

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

**Direktor: Herr Professor Dr. med. P. Falkai**

**Der Einfluss von Variationen im Tachykinin 3 Rezeptorgen auf die  
Schizophrenie**

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

vorgelegt von  
Tobias Georg Keiler

aus  
Ebersberg

2022

Mit Genehmigung der medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Herr Professor Dr. med. Dan Rujescu

Mitberichterstatter: Herr Professor Dr. med. Alexander Faußner

Mitbetreuung: Frau PD Dr. rer. biol. hum. I. Giegling

Dekan: Herr Professor Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 23.06.2022

*Gewidmet meinen Eltern*

## Inhaltsverzeichnis

<b>1 Zusammenfassung</b> .....	1
<b>2 Einleitung</b> .....	2
2.1 Schizophrenie.....	2
2.1.1 Epidemiologie und Verlauf.....	3
2.1.2 Klassifikation.....	4
2.1.3 Symptomatik und Diagnose.....	6
2.1.4 Ätiologie.....	8
2.1.4.1 Umweltfaktoren.....	8
2.1.4.2 Veränderungen der Neuroanatomie.....	9
2.1.4.3 Veränderungen der Neurobiochemie.....	10
2.1.4.4 Genetik in der Schizophrenieforschung.....	12
2.1.4.5 Molekulare Genetik in der Schizophrenieforschung.....	13
2.2 Tachykinine.....	18
2.2.1 Synthese der Tachykinine.....	19
2.2.2 Gewebedistribution von Tachykininen.....	23
2.2.3 Tachykininrezeptoren.....	24
2.2.4 Distribution des NK3-Rezeptors im zentralen Nervensystem....	26
2.2.5 Rolle des NK3-Rezeptors in der Ätiologie von Erkrankungen...	28
2.2.6 Rolle des NK3-Rezeptors in der Ätiologie der Schizophrenie...	29
2.3 Fragestellung.....	32
<b>3 Material und Methoden</b> .....	33
3.1 Allgemeine Vorbedingungen.....	33
3.2 Studienteilnehmer.....	33
3.2.1 Kontrollprobanden.....	33
3.2.2 Ausschlusskriterien für das Kontrollkollektiv.....	34
3.2.3 Patienten.....	35
3.2.4 Ausschlusskriterien für das Patientenkollektiv.....	36
3.3 Laborverfahren.....	37
3.3.1 DNA-Gewinnung.....	37
3.3.2 DNA-Konzentrationsbestimmung.....	38

## Inhaltsverzeichnis

3.3.3 Genotypisierung.....	39
3.3.4 Statistische Auswertung.....	43
<b>4 Ergebnisse</b> .....	<b>44</b>
4.1 Stichprobenbeschreibung.....	44
4.2 Analyse des Markers rs17033903 des NK3-Rezeptor Gens.....	45
4.3 Analyse des Markers rs17303520 des NK3-Rezeptor Gens.....	46
4.4 Analyse des Markers rs17033923 des NK3-Rezeptor Gens.....	50
4.5 Analyse des Markers rs3796972 des NK3-Rezeptor Gens.....	52
4.6 Analyse des Markers rs6854678 des NK3-Rezeptor Gens.....	52
<b>5 Diskussion</b> .....	<b>55</b>
5.1 Diskussion der Methoden.....	56
5.2 Diskussion der Ergebnisse.....	61
5.3 Ausblick auf zukünftige Untersuchungen.....	63
<b>6 Literaturverzeichnis</b> .....	<b>65</b>
<b>7 Tabellenverzeichnis</b> .....	<b>84</b>
<b>8 Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>86</b>
<b>9 Danksagung</b> .....	<b>90</b>

## 1 Zusammenfassung

Die Schizophrenie ist eine chronische psychiatrische Erkrankung, Patienten sind durch sie in ihrer Lebensqualität und oft auch Lebenserwartung stark eingeschränkt. Die Ätiologie der Erkrankung ist multifaktoriell, die genauen Ursachen sind weitgehend ungeklärt. Bei ausgeprägter Heritabilität beträgt das Lebenszeiterkrankungsrisiko annähernd 1%. Bei der Suche nach kausalen genetischen Loci konnten in den vergangenen Jahren mehrere Gene mit jeweils nur geringem Beitrag an der Entstehung gefunden werden. Die Neurokinine (Synonym: Tachykinine) mit ihren bekanntesten Vertretern Substanz P, Neurokinin A und Neurokinin B, sind mit ihren Rezeptoren NK1, NK2 und NK3, Teil eines Neurotransmittersystems, das im zentralen- und peripheren Nervensystem sowie in nicht neuronalen Geweben nachgewiesen wird. Die Physiologie, Pathologie und Anatomie des Neurokininsystems ist nicht vollständig geklärt. Das in der vorliegenden Arbeit untersuchte Neurokinin-3-Rezeptor Gen (TAC3R) ist auf Chromosom 4q24 lokalisiert. Das Genprodukt ist der Neurokinin-3-Rezeptor (NK3-Rezeptor). Nach Stimulation des Rezeptors kommt es im Tierversuch zu einer gesteigerten Dopaminausschüttung im zentralen Nervensystem mit dopamin- und serotoninvermittelten Verhaltensweisen, die durch den jeweiligen Antagonisten inhibiert werden. In klinischen Studien mit schizophrenen Patienten konnte eine Verbesserung der Positivsymptomatik durch die Gabe von NK3-Rezeptor Antagonisten gezeigt werden. Es ist daher naheliegend, dass der NK3-Rezeptor die Pathogenese der Schizophrenie beeinflusst und ein funktionelles Kandidatengen darstellt. Fall-Kontroll-Assoziationsstudien zur Schizophrenie, die Single Nukleotid Polymorphismen (SNPs) des NK3-Rezeptor Gens untersuchten, wurden nur an einer japanischen Population von Saito et al. 2008 durchgeführt. Die japanischen Stichprobe ergab keine Hinweise für eine Assoziation mit Schizophrenie. Man kam zu dem Schluss, dass das NK3-Rezeptor Gen selbst keine Rolle bei der Entwicklung einer Schizophrenie bei Patienten japanischer Abstammung spielt, die untersuchten SNPs jedoch möglicherweise nicht alle Haplotypen abdeckten und es andere Varianten sind, die mit Schizophrenie assoziiert sein können. In der vorliegenden Fall-Kontroll-Assoziationsstudie zu fünf SNPs des Gens an 506 Patienten und 600 Kontrollen kaukasischer Abstammung ergab sich bei der Verteilung der Allel- und Genotypenfrequenzen kein Hinweis für eine Assoziation der Polymorphismen mit Schizophrenie. Die negativen Ergebnisse der hier vorliegenden Studie, sowie einer bereits veröffentlichten Studie zum NK3 Rezeptorgen als auch fehlende Hinweise aus großen genomweiten Assoziationsstudien legen nahe, dass das Kandidatengen eine eher untergeordnete Rolle bei der Schizophrenie spielt.

## **2 Einleitung**

### **2.1 Schizophrenie**

Schizophrene Psychosen gehören zur Hauptgruppe der endogenen Psychosen (Möller, 2005). Es kommt zum Auftreten von charakteristischen, interindividuell oftmals sehr variablen psychopathologischen Querschnittsbefunden mit den Hauptmerkmalen Wahn, Halluzinationen, formalen Denkstörungen, Ich-Störungen, Affektstörungen sowie psychomotorischen Störungen.

Die Intensität der einzelnen Symptome sowie der zeitliche Verlauf der Erkrankung können sich zwischen den Patienten stark unterscheiden.

Die Entstehung der Erkrankung ist multifaktoriell bedingt, wobei eine starke genetische Komponente als auch Umweltfaktoren eine zentrale Rolle spielen (Tandon et al., 2009).

#### **2.1.1 Epidemiologie und Verlauf**

Der Anteil von Personen einer Population, die zum Zeitpunkt der Erhebung an schizophrenen Psychosen erkrankt sind (Lebenszeitprävalenz), liegt weltweit durchschnittlich bei ca. 0,4%.

Die Anzahl der Neuerkrankungen/Jahr (Inzidenzrate) beträgt ca. 0,2 bis 0,4 pro 1000 Einwohner, unabhängig von ethnischer Abstammung und ökonomischen Status.

Die durchschnittliche Wahrscheinlichkeit, an Schizophrenie zu erkranken, beträgt ca. 0,72% (Saha et al., 2005). Männer haben ein ca. 1,4-fach höheres Risiko als Frauen, an einer Schizophrenie zu erkranken (Aleman et al., 2003). Das Manifestationsalter für den Ausbruch der Erkrankung liegt bei Männern mit einem durchschnittlichen Ersterkrankungsalter von 26,7 Jahren um drei bis vier Jahre früher als bei Frauen mit einem durchschnittlichen Alter von 30,1 Jahren bei Ersterkrankung (Hambrecht et al., 1992). Bei Frauen ist jedoch ein zweiter Erkrankungsgipfel in der Menopause zu beobachten (Aleman et al., 2003). Der spätere Beginn sowie der zweite Gipfel in der Menopause bei Frauen wird mit einer protektiven Wirkung von Östrogen auf D2-Rezeptoren erklärt (Häfner, 2003; Boerma et al., 2005). Die Lebenszeitprävalenz zeigt sich mit einem etwa 1,4-fachen Erkrankungsrisiko für Männer gegenüber Frauen erhöht (McGrath et al., 2004). Die meisten schizophrenen Erkrankungen beginnen zwischen der Pubertät und dem 30. Lebensjahr. Die jahreszeitliche Verteilung der Geburtsdaten schizophrener Patienten zeigt eine überdurchschnittliche

Häufung im Winter und Frühjahr (Häfner, 2003). Ca. 45% der Schizophreniepatienten gehören der untersten sozialen Klasse an. Die sogenannte „Selektionshypothese“ oder auch „Drifthyothese“/„social-drift“ besagt, dass Patienten mit einer Schizophrenie aufgrund ihrer Erkrankung und der damit verbundenen kognitiven und sozialen Einschränkungen einen beruflichen und sozialen Abstieg durchlaufen (Sariaslan et al., 2016). Dass eine soziale Schicht, in der ein Patient geboren ist, per se die Erkrankung begünstigt („Milieuhypothese“) ist durch epidemiologische Studien widerlegt (Sariaslan et al., 2016). Der Verlauf einer Schizophrenie ist individuell sehr unterschiedlich. Das Vollbild einer Schizophrenie kann akut auftreten oder sich langsam über Tage, Monate oder Jahre entwickeln (Tandon et al., 2009). Eine fakultative Prodromalphase kann der produktiv psychotischen Phase um mehrere Jahre vorausgehen und ist durch eine langsame Entwicklung mit Verhaltensauffälligkeiten, sozialem Rückzug, Leistungsminderung, fremdartigen Ideen und uncharakteristischen affektiven Symptomen gekennzeichnet (Tandon et al., 2009). Auch schizophreientypische Symptome können zu diesem Zeitpunkt unter Umständen bereits beobachtet werden. Der Prodromalphase kann sich eine Vollremission und ein symptomloses Intervall anschließen, oder sie kann auch sofort in eine aktive, produktive Phase übergehen (Tandon et al., 2009). Die aktive, produktiv psychotische Phase tritt typischerweise akut oder per akut innerhalb von Stunden, Tagen oder wenigen Wochen in Erscheinung, kann aber auch primär chronisch oder subchronisch im Verlauf von Wochen oder Monaten mit einer zunehmenden Verschlechterung der Symptome oder direktem Übergang von der Prodromalsymptomatik verlaufen (Möller et al., 2008). Eine Residualphase ist symptomatisch der Prodromalphase ähnlich, oft wird das Niveau der gesunden präpsychotischen Persönlichkeit nicht mehr erreicht. Bei einem geringen Prozentsatz der Patienten kann eine chronisch aktiv psychotische Symptomatik bestehen bleiben. Bei einem Großteil der Erkrankten bildet sich ein Residualzustand aus, der durch vorwiegend negative Symptome und kognitive Defizite gekennzeichnet ist (Tandon et al., 2009). Der Langzeitverlauf lässt sich anhand der Drittelregel wie folgt charakterisieren: ein Drittel erfährt eine Remission oder leichte uncharakteristische Residuen mit gelegentlichen Exazerbationen, ein Drittel erleidet mittelschwere uncharakteristische Residuen mit gelegentlichen Exazerbationen, ein Drittel erleidet schwere charakteristische Residuen mit dauernden typischen schizophrenen Symptomen, schwere „Defekte“ mit ausgeprägter Minus- bzw. Negativsymptomatik sowie Persönlichkeitsveränderungen (Möller et al., 2010). Als zusätzliche schwere Komplikation zeigen sich suizidale Krisen, vor allem zu Beginn der Episoden und bei Ausbildung depressiver Phasen. Metastudien zu Folge werden 2% bis 12% aller Suizide von schizophrenen Patienten



begangen (Popovic et al., 2014). Auch zeigt sich eine erhöhte Komorbidität für weitere psychische Störungen wie Suchterkrankungen (Möller et al., 2008). Im Laufe der Zeit haben sich für die Schizophrenie günstige sowie ungünstige Prognosefaktoren gezeigt, über den individuellen Verlaufstyp sind aber keine exakten Vorhersagen möglich. Die Prognose ist vermutlich um so ungünstiger, je früher das Ersterkrankungsalter, je schleichender der Beginn, je niedriger das prämorbid Funktionsniveau und die Schulbildung, je höher die genetische Belastung, je mehr strukturelle hirmorphologische Auffälligkeiten und neurologische Zusatzbefunde zu erkennen sind, sowie je länger die produktiven Episoden dauern (Möller et al., 2010). Prognostisch günstigere Prädiktoren stellen weibliches Geschlecht, akut auslösende Ereignisse, Ehe, Krankheitseinsicht und gute soziale Integration dar (Möller et al., 2010). Prognostisch wichtig scheint auch die Dauer bis zum Ansprechen der antipsychotischen Therapie sowie Dauer der unbehandelten produktiven psychotischen Phase zu sein (Emsley et al., 2008).

### **2.1.2 Klassifikation**

Die Klassifikation der schizophrenen Subtypen wird anhand der vorherrschenden klinischen psychopathologischen Symptomatik vorgenommen. Es existieren zwei international gültige Klassifikationssysteme: ICD-10 und DMS-IV. Im ICD-10 der WHO (International Classification of Diseases, Tenth Edition 2013/World Health Organisation) werden die paranoide, hebephrene, katatone, undifferenzierte, die postschizophrene Depression, das schizophrene Residuum sowie die Schizophrenia simplex im Kapitel F20 bis F29 „Schizophrenie, schizotype und wahnhaftige Störungen“ voneinander unterschieden. Im DMS-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fourth Edition 2013), herausgegeben von der American Psychiatric Association (APA), hingegen werden im Gegensatz zum DSM-IV und ICD-10 keine Subtypen der Schizophrenie mehr unterschieden, da sich diese bei den jeweiligen Patienten als nicht stabil erwiesen haben (Tan et al., 2014). Die Schizophrenie wird im DSM-V im Kapitel „Schizophrenie-Spektrum und andere psychotische Störungen“ beschrieben. Grundlegende Veränderung zum DSM-IV ist, dass nun mindestens zwei der geforderten charakteristischen Symptome (Tabelle 5, Seite 9) vorhanden sein müssen, anstatt einem geforderten Symptom im DSM-IV, wobei ein Symptom davon Wahn, Halluzinationen oder desorganisierte Sprechweise beinhalten muss (Schultze-Lutter et al., 2014). Die Katatonie ist diagnoseunabhängiges Merkmal der Schizophrenie im DSM-IV und kann zudem

2 Einleitung

als eigenständige Diagnose auftreten. Sie ist dadurch von der Diagnose Schizophrenie abgetrennt und es kann von einer "Schizophrenie mit Bewegungsstörungen" anstelle einer katatonen Schizophrenie gesprochen werden, bei Depression von einer "Depression mit Bewegungsstörungen" oder einer „bipolaren Störung mit Bewegungsstörung“ (Schultze-Lutter et al., 2014). Weiterhin wird in beiden Diagnosesystemen eine bestimmte Mindestdauer der Symptome gefordert. Im DSM-IV beträgt die Mindestdauer durchgehend sechs Monate, wobei dieser Zeitraum mindestens einen Monat einschließt, in dem Symptome einer akuten Episode erfüllt sind. Im ICD-10 wird eine Mindestdauer von vier Wochen gefordert, wobei in dieser Zeit die Symptome die meiste Zeit vorhanden sein müssen. Zur besseren Übersicht der Unterschiede und Gemeinsamkeiten sind Symptome, Symptombdauer und Ausschlusskriterien aus DSM-IV und ICD-10 in Tabelle 1-3 (Tabelle 2 und 3, Seite 6) gegenübergestellt.

Tabelle 1: Charakteristische Symptome der Schizophrenie nach ICD-10/DMS-IV

<b><i>Charakteristische Symptome nach ICD 10</i></b>	<b><i>Charakteristische Symptome nach DMS-IV</i></b>
Kontrollwahn, Beeinflussungswahn, Gefühl des Gemachten, Wahnwahrnehmung	Wahnvorstellungen (Beziehungswahn, Verfolgungswahn, Größenwahn, körperbezogener Wahn, u.a.)
Halluzinationen jeder Sinnesmodalität	Halluzinationen jeder Sinnesmodalität
Desorganisierte Sprechweise	Zerfahrenheit oder Danebenreden
Katatone Symptome	Grob desorganisiertes Verhalten oder katatonos Verhalten
Apathie, Sprachverarmung, Affektverarmung, Affektverflachung, inadäquate Affekte (Negativsymptome)	Antriebshemmung, Alogie, Affektverflachung (Negativsymptome)

Tabelle 2: Dauer der Symptome nach ICD-10/DMS-IV

<b><u>Dauer der Symptome nach ICD 10</u></b>	<b><u>Dauer der Symptome nach DMS-IV</u></b>
Symptome müssen mindestens vier Wochen die meiste Zeit bestehen.	Durchgehend für mindestens sechs Monate. Zeitraum muss mindestens einen Monat einschließen, in dem Symptome einer akuten Episode erfüllt sind. Während Prodromal- und Residualphase können auch nur negative Symptome oder abgeschwächte Symptome einer akuten Episode auftreten.

Tabelle 3: Ausschlusskriterien nach ICD-10/DMS-IV

<b><u>Ausschlusskriterien nach ICD 10</u></b>	<b><u>Ausschlusskriterien nach DMS-IV</u></b>
Schizoaffektive Störungen und Störungen mit psychotischen Merkmalen müssen <u>nicht</u> ausgeschlossen werden	Schizoaffektive Störungen und Störungen mit psychotischen Merkmalen
Symptome können durch keine organische Störung erklärt werden.	Störungsbild geht nicht auf die direkte körperliche Wirkung einer Substanz (Drogen, Medikamente) oder eines medizinischen Krankheitsfaktors zurück

### 2.1.3 Symptomatik und Diagnose

Um die komplexe Symptomatik schizophrener Erkrankungen zu erfassen wurden in der Vergangenheit verschiedene Einteilungen und Systeme entwickelt. Schon 1896 teilte Emil Kraepelin in Bezug auf Verlauf und vorherrschender Symptomatik die Schizophrenien, von Kraepelin als *Dementia praecox* bezeichnet, in die verschiedene Subtypen hebephrene-, katatone- und paranoid-halluzinatorische *Dementia praecox* ein (Kraepelin, 1913). 1908 unterschied Eugen Bleuler zwischen Grund- und akzessorischen Symptomen. Zu den Grundsymptomen zählte Bleuler Assoziationsstörungen, Autismus, Ambivalenz und Affektstörungen. Die akzessorischen Symptome beinhalteten Wahn, Halluzinationen und die katatone Symptomatik (Bleuler, 1911). Kurt Schneider unterschied Symptome ersten und zweiten Ranges abhängig von ihrer Wichtigkeit für die Diagnose Schizophrenie (Schneider, 1957) (Tabelle 4, Seite 7).

Tabelle 4: Symptome ersten- und zweiten Ranges nach Kurt Schneider

<b><i>Erstrangsymptome</i></b>	<b><i>Zweitrangsymptome</i></b>
Gedanken-Lautwerden Dialogische Stimmen Kommentierende Stimmen Gedankenentzug Gedankenausbreitung Wahnwahrnehmung Gefühl des „Gemachten“	Alle übrigen Sinnestäuschungen Wahneinfälle Depressive und frohe Verstimmung Erlebte Gefühlsverarmung

Es werden bei schizophrenen Psychosen sog. Negativ- und Positivsymptomatik unterschieden. Unter dem Begriff der negativen Symptome werden Affekt- und Sprachverarmung/Alogie, Aufmerksamkeitsstörungen, Anhedonie und sozialer Rückzug subsumiert und sie bezeichnen einen Mangel oder ein Fehlen psychischer Eigenschaften (Andreasen, 1982). Bei den positiven Symptomen werden Halluzinationen, Wahn, formale Denkstörungen und bizarres oder desorganisiertes Verhalten unterschieden und bezeichnen Symptome, die eine Übersteigerung oder Verzerrung von Erleben und Verhalten darstellen (Andreasen, 1982). Um die Diagnose Schizophrenie nach ICD-10 und DSM-IV zu stellen, bedarf es keiner pathognomonischen Symptome. Es lassen sich aber charakteristische psychopathologische Merkmale wie formale Denkstörungen, Halluzinationen, Ich-Störungen, psychomotorische Störungen und Störungen des Affekts regelhaft beobachten, die je nach Konstellation einem Subtyp der Schizophrenie nach ICD-10 entsprechen. Um die Diagnose Schizophrenie (F 20) nach ICD-10 stellen zu können, muss mindestens ein eindeutiges Symptom der Symptomgruppen 1-4 oder mindestens zwei Symptome der Symptomgruppe 5-8 aus der Tabelle 5 diagnostiziert werden, wobei diese Symptome für einen Monat die meiste Zeit bestanden haben müssen.

Tabelle 5: Charakteristische Symptome nach ICD 10

<b><i>Charakteristische Symptome nach ICD 10</i></b>
1. Gedankenlautwerden, -eingebung, -entzug, -ausbreitung
2. Kontroll- und Beeinflussungswahn; Gefühl des Gemachten; Wahnwahrnehmungen
3. Dialogische oder kommentierende Stimmen; Stimmen aus einem Körperteil
4. Bizarrer, völlig „unrealistischer Wahn“
5. Sonstige anhaltende Halluzinationen jeder Sinnensmodalität begleitet von Wahn
6. Gedankenabreissen, Zerfahrenheit, Danebenreden, Neologismen
7. Katatone Symptome
8. Negative Symptome

### **2.1.4 Ätiologie**

In der Ätiopathogenese der Schizophrenie wird von einer multifaktoriellen Entstehung der Erkrankung mit einer gesicherten, starken genetischen Komponente ausgegangen (Gottesman et al. 1987; Cardno et al. 1999).

Genetische Prädisposition in Kombination mit neuropsychologische und biochemische Veränderungen, Umweltfaktoren wie zum Beispiel stresserfüllte Lebensereignisse, niedriger sozioökonomischer Status, Geburt im städtischen Umfeld (van Os et al., 2000) sowie Komplikationen in der prä- und perinatalen Schwangerschaftsphase (Cannon et al. 2002) führen nach Überschreitung einer individuellen Belastungsschwelle zur Manifestation der Schizophrenie (Sawa et al., 2002).

