

Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie
Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Professor Dr. med. Peter Falkai

Eine Assoziationsstudie von Polymorphismen im DRD1-Gen und der Schizophrenie

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

vorgelegt von
Mariele Tessa Kalaitzis

aus
München

2021

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. D. Rujescu

Mitberichterstatter: PD Dr. med. Berend Malchow

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: PD Dr. Giegling

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

Tag der mündlichen Prüfung: 21.01.2021

Inhaltsverzeichnis:

1 Einleitung	5
1.1 Schizophrenie	5
1.1.1 Definition	5
1.1.2 Historische Entwicklung.....	5
1.1.3 Epidemiologie.....	6
1.1.4 Symptomatik und Subtypen.....	7
1.1.5 Verlaufsformen und Prognose	9
1.1.6 Ätiopathogenese	10
1.1.6.1 Biologische Faktoren.....	11
1.1.6.2 Umweltfaktoren	12
1.1.6.3 Genetische Faktoren.....	13
1.1.6.4 Neuroanatomische und biochemische Veränderungen	17
1.2 Das dopaminerge System.....	20
1.2.1 Dopaminsynthese, Abbau und Vorkommen.....	20
1.2.2 Einteilung, Struktur und Vorkommen der Dopamin-Rezeptoren.....	21
1.2.3 Signalübertragung des Dopamin-1-Rezeptors	24
1.2.4 Die Bedeutung des Dopamin-1-Rezeptors für Schizophrenie	24
1.2.5 Kopplungs- und Assoziationsstudien des DRD1-Gens mit Schizophrenie	25
1.3 Fragestellung	27
2 Material und Methoden	28
2.1 Vorbedingungen der Studie	28
2.2 Studienteilnehmer	28
2.2.1 Kontrollstichprobe.....	28
2.2.2 Schizophrenie-Patienten.....	29
2.3 Laborverfahren	31
2.3.1 DNA-Extraktion.....	31
2.3.2 DNA-Konzentrationsbestimmung.....	32
2.3.3 Genotypisierung	34
2.3.3.1 Auswahl der Polymorphismen	34
2.3.3.2 iPLEX-Verfahren	35
2.3.3.3 MALDI-TOF Massenspektrometrie.....	39
2.4 Qualitätskontrolle	40
2.5 Statistische Auswertung.....	41
3 Ergebnisse	42
3.1 Beschreibung der Stichprobe.....	42

Inhaltsverzeichnis

3.2 Beschreibung der Polymorphismen.....	43
3.3 Überprüfung des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts.....	43
3.4 Analyse des Polymorphismus rs4867798.....	44
3.4.1 Allelverteilung	44
3.4.2 Genotypverteilung	44
3.5 Analyse des Polymorphismus rs5326	46
3.5.1 Allelverteilung	46
3.5.2 Genotypverteilung	47
3.6 Analyse des Polymorphismus rs267418	48
3.6.1 Allelverteilung	48
3.6.2 Genotypverteilung	48
3.7 Analyse des Polymorphismus rs2453741.....	49
3.7.1 Allelverteilung	49
3.7.2 Genotypverteilung	50
3.8 Analyse des Polymorphismus rs1508765.....	52
3.8.1 Allelverteilung	52
3.8.2 Genotypverteilung	52
4 Diskussion	54
4.1 Diskussion der Methoden.....	54
4.2 Diskussion der Ergebnisse.....	59
4.3 Ausblick	77
5 Zusammenfassung.....	80
6 Abkürzungsverzeichnis	81
7 Literaturverzeichnis	83
8 Danksagung.....	106
9 Eidesstattliche Versicherung	107

1 Einleitung

1. Einleitung

1.1 Schizophrenie

1.1.1 Definition

Der Begriff Schizophrenie umfasst eine heterogene Gruppe von schwerwiegenden psychischen Störungen, die allesamt durch grundlegende und charakteristische Veränderungen von Denken (formale und inhaltliche Denkstörungen), Wahrnehmung sowie inadäquatem Affekt gekennzeichnet sind. Bezüglich Erkrankungsalter und Ätiopathogenese, Symptomatik und Erkrankungsschwere, Verlauf und Prognose herrscht eine große Bandbreite (DIMDI, 2018).

1.1.2 Historische Entwicklung

Die Geschichte der Schizophrenie ist von drei großen Persönlichkeiten geprägt worden: Emil Kraepelin, Eugen Bleuler und Kurt Schneider.

Emil Kraepelin (1856-1926) entwickelte seine Krankheitslehre zur „dementia praecox“ gegen Ende des 19. Jahrhunderts. Diese war von einem frühen Beginn (praecox), gefolgt von einem chronisch-progressiven Verlauf mit einer tiefgreifenden und andauernden intellektuellen Beeinträchtigung (dementia), gekennzeichnet. Dabei formulierte er neun verschiedene klinische Unterformen, welche bis dahin als eigenständige Erkrankungen betrachtet wurden, die er jedoch unter dem gemeinsamen Überbegriff der „dementia praecox“ zusammenfasste (Jäger et al., 2004).

1911 änderte der Psychiater Eugen Bleuler (1857-1939) Kraepelins Bezeichnung der „dementia praecox“ in den Begriff „Schizophrenie“ ab. Sein Ziel war, den scheinbar unvermeidlichen Langzeitverlauf von Kraepelins „dementia praecox“ von der initialen Symptomatik zu Beginn der Erkrankung zu trennen, da er diesen bei Krankheitsbeginn noch nicht festgelegt sah (Katschnig, 2018).

Als wesentlichen Bestandteil der Erkrankung definierte Bleuler die Trennung einer Grundsymptomatik und einer akzessorischen Symptomatik. Zu den Grundsymptomen zählte er „Affektstörung“, „Autismus“, „Ambivalenz“ und „Assoziationslockerung“.

Diese „4 A's“ waren obligatorisch nötig für die Diagnose „Schizophrenie“. Die akzessorische Symptomatik aus Sinnestäuschungen, Wahnideen, katatonen Symptomen und Störungen von Sprache und Schrift war fakultativ (Jäger et al., 2004).

1 Einleitung

Kurt Schneider (1887-1967) führte die Trennung von Grund- und akzessorischer Symptomatik in dem Sinne fort, dass er die Symptomatik bzgl. ihrer Wichtigkeit zur Diagnose „Schizophrenie“ einordnete. So unterschied er Symptome 1. Ranges (Wahrnehmung, akustische Halluzinationen in Form von Stimmen hören, Gedankeneingebung und Gedankenentzug) von Symptomen 2. Ranges (nicht akustische Halluzinationen, bzw. sonstige akustische Halluzinationen, Wahneinfall, Affektveränderungen) (Jablensky, 2010).

Die aktuell gültigen Schizophreniekonzepte sind im DSM-V (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition) und im ICD-10 (International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, 10th revision) dargelegt, und stellen eine Weiterentwicklung der historischen Erklärungen dar.

Das ICD-10 differenziert Symptome mit unterschiedlicher Wertigkeit, und die genaue Einordnung zum entsprechenden Subtypen erfolgt nach dem vorherrschenden Symptomenkomplex (DIMDI, 2018). Das DSM-V nennt fünf Hauptkriterien, wovon zwei oder mehr innerhalb eines Monats auftreten müssen. Zusätzlich müssen Zeichen des Störungsbildes durchgehend für 6 Monate anhalten (Falkai and Wittchen, 2018).

1.1.3 Epidemiologie

Um das Auftreten der Schizophrenie zu verstehen, ist es wichtig, Umweltfaktoren und Genetik gemeinsam zu betrachten, da diese miteinander und nicht getrennt voneinander agieren (Tandon et al., 2008).

Die Prävalenz, d.h. das Lebenszeitrisiko, an Schizophrenie zu erkranken, beträgt 0,3-2,0%, mit einem Durchschnitt von 0,7% (Saha et al., 2006; Tandon et al., 2008). Die Inzidenz, d.h. die Anzahl der Neuerkrankungen in einem Jahr, beträgt 0,016% (Tandon et al., 2008). Eine Metaanalyse der diesbezüglichen Studien aus den Jahren 1965-2001 ermittelte einen Median von 0,0152% (McGrath et al., 2004).

Männer und Frauen weisen unterschiedliche Ersterkrankungsalter auf. So erkranken Männer im Schnitt 3,2 bis 4,1 Jahre früher als Frauen. Das durchschnittliche Ersterkrankungsalter beim Mann liegt bei 26,7 Jahren und bei der Frau bei 30,1 Jahren, ein deutlich früherer Beginn ist jedoch bei beiden Geschlechtern möglich (Hambrecht et al., 1992).

Zusätzlich bestätigen mehrere Metaanalysen, dass Männer zu Frauen ein relatives Risiko von 1.54 (1.37-1.72) haben an Schizophrenie zu erkranken (Aleman et al., 2003; Castillejos et al., 2018; McGrath et al., 2004). Diese Ergebnisse könnten dadurch beeinflusst sein, dass bei Frauen Schizophrenie aufgrund eines mildereren Verlaufs oftmals später erstdiagnostiziert wird als bei Männern. Zusätzlich wird bei Frauen ein schützender Effekt des Östrogens vermutet

1 Einleitung

(Kao and Liu, 2010). Sicher ist, dass das männliche Geschlecht ein Hauptrisikofaktor dafür ist, einen deutlich schwereren Verlauf zu zeigen (Aleman et al., 2003).

Bei Betrachtung der geographischen Verteilung der Erkrankung wird das Phänomen des „*social drifts*“ deutlich: in der Stadt treten mehr Erkrankungen an Schizophrenie auf als auf dem Land (Castillejos et al., 2018; McGrath et al., 2004). Noch immer besteht eine Kontroverse, ob eine Manifestation der Schizophrenie in der Stadt begünstigt wird („*breeder hypothesis*“), oder ob Schizophrenie-Patienten eher in die Stadt ziehen („*selection hypothesis*“). Zum einen ist ein Leben in der Stadt billiger und anonym. Zum anderen stehen folgende, mögliche Einflussfaktoren im Raum, welche die erhöhten Patientenzahlen in der Stadt erklären könnten: der höhere soziale Stress, der wahrscheinlichere Cannabiskonsum oder anderer Substanzmissbrauch, Armut, Infektionen oder vorherrschender Vitamin D-Mangel. Keiner dieser Faktoren ist jedoch für sich allein ausreichend für die deutlichen Manifestationsunterschiede zwischen Stadt und Land (Chiang et al., 2016; Heinz et al., 2013). Der „*social drift*“ wird auch bei Betrachtung der Manifestation der Erkrankung innerhalb der sozialen Schichten deutlich. Es findet sich eine erhöhte Prävalenz von Erkrankungen in der niedrigen sozialen Schicht. Auch hier gibt es verschiedene mögliche Erklärungen. So kann die niedrige soziale Schicht Ursache sein, d.h. die Manifestation der Schizophrenie wird durch schlechte Lebensbedingungen gefördert, oder sie ist eine Folge eines sozialen Abstieges im Laufe der Erkrankung. Forschungsergebnisse sprechen für letztgenannten Erklärungsansatz (Castillejos et al., 2018).

1.1.4 Symptomatik und Subtypen

Die Schizophrenie mit ihren Unterformen bildet ein sehr heterogenes Erscheinungsbild, da alle psychischen Funktionen betroffen sein können. Psychopathologisch führend sind Wahrnehmungsstörungen, inhaltliche Denkstörungen und Ich-Störungen. Aber auch Veränderungen im Affekt, Störungen des formalen Denkens bis hin zur Schizophasie, Antriebsveränderungen, vegetative und katatone Symptomatiken treten auf (Tandon et al., 2009).

Die Tabellen 1 und 2 geben eine Übersicht über die derzeit gültigen Diagnosekriterien nach ICD-10 und DSM-V.

1 Einleitung

Tabelle 1: Diagnosekriterien der Schizophrenie nach ICD-10

- Gedankenlautwerden, Gedankenentzug, Gedankeneingebung, Gedankenausbreitung - Kontrollwahn, Beeinflussungswahn, Gefühl des Gemachten, Wahnwahrnehmungen - kommentierende oder dialogisierende Stimmen - anhaltender, kulturell unangemessener, bizarrer Wahn	Eindeutige Symptome, jedes für sich alleine ist ausreichend für die Diagnosestellung
- anhaltende Halluzinationen anderer Sinnesmodalitäten - formale Denkstörungen - katatone Symptomatik - Negativsymptomatik	Mindestens zwei dieser Symptome sind zur Diagnosestellung nötig

Nach ICD-10 muss die Symptomatik mindestens einen Monat oder auch länger vorhanden sein (DIMDI, 2018).

Tabelle 2: Diagnosekriterien der Schizophrenie nach DSM-V (Falkai and Wittchen, 2018)

- Wahn - Halluzinationen - desorganisierte Sprechweise - katatones Verhalten - Negativsymptomatik	Mindestens zwei Symptome innerhalb eines Monats sind zur Diagnosestellung nötig. Zusätzlich müssen Zeichen des Störungsbildes durchgehend für 6 Monate anhalten.
---	--

Die Diagnosestellung mittels DSM-V verlangt darüber hinaus, dass seit Beginn der Erkrankung ein Funktionsbereich wie Arbeit oder zwischenmenschliche Beziehungen deutlich unter dem früheren Funktionsniveau liegen muss. Liegt der Erkrankungsbeginn bereits im Kindheits- oder Jugendalter, darf das zu erwartende berufliche, geistige oder zwischenmenschliche Niveau nicht erreicht werden. Zusätzlich besteht die Möglichkeit, das Vorhandensein einer komorbiden Katatonie und den aktuellen Schweregrad zu kodieren. Eine Einteilung in Subtypen wird im Gegensatz zur vorherigen Version, dem DSM-IV, nicht mehr vorgenommen (Falkai and Wittchen, 2018).

Nach ICD-10 erfolgt die genaue Einordnung zum entsprechenden Subtyp nach dem vorherrschenden Symptomenkomplex. So ist bspw. die paranoid-halluzinatorische Schizophrenie geprägt von Wahnvorstellungen und Halluzinationen. Bei der Hebephrenie, einem insbesondere im Jugendalter auftretender Subtyp, stehen affektive Störungen im Sinne von läppischer Grundstimmung, leerer Heiterkeit, formalen Denkstörungen und ein oft enthemmtes Sozialverhalten mit einem schulischen Leistungsabfall im Vordergrund. Der katatone Typ, als relativ seltener Subtyp, ist durch psychomotorische Störungen wie z.B. Erregung, Haltungsstereotypien, wächserne Biagsamkeit, Negativismus, Verstummen (Mutismus) oder einem Starrezustand (Stupor) gekennzeichnet. Besonders risikoreich bei diesem Subtypen, ist die Möglichkeit der vegetativen Entgleisung in eine perniziöse Katatonie. Der Residualtyp tritt häufig im Verlauf der Erkrankung auf, und ist geprägt von einer

1 Einleitung

Persönlichkeitsveränderung, sozialem Rückzug, chronischer Negativsymptomatik und evtl. leichter Positivsymptomatik. Werden die allgemeinen diagnostischen Kriterien einer Schizophrenie erfüllt, ohne jedoch die spezifischen Merkmale einer Unterform aufzuweisen (im Sinne von zu geringer, aber auch von zu hoher Anzahl einzelner Symptome), kann das Erscheinungsbild als undifferenzierte Schizophrenie bezeichnet werden (DIMDI, 2018).

Im ICD-11 soll, wie im DSM-V, die Subtypeneinteilung verlassen werden, da zum einen ein gewisser Anteil der Erkrankten schwer genau zuzuordnen ist. Zum anderen kann sich das Erscheinungsbild im Krankheitsverlauf wandeln, sodass der Betroffene von einem Subtyp in den nächsten wechselt. An Stelle dessen ist ein System aus 6 Hauptdomänen der Psychopathologie geplant, deren Schweregrad von 1-4 zu bewerten ist. Diese Domänen sind: Positivsymptomatik, Negativsymptomatik, depressive Symptomatik, manische Symptomatik, psychomotorische und kognitive Störungen (Keeley and Gaebel, 2018).

Derzeit ist eine Einteilung in Positiv- und Negativsymptomatik, diagnostisch erfassbar mittels der PANSS (Positive and Negative Syndrome Scale) möglich, und hilft, die Wirksamkeit der Behandlung zu beurteilen (Dragioti et al., 2017). Bei vorherrschender Positivsymptomatik, wie Wahn und Halluzinationen sind Neuroleptika die Mittel der Wahl und gut wirksam. Die Negativsymptomatik in Form von Affektverflachung, Alogie, Apathie, Anhedonie, Asozialität und Aufmerksamkeitsstörung ist damit kaum beeinflussbar. Dies äußert sich auch in den unterschiedlichen Prognosen der einzelnen Subtypen (Liechti et al., 2017).

1.1.5 Verlaufsformen und Prognose

Der Krankheitsverlauf der Schizophrenie zeigt ebenfalls große Unterschiede und ist nicht von Anfang an unvermeidlich als chronisch oder sich verschlechternd anzusehen (DIMDI, 2018). In der prämorbid Phase zeigen sich unspezifische kognitive und motorische Störungen, sowie Auffälligkeiten im Sozialverhalten. Danach folgt die Prodromalphase, die durch eine leichte Positivsymptomatik und Affektveränderungen gekennzeichnet ist. Sie kann Wochen bis Jahre dauern. Die erste psychotische Episode wird formal als Beginn der Erkrankung Schizophrenie angesehen. Diese erste Episode kann akut auftreten oder, wie oben erwähnt, schleichend in Form von Prodromalerscheinungen. Die akute Krankheitsphase dauert Wochen bis Monate, mit der Möglichkeit, nach symptomfreien Intervallen erneut aufzutreten. Nach einer akuten Krankheitsperiode können sich postpsychotische Depressionen bzw. postpsychotische Erschöpfungszustände entwickeln (Tandon et al., 2009).

Der weitere Verlauf nach Erstmanifestation ist vielgestaltig. Ein möglicher episodischer Verlauf kann in remittierend, mit stabilem Residuum oder mit zunehmendem Residuum unterschieden

1 Einleitung

werden. Jedoch ist auch eine vollständige bzw. unvollständige Remission möglich (Jäger et al., 2014). Ein geringer Anteil der Erkrankten entwickelt zeitlebens eine chronisch bestehende produktiv-schizophrene Symptomatik, beim größeren Teil jedoch bildet sich ein Residualzustand vorwiegend aus Negativsymptomatik, mit unterschiedlich starker Beimischung von Positivsymptomatik, aus (Tandon et al., 2009).

Der individuelle Verlauf ist v.a. von medikamentöser und psychosozialer Therapie, sowie frühestmöglicher Diagnosestellung abhängig, da eine kurze Dauer der ersten Psychose eine der wichtigsten Variablen für einen günstigen Verlauf darstellt. Die heutigen medikamentösen Therapiemöglichkeiten, welche insbesondere die Symptomatik lindern, haben jedoch wenig Einfluss auf den endgültigen Ausgang der Erkrankung (Fusar-Poli et al., 2017).

Zusätzlich begehen 5,6% der Schizophrenie-Patienten im Laufe ihrer Erkrankung Suizid. Besonders gefährdet ist der Zeitraum um den Erkrankungsbeginn herum, weshalb in der Behandlung erhöhte Achtsamkeit bezüglich suizidalem Verhalten notwendig ist (Palmer et al., 2005).

Die Prognose der Schizophrenie wird durch allgemeine, psychopathologische und soziale Faktoren sowie auch den Erkrankungstyp beeinflusst.

So deuten männliches Geschlecht, eine prämorbid Persönlichkeitsstörung und eine positive Familienanamnese auf eine schlechtere Langzeitprognose hin. Psychopathologisch ungünstig sind ein Beginn mit negativer, katatoner oder hebephrener Symptomatik, sowie ein schlechtes Ansprechen auf Psychopharmaka. Psychische Komorbiditäten wie z.B. Abhängigkeitserkrankungen (Nikotin, Drogenabhängigkeit) oder affektive Störungen, verschlechtern den Ausgang der Erkrankung (Kao and Liu, 2010).

1.1.6 Ätiopathogenese

Derzeit wird von einem multifaktoriellen Entstehungsmodell ausgegangen, wobei eine genetisch bedingte Vulnerabilität im Mittelpunkt steht. Die genauen Mechanismen der Entstehung der Schizophrenie konnten bisher nicht geklärt werden.

Die „*Two-hit*“-Hypothese erklärt die Entstehung der Schizophrenie damit, dass während der neuronalen Entwicklung Umweltfaktoren vielfältiger Art mit genetischen Faktoren interagieren. Diese Interaktion führt zu einer Vorschädigung („*first hit*“) der neuronalen Gehirnentwicklung und macht die Betroffenen anfällig für eine weitere Schädigung. Der sog. „*second hit*“ folgt meist in der Pubertät (z.B. bedingt durch Cannabiskonsum), welcher als Voraussetzung für die Entwicklung einer schizophrenen Symptomatik gilt (Davis et al., 2016).

1 Einleitung

Zusätzlich entstand der Begriff des Vulnerabilitäts-Stress-Modells, welcher von Zubin und Spring 1977 geprägt wurde. Demnach besitzen schizophreniegefährdete Individuen eine vermehrte Vulnerabilität und Sensibilität im Sinne einer Schwellensenkung gegenüber Stressfaktoren multifaktorieller Art. Diese Schwellensenkung wiederum ist mit einem Defizit der Gegenregulation der Betroffenen zur Herstellung ihres psychischen Gleichgewichts verbunden (Stamm and Bühler, 2001).

So führt letztlich die Interaktion aus der genetischen Anlage, den neuroanatomischen und biochemischen Veränderungen sowie den biologischen- und Umweltfaktoren im Sinne einer gestörten prä-, peri- oder postnatalen Entwicklung und einer gestörten Entwicklung in der Adoleszenz zur Manifestation der Erkrankung (Owen et al., 2016).

1.1.6.1 Biologische Faktoren

Verschiedene Faktoren, die an der Entwicklung einer Schizophrenie beteiligt sind, konnten identifiziert werden.

Den signifikantesten Einfluss auf die Manifestation der Erkrankung haben dabei Geburts- und Schwangerschaftskomplikationen. Dazu gehören insbesondere Frühgeburtlichkeit, Notkaiserschnitt, Hypoxie, Präeklampsie, Blutungen und Gestationsdiabetes. Zudem wurden gehäuft ein kleiner Kopfumfang, ein geringes Geburtsgewicht und kongenitale Malformationen bei Schizophrenie-Patienten in der Anamnese gefunden (Schmitt et al., 2014). Auch prä- und perinatale Komplikationen wie Stress, Unterernährung und Infektionen der Mutter sind mit einem erhöhten Risiko für den Fötus assoziiert (Rapoport et al., 2005).

Zu den wichtigsten Infektionen gehören Viren wie Influenza, Masern, Mumps, Röteln, Polio und Herpes Simplex Virus Typ 2. Ein erhöhtes Krankheitsrisiko wurde ebenfalls bei bakteriellen Erkrankungen und Parasiten wie *Toxoplasma gondii* festgestellt (Brown and Derkits, 2010; Penner and Brown, 2007). Es scheint jedoch nicht der direkte Einfluss der Krankheitserreger auf das fetale Gehirn, sondern die indirekte Immunreaktion der Mutter auf den Erreger für das erhöhte Risiko verantwortlich zu sein (Feigenson et al., 2014).

Darüber hinaus führt auch ein hohes väterliches Alter zum Zeitpunkt der Befruchtung fast zu einer Verdoppelung des Erkrankungsrisikos. Der genaue Mechanismus hierfür ist noch unklar, es wird eine erhöhte Mutationsrate während der Spermatogenese angenommen (Tandon et al., 2008).

1 Einleitung

1.1.6.2 Umweltfaktoren

Die Inzidenz der Schizophrenie scheint durch die Jahreszeit der Geburt beeinflusst zu sein, wobei eine Geburt im Frühjahr, Sommer oder Spätsommer ein höheres Risiko beinhaltet (Falkai and Wittchen, 2018).

Auch die „*Life-event-Forschung*“ berichtet über einen wesentlichen Einfluss auf die Manifestation einer Schizophrenie. Unter einem „*Life-event*“ versteht man einschneidende Erlebnisse in der Kindheit und Adoleszenz, wie z.B. Scheidung der Eltern, Todesfälle oder Migration sowie psychische oder körperliche Gewalt von Seiten der Eltern oder nahen Bezugspersonen. Je mehr Kindheits- und Jugendtraumata ein Individuum erlebt, desto höher das Risiko, an Schizophrenie zu erkranken. Besonders auffällig ist, dass meist ein zeitlicher Abstand von 6 Monaten bis zu einem Jahr zwischen „*Life-event*“ und Manifestation liegen (Mansueto and Faravelli, 2017).

Darüber hinaus ist Cannabismissbrauch in der Adoleszenz ein weiterer Risikofaktor für die Entwicklung einer schizophrenen Symptomatik, wobei die genaue Wirkung auf die Gehirnstrukturen noch diskutiert wird. Im Zentrum stehen dabei das Glutamat-, das Dopamin- und das GABAerge-System (Hasan et al., 2014). Eine besondere Gefahr für die Auslösung einer Manifestation ist ein regelmäßiger Cannabismissbrauch. Bei manchen Erkrankten reichte bereits der einmalige Missbrauch (Malchow et al., 2013). Außerdem scheint sich durch Cannabismissbrauch der Beginn der ersten Psychose um 2,7 Jahre nach vorne zu verschieben. Anhaltender Cannabiskonsum beeinflusst zudem das Krankheitsbild negativ. Dies äußert sich in Form von einer stärkeren Ausprägung der Positivsymptomatik, einer längeren stationären Behandlung, einer höheren Rückfallrate und einer niedrigeren Compliance bzgl. der Medikamenteneinnahme (Davis et al., 2016).

Im Gegensatz zu Cannabis, konnte zwischen Nikotin- sowie Alkoholkonsum und der Manifestation einer Schizophrenie kein Zusammenhang hergestellt werden (Hiemstra et al., 2018).

Zusätzlich ist eine niedrige soziale Herkunft in Kombination mit den übrig genannten Umweltfaktoren (Drogenkonsum, „*Life-event*“) mit der Manifestation einer Schizophrenie assoziiert (Gallagher et al., 2016).

Ein Versuch, das Rezidivrisiko zu erklären, wird durch das „*Expressed-emotion-Konzept*“ unternommen. Unter „*expressed-emotion*“ wird eine überprotektive Einstellung oder das Ausmaß einer emotionalen Äußerung im Sinne von Kritik, Ablehnung oder Feindschaft der Umwelt dem Patienten gegenüber verstanden. Unabhängig von Geschlecht und geographischer Verteilung steigt die Rezidivwahrscheinlichkeit mit höherem „*expressed-emotion-score*“, sodass die Notwendigkeit besteht, auch den betroffenen Familien im Umgang mit den Erkrankten Coping-Strategien zu vermitteln (Gogoi, 2017).

1.1.6.3 Genetische Faktoren

Genetische Faktoren tragen mit bis zu 80% entscheidend zum Erkrankungsrisiko bei (Schmitt et al., 2015). Der Vererbungsmodus ist komplex und folgt nicht den Mendelschen Regeln. Dies bedeutet, nicht ein einzelnes Gen ist für die Manifestation einer Schizophrenie verantwortlich, sondern mehrere Gene tragen gemeinsam mit unterschiedlich großer Relevanz zur Risikosteigerung bei. Die erste Evidenz einer genetischen Grundlage basierte auf Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien und wurde später durch molekulargenetische Untersuchungen weiter bestätigt (Kendler, 2015).

Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien:

Eine der frühesten Erkenntnisse in der Schizophrenieforschung war die auffallende familiäre Häufung der Erkrankung. Liegt das Lebenszeitrisiko an Schizophrenie zu erkranken in der Allgemeinbevölkerung bei 0,5-1%, so zeigen Familien- und Zwillingsstudien hingegen, dass die Morbidität mit steigendem Verwandtschaftsgrad zunimmt (Schmitt et al., 2016).

So zeigt sich bei drittgradig Verwandten ein Erkrankungsrisiko von 2-4%, bei zweitgradig Verwandten liegt dieses bei 4-6% und bei erstgradig Verwandten bei 6-17% (Gottesman and Erlenmeyer-Kimling, 2001).

Die Konkordanzrate eineiiger Zwillinge liegt bei 48%, die von zweieiigen Zwillingen bei 17% (Gottesman and Erlenmeyer-Kimling, 2001). Dies erlaubt die Schlussfolgerung, dass bei 100% genetisch gleicher Information noch weitere Faktoren, wie Umweltfaktoren, an der Ätiopathogenese der Schizophrenie beteiligt sind (Gottesman and Erlenmeyer-Kimling, 2001). Auch Adoptionsstudien heben die genetische Bedeutung hervor: Adoptierte Kinder, deren leibliche Eltern an Schizophrenie leiden, aber bei gesunden Adoptiveltern aufwachsen, weisen ein um 6-10-fach höheres Risiko zu erkranken auf als die Allgemeinbevölkerung (Tienari et al., 2003).

Aufgrund dieser Studien wird von einer Heritabilität von ungefähr 80% ausgegangen und somit von einem größeren Einfluss dieser auf die Entstehung der Schizophrenie, als dem von Umweltfaktoren (Sullivan et al., 2003).

Molekulargenetik:

Ziel der Molekulargenetik ist es, in Frage kommende Genloci oder zumindest die in Frage kommenden Chromosomen zu identifizieren. Dies geschieht unter Zuhilfenahme von Kopplungs- und Assoziationsstudien.

Das Genom des Menschen gleicht sich zu 99,9%. Darum scheinen in den übrigen 0,1% diejenigen Unterschiede zu liegen, welche genetische Krankheiten bedingen (Venter et al., 2001). Ein Großteil dieser Unterschiede wird durch SNPs (*single nucleotide polymorphism*)

1 Einleitung

hervorgerufen. Diese entstehen durch einen einzelnen Basenaustausch in einer Gensequenz und kommen etwa alle 100 bis 300 Basenpaare (bp) im menschlichen Genom vor (Rujescu, 2010). Auf Basis der Ergebnisse von genomweiten Assoziationsstudien (GWAS) wurde bereits 2012 prognostiziert, dass mehrere tausend SNPs in ihrer Gesamtheit etwa 23% der phänotypischen Varianz der Schizophrenie erklären (Lee et al., 2012). Ein Jahr später schätzten Ripke et al. dass etwa 8300 unabhängige SNPs zu einem Gesamtrisiko von 32% beitragen (Ripke et al., 2013).

Kopplungsuntersuchungen:

Für Kopplungsuntersuchungen werden Familien mit erkrankten Geschwisterpaaren oder mehreren an Schizophrenie Erkrankten verschiedener Generationen untersucht. Hintergrund des Kopplungsprinzips ist, dass für genetische Varianten oder Gene die Wahrscheinlichkeit eines „*crossing overs*“ umso geringer ist, je näher sie auf einem Chromosom zusammenliegen. Somit kann bei überzufällig häufiger gemeinsamer Vererbung eines genetischen Markers, dessen chromosomale Lage bekannt ist, nach möglicherweise krankheitsrelevanten Regionen in dessen Nähe gesucht werden (Haraldsson et al., 2011). Die gefundenen Regionen werden als Kandidatenregionen bezeichnet.

Ein Nachteil dieser Untersuchung ist, dass die gefundenen Kandidatenregionen meist sehr groß sind (etwa 30 Mb) und eine Vielzahl an Genen beinhalten (Rujescu, 2010).

Zudem weisen einzelne Kopplungsuntersuchungen eine zu geringe Fallzahl auf. Um diesen Nachteil zu umgehen, existieren genomweite Kopplungsuntersuchungen, welche deutlich höhere Fallzahlen aufweisen.

Eine genomweite Meta-Analyse von 32 unabhängigen, genomweiten Kopplungsanalysen erbrachte Hinweise für eine Kopplung auf den Chromosomen 5q (142–168 Mb) und 2q (103–134 Mb) und einen sicheren Kopplungsbefund mit Schizophrenie auf Chromosom 8p (16–33 Mb) (Ng et al., 2009). Eine weitere genomweite Meta-Analyse ergab Hinweise einer Kopplung auf den Chromosomen 6p24-22, 6q21-22.3, 13q32, 1q21-22 und ebenfalls auf Chromosom 8p21-22 (Lewis et al., 2003). Zusätzlich verweist die Meta-Analyse von Vieland et al. von 2014 auf eine mögliche Kopplung mit Schizophrenie auf den Chromosomen 5p14.1 und 10q26.12 (Vieland et al., 2014).

Assoziationsstudien:

Assoziationsstudien werden als Fall-Kontrollstudien durchgeführt. Hierbei werden nach der Genotypisierung die Allelhäufigkeiten in der Patienten- und der Kontrollgruppe miteinander verglichen. Zeigt sich eine signifikante Assoziation eines Allels mit dem Phänotyp, deutet dies auf eine mögliche Beteiligung des Gens an der Krankheitsentstehung hin. Ein solches Gen wird als Suszeptibilitäts-gen bezeichnet.

1 Einleitung

Ein Vorteil der Assoziationsstudie gegenüber einer Kopplungsuntersuchung ist, dass Zusammenhänge auch zwischen nicht verwandten Individuen analysiert werden können, da sie auf dem statistischen Vergleich der Allelfrequenzen zwischen Betroffenen und Nichtbetroffenen basieren. Durch sie können auch Genvarianten ermittelt werden, die nur einen geringen Einfluss auf die Schizophrenie zeigen (Rujescu, 2010).

Allerdings bergen Assoziationsstudien ein höheres Risiko für falsch positiv und falsch negativ Resultate, welche die Gütekriterien der Zuverlässigkeit und Wiederholbarkeit der Studienform in Frage stellen (Cariaga-Martinez et al., 2016). Im Rahmen von genomweiten Assoziationsstudien können mittlerweile Informationen von mehr als 10 Millionen SNPs in einer einzelnen Untersuchung erhoben werden. Dabei kann nur eine Assoziation und keine Kausalität eines Allels mit einem Phänotyp nachgewiesen werden.

Die ersten GWAS umfassten Stichprobengrößen von 178 bis 871 Probanden und nur wenige SNPs erreichten dabei tatsächliche Signifikanz (Schwab and Wildenauer, 2013). Dazu zählten die Ergebnisse von einer in 2008 durchgeführten GWAS von O'Donovan et al. mit 479 an Schizophrenie erkrankten Probanden und 2937 gesunden Kontrollteilnehmern. Sie zeigten einen Zusammenhang von Schizophrenie und rs1344706 auf Chromosom 2q32.1 (ZNF804A, Zink Finger Protein 804A), rs1602565 auf Chromosom 11p14.1 (Intergenregion) und rs7192086 auf Chromosom 16p13.12 (Intergenregion) (O'Donovan et al., 2008). 2009 wiesen Stefansson et al. in einer GWAS mit 2663 Schizophrenie-Patienten und 13.498 Kontrollen signifikante Zusammenhänge von Schizophrenie und dem MHC-Komplex (*major histocompatibility complex*) auf Chromosom 6p21.3-22.1, auf Chromosom 11q24.2 (NRGN, Neurogranin) und auf Chromosom 18q21.2 (TCF4, Transkriptionsfaktor-4) nach (Stefansson et al., 2009). Vor allem die SNP-Variabilität des Allels der C4A Region, Teil des MHCs, zeigte eine hohe Assoziation des Risikos für Schizophrenie mit dem genetischem Marker (Rees et al., 2015; Sekar et al., 2016). Die Assoziation mit dem MHC-Komplex deutet auf einen Zusammenhang von Schizophrenie und dem Immunsystem hin. Das NRGN-Gen und das TCF4-Gen spielen eine Rolle in der Gehirnentwicklung, dem Gedächtnis und der Wahrnehmung (Stefansson et al., 2009).

Das Psychiatric Genomics Consortium (PGC) konnte in einer 2011 mit 21.856 Europäern durchgeführten GWAS fünf neue mit Schizophrenie in Zusammenhang stehende Chromosomenregionen ermitteln (1p21.3, 2q32.3, 8p23.2, 8q21.3 und 10q24.32-q24.33), und zusätzlich die beiden schon gefundenen Assoziationen auf Chromosom 6p21.3-22.1 und Chromosom 18q21.2 bestätigen (The Schizophrenia Psychiatric Genome-Wide Association Study (GWAS) Consortium, 2011).

Eine weitere große GWAS bzgl. Schizophrenie umfasste 36.989 Erkrankte und 113.075 gesunde Kontrollen. Diese wurde von der „Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium“ 2014 durchgeführt und konnte 128 Assoziationen auf 108

1 Einleitung

unabhängigen chromosomalen Regionen nachweisen (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014). In dieser Studie erreichten erstmals Varianten in Genen genomweite Signifikanz, die bereits im Rahmen von Neurotransmitterhypothesen der Schizophrenie als Kandidatengene galten und dadurch Teile dieser bestätigten, u.a. der Dopamin-2-Rezeptor (DRD2) und Gene aus der glutamatergen Neurotransmission (GRM3, GRIN2A, SRR, GRIA1). Zusätzlich deuteten die Ergebnisse auf Gene hin, welche zuvor bereits als mögliche Kandidaten diskutiert wurden oder welche aufgrund Therapieerfolge bei der Behandlung der Schizophrenie in den Fokus gerückt waren.

In einer folgenden GWAS konnte in einer Metaanalyse aus 40.675 Patienten und 64.643 Kontrollen 93 der durch das PGC identifizierten Loci bestätigt werden, sowie 50 neue identifiziert werden (Pardiñas et al., 2018).

Neben der Identifizierung einzelner Kandidatengene für die Schizophrenie existieren auch Studien, welche sich auf die Suche nach möglichen Gen-Gen Interaktionen des DRD1-Gens und deren Auswirkungen auf eine Schizophrenie konzentrieren. Hervorzuheben sind Wechselwirkungen mit dem DNMT3B-Gen (DNA-Zytosin-5-Methyltransferase-3-beta), dem DRD3-Gen (Dopamin-3-Rezeptor) und dem COMT-Gen (Catechol-O-Methyltransferase).

Das DNMT3B-Gen liegt auf Chromosom 20q11.21, kodiert für die DNA-Zytosin-5-Methyltransferase-3-beta und ist für die DNA-Methylierung zuständig. Mutationen des Gens können zu schwerwiegenden Immundefiziten führen, im Speziellen zu einem Syndrom mit Immunschwäche, Instabilität der Zentromerregion einiger Chromosomen und fazialen Anomalien (Gagliardi et al., 2018). Die Interaktion des DRD1-Gens mit dem DNMT3B-Gen führt zu einem erhöhten Risiko, an Schizophrenie zu erkranken (Yao et al., 2014).

