartmann möchte ich ganz herzlich für ihre kompetente Hilfe bei molekulargenetischen Fragen und beim Erstellen der schriftlichen Arbeit danken.

Frau Dr. rer. biol. hum. Heike Konnerth stand bei allen aufkommenden Fragen und Problemen als hilfsbereite Ansprechpartnerin immer zur Seite. Für ihren Einsatz bei der Betreuung der Doktoranden bin ich ihr sehr dankbar.

Ganz besonders geschätzt habe ich die freundschaftliche und konstruktive Arbeitsatmosphäre zwischen den Doktorandinnen und Doktoranden unserer Arbeitsgruppe. Sie hat wesentlich dazu beigetragen, dass mir die praktische Tätigkeit dieser Studie sehr viel Freude bereitete.

Ein herzlicher Dank geht an meinen Mann und meine Familie, die mir durch ihr stetes Interesse und ihre ausdauernde Begleitung beim Erstellen dieser Arbeit eine große Hilfe waren.

Zuletzt danke ich allen Studienteilnehmern für ihre Bereitschaft, sich für die wissenschaftliche, psychiatrische Forschung zur Verfügung gestellt zu haben. Ich wünsche, dass ihnen die Ergebnisse dieser Studie zugute kommen.