#### **2.1.4.1 Umweltfaktoren**

Es gibt Hinweise, dass Virusinfektionen der Mutter während der Schwangerschaft die spätere Manifestation der Schizophrenie beim Kind begünstigen könnte (Brown et al., 2009). Vor allem eine Infektion mit dem Influenzavirus im zweiten Trimenon der Schwangerschaft wurde mit einer Erhöhung des Erkrankungsrisikos assoziiert (Brown et al., 2009). Das zweite Trimenon scheint auch bezüglich anderer Virusinfektionen der Mutter eine vulnerable Phase der Gehirnentwicklung des Kindes darzustellen. Diskutiert werden unter anderem pränatale Infektionen mit Varizella-Zoster-Viren, Herpes simplex, Polio, Masern und Röteln sowie Toxoplasmose und Erkrankungen der Atemwege (Brown et al., 2009). Auch andere Umweltfaktoren in der prä- und perinatalen Phase werden als Risikosteigerung für die Entwicklung der Schizophrenie beim Kind diskutiert. Hierunter fallen Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen (Byrne et al., 2007), emotionaler Stress während der Schwangerschaft (Clarke et al., 2006), der Geburtsort (van Os et al., 2005) aber auch ein erhöhtes väterliches Alter (Hui et al., 2015). Ein weiterer Risikofaktor, eine Schizophrenie zu entwickeln, besteht durch Drogenkonsum, insbesondere bei Cannabis während der Pubertät, wenngleich nicht klar ist, ob Drogenabusus in dieser vulnerablen Lebensphase einen ursächlichen oder auslösenden Charakter einnimmt (Degenhardt et al., 2003; DeLisi und Fleischhacker, 2015;). Auch psychosoziale Risikofaktoren oder sogenannte „stressful-life-events“ mit starker, negativer Stressbelastung der Patienten und Überschreitung einer individuellen emotionalen Belastungsgrenze

werden als ätiologische Faktoren diskutiert (Amaresha et al., 2012). Ein eindeutiger Zusammenhang als ätiologischer Faktor konnte aber bisher nicht detektiert werden. Es wird jedoch angenommen, dass bei bestehender Prädisposition, insbesondere in einer Prodromalphase der Schizophrenie, die Copingfähigkeit der Patienten in kritischen Lebenssituationen herabgesetzt ist und somit weiter Prodromalsymptome fördert, was letztlich in der Manifestation der Erkrankung enden kann (Olbrich et al., 2004). Zusammenfassend belegen oben genannte Faktoren den ätiologischen Zusammenhang von Umweltfaktoren und schizophrenen Erkrankungen. Der genaue Mechanismus dieser möglicherweise epigenetischen Faktoren ist jedoch weiterhin ungeklärt (Nestler et al., 2015).

### **2.1.4.2 Veränderungen der Neuroanatomie**

Untersuchung an post mortem Gehirnen von Patienten mit Schizophrenie sowie Befunde aus Magnet Resonanz Tomographischer (MRT) Bildgebung zeigten strukturelle Veränderungen bei den Patienten. Es wurden insgesamt zahlreiche strukturelle Veränderungen im Hirngewebe schizophrener Patienten beschrieben, jedoch stellen sich die erhobenen Befunde als uneinheitlich dar, da in den verschiedenen Krankheitsstadien unterschiedliche Strukturen betroffen sein können (DeLisi, 2008). Ebenso ist bisher nicht geklärt, ob die verschiedenen strukturellen Veränderungen Folge einer Entwicklungsstörung oder als degenerative Prozesse durch die Erkrankung zu verstehen sind. Einerseits spricht das Fehlen einer Gliose in post mortem Gehirnen schizophrener Patienten gegen einen neurodegenerativen Prozess (Harrison, 1999), andererseits sind im Erkrankungsverlauf zum Teil fortschreitende Veränderungen zu beobachten (Rapaport et al., 2005; Jarskog et al., 2007). Auch bei Patienten, die vor ihrem zwölften Lebensjahr an einer Schizophrenie erkranken (COS, Childhood Onset Schizophrenia), sind Änderungen der Neuroanatomie in der MRT feststellbar. In Zwillingsstudien zu neuroanatomischen Veränderungen der COS, mit jeweils einem erkrankten und einem gesunden Zwilling, zeigen sich diese Veränderungen jedoch auch bei beim Gesunden, so dass auch von einer genetischen Komponente dieser Veränderungen ausgegangen werden muss (Gogtay, 2008)

### **2.1.4.3 Veränderungen der Neurobiochemie**

In der Schizophrenie werden bestimmte Veränderungen der Neurotransmitter-regulierten Signaltransduktion postuliert. Diese betreffen bisherigen Untersuchungen nach, vor allem das dopaminerge, serotonerge und glutamaterge System (Steeds et al., 2015).

#### Dopaminhypothese

Eine gut untersuchte neurobiochemisch und pathophysiologische Erklärung psychotischer Symptome ist die sogenannte Dopaminhypothese, nach der die Symptomatik der Schizophrenie u.a. auf einer Dysbalance des Dopaminsystems im präfrontalen Kortex und subkortikalen mesolimbischen System beruht (Howes et al., 2009).

Dopamin zählt zu den Katecholaminen und stellt im ZNS ein wichtiges Neurotransmittersystem dar, welches unter anderem entscheidend an der Regulation von neuroendokrinen Funktionen, Kognition und Emotion beteiligt ist (Steeds et al., 2015). Dass die klassischen Neuroleptika, die zur Behandlung psychotischer Symptome eingesetzt werden, selektiv postsynaptische D2-Rezeptoren blockieren (Carlsson und Lindqvist, 1963; Creese et al., 1976; Boschen et al., 2015) oder daraus eine verminderte Aktivität dopaminerger Neurone folgt und damit eine Steigerung oder Auslösung psychotischer Symptome durch Stimulation mit vermehrter Dopaminausschüttung bewirkt werden kann, macht die Dopaminhypothese plausibel (Popovic et al., 2016). Obwohl diese Hypothese eine multifaktoriell bedingte Erkrankung wie die Schizophrenie nicht alleine erklären kann, besteht eine direkte Beziehung zu den Symptomen und ihrer Behandlung. Jedoch erklärt die klassische Dopaminhypothese nicht die bei vielen Patienten zu beobachtende Dopamin D2-Antagonisten resistente und oftmals anhaltende Negativsymptomatik wie Alogie, Affektverarmung, sozialer Rückzug und Aufmerksamkeitsstörungen (Stone et al., 2010). Die verschiedenen Dopaminrezeptorsubtypen sind grundsätzlich in allen Hirnregionen zu finden, wobei jedoch D1-Dopaminrezeptoren im präfrontalem Kortex und D2-Dopaminrezeptoren im Striatum überwiegen (Seeman und Seeman, 2013). Die These der Hypofrontalität geht davon aus, dass Areale im präfrontalen Kortex mit überwiegend Dopamin D1-Rezeptor bei dieser Symptomenlage unteraktiviert sind (Davis et al., 1991). Als Ergebnis dieser beiden Thesen resultiert ein Ungleichgewicht von Dopamin mit Überaktivierung subkortikaler mesolimbischer Strukturen mit überwiegend Dopamin D2-Rezeptoren und Positivsymptomatik sowie eine Unteraktivierung

## 2 Einleitung

präfrontaler Areale mit überwiegend Dopamin D1-Rezeptoren und Negativsymptomatik (Abi-Drigham et al., 2003; Stone et al., 2010).

### Serotoninhypothese

Der Einfluss des serotonergen Systems auf die Schizophrenie folgt der Beobachtung, dass einerseits schizophrenieähnliche Positivsymptome durch die Einnahme von Halluzinogenen, auch bekannt als sogenannte Modellpsychose, wie z.B. Lysergsäurediethylamid (LSD), einem 5-HT Rezeptoragonisten (5-Hydroxy-Tryptamin), ausgelöst werden können (Meltzer et al., 2011; Halberstadt et al., 2013) und andererseits die antipsychotische Wirkung atypischer Neuroleptika über die Hemmung von Dopamin-D2 sowie Serotonin-5-HT-Rezeptoren vermittelt wird (Terry et al., 2008). In Metaanalysen zeigten Varianten des 5-HT-2A Rezeptorgens positive Assoziation mit Schizophrenie und anderen psychiatrischen Erkrankungen (Serreti et al., 2007). In diesem Zusammenhang stellen Gene welche in Zusammenhang mit dem Serotoninstoffwechsel und serotonerger Signaltransduktion stehen, plausible Suszeptibilitätsgene der Schizophrenie dar und sind Ansatzpunkt genetischer Assoziationsstudien (Reynolds et al., 2014).

### Glutamathypothese

Die Glutamathypothese der Schizophrenie postuliert eine Unterfunktion des glutamergen Systems. Ähnlich wie bei der Dopamin- und Serotoninhypothese zeigt sich, dass verschiedene halluzinogen wirkende Substanzen wie Phencyclidin (PCP) und Ketamin über ihre Wirkung als Antagonisten an NMDA-Rezeptoren eine schizophrenieähnliche Symptomatik bei gesunden Personen verursachen (Krystal et al., 1994; Sapkota et al., 2016). Über eine NMDA-Rezeptorunterfunktion und der Lokalisation dieser Rezeptoren auf GABAergen inhibitorischen Neuronen, welche glutamaterge Pyramidenzellen hemmen, folgt eine ungehemmte Glutamatfreisetzung, die letztendlich toxisch auf GABAerge Neuronen wirkt (Stone et al., 2007). Als Konsequenz folgt eine verminderte Dichte GABAerger Neurone bei schizophrenen Patienten (Reynolds et al., 2004; Sapotka et al., 2016). Ob ein Glutamatdefizit mit daraus konsekutiv folgender Dopaminüberfunktion für die Ätiologie der Schizophrenie in Frage kommt, lässt sich letztendlich nicht sicher bestimmen, da einerseits GABAerge Neuronen von Dopamin beeinflusst werden, andererseits Glutamat dopaminerge Neuronen moduliert (Stone et al., 2007). Möglich ist jedoch, dass die unterschiedlichen Symptome der Schizophrenie durch Dysfunktionen der sich gegenseitig modulierenden Transmittersysteme



## 2 Einleitung

verursacht werden und Negativsymptomatik durch NMDA-Rezeptorendysfunktion, Positivsymptomatik hingegen durch verstärkte Aktivität von Dopamin verursacht wird (Stone et al., 2007). Die genannten Transmittersysteme nehmen bei komplexen Erkrankungen wie Schizophrenie eine wichtige Rolle hinsichtlich Ätiologie, Symptomatik, Verlauf und Therapiemöglichkeiten ein. Das genaue Zusammenspiel der einzelnen Systeme ist jedoch nicht ausreichend bekannt und bedarf weiterer intensiver Forschungsarbeit.

### Neurobiochemische Modulation des Nervensystems durch Tachykinine

Die Familie der Tachykinine zählt zu den Neuropeptiden, tritt im Gehirn in großer Menge auf und ist in der Lage, ähnlich wie Dopamin, Serotonin und Glutamat, die zentrale Regulation vegetativer Funktionen wie Blutdruck und Atmung aber auch Affekt und Emotion sowie Lern- und Gedächtnisfunktion zu beeinflussen (Severini et al., 2002; Ebner et al., 2009).

Aufgrund der Verknüpfung zum neuronalen System sowie von Erfolgen in plazebokontrollierten klinischen Studien mit Tachykininrezeptorantagonisten, legen die Vermutung nahe, dass diese Neuropeptidfamilie in der Ätiologie psychiatrischer Erkrankungen eine bedeutende Rolle spielt (Smith und Dawson, 2008).

### **2.1.4.4 Genetik in der Schizophrenieforschung**

#### Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien

Aus Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien ist bekannt, dass Schizophrenie eine starke genetische Basis hat (Tsuang et al., 2001). Im Vergleich zur Durchschnittsbevölkerung nimmt die Morbidität für Schizophrenie mit steigendem Verwandtschaftsgrad zu Erkrankten stetig zu (Tsuang et al., 2001). Während das durchschnittliche Risiko an Schizophrenie zu erkranken in der Allgemeinbevölkerung bei ca. 1% liegt, beträgt es für Kinder eines betroffenen Elternteils bis zu 13%, sind beide Eltern an Schizophrenie erkrankt, steigt das Risiko der Kinder auf bis zu 40% an (Möller, 2005). Besonders deutlich wird die genetische Komponente anhand von Zwillingsstudien. In Zwillingsstudien werden die Konkordanzraten von monozygoten Zwillingen (100% genetisch identisch), mit dizygoten Zwillingen (50% genetisch identisch), verglichen. Dabei ergibt sich bei eineiigen Zwillingen eine Konkordanz von 31-78%, bei zweieiigen Zwillingen eine Konkordanz

von nur 6-28%, was als starker Hinweis für eine genetische Ursache gewertet werden kann, aber auch den Einfluss nicht genetischer Faktoren nahe legt, da ansonsten monozygote Zwillinge eine vollständige Heritabilität der Schizophrenie aufweisen würden (Gottesman et al., 1994; Sullivan et al., 2003). In Ergänzung zu Familien- und Zwillingsstudien kann bei Adoptionsstudien zwischen genetischer Disposition und Umweltfaktoren als Beitrag zur Manifestation einer Schizophrenie differenziert werden. In Adoptionsstudien wurde gezeigt, dass das Erkrankungsrisiko für adoptierte Kinder von an Schizophrenie erkrankten Eltern größer ist als das Risiko adoptierter Kinder von nicht an Schizophrenie erkrankten Eltern (Möller, 2005). Adoptierte Kinder eines an Schizophrenie erkrankten leiblichen Elternteils zeigten demnach auch im gesunden Umfeld einer Adoptivfamilie dasselbe Erkrankungsrisiko wie Kinder mit einem an Schizophrenie erkrankten Elternteil, welche in ihrer originären Familie aufwuchsen. Darüber hinaus zeigen im umgekehrten Fall Kinder gesunder Eltern, welche in Adoptivfamilien mit einem an Schizophrenie erkrankten, nicht leiblichen Elternteil aufwuchsen, kein erhöhtes Erkrankungsrisiko (Kendler et al., 1994).

### **2.1.4.5 Molekulare Genetik in der Schizophrenieforschung**

Ziel der genetischen Forschung ist es Suszeptibilitätsgene, deren Allele oder Allelkombinationen zu detektieren, welche maßgeblich Schizophrenie verursachen oder diese begünstigen.

#### Single Nucleotide Polymorphism (SNP)

Single Nucleotide Polymorphism oder kurz SNPs, bezeichnen genetische Basenaustauschpolymorphismen der DNA, welche die Grundlage genetischer Variabilität bilden. Ein SNP entspricht der Variabilität einer einzelnen DNA-Base eines Allels an einer definierten Stelle. Da ca. 99,9% der DNA-Sequenzen im Genom aller Menschen identisch sind und demnach genetische Unterschiede zwischen Individuen in den verbleibenden 0,1% des Genoms liegen müssen, wird bei der Suche nach genetisch bedingten Erkrankungen oder genetischem Beitrag an einer Erkrankung wie Schizophrenie, nach solchen SNPs gefahndet, die mit der jeweiligen Erkrankung assoziiert sind (Cichon et al., 2009). SNPs sind genomweit mit einem Abstand von durchschnittlich 100 bis 300 Basenpaaren, in codierenden und nicht codierenden Bereichen zu finden (Rujescu und Giegling, 2010). Der Austausch eines Nukleotids in der DNA-Sequenz eines

## 2 Einleitung

Gen hat in den meisten Fällen der vermutlich mehreren Millionen SNPs im menschlichen Genom keinen Krankheitswert, er kann jedoch die Information eines Aminosäure-Codons ändern und so das Genprodukt, was dann durch eine veränderte Proteinzusammensetzung physiologische Defekte nach sich ziehen kann. Die meisten Effekte von SNPs sind aber indirekt, indem sie entweder mit einer funktionellen Variante im Kopplungsungleichgewicht liegen oder regulatorische Sequenzen verändern.

### Haplotyp-Blockstruktur

Die Haplotyp-Blockstruktur bezeichnet ein Organisationsprinzip des menschlichen Genoms und beruht auf dem Prinzip der sog. Kopplung (Linkage) bzw. dem Kopplungsungleichgewicht (Linkage-disequilibrium = LD). Sind Loci nahe auf einem Chromosom benachbart, werden sie abhängig ihrer Entfernung zueinander oft zusammen vererbt und nicht durch „Crossing over“ bei der Meiose getrennt. Treten Allele abhängig von ihrer Entfernung zueinander gemeinsam auf, bezeichnet man dies als Kopplungsungleichgewicht oder LD. So kann bei Kenntnis einer bestimmten Sequenzvariante auf das Vorliegen weiterer gekoppelter Sequenzvarianten rückgeschlossen werden. DNA Abschnitte mit ausgeprägtem Kopplungsungleichgewicht werden als sogenannte LD-Blöcke bezeichnet. Die Anzahl der Allelkombinationen innerhalb dieser Blöcke ist aufgrund des LD limitiert. Haplotypen sind Nukleotidsequenzen, die für ein bestimmtes Chromosom, Gen oder eine DNA Sequenz in einer Population anhand von Bestimmungen der Genotypensequenzen in diesem Bereich vorkommender SNPs und dem beobachteten gemeinsamen Auftreten der Allele geschätzt werden, so dass die Detektion eines bestimmten Haplotypen mit charakteristischen SNPs ausreicht, um auf die DNA Sequenz des Blocks schließen zu können (Freudenberg et al., 2002). Mit der so gewonnenen Haplotyp-Blockstruktur ist die Eingrenzung von DNA Bereichen mit krankheitsassoziierten Genen wesentlich schneller durchzuführen.

### CNV (Copy Number Variation)

CNVs stellen wie SNPs eine Variationsmöglichkeit des Genoms dar, welche die Anzahl der Kopien eines oder mehrerer DNA-Abschnitte im Erbgut beeinflussen.

Die Länge von CNVs beträgt definitionsgemäß 1000 bis drei Megabasen (Mb). Die Zahl der vorkommenden CNVs im Genom kann sich individuell durch Duplikation oder Deletion

## 2 Einleitung

unterscheiden (Rujescu et al., 2008). Der Einfluss von CNVs auf Schizophrenie wurde bisher in mehreren Studien untersucht. In der Studie von Murphy et al. (1999) wurde bereits über den Zusammenhang einer Deletion auf Chromosom 22q11, welche für das sogenannte Velo-Cardio-Faziale Syndrom verantwortlich ist und darüber hinaus auch das Risiko, an einer Schizophrenie zu erkranken, stark erhöht, berichtet (Green et al., 2009). Kirov et al. (2008) beschrieben sowohl eine de novo Duplikation auf Chromosom 15 als auch eine Deletion mit Auswirkungen auf das Neurexin-1-Gen. Diese stehen in Verbindung zu Autismus und dem Syndrom der mentalen Retardierung und werden über eine erhöhte Rate von CNVs in Exons des Neurexin Gens in Zusammenhang mit Schizophrenie gebracht (Rujescu et al., 2008). In den Studien von Stefansson et al. (2008) und des Schizophrenia Consortiums (2008) wurde über seltene CNVs an den Positionen 1q21.1 und 15q13.2 mit jeweils starken Effektstärken auf das schizophrene Erkrankungsrisiko, mentale Retardierung und Autismus berichtet (Owen et al., 2009; Zhou et al., 2016). Rees et al. untersuchten den Beitrag von CNVs an 15 mit Schizophrenie assoziierten Genloci an 6882 Patienten mit Schizophrenie und verglichen diese mit 6316 gesunden Kontrollprobanden wobei 13 der 15 CNVs bei Patienten mit Schizophrenie häufiger auftraten und davon 6 CNVs eine signifikante Assoziation zur Schizophrenie zeigten (Rees et al., 2014). Auch die genomweite Studie von Marshall et al. an 21094 Patienten mit Schizophrenie und 20227 gesunden Kontrollprobanden, zeigte eine erhöhtes Vorkommen von CNVs bei Patienten mit Schizophrenie mit signifikanter Assoziation zur Schizophrenie von CNVs an acht Genloci (Marshall et al., 2017). Insgesamt muss jedoch festgehalten werden, dass eine Steigerung des Erkrankungsrisikos durch das Vorhandensein von CNVs nicht pathognomonisch ist, da auch bei gesunden Personen, mit leerer Anamnese hinsichtlich psychotischer Erkrankungen, CNVs gefunden werden (Owen et al., 2009; Shishido et al., 2014; Takumi et al., 2018). Molekulargenetische Untersuchungen verfolgen das Ziel, die Erblichkeit direkt nachzuweisen, indem Suszeptibilitätsgene und Gen-Regionen auf Chromosomen bestimmt werden. Dabei kommen hauptsächlich Kopplungs- und Assoziationsstudien komplementär zum Einsatz.

### Kopplungsstudien

In Kopplungsstudien wird untersucht, ob Markerallele mit bekannter Lokalisation und Phänotypen bzw. Krankheiten wie Schizophrenie innerhalb einer Familie überzufällig oft miteinander vererbt werden. Trifft dies zu, spricht man von Kopplung des Allels zum krankheitsverursachenden Gen

und hat damit einen Marker für den entsprechenden Phänotyp. Einbezogen in dieses Studiendesign werden aufgrund der anzunehmenden Homogenität genetischer Ursachen Geschwisterpaare, Trios (Erkrankte und deren Eltern) und Multiplexfamilien (Familien mit mehr als einem Betroffenen) (Maier et al., 1999). Initial wurde bei der Entwicklung dieses Studiendesigns propagiert, dass einzelne Gene als Hauptverursacher existieren. Jedoch konnten erste vielversprechende Ergebnisse zur Kopplung nicht bestätigt werden, da einzelne Mutationen als alleinige Verursacher vermutlich nicht existieren (Owen et al.; 2004). Bei systematisch durchgeführten Kopplungsstudien über das gesamte Genom konnten zwar Kopplungen detektiert werden, welche jedoch mit einem Abstand von ca. 30 Centimorgan sehr groß sind und darüber hinaus von anderen Studiengruppen oft nicht bestätigt werden konnten. Die Metaanalyse von 20 genomweiten Kopplungsstudien zur Schizophrenie mit mehr als 1200 Stammbäumen zeigte jedoch mehr signifikante Kopplungsergebnisse als erwartet (Lewis et al. 2003), welche bei Betrachtung kleinerer, einzelner Kopplungsstudien nicht hätten beobachtet werden können. Am stärksten signifikant zeigt sich unter anderem der Abschnitt p12-q22.1 auf Chromosom 2 (Mowry et al. 2000; Lewis et al., 2003). In der Metaanalyse von Ng et al. (2008), in der insgesamt 32 genomweite Kopplungsstudien zur Schizophrenie untersucht wurden, zeigten sich nach Eingrenzung der Metaanalyse auf 22 Kopplungsstudien mit Personen ausschließlich europäischer Herkunft keine signifikant positiven Kopplungsergebnisse zur Schizophrenie, wohingegen in der Gesamtstichprobe eine genomweite signifikante Kopplung für den Chromosomenabschnitt 2q (118.7-152 Mb) festgestellt werden konnte und es für die Abschnitte 2q (103.3-134.0 Mb) sowie 5q (141.8-167.7 Mb) in der Gesamtstichprobe Hinweise für Kopplung gibt, sowie sich in der europäischen Teilstichprobe Kopplungshinweise für den Abschnitt 8p (15.7-32.7 Mb) finden lassen (Ng et al., 2008). Insgesamt sind die Ergebnisse der Metaanalysen stark divergierend und stützen dadurch die Hypothese, dass mehrere genetische Loci mit jeweils geringem Einfluss bei der Entwicklung der Schizophrenie eine Rolle spielen (Rujescu et al., 2009; Aberg et al., 2013). Der Nachteil von Kopplungsstudien liegt in der aufwendigen Durchführung und der Verfügbarkeit ausreichend großer Stichproben, da mit diesem Studiendesign vor allem Gene und deren Varianten detektiert werden, die eine größere Effektstärke aufweisen als dies bei Schizophrenie der Fall ist. Auf der Basis von Kopplungsanalysen können jedoch SNPs detektiert und die damit weiterentwickelten Techniken durchgeführt werden.