Das Zusammenspiel des DRD1-Gens mit dem DRD3-Gen wurde von Hwang et al. in einer Assoziationsstudie beschrieben (Hwang et al., 2011). Das DRD3-Gen befindet sich auf Chromosom 3q13.31 und kodiert für den Dopamin-3-Rezeptor, welcher über den G-Protein Mechanismus die Adenylatcyclase hemmt, und somit das Zellwachstum begünstigt. Hwang et al. konnten in einer europäischen Stichprobe Zusammenhänge von G-Allelträgern (A/G und G/G) von rs686 des DRD1-Gens und Ser9Gly (G/G) des DRD3-Gens feststellen. So reagierte diese Gruppe besser auf Clozapingabe als die restlichen Genotypengruppen (Hwang et al., 2011).

Auch Wechselwirkungen zwischen dem DRD1-Gen und dem COMT-Gen wurden beschrieben (Hoenicka et al., 2010). Das COMT-Gen liegt auf Chromosom 22q11.21, kodiert für die Catechol-O-Methyltransferase, und existiert in einer membrangebundenen und einer im Zytosol befindlichen frei beweglichen Form. Der im Zytosol befindlichen Form fehlen die ersten 50 Aminosäuren. Normalerweise deaktiviert das Enzym v.a. in den sympathischen Nervenenden die Neurotransmitter Noradrenalin, Adrenalin und Dopamin (Weinshilboum et

1 Einleitung

al., 1999). Ein erhöhtes Risiko, an Schizophrenie zu erkranken konnte zwischen beiden Allelen und allen Genotypen von rs11749676 (A/G) des DRD1-Gens und den homozygoten Valinträgern des COMT-Gens nachgewiesen werden. So führte die Expression von Valin (Val158) im Gegensatz zu Methionin (Met158) zu erniedrigten Dopaminspiegeln und insbesondere bei homozygoten Valinträgern zu einer schwächeren präfrontalen Aktivität, einer herabgesetzten kognitiven Leistungsfähigkeit und einem erhöhten Schizophrenierisiko (Hoenicka et al., 2010).

Ein Nachteil der Bestimmung von SNPs zeigt sich darin, dass sich viele in Regionen zwischen einzelnen Genen befinden, deren Funktionen noch unbekannt sind. Darum beschäftigt sich die Molekulargenetik zusätzlich mit chromosomalen Mikrodeletionen und -duplikationen, den „*copy number variants*“ CNVs, welche deutlich größere DNA Abschnitte betreffen. Sie treten zwar seltener als SNPs auf, weisen aber andererseits einen ausgeprägteren Effekt auf (Zhang and Malhotra, 2013).

Eine große CNV Studie konnte 2016 mit 41.321 Probanden durchgeführt werden. Dabei fanden sich genomweite signifikante Assoziationen mit Schizophrenie bei den folgenden Regionen: 1q21.1, 2p16.3, 3q29, 7q11.2, 15q13.3, distal und proximal auf 16q11.2 und 22q11.2. Eine Analyse der Regionen zeigte, dass es sich dabei insbesondere um Gene handelte, die an der Synapsefunktion beteiligt waren und mit aus Mausmodellen bekannten neurobehaviouralen Phänotypen in Verbindung gebracht werden können (Marshall et al., 2017).

Für die Schizophrenie zeigen GWAS, dass die genetische Suszeptibilität auf einer Vielzahl von SNPs mit jeweils kleinen Effekten beruht und weniger auf CNVs, welche ausgeprägtere Effekte aufweisen (Schmitt et al., 2015). Um einen Überblick über sämtliche Ergebnisse der gefundenen genetischen Daten (SNPs, CNVs, GWAS etc.) zu haben, und diese in übersichtlicher Form für die weitere Forschung darzustellen, wurde die „*Schizophrenia Genetic Database*“ geschaffen. Laut dieser liegen zum DRD1-Gen und Assoziationen mit Schizophrenie zwar Kopplungs- und Assoziationsstudien vor, jedoch wurde bisher kein genomweiter Zusammenhang gefunden (Long Fan & Yong-Gang Yao, 2018-2019).

1.1.6.4 Neuroanatomische und biochemische Veränderungen

Neben den biologischen Faktoren und den Umweltfaktoren sowie der dargestellten genetischen Komponente finden sich auch neuroanatomische und biochemische Veränderungen bei Schizophrenie-Patienten. Die neuroanatomischen Auffälligkeiten bei den

1 Einleitung

Patienten sind vermutlich Folgen der Erkrankung, die ihrerseits im Verlauf jedoch die Symptomatik möglicherweise beeinflussen (Cariaga-Martinez et al., 2016; Heilbronner et al., 2016).

Veränderungen der Neuroanatomie:

In zahlreichen Studien wurde eine Vergrößerung der Hirnventrikel, insbesondere der Seitenventrikel, festgestellt. Zusätzlich fielen auch erweiterte äußere Liquorräume auf. Hierbei konnte ausgeschlossen werden, dass diese Auffälligkeiten eine Folge der Neuroleptikadosis oder der Dauer der Neuroleptikabehandlung waren. Jedoch könnte die Volumenzunahme der inneren und äußeren Liquorräume Folgen der Dauer der Erkrankung oder auch des Alters bei Erkrankungsbeginn sein (Cariaga-Martinez et al., 2016).

Eine weitere Differenz zu gesunden Kontrollprobanden offenbart sich im verminderten Volumen und verändertem Aussehen des Hippocampus (Cariaga-Martinez et al., 2016). Dieser ist besonders vulnerabel für Stresserfahrung und bei Patienten mit Schizophrenie wird eine erhöhte Stresssensitivität beschrieben. Die Volumenveränderung des Hippocampus ist möglicherweise mit Dauer und Schweregrad der Erkrankung sowie mit einer verminderten sozialen Funktionsfähigkeit assoziiert (Schmitt et al., 2015).

Darüber hinaus sind die graue Substanz und das Gesamtvolumen des Gehirns an Schizophrenie erkrankter Patienten vermindert. Es scheint jeweils eine Korrelation zwischen dem Volumen an grauer und weißer Substanz und dem Schweregrad der Erkrankung zu existieren. Je größer der Rückgang von grauer Substanz, desto schwerer die klinischen Symptome. Je größer der Verlust an weißer Substanz im frontalen Bereich, desto schwerer die Negativsymptomatik (Heilbronner et al., 2016). Ebenfalls verringertes Volumen wird bei Thalamus, Inselrinde, vorderem und mittlerem Temporallappen sowie dem vorderen cingulären Cortex beschrieben (Bakhshi and Chance, 2015).

Veränderungen der neurobiochemischen Transmittersysteme:

1973 wurde das erste Mal von Matthysse die Dopaminhypothese zur Schizophrenie formuliert. Sie postuliert eine Überaktivität zentralnervöser dopaminerger Strukturen im mesolimbischen System und in subcortikalen Strukturen. Diese werden als wichtigste Korrelate akuter schizophrener Psychosen betrachtet (Edwards et al., 2016).

Zwei klinische Beobachtungen stützen diese Überlegung: Erstens zeigten Studien, dass eine Antagonisierung mit Neuroleptika, im Sinne einer Dopaminrezeptor-Blockade, zu einer Abnahme des Psychoseerlebens führten. Hier fiel ein deutlicher Zusammenhang zwischen der Affinität des Neuroleptikums zum D2-Rezeptor und der klinischen Wirksamkeit auf. Je stärker der Antagonismus, desto besser die antipsychotische Wirkung. Zweitens kann eine Psychose

1 Einleitung

durch Stimulanzengabe (z.B. Kokain), welche die synaptische Dopaminausschüttung fördert, provoziert werden (Howes et al., 2017).

Die differenzierte Betrachtung der dopaminergen Fehlfunktion führte zu der Theorie der regionalen Spezifität. Demnach entsteht psychotisches Erleben aufgrund der Überfunktion dopaminerg mesolimbischer Strukturen, welches, wie oben beschrieben, gut mit D2-Rezeptor-Antagonisten behandelt werden kann. Negativsymptomatik bleibt dabei bestehen. Diese beruht, so die Theorie, auf einer Unterfunktion fronto-corticaler Strukturen und deren miteinander verbundener Areale (Hypofrontalität) (Maia and Frank, 2017). Dabei soll bei Schizophrenie eine striatale dopaminerge Überfunktion die Folge einer frontalen dopaminergen Unterfunktion sein. Dazu kommt, dass besonders im fronto-cortikalen Bereich nicht der D2-Rezeptor, sondern der D1-Rezeptor vorkommt, weshalb ein Zusammenhang zwischen diesem und der Negativsymptomatik vermutet wird. Dieser Umstand ist auch in der klinischen Praxis nachzuvollziehen: Eine gleichzeitige Remission von Positiv- und Negativsymptomatik bei den Patienten ist weder bei Behandlung mit typischen Neuroleptika, (typischerweise reine Dopamin-D2-Rezeptor-Antagonisten) zu beobachten, noch mit atypischen Neuroleptika, die neben der Dopamin-D2-Rezeptorblockade Einfluss auf Rezeptoren weiterer Transmittersysteme aufweisen (Hasan et al., 2014).

Das dopaminerge Gleichgewicht wird zudem von der glutamatergen Neurotransmission beeinflusst. Es konnte nachgewiesen werden, dass eine NMDA-Rezeptor (N-Methyl-D-Aspartat) Unterfunktion in subcortikalen Regionen zu einer erhöhten Ausschüttung von Dopamin führt (Howes et al., 2017). Weitere Hinweise, welche die Glutamat-Hypothese der Schizophrenie stützen, liefert die Beobachtung, dass bestimmte Antagonisten am Glutamatrezeptor, z.B. Phencyclidin (PCP) oder Ketamin, bei gesunden Probanden die Symptome einer Schizophrenie auslösen können (Duarte and Xin, 2019). Neben dem Auftreten von Positiv- und Negativsymptomatik, wurden auch kognitive Störungen beobachtet (Hasan et al., 2014).

Als drittes dysfunktionales Neurotransmittersystem in der Krankheitsentwicklung der Schizophrenie wird eine Überfunktion des serotonergen Systems angenommen. Belegt wird dies durch klinische Studien. So konnte beobachtet werden, dass atypische Neuroleptika, welche serotonerge 5-HT_{2A}-Rezeptoren (5-Hydroxytryptamin-2A-Rezeptor) und dopaminerge D₂-Rezeptoren blockieren, nicht nur die Symptome linderten, sondern auch den Krankheitsprozess verlangsamten. Im Gegenzug dazu minderten typische Neuroleptika, welche nur D₂-Rezeptor-Antagonisten sind, lediglich die Symptome der Erkrankung (Eggers, 2013).

1 Einleitung

1.2 Das dopaminerge System

1.2.1 Dopaminsynthese, Abbau und Vorkommen

Dopaminsynthese:

Dopamin, als biogenes Amin, gehört zusammen mit Adrenalin und Noradrenalin zu der Gruppe der Katecholamine. Allen dreien gemeinsam ist die Synthese aus der Aminosäure Tyrosin, die wiederum durch Hydroxylierung von Phenylalanin, einer essentiellen Aminosäure, entsteht. Sie werden auch als Monoamine bezeichnet. Mit Hilfe der Tyrosin-Hydroxylase entsteht aus Tyrosin Dihydroxyphenylalanin (DOPA) und aus diesem über Decarboxylierung mittels der DOPA-Decarboxylase Dopamin. Weitere Stoffwechselprozesse ermöglichen die Bildung von Noradrenalin und Adrenalin aus Dopamin (Christen et al., 2016).

Der Syntheseprozess der Neurotransmitter findet im Zytosol der präsynaptischen Zelle statt. Die Speicherung erfolgt in den synaptischen Vesikeln, bis die Transmitter durch Stimulation der Zelle in den synaptischen Spalt ausgeschüttet werden (Christen et al., 2016).

Dopaminabbau:

Zur Inaktivierung werden die Neurotransmitter zum größten Teil wieder in das präsynaptische Neuron aufgenommen. Ein kleiner Teil wird jedoch durch eine extrazelluläre Catechol-O-Methyltransferase methyliert oder durch Monoaminoxidasen (MAO-A und B) oxidativ desaminiert. Ein weiterer kleiner Teil der Katecholamine wird unverändert über den Urin ausgeschieden (Christen et al., 2016).

Dopaminvorkommen:

Im Zentralnervensystem gibt es im Wesentlichen vier dopaminerge Verarbeitungspfade. Dies bedeutet, dass in diesen Bahnsystemen Dopamin als Neurotransmitter wirkt.

Folgende Tabelle (3) veranschaulicht die dopaminergen Transmitterwege (Beaulieu and Gainetdinov, 2011; Brisch et al., 2014).

Tabelle 3: Die vier wichtigsten dopaminergen Bahnsysteme im Überblick:

Systemname	dopaminerge Projektion	Bedeutung
mesostriatales oder nigrostriales System	Ursprung in der Substantia nigra, Projektion zum Striatum (Nucleus caudatus und Putamen)	Motorik: Bewegungsinitialisierung und Koordination
mesolimbisches System	Ursprung in der Area tegmentalis ventralis, Projektion zum limbischen System (Hippocampus, Amygdala, Corpora mamillaria, Fornix)	Belohnungssystem, Sucht, Motivation, Lernen, Gedächtnis
mesocortikales System	Ursprung in der Area tegmentalis, Projektion zum präfrontalen Cortex	
tuberoinfundibuläres System	Ursprung im Hypothalamus, Projektion zum Hypophysenvorderlappen	Hormonregulation: Hemmung der Freisetzung von Prolaktin

Bei der Schizophrenie wird eine Störung des mesolimbischen und des mesocortikalen Systems angenommen (Dandash et al., 2017). Dem mesolimbischen System wird im Wesentlichen die Positivsymptomatik zugeordnet. Das mesocortikale System wird, im Sinne einer Unteraktivität, mit den kognitiven Störungen der Schizophrenie in Verbindung gebracht. Das nigrostriatale System gewinnt bei einer Neuroleptikabehandlung an Bedeutung, da der dort ausgelöste Dopaminmangelzustand die extrapyramidalen Nebenwirkungen hervorruft (Beaulieu and Gainetdinov, 2011).

Zusätzlich nimmt Dopamin auch wichtige Funktionen beim Geruchssinn, dem Sehen, dem kardiovaskulären System, der Nierenfunktion und dem Immunsystem ein. Nicht nur bei der Schizophrenie, sondern auch bei anderen Erkrankungen wie Morbus Parkinson, dem Tourette-Syndrom, ADHS, Chorea Huntington, Abhängigkeitserkrankungen und Hyperprolaktinämie wird eine gestörte dopaminerge Transmission angenommen (Beaulieu and Gainetdinov, 2011).

1.2.2 Einteilung, Struktur und Vorkommen der Dopamin-Rezeptoren

Einteilung:

Dopamin-Rezeptoren gehören in die Gruppe der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren. Diese werden in der Neurobiologie auch als metabotrope Rezeptoren bezeichnet, die sich von den ligandengesteuerten Ionenkanälen (Ionotropen Rezeptoren) unterscheiden (Undieh, 2010).

G-Protein-gekoppelte Rezeptoren sind biologische Rezeptoren mit einer extrazellulären oder transmembranären Bindungsdomäne. Ein G-Protein besteht aus drei Komponenten, diese

1 Einleitung

werden als α -, β - und γ -Untereinheiten bezeichnet. Durch Bindung eines Liganden am extrazellulären Bereich des Rezeptors erfolgt eine Aktivierung und Konformationsänderung des Rezeptors, die auf der intrazellulären Seite einen Austausch von dem an der α -Untereinheit gebundenen GDP (Guanosindiphosphat) in GTP (Guanosintriphosphat) zur Folge hat. Dies wiederum führt zu einer Abspaltung des aktivierten G-Proteins mit der α -Untereinheit des Rezeptors. Durch Bindung dieses Komplexes an intrazelluläre Liganden können zwei mögliche Stoffwechselwege ausgelöst werden: die Aktivierung der Adenylatcyclase und der darauffolgenden cAMP-Kaskade (cyclisches Adenosinmonophosphat) oder die Phosphoinositidkaskade (Undieh, 2010).

Aufgrund ihrer Struktur und ihrer pharmakologischen und biochemischen Eigenschaften können die Dopamin-Rezeptoren in zwei Subgruppen eingeteilt werden: D1-Rezeptoren und D2-Rezeptoren. Die D1-Gruppe besteht aus dem D1- und dem D5-Rezeptor, welche primär stimulierend auf die Adenylatcyclase wirken. Die D2-Gruppe umfasst D2-, D3- und D4-Rezeptoren, welche die Adenylatcyclase hemmen (Beaulieu et al., 2015).

Struktur:

Trotz ihrer unterschiedlichen Wirkung auf die Adenylatcyclase besitzen die D1- und die D2-Gruppe eine fast identische Primärstruktur. Sie bestehen aus Untereinheiten mit sieben, die Zellmembran durchspannenden Helixstrukturen, die für die Verankerung in der Zellmembran sorgen. Sie werden darum 7-Transmembrandomänen-Rezeptoren (7-TM-R) oder auch heptahelikale Rezeptoren genannt. Die Membrandomänen sind untereinander mit drei extrazellulären und drei intrazellulären Schleifen verbunden, wobei der N-Terminus auf der extrazellulären Seite und der C-Terminus auf der intrazellulären Seite lokalisiert ist (Jackson and Westlind-Danielsson, 1994).

Die Aminosäuresequenz am extrazellulärem N-Terminus ist bei allen Rezeptoren vergleichbar lang (bis 2800 Aminosäuren). Häufig sind die extrazellulären Domänen glykosyliert. Der ins Zytoplasma reichende C-Terminus weist bei der D1-artigen Gruppe im Vergleich zur D2-artigen Gruppe ein längeres COOH-Ende auf (Missale et al., 1998).

Der Dopamin-1-Rezeptor und der Dopamin-5-Rezeptor ähneln sich zu 80% in ihren Transmembrandomänen und sind ausschließlich auf der Postsynapse Dopamin empfindlicher Zellen zu finden. Ihr extrazellulärer N-Terminus besteht aus 446 Aminosäuren (Beaulieu and Gainetdinov, 2011).

Zusätzlich tritt der Dopamin-1-Rezeptor nicht nur als Monomer auf, sondern kann mit folgenden Rezeptoren Heteromere ausbilden: dem D2-Rezeptor, dem D3-Rezeptor, dem Histamin3-Rezeptor, dem Adenosin1-Rezeptor, dem NMDA-Rezeptor und dem μ -Opiod-Rezeptor (Beaulieu et al., 2015; Casadó-Anguera et al., 2019).

1 Einleitung

Vorkommen der verschiedenen Dopamin-Rezeptoren:

Folgende Tabelle (4) veranschaulicht Vorkommen und Bedeutung der verschiedenen Dopamin-Rezeptoren:

Tabelle 4: Vorkommen und Funktion der Dopamin-Rezeptoren (Beaulieu and Gainetdinov, 2011; Sealfon and Olanow, 2000):

Rezeptor mit Wirkung	Vorkommen	Funktion
D1: aktiviert die Adenylatcyclase	Striatum, Nucleus accumbens, Tuberculum und Bulbus olfactorius, Substantia nigra, Amygdala, frontaler Cortex, Thalamus, Hypothalamus, Hippocampus, Cerebellum Niere	Bewegung (stimulierend), Lernen und Gedächtnis, Belohnungssystem Renin-Sekretion
D5: aktiviert die Adenylatcyclase	präfrontaler Cortex, prämotorischer Cortex, Substantia nigra, Hippocampus, Gyrus dentatus, Hypothalamus	größtenteils unbekannt
D2: hemmt die Adenylatcyclase	Striatum, Nucleus accumbens, Substantia nigra, Tuberculum olfactorius, ventrales Tegmentum, Amygdala, Hippocampus, Hypothalamus Hypophyse Nebenniere	Bewegung (stimulierend und inhibierend), Lernen und Gedächtnis, Belohnungssystem, psychotisches Erleben Prolaktin-Sekretion Aldosteron-Sekretion
D3: hemmt die Adenylatcyclase	Striatum, Nucleus accumbens, Tuberculum olfactorium, Calleja-Inseln, Substantia nigra pars compacta, ventrales Tegmentum, Hippocampus, cortikale Areale	Bewegung (inhibierend), Belohnungssystem
D4: hemmt die Adenylatcyclase	frontaler Cortex, Amygdala, Bulbus olfactorius, Hypothalamus Hippocampus, Globus pallidum, Substantia nigra pars reticulata, Thalamus	größtenteils unbekannt

Zusätzlich sind alle Untertypen des Dopamin-Rezeptors in unterschiedlicher Menge im gastrointestinalen Trakt, in den Blutgefäßen und im Herzen vorhanden. Auch spielen Dopamin-Rezeptoren eine wichtige Rolle beim Nervenwachstum und Differenzierung der

1 Einleitung

Nervenzellen, der Impulskontrolle, dem Schlaf, dem Hunger- und Sättigungsgefühl, der Aufmerksamkeit, der Entscheidungsfindung und dem Erlernen motorischer Prozesse (Beaulieu and Gainetdinov, 2011).

1.2.3 Signalübertragung des Dopamin-1-Rezeptors

Wie alle Dopamin-Rezeptoren wirken DRD-1-Rezeptoren über eine G-Protein-gesteuerte Signaltransduktion auf die Zelle. Diese Signaltransduktion kann, je nach Art des G-Proteins, über die Aktivierung der Adenylatcyclase oder über die Phosphoinositidkaskade fortgesetzt werden.

Die Adenylatcyclase wird durch die Bindung des aktivierten Komplexes aus G-Protein und der α -Untereinheit des Rezeptors stimuliert und bildet aus ATP den „*second messenger*“ cAMP. Cyclisches AMP aktiviert seinerseits das Schlüsselenzym Proteinkinase A (PKA), welche in der Zielzelle für weitere Prozesse verantwortlich ist. Je nach Art des G-Proteins kann das ankommende Signal hemmend oder aktivierend auf den cAMP-Spiegel und den PKA-Spiegel der Zelle wirken (Gerfen and Surmeier, 2011).

Eine andere Möglichkeit der Signaltransduktion ist die Phosphoinositidkaskade. Wie bei der cAMP-Kaskade werden Signale aus der Umgebung über den G-Protein gesteuerten Dopamin-Rezeptor in das Zellinnere geleitet. Hier handelt es sich jedoch um ein G-Protein, das in der Folge die Phospholipase C β aktiviert. Diese spaltet in aktiviertem Zustand das Phospholipid Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat (PIP₂) in die „*second messenger*“ Diacylglycerin (DAG) und Inositol-1,4,5-trisphosphat (IP₃). PIP₂ kommt, wie die Adenylatcyclase, in der Zellmembran vor. Der „*second messenger*“ IP₃ erhöht durch Öffnung der Ionenkanäle des endoplasmatischen Reticulums die Konzentration des Calciums in der Zelle, welches wiederum als Botenstoff dient. Gleichzeitig kommt es durch die Bindung von freiem DAG mit Calcium zur Aktivierung einer Proteinkinase C. Diese vermittelt durch Phosphorylierung spezifischer Proteine die Zellsignale (Undieh, 2010).

1.2.4 Die Bedeutung des Dopamin-1-Rezeptors für Schizophrenie

Der Dopamin-1-Rezeptor spielt bei der Symptomatik einer Schizophrenie eine besondere Rolle. Dieser ist, verglichen mit den anderen Subtypen des Dopamin-Rezeptors, in besonders hoher Dichte im präfrontalen Cortex aufzufinden. Negativsymptomatik und kognitive Defizite

1 Einleitung

von den Schizophrenie-Patienten scheinen einer verminderten Signalübertragung von Dopamin auf D1-Rezeptoren, bzw. einem Mangel an Dopamin, im präfrontalen Cortex zuzuordnen zu sein (Dandash et al., 2017; Laruelle, 2014).

Speziell für die kognitive Symptomatik scheint die exakte Menge des vorhandenen Dopamins wichtig zu sein: zu wenig, aber auch zu viel Dopamin an den D1-Rezeptoren im präfrontalen Cortex, führt zu einer Verschlechterung der kognitiven Symptomatik (Leuner and Müller, 2007).

Die auffällig hohe Dichte der D1-Rezeptoren im präfrontalem Cortex sowie der Zusammenhang vorhandener Negativsymptomatik und kognitiven Defiziten bei einer insuffizienten Signaltransduktion an D1-Rezeptoren würde auch erklären, warum gängige D2-Antagonisten in der Therapie der Negativsymptomatik und der kognitiven Defizite mangelnde Wirkung zeigen (Brisch et al., 2014).

Auch Studien an Schizophrenie Erkrankten, welche *post mortem* durchgeführt wurden, bestätigten einen Mangel an Dopamin-1-Rezeptoren im präfrontalen Cortex. Zusätzlich zeigten Studien an unbehandelten Schizophreniepatienten eine erhöhte Bindung von Dopamin an Dopamin-1-Rezeptoren, im Sinne einer kompensatorischen Hochregulation als Antwort auf zu niedrige Dopaminspiegel (Leuner and Müller, 2007).

1.2.5 Kopplungs- und Assoziationsstudien des DRD1-Gens mit Schizophrenie

Das DRD1-Gen liegt auf Chromosom 5 in einer Region, von der verschiedene Studien schon Hinweise auf eine Kopplung mit Schizophrenie erbrachten (Kendler, 2015; Schwab et al., 1997; Sklar et al., 2004). Die Forschergruppe um Sklar beschäftigte sich mit portugiesischen Familien und konnte eine Kopplung mit Schizophrenie und der Region 5q31-5q35 nachweisen. In der Studie von Schwab et al. war die Region 5q31 mit Schizophrenie gekoppelt. An dieser Studie nahmen deutsche und israelische Familien teil.

Eine Studie, welche Familien aus Mexiko und Zentralamerika untersuchte, bestätigte eine Kopplung mit Schizophrenie und der Region 5q35 (Escamilla et al., 2007).

Eine weitere Studie wurde von Zaharieva et al. im Jahr 2008 durchgeführt. Die Stichprobe umfasste 615 bulgarische Eltern-Kind-Trios und untersuchte gezielt die Chromosomenregion 5q31.1-5q32. Signifikante Ergebnisse zeigten sich bei den SNPs rs7715300 und rs6897690. Die Polymorphismen rs17169180 und rs7443175 wiesen eine Tendenz bzgl. einer Assoziation mit Schizophrenie auf (Zaharieva et al., 2008).

In verschiedenen Assoziationsstudien wurden Polymorphismen des DRD1-Gens und der Schizophrenie untersucht.

1 Einleitung

In einer Metaanalyse von 2014 von Pan et al. wurden die SNPs rs4532 und rs5326, beide Polymorphismen liegen auf dem DRD1-Gen, in Bezug auf eine Assoziation mit Schizophrenie untersucht. Insgesamt wurden 10 Studien eingeschlossen, 9 davon für rs4532 mit 1941 Erkrankungsfällen und 2480 Kontrollen und 4 Studien für rs5326 mit 1285 Erkrankungsfällen und 1195 Kontrollen. Bei rs4532 zeigte sich kein signifikantes Ergebnis, dafür war der Genotyp G/A (Guanin-Adenin) von rs5326 mit einem erhöhten Risiko für Schizophrenie assoziiert (Pan et al., 2014).

Eine weitere Studie aus dem Jahr 2014 analysierte 11 verschiedene SNPs (rs267410, rs10078866, rs10063995, rs10078714, rs146439723, rs35916350, rs201089398, rs265981, rs193082222, rs5326, rs4532) des DRD1-Gens in Zusammenhang mit der Schizophrenie. Die Stichprobe bestand aus 173 Schizophrenie-Probanden und 213 gesunden Kontrollen aus der chinesischen Han-Bevölkerung. Es kristallisierten sich jedoch keinerlei signifikante Zusammenhänge zwischen dem DRD1-Gen und Schizophrenie heraus (Yao et al., 2014).

Diese Analysen bestätigten die Ergebnisse vorheriger Studien. So konnte in einer Assoziationsstudie mit 208 Schizophrenie-Patienten und 288 gesunden Kontrollprobanden aus Holland keine Assoziation des DRD1-Gens und Schizophrenie gezeigt werden (Hoogendoorn et al., 2005). Zu dem selben Schluss kamen Dmitrzak-Weglarz und Kollegen bei polnischen Studienteilnehmern. Sie untersuchten den Polymorphismus rs4532 bei 407 Erkrankten und 399 Gesunden und fanden keine Assoziation mit Schizophrenie (Dmitrzak-Weglarz et al., 2006). Eine weitere Studie, welche die SNPs rs4532, rs5326, rs2168631, rs6882300 and rs267418 des DRD1-Gens analysierte, konnte ebenfalls keine Assoziation mit Schizophrenie bestätigen. Es nahmen 373 Schizophrenie-Patienten und 379 gesunde Kontrollen teil (Zhang et al., 2010).

2011 untersuchte die Forschungsgruppe um Zhu et al. 9 verschiedene SNPs des DRD1-Gens (rs4867798, rs686, rs1799914, rs4532, rs5326, rs265981, rs10078714, rs10063995, rs10078866) an 385 an Schizophrenie erkrankten Probanden und 350 gesunden Studienteilnehmern. Sie fanden ebenfalls keine Assoziation mit Schizophrenie. Jedoch konnten sie in dieser Studie einen ersten Zusammenhang zwischen rs686 (senkt das Erkrankungsrisiko an Schizophrenie) und rs10063995 (erhöht das Erkrankungsrisiko) ableiten (Zhu et al., 2011).

Die Studie von Allen et al. aus dem Jahr 2008 bestätigte hingegen eine Assoziation von rs4532 mit Schizophrenie. Die Forschungsgruppe konnte diese bei einer Metaanalyse von 118 Studien über insgesamt 24 Polymorphismen aus 16 verschiedenen Genen nachweisen (Allen et al., 2008). Eine weitere Studie, welche koreanische Studienteilnehmer (270 Patienten und 350 Kontrollprobanden) untersuchte, zeigte eine Assoziation des Polymorphismus rs1799914 des DRD1-Gens mit Schizophrenie (Lee et al., 2011). Auch Hoenicka und Kollegen, welche die SNPs rs11746641, rs11749676, rs251937, rs12518222 und rs4867798 des DRD1-Gens

1 Einleitung

analysierten, konnten bei den männlichen Studienteilnehmern und den SNPs rs11746641 und rs11749676 eine Assoziation mit Schizophrenie feststellen (Hoenicka et al., 2010).

Dagegen konnte in der 2014 durchgeführten GWAS des PGC mit 36.989 Schizophrenie-Patienten und 113.075 gesunden Teilnehmern keine signifikante Assoziation des DRD1-Gens mit der Schizophrenie nachgewiesen werden (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014)

1.3 Fragestellung

Die Ätiopathogenese der Schizophrenie ist vielgestaltig. Genetische Faktoren spielen hierbei eine wichtige Rolle, jedoch konnten die detaillierten Mechanismen der Krankheitsentstehung bisher nicht geklärt werden. Durch den Fortschritt der molekulargenetischen Untersuchungsmethoden eröffnen sich neue Möglichkeiten, ein besseres Verständnis der zugrundeliegenden Mechanismen zu entwickeln. Fall-Kontroll-Assoziationsstudien erlauben die Suche von Vulnerabilitätsgenen mit kleinen Geneffekten, welche möglicherweise an der Ätiopathogenese dieser komplexen Erkrankung beteiligt sind.

Dem Dopamin-1-Rezeptorgen wird durch zahlreiche Studienergebnisse ein hoher Stellenwert diesbezüglich eingeräumt und es kann so als Suszeptibilitätsgen bezeichnet werden.

Verschiedene Assoziationsstudien, welche Polymorphismen des DRD1-Gens und der Schizophrenie untersuchten, lieferten jedoch widersprüchliche Ergebnisse, sodass Replikationen in weiteren Stichproben zur Klärung dieses Zusammenhangs notwendig sind.

Ziel dieser Arbeit ist es, mittels einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie fünf verschiedene SNPs des DRD1-Rezeptorgens zu untersuchen und deren möglichen Zusammenhang mit der Ätiopathogenese der Schizophrenie zu diskutieren. In dieser Studie wurden die Allelfrequenzen und die Genotypverteilungen von insgesamt 614 gesunden Kontrollprobanden und 512 an Schizophrenie erkrankten Patienten miteinander verglichen. Dabei wurden die Ergebnisse auf Differenzen bzw. Gemeinsamkeiten in den Allelfrequenzen und den Genotypverteilungen zwischen den Schizophrenie-Patienten und den gesunden Kontrollprobanden untersucht.

2. Material und Methoden

2.1 Vorbedingungen der Studie

Vor der Realisierung der Studie, wurde die Erlaubnis zur Durchführung bei der lokalen Ethikkommission eingeholt. Alle Teilnehmer wurden zu Beginn umfangreich über den Hintergrund und Zweck dieser Studie aufgeklärt. Des Weiteren wurde ihnen erklärt, worauf sie sich einstellen müssen, wenn sie an dieser Studie teilnehmen (Gespräch über ihre Lebens- und Krankengeschichte und eine Blutentnahme). Auch über Risiken, Versicherung, Schweigepflicht sowie Anonymisierung ihrer Daten und ihrer Blutproben wurde gesprochen. Betont wurde, dass die Teilnehmer jederzeit ohne Angabe von Gründen ihr Einverständnis widerrufen und sich somit gegen eine weitere Teilnahme entscheiden konnten. Anschließend unterschrieben sie eine Einverständniserklärung.

2.2 Studienteilnehmer

2.2.1 Kontrollstichprobe

Die Gesamtstichprobe der Studie umfasste 1126 Probanden, davon bestand die Kontrollstichprobe aus insgesamt 614 neuropsychiatrisch gesunden Personen aus München und Umgebung. Die Rekrutierung der Kontrollprobanden verlief in mehreren Schritten. Zuerst wurden per Post Personen aus dem Gebiet München angeschrieben und zu der Studie eingeladen. Die dafür nötigen Informationen stellte das Einwohnermeldeamt auf Antrag bereit. Zeigten sich die angeschriebenen Personen interessiert, folgte ein standardisiertes Telefonscreening, in dem psychiatrische und neurologische Erkrankungen abgeklärt wurden. Litten die möglichen Probanden oder deren Verwandte an psychiatrischen Erkrankungen, erfolgte der Ausschluss. Zudem wurde die Herkunft erfragt, da diese in genetischen Studien aufgrund der Heterogenität verschiedener ethnischer Gruppen von großer Bedeutung ist. An dieser Studie konnten nur europäisch-stämmige Personen teilnehmen.

Nach dem Telefonscreening bekamen die potentiellen Studienteilnehmer auf schriftlichem Wege einen ausführlichen Anamnesebogen zugeschickt, der nach Rücksendung ausgewertet wurde. In diesem Bogen wurde nach allgemeinen Dingen wie Herkunft, Familienstand und schulischer Bildung gefragt. Des Weiteren waren vor allem detaillierte Auskünfte über somatische und psychiatrische Erkrankungen wie beispielsweise affektive Störungen, Erkrankungen aus dem schizophrenem Formenkreis, Belastungs- und Anpassungsstörungen, Angststörungen, Essstörungen, Missbrauch- und Abhängigkeitserkrankungen sowie

2 Material und Methoden

Suizidalität von großer Bedeutung. Wichtige Informationen dazu lieferten auch die Angaben über Medikamenteneinnahme und die Frage nach ambulanter oder stationärer nervenärztlicher Behandlung. Auch hier erfolgte der Ausschluss aus der Studie, falls positive Angaben über die Person selbst oder über einen Angehörigen gemacht wurden. Lagen bis zu diesem Zeitpunkt keine Anhaltspunkte für neuropsychiatrische Erkrankungen vor, und war der potentielle Proband mindestens 18 Jahre alt, wurde er zu einem persönlichen Gespräch in das Studienzentrum eingeladen.

In diesem Interview wurden die Teilnehmer mittels SKID I und SKID II (Strukturiertes klinisches Interview nach DSM-IV, Achse I und Achse II) gescreent (Münster, 1999). Beides sind semistrukturierte klinische Interviews, um Symptome und Syndrome ausgewählter DSM-IV Diagnosen entsprechend den expliziten diagnostischen Kriterien des DSM-IV abzuleiten. SKID I umfasst alle psychopathologischen Achse I-Störungen mit den Sektionen A bis J: Affektive Syndrome und ihre Differentialdiagnosen, psychotische Syndrome und ihre Differentialdiagnosen, Missbrauch und Abhängigkeit von psychotropen Substanzen, Angststörungen, somatoforme Störungen, Essstörungen sowie Anpassungsstörungen. Das SKID II ist ein eigenständiges Zusatzinterview zur Erfassung von Persönlichkeitsstörungen gemäß der Achse II des DSM-IV. SKID I und SKID II sind mit ihrem Spektrum und ihrer Sprache an Erwachsene angepasst und sollten demnach nicht an unter 18-jährigen angewendet werden. Des Weiteren wurde mit Hilfe des FHAM (Family History Assessment Modules) erneut geprüft, ob auch die Verwandtschaft (bis zum dritten Grad) des Probanden psychiatrisch unauffällig war. Außerdem wurde der LEBI (Leibziger Ereignis- und Belastungsinventar) zur Erfassung bisher erlebter belastender Lebensereignisse durchgeführt.

Mittels eines zweiten Anamnesebogens wurde in detaillierter Form der schulische und berufliche Werdegang, Kindheits- und Jugenderlebnisse, soziale und finanzielle Situation sowie familien- und partnerschaftliche Problematiken erfragt.

Probanden, die nach diesen Schritten als unauffällig eingestuft werden konnten, und eine negative Familienanamnese aufweisen konnten, wurden als gesunde Kontrollprobanden in die Studie eingeschlossen.

2.2.2 Schizophrenie-Patienten

Die Patientengruppe setzte sich aus insgesamt 512 an Schizophrenie leidenden Probanden zusammen. Wie bei der Kontrollstichprobe, gab es auch bei den Patienten ein mehrstufiges Auswahlverfahren. Am Telefon wurden Herkunft und andere mögliche Ausschlusskriterien abgefragt. Die Patienten mussten ebenfalls europäischer Abstammung sein, und sie durften

2 Material und Methoden

keine Hirnschädigung oder auslösende Faktoren für psychotische Symptome vor Beginn der Erkrankung aufweisen. Ausschlusskriterien waren somit beispielsweise Erkrankungen wie Enzephalitis, Meningitis, Epilepsie, Multiple Sklerose, ALS (Amyotrophe Lateralsklerose), Morbus Creutzfeld-Jakob oder Lues, aber auch Unfälle mit Schädel-Hirn-Traumata und Drogen- oder Alkoholabhängigkeit vor Erkrankungsbeginn. Die psychotischen Symptome mussten eindeutig der Diagnose Schizophrenie zuzuordnen sein und durften keinen anderen Ursprung (z.B. Drogen) haben.

Bei Interesse der potentiellen Probanden wurden sie zu einem persönlichen Gespräch in die Klinik eingeladen. Zu Beginn erfolgte, wie auch bei der Kontrollstichprobe, die ausführliche standardisierte Anamnese.