### Assoziationsstudien

Assoziationsanalysen vergleichen Patienten- mit gesunden Kontrollstichproben und haben zum Ziel, ein mit einer Erkrankung assoziiertes genetisches Merkmal nachzuweisen, bzw. ob eine bestimmte genetische Allelvariationen bei Erkrankten häufiger oder seltener vorkommt, als bei gesunden Kontrollen und dies mit einem erhöhtem Erkrankungsrisiko einhergeht. Im Gegensatz zu Kopplungsuntersuchungen können mit Hilfe von Assoziationsstudien auch Gene mit nur geringem Beitrag zur Ätiologie einer komplexen, multifaktorielle bedingten Erkrankung wie Schizophrenie untersucht werden (Rujescu, 2009). Historisch wurden vor allem funktionelle Kandidatengene untersucht, von denen aufgrund einer pathophysiologischen Relevanz angenommen wird, dass sie eine entscheidende Rolle in der Ätiologie der zu untersuchenden Krankheit spielen, sowie positionelle Kandidatengene, die in der chromosomalen Region liegen, welche in Kopplungsstudien als Suszeptibilitätsloci eingegrenzt werden können. Diese Assoziationsstudien zur Schizophrenie konzentrieren sich aufgrund der Dopaminhypothese in der Ätiologie der Erkrankung als auch aufgrund der Tatsache, dass Dopaminrezeptoren von antipsychotischen Medikamenten blockiert werden, stark auf Gene des Dopaminhaushalts. Eine Assoziation zur Schizophrenie liegt Metaanalysen zufolge u.a. für Homozygotie eines SNP, welcher eine Variation in der Aminosäurezusammensetzung (Ser9Gly) im Exon 1 des Dopamin-3-Rezeptorgens verursacht, vor (Williams et al., 1998). Weitere positive Assoziationsbefunde zeigen die Gene welche für die Catechol-O-Methyltransferase (COMT) (Shifman et al., 2002), sowie für das DRD2 (Dopaminrezeptor D2) Gen kodieren (Gu et al., 2015). Zur systematischen Untersuchung des ganzen Genoms werden genomweite Assoziationsstudien (GWAS) durchgeführt, die aus der Bestimmung mehrerer hunderttausender bis zu mehreren Millionen SNPs pro Proband bestehen. Mit GWAS ist zudem eine hypothesenfreie Untersuchung und Detektion neuer Suszeptibilitätsgene, deren pathophysiologischer Beitrag bisher unbekannt war, möglich (Cichon et al., 2009).

In der GWAS von Shifman et al. (2008) aus gepoolter DNA zeigt sich eine für Frauen geschlechtsspezifische Assoziation eines Markers für das Reelin-Gen auf Chromosom 7, welche in mehreren unabhängigen Replikationsstudien bestätigt werden konnte (Shifman et al. 2008). In einer GWAS aus insgesamt mehr als 2300 Personen zur Schizophrenie von Kirov et al. (2008) konnte eine Assoziation eines Markers zum CCD60 Gen auf Chromosom 12 nachgewiesen werden. In einer von Sullivan et al. (2008) durchgeführten genomweiten Fall-Kontroll-Studie aus 738 Patienten und 733 Kontrollen konnte keine genomweite signifikante Assoziation zur Schizophrenie beschrieben werden. In der genomweiten Assoziationsstudie von O'Donovan et al. (2008) aus 479

Patienten und 2937 Kontrollprobanden wurden die zwölf am stärksten signifikanten Marker in zwei Replikationsstudien aus 16726 Teilnehmern gemischter ethnischer Abstammung untersucht und für drei Marker (2q32.1, 11p14.1, 16p13.12) eine signifikante Assoziation zur Schizophrenie beschrieben. In einer GWAS von Shi et al. (2009) wurde keine genomweite Assoziation zur Schizophrenie gefunden. Shi et al. führten an einer vom International Schizophrenia Consortium durchgeführten GWAS mit Assoziation des Locus ZNF804A (2q32.1) zur Schizophrenie (Purcell et al., 2009) sowie aus den Ergebnissen der GWAS von Molecular genetics of Schizophrenia eine Metaanalyse durch, welchen signifikante Assoziationen zur Schizophrenie für mehrere SNPs bestätigen konnte (Shi et al., 2009). Eine von Stefansson et al. (2009) durchgeführte GWAS konnte keine signifikanten Assoziationen zur Schizophrenie belegen. In einer Metaanalyse der Marker aus den GWAS von Stefansson et al. (2009), Purcell et al. (2009) und des International Schizophrenia Consortium sowie Shi et al. (2009) erbrachte allerdings eine genomweite signifikante Assoziation mehrerer Marker, unter anderem aus dem MHC Bereich (Major Histocompatibility Complex), wie auch in der Studie von Purcell et al. (2009) (Stefansson et al. 2009). 2014 wurde von der Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium GWAS zur Schizophrenie veröffentlicht. Die Ergebnisse der Untersuchung aus 36989 Patienten und 113075 gesunden Kontrollen zeigten 108 Genloci als signifikant mit Schizophrenie assoziiert, wobei 83 Loci bisher unbekannt waren. Positive Assoziation zeigten vor allem Gene, die im Gehirn exprimiert werden, am dopaminergen und glutamatergen System beteiligt sind und die synaptische Plastizität modulieren. Da auch Tachykininrezeptoren in Hirnregionen von dopaminproduzierenden Zellen zu finden sind und diese Regionen ein neuronales Substrat psychiatrischer Erkrankungen darstellen, liegt die Hypothese einer Beteiligung der Tachykinine und ihrer Rezeptoren an der Ätiologie psychiatrischer Erkrankungen nahe (Meltzer und Stahl, 1976; Spooren et al. 2005; Steinhoff et al., 2014).

## **2.2 Tachykinine**

Tachykinine (Synonym: Neurokinine) sind eine Familie von einander ähnlichen Neuropeptiden, die als Transmitter im zentralen, peripheren und autonomen Nervensystem fungieren (Almeida et al., 2004). Tachykinine repräsentieren wie z.B. Opiode mit Enkephalin, Endorphin und Dynorphin eine Hauptklasse der Neurotransmitter (Hoyle, 1998). Die am besten bekannten Mitglieder dieser

## 2 Einleitung

Familie sind Substanz P (SP), Neurokinin A (NKA) und Neurokinin B (NKB) (Tatemoto et al., 1985; Pennefather et al., 2004; Steinhoff et al., 2014). Des Weiteren existieren die Peptide Neuropeptid K (NPK) und Neuropeptid  $\gamma$  (NP $\gamma$ ), welche eine am N-Terminus verlängerte Form des NKA darstellen (Saffroy et al., 2003), sowie die Peptide Hemokinin-1 (HK-1, Synonym: EKA) und deren am N-Terminus verlängerte Formen Endokinin B (EKB), Endokinin C (EKC) und Endokinin D (EKD), die ebenfalls zu den Tachykininen gerechnet werden (Page et al., 2003; Steinhoff et al., 2014). Gemeinsames Merkmal der Tachykinine ist die Aminosäuresequenz am carboxyterminalen Ende, die aus den Aminosäuren Phe-X-Gly-Leu-Met-NH<sub>2</sub> besteht. X steht dabei für eine variable hydrophobe Aminosäure, die von entscheidender Rolle für die Bindung am jeweils spezifischen Rezeptor ist (Chang et al., 1971; Severini et al., 2002; Steinhoff et al., 2014). Ausnahmen bilden dabei die Tachykinine Endokinin-C und Endokinin-D, deren Aminosäurestruktur etwas abweicht (Page et al., 2003). Das erste und bekannteste Mitglied dieser Peptidfamilie wurde 1931 von Euler und Gaddum im Darm und Gehirn von Pferden durch alkoholische Extraktion gewonnen und erhielt den Namen „Preparation P“, welches im atropinisierten Hasen eine periphere Vasodilatation sowie eine Vasokonstriktion des Darms verursachte. Der Name „Substanz P“ sowie die Charakterisierung der pharmakologischen Eigenschaften wurden von Gaddum und Schild 1935 beschrieben (Gaddum und Schild, 1935). Erst 50 Jahre nach Entdeckung von SP wurden zwei weitere Säuger-Tachykinine, NKA und NKB, beschrieben (Maggio, 1985; Kimura et al., 1984; Kangawa et al., 1983). Es folgte die Entdeckung von Neuropeptid K (Tatemoto et al., 1985) und Neuropeptid  $\gamma$  (Kage et al., 1988) sowie eines Gens, dem Präprotachykinin-C, das für die Tachykinine Hemokinin-1 (HK-1), Endokinin B, Endokinin C und Endokinin D codiert (Zhang et al., 2000; Kurtz et al., 2002; Page et al., 2003).

### 2.2.1 Synthese der Tachykinine

Neuropeptide werden vor allem in Neuronen synthetisiert und aus unmyelinisierten afferenten C-Fasern, myelinisierten A-delta-Fasern (Ad-Fasern) sowie autonomen efferenten Nervenfasern sezerniert (Beaujouan et al., 2004). Die Synthese der Neuropeptide unterliegt im Vergleich zu anderen Transmittern, deutlich komplexeren Vorgängen. Die Translation der reifen mRNA aus Präprotachykinin-A Gen (PPT-A), Präprotachykinin-B Gen (PPT-B) oder Präprotachykinin-C Gen (PPT-C) generiert jeweils ein großes Polypeptid, das als Präpropeptid bezeichnet wird, ein



Signalpeptid, ein oder mehrere Kopien des Neuropeptides und ein oder mehrere Platzhalterpeptide beinhaltet (Page et al., 2003). Das Signalpeptid ist dabei am N-Terminus lokalisiert, wohingegen das eigentliche Neuropeptid und die Platzhalterpeptide, abhängig vom jeweiligen Präpropeptid, zufällig angeordnet sind (Pennefather et al., 2004; Steinhoff et al., 2014). Das Signalpeptid ermöglicht dem Peptid dabei das Anheften und die Passage in das endoplasmatische Reticulum während der Synthese, wird dann jedoch rasch entfernt, um die korrekte Formation des Peptides zu ermöglichen. Dieses Peptid wird sodann in den Golgi-Apparat transportiert wo nun die Platzhalterpeptide entfernt werden und dann das aktive Peptid vorliegt (Page et al., 2003). Die aktiven Peptide werden am Golgi-Apparat in sekretorische Granula verpackt und entlang des Axons in die Nervenendigungen transportiert. Das Vorkommen der einzelnen mRNAs ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ) ist dabei spezies- und gewebeabhängig (Nakanishi, 1987; Carter und Krause, 1990). Die einmal synthetisierten Tachykinine werden bis zum Eintreffen eines adäquaten Stimulus in den großen Granula der Nervenenden gespeichert (Floor et al., 1982). Beim Säuger wurden bisher die Tachykinine Substanz P (SP), Neurokinin A (NKA), Neurokinin B (NKB), Neurokinin K (NKA) sowie Neuropeptid  $\gamma$  (NK $\gamma$ ) nachgewiesen, wohingegen bei Nicht-Säugetieren weitere Tachykinine bekannt sind (Pennefather et al., 2004). Das PPT-A Gen, bestehend aus 7 Exons, kodiert dabei für die Tachykinine SP (Exon 3 und 6), NKA (Exon 3 und 6), Neuropeptid  $\gamma$  (Exon 3, 5 und 6) sowie Neuropeptid K (Exons 3, 4, 5 und 6). Das PPT-B Gen besteht ebenfalls aus 7 Exons und kodiert ausschließlich für NKB, wobei die Sequenz, die für das NKB kodiert, in Exon 5 enthalten ist (Nawa et al., 1983; Kotani et al., 1986; Steinhoff et al., 2014). Durch alternatives Spleißen der PPT-A prä-mRNA entstehen drei verschiedenen mRNAs:  $\alpha$ -PPT, aus welchem SP entsteht,  $\beta$ -PPT aus welchem sich SP, NKA und Neuropeptid K ableiten und  $\gamma$ -PPT aus welchem sich SP, NKA und Neuropeptid  $\gamma$  ableiten (Nawa et al., 1984; Krause et al., 1987; MacDonald et al., 1989). Das PPT-C Gen besteht aus 5 Exons, wobei die Sequenz für Hemokinin-1 in Exon 2 lokalisiert ist, und durch alternatives Spleißen des PPT-C Transkriptes ausserdem vier weitere spezifische mRNAs ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ) generiert werden können, aus denen sich EKA (Endokinin A), EKB (Endokinin B), EKC (Endokinin C) und EKD (Endokinin D) ableiten (Page et al., 2003). Tachykinine wurden bisher in vielen verschiedenen Spezies gefunden, was dafür spricht, dass es sich bei diesen Peptiden um ein in der Evolution weit verbreitetes Prinzip handelt (Severini et al., 2002). Abbildung 1 auf Seite 21 zeigt schematisch die Tachykininsynthese aus den PPTA-, PPTB-, und PPTC-Genen. Tabelle 6 auf Seite 22 zeigt einen Überblick der Tachykinine, ihrer Präkursoren und deren Aminosäurezusammensetzung. Abbildung 2 auf Seite 22 zeigt die chemische Strukturformel von Tachykinin B.

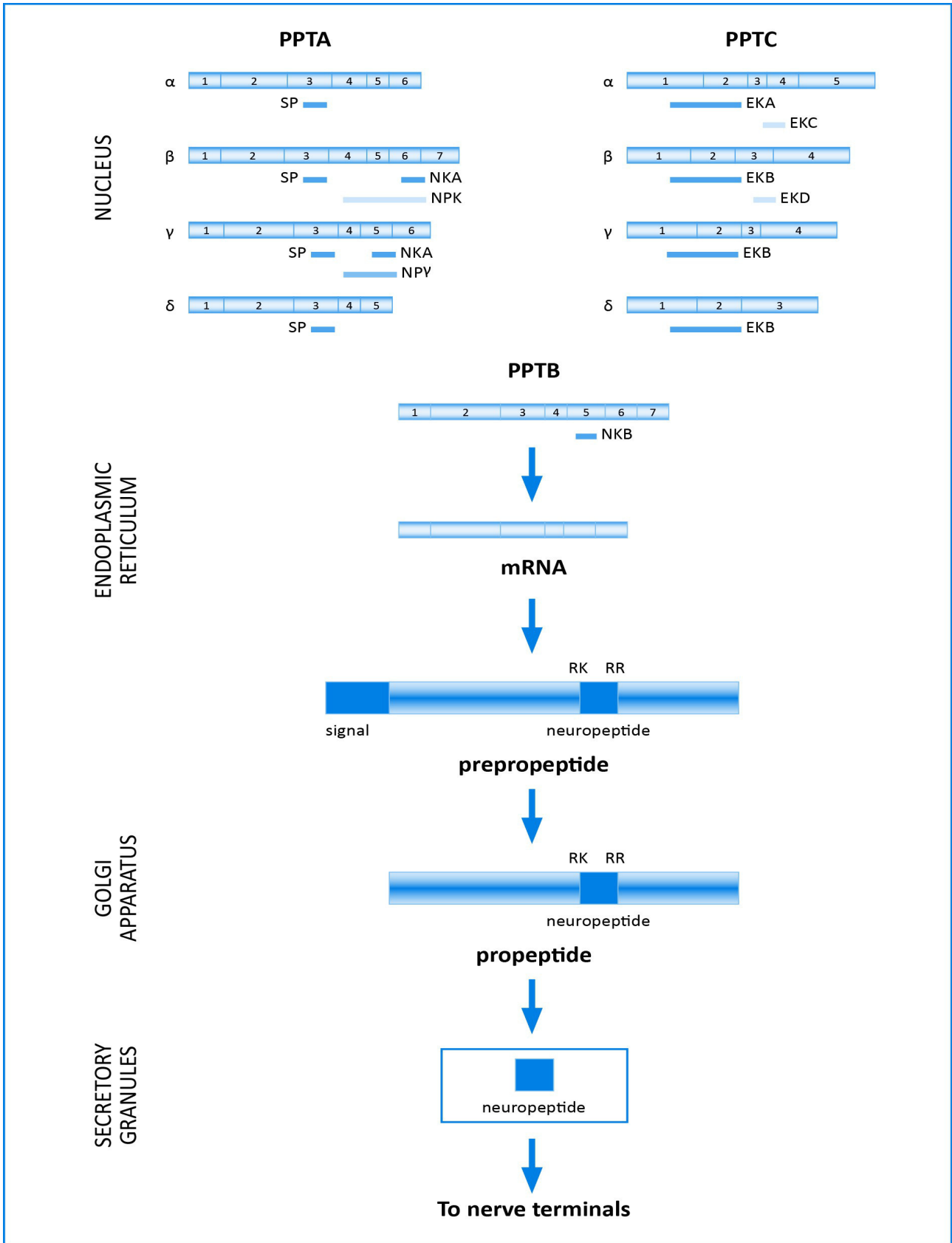


Abb. 1: Schematische Darstellung der Tachykininsynthese aus den PPTA-, PPTB- und PPTC-Genen (modifiziert nach Pennefather et al., 2004)

2 Einleitung

Tabelle 6: Tachykinine (Auswahl), Präkursorgene und Aminosäuren der Proteine

<i><b>Tachykinin</b></i>	<i><b>Präkursor</b></i>	<i><b>Aminosäuresequenz</b></i>
SP	$\alpha$ -, $\beta$ -, $\gamma$ -Präprotachykinin A	Arg-Pro-Gln-Gln-Phe-Phe-Gly-Leu-Met-NH <sub>2</sub>
NKA	$\beta$ -, $\gamma$ -Präprotachykinin A	His-Lys-Thr-Asp-Ser-Phe-Val-Gly-Leu-Met-NH <sub>2</sub>
Neuropeptid K	$\beta$ -Präprotachykinin A	Asp-Ala-Asp-Ser-Ser-Ile-Glu-Lys-Gln-Val-Ala-Leu-Leu-Lys-Ala-Leu-Tyr-Gly-His-Gly-Gln-Ile-Ser-His-Lys-Thr-Asp-Ser-Phe-Val-Gly-Leu-Met-NH <sub>2</sub>
Neuropeptid $\gamma$	$\gamma$ -Präprotachykinin A	Asp-Ala-Gly-His-Gly-Gln-Ile-Ser-His-Lys-Arg-His-Lys-Thr-Asp-Ser-Phe-Val-Gly-Leu-Met-NH <sub>2</sub>
NKB	Präprotachykinin B	Asp-Met-His-Asp-Phe-Phe-Val-Gly-Leu-Met-NH <sub>2</sub>
Hemokinin-1	Präprotachykinin C	Thr-Gly-Lys-Ala-Ser-Phe-Phe-Gly-Leu-Met-NH <sub>2</sub>

Nicht aufgelistet sind die Endokinine

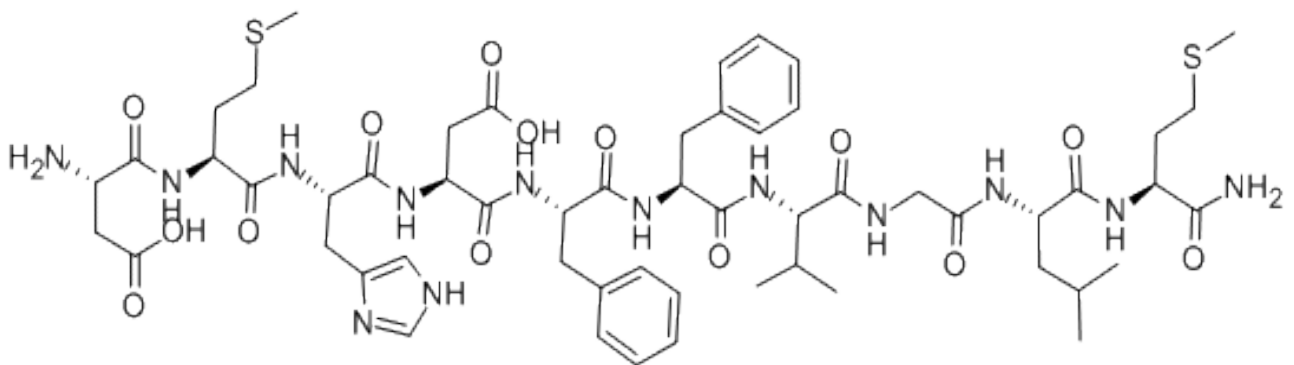


Abb. 2: Chemische Strukturformel Tachykinin B (Topaloglu et al., 2008)

### 2.2.2 Gewebedistribution von Tachykininen

Die meisten immunhistochemisch und molekularbiologischen Studien zur Distribution der Tachykinine vor allem im Gehirn, stammen aus Versuchen an Nagern und Schweinen. SP zeigt dabei eine weite Verbreitung in neuronalen Zellen und Nervenfasern in vielen Bereichen des ZNS wie Striatum (Bolam et al., 1983), limbisches System (Roberts et al., 1984), Medulla oblongata, Pons und Cerebellum (Menetrey und Basbaum, 1987) sowie im Cortex und Hippocampus (Iritani et al., 1989). Die höchste Konzentration von SP im ZNS zeigen Substantia nigra und Hinterhorn des Rückenmarks (Douglas et al., 1982). Eine Co-Lokalisation von SP mit Serotonin und GABA ( $\gamma$ -Aminobuttersäure) konnte für Neurone der Raphe Kerne in der Medulla oblongata gezeigt werden (Magoul et al., 1986). Im peripheren Nervensystem konnte SP in Hinterwurzelganglien und sensorischen Neuronen sowie in den meisten autonomen Ganglien als auch in Neuronen des intrinsisch-enterischen Systems nachgewiesen werden (Davis et al., 1985; Costa et al., 1985). Die Verteilung von SP in Neuronen und Nervenfasern des menschlichen Gehirns ist dem des Rattengehirns sehr ähnlich und zeigt eine hohe Dichte im Nucleus caudatus, Putamen, Substantia nigra und Hirnstamm (Halliday et al., 1990, Satake et al., 2013). Im Cortex und Hippocampus zeigt sich beim Menschen, verglichen mit dem Rattengehirn, in dem die höchste Dichte an SP in Substantia nigra zu finden ist, eine höhere Dichte an Zellen und Fasern mit SP (Cooper et al., 1981; Satake et al., 2013). Die anderen klassischen Tachykinine NKA und NKB, werden im Nervensystem in wesentlich geringerer Dichte nachgewiesen als SP (Chahl, 2006; Satake et al., 2013). Studien, die auf Grundlage von molekularbiologischen Techniken wie der Polymerasekettenreaktion (PCR) den Nachweis von DNA oder RNA verfolgen, zeigen dass sowohl PPT-A mRNA als auch PPT-B mRNA stark im ZNS exprimiert werden (Satake et al., 2013). Da sich NKA von  $\beta$ -PPT mRNA und  $\gamma$ -PPT mRNA ableiten lassen, tritt NKA nur in Co-Lokalisation mit SP auf, welches sich ebenfalls von diesen mRNAs ableiten lässt (Pennefather et al., 2004; Satake et al., 2013). NKB leitet sich von der PPT-B mRNA ab, ist somit unabhängig vom Auftreten von SP zu lokalisieren und wird vor allem im ZNS und enterischen Nervensystem nachgewiesen (Kotani et al. 1986; Pennefather et al., 2004; Satake et al., 2013). Da die klassischen Tachykinine im Zellsoma synthetisiert und anschließend in die Nervenenden transportiert werden, findet sich die jeweilige mRNA vor allem dort, wohingegen die jeweiligen Peptide in den Nervenfasern nachgewiesen werden (Chahl, 2006). Daher findet man mit immunhistochemischen Methoden Tachykinine auch in Geweben, die keine dazugehörige mRNA enthalten (Chahl, 2006). Die

Hauptquelle der Tachykinine scheint molekularbiologischen Studien zufolge das zentrale ZNS zu sein. PPT-A mRNA findet sich dabei fast ausschließlich im Gehirn, wohingegen andere alternative Transkriptionsprodukte (vor allem Neuropeptid K und Neuropeptid  $\gamma$ ) in peripheren Geweben überwiegen, jedoch ebenfalls im ZNS zu finden sind (Nakanishi et al., 1987; Pennefather et al., 2004; Satake et al., 2013). SP und NKA sind innerhalb des gesamten ZNS weit verbreitet, wohingegen NKB und PPT-B mRNA hauptsächlich im Hypothalamus und im Hinterhorn des Rückenmarks zu finden sind (Nakanishi et al., 1987; Goubillon et al., 2000). Tachykinin mRNAs sind ebenfalls in verschiedenen peripheren Nervengeweben, wie z.B. Capsaicin-sensitiven und Capsaicin-resistenten Neuronen anzufinden (Maggi et al., 1988; Myers et al., 2002). Im Gastrointestinaltrakt werden PPT-A  $\gamma$ -mRNA (80-90%) und PPT-A  $\beta$ -mRNA (10-20%) v.a. im intrinsisch-enterischen Neuronen angetroffen, wohingegen in intrinsisch-sensorischen Neuronen so gut wie nur SP nachgewiesen wird (Holzer und Holzer-Petsch, 1997; Pennefather et al. 2004; Satake et al., 2013). Auch der Nachweis von Tachykininen in unterschiedlichen nicht-neuronalen Geweben ist gut belegt. In Säugetieren z.B. werden SP und NKA in Speicheldrüsen, Herzmuskel, Haut, Milz, Nebennieren, Uterus, Hoden und Leydig-Zellen, Zellen des Immunsystems, in der Arteria pulmonalis sowie in den Nieren und der Schilddrüse gefunden (Page et al., 2003; Pinto et al., 2004; Pennefather et al., 2004), sowie PPT-B mRNA in Nieren, Plazenta, Hoden, Uterus und Bronchien und PPT-C mRNA vor allem in Herz, Muskeln, Schilddrüse, Haut und Nebennieren (Page et al., 2003; Pinto et al., 2004; Pennefather et al., 2004; Satake et al., 2006). Allein die Tatsache, dass eine Substanz in Neuronen und/oder Axonen nachgewiesen wird, stellt noch keinen ausreichenden Beweis für seine Funktion als Neurotransmitter oder Neuromodulator dar. Jedoch der Nachweis, dass spezifische Rezeptoren für Tachykinine existieren, sowie der Befund, dass Tachykinine von Nervenzellen durch physiologische und nicht physiologische Reize (Kalium, Capsaicin, elektrisch) über einen Calcium abhängigen Mechanismus freigesetzt werden und ihrerseits Neuronen erregen können, etabliert diese Peptide als Neurotransmitter (Chahl, 2006).

### 2.2.3 Tachykininrezeptoren

Tachykinine vermitteln ihren biologischen Effekt über spezifische Membranrezeptoren, die zur Familie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (GPCR) der Klasse 1 („rhodopsin-like“) zählen und ähnliche Strukturen sowie Funktionsprinzipien zeigen (Nakanishi et al., 1991, Pennefather et al., 2004, Almeida et al., 2004; Steinhoff et al., 2014). Die GPCRs stellen eine Protein Superfamilie dar,

deren DNA Sequenzen ca. 1% des gesamten Genoms einnehmen und in der zellulären Signaltransduktion eine Schlüsselrolle spielen (Almeida et al., 2004). Das Prinzip dieser Rezeptoren besteht in der Signaltransduktion eines extrazellulären Stimulus in eine intrazelluläre Antwort. Auf diesem Weg vermitteln wichtige Neurotransmitter wie Noradrenalin, Adrenalin, Acetylcholin, Dopamin, Serotonin, Glutamat und Tachykinine ihre Wirkung. Die GPCRs werden nach funktionellen Gesichtspunkten in fünf Klassen (A-E) eingeteilt. Die Rezeptoren sind aus sieben transmembranären Helixstrukturen aufgebaut, welche über drei intra- und extrazelluläre Loops verbunden sind. Das extrazelluläre Andocken eines Liganden führt zu einer Konformationsänderung des Rezeptors, wodurch intrazellulär über Stimulation des G-Proteins eine Signalkaskade in Gang gesetzt wird (Severini et al., 2002). GDP (Guanosindiphosphat) wird von der  $\alpha$ -Untereinheit des G-Proteins abgespalten und GTP (Guanosintriphosphat) gebunden, was zur Loslösung des G-Proteins vom Rezeptor führt. Das gelöste G-Protein dissoziiert anschließend in eine  $\alpha$ -Untereinheit und eine  $\beta\gamma$ -Untereinheit, welche beide weitere Signalkaskaden auslösen können (Knall und Johnson, 1998). Über diese Signalkaskade wird im nächsten Schritt die Phospholipase C aktiviert und durch diese PIP<sub>2</sub> (Phosphatidyl-Inositol-4,5-bisphosphat) in DAG (Diacylglycerin) und IP<sub>3</sub> (Inositol-1,4,5-trisphosphat) gespalten. Es kommt so zur IP<sub>3</sub> vermittelten intrazellulären Erhöhung der Calciumkonzentration aus dem Endoplasmatischen Retikulum (Knall und Johnson, 1998). Die erhöhte Calciumkonzentration aktiviert als Second-Messenger zusammen mit DAG letztendlich die Proteinkinase C und über diese vermittelt kommt es zur zellulären Antwort (Nakanishi et al., 1990; Knall & Johnson, 1998). Abhängig von der Tachykininkonzentration wird auch die Adenylatcyclase aktiviert, was letztendlich zur cAMP (cyclisches Adenosin Mono-Phosphat) Produktion aus ATP (Adenosintriphosphat) führt. cAMP kann an die regulatorische Untereinheit der Proteinkinase A binden und deren katalytische Funktion aktivieren, was zur Übertragung von Phosphatresten auf andere Enzyme führt und Einfluss auf deren Aktivität hat (Maggi et al., 1997). Beendet wird der aktive Rezeptorzustand durch die GTPase der  $\alpha$ -Untereinheit via Hydrolyse des gebundenen GTPs, was zur Reassoziaton mit der  $\beta\gamma$ -Untereinheit führt und eine Refraktärphase nach sich zieht (Knall und Johnson, 1998). Tachykininrezeptoren sind nicht nur beim Menschen an der zellulären Kommunikation beteiligt, sondern konnten in verschiedenen Spezies nachgewiesen werden (Almeida et al., 2004). Bis 2020 wurden beim Menschen drei verschiedene Tachykinin-Rezeptoren (NK<sub>1</sub>, NK<sub>2</sub>, NK<sub>3</sub>) identifiziert (Nakanishi, 1991; Gerard et al., 1993; Maggi et al., 1995; Almeida et al., 2004; Satake et al., 2013; Steinhoff et al., 2014). Der humane NK<sub>1</sub>-Rezeptor setzt sich aus 407 Aminosäuren zusammen, der

## 2 Einleitung

humane NK2-Rezeptor aus 398 Aminosäuren. Der humane NK3-Rezeptor ist am Aminoterminus länger als die beiden anderen und zählt 465 Aminosäuren (Maggi et al., 1995; Steinhoff et al., 2014). Bei anderen Spezies finden sich z.T. abweichende Längen (Almeida et al., 2004). Die humanen Tachykininrezeptoren 1 bis 3 weisen untereinander eine zu annähernd 50% ähnliche Aminosäurestruktur auf (Almeida et al., 2004). Die Rezeptoraffinität zum jeweiligen Agonisten wird durch den N'-Terminus der Proteinsequenz bestimmt (Almeida et al., 2004). Die höchste Affinität zum NK1-Rezeptor weist SP auf, gefolgt von NKA und NKB, die höchste Affinität zum NK2-Rezeptor zeigt NKA, gefolgt von NKB und SP (Regoli et al., 1994; Garcia-Recio und Gascón, 2015). Der NK3-Rezeptor bindet NKB am selektivsten, gefolgt von NKA und SP (Regoli et al., 1994; Garcia-Recio und Gascón, 2015). Die Selektivität der Tachykinine zu ihren Rezeptoren ist nicht außerordentlich hoch und sie können deshalb konzentrationsabhängig jeweils an allen drei Rezeptoren als Agonisten auftreten, was sich jedoch abhängig von Ligand und Rezeptortyp, die aufeinandertreffen, in der Intensität der zellulären Antwort widerspiegelt (Regoli et al., 1994, Almeida et al., 2004; Satake et al., 2013; Garcia-Recio und Gascón, 2015). Tabelle 7 zeigt die Affinität der verschiedenen Tachykinine abhängig vom jeweiligen Tachykininrezeptor.

Tabelle 7: Affinität der Neurokinine zum jeweiligen Rezeptor aus (Garcia-Recio und Gascón, 2015)

<i><b>Rezeptor</b></i>	<i><b>Affinität</b></i>
Neurokinin 1 Rezeptor	Substanz P > Tachykinin A > Tachykinin B
Neurokinin 2 Rezeptor	Neurokinin A > Neurokinin B > Substanz P
Neurokinin 3 Rezeptor	Neurokinin B > Neurokinin A > Substanz P

### Tachykinin-Rezeptor-Gene

Die Gene, welche für Tachykininrezeptoren codieren, sind jeweils ähnlich aufgebaut. Sie bestehen aus fünf Exons sowie vier Introns, welche die proteincodierenden Sequenzen, in identischer Position unterbrechen (Krause et al., 1993; Almeida et al., 2004). Dabei ist die Familie der Tachykininrezeptoren eine der wenigen innerhalb der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren, welche noch Introns beinhalten (Pennefather et al. 2004; Garcia-Recio und Gascón, 2015). In Tabelle 8 auf Seite 27 sind die bekannten humanen Tachykinin Rezeptoren 1 bis 3 mit dem jeweils codierenden Gen und chromosomaler Position zusammengefasst. Die Affinität des Rezeptors ist von Variationen im 5' Ende abhängig.

Tabelle 8: Überblick der bekannten humanen Tachykinin Rezeptoren mit genetischer Lokalisation

<i>Rezeptor</i>	<i>Gen</i>	<i>chromosomale Position</i>
NK1	TAC1R	2p13.1-p12
NK2	TAC2R	10q11-q21
NK3	TAC3R	4q24

#### 2.2.4 Distribution des NK3-Rezeptors im zentralen Nervensystem

Neurokinin-3-Rezeptoren (NK3-Rezeptor) werden vor allem in Gehirn und Rückenmark gefunden, wobei sie im Vergleich zu den NK1- und NK2-Rezeptoren in geringerer Dichte vorkommt (Almeida et al., 2004). Studien am Tiermodell zur Distribution des NK3-Rezeptor zeigten speziesabhängig unterschiedliche Verteilungsmuster innerhalb des ZNS (Massi et al., 2000; Nagano et al., 2006). Jedoch besteht Konsens über das Vorkommen von NK3-Rezeptor mRNA im ZNS (Buell et al., 1992; Langlois et al., 2001), sowie über die Hirnregionen, die Senktide binden (Spooren et al., 2005). Senktide sind synthetische Peptide, die eine hohe Affinität zum NK3-Rezeptor aufweisen und dort als selektive Agonisten fungieren (Spooren et al., 2005). Der Einfluss dieses NK3-Rezeptor Agonisten auf emotionales Verhalten sowie verschiedener Lern- und Gedächtnisprozesse bei Säugetieren wurde in mehreren Studien bestätigt (Ukai et al., 1996; Saito et al., 2008). Eine Senktidebindung beim Säuger wurde im frontalen und parietalen Kortex, dem Cingulum, der Amygdala, dem Hippocampus, der Substantia Nigra, dem ventralen Tegmentum und den Raphekernen nachgewiesen (Stoessl, 1994; Langlois et al., 2001; Spooren et al., 2005). Die zelluläre Lokalisation der NK3-Rezeptoren im Mesencephalon wurde im Tierversuch mittels Läsionstechnik untersucht, wobei ein Neurotoxin, 6-Hydroxydopamin, in das mediale Vorderhirnbündel infundiert wird und es so zu einer retrograden Degeneration von Axonen und Zellen kommt, welche die Senktide-Bindung im ventralen Mesencephalon stark reduziert (Stoessl et al., 1994). Daraus kann geschlossen werden, dass NK3-Rezeptoren unter anderem auf der Oberfläche von dopaminergen Zellen innerhalb der hauptsächlich dopaminproduzierenden Zellgruppen im Mesencephalon lokalisiert sind (Langlois et al., 2001). Überdies hinaus konnte in neurochemischen Untersuchungen von Marco et al. (1998) und Nalivaiko et al. (1997) eine Steigerung der Dopaminsekretion in Nucleus accumbens, Striatum und präfrontalen Cortex durch Senktide beobachtet werden. Im Tiermodell zeigten sich verstärkte dopaminvermittelte Verhaltensweisen wie Schnüffeltrieb und Bewegungsdrang nach Gaben von NK3-Rezeptor Agonisten (Stoessl et al., 1991).



### **2.2.5 Rolle des NK3-Rezeptors in der Ätiologie von Erkrankungen**

#### NK3-Rezeptor und hypogonadotroper Hypogonadismus

Mutationen im NK3-Rezeptor Gen sowie im NKB Gen scheinen für eine Form des familiären hypogonadotropen Hypogonadismus verantwortlich zu sein (Topaloglu et al., 2009; Guran et al., 2009; Gianetti et al., 2010). Wie bereits beschrieben, wird der NK3-Rezeptor im ZNS, und hier auch in Bereichen, die für Regulierung der GnRH (Gonadotropin-Releasing-Hormon) Ausschüttung verantwortlich sind, exprimiert (Topaloglu et al., 2009; Guran et al., 2009; Gianetti et al., 2010). Das NK3-Rezeptor Gen einer türkischen Familie mit Drillingen, welche alle von einer Form des hypogonadotropen Hypogonadismus betroffen waren, wurde von Guran et al. (2009) sequenziert. Es zeigte sich bei allen drei betroffenen Kindern dieselbe Mutation im NK3-Rezeptor Gen (His148Leu), die einen extrazellulär lokalisierten Rezeptoranteil des NK3-Rezeptors verändert und so zu einer inadäquaten Rezeptorantwort durch die Stimulation mit NKB führt. Alle drei Tachykininrezeptoren sind darüber hinaus an der Regulation des Urogenitalsystems beteiligt. Ureterperistaltik, Kontraktion der Harnblase und glatten Muskulatur der Genitalien sowie Steroidsekretion, Hoden und Ovarien werden über die Tachykininrezeptoren beeinflusst (Candenas et al., 2005; Steinhoff et al., 2014).

#### NK3-Rezeptor/NKB und Präeklampsie

Der Beitrag von NKB und seines Rezeptors in der Präeklampsie als ätiologischer, diagnostisch-prädiktiver und möglicherweise auch therapeutischer Faktor ist schon seit mehr als zehn Jahren Gegenstand durchgeführter Studien. Die genauen Ursachen dieser Erkrankung sind noch immer unklar, jedoch scheint eine multifaktorielle Ätiopathogenese als wahrscheinlich (Page et al., 2010). In diesem Zusammenhang konnte gezeigt werden, dass es bei präeklampsischen Schwangerschaften, vor allem im letzten Trimenon, zu einem signifikantem Anstieg von NKB im maternalen Blutkreislauf kommt (Page et al., 2010). Die genaue Ätiologie dieses NKB Anstiegs ist unklar, der Befund kann jedoch als Indikator für den weiteren Verlauf der Erkrankung genutzt werden und eine Behandlung mit Neurokinin-Rezeptor-Antagonisten eine therapeutische Option darstellen (Page et al., 2010).

### Der NK3-Rezeptor und Alkoholabhängigkeit

Auch scheint der NK3-Rezeptor mit Alkohol- und Kokainabhängigkeit assoziiert zu sein (Foroud et al., 2009). In mehreren genetischen Studien zur Ätiologie der Alkoholabhängigkeit wurde bereits eine breite Region von Chromosom 4 auf diese Erkrankung hin untersucht und das NK3-Rezeptor Gen als positionelles Kandidatengen identifiziert (Foroud et al., 2008). Pharmakologische Studien konnten zeigen, dass die Gabe von NK3-Rezeptor-Agonisten zu vermindertem Craving und damit zu reduziertem Alkoholkonsum bei Abhängigen führt und über dies hinaus die akuten und chronischen Verhaltensänderungen, die durch Kokainkonsum verursacht werden, dämpfen kann (Foroud et al., 2008). Foroud et al. genotypisierten 30 SNPs des NK3-Rezeptor Gens in einer familienbasierten Assoziationsstudie zur Alkohol- und Kokainabhängigkeit und konnten sieben von neun SNPs in der 3'Region des Gens mit einer signifikanten Assoziation ( $p \leq 0,05$ ) zu dieser Erkrankung identifizieren (Foroud et al., 2008).

### **2.2.6 Rolle des NK3-Rezeptors in der Ätiologie der Schizophrenie**

Die Lokalisation der NK3-Rezeptoren in Hirnregionen der dopaminproduzierenden Zellen, ist für das Verstehen der Wirkungsweise des NK3-Rezeptors von Bedeutung, da diese Hirnregionen ein neuronales Substrat von psychiatrischen Erkrankungen bilden (Meltzer und Stahl, 1976; Spooen et al. 2005; Steinhoff et al., 2014). Interaktionen des NK3-Rezeptorsystems mit dem ZNS wurden in mehreren pharmakologischen Studien untersucht (Massi et al., 2000). Dabei konnten Tachykinine und ihre Rezeptoren in Regionen für Verhalten wie Stress, Emotion, Angst und Stimmung lokalisiert werden, welche wiederum in enger Beziehung zu serotonergen, dopaminergen und noradrenergen Transmittersystemen stehen (Ebner et al., 2009). Die Erfolge in klinischen Studien mit zwei nicht peptidischen NK3-Rezeptor Antagonisten, Osanetant und Talnetant, bei schizophrenen Patienten mit ausgeprägter Positivsymptomatik sprechen ebenfalls für eine Beteiligung des NK3-Rezeptors an der Pathophysiologie der Schizophrenie (Steinhoff et al., 2014). Osanetant ist der erste nicht peptidische, potente Antagonist, der selektiv am NK3-Rezeptor bindet und aus dem der selektive NK2-Rezeptor Antagonist Saredutant (SR48968) weiterentwickelt wurde. Er zeichnet sich pharmakokinetisch im Tierversuch durch eine hohe Clearance aus, ist jedoch oral nur schlecht bioverfügbar (Spooen et al., 2005; Steinhoff et al., 2014). Talnetant ist ebenfalls ein potenter und selektiver NK3-Rezeptor-Antagonist und wurde ursprünglich konzipiert,

um Liganden am NK1-Rezeptor zu untersuchen, zeichnet sich im Gegensatz zu Osanetant durch eine gut orale Bioverfügbarkeit aus, besitzt jedoch eine schlechte Clearance (Spooren et al., 2005). Meltzer et. al. zeigten 2004 in einer Placebo kontrollierten Studie bei schizophrenen Patienten ein signifikante Verbesserung positiver Symptome durch den selektiven, nicht peptidischen NK3-Rezeptor-Antagonisten Osanetant (SR142801), mit weniger unerwünschten Nebenwirkungen als bei herkömmlichen Dopamin-Rezeptor Antagonisten. Eine Metastudie zur Anwendung von NK3-Rezeptor Antagonisten bei schizophrenen Patienten zeigte ein positives Wirkungsprofil dieser Substanzklasse (Simonsen et al., 2010). Das Vorkommen von NK3-Rezeptoren auf Dopamin produzierenden Zellen im ventralen Mesencephalon legt die Vermutung nahe, dass NK3-Rezeptoren den Dopaminstoffwechsel beeinflussen. Diese Vermutung wurde bereits durch Humpel et al. (1991) erhärtet, die im Tierversuch nachweisen konnten, dass eine Infusion von Substanz P in hohen Dosen, das dabei aufgrund der niedrigen Rezeptorselektivität auch an NK3-Rezeptoren als Agonist auftritt, im ventrale Mesencephalon zu einer neuronalen Aktivierung und einer Änderung der Dopaminausschüttung führt, was im Tierversuch dopaminvermittelte Verhaltensweisen wie Gähnen und Kauen erzeugte, sowie zur Beobachtung, das dieses Verhalten durch Dopamin-Rezeptor Antagonisten wie z.B. Haloperidol teilweise antagonisiert werden kann (Stoessl et al., 1991). Ebenso konnte gezeigt werden, dass Senktide dopaminsensitive Zellen der Substantia Nigra erregen, wohingegen selektive NK1-Rezeptor und NK2-Rezeptor Agonisten dazu nicht in der Lage sind (Seabrook et al., 1995). Diese Beobachtungen werden von der Tatsache untermauert, dass die Erregung von dopaminergen Zellen durch selektive NK3-Rezeptor Agonisten wie Senktide auch nur durch selektive NK3-Rezeptor Antagonisten, wie z.B. Osanetant, aber nicht durch selektive NK1-Rezeptor oder NK2-Rezeptor Antagonisten, blockiert werden kann (Nalivaiko et al., 1997). Zusammenfassend zeigen die angeführten Ergebnisse, dass durch selektive NK3-Rezeptor Agonisten die Dopaminausschüttung im ventralen Mesencephalon sehr wahrscheinlich erhöht werden kann, sowie dadurch die Dopaminfreisetzung im ventralen und dorsalen Striatum und präfrontalen Cortex und dies eine direkte Folge der Erregung dopaminergener Neuronen durch den NK3-Rezeptor darstellt (Marco et al., 1998; Nalivaiko et al., 1997; Dawson et al., 2008). Neben der Interaktion des NK3-Rezeptors mit dopaminergen Zellen, beeinflusst der NK3-Rezeptor auch den Serotonin- und Noradrenalinhaushalt (Spooren et al., 2005). Wird ein NK3-Rezeptor Agonist intracerebroventiculär (ICV) oder direkt in die Raphae Kerne eingebracht, führt dies im Tierversuch zu Serotonin vermittelten Verhaltensweisen wie z.B. Kopfzucken und letztlich zum sogenannten Serotoninsyndrom mit seinen Symptomen (Stoessl et al., 1988). Unterstützt wird diese Tatsache

## 2 Einleitung

durch die Beobachtung, dass Teile des durch NK3-Rezeptor Agonisten ausgelösten Serotoninsyndroms durch Antagonisten wie z.B. Ketanserin, Pindolol oder Ritanserin an 5-HT<sub>1a/2a/2c</sub> Rezeptoren, unterdrückt werden können (Stoessl et al., 1988). Serotonerge Neurone modulieren kognitive Fähigkeiten und ihre Rezeptoren sind über selektive Serotonin-Wiederaufnahmehemmer Ansatzpunkt in der Behandlung von psychiatrischen Erkrankungen wie Depression (Cifariello et al., 2008). Ebenso wird im Tierversuch bei einer ICV- oder lokalen Infusion von NK3-Rezeptor Agonisten wie Senktide ein steigender Noradrenalin- und GABA-Spiegel ( $\gamma$ -Aminobuttersäure) im präfrontalen Cortex beobachtet, welcher durch Vorbehandlung mit Antagonisten am NK3-Rezeptors deutlich geringer ausfällt (Bert et al., 2002). Analog zu den Versuchen mit NK-3-Rezeptor Agonisten und Antagonisten im Tiermodell wurden eine deutliche Erhöhung des extrazellulären Acetylcholins im Hippocampus beschrieben (Marco et al., 1998). In Zusammenfassung dieser Beobachtungen kann folglich geschlossen werden, dass es durch Aktivierung der NK3-Rezeptoren zur Freisetzung der biogenen Amine Dopamin, Serotonin, Acetylcholin, GABA und Noradrenalin kommt und durch selektive NK3-Rezeptor Antagonisten die Freisetzung dieser Neurotransmitter vermindert wird. Dies schließt insbesondere auch Dopamin im ventralen und dorsalen Striatum sowie Serotonin mit ein, die beide eine zentrale Rolle in der Pathophysiologie der Schizophrenie spielen (Meltzer et al., 1976, Spooren et al., 2005; Steinhoff et al., 2014). Aufgrund der aufgeführten Beobachtungen wurde auch von einer japanischen Forschergruppe das NK3-Rezeptor Gen als plausibles, funktionelles Suszeptibilitäts-gen der Schizophrenie angesehen. Es wurde eine Assoziationsstudie zu neun SNPs des NK3-Rezeptor Gens an einer japanische Population mit 384 schizophrenen Patienten und 385 gesunden Kontrollen durchgeführt, welche jedoch keine signifikante Assoziation der untersuchten SNPs nachweisen konnte (Saito et al., 2008).