Im gesamten folgenden Interview war das Alter zu Beginn der Prodromalphase (*Age at Onset*, AaO) und das Alter bei Erstmanifestation von psychotischen Symptomen von großer Bedeutung. Deshalb wurde besonderes Augenmerk auf vorangegangene stationäre psychiatrische Aufenthalte und den Zeitpunkt der ersten Konsultation eines ambulanten oder stationären Psychiaters gelegt. Aufgrund eines möglichen frühen Erkrankungsbeginns, vor allem bei männlichen Jugendlichen, wurden auch Zeichen wie ein typischer Leistungsknick in der Schule, die Wiederholung einer Klasse oder der Wechsel auf eine Schule niedrigeren Ausbildungsstandes beachtet.

Zur Anwendung kam zudem das SKID I. Es galt, die diagnostizierte Schizophrenie nach der Definition des DSM-IV zu überprüfen und die Unterteilung des phänomenologischen Subtypus in paranoid, kataton, desorganisiert, undifferenziert oder residual vorzunehmen. Wichtig davon abzugrenzen waren die schizoaffektive Störung, die affektive Störung mit psychotischen Symptomen, die schizophrenieforme Störung und die kurze psychotische Störung. Auch durfte die Störung keine direkte physiologische Folge einer Substanz (Drogen oder Medikamente) oder eines allgemeinen medizinischen Krankheitsfaktors (beispielsweise neurologische Erkrankungen, endokrine Faktoren, Stoffwechselerkrankungen etc.) sein.

Zusätzlich wurde mit Hilfe des SKIDs der Langzeitverlauf der Schizophrenie eingeschätzt.

Lag nach SKID I der Verdacht einer Persönlichkeitsstörung nahe, wurde der Patient darüber hinaus mittels SKID II gescreent. Das Vorliegen einer Persönlichkeitsstörung bedeutete den Ausschluss aus der Studie.

Den Abschluss des Interviews bildete die PANSS (Positive and Negative Syndrome Scale) zur Einschätzung des schlimmsten und des derzeitigen Schweregrades der Erkrankung. Sie besteht aus jeweils 7 Fragen zu Positiv- und Negativsymptomen und 16 Fragen zur allgemeinen Psychopathologie. Bei jeder Frage schätzt der Untersucher den Schweregrad von 0 bis 7 des vorliegenden Symptoms ein (Kay et al., 1987).

2 Material und Methoden

2.3 Laborverfahren

Die angewendeten Laborverfahren wurden im molekularbiologischen Labor der Arbeitsgruppe nach standardisierten Protokollen durchgeführt.

2.3.1 DNA-Extraktion

Mit Hilfe von EDTA (Ethyldiamintetraessigsäure) Monovetten wurde von allen Studienteilnehmern venöses Blut abgenommen. Das Blut wurde bei nüchternen Probanden zu Beginn und bei nicht-nüchternen Probanden am Ende des Gesprächs entnommen.

Die Extraktion der genomischen DNA aus dem Blut der Probanden erfolgte mittels dem QIAamp Blood Maxi Kit nach entsprechendem Protokoll (Qiagen, 2005).

Zuerst wurde das EDTA-Blutvolumen auf 10 ml mit dem PBS-Puffer (Phosphat gepufferte Salzlösung) in 50 ml Zentrifugenröhrchen adjustiert. Zur Freisetzung der Nucleinsäuren und zur Lyse weiterer Blutbestandteile, die die spätere DNA-Vervielfältigung stören könnten, wurden 500 µl Proteinase K und je 5 bis 10 ml Vollblut gemischt. Um die Bindung der DNA auf einer Silicagelmembran zu ermöglichen, wurde dem Reaktionsansatz zusätzlich 12 ml AL-Puffer beigefügt. Anschließend wurde diese Lösung für 60 Sekunden auf dem Vortexer gemischt und danach für 30 Minuten im Wasserbad bei 70°C inkubiert, um der Proteinase einen ausreichenden Zeitraum zu Verdauung der Proteine zur Verfügung zu stellen. Zur Fällung der Nucleinsäuren aus dieser Mischung wurden 10 ml 96-100% Ethanol hinzugefügt und die Probe erneut für zwei Minuten auf dem Vortexer gemischt. Als nächstes wurde die Lösung auf die Silicagelmembran pipettiert und bei Raumtemperatur für drei Minuten bei 3000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Dadurch wurde ein Binden der DNA auf die Membran ermöglicht, während Proteinbestandteile sowie RNA ungebunden blieben und somit verworfen werden konnten.

Durch die Zugabe von 5 ml Guanidin-HCL haltigem Waschpuffer AW1 auf die Membran und eine weitere Zentrifugation für zwei Minuten bei 4000 rpm und Raumtemperatur wurden störende Proteine und RNA von der Säule gespült. Anschließend folgte ein weiterer Waschschrift von 5 ml ethanolhaltigem Waschpuffer AW2 und eine erneute Zentrifugation für 15 Minuten bei 4000 rpm und Raumtemperatur. In diesem Schritt wurden Guanidiniumsalze entfernt und die Silicagelmembran getrocknet.

Die Elution der DNA von der Silicagelmembran erfolgte durch zweimalige Zugabe von insgesamt 1,5 ml des basischen TRIS-haltigen AE-Puffers. Nach jeweils fünfminütiger Inkubation bei Raumtemperatur und weiteren zwei Minuten Zentrifugation bei 5000 rpm konnte die auf diesem Wege gewonnene DNA für Analysen verwendet werden.

2 Material und Methoden

Die für die DNA-Extraktion verwendeten Materialien veranschaulicht folgende Tabelle (5).

Tabelle 5: verwendete Materialien für die DNA-Extraktion

Material	Verwendungszweck	Hersteller
EDTA-Monovette	Blutentnahme	Sarstedt, Nürnberg
50 ml Zentrifugenröhrchen	Herstellung der Blut-Puffer-Suspension	Sarstedt, Nürnberg
Micro-Schraubröhre, 2 ml	Lagerung der DNA	Sarstedt, Nürnberg
1x PBS-Puffer aus: 8 g NaCl 0,2 g KCl 1,44 g Na ₂ HPO ₄ 0,24 g KH ₂ PO ₄ Ad 1 l mit Aqua dest. Mit NaOH auf pH 7,4	Resuspendierung des Blutkuchens	Eigene Herstellung: Reagenzien von Carl Roth, Hamburg
Qiagen DNA Blood Maxi Kit	DNA-Extraktion	Qiagen, Hilden
Ethanol Rotipuran (>98% p.A.)	Entfernen der Hydrathülle	Carl Roth, Karlsruhe
Vortex Genie	Durchmischung der Blut-Puffer-Suspension	Scientific Industries, New York, USA
Wasserbad WNB 22	Inkubation bei 70°C der Blut-Puffer-Suspension	Memmert, Schwabhausen
Kühlzentrifuge CF108-GR	alle Zentrifugationsschritte	VWR Life Science Competence Center, Erlangen
Eppendorf Research Pipette (100-1000 µl)	Pipettierung der DNA	Eppendorf, Hamburg
Sammelgefäße	Auffangen der DNA	Qiagen, Hilden
Proteinkinase K, 500 µl	Abbau der Zellproteine	Qiagen, Hilden
AL-Lysepuffer, 12 ml	Zellyse	Qiagen, Hilden
Wasch-Puffer AW1 (Guanidin-HCL), 5 ml	Entfernen von Zellrückständen	Qiagen, Hilden
Wasch-Puffer AW2 (ethanolhaltig), 5 ml	Entfernen von Zellrückständen	Qiagen, Hilden
Elutionspuffer AE (TRIS-Puffer, pH>9,0), 1 ml	Elution der DNA	Qiagen, Hilden

2.3.2 DNA-Konzentrationsbestimmung

Bevor die PCR durchgeführt werden konnte, musste die Konzentration der vorliegenden DNA in den einzelnen Proben bestimmt und auf einen einheitlichen Wert eingestellt werden. Mit Hilfe der Eigenschaften von PicoGreen, einem fluoreszierenden Farbstoff, der selektiv an doppelsträngige DNA bindet, können selbst kleinste Mengen von DNA quantitativ bestimmt werden.

Die für die DNA-Konzentrationsbestimmung verwendeten Materialien und Geräte werden in Tabelle 6 aufgeführt.

Tabelle 6: Verwendete Materialien und Geräte für die Bestimmung der DNA-Konzentration

Material	Verwendungszweck	Hersteller
Human Genomic DNA 100 ng/µl	Standardverdünnungsreihe	Clontech, Mountain View, USA
Quant iT PicoGreen dsDNA reagent	Fluoreszenzmessung der DNA	Invitrogen GmbH, Karlsruhe
96 Well Flat Bottom Plate Black	Vorlagenplatte für Standard- und Proben-DNA	Greiner Bio-One, Frickenhausen
Thermo Fast 96 well Plate	Vorverdünnung der Proben- DNA, Standardverdünnungsreihe	ABgene, Hamburg
Janus Automated Workstation	Durchführung aller Pipettierschritte	Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA
Victor ³ Multilabel Counter 1420	Fluoreszenzmessung der DNA	Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA
Optiplex GX620 Pentium 4HT	Berechnung des Mittelwerts	Dell
50 ml konische PP-Röhrchen	Vorbereitung der PicoGreen Mischung	Sarstedt, Nürnberg
1 x TE (pH 7,4), TRIS Base, EDTA	Vorbereitung der PicoGreen Mischung	Carl Roth, Karlsruhe

Im ersten Schritt wurde mittels einer humanen genomischen Standard-DNA bekannter Konzentration (100 ng/µl, Clontech) eine Verdünnungsreihe hergestellt, um später eine Eichkurve für die zu messende DNA zur Verfügung zu haben. Diese Standardreihe bestand aus 8 Konzentrationen, beginnend mit 100 ng/µl, und dann absteigend: 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,5625; 0 ng/µl. Zudem wurde die DNA der Studienteilnehmer mit H₂O bidest. (bidestillatus) im Verhältnis 1:10 vorverdünnt, um innerhalb des Messbereichs des verwendeten Fluoreszenzmessgeräts zu verbleiben.

Der nächste Schritt umfasste die Vorbereitung der Picogreen-Mischung. In einem lichtundurchlässigen Behälter wurde das gefrorene Reagenz für 60 Minuten bei Raumtemperatur aufgetaut. Anschließend wurde dieses mit einem TRIS-EDTA-Puffer im Verhältnis 1:156 in mit zum Lichtschutz aluminiumumwickelten 50 ml Reagenzröhrchen verdünnt. Erst danach war die Mischung zur DNA-Konzentrationsbestimmung einsetzbar.

Mit der Hilfe eines Roboters (Janus Automated Workstation), der auch alle folgenden Pipettierschritte durchführte, wurden auf einer Messplatte (96 well flat bottom plate, black) in jede Vertiefung 50 µl autoklaviertes, destilliertes H₂O vorgelegt.

Anschließend pipettierte der Roboter jeweils 5 µl der Proben-DNA in die Vertiefungen. Auch die Proben der Verdünnungsreihe der Standard-DNA wurden, beginnend bei 100 ng/µl in absteigender Konzentration, in Vertiefungen der Messplatte pipettiert. Sowohl mit der Standardverdünnungsreihe als auch mit der Probanden-DNA wurde jeweils 2 Vertiefungen bestückt. Abschließend wurden in jede Vertiefung 145 µl des photosensiblen Picogreen-Reagenz hinzugefügt.

2 Material und Methoden

Danach legte ein Greifarm der Janus Workstation die Messplatte in das Fluoreszenzmessgerät (Victor³ 1420 Multilabelcounter) ein. Im Gerät wurde die Platte noch für 30 Sekunden, in horizontaler Ebene, in Doppellellipsen geschüttelt. Ein Lichtstrahl mit der Wellenlänge 485 nm regte die PicoGreen Mischung an und bei 520 nm wurde für 0,1 Sekunden pro well die Fluoreszenz gemessen.

Alle Proben wurden als Doppelmessungen analysiert und vom Messgerät an den Computer übermittelt. Abschließend berechnete ein Computer die Mittelwerte aus den Vertiefungen gleicher Konzentration und ermittelte anhand der Fluoreszenzwerte der Standardverdünnungsreihe die DNA-Konzentration in den Proben der Studienteilnehmer. Zuletzt stellte der Roboter mit Hilfe von H₂O bidest. die DNA-Lösungen auf eine Konzentration von 50 ng/μl ein.

2.3.3 Genotypisierung

2.3.3.1 Auswahl der Polymorphismen

Die in dieser Arbeit analysierten Polymorphismen wurden zusammen mit ca. 1000 weiteren Varianten genotypisiert. Die Auswahl der SNPs wurde mit dem Ziel durchgeführt, möglichst informative, voneinander unabhängige Polymorphismen einzuschließen, ohne andererseits Lücken in der Abdeckung des Gens zuzulassen. Zusätzlich zu einer Recherche in der Datenbank PubMed (NCBI) zu bereits publizierten Polymorphismen, wurden folgende Kriterien, mit abnehmender Priorität, für die Auswahl der zu untersuchenden SNPs angewendet:

1. Funktionelle SNPs
 - a. Exonisch, zu einem Aminosäureaustausch im Protein führend
 - b. Lokalisiert im 5'-Bereich des Gens (potentielle Promotorregion), mit möglicher Veränderung der Proteindosis
 - c. Exonisch, ohne nachfolgenden Aminosäureaustausch im betreffenden Protein
2. Abdeckung des Gens
 - a. Haplotype tag SNPs: Haplotype tag SNPs (htSNPs) sind Polymorphismen in einer Genomregion, welche mit anderen Polymorphismen in hohem Kopplungsungleichgewicht (Linkage disequilibrium, LD) liegen und als stellvertretend für diese Region verwendet werden können. Die Bestimmung der htSNPs erfolgte mittels *Tagger-pairwise* Methode auf Basis der CEU Population mit einer Minorallelfrequenz von 25% und ein Kopplungsungleichgewicht von $r^2=1,0$ (Bakker et al., 2005).

2 Material und Methoden

- b. Um eine vollständige Abdeckung des Gens zu erreichen, wurde zusätzlich geprüft, ob die ausgewählten SNPs bezüglich ihrer chromosomalen Position gleichmässig verteilt waren. War dies nicht der Fall und gab es größere Lücken im Gen, wurden noch weitere, im Intronbereich liegende SNPs, mit einer Minorallelfrequenz von mindestens 0,25, hinzugenommen.

Folgende Polymorphismen des DRD1-Gens wurden genotypisiert: rs4867798, rs5326, rs267418, rs2453741 und rs1508765. Einen Überblick der untersuchten Einzel-Nucleotid-Polymorphismen zeigt Tabelle 7.

Tabelle 7: Analyisierte SNPs des DRD1-Gens auf Chromosom 5q35.1

SNP	Chromosomenposition	Allele	Funktion
rs4867798	175.440.896	C:T	3' UTR, Exon 2
rs5326	175.443.193	A:G	5' UTR, Exon 2
rs267418	175.453.642	C:G	5' potentielle Promoterregion
rs2453741	175.464.618	A:C	5' potentielle Promoterregion
rs1508765	175.467.138	C:T	5' potentielle Promoterregion

2.3.3.2 iPLEX-Verfahren

Im Anschluss an die DNA-Konzentrationsbestimmung konnte die Genotypisierung der ausgewählten SNPs erfolgen. Sie beruht im Wesentlichen auf zwei Methoden: dem iPLEX-Verfahren und der MALDI-TOF Massenspektrometrie (Matrix-Assisted Laser Desorbition/Ionisation-Time of Flight). Das iPLEX-Verfahren kann in drei Einzelschritte untergliedert werden: die klassische Polymerase Kettenreaktion (PCR), die Behandlung des Reagenzes mit Shrimp Alkaline Phosphatase (SAP) und die iPLEX-Extensionsreaktion.

Konventionelle Polymerase Kettenreaktion

Um eine ausreichende Menge an Ausgangssubstanz für die nachfolgenden Reaktionen zu erhalten wurde eine konventionelle PCR durchgeführt, bei der ähnlich einer Replikation innerhalb einer Zelle mittels einer DNA-Polymerase der komplementäre Strang zum gewünschten DNA-Abschnitt synthetisiert wird. Dabei werden Zielsequenz-spezifische Oligonukleotide (Primer) als Startpunkt für die Polymerase zur Verfügung gestellt, und die einzelnen Schritte Denaturierung der DNA in Einzelstränge, Anlagerung der Primer (Annealing) und Synthese des komplementären DNA Strangs (Elongation) in Zyklen wiederholt, so dass sich eine ausreichend hohe Amplifikationsrate des gewünschten DNA Abschnitts ergibt.

Die benötigten Materialien und Geräte beinhaltet folgende Tabelle (8):

2 Material und Methoden

Tabelle 8: Materialien und Geräte für die Multiplex-PCR

Materialien und Geräte	Hersteller
Thermo Fast 96 well Plate	ABgene, Hamburg
Thermo Fast 384 well Plate	ABgene, Hamburg
Gene Amp PCR System 9700	Applied Biosystems, Foster City, USA

Die verwendeten Reagenzien zur Erstellung des Mastermixes für die Multiplex-PCR zeigt Tabelle 9:

Tabelle 9: Reagenzien und Volumina der Multiplex-PCR

Reagenz	Volumen pro Reaktion	Hersteller
autoklaviertes H ₂ O	1,850 µl	Purelab ultra, ELGA
PCR-Puffer, 10x, mit MgCl ₂	0,625 µl	Qiagen, Hilden
MgCl ₂ (25 mM)	0,325 µl	Qiagen, Hilden
dNTP Mix, (25mM)	0,100 µl	Abgene, Hamburg
Primer Mix (je 500 nM)	1,000 µl	Metabion, Martinsried
Hotstar Taq DNA-Polymerase (5 U/µl)	0,100 µl	Qiagen, Hilden

Zu Beginn wurden die in die Genotypisierung einzuschließenden SNPs mit der Software AssayDesign 3.1 (Sequenom, San Diego) zu Multiplexen zusammengestellt. So wurde für jeden SNP ein Primerset aus zwei PCR Primern und einem Extensionsprimer entworfen.

Tabelle 10 führt die verwendeten Primer auf.

Tabelle 10: verwendete Primer für die Genotypisierung

SNP	Primer 1	Primer 2	Länge (bp)
rs4867798	ACGTTGGATGGGACACAG ATAAATGCAAGG	ACGTTGGATGCCCTGGGA AAGTCATTTGTC	157
rs5326	ACGTTGGATGGTCAGTCA GATTTCCAGGAG	ACGTTGGATGGGTCCTCT CATGGAATGTTG	119
rs267418	ACGTTGGATGTGGAGGTA CAGCTAATCAGG	ACGTTGGATGGCAATCCC CTGCTATCTTAC	117
rs2453741	ACGTTGGATGCTTGCATAG GAAGAAGTCCC	ACGTTGGATGGGCCTTTTT CCTCAAGGAAG	125
rs1508765	ACGTTGGATGCCACATTTG TGCTTTGCCAG	ACGTTGGATGTAAGATGC AGACAGGAAGGG	119

Mittels eines Pipettierroboters wurden jeweils 4 µl des Mastermixes (siehe Tabelle 9) in die Vertiefungen der 384 Thermo Fast well Plate vorgelegt. Dazu kamen in jede Vertiefung 12,5 ng (2,5 µl) DNA. Diese Platten wurden abzentrifugiert, verschlossen und in einem Thermocycler (Applied Biosystems, Foster City) zur Reaktion gebracht.

2 Material und Methoden

Die für die PCR verwendeten Einstellungen bestanden aus den folgenden drei Schritten:

Denaturierung:

Um die doppelsträngige DNA in ihre Einzelstränge zu trennen, wurde sie für 5 Minuten auf ca. 95°C erhitzt (initiale Denaturierung). Bei dieser Temperatur diffundierten die beiden Stränge auseinander, da die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Basen gelöst wurden. Für die weiteren Zyklen wurde die Dauer der Denaturierung 20 Sekunden reduziert.

Annealing:

Durch Abkühlen des Reaktionsansatzes auf 56°C für 30 Sekunden, war die Voraussetzung für die Bindung der spezifischen Oligonucleotidprimer an die Einzelstränge der DNA gegeben. Da Primer kleiner sind (meist etwa 20 bis 30 Nucleotide) und zudem im Überschuss vorliegen, binden sie schneller an die DNA als der komplementäre Einzelstrang.

Elongation:

Für eine Minute erfolgte ein erneutes Erhitzen auf ca. 72°C. Die DNA-Polymerase synthetisierte ausgehend von den Primern mittels der Nucleotide die komplementären Stränge.

Diese drei Reaktionsschritte wurden 45x wiederholt, um genügend DNA-Material im Reaktionsansatz zu erzeugen. Im Anschluss an den letzten Zyklus wurde die Temperatur für drei Minuten auf 72°C gehalten und danach auf 12°C abgekühlt. Bei dieser Temperatur wurden die Proben bis zur Weiterverarbeitung gelagert.

SAP-Behandlung:

Da bei der PCR nicht alle Nucleotide eingebaut werden, diese aber später bei der Massenspektrometrie stören würden, folgte als nächster Schritt die Behandlung des Reagenzes mit SAP. Diese dephosphoryliert die freien Nucleotide und inaktiviert sie somit.

Die folgende Tabelle (11) zeigt die verwendeten Materialien für die SAP-Reaktion:

Tabelle 11: Materialien für die SAP-Reaktion

Material	Verwendungszweck	Hersteller
SAP-Puffer	Herstellung der Reaktionsbedingung der Enzyme	Sequenom, San Diego, USA
Shrimp Alkalische Phosphatase	Dephosphorylierung nicht inkorporierter dNTPs	Sequenom, San Diego, USA
Gene Amp PCR System 9700	Multiplex-PCR	Applied Biosystems, Foster City, USA

2 Material und Methoden

Der SAP-Mastermix setzte sich aus den folgenden Reagenzien zusammen (Tabelle 12):

Tabelle 12: Zusammensetzung des SAP-Mastermix:

Reagenz	Volumen für 1 Reaktion (incl. 25% Überhang)
Wasser	1,530 µl
10x SAP-Puffer	0,170 µl
SAP-Enzym	0,300 µl

Mittels Pipettierroboter wurden 2 µl SAP-Mastermix zu den PCR-Produkten gegeben, gemischt und abzentrifugiert. Im Anschluss wurde das Gemisch in einem Thermocycler erst bei 37°C für 40 Minuten inkubiert. Weitere 10 Minuten bei 85°C inaktivierten das SAP-Enzym irreversibel und die Proben wurden bis zur weiteren Verarbeitung auf 4°C hinuntergekühlt.

iPLEX-Extensionsreaktion:

Auch bei dieser Reaktion handelt es sich um eine Art Kettenreaktion und zwar der sogenannten Einzelbasenextensionsreaktion (SBE, *single base extension*). Anders als bei der PCR ist der Primer so konzipiert, dass er sich unmittelbar an das 5' Ende des zu untersuchendem SNP anlagert. Zudem werden diesem Reaktionsansatz Didesoxynucleotide (ddNTP) hinzugefügt, sodass jeweils nur eine einzige Base angehängt werden kann. Diese einzelnen angehängten Basen sind somit komplementär zu dem probandenspezifischen Allelen der untersuchten SNPs. Aufgrund der biochemischen Struktur der ddNTP (fehlende 3'-OH-Gruppe) kommt es danach zum Kettenabbruch.

Außerdem besaßen die eingesetzten ddNTPs spezielle funktionelle Gruppen. Ohne diese Gruppen wäre die Massendifferenz zwischen den einzelnen Basen zu gering, um sie sicher im Massenspektrometer zu unterscheiden.

Nachfolgende Tabelle (13) zeigt die eingesetzten Extensionsprimer für das iPLEX-Verfahren auf.

Tabelle 13: Eingesetzte Extensionsprimer für das iPLEX-Verfahren

SNP	Extensionsprimer
rs4867798	TGAACACAGTAGTAGCTATACTTT
rs5326	CCAATCTGGCTGTGCAAAGTGCTGCCT
rs267418	CTATCTTACCTGGAATCATCA
rs2453741	TTACGCAACAGCCAAC
rs1508765	GTCTTTCCTCCCTCCC

Die folgende Tabelle (14) listet die verwendeten Reagenzien für die Multiplex-Extensionsreaktion auf.

Tabelle 14: Verwendete Reagenzien für die Multiplex-Extensionsreaktion

Material	Volumen für eine Reaktion	Hersteller
Wasser	0,755 µl	
iPLEX Puffer Plus	0,200 µl	Sequenom, San Diego, USA
iPLEX Enzym	0,041 µl	Sequenom, San Diego, USA
iPLEX Terminationsmix	0,200 µl	Sequenom, San Diego, USA
Extensionsprimer	0,804 µl	Metabion, Martinsried
Total	2,000 µl	

Zu der vervielfältigten, mit SAP behandelten DNA wurden 2 µl des Gemisches (Tabelle 14) zugegeben und in einem Thermocycler (Gene Amp PCR System 9700; Applied Biosystems, Foster City, USA) prozessiert. Das PCR-Programm bestand aus zwei Zyklusschleifen, sodass letztlich 200 Zyklen resultierten. Die initiale Denaturierung dauerte 30 Sekunden bei 94°C. Die Denaturierung im weiteren Verlauf dauerte lediglich fünf Sekunden, es folgte eine fünf Sekunden dauernde Primeranlagerung bei 52°C und für weitere fünf Sekunden die Anlagerung der komplementären ddNTP bei 80°C. Die Schritte zur Anlagerung der Primer und zur Extension wurden jeweils 5x wiederholt. Die Denaturierung und anschließende Primeranlagerung und Extension wurde 40x wiederholt. Am Ende erfolgte eine finale Extension für drei Minuten bei 72°C. Im Anschluss daran wurden die Proben auf 4°C herabgekühlt.

2.3.3.3 MALDI-TOF Massenspektrometrie

Die MALDI-TOF Methode besteht aus zwei Schritten: der Laser gepulsten Anregung der Probe zur Desorption und Ionisation der Analytmoleküle sowie der anschließenden Beschleunigung der ionisierten Teilchen in einem (nahezu) Vakuum. Dabei werden die Teilchen gemäß ihrer Ladung und Masse aufgetrennt. Über die benötigte Zeit im Flugkanal kann auf die Masse zurückgeschlossen werden. Es gilt: Je schwerer das Teilchen, umso langsamer fliegt es und desto länger braucht es.

Tabelle 15 führt die verwendeten Materialien für die Messung der Extensionsprodukte im MALDI-TOF-Massenspektrometer auf.

Tabelle 15: Materialien für die Messung der Extensionsprodukte im MALDI-TOF-MS

Material	Verwendungszweck	Hersteller
3-Punkt Kalibrant	Kalibrierung der Massenspektren	Sequenom, San Diego, USA
SpectroCHIP	Probenträger der Matrixdroplets	Sequenom, San Diego, USA
MassARRAYPOINT Nanodispenser	Applikation der Extensionsprodukte auf SpectroCHIPS	Sequenom, San Diego, USA
MassARRAY Analyzer 4	Massenspektrometrische Analyse der Extensionsprodukte	Agena Bioscience, Hamburg
TyperAnalyzer 3.4.0.18	Spektrenauswertung	Sequenom, San Diego, USA

Vor der weiteren Bearbeitung wurden die Proben entsalzt, damit bei der folgenden Massenspektrometrie keine Störsignale auftraten. Dies erfolgte mit einem Ionenaustauschharz (Clean Resin, Sequenom, San Diego).

Bevor die Probe jedoch mit einem Laser beschossen werden konnte, musste sie auf eine Matrix aufgebracht werden. Dies sollte zum einen ein Auskristallisieren der Proben-DNA verhindern, zum anderen konnten dadurch alle Analytmoleküle mit der gleichen Laserenergie angeregt werden.

Die Primerextensionsprodukte wurden mit dem MassARRAYPOINT Nanodispenser auf Siliziumchips mit einer 384er Matrix aufgebracht und anschließend in das Vakuum des Massenspektrometers überführt. Dort wurde die Matrix mit einem gepulsten Laser beschossen. Die so entstandenen Ionen wurden mit Hilfe eines elektrischen Feldes beschleunigt. Es wurde die Zeit bestimmt, welche die Ionen brauchten, um durch den Flugkanal zu fliegen. Je nach der in der iPLEX-Reaktion angehängten Base, unterschieden sich die Massen und damit die Flugzeit, wodurch die jeweiligen Allele und Genotypen zugeordnet werden konnten.

2.4 Qualitätskontrolle

Sämtliche Polymorphismen, welche in die statistische Auswertung aufgenommen wurden, mussten entsprechende Qualitätskriterien erfüllen. Kontrollproben, d.h. Proben derselben DNA an einer anderen Position auf jeder 96 well Platte, mussten alle die selben Genotypen aufweisen. Zudem existierten Blindproben ohne DNA, die entsprechend keine Genotypen enthalten durften. Die Genotypencluster (homo- und heterozygot) mussten eindeutig voneinander getrennt sein.

Der Grenzwert für die Probanden-*Callrate* wurde mit 0,8 festgelegt, d.h mindestens 80% aller untersuchten Polymorphismen in einem Plex mussten für einen Probanden einen

2 Material und Methoden

auswertbaren Genotypen ergeben. Zudem musste die *SNP-Callrate* bei 0,9 liegen, d.h. mindestens 90% aller untersuchter Probanden mussten für einen Polymorphismus auswertbare Genotypen ergeben. Zusätzlich wurden CEU-Proben mitprozessiert, diese mussten die zu erwartenden Genotypen aufweisen. Diese erwarteten Genotypen wurden durch das Internationale HapMap Konsortium zur Verfügung gestellt (The International HapMap Consortium, 2003). Probanden-DNA oder SNPs, die diese Kriterien nicht erfüllten wurden von der weiteren Analyse ausgeschlossen.

Des Weiteren wurde das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWE) überprüft. Ergaben sich Abweichungen mit $p < 10^{-5}$ (p =Signifikanzwert), so wurde das Ergebniss verworfen, geringer signifikante Abweichungen wurden im weiteren Verlauf genau überprüft.

2.5 Statistische Auswertung

Die statistische Analyse wurde mit Hilfe der PASW (Predictive Analytics SoftWare) Statistics 18.0 Software (Statistical Package for Social Sciences, Inc Chicago, 2009) durchgeführt.

Die Häufigkeit der Genotypen und Allele wurde zwischen der Gruppe der Kontrollprobanden und der der Schizophrenie-Patienten mittels des zweiseitigen χ^2 -Test verglichen. Eine Assoziation der Allele und der Genotypen der SNPs des DRD1-Gens mit der Schizophrenie galt bei $p \leq 0,05$ als nominal signifikant und bei $p \leq 0,1$ als Tendenz.

Auf eine Korrektur für multiples Testen wurde aufgrund des explorativen Charakters verzichtet.

3. Ergebnisse

3.1 Beschreibung der Stichprobe

Die Gesamtstichprobe der Studie umfasste 1126 Probanden. Die Kontrollstichprobe bestand aus insgesamt 614 neuropsychiatrisch gesunden Personen aus München und Umgebung. 45,4% der Teilnehmer waren männlichen und 54,6% weiblichen Geschlechts. Ihr Alter lag zwischen 20 und 72 Jahren, im Mittel bei 45 Jahren.

Die Patientengruppe setzte sich aus insgesamt 512 an Schizophrenie leidenden Probanden zusammen. Die Altersspanne reichte vom 18. bis 70. Lebensjahr, im Mittel waren die Patienten 37,82 Jahre alt. 65,0% der Erkrankten waren Männer, 35,0% Frauen.

Dies veranschaulicht folgende Tabelle (16).

Tabelle 16: Alters- und Geschlechtsverteilung der Stichprobe

Gruppe	Alter (Jahren) Mittelwert (SD)	Geschlecht n (%)		Gesamt n
		männlich	weiblich	
Kontrollen	45,20 (15,23)	279 (45,4)	335 (54,6)	614
Patienten	37,82 (11,35)	333 (65,0)	179 (35,0)	512
Gesamt n(%)		612 (54,4)	514 (45,6)	1126

Anders als bei der Kontrollgruppe gab es bei den Patienten signifikant mehr männliche als weibliche Personen ($\chi^2=43,226$; $df=1$; $p<0,05$). Darüber hinaus waren die erkrankten Patienten signifikant jünger als die Kontrollprobanden ($t=9,308$; $df=1110,583$; $p<0,05$).

Zusätzlich zu Alter und Geschlecht wurden die Gruppen hinsichtlich Schulbildung miteinander verglichen. Dabei wurde zwischen niedriger Schulbildung (=1), mittlerer (=2) und hoher Schulbildung (=3) unterschieden. Die Gruppe „niedrige Schulbildung“ umfasste alle Probanden ohne Schulabschluss bis maximal einem qualifizierten Hauptschulabschluss. „Mittlere Schulbildung“ wurde definiert als Besuch einer Real- oder Volksschule ohne oder mit Abschluss oder des Gymnasiums ohne Abschluss. Unter „hoher Schulbildung“ wurde der Besuch des Gymnasiums mit Abschluss definiert. Die Verteilung der Kontrollen und Patienten auf diese Gruppen zeigt Tabelle 17.

Tabelle 17: Schulbildungsverteilung der Stichprobe

Gruppe	niedrige Schulbildung n (%)	mittlere Schulbildung n (%)	hohe Schulbildung n (%)	Gesamt n
Kontrollen	120 (19,5)	206 (33,6)	288 (46,9)	614
Patienten	223 (43,6)	139 (27,1)	150 (29,3)	512
Gesamt	343 (30,5)	345 (30,6)	438 (38,9)	1126

3 Ergebnisse

Die Datenauswertung zeigte Unterschiede zwischen den untersuchten Gruppen. Signifikant mehr Schizophrenie-Patienten wiesen eine niedrigere Schulbildung als die gesunden Kontrollen auf ($\chi^2=78,828$; $df=2$; $p<0,05$).

3.2 Beschreibung der Polymorphismen

Das DRD1-Gen liegt auf Position 5q35.1 und umfasst die Chromosomenposition von 175.440.038 bp bis 175.444.218 bp. Es besteht aus zwei Exons, welche durch ein Intron getrennt werden. Der zu translatisierende Bereich befindet sich in Exon 2. Die Polymorphismen rs1508765, rs2453741 und rs267418 liegen in der Intergenregion und somit in der potentiellen Promoterregion für das DRD1-Gen. Der Polymorphismus rs5326 befindet sich in der 5'UTR-Region, der Polymorphismus rs4867798 in der 3'UTR-Region. Diese beiden Bereiche werden nicht translatiert, sondern lediglich transkribiert (Abbildung 1).

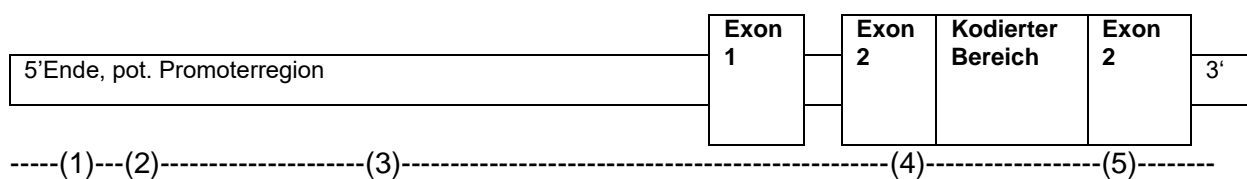


Abbildung 1: Exon-Intronstruktur des DRD1-Gens, sowie Lage der untersuchten SNPs

(1): rs1508765, (2): rs2453741, (3): rs267418, (4): rs5326, (5): 4867798

3.3 Überprüfung des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts

Die Genotypverteilung wurde mit Hilfe des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts überprüft. Die folgende Tabelle (18) zeigt, dass sich die Genotypen dieser Population im Gleichgewicht befanden, mit Ausnahme von SNP rs2453741. Die genauere Überprüfung dieses Ergebnisses ließ keinen technischen Mangel erkennen, der SNP wurde in die weitere Auswertung mit einbezogen.

Tabelle 18: Ergebnisse der Überprüfung der Genotypverteilung der Gesamtstichprobe

SNP	HWE (F)	HWE (p-Wert)
rs4867798	0,031	0,313
rs5326	0,003	0,924
rs267418	-0,020	0,504
rs2453741	-0,067	0,025
rs1508765	0,006	0,832
df=1		

3.4 Analyse des Polymorphismus rs4867798

3.4.1 Allelverteilung

Die folgende Tabelle (19) veranschaulicht die Verteilung der Allele innerhalb der Patienten- und der Kontrollgruppe.

Tabelle 19: Darstellung der Allelverteilung des Polymorphismus rs4867798

Gruppe	C-Allel n (%)	T-Allel n (%)	Gesamt n
Kontrollen	352 (30,2)	814 (69,8)	1166
Patienten	262 (27,0)	708 (73,0)	970
Gesamt	614 (28,7)	1522 (71,3)	2136

Es wurde kein signifikanter Unterschied in der Allelverteilung zwischen Patienten und Kontrollen nachgewiesen. Das T-Allel war in beiden Gruppen deutlich häufiger vertreten als das C-Allel ($\chi^2=2,612$; OR=1,169; CI 95% =0,967-1,412; df=1; p=0,106).

3.4.2 Genotypverteilung

Tabelle 20 zeigt die Aufteilung der Genotypen in der Kontroll- und Patientengruppe.

Tabelle 20: Darstellung der Genotypverteilung des Polymorphismus rs4867798

Gruppe	Genotyp C/C n (%)	Genotyp C/T n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt n
Kontrollen	49 (8,4)	254 (43,6)	280 (48,0)	583
Patienten	46 (9,5)	170 (35,0)	269 (55,5)	485
Gesamt	95 (8,9)	424 (39,7)	549 (51,4)	1068

3 Ergebnisse

Die Frequenzen der Genotypen zeigten nominal signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen ($\chi^2=8,032$; $df=2$; $p=0,018$). Träger des heterozygoten Genotypen C/T fanden sich häufiger in der Kontrollgruppe, während beide homozygoten Genotypen häufiger in der Patientengruppe auftraten (Abbildung 2).