## **2.3 Fragestellung**

In der Ätiologie der Schizophrenie gilt eine starke genetische Komponente als gesichert.

Die genauen Ursachen dieser lebenslangen und mit weitreichenden Konsequenzen verbundenen Erkrankung bleiben jedoch weiterhin ungeklärt.

Eine geeignete Methode, um den genetischen Ursachen dieser komplexen Erkrankung näher zu kommen, ist die Suche nach Suszeptibilitätsgenen mit Hilfe von Fall-Kontroll-Assoziationsstudien.

Das NK3-Rezeptor Gen erweist sich hinsichtlich der Pathophysiologie der Schizophrenie als wichtiges funktionelles Kandidatengen.

Ziel dieser Studie ist es, einen Zusammenhang von fünf SNPs des NK3-Rezeptor Gens mit Schizophrenie zu bestätigen oder auszuschließen.

Dafür wurden Allel- und Genotypenfrequenzen von 506 Patienten mit Schizophrenie kaukasischer Abstammung, mit denen von 600 gesunden kaukasischen Kontrollprobanden verglichen.

## **3 Material und Methoden**

### **3.1 Allgemeine Vorbedingungen**

Alle Probanden (Kontrollen/Patienten) wurden über die Ziele dieser Studie sowie die vertrauliche und streng anonymisierte Verwendung ihrer erhobenen Daten und der gewonnenen Blutproben in Kenntnis gesetzt. Die Teilnahme an dieser Studie erfolgte auf freiwilliger Basis. Vor der Teilnahme wurde von jedem Probanden eine schriftliche, unterschriebene Einverständniserklärung eingeholt. Das Einverständnis konnte zu jedem Zeitpunkt der Studie auch ohne Begründung widerrufen werden. Die lokale Ethikkommission stimmte der Durchführung dieser Studie zu. Alle Gespräche und Untersuchungen fanden in der Universitätsklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwigs-Maximilians-Universität München statt.

### **3.2 Studienteilnehmer**

Die Studie umfasste zwei Kollektive: gesunde Probanden als Kontrollgruppe sowie Patienten mit der Diagnose Schizophrenie nach DMS-IV. Neben der eigenen Rekrutierung von 86 Patienten, wurden weitere Probanden aus dem stetig erweiterten Pool der Arbeitsgruppe zugegriffen, um eine adäquate Anzahl für die geplanten Analysen zu erhalten.

#### **3.2.1 Kontrollprobanden**

Als Kontrollgruppe aus gesunden Probanden diente eine Stichprobe von 600 deutschstämmigen Personen aus der Bevölkerung Münchens, welche durch Zufallsauswahl mit Hilfe des Einwohnermeldeamtes ausgewählt wurden. In das Kollektiv der Kontrollprobanden wurden Personen aufgenommen, die nicht miteinander blutsverwandt und gesund waren und deren Rekrutierung durch ein mehrstufiges Auswahlverfahren erfolgte. Die Probanden erhielten per Post eine schriftliche Einladung zur Studie und im Falle einer positiven Rückantwort erfolgte zunächst ein standardisiertes Telefoninterview, bei dem nach psychiatrischen, psychischen sowie

neurologischen Erkrankungen des Probanden und seiner Familie gefragt wurde. War dieses erste Screening negativ hinsichtlich relevanter Vorerkrankungen und Ausschlusskriterien, erfolgte in der nächsten Stufe die Zusendung eines standardisierten Anamnesebogens, der von den Probanden ausgefüllt werden musste. Neben allgemeinen Daten wie Schulbildung, Familienstand und Abstammung wurde nach relevanten somatischen Erkrankungen und vor allem psychiatrischen Erkrankungen wie Angststörungen, Essstörungen, affektive Störungen wie Manien und Depressionen, Erkrankungen aus dem schizophrenen Formenkreis, Alkohol-, Nikotin- und Drogenmissbrauch sowie nach Suizidalität beim Probanden und seiner Familie gefragt. Im nächsten Schritt wurden die Probanden zu einem ausführlichen, persönlichen Interview eingeladen. Bei diesem persönlichen Gespräch wurde das Strukturierte Klinische Interview (SKID I; Wittchen et al., 1997) in einer Screeningversion zur Exploration gemäß der American Psychiatric Association in der fünften Revision 2013 eingesetzt (DSM-IV). Beim SKID I handelte es sich um ein halb strukturiertes klinisches Interview zur Erhebung von Achse-I-Störungen nach DSM-IV. Ebenso kam das SKID II (Wittchen et al., 1997) zur Diagnose von Persönlichkeitsstörungen (Achse-II Störungen nach DSM-IV) zum Einsatz. Zur Exploration psychiatrischer Erkrankungen bei Verwandten ersten Grades wurde das Family History Assessment Modul (FHAM; Rice et al., 1995) verwendet. Des Weiteren wurde Daten zu Verhaltensweisen in der Adoleszenz, des beruflichen Werdegangs und zur finanziellen Situation des Probanden in einem weiteren Anamnesebogen erhoben. Mit dem Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI; Richter & Guthke, 1996), als strukturiertes Interview wurde nach bisherigen belastenden Lebensereignissen der Probanden gesucht. Um die kognitive Leistungsfähigkeit der Probanden einschätzen zu können wurde bei Probanden die älter als 60 Jahren waren der Mini-Mental-Status-Test (MMST) durchgeführt. Der Wortschatztest (WST) sowie der Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene in der revidierter Form (HAWIE-R) als neuropsychologischen Testverfahren, kam bei allen Probanden zur Anwendung.

#### **3.2.2. Ausschlusskriterien für das Kontrollkollektiv**

Lagen Anhaltspunkte für eine psychiatrische Familienanamnese und/oder Störungen der Achse I & II und/oder relevante neurologische/somatische Störungen vor, führte dies zum Ausschluss. Als relevante neurologische Erkrankungen galten unter anderem FSME (Frühsommermeningoenzephalitis), Neurolyues, Neuroborreliose, Chorea Huntigton, Epilepsie,

Multiple Sklerose, Morbus Parkinson, Folgeschäden durch Meningitis/ Enzephalitis und Apoplex. Als relevante somatische Ausschlusskriterien galten Morbus Cushing, Morbus Wilson, Morbus Addison, Leberzirrhose, Lupus erythematodes, Z.n. Gehirnerschütterung/ Schädel-Hirn-Trauma mit stationärem Krankenhausaufenthalt >24 Stunden, intravenöser Drogenmissbrauch/ Drogenanamnese, infektiöse Erkrankungen wie HIV, Hepatitis C und Hepatitis B. Bei der Abstammung wurden Kontrollprobanden ausgeschlossen, deren Vorfahren nicht deutschstämmig waren und deren Muttersprache seitens Eltern und Großeltern nicht deutsch ist oder war. Ebenso zum Ausschluss führten ein Ergebnis von weniger als 26 Punkten im MMST und/ oder ein IQ-Gesamtwert von weniger als 81 Punkten im HAWIE-R.

#### **3.2.3 Patienten**

Die Patientengruppe bestand aus 506 schizophrenen, nicht verwandten Personen kaukasischer Abstammung, bei einem Altersdurchschnitt von 37,8 Jahren (von 18 Jahren bis 70 Jahren). In einer am Anfang stehenden standardisierten Anamnese wurden die Lebensgeschichte seit der Kindheit, schulische und berufliche Laufbahn, die familiäre Situation sowie die Wohnsituation, Erkrankungen, Alkohol- und Drogenmissbrauch, Medikamenteneinnahme, ambulante psychiatrische Therapien, stationäre psychiatrische Behandlungen und Suizidversuche des Patienten als auch der erst-, zweit-, und drittgradigen Blutsverwandten exploriert. Das anschließende standardisierte klinische Interview (SKID-I, klinische Version) zur Diagnosefindung gemäß DSM-IV ermöglichte die Zuordnung der Patienten zur Studie. Aus dem charakteristischen Symptomenkomplex Wahnvorstellungen, Halluzinationen, desorganisierte Sprechweise, stark desorganisiertes Verhalten oder katatonos Verhalten bzw. Negativsymptomatik (flacher Affekt, Alogie, Antriebshemmung, Anhedonie, Willensschwäche) mussten mindestens zwei Symptome anamnestizierbar sein. Handelte es sich um bizarre Wahnvorstellungen oder Halluzinationen aus kommentierenden oder dialogisierenden Stimmen, reichte eines dieser Merkmale aus. Dabei sollten diese Symptome für mindestens einen Monat bestanden haben und darüber hinaus Negativsymptome für mindestens sechs Monate persistiert haben, um eine Schizophrenie diagnostizieren zu können. Auszuschließen waren demgegenüber affektive- und schizoaffektive Störungen, die im SKID-I erfasst werden. Außerdem wurden, um die Diagnose Schizophrenie stellen zu können, der Konsum psychotroper Substanzen und somatische Erkrankungen wie z.B.



eine hepatische Enzephalopathie oder endokriner Erkrankungen, welche ähnliche Symptome erzeugen können, ausgeschlossen. Die Erstmanifestation der Erkrankung, die Verlaufsform sowie der Remissionsgrad wurden ebenfalls mit dem SKID-I erfasst. Mit der GAS-Skala (0-100 Punkte) wurde das momentane Leistungsniveau sowie das Leistungsniveau während der ausgeprägtesten Krankheitsphase eingeschätzt. Dies wird durch Fragen zur Alltagsbewältigung, beruflichen Situation, familiären Situation und zur Situation im persönlichen Freundeskreis während oben genannter Zeitpunkte evaluiert.

### 3.2.4 Ausschlusskriterien für das Patientenkollektiv

In die Studie aufgenommen wurden nur Patienten bei denen eine schizoaffektive Störung, andere Störungen aus dem schizophrenen Formenkreis nach DSM-IV sowie drogen- oder medikamenteninduzierte Psychosen ausgeschlossen werden konnten.

Ebenfalls zum Ausschluss führten bestimmte organische Erkrankungen, verschiedene Infektionserkrankungen und Tumoren, welche als Ätiologie für Psychosen prinzipiell in Frage kommen und eine Schizophrenie imitieren können (Tabelle 9).

Tabelle 9: Übersicht Ausschlusskriterien für das Patientenkollektiv

<b><u>Infektionskrankheiten</u></b>	<b><u>Neurologische Erkrankungen</u></b>
Lues-II-Infektion	FSME
HIV	Meningitis
Toxoplasmose	Enzephalitis/Enzephalopathie
Hepatitis C	Neuroborreliose
Floride Hepatitis B	Poliomyelitis
Toxoplasmose	Amyotrophelateralsklerose
Morbus Creutzfeld-Jakob	Chorea Huntington
i.v. Drogenkonsum (>1x)	Apoplex
<b><u>Internistische Erkrankungen</u></b>	Multiple Sklerose
Leberzirrhose	Muskeldystrophie
<b><u>Neurochirurgische Erkrankungen</u></b>	Restless-legs-Syndrom
Z.n. Gehirntumor, Z.n. schwerem Schädel-Hirn-Trauma	Fibromyalgie

### 3.3 Laborverfahren

Die Bearbeitung des Bluts, DNA-Extraktion und Genotypisierung wurde im Labor der Arbeitsgruppe durch geschultes Personal durchgeführt.

#### 3.3.1 DNA-Gewinnung

Von allen Kontrollprobanden und Patienten der Studie wurde venöses Blut in EDTA Monovetten entnommen und anonymisiert durch einen siebenstelligen alphanumerischen Code bei  $-80^{\circ}\text{C}$  gelagert. Zur Gewinnung der genomischen DNA wurde ein Kit der Firma Qiagen (Venlo/Niederlande) gemäß der Anleitung verwendet (QIAamp DNA Blood Maxi Handbook, 2005). Dafür wurden jeweils 5-10ml Blut bei Raumtemperatur aufgetaut und mit  $500\mu\text{l}$  Qiagen Protease versetzt, um eine leichtere Trennung von Proteinen und Nukleinsäuren zu erreichen. Im zweiten Schritt erfolgte die Zugabe von 12ml eines Guanidin-HCl Lysepuffers. Zur Homogenisierung wurde die Lösung für zwei Minuten auf dem Vortexer durchmischt. Anschließend wurde unter gleichzeitigem, gleichmäßigem Schütteln im  $70^{\circ}\text{C}$  Wasserbad für 30 Minuten inkubiert. Die so vorbereiteten Proben wurden in einem weiteren Schritt zur Fällung der DNA auf das Säulenmaterial mit 10ml Ethanol ( $>99,8\%$ ; Carl Roth, Karlsruhe/Deutschland) versetzt und wieder für zwei Minuten gevortext. Anschließend wurde die Suspension auf eine Silikatmembran pipettiert und für drei Minuten zentrifugiert (3000rpm). Die bei diesem Vorgang herrschenden Salz- und pH-Bedingungen unterbinden dabei die Anlagerung von RNA und Nukleinsäuren bindenden Proteinen. Um die DNA von RNA und verbliebenen Proteinen zu reinigen, wurde die Säule mit einem Guanidin-HCl Puffer versetzt und dieser wiederum in einem weiteren Schritt mit einem ethanolhaltigen Waschpuffer entfernt. Im letzten Schritt folgte nun die Elution der gewonnenen DNA von der Silikatmembran durch die Zugabe von 1,5ml Tris-Puffer (AL-Puffer  $\text{pH}>9,0$ ). Dazu wurde die DNA-haltige Membran bei Raumtemperatur fünf Minuten inkubiert und anschließend für weitere fünf Minuten zentrifugiert (5000rpm). Da die DNA zuvor im sauren Milieu an die Membran gebunden wurde, ließ sie sich nun mittels des basischen Puffers, welcher direkt auf die Membran pipettiert wird, von der Membran eluieren. Die so gewonnene, reine DNA wurde bei  $-80^{\circ}\text{C}$  gelagert oder sofort für die PCR verwendet.

### 3.3.2 DNA-Konzentrationsbestimmung

Um auch kleinste Mengen genomischer DNA detektieren und quantitativ bestimmen zu können, wurde die PicoGreen-Methode verwendet. PicoGreen® ist ein fluoreszierendes Färbemittel hoher Selektivität welches ausschließlich an dsDNA (doppelsträngige DNA) bindet. Das zugrunde liegende Prinzip dieser Methode ist eine Fluoreszenzzunahme, die von der jeweiligen DNA-Konzentration der zu messenden Probe abhängig ist. Die Fluoreszenzzunahme wird photometrisch gemessen und die sich daraus ergebende DNA-Konzentration der Probe kann dann mit Hilfe einer Eichkurve (100ng/µl; 50ng/µl; 25ng/µl; 12,5ng/µl; 6,25ng/µl; 3,125ng/µl; 1,5625ng/µl; 0ng/µl ) bestimmt werden. Für die Eichkurve wurde eine 1:2 Standard-Verdünnungsreihe aus DNA mit bekannter Konzentration (100ng/µl; Clontech, Mountain View/USA) hergestellt. Das tiefgefrorene PicoGreen Reagenz (Molecular Probes Inc., Eugene/USA) wurden für 60 Minuten bei Zimmertemperatur in einem lichtundurchlässigen Gefäß aufgetaut und dann eine Verdünnung von 1 : 156 PicoGreen mit Aqua bidest (pH 7,4) in einem lichtundurchlässigen 50ml Gefäß erstellt. Zur Vorbereitung der lichtundurchlässigen 96 *well* Messplatten (Greiner, Frickenhausen/Deutschland) wurde mit dem Pipettierroboter Janus Automated Workstation (PerkinElmer, Waltham/USA) jede Mulde zunächst mit 50ml H<sub>2</sub>O bestückt und dazu Duplikate von je 5µl der Standard-DNA Verdünnungsreihe in Vertiefung A1 und A2 der Spalte 1 und 2 der Platte gegeben. Danach wurden Duplikate der Probanden DNA von je 5µl einer 1:10 Verdünnung mit H<sub>2</sub>O bidest in die Positionen A3 und A4 pipettiert. In jedes *well* der DNA- und Standard-Probe wurden zusätzlich 145µl der PicoGreen-Verdünnung gegeben, so dass eine Verdünnung von 1:200 des PicoGreen vorlag. Der Transport der so vorbereiteten Messplatten zur DNA-Messstation Victor 3 Multilablecounter 1420 (PerkinElmer, Waltham/USA) erfolgte durch den Greifarm des Pipettierroboters. Durch Schütteln der Messplatten im Messgerät für 30 Sekunden in Doppellellipsen wurde die notwendige Durchmischung der Lösung erreicht. Die verwendete Anregungswellenlänge des Lichts für das PicoGreen betrug 485nm, die Messung der Fluoreszenzintensität fand bei 540nm statt. Die Emissionsmessung für jedes *well* betrug 0,1 Sekunden. Anhand aller Messergebnisse wurden die DNA Konzentration der Proben durch den Vergleich mit der Standardkurve ermittelt. Die Qualitätsprüfung der Standardkurve musste dabei einen Pearson'schen Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,99$  ergeben. Die Genauigkeit von +/- 10% für die qualitative SNP-Genotypisierung wurde dabei als ausreichend anerkannt. Alle Proben wurden auf eine Konzentration von 50ng/µl eingestellt.

### 3.3.3 Genotypisierung

In der vorliegenden Studie wurden 5 SNPs des NK3-Rezeptor Gens auf Chromosom 4q24 genotypisiert. Alle 5 untersuchten Polymorphismen liegen in Intronbereichen des Gens (Tabelle 10). Die Auswahl der zu genotypisierenden SNPs erfolgte zunächst durch Recherche von bereits publizierten SNPs in der *PubMed* Datenbank (NCBI 2001). Ziel war es möglichst informative SNPs zu genotypisieren. Kriterien dafür waren eine minimale Allelfrequenz von 10% in Europäern, sowie möglichst exonische SNPs, die zu einem Austausch der Aminosäuren in der Proteinsequenz führen als auch exonische SNPs, die zu keinem Aminosäuretausch führen (sog. stille Mutationen) sowie funktionelle SNPs in der Promotorregion des Gens. Das Gen wurde mit Hilfe von *haplotype tag* SNPs (htSNPs) nahezu vollständig abgedeckt. htSNPs sind Polymorphismen einer Genomregion mit hohem Kopplungsungleichgewicht (linkage disequilibrium, LD) mit anderen SNPs der jeweiligen Region. Sind diese bekannt, kann auf Polymorphismen die mit den SNPs im LD liegen, rückgeschlossen werden. Der Vorteil dieses Auswahlverfahrens ist, dass mit einer geringen Anzahl genotypisierter SNPs, maximaler Informationsgehalt generiert wird. Selektionskriterien für die htSNPs war ein LD von 1,0 und eine minore Allelfrequenz (MAF) von 0,25. Es wurde die Tagger Methode (de Bakker et al., 2005) zur Bestimmung der htSNPs verwendet. Um eine vollständige Abdeckung des Gens zu erreichen, wurden die SNPs auch auf die physikalisch gleichmäßige Verteilung im Gen überprüft. Bei größeren Lücken im Gen, wurden weitere SNPs, mit einer MAF von mindestens 0,25, in das Assaydesign übernommen.