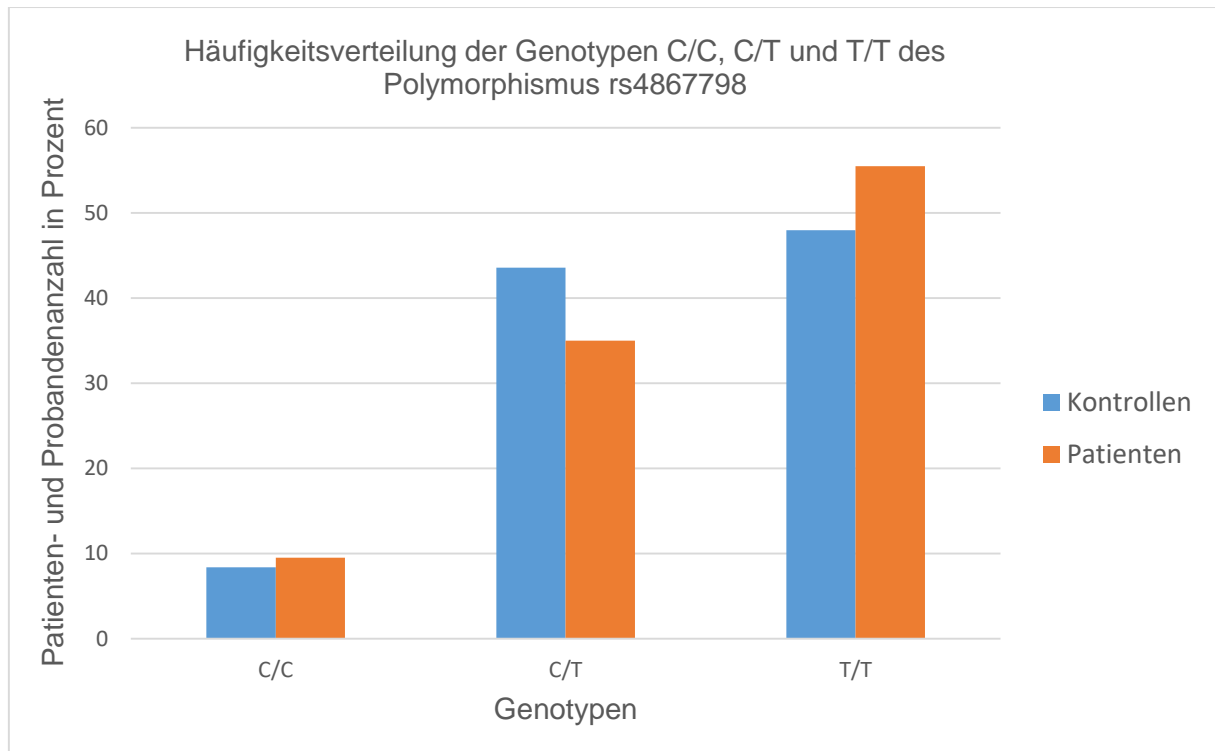


Abbildung 2: Graphische Darstellung der Genotypverteilung des Polymorphismus rs4867798

Um einen Hinweis darauf zu erhalten, ob sich das seltenere Allel dominant verhält, wurden die Träger des selteneren C-Allels (C/C, C/T) in einer Gruppe zusammengefasst und mit den Homozygoten für das T-Allel verglichen (Tabelle 21).

Tabelle 21: Darstellung der C-Allelträger versus der T-Allelträger von SNP rs4867798

Gruppe	Genotyp C/C und C/T n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt n
Kontrollen	303 (52,0)	280 (48,0)	583
Patienten	216 (44,5)	269 (55,5)	485
Gesamt	519 (48,6)	549 (51,4)	1068

Auch bei dieser Analyse konnte ein nominal signifikanter Unterschied zwischen gesunden Kontrollen und den erkrankten Probanden gezeigt werden. Die Kontrollprobanden waren häufiger C-Allelträger (Genotyp C/C und C/T) als die Schizophrenie-Patienten ($\chi^2=5,861$; $OR=1,348$; $CI=1,058-1,716$; $df=1$; $p=0,015$) (Abbildung 3).

3 Ergebnisse

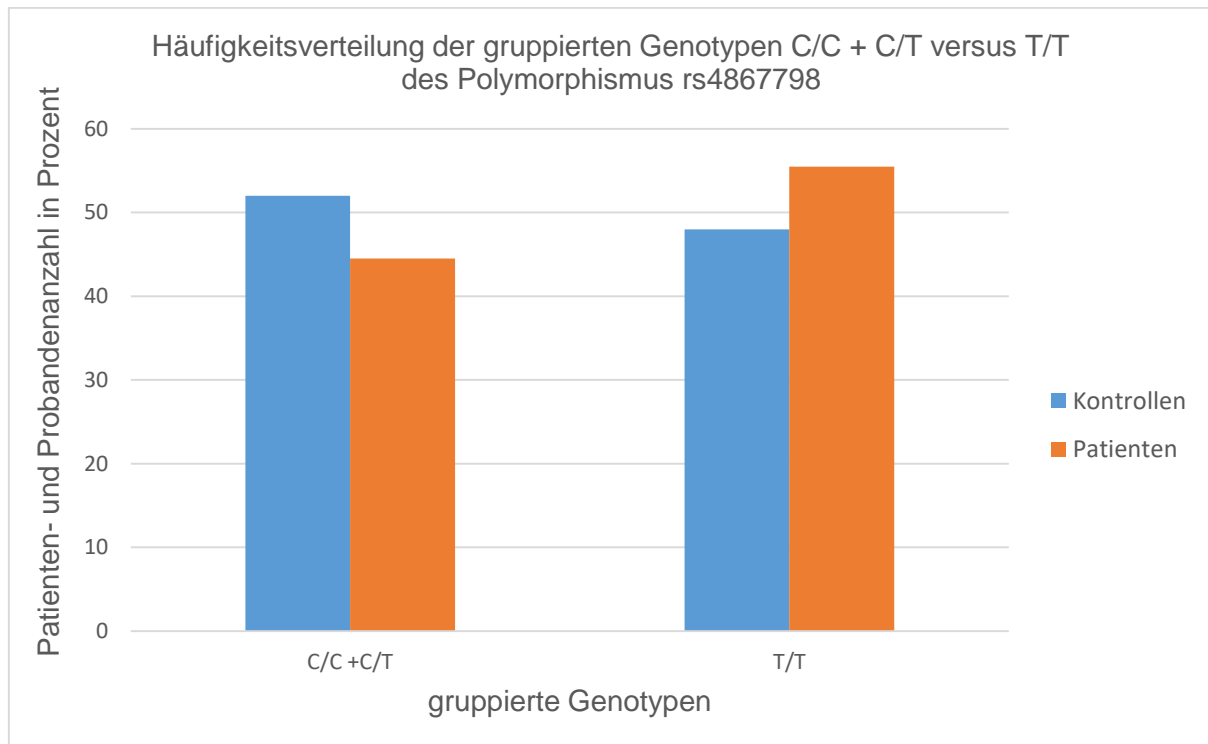


Abbildung 3: Genotypverteilung von rs4867798 im dominanten Modell

Im nächsten Schritt wurden Genotypen C/T und T/T als Träger des häufigeren Allels in einer Gruppe zusammengefasst und den Trägern des Genotypen C/C im rezessiven Modell gegenübergestellt (Tabelle 22).

Tabelle 22: Darstellung der gruppierten T-Träger versus der C-Träger von SNP rs4867798

Gruppe	Genotyp C/T und T/T n (%)	Genotyp C/C n (%)	Gesamt
Kontrollen	534 (91,6)	49 (8,4)	583
Patienten	439 (90,5)	46 (9,5)	485
Gesamt	973 (91,1)	95 (8,9)	1068

Hier fand sich kein Unterschied in der Verteilung zwischen den beiden Gruppen ($\chi^2=0,381$; OR=0,876; CI=0,574-1,335; df=1; p=0,537).

3.5 Analyse des Polymorphismus rs5326

3.5.1 Allelverteilung

Die Allele A und G des SNP rs5326 waren folgendermaßen auf die Kontroll- und Patientengruppe verteilt (Tabelle 23).

Tabelle 23: Darstellung der Allelverteilung des Polymorphismus rs5326

Gruppe	A-Allel n (%)	G-Allel n (%)	Gesamt n
Kontrollen	179 (14,9)	1025 (85,1)	1204
Patienten	137 (13,6)	867 (86,4)	1004
Gesamt	316 (14,3)	1892 (85,7)	2208

Die statistische Analyse ergab eine gleichmäßige Verteilung zwischen den beiden Gruppen. Zudem war in beiden Gruppen das G-Allel deutlich häufiger vorhanden ($\chi^2=0,666$; OR=1,105; CI=0,869-1,405; df=1; p=0,414).

3.5.2 Genotypverteilung

Die Datenauswertung der drei möglichen Genotypen, homozygot A/A, heterozygot A/G, homozygot G/G wird in Tabelle 24 anschaulich dargestellt.

Tabelle 24: Darstellung der Genotypverteilung des Polymorphismus rs5326

Gruppe	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n
Kontrollen	13 (2,2)	153 (25,4)	436 (72,4)	602
Patienten	10 (2,0)	117 (23,3)	375 (74,7)	502
Gesamt	23 (2,1)	270 (24,4)	811 (73,5)	1104

Die Genotypen zeigten in ihrer Verteilung zwischen den gesunden Kontrollen und den Schizophrenie-Patienten keinen signifikanten Unterschied. In Bezug auf das seltenere A-Allel (siehe Tabelle 23) war auch der Genotyp homozygot A/A im Vergleich zu den anderen beiden Genotypen deutlich seltener ($\chi^2=0,727$; df=2; p=0,695).

In Tabelle 25 wurden die Genotypen A/A und A/G in einer Gruppe zusammengefasst und den homozygoten G-Trägern (G/G) gegenübergestellt.

Tabelle 25: Darstellung der gruppierten A-Träger versus der G-Träger von SNP rs5326

Gruppe	Genotyp A/A und A/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n
Kontrollen	166 (27,6)	436 (72,4)	602
Patienten	127 (25,3)	375 (74,4)	502
Gesamt	293 (26,5)	811 (73,5)	1104

Zwischen den beiden Gruppen zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der Verteilung ($\chi^2=0,727$; OR=1,124; CI= 0,859-1,471; df=1; p=0,394).

3 Ergebnisse

Darüber hinaus wurden alle G-Allelträger (Genotyp A/G und G/G) zusammengefasst und den homozygoten A-Allelträgern (A/A) gegenübergestellt. Diese Aufteilung ist in Tabelle 26 dargestellt.

Tabelle 26: Darstellung der gruppierten G-Träger versus der A-Träger von SNP rs5326

Gruppe	Genotyp A/G und G/G n (%)	Genotyp A/A n (%)	Gesamt n
Kontrollen	589 (97,8)	13 (2,2)	602
Patienten	492 (98,0)	10 (2,0)	502
Gesamt	1081 (97,9)	23 (2,1)	1104

Auch hier ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen den gesunden Kontrollen und den Patienten ($\chi^2=0,038$; OR=1,086; CI=0,472-2,498; df=1; p=0,846).

3.6 Analyse des Polymorphismus rs267418

3.6.1 Allelverteilung

Die Allelverteilung des Polymorphismus rs267418 innerhalb der Patienten- und der Kontrollgruppe veranschaulicht Tabelle 27.

Tabelle 27: Darstellung der Allelverteilung des Polymorphismus rs267418

Gruppe	C-Allel n (%)	G-Allel n (%)	Gesamt n
Kontrollen	522 (43,9)	666 (56,1)	1188
Patienten	475 (46,8)	541 (53,2)	1016
Gesamt	997 (45,2)	1207 (54,8)	2204

Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der Allelverteilung zwischen Kontrollen und Schizophrenie-Patienten. Beide Allele waren ungefähr gleich häufig vorhanden ($\chi^2=1,749$; OR=0,893; CI=0,754-1,056; df=1; p=0,186).

3.6.2 Genotypverteilung

Die Datenauswertung zu den drei möglichen Genotypen (C/C, C/G, G/G) ergab die in Tabelle 28 gezeigten Häufigkeiten.

Tabelle 28: Darstellung der Genotypverteilung des Polymorphismus rs267418

Gruppe	Genotyp C/C n (%)	Genotyp C/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n
Kontrollen	109 (18,4)	304 (51,1)	181 (30,5)	594
Patienten	111 (21,9)	253 (49,8)	144 (28,3)	508
Gesamt	220 (20,0)	557 (50,5)	325 (29,5)	1102

Hier konnte kein signifikanter Unterschied in der Verteilung der jeweiligen Genotypen zwischen Gesunden und Erkrankten festgestellt werden ($\chi^2=2,202$; $df=2$; $p=0,333$).

Es erfolgte zudem eine Gegenüberstellung von C-Allelträgern (C/C und C/G) gegen homozygote G-Allelträger (G/G), dargestellt in Tabelle 29.

Tabelle 29: Darstellung der gruppierten C-Träger versus der G-Träger von SNP rs267418

Gruppe	Genotyp C/C und C/G n (%)	Genotyp G/G n (%)	Gesamt n
Kontrollen	413 (69,5)	181 (30,5)	594
Patienten	364 (71,7)	144 (28,3)	508
Gesamt	777 (70,5)	325 (29,5)	1102

Auch hier zeigten sich keine signifikanten Differenzen zwischen den gesunden Kontrollen und den Schizophrenie-Patienten ($\chi^2=0,595$; $OR=0,903$; $CI=0,696-1,171$; $df=1$; $p=0,441$).

Die umgekehrte Gegenüberstellung (G-Allelträger C/G und G/G gegen homozygote C-Allelträger C/C) wird in Tabelle 30 dargestellt.

Tabelle 30: Darstellung der gruppierten G-Träger versus der C-Träger von SNP rs267418

Gruppe	Genotyp C/G und G/G n (%)	Genotyp C/C n (%)	Gesamt n
Kontrollen	485 (81,6)	109 (18,4)	594
Patienten	397 (78,1)	111 (21,9)	508
Gesamt	882 (80,0)	220 (20,0)	1102

Auch diese Analyse zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden untersuchten Gruppen ($\chi^2=2,100$; $OR=0,804$; $CI=0,598-1,080$; $df=1$; $p=0,147$).

3.7 Analyse des Polymorphismus rs2453741

3.7.1 Allelverteilung

Tabelle 31 stellt die Allelverteilung des A-Allels und des C-Allels für den Polymorphismus rs2453741 dar.

Tabelle 31: Darstellung der Allelverteilung des Polymorphismus rs2453741

Gruppe	A-Allel n (%)	C-Allel n (%)	Gesamt n
Kontrollen	741 (60,3)	487 (39,7)	1228
Patienten	626 (61,1)	389 (38,9)	1024
Gesamt	1367 (60,7)	885 (39,3)	2252

Die statistische Auswertung zeigte keinen Unterschied zwischen den Kontrollprobanden und den Schizophrenie-Patienten. Die beiden Allele waren auf die Gruppen etwa gleich verteilt, wobei das A-Allel im Vergleich zum C-Allel jeweils innerhalb der Gruppe häufiger auftrat ($\chi^2=0,146$; OR=0,967; CI=0,816-1,147; df=1; p=0,702).

3.7.2 Genotypverteilung

Die Genotypverteilungen (A/A, A/C, C/C) in der Kontroll- und Patientengruppe sind aus Tabelle 32 ersichtlich.

Tabelle 32: Darstellung der Genotypverteilung des Polymorphismus rs2453741

Gruppe	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/C n (%)	Genotyp C/C n (%)	Gesamt n
Kontrollen	205 (33,4)	331 (53,9)	78 (12,7)	614
Patienten	192 (37,5)	242 (47,3)	78 (15,2)	512
Gesamt	397 (35,2)	573 (50,9)	156 (13,9)	1126

Hier zeigte die Auswertung eine Tendenz zu einem Unterschied in der Genotypverteilung zwischen gesunden Kontrollen und den Patienten. Die Kontrollprobanden wiesen häufiger den heterozygoten Genotypen A/C als die erkrankten Patienten auf ($\chi^2=5,051$; df=2; p=0,080). Dies wird in Abbildung 4 graphisch dargestellt.

3 Ergebnisse

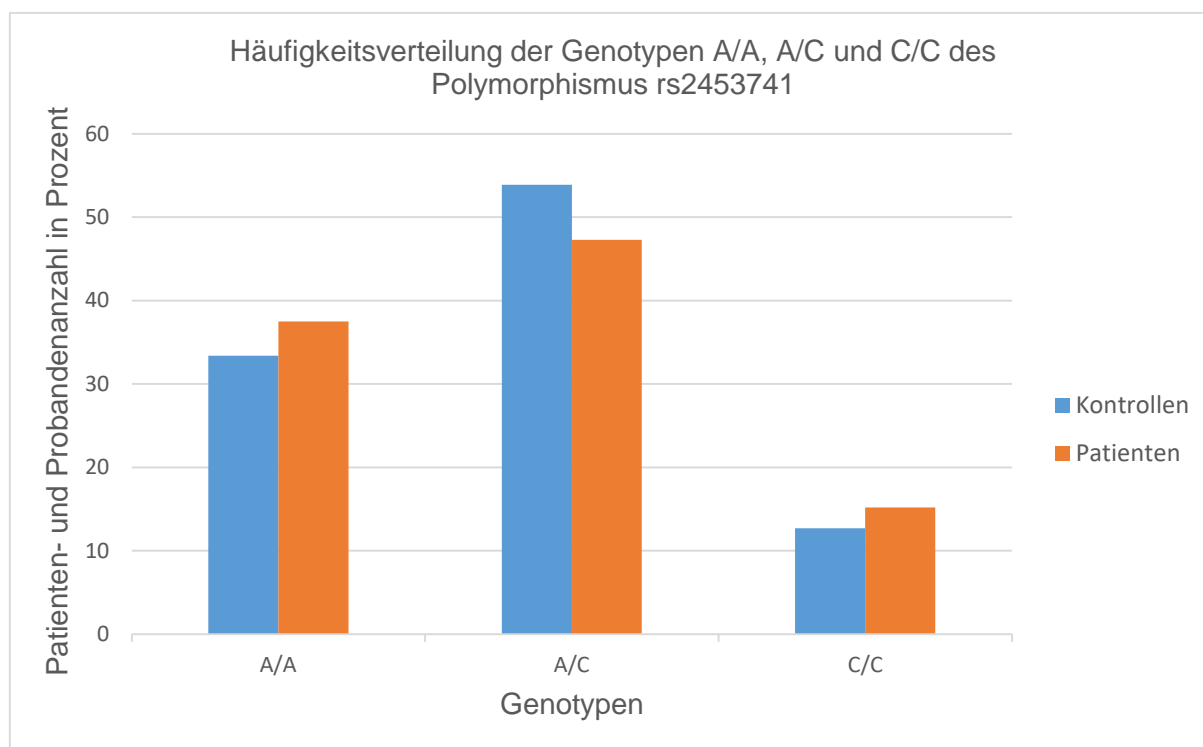


Abbildung 4: Graphische Darstellung der Genotypverteilung des Polymorphismus rs2453741

Die Genotypen A/A und A/C wurden als nächstes zusammengefasst und dem homozygoten Genotyp C/C gegenübergestellt (Tabelle 33).

Tabelle 33: Darstellung der A-Allelträger versus CC-Träger von SNP rs2453741

Gruppe	Genotyp A/A und A/C n (%)	Genotyp C/C n (%)	Gesamt n
Kontrollen	536 (87,3)	78 (12,7)	614
Patienten	434 (84,8)	78 (15,2)	512
Gesamt	970 (86,1)	156 (13,9)	1126

Dieser Vergleich wies keine signifikante Differenz zwischen den Kontrollprobanden und den Schizophrenie-Patienten auf ($\chi^2=1,498$; OR=1,235; CI=0,880-1,732; df=1; p=0,221).

Anschließend erfolgte erneut die umgekehrte Zuordnung: Die Gegenüberstellung von sämtlichen C-Allelträgern (Genotypen A/C und C/C) gegen homozygote A-Allelträger (Genotyp A/A) (Tabelle 34).

Tabelle 34: Darstellung der C-Allelträger versus AA-Träger von SNP rs2453741

Gruppe	Genotyp A/C und C/C n (%)	Genotyp A/A n (%)	Gesamt n
Kontrollen	409 (66,6)	205 (33,4)	614
Patienten	320 (62,5)	192 (37,5)	512
Gesamt	729 (64,8)	397 (35,2)	1126

3 Ergebnisse

Auch hier zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden untersuchten Gruppen ($\chi^2=2,068$; OR=0,835; CI=0,654-1,068; df=1; p=0,150).

3.8 Analyse des Polymorphismus rs1508765

3.8.1 Allelverteilung

Der Polymorphismus rs1508765 weist ein C-Allel und ein T-Allel auf. Die folgende Tabelle (35) veranschaulicht die Verteilung der Allele auf die Kontrollen und die erkrankten Patienten.

Tabelle 35: Darstellung der Allelverteilung des Polymorphismus rs1508765

Gruppe	C-Allel n (%)	T-Allel n (%)	Gesamt n
Kontrollen	542 (43,9)	694 (56,1)	1236
Patienten	471 (46,5)	541 (53,5)	1012
Gesamt	1013 (45,1)	1235 (54,9)	2248

Die Verteilung von C-Allel und T-Allel zwischen den beiden Gruppen zeigte keine signifikanten Unterschiede. Beide Allele traten in etwa gleich häufig auf ($\chi^2=1,627$; OR=0,897; CI=0,759-1,060; df=1; p=0,202).

3.8.2 Genotypverteilung

Aus dem C-Allel und dem T-Allel des SNP rs1508765 ergeben sich die drei Genotypen homozygot C/C, heterozygot C/T und homozygot T/T. Tabelle 36 zeigt die Genotypfrequenzen der drei Gruppen.

Tabelle 36: Darstellung der Genotypverteilung des Polymorphismus rs1508765

Gruppe	Genotyp C/C n (%)	Genotyp C/T n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt n
Kontrollen	116 (18,8)	310 (50,2)	192 (31,0)	618
Patienten	114 (22,5)	243 (48,0)	149 (29,5)	506
Gesamt	230 (20,5)	553 (49,2)	341 (30,3)	1124

Zwischen den Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden ($\chi^2=2,421$; df=2; p=0,298).

Die Tabelle (37) ist eine Zusammenstellung der Träger des C-Allels (Genotypen C/C und C/T) versus den homozygoten T-Allelträgern (Genotyp T/T).

Tabelle 37: Darstellung der gruppierten C-Träger versus der T-Träger von SNP rs1508765

Gruppe	Genotyp C/C und C/T n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt n
Kontrollen	426 (69,0)	192 (31,0)	618
Patienten	357 (70,5)	149 (29,5)	506
Gesamt	783 (69,7)	341 (30,3)	1124

Auch bei diesem Vergleich konnte zwischen den gesunden Kontrollprobanden und den Erkrankten kein signifikanter Unterschied gezeigt werden ($\chi^2=0,346$; $OR=0,926$; $CI=0,717-1,196$; $df=1$; $p=0,556$).

In der Tabelle (38) wurden alle T-Allelträger (Genotypen C/T und T/T) in einer Gruppe zusammengefasst und den homozygoten C-Allelträgern (Genotyp C/C) gegenübergestellt.

Tabelle 38: Darstellung der gruppierten T-Träger versus der C-Träger von SNP rs1508765

Gruppe	Genotyp C/T und T/T n (%)	Genotyp C/C n (%)	Gesamt n
Kontrollen	502 (81,2)	116 (18,8)	618
Patienten	392 (77,5)	114 (22,5)	506
Gesamt	894 (79,5)	230 (20,5)	1124

Bei dieser Gegenüberstellung konnte ebenfalls keine signifikante Differenz zwischen Kontrollen und Patienten nachgewiesen werden ($\chi^2=2,416$; $OR=0,795$; $CI=0,594-1,062$; $df=1$; $p=0,120$).

4. Diskussion

Die vorliegende Arbeit analysiert mittels einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie fünf SNPs des DRD1-Rezeptorgens und diskutiert deren möglichen Zusammenhang mit der Ätiopathogenese der Schizophrenie. Dazu wurden die Allel- und Genotypfrequenzen insgesamt 614 gesunder Kontrollprobanden und 512 an Schizophrenie erkrankter Patienten miteinander verglichen, und auf Gruppenunterschiede hin untersucht.

Von den in der vorliegenden Studie untersuchten Polymorphismen des DRD1-Gens, zeigte der Polymorphismus rs4867798 (C/T) bei dem Vergleich der Genotypen (C/C versus C/T versus T/T) und bei der Analyse der zusammengefassten C-Allelträger (C/T+C/C) versus der T-Allelträger (T/T) nominal signifikante Ergebnisse. Die Kontrollprobanden waren häufiger Träger des selteneren C-Allels (Genotyp C/C und C/T) als die Schizophrenie-Patienten.

Bei dem Polymorphismus rs2453741 (A/C) zeichnete sich beim Vergleich der Genotypen miteinander (A/A versus A/C versus C/C) eine Tendenz zu einem Zusammenhang ab. Die gesunden Kontrollen wiesen öfter den Genotypen A/C auf.

Die Analyse der restlichen drei Polymorphismen (rs5326 (A/G), rs267418 (C/G) und rs1508765 (C/T)) erbrachte keine signifikanten Unterschiede in den Allel- und Genotypfrequenzen zwischen den gesunden Kontrollen und den an Schizophrenie erkrankten Studienteilnehmern.

4.1 Diskussion der Methoden

Für die vorliegende Arbeit wurde als Studiendesign eine Fall-Kontroll-Assoziationsstudie gewählt. Dabei können genetische Varianten in Kandidatengenregionen (z.B. SNPs) von nicht verwandten Probanden hinsichtlich ihrer Allel- und Genotypenfrequenz auf Abweichungen untersucht werden. Bei der Studienplanung und Durchführung müssen verschiedene Variablen berücksichtigt werden, um die Wahrscheinlichkeit falsch positiver oder negativer Ergebnisse möglichst gering zu halten. Hervorzuheben sind die Stichprobengröße, die ethnische Herkunft, Alter und Geschlecht der Teilnehmer, sowie die Einschlusskriterien und die verwendeten Testverfahren.

Der Stichprobenumfang hat eine zentrale Bedeutung für die Aussagekraft einer Studie. Ist dieser zu gering, wird die Grundgesamtheit einer Population möglicherweise nicht exakt abgebildet. Auch eine selektierte Stichprobe, d.h. wenn eine Zufallsanordnung der

4 Diskussion

Grundgesamtheit nicht gegeben ist, führt zu Verzerrungen des Ergebnisses (Hedderich and Sachs, 2016).

Da zusätzlich meist die Effektstärke der einzelnen genetischen Marker (SNPs) sehr gering ist, muss die Studie, um ein solch geringes Risiko aufzudecken, einen sehr großen Stichprobenumfang aufweisen (Foraita et al., 2015; Zhang and Malhotra, 2013).

Bei der vorliegenden Arbeit umfasste die Stichprobe 1126 Teilnehmer, davon waren 614 gesund und 512 an Schizophrenie erkrankt. Andere Studien, welche ebenfalls positive Befunde bzgl. einer Assoziation zwischen DRD1-Polymorphismen und Schizophrenie erbrachten, beschäftigten sich mit Stichprobengrößen von 123 bis 725 Patienten und 298 bis 1075 Kontrollen (Allen et al., 2008; Lee et al., 2011; Yao et al., 2014; Zhu et al., 2011). Studien, welche keine Assoziation zwischen DRD1-Polymorphismen und der Schizophrenie fanden, wiesen kleinere Stichprobengrößen von 173 bis 407 Patienten und von 213 bis 399 Kontrollen auf (Dmitrzak-Weglarz et al., 2006; Hoogendoorn et al., 2005; Yao et al., 2014; Zhang et al., 2010; Zhu et al., 2011). Die heterogene Studienlage spricht aber dafür, dass die Stichprobengröße als zu gering einzuschätzen ist, um replizierbare Ergebnisse zu erhalten. Da sich in der bislang größten GWAS zur Schizophrenie keine genomweite Assoziation mit dem untersuchten Locus nachweisen ließ (PGC 2014), ist es denkbar, dass entweder die Effektstärke der untersuchten Variationen zu gering ist, oder aber die hier vorliegende Assoziation ein falsch positives Ergebnis darstellen könnte.

Eine weitere wichtige Variable der Assoziationsstudien ist die Ethnizität. Um die potentielle Gefahr von „*Confounding*“ durch unberücksichtigte genetische Heterogenität im Sinne der Populationsstratifikation zu umgehen, wurden ausnahmslos europäisch-stämmige Individuen in die Studie aufgenommen. Verschiedene Populationen weisen aufgrund ihrer voneinander unabhängig betriebenen Evolution unterschiedliche Krankheitshäufigkeiten auf. Diese so entstandenen Unterschiede zwischen den Ethnizitäten könnten statistisch zu falsch positiven Ergebnissen führen (Qin and Zhu, 2017).

Die Wichtigkeit der Herkunft der Studienteilnehmer wird durch ethnisch übergreifende, genomweite Studien deutlich. So konnte in einer Analyse von 53 verschiedenen Populationen und 25 SNPs gezeigt werden, dass Risikogene einer bestimmten Population nicht zwangsläufig identisch mit den Risikogenen einer anderen Population sind (Myles et al., 2008). Dies findet sich auch in einer Studie bestätigt, die sich mit einer weiteren komplexen Erkrankung, Diabetes mellitus Typ 1, beschäftigte und verschiedenen Populationen Differenzen bzgl. der krankheitsassoziierten SNPs identifizierte (Li and Keating, 2014). Auch eine Studie, welche verschiedene Polymorphismen betreffend chronisch-metabolischer Erkrankungen in ethnisch unterschiedlichen Populationen untersuchte, kam zu diesem Ergebnis. Verglichen wurden die Allelfrequenzen von 101 SNPs in 30 verschiedenen Genen

4 Diskussion

bei Lateinamerikanern und Angloamerikanern, wobei die Lateinamerikaner mehr Risikovarianten und weniger protektive Allele für chronisch-metabolische Erkrankungen aufwiesen (Mattei et al., 2009).

Einen weiteren Hinweis auf die Notwendigkeit, die ethnische Herkunft in der Studie zu berücksichtigen, ergibt sich aus dem Vergleich der Allelfrequenzen der vorliegenden Studie mit den aus öffentlich zugänglichen Datenbanken extrahierten Angaben zu verschiedenen Populationen. So lassen sich leichte Abweichungen auch bei dem Vergleich mit der ebenfalls europäisch-stämmigen Subpopulation des 1000 Genomes Project feststellen. Größere Abweichungen gibt es bei einem Vergleich von Probanden aus Ostasien (i.d.R. Han-Chinesen) und Europäern bei drei von fünf untersuchten Varianten (Tabelle 39) (1000 Genomes Project, 2019).

Um diese möglichen Unterschiede zwischen den verschiedenen Ethnizitäten zu umgehen, wurde auf die Herkunft der Studienteilnehmer besonderes Augenmerk gelegt und eine weitestgehend homogene Population aus europäisch-stämmigen Individuen in die Studie eingeschlossen, sodass falsch positive Assoziationen zwischen genetischen Varianten und der Erkrankung aufgrund ethnischer Heterogenität als gering eingeschätzt werden können. Dennoch lassen sich durchaus deutliche Unterschiede bei einem Vergleich der hier untersuchten Stichprobe und der europäischen Referenzpopulation identifizieren (bis zu etwa 5%). Es ist davon auszugehen, dass es sich dabei um echte populationsspezifische Unterschiede handelt, da sich die Genotypen der CEU-Stichprobe, die sowohl als Teil der europäischen Stichprobe des 1000 Genome Projects waren, also auch hier als Qualitätskontrolle mitbestimmt wurden, identisch waren. Dies weist unter anderem darauf hin, dass die vorliegenden Ergebnisse nur innerhalb eines begrenzten geographischen bzw. ethnischen Raums interpretiert werden können. Tabelle 39 macht die Differenzen zwischen den ethnien-spezifischen Allelfrequenzen deutlich.

Tabelle 39: Ethnien-spezifische Allelfrequenzen der untersuchten SNPs

	rs4867798		rs5326		rs267418		rs2453741		rs1508765	
	C	T	A	G	C	G	C	A	C	T
MUC	28,7	71,3	14,3	85,7	45,2	54,8	39,9	60,7	45,1	54,9
Europäisch	32,4	67,6	14,4	85,6	40,6	59,4	42,8	57,2	40,2	59,8
Ostasiatisch	47,1	52,9	26,8	73,2	45,7	54,3	15,5	84,5	46,1	53,9
Südasiatisch	30,0	70,0	16,0	84,0	31,0	69,0	43,0	57,0	32,0	68,0
Amerikanisch	27,0	73,0	10,0	90,0	43,0	57,0	29,0	71,0	48,0	52,0
Afrikanisch	28,9	71,1	15,6	84,4	13,0	87,0	5,5	94,5	48,0	52,0

MUC - vorliegende Studie, Allelfrequenzen in % (1000 Genomes Project, 2019)

Weitere Variablen, welche das Studienergebnis beeinflussen können, sind Unterschiede in den beiden Stichproben bzgl. Durchschnittsalter der Schizophrenie-Patienten und der

4 Diskussion

Kontrollen bei Ausbruch der Erkrankung sowie die Geschlechterverteilung. In die vorliegende Studie wurden Patienten mit einem Alter von 18 bis 70 Jahren, mit einem Median von 37,82 Jahren eingeschlossen. Das Alter der gesunden Kontrollprobanden lag zwischen 20 und 72 Jahren, im Mittel bei 45 Jahren. Somit waren die gesunden Teilnehmer älter als die Schizophrenie-Patienten, mit dem Vorteil, dass bei den gesunden Probanden das Risiko einer möglichen späteren Schizophrenieerkrankung als sehr gering einzustufen war.

Die Geschlechterverteilung zwischen gesunden und erkrankten Teilnehmern zeigte ebenfalls ein Ungleichgewicht. Die Gruppe der gesunden Probanden bestand aus 279 (45,4%) Männern und 335 (54,6%) Frauen. Im Gegensatz dazu setzte sich die Gruppe der Schizophrenie-Patienten aus 333 (65,0%) Männern und 179 (35,0%) Frauen zusammen. Somit nahmen mehr erkrankte männliche Patienten als gesunde Männer an der Studie teil. Auch innerhalb der Gruppe der Schizophrenie-Patienten entspricht die Verteilung nicht der zu erwartenden Norm. Männer zu Frauen haben ein relatives Risiko von 1.54 (1.37-1.72) an Schizophrenie zu erkranken (Aleman et al., 2003; Castillejos et al., 2018; McGrath et al., 2004). Demnach nahmen etwas mehr erkrankte Männer als erkrankte Frauen an der Studie teil.

Aufgrund der Unterschiede in Alter und Geschlecht wurden diese beiden als Covariablen in die Berechnungen miteingeschlossen. Zusätzlich wäre es sinnvoll, die Gruppen geschlechtsabhängig getrennt zu betrachten. Davon wurde jedoch wegen des geringen Stichprobenumfangs abgesehen.

Auch die verwendeten Testverfahren für die Diagnosestellung, sowie die Ein- und Ausschlusskriterien können Einfluss auf die Ergebnisse einer Assoziationsstudie nehmen. In der vorliegenden Studie erfolgte die Diagnosestellung der Schizophrenie nach den Kriterien des DSM-IV, dem zur Zeitpunkt der Datenerhebung aktuellen Klassifikationssystem unter Verwendung des SKID.

Das DSM-IV zeigt eine hohe Reliabilität für die Diagnosestellung, indem es durch genau definierte Kriterien sicherstellt, dass für einen Patienten, unabhängig vom Untersucher weitgehend eine identische Diagnose gestellt wird. Zudem verhilft die Vorgabe von genauen, konkreten Kriterien, die für die Diagnose einer Störung erfüllt sein müssen, zu einer einheitlichen, vergleichbaren Diagnosestellung. Dazu trägt auch die rein deskriptive, neutrale Fachsprache bei, die klare Richtlinien vorgibt. Dies führt zu verlässlicheren Diagnosen. Die Validität des DSM-IV ist dagegen eher gering, da die im DSM-IV gelisteten Syndrome nur einen Teil der klinischen Bandbreite abdecken (Flaum, 1991; Fusar-Poli et al., 2016). Somit erlaubt die Verwendung des DSM-IV in der hier vorliegenden Studie eine Vergleichbarkeit mit weiteren Studien, da auch in anderen verschiedenen Assoziationsstudien (z.B. Cichon et al., 1994; Dmitrzak-Weglarz et al., 2006; Lee et al., 2011; Zhang et al., 2010; Zhu et al., 2011), die Diagnosestellung damit oder mit dem DSM-III erfolgte. Entsprechend kann eine

4 Diskussion

unterschiedliche Zusammensetzung der Stichproben durch variierende Diagnostikmethoden nicht als Erklärungsmodell für abweichende Ergebnisse zwischen den einzelnen Studien dienen.

Die Verwendung von SKID I (Psychopathologie) und II (Persönlichkeitsstörungen) erlaubt die Erfassung von Längs- und Querschnittsdiagnosen. Aufgrund von Sprungregeln kann die Durchführung des Interviews deutlich abgekürzt werden. Das dazu vorliegende Manual zum Gebrauch ist verständlich, detailliert geschrieben und verweist auf häufige Fehler bei der Durchführung des Interviews. Nachteilig ist jedoch ein aufwändiges Training des Interviewers. Zudem müssen die Interviewer über Erfahrung mit dem Krankheitsbild der Schizophrenie verfügen und die notwendigen Kenntnisse über das DSM-IV besitzen (Münster, 1999).

Zusätzlich wurde bei den Patienten die PANSS erhoben, die 1987 von Kay et al. als Methode zur Verlaufsbeobachtung von Positiv- und Negativsymptomatik aus den damals existierenden Diagnosesystemen entwickelt wurde. Für eine leichtere Einschätzung des Schweregrades von 0 bis 7 des vorliegenden Symptoms liegt dem Untersucher eine ausführliche Definition des jeweiligen Grades vor (Kay et al., 1987). Die einfache, praktische Handhabung mit zugleich hoher Validität und Reliabilität dieses Testinstrumentes wird hoch bewertet (Dragioti et al., 2017; Edgar et al., 2014).

Die Durchführung von SKID und PANSS hintereinander diene zur Absicherung der Diagnose, eine Kombination, welche schon 1991 empfohlen wurde (Kay et al., 1991).

Um zusätzliche psychische oder neurologische Erkrankungen bei den gesunden Kontrollprobanden und deren Familienangehörigen auszuschließen, wurden diese mit Hilfe von LEBI und FHAM untersucht. Dadurch wurde sichergestellt, dass die Probanden der Kontrollgruppe nicht an psychischen oder neurologischen Erkrankungen litten, und das Ergebnis verfälschen konnten. Als nachteilig ist der erhebliche Zeitaufwand zu sehen.

Mittels standardisierter Interviews in Form von Anamnesebögen, SKID, PANSS, LEBI und FHAM wurden so gut charakterisierte Vergleichsgruppen gebildet, bei denen eine gesicherte Diagnose der Schizophrenie einerseits und die Abwesenheit psychischer Probleme inkl. familiärer Belastung vorausgesetzt werden kann.

Einen Einfluss auf die Datenqualität hat zudem die Qualität des biologischen Materials (Bammann and Wawro, 2006). In der vorliegenden Studie besteht dieses aus genomischer DNA, die aus Vollblut der Probanden extrahiert wurde. Die Blutentnahme wurde nach den vorgeschriebenen Hygiene- und Qualitätsmaßstäben des Robert-Koch-Institutes durchgeführt, sodass eine gleichbleibend hohe Qualität der Proben sichergestellt werden konnte (Bundesgesundheitsblatt, 2016, 2011).

Strenge Qualitätskriterien bei der Genotypisierung (Blind- und Kontrollproben, CEU-Proben, Probanden-Callrate bei 0,8, SNP-Callrate bei 0,9, Hardy-Weinberg-Gleichgewicht mit $p < 10^{-5}$)

4 Diskussion

sicherten die Qualität der Genotypen, welche in die statistische Auswertung aufgenommen wurden. Neben der Qualität der DNA ist besonders der menschliche Faktor ein Risiko für Fehler bei der Genotypisierung, sodass besonders die exakten und standardisierten Ablaufschritte in Form von SOPs (standard operating procedures) dazu beitragen, diese Fehlerquelle auf ein Minimum zu reduzieren. Auch die Verwendung von Laborautomaten (z.B. der Pipettierroboter Janus Automated Workstation) trug zu Vereinheitlichung des Laborprozesses bei. Somit kann von einer hohen Reliabilität und Validität der verwendeten Daten dieser Studie ausgegangen werden.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

Das in dieser Studie näher analysierte DRD1-Gen steht möglicherweise in enger Beziehung zur Schizophrenie. Sowohl seine Lage auf Chromosom 5, für die ein Kopplungssignal beschrieben wurde, als auch seine Beteiligung an der dopaminergen Neurotransmission legen diese Vermutung nahe.

In genomweiten Kopplungsstudien konnten insbesondere Chromosom 5q, Chromosom 2q und Chromosom 8p als Kandidatengene für Schizophrenie detektiert werden (Giegling et al., 2017; Ng et al., 2009). Des Weiteren kodiert das DRD1-Gen für den DRD-1-Rezeptor, der eine bedeutende Rolle in der dopaminergen Neurotransmission spielt. Die Dopaminhypothese geht von einem Ungleichgewicht des Neurotransmitters Dopamin aus. Zum einen ist dieses durch die therapeutische Wirkung der D2-Antagonisten im mesolimbischen System und subcortikal bei florider Psychose belegt (Edwards et al., 2016), zum anderen scheint der Dopamin-D1-Rezeptor, welcher in auffällig hoher Dichte im präfrontalen Cortex auftritt, mit Negativsymptomatik und kognitiven Defiziten zu korrelieren (Allen et al., 2008; Dandash et al., 2017). Diese beiden Beobachtungen führten zu der Einschätzung des DRD1-Gens als positionellem und funktionellem Kandidatengen und zu nachfolgenden Untersuchungen verschiedener Polymorphismen des DRD1-Gens, mit dem Ziel, kausale oder modulierende Varianten zu bestimmen, um damit einen weiteren Teil der Pathophysiologie der Schizophrenie zu erklären und möglicherweise neue Ansatzpunkte für Therapien, insbesondere der Negativsymptomatik zu erhalten (Lee et al., 2011).

Untersucht wurden die SNPs rs4867798 (C/T), rs5326 (A/G), rs267418 (C/G), rs2453741 (A/C) und rs1508765 (C/T). Bei einem Vergleich der Genotyp- und Allelfrequenzen zwischen den Patienten und Kontrollen ergaben sich für rs4867798 und rs2453741 Zusammenhänge zum Erkrankungsstatus, während die restlichen 3 Varianten nicht assoziiert waren.

Funktionelle Relevanz der untersuchten SNPs:

Aufgrund der Lage der Polymorphismen in Bezug zum Gen, sowie der LD-Blockstruktur besteht die Möglichkeit, auf ihre potentielle Funktion zu schließen.

Der in dieser Studie untersuchte Polymorphismus rs5326 liegt auf Chromosomenposition 175.443.193 und befindet sich in der 5'UTR-Region, welche sich vom Transkriptionsstartpunkt bis zum Startcodon der Translation erstreckt. Dieser Bereich wird nicht translatiert, sondern lediglich transkribiert und es werden dort regulatorische Sequenzen vermutet.

Dies können Bindungsstellen für Proteine sein, welche die Stabilität der mRNA oder deren Translation beeinflussen können. Möglich wären auch Sequenzen, welche die Initiation der Translation einleiten oder regulatorische Elemente, welche unabhängig von Proteinen arbeiten. Diese Region könnte demnach Auswirkungen auf die Expression des DRD-1-Rezeptors haben (Re et al., 2016).

Mit dem Polymorphismus rs12518222 (C/T) liegt der SNP rs5326 in einem Kopplungsungleichgewicht von $r^2=0,98$ bei Europäern. Ebenfalls werden die Polymorphismen rs60470315 (G/A; $r^2=0,90$) und rs35916350 (C/G; $r^2=0,82$) überzufällig häufig mit dem SNP rs5326 vererbt. Somit wäre eine mögliche Interaktion der Polymorphismen untereinander, welche Einfluss auf die DRD-1-Rezeptorexpression hätte, vorstellbar. Die folgende Abbildung (5) veranschaulicht das Kopplungsungleichgewicht des SNP rs5326 (Arnold M. et al., 2014).

4 Diskussion

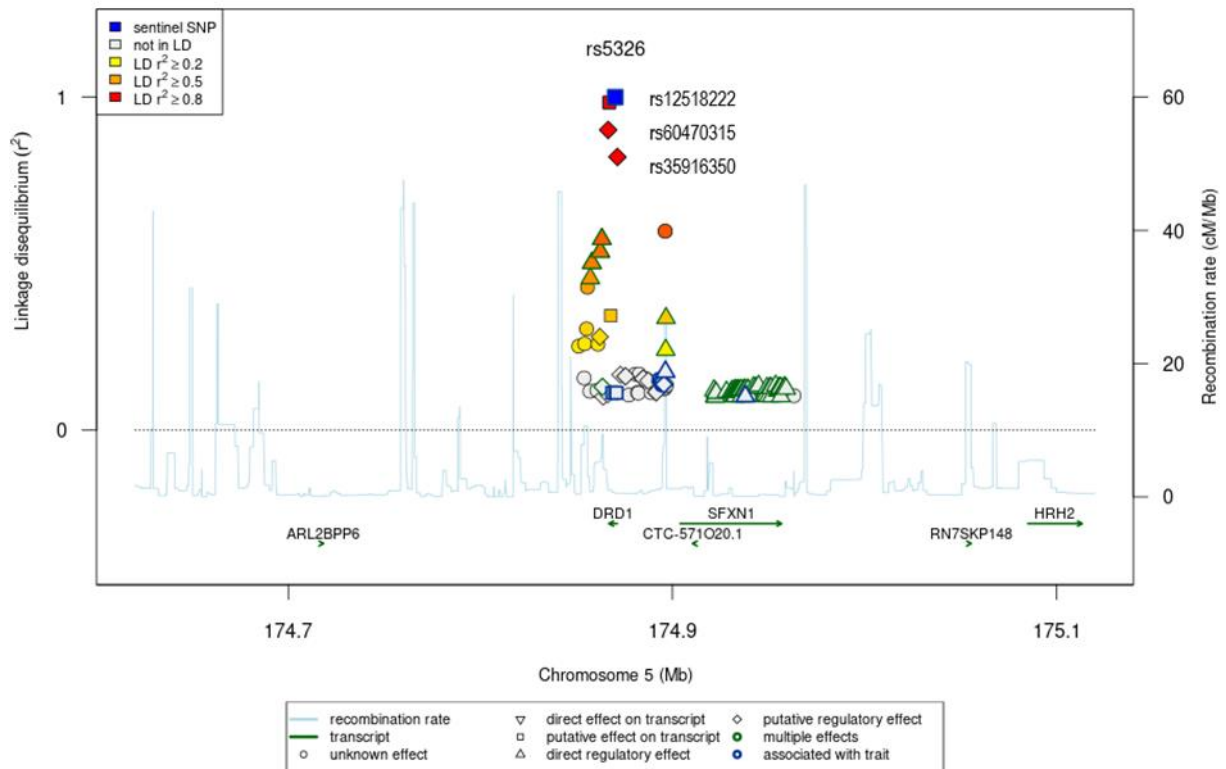


Abbildung 5: LD-Plot für rs5326

Der SNP rs4867798 liegt auf Chromosomenposition 175.440.896. Dies bedeutet, er befindet sich in der 3'UTR-Region. Wie auch die 5'UTR-Region, wird dieser Bereich in mRNA transkribiert, jedoch nicht weiter translatiert, und codiert somit nicht für ein eigentliches Protein. Nur der Bereich zwischen dem Translationsstartcodon und dem Translationsstopcodon wird von mRNA in eine Aminosäuresequenz umgeschrieben. Der 3'UTR-Bereich beginnt hinter dem Translationsstopcodon und reicht bis zum Transkriptionsendpunkt. Im Gegensatz zur 5'UTR-Region, welche einige hundert Nucleotide lang sein kann, kann die 3'UTR-Region über tausend Nucleotide beinhalten (Jia et al., 2013).

Den 3'-untranslatierten mRNA-Transkripten werden verschiedene wichtige Aufgaben zugeordnet, so werden dort regulatorische Sequenzen vermutet. Es wird angenommen, dass sich dort Bindungsstellen für Proteine befinden, welche die Stabilität oder den Transport der mRNA beeinflussen. Auch kann von dort wahrscheinlich auf die Initiation, die Elongation und die Termination der Translation eingewirkt werden, d.h. Veränderungen in diesem Bereich könnten Einfluss auf die Menge und die Art von entstehenden Proteinen haben (Jia et al., 2013). Jedoch sind die eigentlichen Interaktionen der verschiedenen regulatorischen Mechanismen so komplex und umfangreich, dass nur wenige nachvollziehbar und verstanden sind. Somit stellt dies weiterhin einen Gegenstand der aktuellen Forschung dar (Re et al., 2016). Für den Polymorphismus rs4867798 könnte dies bedeuten, dass er einen Einfluss auf

4 Diskussion

die Expressionprozesse des DRD-1-Rezeptors hat. Diese könnten z.B. direkt ablaufen, d.h. eine Veränderung des SNPs hat direkten Einfluss auf die Initiation, Elongation oder Termination des folgenden zu translatierenden Bereiches des DRD-1-Rezeptorgens. Dies konnte bereits für den ebenfalls in der 3'UTR-Region liegenden Polymorphismus rs686 des DRD1-Gens nachgewiesen werden. Träger des A-Allels wiesen eine höhere Expressionsmenge des DRD-1-Rezeptors auf als G-Allelträger (Huang et al., 2008). Es ist jedoch davon auszugehen, dass der Einfluss dieser beiden Varianten mit einem Kopplungsungleichgewicht von $r^2=0,29$ in Europäern im Wesentlichen unabhängig voneinander ist.

Aber auch eine indirekte Wirkung des Polymorphismus wäre denkbar, zum Beispiel in Form einer Interaktion des DRD1-Gens mit anderen mit der dopaminergen Neurotransmission in Zusammenhang stehenden Genen, welche z.B. den Stoffwechsel, die Synthese oder den Transport von Dopamin betreffen (Yao et al., 2014).

Da der Polymorphismus rs4867798 mit anderen Polymorphismen in einem Kopplungsungleichgewicht von $r^2>0,5$ bei Europäern liegt, ist es wahrscheinlicher, dass eine mögliche funktionelle Konsequenz nicht unabhängig von diesen auftritt (Arnold M. et al., 2014). Das Kopplungsungleichgewicht des SNP rs4867798 zeigt die folgende Abbildung (6) (Arnold M. et al., 2014).

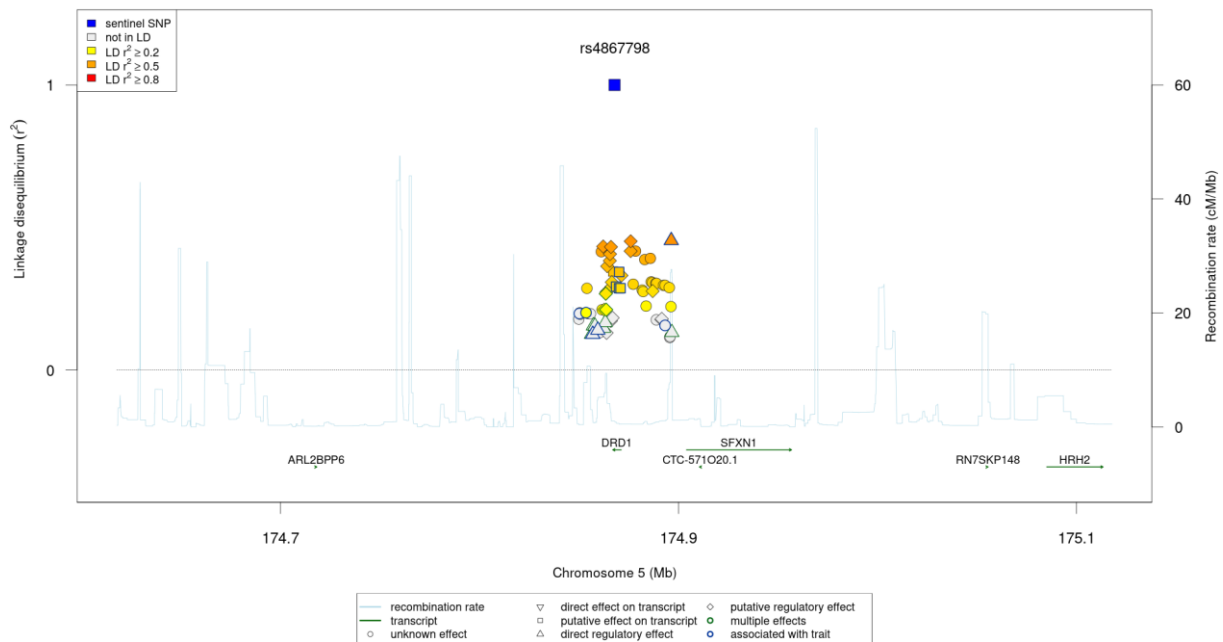


Abbildung 6: LD-Plot für rs4867798

Die Polymorphismen rs267418 (Chromosomenposition 175.453.642), rs2453741 (Chromosomenposition 175.464.618) und rs1508765 (Chromosomenposition 175.467.138)

4 Diskussion

liegen in der Intergenregion und somit in der potentiellen Promoterregion für das DRD1-Gen. Auch von diesem Bereich wird vermutet, dass er auf die Genexpression einwirkt.

Bei Betrachtung des Kopplungsungleichgewichts bei Europäern wird deutlich, dass der Polymorphismus rs267418 mit vielen weiteren SNPs gekoppelt ist, beginnend mit dem SNP rs267405 mit $r^2=0,98$ (Arnold M. et al., 2014). Folgende weitere Polymorphismen sind bei Europäern mit rs267418 und einem LD von $r^2 \geq 0,8$ gekoppelt: rs1508761, rs2662179, rs2457089, rs267407, rs267409, rs267412, rs267410, rs1355077 und rs2644645. Hervorzuheben ist der Polymorphismus rs267412 (A/G) mit $r^2=0,97$. Möglicherweise hat dieser Polymorphismus Einfluss auf die Aktivität der Promoterregion und somit auf die Expression des DRD-1-Rezeptors (Mottagui-Tabar et al., 2005). Dies würde die Wichtigkeit der potentiellen Promoterregion, in welcher die drei untersuchten Polymorphismen (rs267418, rs2453741 und rs1508765) liegen, unterstreichen. Nachstehende Abbildung (7) zeigt das Kopplungsungleichgewicht für rs267418.

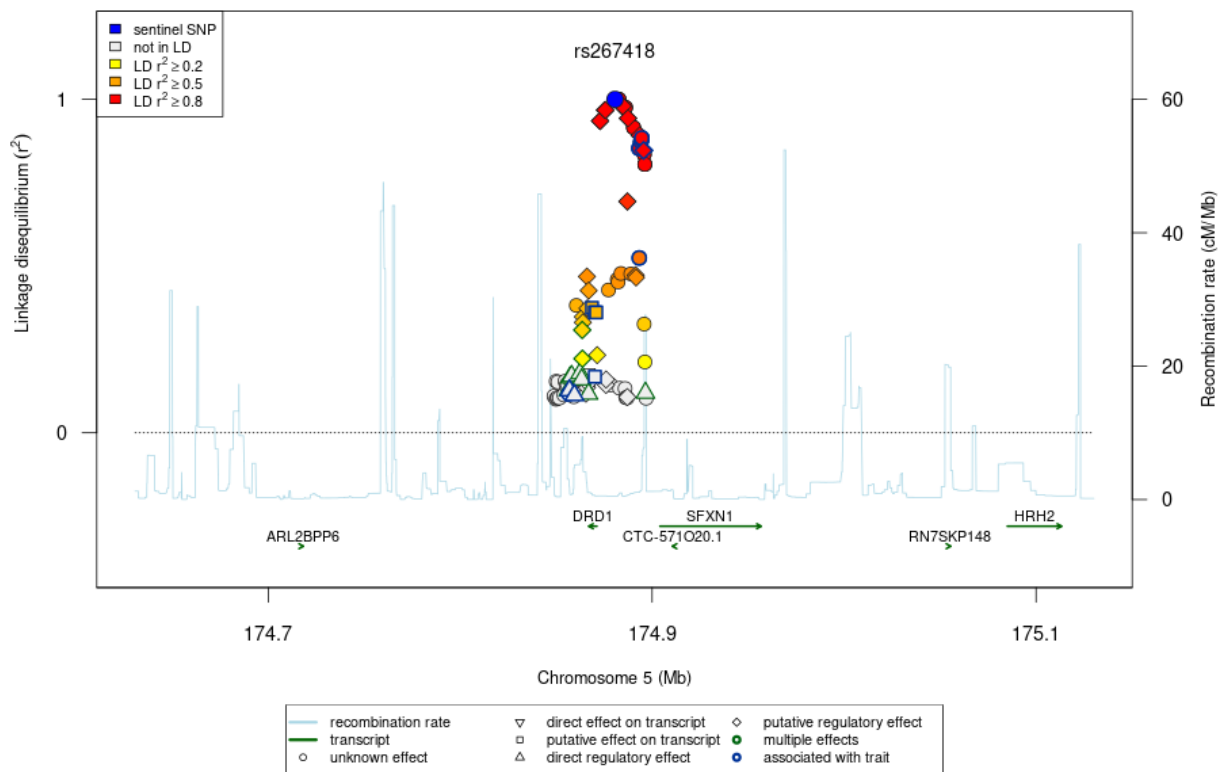


Abbildung 7: LD-Plot für rs267418

Ähnliches gilt für den Polymorphismus rs1508765. Auch dieser ist mit einer Vielfalt anderer SNPs bei Europäern mit $r^2 \geq 0,8$ gekoppelt. Beginnend mit einem Kopplungsungleichgewicht von $r^2=0,97$ ist dies der Polymorphismus rs931939, gefolgt von den SNPs rs2662179, rs1355077, rs267409, rs267410, rs267400, rs267407, rs2662180, rs2644645, rs267412 und

4 Diskussion

rs267418 (Arnold M. et al., 2014). Besonders hervorzuheben ist die Kopplung mit rs267418 mit $r^2=0,87$. Bei beiden Polymorphismen (rs1508765 und rs267418) konnten keine Zusammenhänge mit Schizophrenie in dieser Studie gefunden werden, und auch die vorhandene Studienlage entspricht diesem negativen Ergebnis (Cui and Jiang, 2012; Zhang et al., 2010).

Ebenso wie der Polymorphismus rs267418 ist auch der SNP rs1508765 mit rs267412 gekoppelt ($r^2=0,84$). Von diesem wiederum wird ein möglicher Einfluss auf die Aktivität der Promoterregion und auf die Expression des DRD-1-Rezeptors diskutiert (Mottagui-Tabar et al., 2005). Das Kopplungsungleichgewicht für den Polymorphismus rs1508765 veranschaulicht Abbildung 8.

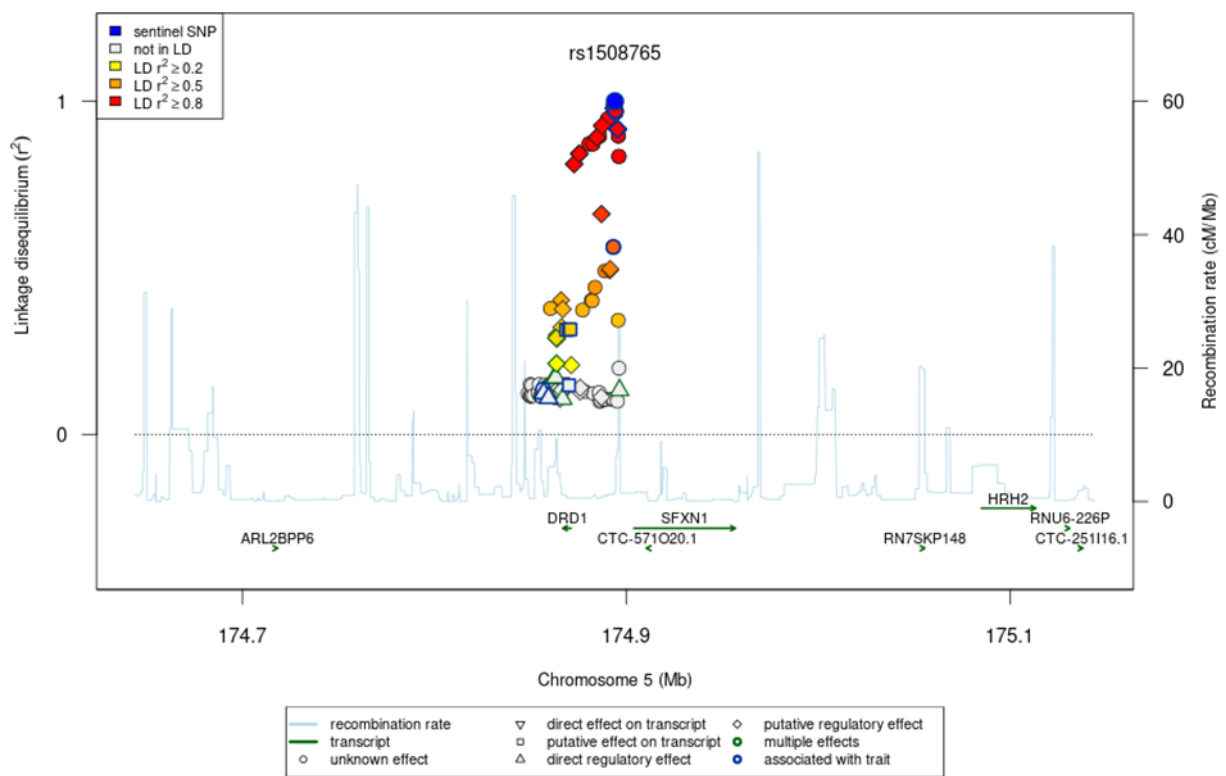


Abbildung 8: LD-Plot für rs1508765

Auch der letzte Polymorphismus rs2453741 ist mit einer Reihe von anderen Polymorphismen gekoppelt. Diese sind bei Europäern und einem Kopplungsungleichgewicht mit $r^2 \geq 0,8$ folgende: rs2471020 ($r^2=0,99$), rs2453740, rs1496133, rs267421 und rs2457090 (Arnold M. et al., 2014).

In der vorliegenden Arbeit zeigte der Polymorphismus rs2453741 eine Tendenz bzgl. des Genotypenvergleiches. Gesunde Probanden wiesen häufiger den Genotyp A/C auf. In diesem Zusammenhang erscheint die Kopplung mit dem Polymorphismus rs11749676 (A/G) mit

4 Diskussion

$r^2=0,68$ des DRD1-Gens interessant. Bei diesem Polymorphismus (rs11749676) konnten Hoenicka et al. bei männlichen Studienteilnehmern einen signifikanten Zusammenhang mit Schizophrenie nachweisen (Hoenicka et al., 2010). Auch Han et al. konnten diese Assoziation bestätigen, wobei G-Allelträger ein erhöhtes Erkrankungsrisiko hatten (Han et al., 2017). Somit könnte die gemeinsame Vererbung von rs2453741 und rs11749676 möglicherweise Einfluss auf das Risiko an Schizophrenie zu erkranken nehmen.

Zudem ist der Polymorphismus rs2453741 mit den Polymorphismen rs4532 (T/C, $r^2= 0,71$) und rs686 (A/G, $r^2=0,68$) gekoppelt. Diese beiden SNPs haben in sich widersprüchliche Ergebnisse bzgl. einer Assoziation mit Schizophrenie, scheinen jedoch wichtige Rollen in der DRD1-Rezeptorexpression einzunehmen (Allen et al., 2008; Huang et al., 2008; Zhu et al., 2011).

Nachstehende Abbildung (9) zeigt das Kopplungsungleichgewicht von rs2453741.

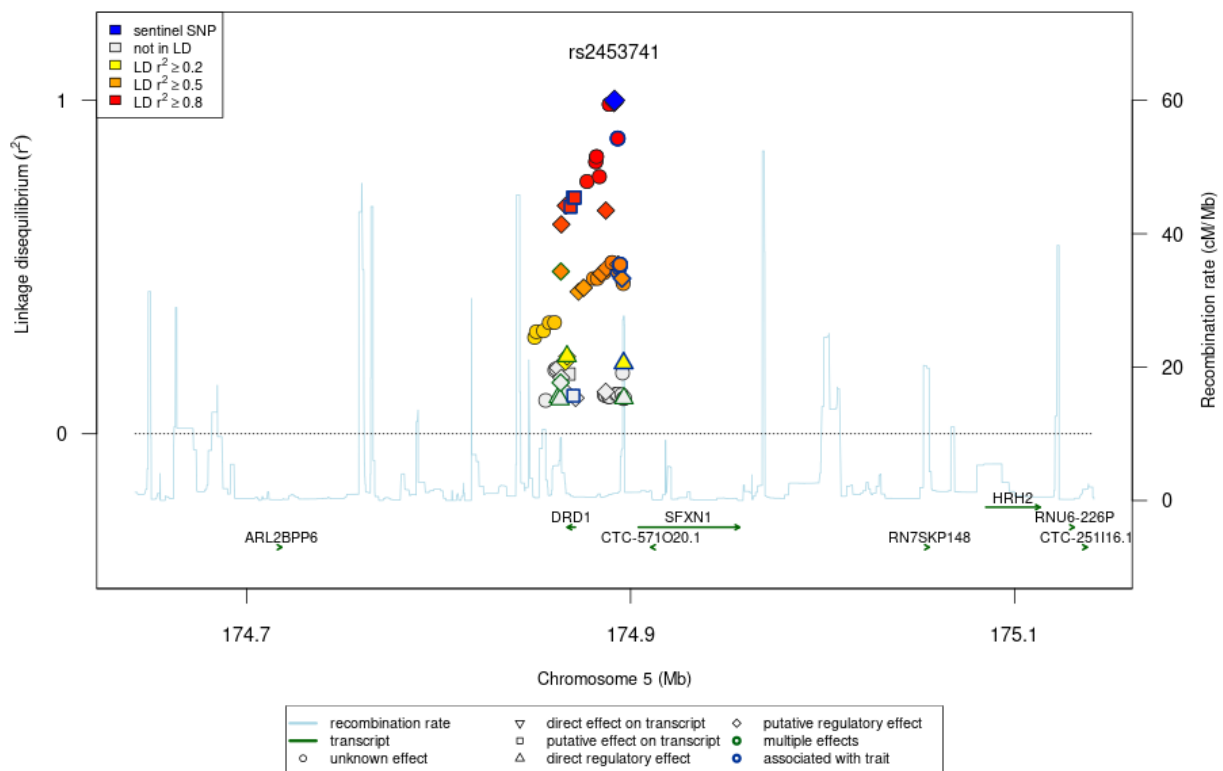


Abbildung 9: LD-Plot für rs2453741

Assoziationen von DRD1-SNPs mit Schizophrenie

Bereits publizierte Untersuchungen zu einem Zusammenhang zwischen Varianten des DRD1-Gens und Schizophrenie zeigten bislang heterogene Ergebnisse.

4 Diskussion

Die Studien von Huo et al., Yang et al., Yao et al., und Zhang et al. konnten keinen Zusammenhang mit Schizophrenie und dem DRD1-Gen nachweisen (Huo et al., 2015; Yang et al., 2016; Yao et al., 2014; Zhang et al., 2010). Dem gegenüber stehen die Untersuchungen von Hoenicka et al., Zhu et al., Pan et al. und Lai et al., welche bei einigen Polymorphismen des DRD1-Gens Assoziationen mit Schizophrenie herstellen konnten (Hoenicka et al., 2010; Zhu et al., 2011; Pan et al., 2014; Lai et al., 2010) (siehe Tabelle 41).

Bei dem Polymorphismus rs5326 konnte in der vorliegenden Arbeit keine Assoziation mit Schizophrenie nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis deckt sich mit mehreren anderen Assoziationsstudien, welche Han-Chinesen untersuchten (Yang et al., 2016; Yao et al., 2014; Zhang et al., 2010; Zhu et al., 2011).

Somit konnte, unabhängig von der unterschiedlichen Allel- und Genotypverteilung bei den Ethnizitäten (siehe Tabelle 39), kein Zusammenhang nachgewiesen werden.

Pan et al., welche für den Genotyp G/A von rs5326 ein erhöhtes Schizophrenierisiko in einer Metaanalyse aufzeigen konnten, empfahlen weiterführende Forschung, um die genaue Rolle von rs5326 zu verstehen. Sie vermuteten einen vermeintlich hemmenden Einfluss auf die DRD-1-Rezeptor Translation, jedoch betonten sie, dass der Einfluss anderer Gene oder Polymorphismen und die genaue Regulation von Transkription und Translation noch unbekannt seien. Zudem seien mögliche Interaktionen zwischen Umweltfaktoren und Genetik nicht berücksichtigt worden (Pan et al., 2014).

Eine Studie, welche mögliche Zusammenhänge zwischen den Polymorphismen rs5326, rs4532 und rs265975 und Spätdyskinesien, hervorgerufen durch antipsychotische Medikation bei Schizophrenie-Patienten, analysierte, führten Lai und Kollegen durch (Lai et al., 2010). Sie vermuteten, dass Spätdyskinesien die Konsequenz eines Ungleichgewichtes zwischen DRD-1- und DRD-2-Rezeptoren sind. Ihre Studie umfasste 382 Schizophrenie-Patienten, davon 220 mit und 162 ohne Spätdyskinesien. Der G/G-Genotyp von rs4532 und der Haplotyp CGC von rs5326-rs4532-rs265975 zeigten eine Assoziation mit den Spätdyskinesien (Lai et al., 2010). Möglicherweise ist dies ein Beispiel für Wechselwirkungen von verschiedenen Polymorphismen des DRD1-Gens untereinander mit Folgen auf die antipsychotische Medikation und das Rezeptorengleichgewicht.

Bei dem Polymorphismus rs4867798 findet sich in dieser Arbeit, durchgeführt an europäischen Probanden, eine nominal signifikante Assoziation mit Schizophrenie. Im Vergleich dazu konnte bei der Studie von Zhu et al. keine Assoziation des Polymorphismus gezeigt werden (Zhu et al., 2011). Diese Fall-Kontrollstudie befasste sich mit der Han-Chinesischen Population und nutzte als Diagnoseinstrument das DSM-IV. An der Untersuchung beteiligten sich 385 an Schizophrenie Erkrankte und 350 gesunde Kontrollprobanden. Das widersprüchliche Ergebnis

4 Diskussion

zur vorliegenden Arbeit könnte durch die verschiedenen Ethnizitäten, und damit einer anderen zu Grunde liegenden Allel- und Genotypverteilung (Tabelle 40) begründet sein.

Tabelle 40: Allel- und Genotypfrequenzen der Kontrollgruppe im Vergleich mit Stichproben des Hapmap-Projektes von SNP rs4867798

Population	n	Allelfrequenz (in %)		Genotyp (in %)		
		C	T	C/C	C/T	T/T
Vorliegende Studie	583	30,2	69,8	8,4	43,6	48
HapMap-EUR (Europäer)	503	32	68	12	41	47
HapMap-CHB+CHS (Han-Chinesen)	208	44,8	55,2	19,7	49,5	30,8

Auch eine Studie bzgl. einer Assoziation von Polymorphismen des DRD1-Gens und einer Monotherapie mit Risperidon bei Schizophrenie- Patienten konnte keinen Zusammenhang herstellen (Huo et al., 2015). Insgesamt nahmen 185 Patienten, eingeteilt in zwei unabhängige Stichproben von an Schizophrenie erkrankten Han-Chinesen, an der Studie teil. Untersucht wurden die SNPs rs4867798, rs5326, rs4532 und rs686, und die klinische Symptomatik wurde mittels PANSS über einen Zeitraum von vier Wochen dokumentiert. Eine Verbesserung der in der PANSS abgefragten Symptomatik wurde als positive Therapieantwort auf Risperidon gewertet. Dieses negative Assoziationsergebnis der Studie bzgl. rs4867798 würde sich mit dem oben genannten Ergebnis von Zhu et al. decken, da dieses ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen dem Polymorphismus und einer Schizophrenie nachweisen konnte. Ob dies aber auch für europäisch-stämmige Probanden zutrifft, ist aufgrund der unterschiedlichen Ethnizitäten und der hier vorliegenden Ergebnisse unsicher.

Bei dem am nächsten am 5'UTR-Bereich befindlichen SNP, rs267418, konnte in dieser Studie keine signifikante Assoziation nachgewiesen werden. Auch die Forschergruppen um Zhang et al. sowie Cui und Jiang konnten keine Differenzen zwischen Schizophrenie-Patienten und gesunden Studienteilnehmern finden (Cui and Jiang, 2012; Zhang et al., 2010).

Der Polymorphismus rs2453741 zeigte in der vorliegenden Arbeit eine Tendenz bzgl. des Genotypenvergleiches ($\chi^2=5,051$; $df=2$; $p=0,080$). Gesunde Probanden wiesen häufiger den Genotyp A/C auf. In der Literatur findet sich bislang keine Studie, in der der SNP rs2453741 im Zusammenhang mit Schizophrenie untersucht worden ist. Im Rahmen genomweiter Studien wurde bislang weder SNP selbst noch die DRD1-Region als signifikant assoziiert

4 Diskussion

beschrieben (Ripke et al. 2014). Dies schließt eine **nominale**-Assoziation jedoch nicht aus und sollte zukünftig geprüft werden.

Ähnlich zeigt sich die Datenlage bei dem Polymorphismus rs1508765. In dieser Studie konnte keine Differenz zwischen Gesunden und Erkrankten festgestellt werden.

Somit besitzen besonders die beiden letztgenannten Polymorphismen (rs2453741 und rs1508765) explorativen Charakter.

Einen Überblick über die genannten Studien, welche eine Assoziation der in dieser Studie analysierten Polymorphismen des DRD1-Gens mit Schizophrenie untersuchten, gibt nachfolgende Tabelle (41).

Tabelle 41: Assoziationsstudien von DRD1-SNPs mit Schizophrenie

Referenz	Studiendesign, Diagnosemittel	Stichprobe	Untersuchte DRD1-Polymorphismen
Yao et al., 2014	Assoziationsstudie, DSM-IV	Han-Chinesen: 173 SCZ/213 Kontrollen	rs5326 , rs267410, rs10078866, rs10063995, rs10078714, rs146439732, rs35916350, rs201089398, rs265981, rs193082222, rs4532
Huo et al., 2015	Kohortenstudie, PANSS	Han-Chinesen: 185 SCZ, eingeteilt in zwei unabhängige Stichproben	rs4867798 , rs5326 , rs4532, rs686 Ansprechen auf Risperidon
Yang et al., 2016	Assoziationsstudie, DSM-IV	Han-Chinesen: 893 SCZ/611 Kontrollen	rs5326 , rs179991
Zhang et al., 2010	Assoziationsstudie	Han-Chinesen: 373 SCZ/379 Kontrollen	rs5326 , rs267418 , rs4532, rs2168631, rs6882300,
Hoenicka et al., 2010	Assoziationsstudie (nach Geschlechtern aufgeteilt), DSM-IV und SKID I	Spanier: männlich: 226 SCZ/171 Kontrollen, weiblich: 111 SCZ/193 Kontrollen	rs4867798 , rs251937, rs12518222, rs11746641 männl. +, rs11749676 männl. +, Assoziation mit SCZ und deren Zusammenhang mit COMT Val158Met

Tabelle 41 Fortsetzung: Assoziationsstudien von DRD1-SNPs mit Schizophrenie

Referenz	Studiendesign, Diagnosemittel	Stichprobe	Untersuchte DRD1- Polymorphismen
Zhu et al., 2011	Assoziationsstudie, DSM-IV	Han-Chinesen: 385 SCZ/350 Kontrollen	rs4867798 , rs5326 , rs1799914, rs4532 rs265981, rs10078714, rs10078866, rs686 +, rs10063995 +
Pan et al., 2014	Metaanalyse von 10 Assoziationsstudien, DSM-III bzw. DSM- IV	Für rs4532: 1941 SCZ/2480 Kontrollen; Für rs5326: 1285 SCZ/1195 Kontrollen aus China, Japan, Frankreich, Polen, Deutschland	rs5326+ , rs4532
Lai et al., 2010	Kohortenstudie, DSM-IV	Han-Chinesen: 382 SCZ, davon 220 mit und 162 ohne Spätdyskinesien	rs5326 , rs265975, rs4532+, Assoziation mit Spätdyskinesien bei SCZ
Vorliegende Studie	Assoziationsstudie, DSM-IV	Europäer: 512 SCZ/614 Kontrollen	rs4867798+, rs2453741 Tendenz, rs5326, rs267418, rs1508765
SCZ=Schizophrenie, +/-=positiver/kein Zusammenhang mit Schizophrenie, fett gedruckt =in dieser Studie untersuchte Polymorphismen			

Andere im Rahmen der Schizophrenieforschung häufig untersuchte Polymorphismen des DRD1-Gens sind außerdem die SNPs rs4532, rs686 und rs11749676. Diese Polymorphismen sind mit rs2453741, welcher in vorliegender Studie explorativen Charakter aufweist und möglicherweise mit Schizophrenie in Zusammenhang steht, gekoppelt (rs4532, $r^2=0,71$; rs686, $r^2=0,68$; rs11749676, $r^2=0,68$).

Der Polymorphismus rs4532 liegt ebenso wie der schon beschriebene SNP rs5326 in der 5'UTR-Region (Pan et al., 2014). In einer Doppelblindstudie von Potkin et al., konnte gezeigt werden, dass die homozygoten Genotypen von rs4532 (A/A und G/G) stärker auf eine antipsychotische Behandlung mit Clozapin reagierten, als die heterozygote Form (Potkin et al., 2003). Es existieren jedoch auch Studien, die diesen Zusammenhang nicht bestätigen konnten (Matos et al., 2015).

Ebenso scheint der Polymorphismus rs4532 mit Kognition, Verhalten und dem Arbeitsgedächtnis in Zusammenhang zu stehen. So hatten in einer Kohortenstudie Schizophrenie-Patienten mit einem G/G-Genotyp bei rs4532 deutlich schlechtere Ergebnisse

4 Diskussion

im WCST (Wisconsin Card Sorting Test), verglichen mit Patienten mit einem A/A- oder A/G-Genotyp (Rybakowski et al., 2005).