Tabelle 10: Überblick der untersuchten Polymorphismen im NK3-Rezeptor Gen

<b><i>Acession No.</i></b>	<b><i>Position</i></b>	<b><i>Chromosom</i></b>	<b><i>Allel</i></b>	<b><i>Funktion</i></b>
rs17033903	104763051	4q24	C/T	Intron
rs17303520	104763340	4q24	A/C	Intron
rs17033923	104764495	4q24	C/T	Intron
rs3796972	104775240	4q24	G/T	Intron
rs6854678	104793002	4q24	C/T	Intron

Die Assays für die untersuchten SNPs wurden mit der Spectro Designer Software (Sequenom, San Diego/USA) entworfen. Die Datenbank des NCBI (National Center of Biotechnology Information)

lieferte die dazu benötigten Sequenzinformationen. Die Genotypisierung der SNPs erfolgte mit dem iPLEX-Verfahren (*Increased Plexing Efficiency and Flexibility for MassARRAY*) der Firma Sequenom. Das iPLEX-Verfahren erzeugt für jedes untersuchte Allel spezifische Primerextensionsprodukte, die über die Bestimmung der Masse mit dem MassARRAY MALDI-TOF MS (*Matrix Assisted Laser Desorption/ Ionisation Time Of Flight Mass Spectrometry*) der Firma Sequenom identifiziert werden können (Tabelle 11). Die so bestimmten Massen der Primerextensionsprodukte identifizieren die Genotypen der SNPs eindeutig. Das iPLEX-Verfahren ermöglicht dabei durch die Verwendung mehrerer verschiedener Primer in einer DNA-Probe die gleichzeitige Untersuchung verschiedener SNPs und so die Genotypisierung im Hochdurchsatz.

Tabelle 11: Primersequenzen für das iPLEX-Verfahren

<i>Acession No.</i>	<i>Primer I</i>	<i>Primer II</i>	<i>Länge</i>	<i>Extensionsprimer</i>
rs17033903	ACGTTGGATGAGG AAGTGCCAAGGAT ACAG	ACGTTGGATGCAA ACTGCTGGGATTG CAGG	132	CACCGTGCCTGGCCTTTC
rs17303520	ACGTTGGATGCAG TTCTTCTCTGGTAC CTG	ACGTTGGATGTGT TCAGAGTGAGTCT AGCC	132	TCCAAAAATATGTGGCCAA TTGA
rs17033923	ACGTTGGATGACC CTGGAGAACTAGA AGTC	ACGTTGGATGCTC ACAGCTAGAAGGT AGAC	116	GGATGATGGAGACCTGGCT TATAT
rs3796972	ACGTTGGATGACC TCTTGCTGCATATG AAC	ACGTTGGATGAAT GAGGACGCTATTG ACAG	145	GAAGTTAAATTCACCTTTAG GAAAA
rs6854678	ACGTTGGATGTGG AGAGAGAATCTTT GCCC	ACGTTGGATGCAG GCATCAGCTAGAT TTGG	122	GTCTAACAATTGCTGTCCT

### Das iPLEX-Verfahren

Das iPLEX-Verfahren läuft in zwei wesentlichen Reaktionsschritten ab. In einer initialen, konventionellen PCR-Reaktion des ausgesuchten Genombereichs werden zuerst die den SNPs angrenzende genomischen Bereiche amplifiziert, um genügend Untersuchungsmaterial zu haben. In einer weiteren PCR-Reaktion, entsteht für jedes Allel des jeweiligen SNPs ein massenspezifisches Produkt. Die PCR-Reaktionen, welche in 384 *well* Mikrotiterplatten (Abgene, Portsmouth/USA) durchgeführt werden, wurden unter Verwendung des Pipettierroboters Microlab 4000 (Hamilton,

### 3 Material und Methoden

Gräfelfing/Deutschland) angelegt. In jedes *well* der Mikrotiterplatten wurde ein PCR-Cocktail, bestehend aus 1,85µl H<sub>2</sub>O, 0,625µl PCR-Puffer (Qiagen, Venlo/Niederlande), 0,325µl MgCl<sub>2</sub> (25 nM) (Qiagen, Venlo/Niederlande), 0,1µl dNTP (25 nM) (Abgene, Portsmouth/USA), 1µl Primer Mix (je 500nM) (Qiagen, Venlo/Niederlande), 1µl DNA (5-10ng/µl) sowie 0,1µl Hotstar Taq (5U/µl) (Qiagen, Venlo/Niederlande) pipettiert. Die DNA-Platten mit den oben beschriebenen DNA-Cocktail wurden anschließend durch Wenden vorsichtig gemischt. Im Anschluss daran folgte die eigentliche PCR-Reaktion mittels Thermocycler (GeneAmp, PCR Sytem 9700, Applied Biosystems). Um die initiale Denaturierung der DNA zu ermöglichen, wurde der Thermocycler zuerst für 15 Minuten auf 94°C erhitzt und im Anschluss die Proben für 20 Sekunden auf 94 °C gehalten. Um das Annealing der *forward*- und *reverse*-Primer an die DNA-Einzelstränge zu ermöglichen, wurden die Proben sodann für 30 Sekunden auf 56°C abgekühlt. Damit die Taq-Polymerase für die Elongation die einzelnen Nukleotide an die Primer anfügen kann, wurde im letzten Schritt die Temperatur der Proben für eine Minute auf 72°C erhöht. Der beschriebene Reaktionsablauf wurde insgesamt 45mal wiederholt, um genügend Template für das weitere Vorgehen zu erhalten. Zur finalen Extensionsreaktion wurden die Proben für drei Minuten auf 72°C gehalten, dann auf 4 °C abgekühlt und bei dieser Temperatur für das weitere Vorgehen aufbewahrt. Um die Messung im Massenspektrometer durch bei der PCR nicht eingebaute Nukleotide nicht zu verfälschen, wurden die überschüssigen Nukleotide mit Hilfe des Enzyms SAP (Shrimp Alkaline Phosphatase) inaktiviert. Der SAP-Cocktail bestand dabei pro Reaktion aus 0,17µl SAP, 10x Puffer, 0,3µl SAP Enzym (1U/µl) und 1,53µl H<sub>2</sub>O (Tabelle 12).

Tabelle 12: Zusammensetzung des SAP-Cocktails

<b><i>Reagenz</i></b>	<b><i>Volumen</i></b>	<b><i>Hersteller</i></b>
Autoklaviertes H <sub>2</sub> O	1,53µl	Sequenom, San Diego/USA
SAP Puffer 10x	0,17µl	Sequenom, San Diego/USA
SAP Enzym (1U/µl)	0,30µ	Sequenom, San Diego/USA

Zu jeder PCR-Reaktion wurden jeweils 2µl des beschriebenen SAP-Cocktails gegeben und vorsichtig gemischt. Die so modifizierten PCR-Reaktionen wurden dann mittels Thermocycler bei 37°C für 20 Minuten inkubiert und das Enzym im Anschluss für 5 Minuten bei 85°C inaktiviert. Abschließend wurden die Proben auf 4°C abgekühlt. Für die Primer-Extensionsreaktion wurde ein zusätzlicher Extensionsprimer benötigt, der so konzipiert wurde, dass er unmittelbar vor dem zu untersuchenden SNP an das PCR-Produkt bindet (Tabelle 11, Seite 40). Die für diese Reaktion

verwendeten vier Didesoxynukleotide können nach dem Einbau nicht mehr verlängert werden. Somit wird an jeden Extensionsprimer nur eine Base angeknüpft und es entstehen DNA-Fragmente mit unterschiedlichen Massen. Im ersten Schritt wurde der iPLEX-Cocktail, pro Probe bestehend aus 0,755µl H<sub>2</sub>O, 0,2µl iPLEX-Puffer, 0,2µl iPLEX-Abbruch-Mix, 0,8µl Primer-Mix (7µM-14µM) sowie 0,041µl iPLEX-Enzym, in jedes *well* pipettiert. Die Polymerasekettenreaktion wurde mittels eines Thermocyclers durchgeführt. Das zweistufige Programm arbeitete mit zwei Durchlaufschleifen, bestehend aus einer äußeren und fünf inneren Schleifen, welche insgesamt 40mal durchlaufen wurden. Für die initiale Denaturierung wurden der Thermocyclers auf 94°C für 30s erhitzt. Als nächster Schritt folgen 5 Zyklen mit Denaturierung bei 94°C für 5s und 5 mal die innere Schleife, bestehend aus Annealing bei 52°C für 5s und Extensionsreaktion bei 80°C für 5s. Insgesamt wurden diese Reaktionsschritte aus Annealing und Extension 40mal durchgeführt, bis die finale Extension bei 72°C für drei Minuten stattfindet und die Proben auf 4°C abgekühlt wurden.

#### MALDI-TOF MS Analyse

Durch die Affinität von Nukleinsäuren zu Alkali- und Erdalkaliionen müssen die Proben im Anschluss mit einem Ionenaustauschharz (SpectroClean; Sequenom, San Diego/USA) aufbereitet werden, um so störende Kationen zu entfernen, die die MALDI-TOF-Messung beeinflussen würden. Das Analysegemisch wurde mit Hilfe eines MassARRAY-Nanodispensers (Sequenom, San Diego/USA) auf Siliziumchips übertragen. Diese Chips bestehen mit einer 384er Matrix aus der organischen Säure 3-Hydroxypicolinsäure (3-HPA). Zur Kalibrierung des Analysesystems wurden zu den 384 Proben Kalibranten, bestehend aus einer Olinukleotid Mischung bekannter Masse, aufgetragen. Die Siliziumchips wurden dann durch eine Vakuumschleuse im Massenspektrometer platziert und in dessen Hochvakuum mit einem Laserpuls für wenige Nanosekunden beschossen. Bei dieser Desorption/Ionisation wurden einfach geladene Molekülonen erzeugt, welche in die Gasphase übertraten. Die erzeugten Ionen wurden im elektrischen Feld beschleunigt und erreichten eine feldfreie Driftstrecke, das sog. Flugrohr, in dem sie abhängig vom Masse-/ Ladungsverhältnis ( $m/z$ ) aufgetrennt wurden. Durch die unterschiedlichen Massen, welche in den vorangegangenen Extensionsreaktionen erzeugt wurden, konnten die DNA-Fragmente an der Latenz der Flugdauer (*Time-of-flight*) mit Hilfe der TYPER Analyzer 3.3.0 Software (Sequenom, San Diego/USA) einem spezifischen Genotyp zugeordnet werden.

### 3.3.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mit Hilfe von PLINK (PLINK v1.07, Purcell et al. 2007) und R v2.13.0 (R Development Core Team, 2011) durchgeführt.

Die Allel- und Genotypenverteilung bei Kontrollprobanden und Patienten mit Schizophrenie wurde mittels des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts (HWE) überprüft.

Das HWE wurde mit dem *Exakten Test nach Fisher* bestimmt. SNPs mit signifikanten Abweichungen ( $p < 0,05$ ) in der Kontrollstichprobe wurden aus der weiteren Analyse ausgeschlossen. Der *Exakte Test nach Fisher* wurde zur Signifikanzprüfung der unterschiedlichen Allel- und Genotypenverteilung der Allelverteilungen (Allel 1 (A1) vs. Allel 2 (A2)) und Genotypenverteilungen im dominanten (A1A1+A2A2) und Genotyp- Model (A1A1 vs. A1A2 vs. A2A2) zwischen Kontrollprobanden und Patienten verwendet.

Für alle statistischen Berechnungen wurde ein Signifikanzniveau von  $p < 0,05$  zugrunde gelegt. Ein Trend zur Signifikanz wurde ab  $p < 0,10$  gesehen.



## 4 Ergebnisse

Im Rahmen der vorliegenden Fall-Kontroll-Assoziationsstudie wurden fünf Polymorphismen des NK3-Rezeptor Gens untersucht. Ziel der Studie war es einen möglichen Unterschiede in Genotypen- und Allelverteilung der Polymorphismen rs17033903, rs17303520, rs17033923, rs3796972 und rs6854678 des NK3-Rezeptor Gens in einem ausgewählten Patienten- und Kontrollkollektiv zu untersuchen, um so eine mögliche Assoziation zur Schizophrenie erkennen zu können.

### 4.1 Stichprobenbeschreibung

In die Stichprobe der folgenden Analysen zu Polymorphismen des NK3-Rezeptorgens gingen insgesamt 600 gesunde Kontrollprobanden und 506 an Schizophrenie erkrankte Patienten ein. Der Altersdurchschnitt der Kontrollgruppe lag bei 45,18 Jahren (von 18 Jahren bis 72 Jahren). Der Altersdurchschnitt der Patientengruppe lag bei 37,8 Jahren (von 18 Jahren bis 70 Jahren). Die Geschlechtsverteilung der beiden Kollektive und der untersuchten SNPs zeigt Tabelle 13.

Tabelle 13: Aufteilung der Studienteilnehmer nach Geschlecht

<b><i>SNP</i></b>	<b><i>Teilnehmer männlich</i></b>	<b><i>Teilnehmer weiblich</i></b>
<b>rs17033903</b>	613	490
<b>rs17303520</b>	559	536
<b>rs17033923</b>	544	509
<b>rs3796972</b>	552	488
<b>rs6854678</b>	581	515

## 4.2 Analyse des Markers rs17033903 des NK3-Rezeptor Gens

### Allelverteilung

Die Datenauswertung ergab die in Tabelle 14 dargestellte Allelverteilung innerhalb des Patienten- und Kontrollkollektivs. Es fanden sich mit  $p=0,203$  keine signifikanten Unterschiede in der Allelverteilung zwischen der Kontrollgruppe und der Patientengruppe.

Tabelle 14: Darstellung der Allelverteilung des Polymorphismus rs17033903

<b><i>Gruppe</i></b>	<b><i>C-Allel n (%)</i></b>	<b><i>T-Allel n (%)</i></b>	<b><i>Gesamt n</i></b>
<b>Kontrollen</b>	286 (23,91%)	910 (76,10%)	1196
<b>Patienten</b>	218 (21,58%)	792 (78,41%)	1010
<b>Gesamt</b>	504 (22,84%)	1702 (77,15%)	2206

### Genotypenverteilung

In der Analyse des Patienten- und Kontrollkollektivs waren die Genotypen des Polymorphismus rs17033903 innerhalb des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts verteilt. Tabelle 15 zeigt die Genotypenverteilung von rs17033903. Die Frequenz der Genotypen zeigte mit  $p=0,422$  keine signifikanten Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und der Patientengruppe.

Tabelle 15: Darstellung der Genotypenverteilung von rs17033903

<b><i>Gruppe</i></b>	<b><i>Genotyp-C/C n (%)</i></b>	<b><i>Genotyp-C/T n (%)</i></b>	<b><i>Genotyp-T/T n (%)</i></b>	<b><i>Gesamt n</i></b>
<b>Kontrollen</b>	31 (5,18%)	224 (37,46%)	343 (57,36%)	598
<b>Patienten</b>	22 (4,36%)	174 (34,46%)	309 (61,12%)	505
<b>Gesamt</b>	53 (4,81%)	398 (36,08%)	652 (59,11%)	1103

#### 4 Ergebnisse

In Tabelle 16 werden die Träger des C-Allels (C/C und C/T) mit den homozygoten Trägern des T-Allels verglichen dargestellt. Es konnte mit  $p=0,215$  keine Assoziation zur Schizophrenie gefunden werden.

Tabelle 16: Vergleich der Träger des C-Allels mit homozygoten Trägern des T-Allels des Markers rs17033903

<b><i>Gruppe</i></b>	<b><i>Genotyp C/C und C/T n (%)</i></b>	<b><i>Genotyp T/T n (%)</i></b>	<b><i>Gesamt</i></b>
<b>Kontrollen</b>	255 (42,64%)	343 (57,36%)	598
<b>Patienten</b>	196 (38,81%)	309 (61,19%)	505
<b>Gesamt</b>	451 (40,89%)	652 (59,11%)	1103

In Tabelle 17 werden die homozygoten Träger des C-Allels mit den Trägern des T-Allels (T/T und C/T) verglichen dargestellt. Es konnte auch hier mit  $p=0,573$  keine Assoziation zur Schizophrenie beobachtet werden.

Tabelle 17: Vergleich der homozygoten Träger des C-Allels mit Trägern des T-Allels des Markers rs17033903

<b><i>Gruppe</i></b>	<b><i>Genotyp C/C n (%)</i></b>	<b><i>Genotyp T/T und C/T n (%)</i></b>	<b><i>Gesamt n</i></b>
<b>Kontrollen</b>	31 (5,18%)	567 (94,82%)	598
<b>Patienten</b>	22 (4,36%)	483 (95,64%)	505
<b>Gesamt</b>	53 (4,88%)	1050 (93,25%)	1126

### 4.3 Analyse des Markers rs17303520 des NK3-Rezeptor Gens

#### Allelverteilung

Die Datenauswertung ergab die in Tabelle 18 (Seite 47) dargestellte Allelverteilung innerhalb des Patienten- und Kontrollkollektivs. Es konnten mit  $p=0,282$  keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Allelverteilung zwischen Patientengruppe und Kontrollgruppe gefunden werden.

Tabelle 18: Allelverteilung des Markers rs17303520

<b><i>Gruppe</i></b>	<b><i>A-Allel n (%)</i></b>	<b><i>C-Allel n (%)</i></b>	<b><i>Gesamt n</i></b>
<b>Kontrollen</b>	817 (69,00%)	367 (31,00%)	1184
<b>Patienten</b>	716 (71,17%)	290 (28,83%)	1006
<b>Gesamt</b>	1533 (70,00%)	657 (30,00%)	2190

### **Genotypenverteilung**

In der Analyse des Patienten- und Kontrollkollektivs waren die Genotypen des Basenaustauschpolymorphismus rs17303520 innerhalb des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts verteilt. Die Genotypenverteilung in der Patienten- und Kontrollgruppe sind in Tabelle 19 aufgedeutet. Auch hier ist mit  $p=0,498$  kein signifikanter Unterschied in den Genotypenfrequenzen zwischen den beiden Gruppen erkennbar.

Tabelle 19: Genotypenverteilung rs17303520

<b><i>Gruppe</i></b>	<b><i>Genotyp A/A n (%)</i></b>	<b><i>Genotyp A/C n (%)</i></b>	<b><i>Genotyp C/C n (%)</i></b>	<b><i>Gesamt n</i></b>
<b>Kontrollen</b>	283 (47,80%)	251 (42,40%)	58 (9,80%)	592
<b>Patienten</b>	253 (50,30%)	210 (41,75%)	40 (7,95%)	503
<b>Gesamt</b>	536 (48,95%)	461 (42,10%)	98 (8,95%)	1095

In der folgenden Tabelle 20 wurden die Träger des A-Allels (A/A und A/C) mit den homozygoten Trägern des C-Allels des SNP rs17303520 verglichen. Auch hier konnte mit  $p=0,431$  keine Assoziation zur Schizophrenie beobachtet werden.

Tabelle 20: Träger des A-Allels und homozygote Träger des C-Allels des SNP rs17303520

<b><i>Gruppe</i></b>	<b><i>Genotyp A/A und A/C n (%)</i></b>	<b><i>Genotyp C/C n (%)</i></b>	<b><i>Gesamt n</i></b>
<b>Kontrollen</b>	534 (90,20%)	58 (9,80%)	592
<b>Patienten</b>	463 (92,05%)	40 (7,95%)	503
<b>Gesamt</b>	997 (91,05%)	98 (8,95%)	1095

#### 4 Ergebnisse

In der Tabelle 21 wurden nun die homozygoten Träger des A-Allels mit den Trägern des C-Allels (A/C und C/C) des Markers rs17303520 verglichen. Auch diese Kombination konnte mit  $p=0,339$  eine Assoziation zur Schizophrenie nicht bestätigen.

Tabelle 21: Homozygote Träger A-Allel und Träger C-Allel des SNP rs17303520

<b><i>Gruppe</i></b>	<b><i>Genotyp A/A n (%)</i></b>	<b><i>Genotyp A/C und C/C n (%)</i></b>	<b><i>Gesamt n</i></b>
<b>Kontrollen</b>	309 (52,20%)	283 (47,80%)	592
<b>Patienten</b>	250 (49,70%)	253 (50,30%)	503
<b>Gesamt</b>	559 (51,05%)	536 (48,95%)	1095

#### 4.4 Analyse des Markers rs17033923 des NK3-Rezeptor Gens

##### Allelverteilung

Tabelle 22 zeigt die Allelverteilung des Polymorphismus rs17033923 in der Patienten- und Kontrollgruppe. Die statistische Auswertung ergab mit  $p=0,16$  keinen signifikanten Unterschied bezüglich der Allelverteilung zwischen Patienten und Kontrollprobanden.

Tabelle 22: Allelverteilung des SNP rs17033923

<b><i>Gruppe</i></b>	<b><i>C-Allel n (%)</i></b>	<b><i>T-Allel n (%)</i></b>	<b><i>Gesamt n</i></b>
<b>Kontrollen</b>	111 (9,54%)	1053 (90,46%)	1164
<b>Patienten</b>	110 (11,90%)	832 (90,04%)	942
<b>Gesamt</b>	221 (10,49%)	1885 (89,51%)	2106

### Genotypenverteilung

In der Analyse des Patienten- und Kontrollkollektivs waren die Genotypen des Markers rs17033923 innerhalb des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts verteilt. Die Verteilung der Genotypen auf das Patienten- und Kontrollkollektiv sind in Tabelle 23 dargestellt. Auch in der Genotypenfrequenz der beiden verglichenen Gruppen konnte mit  $p=0,224$  keine Signifikanz zur Schizophrenie beobachtet werden.

Tabelle 23: Genotypenverteilung des SNP rs17033923

<u>Gruppe</u>	<u>Genotyp C/C</u> <u>n (%)</u>	<u>Genotyp C/T</u> <u>n (%)</u>	<u>Genotyp T/T</u> <u>n (%)</u>	<u>Gesamt</u> <u>n</u>
<b>Kontrollen</b>	6 (1,03%)	99 (17,01%)	477 (81,96%)	582
<b>Patienten</b>	5 (1,06%)	100 (21,23%)	366 (77,71%)	471
<b>Gesamt</b>	11 (1,04%)	199 (18,90%)	843 (80,06%)	1053

In Tabelle 24 wurden die Träger des C-Allels des Markers rs17033923 (C/C und C/T) zusammengefasst und mit den homozygoten Trägern des T-Allels verglichen. In dieser Vergleichskombination konnte keine Signifikanz, jedoch mit  $p=0,089$  ein Trend, mit erhöhtem Risiko der C-Allelträger an Schizophrenie zu erkranken, beobachtet werden. C-Allelträger (Genotyp C/C und C/T) sind in Gruppe der Patienten mit Schizophrenie (22,22%) um ca. 4% höher als in der Kontrollgruppe (18,04%).

Tabelle 24: Träger des C-Allels (C/C und C/T) verglichen mit homozygoten Trägern des T-Allels

<u>Gruppe</u>	<u>Genotyp C/C und C/T</u> <u>n (%)</u>	<u>Genotyp T/T</u> <u>n (%)</u>	<u>Gesamt</u> <u>n</u>
<b>Kontrollen</b>	105 (18,04%)	477 (81,96%)	582
<b>Patienten</b>	105 (22,29%)	366 (77,71%)	471
<b>Gesamt</b>	210 (19,94%)	843 (80,06%)	1053

In der Tabelle 25 wurden die Träger des T-Allels (C/T und T/T) mit den homozygoten Trägern des C-Allels des Basenaustauschpolymorphismus rs17033923 dargestellt. In diesem Genotypenvergleich der beiden untersuchten Kollektive konnte mit  $p=1,0$  eine Assoziation zur Schizophrenie nicht bestätigt werden.