Zhu et al. untersuchte mittels einer Assoziationsstudie die Polymorphismen rs686 und rs10063995 des DRD1-Gens und konnte bei G-Allelträgern und den A/G- und G/G-Genotypen von rs686, verglichen mit den A-Allelträgern und dem A/A-Genotyp, ein signifikant niedrigeres Schizophrenierisiko zeigen. Ein erhöhtes Risiko an Schizophrenie zu erkranken trat bei T-Allelträgern des SNP rs10063995 auf (Zhu et al., 2011).

Eine weitere Fall-Kontrollstudie, welche 690 an Schizophrenie erkrankte Probanden und 430 gesunde Kontrollteilnehmer untersuchte, konnte bei dem Polymorphismus rs11749676 (G>A) des DRD1-Gens einen signifikanten Zusammenhang mit Schizophrenie darstellen. A-Allelträger wiesen ein niedrigeres Schizophrenierisiko auf (Han et al., 2017).

Assoziation von DRD1-SNPs (rs4867798, rs5326) zu weiteren psychiatrischen und neurologischen Erkrankungen

Verschiedene Studien untersuchten zudem die in dieser Studie analysierten Polymorphismen rs4867798 und rs5326 auf mögliche Assoziationen mit anderen psychiatrischen oder neurologischen Erkrankungen hin.

Beide Polymorphismen (rs4867798 und rs5326) scheinen bei Morbus Parkinson eine wichtige Rolle zu spielen. Bei an Morbus Parkinson Erkrankten, welche im Vorfeld mit Dopaminagonisten und L-Dopa behandelt wurden, wiesen die C-Allelträger gegenüber den T-Allelträgern von rs4867798 ein erhöhtes Risiko für eine gestörte Impulskontrolle auf. In der vorliegenden Studie, welche ein positives Assoziationsergebnis mit Schizophrenie für rs4867798 ergeben hat, waren dagegen die gesunden Kontrollprobanden im Allelvergleich öfter Träger des C-Allels (C/T und C/C). Aus diesen gegensätzlichen Ergebnissen lässt sich der Schluss ziehen, dass der Polymorphismus rs4867798 in den Dopaminhaushalt der beiden Erkrankungen eingreift, jedoch sind noch weitere Studien nötig, um die Wirkung des Eingriffes zu verstehen. In der selben Studie wurden ebenfalls die SNPs rs4532 und rs265981 des DRD1-Gens bezüglich einer gestörten Impulskontrolle untersucht. Bei rs4532 zeigten T-Allelträger ein erhöhtes Risiko für eine gestörte Impulskontrolle, der Polymorphismus rs265981 zeigte keine Assoziation. Insgesamt nahmen an dieser Fall-Kontrollstudie 91 Morbus Parkinson Patienten aus Malaysia teil. Die Forscher vermuteten, dass die beiden signifikanten Polymorphismen (rs4867798 und rs4532) möglicherweise auf die Stabilität der mRNA einwirkten, und dadurch die Expression von DRD-1-Rezeptoren senkten (Zainal Abidin et al., 2015).

Über den Polymorphismus rs5326, welcher in vorliegender Studie keine Assoziation mit Schizophrenie hatte, und einen Zusammenhang mit einer Störung der Impulskontrolle bei

4 Diskussion

Morbus Parkinson Patienten berichtete eine Kohortenstudie aus Norwegen. Bei 119 Morbus Parkinson Patienten wurde bei den G-Allelträgern des SNP rs5326 ein erhöhtes Risiko für Impulskontrollstörungen nachgewiesen (Erga et al., 2018).

Ebenso konnte das DRD1-Gen bei an ADHS erkrankten Kindern und Jugendlichen als mögliches Kandidatengen identifiziert werden (Bobb et al., 2005). Eine weiterführende Cross-Overstudie konnte eine signifikante Assoziation der Polymorphismen rs4867798 und rs5326 bzgl. dem Ansprechen auf eine Therapie mit Methylphenidat nachweisen. So reagierten die C-Allelträger von rs4867798 (im Gegensatz zu vorliegender Studie, in welcher die Kontrollprobanden häufiger C-Allelträger von rs4867798 waren) und die T-Allelträger von rs5326 (in vorliegender Studie kein Zusammenhang mit Schizophrenie) stärker auf Methylphenidat. Die Autoren vermuteten, dass die beiden Polymorphismen Transkriptionsfaktoren beeinflussen. Bei dem in dieser Studie ebenfalls untersuchten Polymorphismus rs686 des DRD1-Gens wurde kein Zusammenhang mit einer Therapie mit Methylphenidat hergestellt (McCracken et al., 2014).

Die Polymorphismen rs4867798 und rs5326 scheinen auch bei Abhängigkeitserkrankungen eine wichtige Rolle zu spielen. Zhu et al. konnte eine Assoziation bei Han-Chinesen mit Opioiden aufzeigen. So hatten Probanden mit dem Genotypen T/T von rs4867798 ein höheres Risiko, eine Abhängigkeit zu entwickeln, als die Genotypen C/C und C/T. Die Vulnerabilität der T-Allelträger für eine Abhängigkeit ähnelt dem vorliegenden Studienergebnis für rs4867798, da die Schizophrenie-Patienten ebenso öfter den Genotypen T/T, aber auch den Genotypen C/C aufweisen. Gleiches wies auch der Genotyp G/G von rs10078866 versus den Genotypen A/A und A/G auf. Dagegen schienen die Minorallelfrequenzen der Polymorphismen rs4532 (C) und rs686 (G) ein geringeres Abhängigkeitsrisiko zu haben. An der Fall-Kontrollstudie nahmen 425 opioidabhängige und 514 gesunde Probanden teil (Zhu et al., 2013).

Eine weitere Assoziationsstudie mit 844 Han-Chinesen berichtete, dass heroinabhängige Probanden mit dem Genotypen C/C von rs5326, ein Polymorphismus, welcher bei vorliegender Studie keinen Zusammenhang mit Schizophrenie aufwies, und/oder dem Genotypen A/A von rs6882300 schneller eine Abhängigkeit ab Erstkontakt mit Heroin entwickelt hatten, als solche ohne diese Varianten (Peng et al., 2013). Bestätigt wurde dieses Ergebnis von Liu und Kollegen durch eine Assoziationsstudie mit 367 heroinabhängigen Probanden und 372 gesunden Kontrollteilnehmern aus der han-chinesischen Bevölkerung. Sie konnten den Zusammenhang des Polymorphismus rs5326 und zusätzlich dem SNP rs265981 mit Heroinabhängigkeit ebenfalls nachweisen. Verglichen mit der gesunden Kontrollgruppe, wiesen die Patienten mit der Heroinabhängigkeit bei dem Polymorphismus

4 Diskussion

rs5326 seltener den G/G-Genotypen und das G-Allel und bei dem Polymorphismus rs265981 häufiger das G-Allel auf. (Liu et al., 2015).

Eine andere Assoziationsstudie mit 801 heroin- und/oder kokainabhängigen Afroamerikanern konnte dagegen keinen möglichen Zusammenhang zwischen dem Polymorphismus rs5326 mit Heroinabhängigkeit aufzeigen, ein Ergebnis, welches sich mit dem dieser Studie bzgl. Schizophrenie deckt. Jedoch konnten Levran et al. eine Verbindung zwischen dem SNP rs686 (A-Allel) und Kokainabhängigkeit herstellen (Levran et al., 2015).

Als letztes sei noch eine Assoziationsstudie von Tsang und Kollegen erwähnt. Diese untersuchten den DRD-1-Rezeptor bzgl. der kognitiven Leistungsfähigkeit. A-Allelträger des Polymorphismus rs5326, welche in vorliegender Studie bzgl. Schizophrenie unauffällig waren, wiesen eine schlechtere Kognition auf und zeigten eine geringere DRD-1-Rezeptorexpression im vorderen, oberen Temporallappen als die Vergleichsgruppe (Tsang et al., 2015).

Diese Studienlage zeigt, dass die beiden Polymorphismen rs4867798 und rs5326 des DRD1-Gens eine enge Verknüpfung mit verschiedenen Erkrankungen aufweisen. Diesen gemeinsam sind vermutete Veränderungen der Dopamintransmission (durch Änderung des Neurotransmitterhaushaltes oder der DRD-1-Rezeptorenmenge) im mesocorticalen System (Morbus Parkinson, Schizophrenie), oder Dopamin wird erfolgreich bei der Symptombehandlung eingesetzt (ADHS). Bei der Heroin- und/oder Kokainabhängigkeit scheint der Dopamin-1-Rezeptor die suchterzeugende Wirkung der Drogen zu verstärken (Levran et al., 2015). Ebenso sind bei der Wahrnehmungsfähigkeit Veränderungen in der Dopamintransmission anzunehmen, sodass Unterschiede der Polymorphismen rs4867798 und rs5326 des DRD1-Gens möglicherweise eine Rolle in deren Ätiopathogenese spielen. Einen Überblick über genannte Studien liefert die folgende Tabelle (42).

Tabelle 42: rs4867798 und rs5326 und andere psychiatrisch/neurologische Erkrankungen

Referenz	Studiendesign	Stichprobe	Untersuchte DRD1-SNPs
Zainal Abidin et al., 2015	Fall-Kontrollstudie	Malaysianer: 91 Morbus Parkinson Patienten	rs4867798: C-Allelträger und rs4532: T-Allelträger erhöhtes Risiko für gestörte Impulskontrolle rs265981
Erga et al., 2018	Kohortenstudie	Norweger: 119 Morbus Parkinson Patienten	rs5326: G-Allelträger erhöhtes Risiko für gestörte Impulskontrolle
Bobb et al., 2005	Assoziationsstudie	63 an ADHS erkrankte Kinder und Jugendliche/192 Eltern/129 Kontrollen	rs4532: C-Allelträger und rs265981: A-Allelträger assoziiert mit ADHS
McCracken et al., 2014	Cross-over-Studie	64 an Autismus/ADHS erkrankte Kinder	rs4867798: C-Allelträger und rs5326: T-Allelträger stärkeres Ansprechen auf Methylphenidat rs686
Peng et al., 2013	Assoziationsstudie	Han-Chinesen: 465 heroinabhängige Patienten/379 Kontrollen	rs5326: C/C und rs6882300: A/A schnellere Entwicklung einer Abhängigkeit ab Erstkontakt mit Heroin
Levran et al., 2015	Assoziationsstudie	Afroamerikaner: 801 heroin- und/oder kokainabhängige Patienten	rs686: A-Allelträger mit Assoziation mit Kokainabhängigkeit rs5326
Liu et al., 2015	Assoziationsstudie	Han-Chinesen: 367 heroinabhängige Patienten/372 Kontrollen	rs5326: G/G seltener bei Heroinabhängigkeit rs265981: G-Allelträger Assoziation mit Heroinabhängigkeit
Zhu et al., 2013	Fall-Kontrollstudie	Han-Chinesen: 425 opioidabhängige Patienten/514 Kontrollen	rs4867798: T/T und rs10078866: G/G höheres Abhängigkeitsrisiko rs4532: C-Allelträger und rs686: G-Allelträger geringeres Abhängigkeitsrisiko

Tabelle 42 Fortsetzung: rs4867798 und rs5326 und andere psychiatrisch/neurologische Erkrankungen

Referenz	Studiendesign	Stichprobe	Untersuchte DRD1-SNPs
Tsang et al., 2015	Assoziationsstudie	Europäer: 727 Hirnproben von Alzheimer oder SCZ-Patienten, post mortem/ 1493 Kontrollen	rs5326: A-Allelträger schlechtere Kognition und geringere DRD-1-Rezeptorexpression im vorderen, oberen Temporallappen
fett gedruckt =in dieser Studie untersuchte Polymorphismen			

Assoziation von weiteren DRD1-SNPs zu psychiatrischen und somatischen Erkrankungen

Auch bei weiteren Polymorphismen des DRD1-Gens fallen Assoziationen mit psychiatrischen, aber auch somatischen Erkrankungen auf. Insbesondere Zusammenhänge mit Abhängigkeitserkrankungen sind hervorzuheben. Die Polymorphismen rs4532 und rs686 waren in mehreren Studien mit Nikotin-Abhängigkeit assoziiert (Huang et al., 2008; Novak et al., 2010). Die Assoziationsstudie von Huang et al., durchgeführt an 2037 Amerikanern, konnte ein positives Assoziationsergebnis bei dem T-Allel von Polymorphismus rs4532 und dem A-Allel von Polymorphismus rs686 nachweisen. Novak et al. konnte in einer Assoziationsstudie mit an 341 Schizophrenie erkrankten Patienten, davon 217 Raucher und 124 Nichtraucher zeigen, dass die Probanden mit dem Genotyp G/G von rs4532 und dem Genotyp G/G von rs686 signifikant quantitativ mehr rauchen, als die Teilnehmer mit den entsprechenden Genotypen A/A und A/G.

Bei dem Polymorphismus rs686 des DRD1-Gens konnte in einer Assoziationsstudie zudem auch ein Zusammenhang mit Alkoholabhängigkeit nachgewiesen werden. T-Allelträger dieses Polymorphismus waren deutlich häufiger unter schwer Alkoholabhängigen zu finden und ebenfalls unter den Patienten mit schwereren Komplikationen beim therapeutisch begleiteten Entzug (Batel et al., 2008).

Das DRD1-Gen ist auch bei ADHS ein Kandidatengen. So waren an ADHS erkrankte Probanden häufiger C-Allelträger des SNP rs4532 und A-Allelträger des SNP rs265981, als gesunde Kontrollprobanden (Bobb et al., 2005).

Der Polymorphismus rs4532 des DRD1-Gens scheint außerdem mit einer Autismus-Spektrum-Störung assoziiert zu sein. Eine Fall-Kontrollstudie mit 50 erkrankten und 50 gesunden Teilnehmern zeigte einen Zusammenhang von erhöhten A/G- und A/A-Genotypfrequenzen bei Betroffenen im Vergleich zu den nicht betroffenen Probanden (Aziz Azzam et al., 2018).

4 Diskussion

Ebenso konnten in einer Fall-Kontrollstudie Zusammenhänge des Polymorphismus rs4532 (G-Allelträger) des DRD1-Gens und vermehrten visuellen Halluzinationen bei Morbus Parkinson Patienten nachgewiesen werden (Comi et al., 2016).

Eine Assoziation zwischen depressiver Symptomatik und dem Polymorphismus rs686 des DRD1-Gens konnte in einer kolumbianischen Stichprobe aufgezeigt werden. Die Probanden mit den Genotypen A/G oder G/G wiesen vermehrt eine depressive Symptomatik auf als die Teilnehmer mit dem Genotypen A/A. Der Polymorphismus scheint in die DRD-1-Rezeptorexpression einzugreifen (Jiménez et al., 2018). Schon 2005 konnte ein Zusammenhang des Polymorphismus rs4532 des DRD1-Gens und der Bipolaren Störung in einer Assoziationsstudie bei sardischen Probanden aufgedeckt werden. G-Allelträger fanden sich signifikant häufiger bei erkrankten Studienteilnehmern (Severino et al., 2005). Dieses Ergebnis konnte 2006 eine Assoziationsstudie bei einer polnischen Stichprobe aus 1186 Teilnehmern bestätigen. Das G-Allel und der G/G Genotyp des SNP rs4532 des DRD1-Gens waren öfter bei den bipolaren Probanden vertreten (Dmitrzak-Weglarz et al., 2006).

Da der DRD-1-Rezeptor nicht nur im Gehirn, sondern auch z.B. in den Koronargefäßen und dem Myokard vorkommt, wurde auch hier nach möglichen Assoziationen gesucht. So konnte eine Assoziation des Polymorphismus rs4532 (G-Allelträger) und einem erhöhten Herzinfarktrisiko bei einer han-chinesischen Stichprobe nachgewiesen werden (Zhao et al., 2012).

Ebenso konnte eine Assoziationsstudie mit 665 an Lungenkrebs Erkrankten und 774 gesunden, europäisch-stämmigen Teilnehmern einen Zusammenhang des SNP rs686 des DRD1-Gens herstellen. G-Allelträger hatten ein geringeres Risiko an Lungenkrebs zu erkranken (Robles et al., 2014)

Diesen Ergebnissen zufolge, scheint das DRD1-Gen nicht nur bei Schizophrenie, sondern auch bei Abhängigkeitserkrankungen, ADHS, Autismus-Spektrum-Störung, Morbus Parkinson und depressiven Symptomatiken, aber auch bei somatischen Erkrankungen wie Herzinfarkt und Lungenkrebs eine wichtige Rolle zu spielen.

Tabelle 43 gibt einen Überblick über die vorgestellten Studien, welche Assoziationen des DRD1-Gens mit den genannten Erkrankungen außer der Schizophrenie analysieren.

Tabelle 43: Zusammenfassung der Studien von SNPs des DRD1-Gens und deren Assoziation mit verschiedenen Erkrankungen

Referenz	Stichprobe	untersuchte Polymorphismen des DRD1-Gens
Huang et al., 2008	Amerikaner: 2037	rs265973, rs265975, rs2168631, rs4532, rs686 und Assoziation mit Nikotinabhängigkeit
Novak et al., 2010	Kanadier: 341 SCZ, davon 217 Raucher und 124 Nichtraucher	rs4532, rs686 und Assoziation mit Nikotinabhängigkeit
Zhu et al., 2013	Chinesen: 425 Opioidabhängige Probanden/514 Kontrollen	rs4532, rs686, rs10078866, rs4867798, rs5326, rs10063995, rs1799914 und Assoziation mit Opioidabhängigkeit
Batel et al., 2008	Europäer: 134 alkoholabhängige Probanden/96 Kontrollen	rs686 und Assoziation mit Alkoholabhängigkeit
Bobb et al., 2005	63 an ADHS erkrankte Kinder und Jugendliche/192 Eltern/129 Kontrollen	rs4532, rs265981 und Assoziation mit ADHS
Aziz Azzam et al., 2018	Ägypter: 50 autistische Patienten (36 männlich/ 14 weiblich)/50 Kontrollen	rs4532 und Assoziation mit Autismus
Comi et al., 2016	Italiener: 42 mit und 42 ohne visuelle Halluzinationen mit Morbus Parkinson	rs4532 und Assoziation mit vermehrten visuellen Halluzinationen bei Morbus Parkinson Patienten
Jiménez et al., 2018	Kolumbianer: 239	rs686 und Assoziation mit depressiver Symptomatik
Severino et al., 2005	Sarden: 107 mit Bipolar I-Störung/129 Kontrollen	rs4532 und Assoziation mit Bipolarer Störung
Dmitrzak-Weglarz et al., 2006	Polen: 407 SCZ, 380 mit Bipolar II-Störung/399 Kontrollen	rs4532 und Assoziation mit Bipolarer Störung
Zhao et al., 2012	Han-Chinesen: 255 mit Myokardinfarkt/347 Kontrollen	rs4532 und Assoziation mit Herzinfarkt
Robles et al., 2014	Europäer: 665 an Lungenkrebs Erkrankte/774 Kontrollen	rs686, rs4809294, rs2292975 und Assoziation mit Lungenkrebs

Die genannten Studien zeigen, dass die Komorbiditäten, welchen der behandelnde Arzt in der klinischen Praxis begegnet, möglicherweise teilweise genetisch mitbedingt sind (Corvin and Sullivan, 2016).

4.3 Ausblick

Die Schizophrenie präsentiert ein sehr heterogenes Erkrankungsbild und weist eine multikausale Ätiologie mit erheblichem genetischen Anteil auf.

Speziell das in dieser explorativen Arbeit untersuchte DRD1-Gen zeigt in Kopplungs- und Assoziationsstudien einen Zusammenhang mit Schizophrenie, jedoch konnte es bislang noch nicht in GWAS als genomweit signifikant identifiziert werden. Eine genauere Untersuchung der unterschwellig signifikanten Ergebnisse aus den GWAS in Hinblick auf eine überzufällige Häufung in bestimmten Genen könnte in naher Zukunft diesbezüglich Aufklärung bringen.

Die in dieser Arbeit untersuchten Polymorphismen rs4867798 und rs5326 sind nachweislich auch mit Morbus Parkinson und ADHS assoziiert (McCracken et al., 2014; Zainal Abidin et al., 2015). Zusätzlich wird eine gestörte dopaminerge Transmission bei Erkrankungen wie Morbus Parkinson, ADHS, aber auch dem Tourette-Syndrom, Chorea Huntington, Abhängigkeitserkrankungen und Hyperprolaktinämie angenommen (Beaulieu and Gainetdinov, 2011). Dies zeigt einen möglichen gemeinsamen genetischen Hintergrund dieser Erkrankungen.

In einer großen GWAS zu diesem Thema wurden die SNPs von 33.332 psychisch Erkrankten und 27.888 gesunden Kontrollen analysiert. Nachgewiesen wurden signifikante genetische Überlappungen der fünf psychiatrischen „Haupterkrankungen“: Schizophrenie, Autismus-Spektrum-Störungen, ADHS, Bipolare Störung und schwere depressive Störung. Auch dieses Ergebnis spricht für eine mögliche gemeinsame genetische Ätiologie (Lee et al., 2013; Smoller, 2013).

Im gesamten letzten Jahrhundert wurden psychische Störungsbilder anhand der klinischen Symptomatik klassifiziert (Anttila et al., 2018). Das könnte sich in Zukunft aufgrund der möglichen gemeinsamen genetischen Basis ändern.

Derzeit wird eine Erkrankung mittels ihrer Hauptsymptome definiert. Bei der Schizophrenie liegt der Hauptschwerpunkt auf der Positivsymptomatik und einer gestörten Dopamintransmission. Auch die Therapie stützt sich hauptsächlich darauf. Die Tatsache, dass das Lebenszeitriskio für Schizophrenie-Patienten an einer Depression zu erkranken bei 30 bis 35%, an einer Alkoholabhängigkeit zu leiden bei 34% und das Risiko für Substanzmittelabhängigkeit bei 47% liegt, und das möglicherweise durch einen gemeinsamen genetischen Ursprung erklärbar wäre, könnte die Definition beeinflussen (Kirkpatrick et al., 2014). Auch die oft mit Schizophrenie einhergehende Angstsymptomatik und die kognitiven und neurologischen Störungen sollten mitberücksichtigt werden. Unter diesen Aspekten wäre die Schizophrenie nicht mehr eine rein psychotische Störung, die es zu behandeln gilt, sondern

4 Diskussion

eine Erkrankung der Hirnfunktionen mit Beteiligung des gesamten Körpers. Das bedeutet, mögliche Komorbiditäten wären Bestandteile der Erkrankung (Kirkpatrick et al., 2014). Unter diesem Gesichtspunkt würde sichtbar werden, dass es nicht ausreicht, die Positivsymptomatik allein zu behandeln, und Betroffene und Familienangehörige könnten ein besseres Verständnis für andere möglich auftretende Symptome entwickeln. Somit sollte die Forschung einer möglichen gemeinsamen Ätiologie psychiatrischer und neurologischer Erkrankungen, wie schon begonnen, weiter betrieben werden.

Ein anderer Aspekt einer möglichen übereinstimmenden genetischen Komponente beträfe zudem die Nosologie der psychiatrischen Störungsbilder, denn die derzeitige existierende klinische Einteilung berücksichtigt diese Tatsache nicht. Möglicherweise wäre es sinnvoll, eine eigene Klassifikation für die Forschung zu erstellen, mit der dieser gemeinsame Ursprung abgebildet wird. Für die klinische Diagnosestellung wäre jedoch eine rein genetische Einteilung der Störungsbilder nicht ausreichend und somit ist die derzeit gebräuchliche Gliederung in Form des DSM-V und des ICD-10 relevant (Anttila et al., 2018; Smoller, 2013). Trotzdem sollte sich besonders der behandelnde Arzt bei der Behandlung und Begleitung eines Erkrankten eines möglichen gemeinsamen Ursprungs der psychiatrischen Störungen bewusst sein, um so adäquat, rechtzeitig und erfolgreich handeln zu können.

Ein weiterer Forschungspunkt wäre zudem der Umstand, dass eine genetische Assoziation nichts über den kausalen Zusammenhang der Erkrankung mit dem gefundenen Polymorphismus aussagt. Erst über das Wissen der biologischen Funktionen der genetischen Loci wird es möglich sein, die zugrundeliegenden Mechanismen der Polymorphismen, bzw. die dahinterliegenden kausalen Varianten und deren Auswirkungen auf die Ätiopathogenese der Schizophrenie zu verstehen. Dadurch könnten neue Angriffspunkte für Medikamente entstehen und für die Betroffenen auch eine größere Bandbreite an Therapiemöglichkeiten.

Es existieren erste Studien, welche versuchen, die biologischen Funktionen der mit Schizophrenie in Zusammenhang stehenden Gene zu entschlüsseln. Ein Beispiel ist das ZNF804A-Gen (Zink-Finger-Protein-804A-Gen), welches als erstes Gen aus GWAS mit Schizophrenie in Assoziation gebracht werden konnte, wobei die Funktion des Genes noch völlig unbekannt war (Avramopoulos, 2018). Hill und Kollegen konnten belegen, dass das ZNF804A-Gen für ein Protein mit C2H2-Zink-Finger codiert und damit möglicherweise regulierend über DNA- oder RNA-Ebene auf die Genexpression wirkt. Das ZNF804A-Gen könnte eine Rolle in der neuronalen Migration, dem Neuritenwachstum und der Synapsenbildung spielen, und über diese Mechanismen Einfluss auf die Entwicklung einer Schizophrenie nehmen (Hill et al., 2012).

4 Diskussion

Eine ähnliche Fragestellung hat eine Untergruppe des Psychiatric Genomics Consortium verfolgt (Network and Pathway Analysis Subgroup of Psychiatric Genomics Consortium, 2015). Sie suchten nach den gemeinsamen biologischen Wegen von Schizophrenie, Depression und Bipolarer Störung, mit den aus GWAS ermittelten Daten des Psychiatric Genomics Consortium. Die meisten Gemeinsamkeiten der drei Erkrankungen auf biologischer Ebene waren in der Methylierung von Histonen, verschiedenen immunologischen- und neuronalen Signalwegen und der postsynaptischen Dichte zu finden (Network and Pathway Analysis Subgroup of Psychiatric Genomics Consortium, 2015). Dieses Ergebnis zeigt, dass sich die Störungen nicht nur auf genetischer Ebene gleichen, sondern sich auch auf der biologischen Ebene gemeinsame Wege teilen.

Somit wäre ein wichtiger Ansatzpunkt weiterführender Studien, die Auswirkungen der genetischen Veränderungen auf biologischer und somit klinischer und therapeutischer Ebene zu erfassen.

Die molekulargenetische Forschung schafft neue Wege, die Ätiologie der Schizophrenie besser zu verstehen. Auf der Basis dieses Wissens eröffnet sich die Möglichkeit für neue Therapieansätze. Dabei könnte das DRD1-Gen ein weiterer Baustein für die Behandlung der Negativsymptomatik werden.

5. Zusammenfassung

Die Schizophrenie ist eine schwerwiegende psychiatrische Erkrankung mit multikausaler Ätiologie, heterogenem Erscheinungsbild und variablem, unvorhersehbarem Verlauf. Die Lebenszeitprävalenz in der Allgemeinbevölkerung beträgt etwa 1%. Neben biologischen und psychosozialen Faktoren spielen veränderte biochemische Neurotransmittersysteme, vorrangig Dopamin, Glutamat und Serotonin, eine Rolle. Als Ursache dafür spielen neben Umweltfaktoren auch genetische Faktoren eine entscheidende Rolle, wie bereits in Familien- und Zwillingsstudien gezeigt werden konnte. Dazu zählt das durch seine Beteiligung an der dopaminergen Neurotransmission als Kandidatengen definierte Dopamin-D1-Rezeptor-Gen. Dieses kodiert für den DRD-1-Rezeptor, welcher eine wichtige Stellung bei der Transmission dopaminergere Signale innehat, in besonders hoher Dichte im präfrontalen Cortex vorkommt und eine entscheidende Rolle bei der Verhaltens- und Antriebssteuerung, Motivation, Aufmerksamkeit und Entscheidungsfindung spielt. Polymorphismen des DRD1-Gens führen möglicherweise zu einer veränderten Expression und damit auch zu einer insuffizienten Dopamintransmission über die Dopamin-1-Rezeptoren. Dies scheint mit der Negativsymptomatik und den kognitiven Defiziten bei Schizophrenie im Zusammenhang zu stehen.

Mittels einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie untersuchte diese Arbeit fünf verschiedene Polymorphismen des DRD1-Rezeptorgens und diskutiert deren möglichen Zusammenhang auf die Ätiopathogenese der Schizophrenie. Es wurden die Allelfrequenzen und die Genotypverteilungen von insgesamt 614 gesunden Kontrollprobanden und 512 an Schizophrenie erkrankten Patienten miteinander verglichen und auf Differenzen bzw. Gemeinsamkeiten hin geprüft. Bei dem Polymorphismus rs4867798 konnte eine nominal signifikante Differenz beim Genotypvergleich nachgewiesen werden. Der heterozygote Genotyp C/T fand sich häufiger in der Kontrollgruppe, während beide homozygoten Genotypen öfter in der Patientengruppe auftraten. Zudem waren die Kontrollprobanden häufiger C-Allelträger (Genotyp C/C und C/T) als die Schizophrenie-Patienten. Bei SNP rs2453741 zeigte die Auswertung der Daten eine Tendenz zu einem Unterschied in der Genotypverteilung. Die Kontrollprobanden wiesen häufiger den heterozygoten Genotypen A/C als die erkrankten Patienten auf. Bei den Polymorphismen rs5326, rs267418 und rs1508765 waren keine signifikanten Unterschiede zu eruieren.

Die Assoziationsergebnisse festigen die Stellung des DRD1-Gens als Suszeptibilitäts-gen. Ein weiterer Schritt wäre, die biologischen Mechanismen der Polymorphismen zu erforschen. Dies könnte das Wissen um die Ätiopathogenese der Schizophrenie erweitern und neue Ansatzpunkte für eine bessere medikamentöse Therapie liefern.

6. Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Erklärung
5-HT2A-Rezeptor	5-Hydroxytryptamin-2A-Rezeptor
A	Adenin
AaO	Age at onset
ADHS	Aufmerksamkeits-Defizit-Hyperaktivitäts-Syndrom
ALS	Amyotrophe Lateralsklerose
bidest.	bidestillatus (doppelt destilliert)
C	Cytosin
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CI	Confidence Interval 95% (Konfidenzintervall)
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
CNV	Copy Number Variation
DAG	Diacylglycerin
ddNTP	didesoxy-Nucleotid-Triphosphat
Df	Freiheitsgrad
DNMT3B	DNA-Zytosin-5-Methyltransferase-3-beta
dNTP	desoxy-Nucleotid-Triphosphat
DRD1-Gen	Dopamin-Rezeptor-1-Gen
DRD3-Gen	Dopamin-Rezeptor-3-Gen
DSM-IV bzw. V	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fourth Edition bzw. fifth Edition
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
FHAM	Family History Assessment Module
G	Guanin
GWAS	Genomweite Assoziationsstudie
htSNP	haplotype tag SNP
HWE	Hardy-Weinberg-Gleichgewicht
ICD-10	International Classification of Diseases, tenth Edition
IP3	Inositol-1,4,5-trisphosphat
LEBI	Leibziger Ereignis- und Belastungsinventar
MALDI-TOF	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation-Time of Flight
MHC-Komplex	Major Histocompatibility Complex
NMDA-Rezeptor	N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor
NRGN	Neurogranin-Gen
OR	Odds Ratio
P	Signifikanzwert
PANSS	Positive And Negative Syndrome Scale
PASW	Predictive Analytics SoftWare
PCP	Phencyclidin
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polymerase Kettenreaktion)
PGC	Psychiatric Genomics Consortium

6 Abkürzungsverzeichnis

PIP2	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat
SAP	Shrimp Alkaline Phosphatase
SBE	single base extension (Einzel-Basen-Extensionsreaktion)
SCZ	Schizophrenie
SD	Standardabweichung
SFXN1-Gen	Sideroflexin1-Gen
SKID	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV
SNP	Single Nucleotide Polymorphism (Einzel-Nucleotid-Polymorphismus)
T	Thymin
TCF4-Gen	Transkriptionsfaktor-4-Gen
UTR	Untranslatierter Bereich, untranslated region
ZNF804A-Gen	Zink-Finger-Protein-804A-Gen

7. Literaturverzeichnis

1000 Genomes Project, 2019. <https://www.internationalgenome.org/home>.

Aleman, A., Kahn, R.S., Selten, J.-P., 2003. Sex differences in the risk of schizophrenia: Evidence from meta-analysis. *Archives of general psychiatry* 60, 565–571. 10.1001/archpsyc.60.6.565.

Allen, N.C., Bagade, S., McQueen, M.B., Ioannidis, J.P.A., Kavvoura, F.K., Khoury, M.J., Tanzi, R.E., Bertram, L., 2008. Systematic meta-analyses and field synopsis of genetic association studies in schizophrenia: The SzGene database. *Nature genetics* 40, 827–834. 10.1038/ng.171.

Anttila, V., Bulik-Sullivan, B., Finucane, H.K., Walters, R.K., Bras, J., Duncan, L., Escott-Price, V., Falcone, G.J., Gormley, P., Malik, R., Patsopoulos, N.A., Ripke, S., Wei, Z., Yu, D., Lee, P.H., Turley, P., Grenier-Boley, B., Chouraki, V., Kamatani, Y., Berr, C., Letenneur, L., Hannequin, D., Amouyel, P., Boland, A., Deleuze, J.-F., Duron, E., Vardarajan, B.N., Reitz, C., Goate, A.M., Huentelman, M.J., Kambouh, M.I., Larson, E.B., Rogava, E., St George-Hyslop, P., Hakonarson, H., Kukull, W.A., Farrer, L.A., Barnes, L.L., Beach, T.G., Demirci, F.Y., Head, E., Hulette, C.M., Jicha, G.A., Kauwe, J.S.K., Kaye, J.A., Leverenz, J.B., Levey, A.I., Lieberman, A.P., Pankratz, V.S., Poon, W.W., Quinn, J.F., Saykin, A.J., Schneider, L.S., Smith, A.G., Sonnen, J.A., Stern, R.A., van Deerlin, V.M., van Eldik, L.J., Harold, D., Russo, G., Rubinsztein, D.C., Bayer, A., Tsolaki, M., Proitsi, P., Fox, N.C., Hampel, H., Owen, M.J., Mead, S., Passmore, P., Morgan, K., Nöthen, M.M., Rossor, M., Lupton, M.K., Hoffmann, P., Kornhuber, J., Lawlor, B., McQuillin, A., Al-Chalabi, A., Bis, J.C., Ruiz, A., Boada, M., Seshadri, S., Beiser, A., Rice, K., van der Lee, S.J., Jager, P.L. de, Geschwind, D.H., Riemenschneider, M., Riedel-Heller, S., Rotter, J.I., Ransmayr, G., Hyman, B.T., Cruchaga, C., Alegret, M., Winsvold, B., Palta, P., Farh, K.-H., Cuenca-Leon, E., Furlotte, N., Kurth, T., Ligthart, L., Terwindt, G.M., Freilinger, T., Ran, C., Gordon, S.D., Borck, G., Adams, H.H.H., Lehtimäki, T., Wedenoja, J., Buring, J.E., Schürks, M., Hrafnsdottir, M., Hottenga, J.-J., Penninx, B., Artto, V., Kaunisto, M., Vepsäläinen, S., Martin, N.G., Montgomery, G.W., Kurki, M.I., Hämmäläinen, E., Huang, H., Huang, J., Sandor, C., Webber, C., Muller-Myhsok, B., Schreiber, S., Salomaa, V., Loehrer, E., Göbel, H., Macaya, A., Pozo-Rosich, P., Hansen, T., Werge, T., Kaprio, J., Metspalu, A., Kubisch, C., Ferrari, M.D., Belin, A.C., van den Maagdenberg, A.M.J.M., Zwart, J.-A., Boomsma, D., Eriksson, N., Olesen, J., Chasman, D.I., Nyholt, D.R., Avbersek, A., Baum, L., Berkovic, S., Bradfield, J., Buono, R., Catarino, C.B., Cossette, P., Jonghe, P. de, Depondt, C., Dlugos, D., Ferraro, T.N., French, J., Hjalgrim, H., Jamnadas-Khoda, J., Kälviäinen, R., Kunz, W.S., Lerche, H., Leu, C., Lindhout, D., Lo, W., Lowenstein, D., McCormack, M., Møller, R.S., Molloy, A., Ng, P.-W., Oliver, K., Privitera, M., Radtke, R., Ruppert, A.-K., Sander, T., Schachter, S.,

Schankin, C., Scheffer, I., Schoch, S., Sisodiya, S.M., Smith, P., Sperling, M., Striano, P., Surges, R., Thomas, G.N., Visscher, F., Whelan, C.D., Zara, F., Heinzen, E.L., Marson, A., Becker, F., Stroink, H., Zimprich, F., Gasser, T., Gibbs, R., Heutink, P., Martinez, M., Morris, H.R., Sharma, M., Ryten, M., Mok, K.Y., Pulit, S., Bevan, S., Holliday, E., Attia, J., Battey, T., Boncoraglio, G., Thijs, V., Chen, W.-M., Mitchell, B., Rothwell, P., Sharma, P., Sudlow, C., Vicente, A., Markus, H., Kourkoulis, C., Pera, J., Raffeld, M., Silliman, S., Boraska Perica, V., Thornton, L.M., Huckins, L.M., William Rayner, N., Lewis, C.M., Gratacos, M., Rybakowski, F., Keski-Rahkonen, A., Raevuori, A., Hudson, J.I., Reichborn-Kjennerud, T., Monteleone, P., Karwautz, A., Mannik, K., Baker, J.H., O'Toole, J.K., Trace, S.E., Davis, O.S.P., Helder, S.G., Ehrlich, S., Herpertz-Dahlmann, B., Danner, U.N., van Elburg, A.A., Clementi, M., Forzan, M., Docampo, E., Lissowska, J., Hauser, J., Tortorella, A., Maj, M., Gonidakis, F., Tziouvas, K., Papezova, H., Yilmaz, Z., Wagner, G., Cohen-Woods, S., Herms, S., Julià, A., Rabionet, R., Dick, D.M., Ripatti, S., Andreassen, O.A., Espeseth, T., Lundervold, A.J., Steen, V.M., Pinto, D., Scherer, S.W., Aschauer, H., Schosser, A., Alfredsson, L., Padyukov, L., Halmi, K.A., Mitchell, J., Strober, M., Bergen, A.W., Kaye, W., Szatkiewicz, J.P., Cormand, B., Ramos-Quiroga, J.A., Sánchez-Mora, C., Ribasés, M., Casas, M., Hervas, A., Arranz, M.J., Haavik, J., Zayats, T., Johansson, S., Williams, N., Dempfle, A., Rothenberger, A., Kuntsi, J., Oades, R.D., Banaschewski, T., Franke, B., Buitelaar, J.K., Arias Vasquez, A., Doyle, A.E., Reif, A., Lesch, K.-P., Freitag, C., Rivero, O., Palmason, H., Romanos, M., Langley, K., Rietschel, M., Witt, S.H., Dalsgaard, S., Børglum, A.D., Waldman, I., Wilmot, B., Molly, N., Bau, C.H.D., Crosbie, J., Schachar, R., Loo, S.K., McGough, J.J., Grevet, E.H., Medland, S.E., Robinson, E., Weiss, L.A., Bacchelli, E., Bailey, A., Bal, V., Battaglia, A., Betancur, C., Bolton, P., Cantor, R., Celestino-Soper, P., Dawson, G., Rubeis, S. de, Duque, F., Green, A., Klauck, S.M., Leboyer, M., Levitt, P., Maestrini, E., Mane, S., De-Luca, D.M., Parr, J., Regan, R., Reichenberg, A., Sandin, S., Vorstman, J., Wassink, T., Wijsman, E., Cook, E., Santangelo, S., Delorme, R., Rogé, B., Magalhaes, T., Arking, D., Schulze, T.G., Thompson, R.C., Strohmaier, J., Matthews, K., Melle, I., Morris, D., Blackwood, D., McIntosh, A., Bergen, S.E., Schalling, M., Jamain, S., Maaser, A., Fischer, S.B., Reinbold, C.S., Fullerton, J.M., Guzman-Parra, J., Mayoral, F., Schofield, P.R., Cichon, S., Mühleisen, T.W., Degenhardt, F., Schumacher, J., Bauer, M., Mitchell, P.B., Gershon, E.S., Rice, J., Potash, J.B., Zandi, P.P., Craddock, N., Ferrier, I.N., Alda, M., Rouleau, G.A., Turecki, G., Ophoff, R., Pato, C., Anjorin, A., Stahl, E., Leber, M., Czerski, P.M., Cruceanu, C., Jones, I.R., Posthuma, D., Andlauer, T.F.M., Forstner, A.J., Streit, F., Baune, B.T., Air, T., Sinnamon, G., Wray, N.R., MacIntyre, D.J., Porteous, D., Homuth, G., Rivera, M., Grove, J., Middeldorp, C.M., Hickie, I., Pergadia, M., Mehta, D., Smit, J.H., Jansen, R., Geus, E. de, Dunn, E., Li, Q.S., Nauck, M., Schoevers, R.A., Beekman, A.T., Knowles, J.A., Viktorin, A., Arnold, P., Barr, C.L.,

- Bedoya-Berrio, G., Bienvenu, O.J., Brentani, H., Burton, C., Camarena, B., Cappi, C., Cath, D., Cavallini, M., Cusi, D., Darrow, S., Denys, D., Derks, E.M., Dietrich, A., Fernandez, T., Figuee, M., Freimer, N., Gerber, G., Grados, M., Greenberg, E., Hanna, G.L., Hartmann, A., Hirschtritt, M.E., Hoekstra, P.J., Huang, A., Huyser, C., Illmann, C., Jenike, M., Kuperman, S., Leventhal, B., Lochner, C., Lyon, G.J., Macciardi, F., Madruga-Garrido, M., Malaty, I.A., Maras, A., McGrath, L., Miguel, E.C., Mir, P., Nestadt, G., Nicolini, H., Okun, M.S., Pakstis, A., Paschou, P., Piacentini, J., Pittenger, C., Plessen, K., Ramensky, V., Ramos, E.M., Reus, V., Richter, M.A., Riddle, M.A., Robertson, M.M., Roessner, V., Rosário, M., Samuels, J.F., Sandor, P., Stein, D.J., Tsetsos, F., van Nieuwerburgh, F., Weatherall, S., Wendland, J.R., Wolanczyk, T., Worbe, Y., Zai, G., Goes, F.S., McLaughlin, N., Nestadt, P.S., Grabe, H.-J., Depienne, C., Konkashbaev, A., Lanzagorta, N., Valencia-Duarte, A., Bramon, E., Buccola, N., Cahn, W., Cairns, M., Chong, S.A., Cohen, D., Crespo-Facorro, B., Crowley, J., Davidson, M., DeLisi, L., Dinan, T., Donohoe, G., Drapeau, E., Duan, J., Haan, L., Hougaard, D., Karachanak-Yankova, S., Khrunin, A., Klovins, J., Kučinskis, V., Lee Chee Keong, J., Limborska, S., Loughland, C., Lönnqvist, J., Maher, B., Mattheisen, M., McDonald, C., Murphy, K.C., Nenadic, I., van Os, J., Pantelis, C., Pato, M., Petryshen, T., Quested, D., Roussos, P., Sanders, A.R., Schall, U., Schwab, S.G., Sim, K., So, H.-C., Stögmann, E., Subramaniam, M., Toncheva, D., Waddington, J., Walters, J., Weiser, M., Cheng, W., Cloninger, R., Curtis, D., Gejman, P.V., Henskens, F., Mattingsdal, M., Oh, S.-Y., Scott, R., Webb, B., Breen, G., Churchhouse, C., Bulik, C.M., Daly, M., Dichgans, M., Faraone, S.V., Guerreiro, R., Holmans, P., Kendler, K.S., Koeleman, B., Mathews, C.A., Price, A., Scharf, J., Sklar, P., Williams, J., Wood, N.W., Cotsapas, C., Palotie, A., Smoller, J.W., Sullivan, P., Rosand, J., Corvin, A., Neale, B.M., 2018. Analysis of shared heritability in common disorders of the brain. *Science (New York, N.Y.)* 360. 10.1126/science.aap8757.
- Arnold M., Raffler J., Pfeufer A., Suhre K., Kastenmüller G., 2014. SNIIPA: an interactive, genetic variant-centered annotation browser. *Bioinformatics* (2014). <http://www.snipa.org>.
- Avramopoulos, D., 2018. Recent Advances in the Genetics of Schizophrenia. *Molecular neuropsychiatry* 4, 35–51. 10.1159/000488679.
- Aziz Azzam, A., Rasheed Bahgat, D., Hosny Shahin, R., Azme Nasralla, R., 2018. Association study between polymorphisms of dopamine transporter gene (SLC6A3), dopamine D1 receptor gene (DRD1), and autism. *J Med Sci Res* 1, 59. 10.4103/JMISR.JMISR_8_18.
- Bakhshi, K., Chance, S.A., 2015. The neuropathology of schizophrenia: A selective review of past studies and emerging themes in brain structure and cytoarchitecture. *Neuroscience* 303, 82–102. 10.1016/j.neuroscience.2015.06.028.

7 Literaturverzeichnis

- Bakker, P.I.W. de, Yelensky, R., Pe'er, I., Gabriel, S.B., Daly, M.J., Altshuler, D., 2005. Efficiency and power in genetic association studies. *Nature genetics* 37, 1217–1223. 10.1038/ng1669.
- Bammann, K., Wawro, N., 2006. Die Einbeziehung genetischer Faktoren in Studien der Epidemiologie. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz* 49, 974–981. 10.1007/s00103-006-0042-4.
- Batel, P., Houchi, H., Daoust, M., Ramoz, N., Naassila, M., Gorwood, P., 2008. A haplotype of the DRD1 gene is associated with alcohol dependence. *Alcoholism, clinical and experimental research* 32, 567–572. 10.1111/j.1530-0277.2008.00618.x.
- Beaulieu, J.-M., Espinoza, S., Gainetdinov, R.R., 2015. Dopamine receptors - IUPHAR Review 13. *British journal of pharmacology* 172, 1–23. 10.1111/bph.12906.
- Beaulieu, J.-M., Gainetdinov, R.R., 2011. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacological reviews* 63, 182–217. 10.1124/pr.110.002642.
- Bobb, A.J., Addington, A.M., Sidransky, E., Gornick, M.C., Lerch, J.P., Greenstein, D.K., Clasen, L.S., Sharp, W.S., Inoff-Germain, G., Wavrant-De Vrièze, F., Arcos-Burgos, M., Straub, R.E., Hardy, J.A., Castellanos, F.X., Rapoport, J.L., 2005. Support for association between ADHD and two candidate genes: NET1 and DRD1. *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics* 134B, 67–72. 10.1002/ajmg.b.30142.
- Brisch, R., Saniotis, A., Wolf, R., Bielau, H., Bernstein, H.-G., Steiner, J., Bogerts, B., Braun, K., Braun, A.K., Jankowski, Z., Kumaratilake, J., Kumaritlake, J., Henneberg, M., Gos, T., 2014. The role of dopamine in schizophrenia from a neurobiological and evolutionary perspective: Old fashioned, but still in vogue. *Frontiers in psychiatry* 5, 47. 10.3389/fpsy.2014.00047.
- Brown, A.S., Derkits, E.J., 2010. Prenatal infection and schizophrenia: A review of epidemiologic and translational studies. *The American journal of psychiatry* 167, 261–280. 10.1176/appi.ajp.2009.09030361.
- Bundesgesundheitsblatt, 2011. Anforderungen an die Hygiene bei Punktionen und Injektionen. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz* 54, 1135–1144. 10.1007/s00103-011-1352-8.
- Bundesgesundheitsblatt, 2016. Händehygiene in Einrichtungen des Gesundheitswesens (Teil I): Krankenhaus-Hygiene + Infektionsverhütung. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz* 38, 239–249. 10.1016/j.khinf.2016.12.012.
- Cariaga-Martinez, A., Saiz-Ruiz, J., Alelú-Paz, R., 2016. From Linkage Studies to Epigenetics: What We Know and What We Need to Know in the Neurobiology of Schizophrenia. *Frontiers in neuroscience* 10, 202. 10.3389/fnins.2016.00202.

- Casadó-Anguera, V., Cortés, A., Casadó, V., Moreno, E., 2019. Targeting the receptor-based interactome of the dopamine D1 receptor: Looking for heteromer-selective drugs. *Expert opinion on drug discovery* 14, 1297–1312. 10.1080/17460441.2019.1664469.
- Castillejos, M.C., Martín-Pérez, C., Moreno-Küstner, B., 2018. A systematic review and meta-analysis of the incidence of psychotic disorders: The distribution of rates and the influence of gender, urbanicity, immigration and socio-economic level.
- Chiang, M., Natarajan, R., Fan, X., 2016. Vitamin D in schizophrenia: A clinical review. *Evidence-based mental health* 19, 6–9. 10.1136/eb-2015-102117.
- Christen, P., Jaussi, R., Benoit, R., 2016. Neurotransmitter; Photo-, Geruchs- und Geschmacksrezeptoren; Chemotaxis bei Eukaryonten, in: Christen, P., Jaussi, R., Benoit, R. (Eds.), *Biochemie und Molekularbiologie*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 363–374.
- Cichon, S., Nöthen, M.M., Rietschel, M., Körner, J., Propping, P., 1994. Single-strand conformation analysis (SSCA) of the dopamine D1 receptor gene (DRD1) reveals no significant mutation in patients with schizophrenia and manic depression. *Biological psychiatry* 36, 850–853. 10.1016/0006-3223(94)90597-5.
- Comi, C., Ferrari, M., Marino, F., Riboldazzi, G., Rosa, S., Cantello, R., Bono, G., Consentino, M., 2016. Polymorphisms of dopamine receptor genes are associated to increased risk of visual hallucinations in Italian Parkinson's disease patients. *Parkinsonism & related disorders* 22, e170. 10.1016/j.parkreldis.2015.10.414.
- Corvin, A., Sullivan, P.F., 2016. What Next in Schizophrenia Genetics for the Psychiatric Genomics Consortium? *Schizophrenia bulletin* 42, 538–541. 10.1093/schbul/sbw014.
- Cui, D., Jiang, K., 2012. Research in China on the molecular genetics of schizophrenia. *Shanghai archives of psychiatry* 24, 187–199. 10.3969/j.issn.1002-0829.2012.04.001.
- Dandash, O., Pantelis, C., Fornito, A., 2017. Dopamine, fronto-striato-thalamic circuits and risk for psychosis. *Schizophrenia research* 180, 48–57. 10.1016/j.schres.2016.08.020.
- Davis, J., Eyre, H., Jacka, F.N., Dodd, S., Dean, O., McEwen, S., Debnath, M., McGrath, J., Maes, M., Amminger, P., McGorry, P.D., Pantelis, C., Berk, M., 2016. A review of vulnerability and risks for schizophrenia: Beyond the two hit hypothesis. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 65, 185–194. 10.1016/j.neubiorev.2016.03.017.
- DIMDI, 2018. ICD-10-GM Version 2019, Systematisches Verzeichnis, Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme, 10. Revision, Stand: 21.September 2018. www.dimdi.de – Klassifikationen – Downloads – ICD-10-GM – Version 2019.
- Dmitrzak-Weglarz, M., Rybakowski, J.K., Slopian, A., Czerski, P.M., Leszczynska-Rodziewicz, A., Kapelski, P., Kaczmarkiewicz-Fass, M., Hauser, J., 2006. Dopamine receptor D1 gene

- 48A/G polymorphism is associated with bipolar illness but not with schizophrenia in a Polish population. *Neuropsychobiology* 53, 46–50. 10.1159/000090703.
- Dragioti, E., Wiklund, T., Siamouli, M., Moutou, K., Fountoulakis, K.N., 2017. Could PANSS be a useful tool in the determining of the stages of schizophrenia? A clinically operational approach. *Journal of psychiatric research* 86, 66–72. 10.1016/j.jpsychires.2016.11.013.
- Duarte, J.M.N., Xin, L., 2019. Magnetic Resonance Spectroscopy in Schizophrenia: Evidence for Glutamatergic Dysfunction and Impaired Energy Metabolism. *Neurochemical research* 44, 102–116. 10.1007/s11064-018-2521-z.
- Edgar, C.J., Blaettler, T., Bugarski-Kirola, D., Le Scouiller, S., Garibaldi, G.M., Marder, S.R., 2014. Reliability, validity and ability to detect change of the PANSS negative symptom factor score in outpatients with schizophrenia on select antipsychotics and with prominent negative or disorganized thought symptoms. *Psychiatry research* 218, 219–224. 10.1016/j.psychres.2014.04.009.
- Edwards, A.C., Bacanu, S.-A., Bigdeli, T.B., Moscati, A., Kendler, K.S., 2016. Evaluating the dopamine hypothesis of schizophrenia in a large-scale genome-wide association study. *Schizophrenia research* 176, 136–140. 10.1016/j.schres.2016.06.016.
- Eggers, A.E., 2013. A serotonin hypothesis of schizophrenia. *Medical hypotheses* 80, 791–794. 10.1016/j.mehy.2013.03.013.
- Erga, A.H., Dalen, I., Ushakova, A., Chung, J., Tzoulis, C., Tysnes, O.B., Alves, G., Pedersen, K.F., Maple-Grødem, J., 2018. Dopaminergic and Opioid Pathways Associated with Impulse Control Disorders in Parkinson's Disease. *Frontiers in Neurology* 9, 109. 10.3389/fneur.2018.00109.
- Escamilla, M.A., Ontiveros, A., Nicolini, H., Raventos, H., Mendoza, R., Medina, R., Munoz, R., Levinson, D., Peralta, J.M., Dassori, A., Almasy, L., 2007. A genome-wide scan for schizophrenia and psychosis susceptibility loci in families of Mexican and Central American ancestry. *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics* 144B, 193–199. 10.1002/ajmg.b.30411.
- Falkai, P., Wittchen H.-U., 2018. DSM-V, in: *DSM-V*, pp. 87–122.
- Feigenson, K.A., Kusnecov, A.W., Silverstein, S.M., 2014. Inflammation and the two-hit hypothesis of schizophrenia. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 38, 72–93. 10.1016/j.neubiorev.2013.11.006.
- Flaum, M., 1991. Diagnostic Criteria for Schizophrenia and Related Disorders: Options for DSM-IV. *Schizophrenia bulletin*.
- Foraita, R., Jäger, M., Pigeot, I., 2015. Methodisch-statistische Herausforderungen an die genombasierte Vorhersage von Erkrankungen. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz* 58, 131–138. 10.1007/s00103-014-2091-4.

7 Literaturverzeichnis

- Fusar-Poli, P., Cappucciati, M., Rutigliano, G., Heslin, M., Stahl, D., Brittenden, Z., Caverzasi, E., McGuire, P., Carpenter, W.T., 2016. Diagnostic Stability of ICD/DSM First Episode Psychosis Diagnoses: Meta-analysis. *Schizophrenia bulletin* 42, 1395–1406. 10.1093/schbul/sbw020.
- Fusar-Poli, P., McGorry, P.D., Kane, J.M., 2017. Improving outcomes of first-episode psychosis: An overview. *World psychiatry : official journal of the World Psychiatric Association (WPA)* 16, 251–265. 10.1002/wps.20446.
- Gagliardi, M., Strazzullo, M., Matarazzo, M.R., 2018. DNMT3B Functions: Novel Insights From Human Disease. *Frontiers in cell and developmental biology* 6, 140. 10.3389/fcell.2018.00140.
- Gallagher, B.J., Jones, B.J., Pardes, M., 2016. Stressful Life Events, Social Class and Symptoms of Schizophrenia. *Clinical schizophrenia & related psychoses* 10, 101–108. 10.3371/1935-1232-10.2.101.
- Gerfen, C.R., Surmeier, D.J., 2011. Modulation of striatal projection systems by dopamine. *Annual review of neuroscience* 34, 441–466. 10.1146/annurev-neuro-061010-113641.
- Giegling, I., Hosak, L., Mössner, R., Serretti, A., Bellivier, F., Claes, S., Collier, D.A., Corrales, A., DeLisi, L.E., Gallo, C., Gill, M., Kennedy, J.L., Leboyer, M., Maier, W., Marquez, M., Massat, I., Mors, O., Muglia, P., Nöthen, M.M., Ospina-Duque, J., Owen, M.J., Propping, P., Shi, Y., St Clair, D., Thibaut, F., Cichon, S., Mendlewicz, J., O'Donovan, M.C., Rujescu, D., 2017. Genetics of schizophrenia: A consensus paper of the WFSBP Task Force on Genetics. *The world journal of biological psychiatry : the official journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry* 18, 492–505. 10.1080/15622975.2016.1268715.
- Gogoi, K., 2017. Assessment of expressed emotion in family members of patients with schizophrenia in a selected Medical College Hospital, Assam. *Open Jour. of Psych. & Allied Scie.* 8, 62. 10.5958/2394-2061.2016.00045.8.
- Gottesman, I.I., Erlenmeyer-Kimling, L., 2001. Family and twin strategies as a head start in defining prodromes and endophenotypes for hypothetical early-interventions in schizophrenia. *Schizophrenia research* 51, 93–102. 10.1016/S0920-9964(01)00245-6.
- Hambrecht, M., Maurer, K., Häfner, H., Sartorius, N., 1992. Transnational stability of gender differences in schizophrenia? *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 242, 6–12. 10.1007/BF02190336.
- Han, J., Li, Y., Wang, X., 2017. Potential link between genetic polymorphisms of catechol-O-methyltransferase and dopamine receptors and treatment efficacy of risperidone on schizophrenia. *Neuropsychiatric disease and treatment* 13, 2935–2943. 10.2147/NDT.S148824.

- Haraldsson, H.M., Ettinger, U., Sigurdsson, E., 2011. Developments in schizophrenia genetics: From linkage to microchips, deletions and duplications. *Nordic journal of psychiatry* 65, 82–88. 10.3109/08039488.2011.552734.
- Hasan, A., Malchow, B., Falkai, P., Schmitt, A., 2014. Die Glutamathypothese der Schizophrenie. *Fortschritte der Neurologie-Psychiatrie* 82, 447–456. 10.1055/s-0034-1366571.
- Hedderich, J., Sachs, L., 2016. Einführung, in: Hedderich, J., Sachs, L. (Eds.), *Angewandte Statistik*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 1–27.
- Heilbronner, U., Samara, M., Leucht, S., Falkai, P., Schulze, T.G., 2016. The Longitudinal Course of Schizophrenia Across the Lifespan: Clinical, Cognitive, and Neurobiological Aspects. *Harvard Review of Psychiatry* 24, 118–128. 10.1097/HRP.0000000000000092.
- Heinz, A., Deserno, L., Reininghaus, U., 2013. Urbanicity, social adversity and psychosis. *World psychiatry : official journal of the World Psychiatric Association (WPA)* 12, 187–197. 10.1002/wps.20056.
- Hiemstra, M., Nelemans, S.A., Branje, S., van Eijk, K.R., Hottenga, J.-J., Vinkers, C.H., van Lier, P., Meeus, W., Boks, M.P., 2018. Genetic vulnerability to schizophrenia is associated with cannabis use patterns during adolescence. *Drug and alcohol dependence* 190, 143–150. 10.1016/j.drugalcdep.2018.05.024.
- Hill, M.J., Jeffries, A.R., Dobson, R.J.B., Price, J., Bray, N.J., 2012. Knockdown of the psychosis susceptibility gene ZNF804A alters expression of genes involved in cell adhesion. *Human molecular genetics* 21, 1018–1024. 10.1093/hmg/ddr532.
- Hoenicka, J., Garrido, E., Ponce, G., Rodríguez-Jiménez, R., Martínez, I., Rubio, G., Jiménez-Arriero, M.A., Palomo, T., 2010. Sexually dimorphic interaction between the DRD1 and COMT genes in schizophrenia. *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics* 153B, 948–954. 10.1002/ajmg.b.31065.
- Hoogendoorn, M.L.C., Bakker, S.C., Schnack, H.G., Selten, J.-P.C., Otten, H.G., Verduijn, W., van der Heijden, F.M.M.A., Pearson, P.L., Kahn, R.S., Sinke, R.J., 2005. No association between 12 dopaminergic genes and schizophrenia in a large Dutch sample. *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics* 134B, 6–9. 10.1002/ajmg.b.30147.
- Howes, O.D., McCutcheon, R., Owen, M.J., Murray, R.M., 2017. The Role of Genes, Stress, and Dopamine in the Development of Schizophrenia. *Biological psychiatry* 81, 9–20. 10.1016/j.biopsych.2016.07.014.
- Huang, W., Ma, J.Z., Payne, T.J., Beuten, J., Dupont, R.T., Li, M.D., 2008. Significant association of DRD1 with nicotine dependence. *Human genetics* 123, 133–140. 10.1007/s00439-007-0453-9.

- Huo, R., Wei, Z., Xiong, Y., Jiang, J., Liu, Y., Yan, Y., Shi, J., Li, W., Cui, D., Xing, Q., He, L., Qin, S., 2015. Association of dopamine receptor D1 (DRD1) polymorphisms with risperidone treatment response in Chinese schizophrenia patients. *Neuroscience letters* 584, 178–183. 10.1016/j.neulet.2014.08.041.
- Hwang, R., Souza, R.P., Tiwari, A.K., Zai, C.C., Müller, D.J., Potkin, S.G., Lieberman, J.A., Meltze, H.Y., Kennedy, J.L., 2011. Gene-gene interaction analyses between NMDA receptor subunit and dopamine receptor gene variants and clozapine response. *Pharmacogenomics* 12, 277–291. 10.2217/pgs.10.182.
- Jablensky, A., 2010. The diagnostic concept of schizophrenia: Its history, evolution, and future prospects. *Dialogues in clinical neuroscience* 12, 271–287.
- Jackson, D.M., Westlind-Danielsson, A., 1994. Dopamine receptors: Molecular biology, biochemistry and behavioural aspects. *Pharmacology & Therapeutics* 64, 291–370. 10.1016/0163-7258(94)90041-8.
- Jäger, M., Bottlender, R., Strauss, A., Möller, H.-J., 2004. Klassifikation der funktionellen Psychosen: Die Bedeutung der ICD-10-Diagnosen (Forschungskriterien) für die Vorhersage des Langzeitverlaufes. *Fortschritte der Neurologie-Psychiatrie* 72, 70–78. 10.1055/s-2003-812508.
- Jäger, M., Scholz, I., Becker, T., Lang, F.U., 2014. Verlaufstypologien schizophrener Psychosen. *Fortschritte der Neurologie-Psychiatrie* 82, 457–463. 10.1055/s-0034-1366822.
- Jia, J., Yao, P., Arif, A., Fox, P.L., 2013. Regulation and dysregulation of 3'UTR-mediated translational control. *Current opinion in genetics & development* 23, 29–34. 10.1016/j.gde.2012.12.004.
- Jiménez, K.M., Pereira-Morales, A.J., Forero, D.A., 2018. A Functional Polymorphism in the DRD1 Gene, That Modulates Its Regulation by miR-504, Is Associated with Depressive Symptoms. *Psychiatry investigation* 15, 402–406. 10.30773/pi.2017.10.16.1.
- Kao, Y.-C., Liu, Y.-P., 2010. Effects of age of onset on clinical characteristics in schizophrenia spectrum disorders. *BMC psychiatry* 10, 1–11. 10.1186/1471-244X-10-63.
- Katschnig, H., 2018. Psychiatry's contribution to the public stereotype of schizophrenia: Historical considerations. *Journal of evaluation in clinical practice* 24, 1093–1100. 10.1111/jep.13011.
- Kay, S.R., Fiszbein, A., Opler, L.A., 1987. The Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) for Schizophrenia. *Schizophrenia bulletin* 13, 261–276. 10.1093/schbul/13.2.261.
- Kay, S.R., Opler, L.A., Spitzer, R.L., Williams, J.B.W., Fiszbein, A., Gorelick, A., 1991. SCID-PANSS: Two-tier diagnostic system for psychotic disorders. *Comprehensive psychiatry* 32, 355–361. 10.1016/0010-440X(91)90085-Q.

- Keeley, J.W., Gaebel, W., 2018. Symptom rating scales for schizophrenia and other primary psychotic disorders in ICD-11. *Epidemiology and psychiatric sciences* 27, 219–224. 10.1017/S2045796017000270.
- Kendler, K.S., 2015. A joint history of the nature of genetic variation and the nature of schizophrenia. *Molecular psychiatry* 20, 77–83. 10.1038/mp.2014.94.
- Kirkpatrick, B., Miller, B., García-Rizo, C., Fernandez-Egea, E., 2014. Schizophrenia: A systemic disorder. *Clinical schizophrenia & related psychoses* 8, 73–79. 10.3371/CSRP.KIMI.031513.
- Lai, I.-C., Mo, G.-H., Chen, M.-L., Wang, Y.-C., Chen, J.-Y., Liao, D.-L., Bai, Y.-M., Lin, C.-C., Chen, T.-T., Liou, Y.-J., 2010. Analysis of genetic variations in the dopamine D1 receptor (<Emphasis Type="Italic">DRD1</Emphasis>) gene and antipsychotics-induced tardive dyskinesia in schizophrenia. *Eur J Clin Pharmacol*, 383–388. 10.1007/s00228-010-0967-2.
- Laruelle, M., 2014. Schizophrenia: From dopaminergic to glutamatergic interventions. *Current opinion in pharmacology* 14, 97–102. 10.1016/j.coph.2014.01.001.
- Lee, K.Y., Joo, E.-J., Ji, Y.I., Kim, D.-H., Park, J.B., Chung, I.-W., Lee, S.I., Joo, Y.H., Ahn, Y.M., Song, J.Y., Kim, Y.S., 2011. Associations between DRDs and schizophrenia in a Korean population: Multi-stage association analyses. *Experimental & molecular medicine* 43, 44–52. 10.3858/emm.2011.43.1.005.
- Lee, S.H., DeCandia, T.R., Ripke, S., Yang, J., Sullivan, P.F., Goddard, M.E., Keller, M.C., Visscher, P.M., Wray, N.R., 2012. Estimating the proportion of variation in susceptibility to schizophrenia captured by common SNPs. *Nature genetics* 44, 247–250. 10.1038/ng.1108.
- Lee, S.H., Ripke, S., Neale, B.M., Faraone, S.V., Purcell, S.M., Perlis, R.H., Mowry, B.J., Thapar, A., Goddard, M.E., Witte, J.S., Absher, D., Agartz, I., Akil, H., Amin, F., Andreassen, O.A., Anjorin, A., Anney, R., Anttila, V., Arking, D.E., Asherson, P., Azevedo, M.H., Backlund, L., Badner, J.A., Bailey, A.J., Banaschewski, T., Barchas, J.D., Barnes, M.R., Barrett, T.B., Bass, N., Battaglia, A., Bauer, M., Bayés, M., Bellivier, F., Bergen, S.E., Berrettini, W., Betancur, C., Bettecken, T., Biederman, J., Binder, E.B., Black, D.W., Blackwood, D.H.R., Bloss, C.S., Boehnke, M., Boomsma, D.I., Breen, G., Breuer, R., Bruggeman, R., Cormican, P., Buccola, N.G., Buitelaar, J.K., Bunney, W.E., Buxbaum, J.D., Byerley, W.F., Byrne, E.M., Caesar, S., Cahn, W., Cantor, R.M., Casas, M., Chakravarti, A., Chambert, K., Choudhury, K., Cichon, S., Cloninger, C.R., Collier, D.A., Cook, E.H., Coon, H., Cormand, B., Corvin, A., Coryell, W.H., Craig, D.W., Craig, I.W., Crosbie, J., Cuccaro, M.L., Curtis, D., Czamara, D., Datta, S., Dawson, G., Day, R., Geus, E.J. de, Degenhardt, F., Djurovic, S., Donohoe, G.J., Doyle, A.E., Duan, J., Dudbridge, F., Duketis, E., Eibstein, R.P., Edenberg, H.J., Elia, J., Ennis, S., Etain, B., Fanous, A., Farmer,

A.E., Ferrier, I.N., Flickinger, M., Fombonne, E., Foroud, T., Frank, J., Franke, B., Fraser, C., Freedman, R., Freimer, N.B., Freitag, C.M., Friedl, M., Frisén, L., Gallagher, L., Gejman, P.V., Georgieva, L., Gershon, E.S., Geschwind, D.H., Giegling, I., Gill, M., Gordon, S.D., Gordon-Smith, K., Green, E.K., Greenwood, T.A., Grice, D.E., Gross, M., Grozeva, D., Guan, W., Gurling, H., Haan, L. de, Haines, J.L., Hakonarson, H., Hallmayer, J., Hamilton, S.P., Hamshere, M.L., Hansen, T.F., Hartmann, A.M., Hautzinger, M., Heath, A.C., Henders, A.K., Herms, S., Hickie, I.B., Hipolito, M., Hoefels, S., Holmans, P.A., Holsboer, F., Hoogendijk, W.J., Hottenga, J.-J., Hultman, C.M., Hus, V., Ingason, A., Ising, M., Jamain, S., Jones, E.G., Jones, I., Jones, L., Tzeng, J.-Y., Kähler, A.K., Kahn, R.S., Kandaswamy, R., Keller, M.C., Kennedy, J.L., Kenny, E., Kent, L., Kim, Y., Kirov, G.K., Klauck, S.M., Klei, L., Knowles, J.A., Kohli, M.A., Koller, D.L., Konte, B., Korszun, A., Krabbendam, L., Krasucki, R., Kuntsi, J., Kwan, P., Landén, M., Långström, N., Lathrop, M., Lawrence, J., Lawson, W.B., Leboyer, M., Ledbetter, D.H., Lee, P.H., Lencz, T., Lesch, K.-P., Levinson, D.F., Lewis, C.M., Li, J., Lichtenstein, P., Lieberman, J.A., Lin, D.-Y., Linszen, D.H., Liu, C., Lohoff, F.W., Loo, S.K., Lord, C., Lowe, J.K., Lucae, S., MacIntyre, D.J., Madden, P.A.F., Maestrini, E., Magnusson, P.K.E., Mahon, P.B., Maier, W., Malhotra, A.K., Mane, S.M., Martin, C.L., Martin, N.G., Mattheisen, M., Matthews, K., Mattingsdal, M., McCarroll, S.A., McGhee, K.A., McGough, J.J., McGrath, P.J., McGuffin, P., McInnis, M.G., McIntosh, A., McKinney, R., McLean, A.W., McMahon, F.J., McMahon, W.M., McQuillin, A., Medeiros, H., Medland, S.E., Meier, S., Melle, I., Meng, F., Meyer, J., Middeldorp, C.M., Middleton, L., Milanova, V., Miranda, A., Monaco, A.P., Montgomery, G.W., Moran, J.L., Moreno-De-Luca, D., Morken, G., Morris, D.W., Morrow, E.M., Moskvina, V., Muglia, P., Mühleisen, T.W., Muir, W.J., Müller-Myhsok, B., Murtha, M., Myers, R.M., Myin-Germeys, I., Neale, M.C., Nelson, S.F., Nievergelt, C.M., Nikolov, I., Nimgaonkar, V., Nolen, W.A., Nöthen, M.M., Nurnberger, J.I., Nwulia, E.A., Nyholt, D.R., O'Dushlaine, C., Oades, R.D., Olincy, A., Oliveira, G., Olsen, L., Ophoff, R.A., Osby, U., Owen, M.J., Palotie, A., Parr, J.R., Paterson, A.D., Pato, C.N., Pato, M.T., Penninx, B.W., Pergadia, M.L., Pericak-Vance, M.A., Pickard, B.S., Pimm, J., Piven, J., Posthuma, D., Potash, J.B., Poustka, F., Propping, P., Puri, V., Quedsted, D.J., Quinn, E.M., Ramos-Quiroga, J.A., Rasmussen, H.B., Raychaudhuri, S., Rehnström, K., Reif, A., Ribasés, M., Rice, J.P., Rietschel, M., Roeder, K., Roeyers, H., Rossin, L., Rothenberger, A., Rouleau, G., Ruderfer, D., Rujescu, D., Sanders, A.R., Sanders, S.J., Santangelo, S.L., Sergeant, J.A., Schachar, R., Schalling, M., Schatzberg, A.F., Scheftner, W.A., Schellenberg, G.D., Scherer, S.W., Schork, N.J., Schulze, T.G., Schumacher, J., Schwarz, M., Scolnick, E., Scott, L.J., Shi, J., Shilling, P.D., Shyn, S.I., Silverman, J.M., Slager, S.L., Smalley, S.L., Smit, J.H., Smith, E.N., Sonuga-Barke, E.J.S., St Clair, D., State, M., Steffens, M., Steinhausen, H.-C., Strauss, J.S., Strohmaier, J., Stroup, T.S., Sutcliffe, J.S., Szatmari, P.,

7 Literaturverzeichnis

- Szelinger, S., Thirumalai, S., Thompson, R.C., Todorov, A.A., Tozzi, F., Treutlein, J., Uhr, M., van den Oord, E.J.C.G., van Grootheest, G., van Os, J., Vicente, A.M., Vieland, V.J., Vincent, J.B., Visscher, P.M., Walsh, C.A., Wassink, T.H., Watson, S.J., Weissman, M.M., Werge, T., Wienker, T.F., Wijsman, E.M., Willemsen, G., Williams, N., Willsey, A.J., Witt, S.H., Xu, W., Young, A.H., Yu, T.W., Zammit, S., Zandi, P.P., Zhang, P., Zitman, F.G., Zöllner, S., Devlin, B., Kelsoe, J.R., Sklar, P., Daly, M.J., O'Donovan, M.C., Craddock, N., Sullivan, P.F., Smoller, J.W., Kendler, K.S., Wray, N.R., 2013. Genetic relationship between five psychiatric disorders estimated from genome-wide SNPs. *Nature genetics* 45, 984–994. 10.1038/ng.2711.
- Leuner, K., Müller, W., 2007. Dopamine in the Prefrontal Cortex and its Different Modulation by Conventional and Atypical Antipsychotics. *Pharmacopsychiatry* 40, S17-S26. 10.1055/s-2007-992768.
- Levrán, O., Randesi, M., da Rosa, J.C., Ott, J., Rotrosen, J., Adelson, M., Kreek, M.J., 2015. Overlapping dopaminergic pathway genetic susceptibility to heroin and cocaine addictions in African Americans. *Annals of human genetics* 79, 188–198. 10.1111/ahg.12104.
- Lewis, C.M., Levinson, D.F., Wise, L.H., DeLisi, L.E., Straub, R.E., Hovatta, I., Williams, N.M., Schwab, S.G., Pulver, A.E., Faraone, S.V., Brzustowicz, L.M., Kaufmann, C.A., Garver, D.L., Gurling, H.M.D., Lindholm, E., Coon, H., Moises, H.W., Byerley, W., Shaw, S.H., Mesen, A., Sherrington, R., O'Neill, F.A., Walsh, D., Kendler, K.S., Ekelund, J., Paunio, T., Lönnqvist, J., Peltonen, L., O'Donovan, M.C., Owen, M.J., Wildenauer, D.B., Maier, W., Nestadt, G., Blouin, J.-L., Antonarakis, S.E., Mowry, B.J., Silverman, J.M., Crowe, R.R., Cloninger, C.R., Tsuang, M.T., Malaspina, D., Harkavy-Friedman, J.M., Svrakic, D.M., Bassett, A.S., Holcomb, J., Kalsi, G., McQuillin, A., Brynjolfson, J., Sigmundsson, T., Petursson, H., Jazin, E., Zoëga, T., Helgason, T., 2003. Genome Scan Meta-Analysis of Schizophrenia and Bipolar Disorder, Part II: Schizophrenia. *The American Journal of Human Genetics* 73, 34–48. 10.1086/376549.
- Li, Y.R., Keating, B.J., 2014. Trans-ethnic genome-wide association studies: Advantages and challenges of mapping in diverse populations. *Genome medicine* 6, 91. 10.1186/s13073-014-0091-5.
- Liechti, S., Capodilupo, G., Opler, D.J., Opler, M., Yang, L.H., 2017. A Developmental History of the Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS). *Innovations in Clinical Neuroscience* 14, 12–17.
- Liu, J.H., Zhong, H.J., Dang, J., Peng, L., Zhu, Y.S., 2015. Single-nucleotide polymorphisms in dopamine receptor D1 are associated with heroin dependence but not impulsive behavior. *Genetics and molecular research : GMR* 14, 4041–4050. 10.4238/2015.April.27.19.