Tabelle 25: Träger des T-Allels verglichen mit homozygoten Trägern des C-Allels

<b><u>Gruppe</u></b>	<b><u>Genotyp C/C</u></b> <b><u>n (%)</u></b>	<b><u>Genotyp C/T und T/T</u></b> <b><u>n (%)</u></b>	<b><u>Gesamt</u></b> <b><u>n</u></b>
<b>Kontrollen</b>	6 (1,03%)	576 (98,97%)	582
<b>Patienten</b>	5 (1,06%)	466 (98,94%)	471
<b>Gesamt</b>	11 (1,04%)	1042 (98,96%)	1053

#### 4.5 Analyse des Markers rs3796972 des NK3-Rezeptor Gens

##### Allelverteilung

Tabelle 26 beschreibt die Allelverteilung des Basenaustauschpolymorphismus rs3796972 des NK3-Rezeptor Gens in den beiden untersuchten Kollektiven. Die statistische Auswertung ergab auch bei diesem Polymorphismus bezüglich der Allelverteilung in den untersuchten Gruppen mit  $p=0,565$  unserer Studie keinen signifikanten Unterschiede und somit keine Assoziation zur Schizophrenie.

Tabelle 26: Allelverteilung SNP rs3796972

<b><u>Gruppe</u></b>	<b><u>G-Allel</u></b> <b><u>n (%)</u></b>	<b><u>T-Allel</u></b> <b><u>n (%)</u></b>	<b><u>Gesamt</u></b> <b><u>n</u></b>
<b>Kontrollen</b>	335 (29,54%)	799 (70,46%)	1134
<b>Patienten</b>	291 (31,76%)	655 (69,24%)	946
<b>Gesamt</b>	626 (23,13%)	1454 (53,73%)	2706

**Genotypenverteilung**

In der untersuchten Kontroll- und Patientengruppe waren die Genotypen des Markers rs3796972 innerhalb des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts verteilt. Die Genotypenverteilung in diesen Gruppen ist in Tabelle 27 dargestellt. Die Frequenzen der Genotypen in den untersuchten Kollektiven zeigten mit  $p=0,831$  keine signifikanten Unterschiede zwischen Kontroll- und Patientengruppe.

Tabelle 27: Genotypenverteilung des SNP rs3796972

<b><i>Gruppe</i></b>	<b><i>Genotyp G/G n (%)</i></b>	<b><i>Genotyp G/T n (%)</i></b>	<b><i>Genotyp T/T n (%)</i></b>	<b><i>Gesamt n</i></b>
<b>Kontrollen</b>	49 (8,64%)	237 (41,80%)	281 (49,56)	567
<b>Patienten</b>	45 (9,51%)	201 (42,49%)	227 (47,99%)	473
<b>Gesamt</b>	94 (9,04%)	438 (42,12%)	508 (48,85%)	1040

In Tabelle 28 folgt die Darstellung der Träger des T-Allels (G/T und T/T) verglichen mit den homozygoten Trägern des G-Allels. Die Genotypenfrequenzen wiesen mit  $p=0.665$  zwischen den beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede auf.

Tabelle 28: Träger T-Allel und homozygote G-Allelträger rs3796972

<b><i>Gruppe</i></b>	<b><i>Genotyp G/G n (%)</i></b>	<b><i>Genotyp G/T und T/T n (%)</i></b>	<b><i>Gesamt n</i></b>
<b>Kontrollen</b>	49 (8,67%)	516 (91,33%)	565
<b>Patienten</b>	45 (9,51%)	428 (90,49%)	473
<b>Gesamt</b>	94 (9,06%)	944 (90,94%)	1038



#### 4 Ergebnisse

In Tabelle 29 wurden nun die Träger des G-Allels (G/G und G/T) zusammengefasst und mit den homozygoten Trägern des T-Allels verglichen. Auch in dieser Zusammenfassung der Allel-Träger konnte mit  $p=0,619$  kein signifikanter Unterschied in der Genotypenfrequenz der untersuchten Kollektiven bestätigt werden.

Tabelle 29: Träger des G-Allels und homozygote Träger des T-Allels SNP rs3796972

<b><i>Gruppe</i></b>	<b><i>Genotyp G/G und G/T n (%)</i></b>	<b><i>Genotyp T/T n (%)</i></b>	<b><i>Gesamt</i></b>
<b>Kontrollen</b>	286 (50,44%)	281 (49,56%)	567
<b>Patienten</b>	246 (52,01%)	227 (47,99%)	473
<b>Gesamt</b>	532 (34,37%)	508 (32,82%)	1548

## 4.6 Analyse des Markers rs6854678 des NK3-Rezeptor Gens

### Allelverteilung

Aus Tabelle 30 ergibt sich die Allelverteilung innerhalb der Kontroll- und Patientengruppe. Es konnten mit  $p=0,493$  keine signifikanten Unterschiede in der Allelverteilung zwischen Kontroll- und Patientengruppe gefunden werden.

Tabelle 30: Allelverteilung SNP rs6854678

<b><i>Gruppe</i></b>	<b><i>C-Allel n (%)</i></b>	<b><i>T-Allel n (%)</i></b>	<b><i>Gesamt n</i></b>
<b>Kontrollen</b>	382 (32,05%)	810 (67,95%)	1192
<b>Patienten</b>	335 (33,50%)	665 (66,50%)	1000
<b>Gesamt</b>	719 (32,77%)	1475 (67,23%)	2194

**Genotypenverteilung**

Die Genotypen des Polymorphismus rs6854678 waren in der Kontroll- und Patientengruppe innerhalb des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts verteilt. Tabelle 31 auf Seite 55 zeigt die Genotypenverteilung der beiden Gruppen. Die Genotypenfrequenz in beiden Gruppen zeigte mit  $p=0,655$  keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 31: Genotypenverteilung des Basenaustauschpolymorphismus rs6854678

<b><i>Gruppe</i></b>	<b><i>Genotyp C/C n (%)</i></b>	<b><i>Genotyp C/T n (%)</i></b>	<b><i>Genotyp T/T n (%)</i></b>	<b><i>Gesamt n</i></b>
<b>Kontrollen</b>	62 (10,40%)	258 (43,29%)	276 (46,31%)	596
<b>Patienten</b>	53 (10,60%)	229 (45,80%)	218 (43,60%)	500
<b>Gesamt</b>	116 (10,33%)	497 (44,26%)	510 (45,41%)	1123

Tabelle 32 ist eine Zusammenstellung der Träger des T-Allels (C/T und T/T) gegenüber der homozygoten Träger des C-Allels. Die beschriebenen Genotypenfrequenzen wiesen zwischen den untersuchten Gruppen mit  $p=0,922$  keine signifikanten Unterschiede auf.

Tabelle 32: Träger des T-Allels (C/T und T/T) verglichen mit homozygoten Trägern des C-Allels des Polymorphismus rs6854678

<b><i>Gruppe</i></b>	<b><i>Genotyp C/C n (%)</i></b>	<b><i>Genotyp C/T und T/T n (%)</i></b>	<b><i>Gesamt n</i></b>
<b>Kontrollen</b>	62 (10,40%)	534 (89,60%)	596
<b>Patienten</b>	53 (10,60%)	447 (89,40%)	500
<b>Gesamt</b>	115 (10,49%)	981 (89,51%)	1096

#### 4 Ergebnisse

In der Folgenden Tabelle 33 wurden nun die Homozygoten Träger des T-Allels mit den Trägern des C-Allels (C/C und C/T) des SNP rs6854678 verglichen. Auch in dieser Kombination der Genotypen waren mit **p=0,394** keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden untersuchten Gruppen zu erkennen.

Tabelle 33: homozygote Träger T-Allel und Träger C-Allel von rs6854678

<b><u>Gruppe</u></b>	<b><u>Genotyp C/C und C/T</u></b> <b><u>n (%)</u></b>	<b><u>Genotyp T/T</u></b> <b><u>n (%)</u></b>	<b><u>Gesamt</u></b> <b><u>n</u></b>
<b>Kontrollen</b>	320 (53,69%)	276 (46,31%)	596
<b>Patienten</b>	282 (56,40%)	218 (43,60%)	500
<b>Gesamt</b>	602 (54,93%)	494 (45,07%)	1096

## 5 Diskussion

Die vorausgegangenen Befunde zur Funktion und anatomischen Lage des NK3-Rezeptors im ZNS und Rückenmark (Almeida et al., 2004) führen zur Hypothese, dass das Rezeptorgen einen funktionelle Rolle in der Pathogenese der Schizophrenie spielen könnte. Auch die Studienergebnisse zur Physiologie des Rezeptors, mit Nachweis einer Interaktion des NK3-Rezeptors im dopaminergen, serotonergen und glutamatergen System, mit gesteigerter Dopaminausschüttung im ventralen und dorsalem Striatum und präfrontalem Cortex (Humpel et al., 1991; Keegan et al., 1992), den dopaminvermittelten Verhaltensreaktionen nach Stimulation von NK3-Rezeptor im ventralen Mesencephalon sowie der konsekutiven Inhibierung dieser Befunde durch Dopaminantagonisten wie Haloperidol (Stoessl et al., 1991; Spooren et al., 2005) legen diese Vermutung nahe. Der Einfluss des Rezeptors auf das serotonerge System, mit serotoninvermittelten Verhaltensweisen nach Verabreichung eines NK3-Rezeptor Agonisten in die Raphe Kerne mit konsekutiver Inhibierung durch Gabe von HT2A/5-HT2C Antagonisten (Sotessl et al., 1991, Stoessl et al., 1988) und den Erfolgen aus klinischen Studien mit NK3-Rezeptor Antagonisten bei Patienten mit Schizophrenie (Meltzer et al., 2004) untermauern die Hypothese, dass das NK3-Rezeptor Gen möglicherweise eine Rolle in der Pathogenese der Schizophrenie spielt und so ein funktionelles Kandidatengen darstellt. In den bisher durchgeführten GWAS zur Schizophrenie zeigten sich Polymorphismen des NK3-Rezeptor Gens nicht genomweit signifikant.

Weltweit gab es bis 2020 nur eine publizierte Fall-Kontroll-Assoziationsstudie zu Polymorphismen des NK3-Rezeptor Gens mit Schizophrenie an einer japanischen Population von Saito et al. (2008). In der vorliegenden Fall-Kontroll-Assoziationsstudie auf der Basis von unterschiedlichen Genotyp- und Allelverteilungen an einer Stichprobe aus 600 gesunden Kontrollprobanden und 506 Patienten wurde untersucht, ob die Allel- oder Genotypverteilungen von fünf SNPs des NK3-Rezeptor Gens eine Assoziation zur Schizophrenie zeigen. Mit diesem Studiendesign ist ein Zusammenhang zwischen vorausgewählten Variationen in definierten Regionen auf dem Genom und einem Phänotypen, zu dem sie möglicherweise auch nur geringen Beitrag leisten, überprüfbar. Die gewonnen Untersuchungsergebnisse lassen sich wie folgt interpretieren: Es konnten keine signifikanten Assoziationen bezüglich der untersuchten Marker zur Schizophrenie bestätigt werden. Bei einem der untersuchten Basenaustauschpolymorphismen, rs17033923, wurde mit einem p-Wert von 0,089 ein Trend in Richtung einer Assoziation mit der Schizophrenie beobachtet. Weiterführende Untersuchungen dieses Polymorphismus an einer größeren Stichprobe könnten

möglicherweise eine Assoziation zur Schizophrenie bestätigen. Über dies hinaus, ist anzunehmen, dass die hier vorliegende Studie, als auch die Stichprobengröße der Studie von Saito et al. mit 384 schizophrenen Patienten und 384 gesunden Kontrollprobanden zu klein ist, um eine Assoziation der untersuchten SNPs mit der Schizophrenie zu bestätigen oder auszuschließen. Es ist jedoch davon auszugehen, dass das NK3-Rezeptor Gen eine eher untergeordnete Rolle spielt.

## 5.1 Diskussion der Methoden

Den methodischen Gesichtspunkte kommt hinsichtlich der statistischen Aussagekraft der Ergebnisse und somit auch der Vergleichbarkeit mit anderen Studien, eine grundlegende Bedeutung zu. Die ethnische Zusammensetzung und den Verwandtschaftsbeziehungen der Studienteilnehmer innerhalb der Studie, das Alter sowie Geschlecht der Studienteilnehmer, die Stichprobengröße der Studie als auch die einheitliche Diagnosestellung und Ein- sowie Ausschlusskriterien zur Studie, stellen die allgemeinen Rahmenbedingungen der Aussagefähigkeit der Ergebnisse dar.

Bei genetischen Fall-Kontroll-Assoziationsstudien besteht in der heterogenen ethnischen Zusammensetzung des Patienten- und Kontrollkollektivs erhebliches Confoundingpotential, da die Allelausprägungen im Genom abhängig von der ethnischen Abstammung deutliche Unterschiede zeigen (Owen, 2000; Riley et al., 2006; Hu et al., 2008). Auch ungleichmäßige Verteilung der ethnischen Populationen innerhalb einer Fall-Kontroll-Studie können zu falsch-positiven und falsch-negativen Ergebnissen führen (Cardon et al., 2003). Im Rahmen der vorliegenden Studie wurden nur Patienten und Kontrollen kaukasischer Abstammung rekrutiert. Die Ethnizität der Patienten wurde bis in die dritte, blutsverwandte Generation überprüft. Bei den Teilnehmern der Kontrollgruppe musste die Muttersprache, sowohl der Eltern als auch der Großeltern, deutsch sein.

In der Studie von Saito et al. wurde die Abstammung der Teilnehmer als "japanisch" angegeben. Eine genauere Definition der ethnischen Abstammung wurde nicht durchgeführt. Bis in welche Generation die japanische Abstammung zurückverfolgt wurde, ist nicht bekannt, so dass eine genetisch uneinheitlichen Zusammensetzung der Probanden denkbar ist. Dies führt bei der bekannten Populationsstratifikation genetischer Merkmale zu einer Einschränkung der Aussagefähigkeit, insbesondere in Studien auf genetischer Basis, da nicht von einer gleichmäßigen Verteilung der unterschiedlichen Populationen auf Fälle und Kontrollen ausgegangen werden kann (Cardon et al., 2003). Da die genetischen Risikofaktoren für Schizophrenie und anderen

Erkrankungen auch von der ethnischen Abstammung abhängig sind, werden weiterführende Replikationsstudien der gleichen SNPs aber auch anderer SNPs des NK3-Rezeptor Gens mit Patienten und Kontrollen anderer ethnischer Herkunft nötig sein, um diese Ergebnisse zu validieren und um den Beitrag von Polymorphismen des NK3-Rezeptor Gens an der Pathophysiologie der Schizophrenie zu klären. In der Summe können Populationsstratifikationen zu einer schlechten Replizierbarkeit von genetischen Assoziationsstudien führen (Cardon et al., 2003; Redden et al., 2003). Wacholder et al. (2002) entgegen propagieren, dass Populationsstratifikationen bei strengen Rekrutierungsrichtlinien für Kontrollen und Patienten, innerhalb groß angelegter genetischer Assoziationsstudien mit hohen Fallzahlen insgesamt wenig nennenswerte Auswirkungen haben oder durch ein entsprechendes Studiendesign minimiert werden können. In kleinen Stichproben können bei genetisch bedingten Erkrankungen, innerhalb der untersuchten Fall- und Kontrollgruppen unentdeckte Verwandtschaftsbeziehungen bestehen, die zu Populationsstratifikation führen und ebenfalls berücksichtigt werden müssen. Bei ausreichend großer Zahl der untersuchten SNPs, wie dies insbesondere bei den GWAS zur Schizophrenie, mit mehreren hunderttausend untersuchten Polymorphismen der Fall ist, können demgegenüber genetische Verwandtschaftsbeziehungen entdeckt und ausgeschlossen werden. In der vorliegenden Studie führte eine Blutsverwandtschaft in der Patienten- und Kontrollstichprobe mit weiteren Teilnehmern zum Ausschluss. Werden jedoch lediglich z.B. Blutspender als Blindkontrollen eingesetzt, wie dies bei einigen Assoziationsstudien beobachtet werden kann, ist mit einer Einschränkung von Validität und Reliabilität zu rechnen, da bei genetisch basierten Erkrankungen die Wahrscheinlichkeit einer unentdeckten Blutsverwandtschaft erhöht ist. Populationsstratifikationen bergen somit die Gefahr der Produktion falsch-positiver und falsch-negativer Befunde und schränken die Vergleichbarkeit mit Assoziationsstudien aus unterschiedlichen Ethnien erheblich ein (Pritchard et al., 2001). Da der typische Erkrankungsbeginn der Schizophrenie, mit geschlechtsabhängigen Unterschieden, im Mittel zwischen dem 22. und 32. Lebensjahr liegt (Möller, 2005), spielt auch das Alter der Studienteilnehmer eine Rolle als möglicher Confounder. Liegt das durchschnittliche Alter der rekrutierten Kontrollprobanden unter dem des typischen Erkrankungsbeginns der Schizophrenie, kann eine spätere Manifestation der Erkrankung im Verlauf bei einzelnen Teilnehmern dieser Gruppe nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden und so zu falsch-negativen Ergebnissen führen. Auch zeigen Gene unter Umständen eine altersabhängige Aktivität, bei der es im Verlauf zu einer Reduktion des genetischen Produktes kommt, wie dies beispielsweise bei Subtypen der Serotoninrezeptoren der Fall ist, bei dem es mit zunehmendem Alter zu einem Verlust der

Rezeptordichte von bis zu 70% kommt (Papassotiropoulos et al., 2005). Bei einem zu hohem Durchschnittsalter der Probanden können dann Phänotypeneffekte übersehen werden, die nur in einer früheren Lebensphase messbar gewesen wären. Ob dies auch auf den NK3-Rezeptor zutrifft, ist jedoch nicht bekannt. Um mögliche Störgrößen im Vorfeld der Studie zu minimieren, sollte das durchschnittliche Alter der beiden Kollektive annähernd gleich sein, um eine maximale Vergleichbarkeit zu erreichen und die Validität der Studie nicht einzuschränken. In der vorliegenden Arbeit betrug das durchschnittliche Alter des Patientenkollektivs 37,75 Jahre, die des Kontrollkollektivs 45,18 Jahren und lag somit über dem statistischen Prädilektionsalters der Schizophrenie. In der Studie von Saito et al. war in beiden untersuchten Kollektiven das Durchschnittsalter der Patienten und Kontrollprobanden unausgeglichen. Das Durchschnittsalter der 223 weiblichen, gesunden Kontrollprobandinnen wird in der Studie mit 39,5 Jahren und einer Standardabweichung von 13,8 Jahren angegeben, so dass rechnerisch ein Teil der Probandinnen die Menopause noch nicht erreicht hat. Hier wäre eine postmenopausale Ersterkrankung nach Wegfallen des protektiven Östrogeneffektes auf Dopamin D2-Rezeptoren und somit eine falsch negative Ergebnisabweichung theoretisch denkbar (Häfner, 2003). Im umgekehrten Fall ist bei jüngeren Patientinnen die Entwicklung einer Schizophrenie zu einem späteren Zeitpunkt nicht auszuschließen und somit ebenfalls eine falsch negative Ergebnisabweichung möglich.

In der vorliegenden Studie und der Studie von Saito et al. (2008) war innerhalb des Patientenkollektivs als auch im Kontrollkollektiv, das Verhältnis von männlichen zu weiblichen Teilnehmern inkonsistent, was zu geschlechtsabhängigem Confounding führen kann. Bei einem im Mittel insgesamt 1,4fach höherem Risiko für Männer an einer Schizophrenie zu erkranken (Aleman et al., 2003; Häfner, 2003), scheint eine Überrepräsentation von männlichen Patienten, wie in der vorliegenden Studie, im Vergleich zu weiblichen Patientinnen aus statistischer Sicht prinzipiell gut, um falsch negative Ergebnisse zu vermeiden. Im Kontrollkollektiv waren die männlichen Teilnehmer im Vergleich zu den weiblichen Teilnehmern in beiden Studien deutlich unterrepräsentiert. Der Stichprobengröße kommt hinsichtlich der Aussagefähigkeit eine entscheidene Bedeutung zu. Eine zu geringer Umfang der Stichprobe kann, insbesondere bei Assoziationsstudien, zu falsch-positiven und auch zu falsch-negativen Assoziationen führen (Propping et al., 1994). Die japanische Studie mit 384 Patienten und 384 Kontrollen scheinen für dieses Studiendesign deutlich zu gering, um zuverlässig signifikante Assoziationen aufdecken oder ausschließen zu können. Die Stichprobengröße der vorliegenden Studie mit 600 Kontrollprobanden und 506 Patienten liefert deutlich zuverlässigere Ergebnisse, erscheint im Rückblick, vor allem im Vergleich zu den großen

GWAS aber ebenfalls zu gering. Die Ergebnisse beider Studien geben jedoch den deutlichen Hinweis, dass Polymorphismen des NK3-Rezeptorgens nicht mit der Schizophrenie assoziiert sind und können als Ergänzung für weiterführende Studien genutzt werden.