- Long Fan & Yong-Gang Yao, 2018-2019. Kunming Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences. <http://www.szdb.org>.
- Maia, T.V., Frank, M.J., 2017. An Integrative Perspective on the Role of Dopamine in Schizophrenia. *Biological psychiatry* 81, 52–66. 10.1016/j.biopsych.2016.05.021.
- Malchow, B., Hasan, A., Fusar-Poli, P., Schmitt, A., Falkai, P., Wobrock, T., 2013. Cannabis abuse and brain morphology in schizophrenia: A review of the available evidence. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten* 263, 3–13. 10.1007/s00406-012-0346-3.
- Mansueto, G., Faravelli, C., 2017. Recent life events and psychosis: The role of childhood adversities. *Psychiatry research* 256, 111–117. 10.1016/j.psychres.2017.06.042.
- Marshall, C.R., Howrigan, D.P., Merico, D., Thiruvahindrapuram, B., Wu, W., Greer, D.S., Antaki, D., Shetty, A., Holmans, P.A., Pinto, D., Gujral, M., Brandler, W.M., Malhotra, D., Wang, Z., Fajardo, K.V.F., Maile, M.S., Ripke, S., Agartz, I., Albus, M., Alexander, M., Amin, F., Atkins, J., Bacanu, S.A., Belliveau, R.A., Bergen, S.E., Bertalan, M., Bevilacqua, E., Bigdeli, T.B., Black, D.W., Bruggeman, R., Buccola, N.G., Buckner, R.L., Bulik-Sullivan, B., Byerley, W., Cahn, W., Cai, G., Cairns, M.J., Champion, D., Cantor, R.M., Carr, V.J., Carrera, N., Catts, S.V., Chambert, K.D., Cheng, W., Cloninger, C.R., Cohen, D., Cormican, P., Craddock, N., Crespo-Facorro, B., Crowley, J.J., Curtis, D., Davidson, M., Davis, K.L., Degenhardt, F., Del Favero, J., DeLisi, L.E., Dikeos, D., Dinan, T., Djurovic, S., Donohoe, G., Drapeau, E., Duan, J., Dudbridge, F., Eichhammer, P., Eriksson, J., Escott-Price, V., Essioux, L., Fanous, A.H., Farh, K.-H., Farrell, M.S., Frank, J., Franke, L., Freedman, R., Freimer, N.B., Friedman, J.I., Forstner, A.J., Fromer, M., Genovese, G., Georgieva, L., Gershon, E.S., Giegling, I., Giusti-Rodríguez, P., Godard, S., Goldstein, J.I., Gratten, J., Haan, L. de, Hamshere, M.L., Hansen, M., Hansen, T., Haroutunian, V., Hartmann, A.M., Henskens, F.A., Herms, S., Hirschhorn, J.N., Hoffmann, P., Hofman, A., Huang, H., Ikeda, M., Joa, I., Kähler, A.K., Kahn, R.S., Kalaydjieva, L., Karjalainen, J., Kavanagh, D., Keller, M.C., Kelly, B.J., Kennedy, J.L., Kim, Y., Knowles, J.A., Konte, B., Laurent, C., Lee, P., Lee, S.H., Legge, S.E., Lerer, B., Levy, D.L., Liang, K.-Y., Lieberman, J., Lönqvist, J., Loughland, C.M., Magnusson, P.K.E., Maher, B.S., Maier, W., Mallet, J., Mattheisen, M., Mattingsdal, M., McCarley, R.W., McDonald, C., McIntosh, A.M., Meier, S., Meijer, C.J., Melle, I., Meshulam-Gately, R.I., Metspalu, A., Michie, P.T., Milani, L., Milanova, V., Mokrab, Y., Morris, D.W., Müller-Myhsok, B., Murphy, K.C., Murray, R.M., Myin-Germeys, I., Nenadic, I., Nertney, D.A., Nestadt, G., Nicodemus, K.K., Nisenbaum, L., Nordin, A., O'Callaghan, E., O'Dushlaine, C., Oh, S.-Y., Olincy, A., Olsen, L., O'Neill, F.A., van Os, J., Pantelis, C., Papadimitriou, G.N., Parkhomenko, E., Pato, M.T., Paunio, T., Perkins, D.O., Pers, T.H., Pietiläinen, O., Pimm, J., Pocklington, A.J., Powell, J., Price, A., Pulver, A.E., Purcell, S.M., Quedsted, D., Rasmussen, H.B., Reichenberg, A., Reimers, M.A., Richards, A.L., Roffman, J.L., Roussos, P., Ruderfer, D.M., Salomaa, V., Sanders,

- A.R., Savitz, A., Schall, U., Schulze, T.G., Schwab, S.G., Scolnick, E.M., Scott, R.J., Seidman, L.J., Shi, J., Silverman, J.M., Smoller, J.W., Söderman, E., Spencer, C.C.A., Stahl, E.A., Strengman, E., Strohmaier, J., Stroup, T.S., Suvisaari, J., Svrakic, D.M., Szatkiewicz, J.P., Thirumalai, S., Tooney, P.A., Veijola, J., Visscher, P.M., Waddington, J., Walsh, D., Webb, B.T., Weiser, M., Wildenauer, D.B., Williams, N.M., Williams, S., Witt, S.H., Wolen, A.R., Wormley, B.K., Wray, N.R., Wu, J.Q., Zai, C.C., Adolfsson, R., Andreassen, O.A., Blackwood, D.H.R., Bramon, E., Buxbaum, J.D., Cichon, S., Collier, D.A., Corvin, A., Daly, M.J., Darvasi, A., Domenici, E., Esko, T., Gejman, P.V., Gill, M., Gurling, H., Hultman, C.M., Iwata, N., Jablensky, A.V., Jönsson, E.G., Kendler, K.S., Kirov, G., Knight, J., Levinson, D.F., Li, Q.S., McCarroll, S.A., McQuillin, A., Moran, J.L., Mowry, B.J., Nöthen, M.M., Ophoff, R.A., Owen, M.J., Palotie, A., Pato, C.N., Petryshen, T.L., Posthuma, D., Rietschel, M., Riley, B.P., Rujescu, D., Sklar, P., St Clair, D., Walters, J.T.R., Werge, T., Sullivan, P.F., O'Donovan, M.C., Scherer, S.W., Neale, B.M., Sebat, J., 2017. Contribution of copy number variants to schizophrenia from a genome-wide study of 41,321 subjects. *Nature genetics* 49, 27–35. 10.1038/ng.3725.
- Matos, L.P.R. de, Santana, C.V.N., Souza, R.P., 2015. Meta-analysis of dopamine receptor D1 rs4532 polymorphism and susceptibility to antipsychotic treatment response. *Psychiatry research* 229, 586–588. 10.1016/j.psychres.2015.07.054.
- Mattei, J., Parnell, L.D., Lai, C.-Q., Garcia-Bailo, B., Adiconis, X., Shen, J., Arnett, D., Demissie, S., Tucker, K.L., Ordovas, J.M., 2009. Disparities in allele frequencies and population differentiation for 101 disease-associated single nucleotide polymorphisms between Puerto Ricans and non-Hispanic whites. *BMC genetics* 10, 45. 10.1186/1471-2156-10-45.
- McCracken, J.T., Badashova, K.K., Posey, D.J., Aman, M.G., Scahill, L., Tierney, E., Arnold, L.E., Vitiello, B., Whelan, F., Chuang, S.Z., Davies, M., Shah, B., McDougle, C.J., Nurmi, E.L., 2014. Positive effects of methylphenidate on hyperactivity are moderated by monoaminergic gene variants in children with autism spectrum disorders. *The pharmacogenomics journal* 14, 295–302. 10.1038/tpj.2013.23.
- McGrath, J., Saha, S., Welham, J., El Saadi, O., MacCauley, C., Chant, D., 2004. A systematic review of the incidence of schizophrenia: The distribution of rates and the influence of sex, urbanicity, migrant status and methodology. *BMC medicine* 2, 13. 10.1186/1741-7015-2-13.
- Missale, C., Nash, S.R., Robinson, S.W., Jaber, M., Caron, M.G., 1998. Dopamine receptors: From structure to function. *Physiological reviews* 78, 189–225. 10.1152/physrev.1998.78.1.189.

7 Literaturverzeichnis

- Mottagui-Tabar, S., Faghihi, M.A., Mizuno, Y., Engström, P.G., Lenhard, B., Wasserman, W.W., Wahlestedt, C., 2005. Identification of functional SNPs in the 5-prime flanking sequences of human genes. *BMC genomics* 6, 18. 10.1186/1471-2164-6-18.
- Münster, R.D., 1999. Wittchen, H.-U., Zaudig, M. & Fydrich, T. (1997). SKID Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV. Achse I und II. Göttingen: Hogrefe, DM 158,-. Hiller, W., Zaudig, M. & Mombour, W. (1997). IDCL Internationale Diagnosen Checklisten für DSM-IV und ICD-10. Göttingen: Hogrefe, DM 198,- bzw. DM 239,-. *Zeitschrift für Klinische Psychologie und Psychotherapie* 28, 68–70. 10.1026//0084-5345.28.1.68.
- Myles, S., Davison, D., Barrett, J., Stoneking, M., Timpson, N., 2008. Worldwide population differentiation at disease-associated SNPs. *BMC Medical Genomics* 1, 22. 10.1186/1755-8794-1-22.
- NCBI. Database of Single Nucleotide Polymorphisms (dbSNP). Bethesda MD: National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>.
- Network and Pathway Analysis Subgroup of Psychiatric Genomics Consortium, 2015. Psychiatric genome-wide association study analyses implicate neuronal, immune and histone pathways. *Nature neuroscience* 18, 199–209. 10.1038/nn.3922.
- Ng, M.Y.M., Levinson, D.F., Faraone, S.V., Suarez, B.K., DeLisi, L.E., Arinami, T., Riley, B., Paunio, T., Pulver, A.E., Irmansyah, Holmans, P.A., Escamilla, M., Wildenauer, D.B., Williams, N.M., Laurent, C., Mowry, B.J., Brzustowicz, L.M., Maziade, M., Sklar, P., Garver, D.L., Abecasis, G.R., Lerer, B., Fallin, M.D., Gurling, H.M.D., Gejman, P.V., Lindholm, E., Moises, H.W., Byerley, W., Wijsman, E.M., Forabosco, P., Tsuang, M.T., Hwu, H.-G., Okazaki, Y., Kendler, K.S., Wormley, B., Fanous, A., Walsh, D., O'Neill, F.A., Peltonen, L., Nestadt, G., Lasseter, V.K., Liang, K.Y., Papadimitriou, G.M., Dikeos, D.G., Schwab, S.G., Owen, M.J., O'Donovan, M.C., Norton, N., Hare, E., Raventos, H., Nicolini, H., Albus, M., Maier, W., Nimgaonkar, V.L., Terenius, L., Mallet, J., Jay, M., Godard, S., Nertney, D., Alexander, M., Crowe, R.R., Silverman, J.M., Bassett, A.S., Roy, M.-A., Mérette, C., Pato, C.N., Pato, M.T., Roos, J.L., Kohn, Y., Amann-Zalcenstein, D., Kalsi, G., McQuillin, A., Curtis, D., Brynjolfson, J., Sigmundsson, T., Petursson, H., Sanders, A.R., Duan, J., Jazin, E., Myles-Worsley, M., Karayiorgou, M., Lewis, C.M., 2009. Meta-analysis of 32 genome-wide linkage studies of schizophrenia. *Molecular psychiatry* 14, 774–785. 10.1038/mp.2008.135.
- Novak, G., LeBlanc, M., Zai, C., Shaikh, S., Renou, J., DeLuca, V., Bulgin, N., Kennedy, J.L., Le Foll, B., 2010. Association of polymorphisms in the BDNF, DRD1 and DRD3 genes with tobacco smoking in schizophrenia. *Annals of human genetics* 74, 291–298. 10.1111/j.1469-1809.2010.00578.x.

- O'Donovan, M.C., Craddock, N., Norton, N., Williams, H., Peirce, T., Moskvina, V., Nikolov, I., Hamshere, M., Carroll, L., Georgieva, L., Dwyer, S., Holmans, P., Marchini, J.L., Spencer, C.C.A., Howie, B., Leung, H.-T., Hartmann, A.M., Möller, H.-J., Morris, D.W., Shi, Y., Feng, G., Hoffmann, P., Propping, P., Vasilescu, C., Maier, W., Rietschel, M., Zammit, S., Schumacher, J., Quinn, E.M., Schulze, T.G., Williams, N.M., Giegling, I., Iwata, N., Ikeda, M., Darvasi, A., Shifman, S., He, L., Duan, J., Sanders, A.R., Levinson, D.F., Gejman, P.V., Cichon, S., Nöthen, M.M., Gill, M., Corvin, A., Rujescu, D., Kirov, G., Owen, M.J., Buccola, N.G., Mowry, B.J., Freedman, R., Amin, F., Black, D.W., Silverman, J.M., Byerley, W.F., Cloninger, C.R., 2008. Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up. *Nature genetics* 40, 1053–1055. 10.1038/ng.201.
- Owen, M.J., Sawa, A., Mortensen, P.B., 2016. Schizophrenia. *The Lancet* 388, 86–97. 10.1016/S0140-6736(15)01121-6.
- Palmer, B.A., Pankratz, V.S., Bostwick, J.M., 2005. The lifetime risk of suicide in schizophrenia: A reexamination. *Archives of general psychiatry* 62, 247–253. 10.1001/archpsyc.62.3.247.
- Pan, Y., Yao, J., Wang, B., 2014. Association of dopamine D1 receptor gene polymorphism with schizophrenia: A meta-analysis. *Neuropsychiatric disease and treatment* 10, 1133–1139. 10.2147/NDT.S63776.
- Pardiñas, A.F., Holmans, P., Pocklington, A.J., Escott-Price, V., Ripke, S., Carrera, N., Legge, S.E., Bishop, S., Cameron, D., Hamshere, M.L., Han, J., Hubbard, L., Lynham, A., Mantripragada, K., Rees, E., MacCabe, J.H., McCarroll, S.A., Baune, B.T., Breen, G., Byrne, E.M., Dannlowski, U., Eley, T.C., Hayward, C., Martin, N.G., McIntosh, A.M., Plomin, R., Porteous, D.J., Wray, N.R., Caballero, A., Geschwind, D.H., Huckins, L.M., Ruderfer, D.M., Santiago, E., Sklar, P., Stahl, E.A., Won, H., Agerbo, E., Als, T.D., Andreassen, O.A., Bækvad-Hansen, M., Mortensen, P.B., Pedersen, C.B., Børglum, A.D., Bybjerg-Grauholm, J., Djurovic, S., Durmishi, N., Pedersen, M.G., Golimbet, V., Grove, J., Hougaard, D.M., Mattheisen, M., Molden, E., Mors, O., Nordentoft, M., Pejovic-Milovancevic, M., Sigurdsson, E., Silagadze, T., Hansen, C.S., Stefansson, K., Stefansson, H., Steinberg, S., Tosato, S., Werge, T., Collier, D.A., Rujescu, D., Kirov, G., Owen, M.J., O'Donovan, M.C., Walters, J.T.R., 2018. Common schizophrenia alleles are enriched in mutation-intolerant genes and in regions under strong background selection. *Nature genetics* 50, 381–389. 10.1038/s41588-018-0059-2.
- Peng, S., Du, J., Jiang, H., Fu, Y., Chen, H., Sun, H., Wang, D., Yu, S., Zhao, M., 2013. The dopamine receptor D1 gene is associated with the length of interval between first heroin use and onset of dependence in Chinese Han heroin addicts. *J Neural Transm* 120, 1591–1598. 10.1007/s00702-013-1029-6.

- Penner, J.D., Brown, A.S., 2007. Prenatal infectious and nutritional factors and risk of adult schizophrenia. *Expert review of neurotherapeutics* 7, 797–805. 10.1586/14737175.7.7.797.
- Potkin, S.G., Basile, V.S., Jin, Y., Masellis, M., Badri, F., Keator, D., Wu, J.C., Alva, G., Carreon, D.T., Bunney, W.E., Fallon, J.H., Kennedy, J.L., 2003. D1 receptor alleles predict PET metabolic correlates of clinical response to clozapine. *Mol Psychiatry* 8, 109–113. 10.1038/sj.mp.4001191.
- Qin, H., Zhu, X., 2017. Calibrating Population Stratification in Association Analysis. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* 1666, 441–453. 10.1007/978-1-4939-7274-6_21.
- Rapoport, J.L., Addington, A.M., Frangou, S., Psych, M.R.C., 2005. The neurodevelopmental model of schizophrenia: Update 2005. *Mol Psychiatry* 10, 434–449. 10.1038/sj.mp.4001642.
- Re, A., Waldron, L., Quattrone, A., 2016. Control of Gene Expression by RNA Binding Protein Action on Alternative Translation Initiation Sites. *PLoS computational biology* 12, e1005198. 10.1371/journal.pcbi.1005198.
- Rees, E., O'Donovan, M.C., Owen, M.J., 2015. Genetics of schizophrenia. *Current Opinion in Behavioral Sciences* 2, 8–14. 10.1016/j.cobeha.2014.07.001.
- Ripke, S., O'Dushlaine, C., Chambert, K., Moran, J.L., Kähler, A.K., Akterin, S., Bergen, S.E., Collins, A.L., Crowley, J.J., Fromer, M., Kim, Y., Lee, S.H., Magnusson, P.K.E., Sanchez, N., Stahl, E.A., Williams, S., Wray, N.R., Xia, K., Bettella, F., Borglum, A.D., Bulik-Sullivan, B.K., Cormican, P., Craddock, N., Leeuw, C. de, Durmishi, N., Gill, M., Golimbet, V., Hamshere, M.L., Holmans, P., Hougaard, D.M., Kendler, K.S., Lin, K., Morris, D.W., Mors, O., Mortensen, P.B., Neale, B.M., O'Neill, F.A., Owen, M.J., Milovancevic, M.P., Posthuma, D., Powell, J., Richards, A.L., Riley, B.P., Ruderfer, D., Rujescu, D., Sigurdsson, E., Silagadze, T., Smit, A.B., Stefansson, H., Steinberg, S., Suvisaari, J., Tosato, S., Verhage, M., Walters, J.T., Levinson, D.F., Gejman, P.V., Laurent, C., Mowry, B.J., O'Donovan, M.C., Pulver, A.E., Schwab, S.G., Wildenauer, D.B., Dudbridge, F., Shi, J., Albus, M., Alexander, M., Campion, D., Cohen, D., Dikeos, D., Duan, J., Eichhammer, P., Godard, S., Hansen, M., Lerer, F.B., Liang, K.-Y., Maier, W., Mallet, J., Nertney, D.A., Nestadt, G., Norton, N., Papadimitriou, G.N., Ribble, R., Sanders, A.R., Silverman, J.M., Walsh, D., Williams, N.M., Wormley, B., Arranz, M.J., Bakker, S., Bender, S., Bramon, E., Collier, D., Crespo-Facorro, B., Hall, J., Iyegbe, C., Jablensky, A., Kahn, R.S., Kalaydjieva, L., Lawrie, S., Lewis, C.M., Linszen, D.H., Mata, I., McIntosh, A., Murray, R.M., Ophoff, R.A., van Os, J., Walshe, M., Weisbrod, M., Wiersma, D., Donnelly, P., Barroso, I., Blackwell, J.M., Brown, M.A., Casas, J.P., Corvin, A.P., Deloukas, P., Duncanson, A., Jankowski, J., Markus, H.S., Mathew, C.G., Palmer, C.N.A., Plomin, R., Rautanen, A., Sawcer, S.J., Trembath, R.C., Viswanathan, A.C., Wood, N.W., Spencer, C.C.A., Band, G., Bellenguez,

7 Literaturverzeichnis

- C., Freeman, C., Hellenthal, G., Giannoulatou, E., Pirinen, M., Pearson, R.D., Strange, A., Su, Z., Vukcevic, D., Langford, C., Hunt, S.E., Edkins, S., Gwilliam, R., Blackburn, H., Bumpstead, S.J., Dronov, S., Gillman, M., Gray, E., Hammond, N., Jayakumar, A., McCann, O.T., Liddle, J., Potter, S.C., Ravindrarajah, R., Ricketts, M., Tashakkori-Ghanbaria, A., Waller, M.J., Weston, P., Widaa, S., Whittaker, P., McCarthy, M.I., Stefansson, K., Scolnick, E., Purcell, S., McCarroll, S.A., Sklar, P., Hultman, C.M., Sullivan, P.F., 2013. Genome-wide association analysis identifies 13 new risk loci for schizophrenia. *Nature genetics* 45, 1150–1159. 10.1038/ng.2742.
- Robles, A.I., Yang, P., Jen, J., McClary, A.C., Calhoun, K., Bowman, E.D., Vähäkangas, K., Greathouse, K.L., Wang, Y., Olivo-Marston, S., Wenzlaff, A.S., Deng, B., Schwartz, A.G., Ryan, B.M., 2014. A DRD1 polymorphism predisposes to lung cancer among those exposed to secondhand smoke during childhood. *Cancer prevention research (Philadelphia, Pa.)* 7, 1210–1218. 10.1158/1940-6207.CAPR-14-0158.
- Rujescu, D., 2010. Neue Ergebnisse in der genetischen Forschung bei schizophrenen Psychosen, in: Möller, H.-J., Müller, N. (Eds.), *Schizophrenie — Zukunftsperspektiven in Klinik und Forschung*. Springer Vienna, Vienna, pp. 133–141.
- Rybakowski, J.K., Borkowska, A., Czerski, P.M., Kapelski, P., Dmitrzak-Weglarz, M., Hauser, J., 2005. An association study of dopamine receptors polymorphisms and the Wisconsin Card Sorting Test in schizophrenia. *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)* 112, 1575–1582. 10.1007/s00702-005-0292-6.
- Saha, S., Welham, J., Chant, D., McGrath, J., 2006. Incidence of schizophrenia does not vary with economic status of the country: Evidence from a systematic review. *Social psychiatry and psychiatric epidemiology* 41, 338–340. 10.1007/s00127-006-0041-7.
- Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature* 511, 421–427. 10.1038/nature13595.
- Schmitt, A., Malchow, B., Hasan, A., Falkai, P., 2014. The impact of environmental factors in severe psychiatric disorders. *Frontiers in neuroscience* 8, 19. 10.3389/fnins.2014.00019.
- Schmitt, A., Malchow, B., Keeser, D., Falkai, P., Hasan, A., 2015. Neurobiologie der Schizophrenie: Aktuelle Befunde von der Struktur zu den Molekülen. *Der Nervenarzt* 86, 324-6, 328-31. 10.1007/s00115-014-4115-6.
- Schmitt, A., Rujescu, D., Gawlik, M., Hasan, A., Hashimoto, K., Iceta, S., Jarema, M., Kambeitz, J., Kasper, S., Keeser, D., Kornhuber, J., Koutsouleris, N., Lanzenberger, R., Malchow, B., Saoud, M., Spies, M., Stöber, G., Thibaut, F., Riederer, P., Falkai, P., 2016. Consensus paper of the WFSBP Task Force on Biological Markers: Criteria for biomarkers and endophenotypes of schizophrenia part II: Cognition, neuroimaging and genetics. *The*

- world journal of biological psychiatry : the official journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry 17, 406–428. 10.1080/15622975.2016.1183043.
- Schwab, S.G., Eckstein, G.N., Hallmayer, J., Lerer, B., Albus, M., Borrmann, M., Lichtermann, D., Ertl, M.A., Maier, W., Wildenauer, D.B., 1997. Evidence suggestive of a locus on chromosome 5q31 contributing to susceptibility for schizophrenia in German and Israeli families by multipoint affected sib-pair linkage analysis. *Mol Psychiatry* 2, 156–160. 10.1038/sj.mp.4000263.
- Schwab, S.G., Wildenauer, D.B., 2013. Genetics of psychiatric disorders in the GWAS era: An update on schizophrenia. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten* 263, 147–154. 10.1007/s00406-013-0450-z.
- Sealfon, S.C., Olanow, C.W., 2000. Dopamine receptors: From structure to behavior. *Trends in neurosciences* 23, S34-S40. 10.1016/S1471-1931(00)00025-2.
- Sekar, A., Bialas, A.R., Rivera, H. de, Davis, A., Hammond, T.R., Kamitaki, N., Tooley, K., Presumey, J., Baum, M., van Doren, V., Genovese, G., Rose, S.A., Handsaker, R.E., Daly, M.J., Carroll, M.C., Stevens, B., McCarroll, S.A., 2016. Schizophrenia risk from complex variation of complement component 4. *Nature* 530, 177–183. 10.1038/nature16549.
- Severino, G., Congiu, D., Serreli, C., Lisa, R. de, Chillotti, C., Del Zompo, M., Piccardi, M.P., 2005. A48G polymorphism in the D1 receptor genes associated with bipolar I disorder. *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics* 134B, 37–38. 10.1002/ajmg.b.30116.
- Sklar, P., Pato, M.T., Kirby, A., Petryshen, T.L., Medeiros, H., Carvalho, C., Macedo, A., Dourado, A., Coelho, I., Valente, J., Soares, M.J., Ferreira, C.P., Lei, M., Verner, A., Hudson, T.J., Morley, C.P., Kennedy, J.L., Azevedo, M.H., Lander, E., Daly, M.J., Pato, C.N., 2004. Genome-wide scan in Portuguese Island families identifies 5q31-5q35 as a susceptibility locus for schizophrenia and psychosis. *Molecular psychiatry* 9, 213–218. 10.1038/sj.mp.4001418.
- Smoller, J.W., 2013. Disorders and borders: Psychiatric genetics and nosology. *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics* 162B, 559–578. 10.1002/ajmg.b.32174.
- Stamm, R., Bühler, K.E., 2001. Vulnerabilitätskonzepte bei psychischen Störungen. *Fortschritte der Neurologie-Psychiatrie* 69, 300–309. 10.1055/s-2001-15303.
- Stefansson, H., Ophoff, R.A., Steinberg, S., Andreassen, O.A., Cichon, S., Rujescu, D., Werge, T., Pietiläinen, O.P.H., Mors, O., Mortensen, P.B., Sigurdsson, E., Gustafsson, O., Nyegaard, M., Tuulio-Henriksson, A., Ingason, A., Hansen, T., Suvisaari, J., Lonnqvist, J., Paunio, T., Børglum, A.D., Hartmann, A., Fink-Jensen, A., Nordentoft, M., Hougaard, D., Norgaard-Pedersen, B., Böttcher, Y., Olesen, J., Breuer, R., Möller, H.-J., Giegling, I.,

7 Literaturverzeichnis

- Rasmussen, H.B., Timm, S., Mattheisen, M., Bitter, I., Réthelyi, J.M., Magnusdottir, B.B., Sigmundsson, T., Olason, P., Masson, G., Gulcher, J.R., Haraldsson, M., Fossdal, R., Thorgeirsson, T.E., Thorsteinsdottir, U., Ruggeri, M., Tosato, S., Franke, B., Strengman, E., Kiemeny, L.A., Melle, I., Djurovic, S., Abramova, L., Kaleda, V., Sanjuan, J., Frutos, R. de, Bramon, E., Vassos, E., Fraser, G., Ettinger, U., Picchioni, M., Walker, N., Toulopoulou, T., Need, A.C., Ge, D., Yoon, J.L., Shianna, K.V., Freimer, N.B., Cantor, R.M., Murray, R., Kong, A., Golimbet, V., Carracedo, A., Arango, C., Costas, J., Jönsson, E.G., Terenius, L., Agartz, I., Petursson, H., Nöthen, M.M., Rietschel, M., Matthews, P.M., Muglia, P., Peltonen, L., St Clair, D., Goldstein, D.B., Stefansson, K., Collier, D.A., 2009. Common variants conferring risk of schizophrenia. *Nature* 460, 744–747. 10.1038/nature08186.
- Sullivan, P.F., Kendler, K.S., Neale, M.C., 2003. Schizophrenia as a complex trait: Evidence from a meta-analysis of twin studies. *Archives of general psychiatry* 60, 1187–1192. 10.1001/archpsyc.60.12.1187.
- Tandon, R., Keshavan, M.S., Nasrallah, H.A., 2008. Schizophrenia, "just the facts" what we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology. *Schizophrenia research* 102, 1–18. 10.1016/j.schres.2008.04.011.
- Tandon, R., Nasrallah, H.A., Keshavan, M.S., 2009. Schizophrenia, "just the facts" 4. Clinical features and conceptualization. *Schizophrenia research* 110, 1–23. 10.1016/j.schres.2009.03.005.
- The International HapMap Consortium, 2003. The International HapMap Project. *Nature* 426, 789 EP -. 10.1038/nature02168.
- The Schizophrenia Psychiatric Genome-Wide Association Study (GWAS) Consortium, 2011. Genome-wide association study identifies five new schizophrenia loci. *Nature genetics* 43, 969–976. 10.1038/ng.940.
- Tienari, P., Wynne, L.C., Läksy, K., Moring, J., Nieminen, P., Sorri, A., Lahti, I., Wahlberg, K.-E., 2003. Genetic boundaries of the schizophrenia spectrum: Evidence from the Finnish Adoptive Family Study of Schizophrenia. *The American journal of psychiatry* 160, 1587–1594. 10.1176/appi.ajp.160.9.1587.
- Tsang, J., Fullard, J.F., Giakoumaki, S.G., Katsel, P., Karagiorga, V.E., Greenwood, T.A., Braff, D.L., Siever, L.J., Bitsios, P., Haroutunian, V., Roussos, P., 2015. The relationship between dopamine receptor D1 and cognitive performance. *NPJ schizophrenia* 1, 14002. 10.1038/npjSchz.2014.2.
- Undieh, A.S., 2010. Pharmacology of signaling induced by dopamine D(1)-like receptor activation. *Pharmacology & Therapeutics* 128, 37–60. 10.1016/j.pharmthera.2010.05.003.
- Venter, J.C., Adams, M.D., Myers, E.W., Li, P.W., Mural, R.J., Sutton, G.G., Smith, H.O., Yandell, M., Evans, C.A., Holt, R.A., Gocayne, J.D., Amanatides, P., Ballew, R.M., Huson,

D.H., Wortman, J.R., Zhang, Q., Kodira, C.D., Zheng, X.H., Chen, L., Skupski, M., Subramanian, G., Thomas, P.D., Zhang, J., Gabor Miklos, G.L., Nelson, C., Broder, S., Clark, A.G., Nadeau, J., McKusick, V.A., Zinder, N., Levine, A.J., Roberts, R.J., Simon, M., Slayman, C., Hunkapiller, M., Bolanos, R., Delcher, A., Dew, I., Fasulo, D., Flanigan, M., Florea, L., Halpern, A., Hannenhalli, S., Kravitz, S., Levy, S., Mobarry, C., Reinert, K., Remington, K., Abu-Threideh, J., Beasley, E., Biddick, K., Bonazzi, V., Brandon, R., Cargill, M., Chandramouliswaran, I., Charlab, R., Chaturvedi, K., Deng, Z., Di Francesco, V., Dunn, P., Eilbeck, K., Evangelista, C., Gabrielian, A.E., Gan, W., Ge, W., Gong, F., Gu, Z., Guan, P., Heiman, T.J., Higgins, M.E., Ji, R.R., Ke, Z., Ketchum, K.A., Lai, Z., Lei, Y., Li, Z., Li, J., Liang, Y., Lin, X., Lu, F., Merkulov, G.V., Milshina, N., Moore, H.M., Naik, A.K., Narayan, V.A., Neelam, B., Nuskern, D., Rusch, D.B., Salzberg, S., Shao, W., Shue, B., Sun, J., Wang, Z., Wang, A., Wang, X., Wang, J., Wei, M., Wides, R., Xiao, C., Yan, C., Yao, A., Ye, J., Zhan, M., Zhang, W., Zhang, H., Zhao, Q., Zheng, L., Zhong, F., Zhong, W., Zhu, S., Zhao, S., Gilbert, D., Baumhueter, S., Spier, G., Carter, C., Cravchik, A., Woodage, T., Ali, F., An, H., Awe, A., Baldwin, D., Baden, H., Barnstead, M., Barrow, I., Beeson, K., Busam, D., Carver, A., Center, A., Cheng, M.L., Curry, L., Danaher, S., Davenport, L., Desilets, R., Dietz, S., Dodson, K., Doup, L., Ferriera, S., Garg, N., Gluecksmann, A., Hart, B., Haynes, J., Haynes, C., Heiner, C., Hladun, S., Hostin, D., Houck, J., Howland, T., Ibegwam, C., Johnson, J., Kalush, F., Kline, L., Koduru, S., Love, A., Mann, F., May, D., McCawley, S., McIntosh, T., McMullen, I., Moy, M., Moy, L., Murphy, B., Nelson, K., Pfannkoch, C., Pratts, E., Puri, V., Qureshi, H., Reardon, M., Rodriguez, R., Rogers, Y.H., Rombad, D., Ruhfel, B., Scott, R., Sitter, C., Smallwood, M., Stewart, E., Strong, R., Suh, E., Thomas, R., Tint, N.N., Tse, S., Vech, C., Wang, G., Wetter, J., Williams, S., Williams, M., Windsor, S., Winn-Deen, E., Wolfe, K., Zaveri, J., Zaveri, K., Abril, J.F., Guigó, R., Campbell, M.J., Sjolander, K.V., Karlak, B., Kejariwal, A., Mi, H., Lazareva, B., Hatton, T., Narechania, A., Diemer, K., Muruganujan, A., Guo, N., Sato, S., Bafna, V., Istrail, S., Lippert, R., Schwartz, R., Walenz, B., Yooshep, S., Allen, D., Basu, A., Baxendale, J., Blick, L., Caminha, M., Carnes-Stine, J., Caulk, P., Chiang, Y.H., Coyne, M., Dahlke, C., Mays, A., Dombroski, M., Donnelly, M., Ely, D., Esparham, S., Fosler, C., Gire, H., Glanowski, S., Glasser, K., Glodek, A., Gorokhov, M., Graham, K., Gropman, B., Harris, M., Heil, J., Henderson, S., Hoover, J., Jennings, D., Jordan, C., Jordan, J., Kasha, J., Kagan, L., Kraft, C., Levitsky, A., Lewis, M., Liu, X., Lopez, J., Ma, D., Majoros, W., McDaniel, J., Murphy, S., Newman, M., Nguyen, T., Nguyen, N., Nodell, M., Pan, S., Peck, J., Peterson, M., Rowe, W., Sanders, R., Scott, J., Simpson, M., Smith, T., Sprague, A., Stockwell, T., Turner, R., Venter, E., Wang, M., Wen, M., Wu, D., Wu, M., Xia, A., Zandieh, A., Zhu, X., 2001. The sequence of the human genome. *Science* (New York, N.Y.) 291, 1304–1351. [10.1126/science.1058040](https://doi.org/10.1126/science.1058040).

- Vieland, V.J., Walters, K.A., Lehner, T., Azaro, M., Tobin, K., Huang, Y., Brzustowicz, L.M., 2014. Revisiting schizophrenia linkage data in the NIMH Repository: Reanalysis of regularized data across multiple studies. *The American journal of psychiatry* 171, 350–359. 10.1176/appi.ajp.2013.11121766.
- Weinshilboum, R.M., Otterness, D.M., Szumlanski, C.L., 1999. Methylation pharmacogenetics: Catechol O-methyltransferase, thiopurine methyltransferase, and histamine N-methyltransferase. *Annual review of pharmacology and toxicology* 39, 19–52. 10.1146/annurev.pharmtox.39.1.19.
- Yang, B., Niu, W., Chen, S., Xu, F., Li, X., Wu, X., Cao, Y., Zhang, R., Yang, F., Wang, L., Li, W., Xu, Y., He, L., He, G., 2016. Association study of dopamine receptor genes polymorphisms with the risk of schizophrenia in the Han Chinese population. *Psychiatry research* 245, 361–364. 10.1016/j.psychres.2016.08.052.
- Yao, J., Ding, M., Xing, J., Xuan, J., Pang, H., Pan, Y., Wang, B., 2014. Genetic association between the dopamine D1-receptor gene and paranoid schizophrenia in a northern Han Chinese population. *Neuropsychiatric disease and treatment* 10, 645–652. 10.2147/NDT.S61227.
- Zaharieva, I., Georgieva, L., Nikolov, I., Kirov, G., Owen, M.J., O'Donovan, M.C., Toncheva, D., 2008. Association study in the 5q31-32 linkage region for schizophrenia using pooled DNA genotyping. *BMC psychiatry* 8, 11. 10.1186/1471-244X-8-11.
- Zainal Abidin, S., Tan, E.L., Chan, S.-C., Jaafar, A., Lee, A.X., Abd Hamid, M.H.N., Abdul Murad, N.A., Pakarul Razy, N.F., Azmin, S., Ahmad Annuar, A., Lim, S.Y., Cheah, P.-S., Ling, K.-H., Mohamed Ibrahim, N., 2015. DRD and GRIN2B polymorphisms and their association with the development of impulse control behaviour among Malaysian Parkinson's disease patients. *BMC neurology* 15, 59. 10.1186/s12883-015-0316-2.
- Zhang, C., Fang, Y., Xie, B., Cheng, W., Du, Y., Wang, D., Yu, S., 2010. No genetic association between dopamine D1 receptor gene and early onset schizophrenia. *Psychiatry research* 177, 350–353. 10.1016/j.psychres.2009.12.011.
- Zhang, J.-P., Malhotra, A.K., 2013. Genetics of schizophrenia: What do we know? *Current psychiatry* 12, 24–33.
- Zhao, Z., Li, S., Zhang, L., Deng, X., Chen, T., Zeng, K., Mo, X., 2012. Dopamine D1 receptor gene polymorphism is associated with myocardial infarction. *DNA and cell biology* 31, 1010–1014. 10.1089/dna.2011.1466.
- Zhu, F., Yan, C.-x., Wang, Q., Zhu, Y.-s., Zhao, Y., Huang, J., Zhang, H.-b., Gao, C.-g., Li, S.-b., 2011. An association study between dopamine D1 receptor gene polymorphisms and the risk of schizophrenia. *Brain research* 1420, 106–113. 10.1016/j.brainres.2011.08.069.

7 Literaturverzeichnis

Zhu, F., Yan, C.-x., Wen, Y.-c., Wang, J., Bi, J., Zhao, Y.-l., Wei, L., Gao, C.-g., Jia, W., Li, S.-b., 2013. Dopamine D1 receptor gene variation modulates opioid dependence risk by affecting transition to addiction. PloS one 8, e70805. 10.1371/journal.pone.0070805.

8. Danksagung

An erster Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. med. Peter Falkai danken, dass ich vorliegende Arbeit an der von ihm geleiteten psychiatrischen Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität in München durchführen durfte.

Herrn Prof. Dr. med. Hans-Jürgen Möller danke ich dafür, dass ich diese Arbeit in der von ihm, zur Zeit meiner praktischen Tätigkeit, geleiteten Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität, realisieren konnte.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Dan Rujescu für die Möglichkeit zur Durchführung dieser Arbeit in seiner Forschungsgruppe, aber auch für die Auswahl und Vergabe des Themas.

Frau Privatdozentin Dr. rer. biol. hum. Ina Giegling möchte ich insbesondere für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse und das Korrekturlesen dieser Arbeit danken.

Desweiteren möchte ich mich ganz herzlich bei Frau Dr. rer. biol. hum. Annette Hartmann für die kompetente Unterstützung bezüglich des Laborteiles bedanken. Zusätzlich danke ich ihr auch für ihre engmaschige Betreuung, das Korrekturlesen und die zahlreichen Hinweise, die wesentlich zur Fertigstellung dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein Dank schließt auch Frau Dr. rer. biol. hum. Heike Konnerth ein, welche mich während des praktischen Teiles betreute und mich genau in die benutzten Diagnosesysteme einführte.

Zuletzt möchte ich allen Studienteilnehmern danken, die sich für diese Studie zur Verfügung gestellt haben, da ohne sie diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

9. Eidesstattliche Versicherung

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

„Eine Assoziationsstudie von Polymorphismen im DRD1-Gen und der Schizophrenie“ selbstständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

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

München, den 25.01.2021

Ort/Datum

Mariele Kalaitzis

Doktorandin