Faktoren, die die Ergebnisse von Assoziationsstudien entscheidend beeinflussen können, sind die Definition von einheitlichen Diagnose-, sowie Ein- und Ausschlusskriterien anhand derer die Teilnehmer in eine Studie aufgenommen werden. Um Vergleichbarkeit, Reliabilität und Validität von genetischen Studien gewährleisten zu können, ist eine möglichst homogene Patienten- und Kontrollgruppe zu rekrutieren. Dazu ist eine exakte Diagnosefindung zu gewährleisten. Dies ist aber insbesondere bei Erkrankungen aus dem psychiatrischen Formenkreis erschwert, da hier meist keine konkret messbaren neurobiologischen Variablen vorliegen, die es ermöglichen, eine Einteilung anhand pathognomonischer Befunde vorzunehmen. Darüber hinaus ist die phänotypische Ausprägung der Schizophrenie ausgesprochen heterogen und Symptome können sich mit anderen psychiatrischen Erkrankungen, wie beispielsweise bipolaren Störungen, überschneiden (Keshavan et al., 2011). In Assoziationsstudien zur Schizophrenie unterscheiden sich die Einschlusskriterien der verschiedenen Studien bei der Rekrutierung der Patientenkollektive möglicherweise und es werden andere Entitäten aus dem schizophrenen Formenkreis, wie zum Beispiel schizoaffektive Störungen, die bei Diagnosestellung nach ICD-10, im Gegensatz zum DSM-IV nicht als Ausschlusskriterium gelten, miteinbezogen. Ebenso bestehen bei der geforderten Dauer der akuten psychotischen Symptome, mit sechs Monaten im DSM-IV und DSM-V gegenüber vier Wochen nach ICD-10, deutliche Unterschiede, so dass inkonsistente Ergebnisse durch eine heterogene Patientenrekrutierung entstehen können. Die in der vorliegenden Arbeit eingeschlossene Patientengruppe wurde mit Hilfe des Diagnosesystems DSM-IV ausgewählt. Zur Auswahl der Patienten erfolgte die Diagnosestellung der Schizophrenie mit Hilfe des standardisierten klinischen Leitfadens SKID I und II (strukturiertes klinisches Interview für DSM-IV Achse I und II; Wittchen et al., 1997). Auch bei der Auswahl der Kontrollprobanden kamen in unserer Studie strukturierte Interviews wie der SKID zur Anwendung, um eine noch nicht diagnostizierte Schizophrenie oder neurologische Erkrankungen möglichst auszuschließen. Standardisierte Leitfäden sind ein wichtiges Werkzeug bei der Diagnostik, bergen jedoch auch Fehlermöglichkeiten, da der Untersucher einerseits auf wahrheitsgemäße Angaben des Patienten angewiesen ist und andererseits bestimmte Symptome selbst objektiv einschätzen muss, was bei der Diagnosestellung durch unterschiedliche Untersucher zu abweichenden Ergebnissen führen kann. Zusätzliche Sicherheit bei der korrekten Diagnosefindung bieten dabei weitere strukturierte Interviews wie die PANSS (Positive and



Negative Syndrome Scale; Kay et al., 1987). Die PANSS ist ein formalisiertes psychiatrisches Interview über 30 bis 40 Minuten, in dem 30 Symptome anhand einer siebenstufigen Skala (von 1 = nicht vorhanden, 7 = extrem ausgeprägt) bewertet werden. Durch die ausführliche Definition der zu untersuchenden Symptome sowie exakte Kriterien für deren Bewertung, ergibt sich somit eine hohe Interrater- und Retest-Reliabilität (Kay et al., 1989). Das stufenweise Screenen der Fall- und Kontrollkollektive verursacht zwar einen deutlichen Mehraufwand, führt aber über eine einheitliche Diagnosestellung zur Verbesserung von Objektivität, Reliabilität und Validität einer Studie. Auch der Auswahl der Kontrollprobanden kommt eine große Bedeutung zu. Zur Teilnahme sollten nur Probanden mit leerer psychiatrischen Anamnese rekrutiert werden, das alleinige Fehlen einer Schizophrenie oder das Heranziehen von Blutspendern als Kontrollen ohne jegliche psychiatrische Anamnesemöglichkeit ist v.a. in kleinen Stichproben nicht ausreichend, da es sich vermutlich nicht um eine einzelne Erkrankung handelt, sondern um ein Mischbild aus einander ähnlichen Störungen. Darüber hinaus können auch andere psychiatrische Erkrankungen vorliegen, die möglicherweise eine gemeinsame genetische Basis mit der Schizophrenie aufweisen (Stefansson et al., 2007). In unserer Studie wurde bei der Rekrutierung der Kontrollprobanden relevante somatische Erkrankungen ausgeschlossen, eine negative psychiatrische- und neurologische Anamnese und Familienanamnese noch zusätzlich mit mündlichen und schriftlichen Interviews, wie beispielsweise dem SKID gescreent, um fehlerhafte Einschlüsse zu vermeiden. In der Studie von Saito et al. wurde nicht beschrieben, was zum Einschluss bzw. Ausschluss in das Kontrollkollektiv führte. Als Auswahlkriterium für das Kontrollkollektiv wurde lediglich das Fehlen einer psychiatrischen Behandlung in der Anamnese der Teilnehmer vorausgesetzt. Dies kann jedoch unter Umständen auch bedeuten, dass eine psychiatrische Erkrankung vorliegt aber nicht erkannt ist und so zu falsch-negativen Ergebnissen beim Vergleich der Patienten- mit der Kontrollgruppe führt. Eine stufenweise Rekrutierung der Kontrollen und Patienten ist um so wichtiger, da das ohnehin sehr heterogene Erscheinungsbild der schizophrenen Erkrankungen zum einen darauf hindeutet, dass es sich nicht um eine einzelne Entität handelt, sondern möglicherweise um verschiedene Krankheitsbilder mit ähnlicher Symptomatik. Dies ist verbunden mit der Tatsache, dass den heterogenen Phänotypen ebenso heterogene Genotypen mit bisher noch unentdeckten pathophysiologischen Konzepten zugrunde liegen, welche jeweils durch viele unterschiedliche genetische Polymorphismen bedingt sein können (Keshavan et al., 2011). Die heterogene Zusammensetzung der Probanden scheint ein entscheidendes Problem hinsichtlich valider und replizierbarer Ergebnisse genetischer Studien zu sein. Genetische Faktoren spielen bei der Pathophysiologie der Schizophrenie aufgrund der

familiären Häufung der Erkrankung eine entscheidende und unumstrittene Rolle. Insgesamt scheint es aber keine einzelnen genetischen Loci und Allele zu geben, die ätiologisch verantwortlich sind. Vielmehr handelt es sich sehr wahrscheinlich um eine Kombination verschiedener genetischer Effekte, die sich gegenseitig beeinflussen und im Zusammenspiel mit Umweltfaktoren die Erkrankung bedingen (Tandon et al., 2009). Die im klinischen Alltag angewendete Einteilung und Subtypisierung von Phänotypen unter der Diagnose Schizophrenie anhand von klinischen psychopathologischen Symptomen scheint somit der heterogenen Ätiologie der Erkrankung nicht angemessen (Nasrallah et al., 2011; Gottesman et al., 2003). In der Praxis folgt daraus eine Subsummierung von Patienten unter einer Diagnose mit ähnlichen Phänotyp aber differentiellen, komplexen genetischen und umweltbedingten ätiologischen Faktoren und letztendlich inhomogene Patienten- und Kontrollkollektive in genetisch basierten Studien. In großen Studien sind die allgemeinen Rahmenbedingungen der Durchführung von entscheidender Bedeutung, um verlässliche Ergebnisse zu erhalten. Das Confounding durch Populationsstratifikationen wie nicht erkannte Verwandtschaftsbeziehungen, unausgeglichenes Alter der teilnehmenden Patienten und Kontrollprobanden sowie indifferente Geschlechtsverteilung, zu geringer Stichprobengröße und nicht sorgfältig ausgewählten Kontrollen und Fällen, kann so deutlich minimiert werden (Wacholder et al., 2002).

### **5.2 Diskussion der Ergebnisse**

Die Hypothese einer Beteiligung des NK3-Rezeptor Gens an der Pathogenese der Schizophrenie beruht auf den Ergebnissen verschiedener pharmakologischer- und tierexperimentieller Befunde, sowie aus Expressionsanalysen, die eine Lokalisation des Rezeptors im ZNS und Rückenmark belegen und eine Rolle des NK3-Rezeptors im Dopamin-, GABA- und Serotonin-Haushalt nahe legen (Spooren et al., 2005; Dawson et al., 2008). Insgesamt gesehen ist die Datenlage zum System der Neurokinine und seiner Rezeptoren jedoch noch sehr lückenhaft. Vielversprechende Erfolge klinischer Studien mit NK3-Rezeptor Antagonisten zur Behandlung der Schizophrenie, insbesondere der Positivsymptomatik, erreichten noch nicht die Endphase der pharmakologischen Zulassung (Malherbe et al., 2011). Assoziationsstudien zu Polymorphismen des NK3-Rezeptor Gens mit Schizophrenie wurden bis jetzt nur an einer japanischen Population von Saito et al. (2008) publiziert. Die von dieser Studiengruppe untersuchten neun Polymorphismen zum NK3-Rezeptor

Gen zeigten dabei keine Signifikanz hinsichtlich der Allel- und Genotypenverteilung in der untersuchten Kohorte. Drei der von Saito et al. (2008) untersuchten SNPs zeigten mit Hilfe des 1000 Genombrowsers (Phase 3) des IGSR (The International Genome Sample Resource; <http://www.1000genomes.org/>) Unterschiede in der Allelverteilung abhängig von der ethnischen Abstammung. Ob die unterschiedliche, populationsabhängige Allelverteilung eine Assoziation zur Schizophrenie aufweist, ist nicht bekannt. Generell sind negative Kopplungs- und/oder Assoziationsbefunde eines SNPs oder der gebildeten Haplotypen noch keine ausreichenden Befunde, um eine Beteiligung des untersuchten Gens an der Pathogenese der Schizophrenie ausschließen, da auch andere genetische Varianten dafür verantwortlich sein könnten. Positive Befunde müssen demgegenüber erst in anderen Stichproben auf ihre Reliabilität und Validität hin überprüft werden. Zudem könnten die untersuchten Polymorphismen der japanischen Kohorte in Assoziationsuntersuchungen bei Patienten anderer ethnischer Abstammung zu anderen Ergebnissen kommen. Einer der SNPs aus der genannten japanischen Studie, rs3796972, wurde auch in dieser Studie auf Assoziation mit Schizophrenie untersucht, zeigte aber auch wie in der japanischen Stichprobe keine signifikante Assoziation hinsichtlich Genotyp- und Allelverteilung. In der statistischen Auswertung des Polymorphismus rs17033923 zeigte sich in dieser Studie bei der Allelverteilung keine signifikanten Unterschiede. Ein Trend in Richtung einer Assoziation zeigte sich jedoch bei einem Vergleich der Träger des C-Allels beider Gruppen mit homozygoten Trägern des T-Allels bei Kontrollen und Patienten mit Schizophrenie. C-Allelträger traten in der Gruppe der Patienten mit 22,29% im Vergleich zu den Kontrollen mit 18,04% etwas häufiger auf. Die anderen im Rahmen dieser Studie untersuchten Basenaustauschpolymorphismen rs17033903, rs17303520 und rs6854678 zeigten beim Vergleich der beiden untersuchten Stichproben weder in Allel- noch in Genotypenverteilung oder einen signifikanten Zusammenhang. Wie in der japanischen Studie ist es auch hier möglich, dass die untersuchten Allel- und Genotypenverteilung nicht alle Haplotypen des Gens erfassen und dass es andere Polymorphismen sind, die in einer kaukasischen Patientengruppe eine Assoziation belegen würden und umgekehrt die von uns untersuchten SNPs eine Assoziation zur Schizophrenie in genetisch anderen Populationen zeigen. Durch die enge Beziehung des NK3-Rezeptor Gens mit dem dopaminergen-, serotonergen- und GABAergen Systems, die eine entscheidende Rolle in der Pathophysiologie der Schizophrenie spielen, ist jedoch auch weiterhin nicht auszuschließen, dass Varianten des Gens zur Entwicklung der Erkrankung beitragen. Assoziationsstudien von Polymorphismen des Tachykinin-1-Rezeptor- und Tachykinin-2-Rezeptor Gens mit Schizophrenie wurden bisher noch nicht durchgeführt oder zumindest noch nicht

publiziert, könnten jedoch durch die enge Verbindung des Neurokininsystems mit Dopamin-GABA- und Serotoninhaushalt ebenfalls funktionelle Kandidatengene darstellen. Polymorphismen des NK3-Rezeptor Gens können vermutlich das Risiko an Schizophrenie zu erkranken erhöhen, sind jedoch mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit, nicht alleine causal für eine Manifestation der Erkrankung. Die 2014 durchgeführte GWAS zur Schizophrenie, mit mehreren hunderttausend untersuchten Polymorphismen, konnte mindestens 108 genetische Loci mit genomweiter Signifikanz detektieren, die aber jeweils auch nur einen kleinen Teil des genetischen Risikos für die Entwicklung der Schizophrenie erklären. Es ist davon auszugehen, dass weitere, bislang unterschwellige genetische Varianten und Regionen existieren, die jeweils einen kleinen aber additiven Effekt auf das Erkrankungsrisiko zeigen.

Schizophrenie ist eine komplexe Erkrankung, die nach heutigen Erkenntnissen durch einen Beteiligung mehrerer Gene mit jeweils geringem Beitrag sowie zusätzlicher Umwelteinflüsse bedingt wird (Davis et al., 2016).

### **5.3 Ausblick auf zukünftige Untersuchungen**

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie konnten eine Assoziation der untersuchten Polymorphismen des NK3-Rezeptor Gens mit Schizophrenie nicht bestätigen. Die Datenlage in Bezug des NK3-Rezeptor Gens zur Schizophrenie, als auch insgesamt der Physiologie, Biochemie und Anatomie des Neurokininsystems ist bis jetzt unklar und es sind noch viele Fragen offen. Der Einfluss der Neurokinine und ihrer Rezeptoren v.a. auf den Dopamin- und Serotoninhaushalt und damit auch den Zusammenhang zur Schizophrenie, legen eine Beteiligung an der Pathogenese der Erkrankung nahe. Der fehlende Nachweis liegt in der möglicherweise noch immer fehlenden Power der bisherigen Stichproben. Ein Teil der genetischen Variationen, die unterhalb der Signifikanzgrenze liegen, könnten Schätzungen der SNP-basierten Heritabilität zufolge ebenfalls zum Erkrankungswahrscheinlichkeit beitragen (Network and Pathway Analysis Subgroup of Psychiatric Genomics Consortium, 2015). Durch die Analyse von Signalkaskaden, in die alle beteiligten Gene in die Gewichtung der Kaskade miteinbezogen werden, wäre eine Möglichkeit die echten Signale herauszufiltern. Dabei muss auf eine angemessene Größe der untersuchten Stichprobe Wert gelegt werden, um auch bei seltenen Allel- und Genotypen statistisch aussagefähige Ergebnisse zu erhalten. Die ethnischen Herkunft von Kontrollprobanden und Patienten der Studie muss

berücksichtigt werden, um Populationsstratifikationseffekte bei der Allel- und Genotypenverteilung zu vermeiden. In vielen Assoziationsstudien zur Schizophrenie, wie auch hier und in der Referenzstudie von Saito, wurden nur isolierte Basenaustauschpolymorphismen untersucht. Auch wenn sich hierbei die Möglichkeit ergibt, Gene und deren Assoziation zu untersuchen, um die Folgen genetischer Variationen besser zu verstehen, ist der Einfluss einzelner SNPs quantitativ meist wenig ausgeprägt und kommt oft nur in Kombination mit anderen SNPs zum Tragen (Zhao und Castellanos, 2016). Daher ist die funktionelle Relevanz bei der Analyse einzelner SNPs *in vitro* kritisch zu hinterfragen, da *in vivo* durch Kombination weiterer Polymorphismen im selben und anderen Genen eine Beeinflussung der Funktion erfolgen kann. Als Beeinflussung der Funktionalität wäre eine protektive Wirkung von Allelen aber auch eine additive Wirkung einer SNP-Kombination auf das Gen denkbar. Mögliche Kombinationseffekte einzelner genetischer Variationen, eine Gen-Gen Interaktion, ggf. auch über verschiedene chromosomale Abschnitte hinweg, müssen bei zukünftigen Studienansätzen berücksichtigt werden, um so zur Verbesserung des pathophysiologischen Verständnis beizutragen. Ziele der molekulargenetischen Forschung ist das bessere Verständnis von Erkrankungen und deren Pathogenese und somit der Therapie. Langfristig gesehen wäre es durchaus denkbar, dass dies die Detektion von klinisch gesunden Trägern eines Risikoallels ermöglicht oder bei bestehender familiärer Disposition zur Schizophrenie, eine Einleitung von Präventivmaßnahmen erfolgen kann, die den Ausbruch der Schizophrenie verhindert. Auch eine individuell auf den Patienten angepasste medikamentöse Behandlung mit gezieltem Wirkspektrum scheint ein erreichbares Ziel zu sein. Dazu ist es jedoch notwendig, die Folgen von Variationen im Genom, die sich in Risikoallelen und Haplotypen widerspiegeln, sowie deren funktionelle Auswirkung auf die Expression der Proteine zu untersuchen. Insgesamt muss zum jetzigen Zeitpunkt festgehalten werden, dass die Schizophrenie eine äußerst komplexe sowie schwerwiegende Erkrankung darstellt, deren Pathogenese nur in ihren Grundzügen verstanden wird und deren Aufklärung noch weiterer, intensiver Grundlagenforschung bedarf.

## 6 Literaturverzeichnis

Aberg KA, Liu Y, Bukszár J, McClay JL, Khachane AN, Andreassen OA, Blackwood D, Corvin A, Djurovic S, Gurling H, Ophoff R, Pato CN, Pato MT, Riley B, Webb T, Kendler K, O'Donovan M, Craddock N, Kirov G, Owen M, Rujescu D, St Clair D, Werge T, Hultman CM, Delisi LE, Sullivan P, van den Oord EJ (2013) A comprehensive family-based replication study of schizophrenia genes. *JAMA Psychiatry* 70(6):573-81.

Abi-Dargham A (2003) Probing cortical dopamine function in schizophrenia: what can D1 receptors tell us? *World Psychiatry*. 2(3):166-71.

Aleman A, Kahn RS, Selten JP (2003) Sex differences in the risk of schizophrenia: evidence from meta-analysis. *Arch Gen Psychiatry*. 60(6):65-71.

Almeida TA, Rojo J, Nieto PM, Pinto FM, Hernandez M, Martín JD, Candenas ML (2004) Tachykinins and tachykinin receptors: structure and activity relationships *Curr Med Chem*. Aug;11(15):2045-81.

Alonso R, Fournier M, Carayon P, Petitpretre G, Le Fur G, Soubrié P (1996) Evidence for modulation of dopamine-neuronal function by tachykinin NK3 receptor stimulation in gerbil mesencephalic cell cultures *Eur J Neurosci*. 8(4):801-8.

Amaresha AC, Venkatasubramanian G (2012) Expressed emotion in schizophrenia: an overview. *Indian J Psychol Med*. 34(1):12-20.

Andreasen NC, Olsen S (1982) Negative v positive schizophrenia. Definition and validation. *Arch Gen Psychiatry* 39(7):789-94.

Barnes TR, Mutsatsa SH, Hutton SB, Watt HC, Joyce EM (2006) Comorbid substance use and age at onset of schizophrenia. *Br J Psychiatry*. 188:237-42.

Beaujouan JC, Torrens Y, Saffroy M, Kemel ML, Glowinski J (2004) A 25 year adventure in the field of tachykinins. *Peptides*. 25(3):339-57.

Bert L, Rodier D, Bougault I, Allouard N, Le-Fur G, Soubrié P, Steinberg R (2002) Permissive role of neurokinin NK(3) receptors in NK(1) receptor-mediated activation of the locus coeruleus revealed by SR 142801 *Synapse*. 43(1):62-9.

Bleuler E, (1911) *Dementia praecox oder Gruppe der Schizophrenien*. Leipzig: Franz Deuticke

Boerma MA, van der Stel JC, van Amelsvoort T, Linszen DH, de Haan L (2010) Women, schizophrenia and oestrogen; neurobiological hypotheses and hormonotherapy studies *Tijdschr Psychiatr*. 2010;52(4):235-44.

Bolam JP, Somogyi P, Takagi H, Fodor I, Smith AD (1983) Localization of substance P-like immunoreactivity in neurons and nerve terminals in the neostriatum of the rat: a correlated light and electron microscopic study *J Neurocytol*. 12(2):325-44.

Boschen SL, Andreatini R, da Cunha C (2015) Activation of postsynaptic D2 dopamine receptors in the rat dorsolateral striatum prevents the amnesic effect of systemically administered neuroleptics *Behav Brain Res.* 281:283-9.

Brown AS, Deicken RF, Vinogradov S, Kremen WS, Poole JH, Penner JD, Kochetkova A, Kern D, Schaefer CA (2009) Prenatal infection and cavum septum pellucidum in adult schizophrenia. *Schizophr. Res.* 108:285–287.

Brzustowicz LM<sup>1</sup>, Hodgkinson KA, Chow EW, Honer WG, Bassett AS (2000) Location of a major susceptibility locus for familial schizophrenia on chromosome 1q21-q22. *Science.* 28;288(5466):678-82.

Buell G, Schulz MF, Arkininstall SJ, Maury K, Missotten M, Adami N, Talabot F, Kawashima E (1992) Molecular characterisation, expression and localisation of human neurokinin-3 receptor *FEBS Lett.* 299(1):90-5.

Byrne M, Agerbo E, Ewald H, Eaton WW, Mortensen PB (2003) Parental age and risk of schizophrenia: a case-control study. *Arch Gen Psychiatry.* 60(7):673-8.

Byrne M, Agerbo E, Bennedsen B, Eaton WW, Mortensen PB (2007) Obstetric conditions and risk of first admission with schizophrenia: a Danish national register based study. *Schizophr Res.* 97(1-3):51-9.

Candenas L, Lecci A, Pinto FM, Patak E, Maggi CA, Pennefather JN (2005) Tachykinins and tachykinin receptors: effects in the genitourinary tract. *Life Sci.* 76(8):835-62.

Cannon TD, van Erp TG, Rosso IM, Huttunen M, Lönqvist J, Pirkola T, Salonen O, Valanne L, Poutanen VP, Standertskjöld-Nordenstam CG (2002) Fetal hypoxia and structural brain abnormalities in schizophrenic patients, their siblings, and controls. *Arch Gen Psychiatry.* 59(1):35-41.

Cardno AG, Marshall EJ, Coid B, Macdonald AM, Ribchester TR, Davies NJ, Venturi P, Jones LA, Lewis SW, Sham PC, Gottesman II, Farmer AE, McGuffin P, Reveley AM, Murray RM (1999) Heritability estimates for psychotic disorders: the Maudsley twin psychosis series. *Arch Gen Psychiatry* 56(2):162-8.

Cardon LR, Palmer LJ (2003) Population stratification and spurious allelic association. *Lancet.* 361(9357):598-604

Carlsson A, Lindqvist M (1963) Effect of chlorpromazine or haloperidol on formation of 3methoxytyramine and normetanephrine in mouse brain. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh).* 20:140-4.

Carter MS, Krause JE (1990) Structure, expression, and some regulatory mechanisms of the rat preprotachykinin gene encoding substance P, neurokinin A, neuropeptide K, and neuropeptide gamma *J Neurosci.* 10(7):2203-14.

Chahl LA (2006) Tachykinins and neuropsychiatric disorders *Curr Drug Targets.* 7(8):993-1003.

- Chan RC, Gottesman II (2008) Neurological soft signs as candidate endophenotypes for schizophrenia: a shooting star or a Northern star? *Neurosci Biobehav Rev.* 32(5):957-71.
- Chang MM, Leeman SE, Niall HD (1971) Amino-acid sequence of substance P *Nat New Biol.* 21;232(29):86-7.
- Chowdari KV, Mirnics K, Semwal P, Wood J, Lawrence E, Bhatia T, Deshpande SN, B K T, Ferrell RE, Middleton FA, Devlin B, Levitt P, Lewis DA, Nimgaonkar VL (2002) Association and linkage analyses of RGS4 polymorphisms in schizophrenia. *Hum Mol Genet.* 11(12):1373-80.
- Cifariello A, Pompili A, Gasbarri A (2008) 5-HT(7) receptors in the modulation of cognitive processes. *Behav Brain Res.* 195(1):171-9.
- Clarke MC, Harley M, Cannon M (2006) The role of obstetric events in schizophrenia. *Schizophr Bull.* 32(1):3-8.
- Cichon S, Psychiatric GWAS Consortium Coordinating Committee, Craddock N, Daly M, Faraone SV, Gejman PV, Kelsoe J, Lehner T, Levinson DF, Moran A, Sklar P, Sullivan PF (2009) Genomewide association studies: history, rationale, and prospects for psychiatric disorders. *Am J Psychiatry.* 166(5):540-56.
- Costa M, Furness JB, Pullin CO, Bornstein J (1985) Substance P enteric neurons mediate non-cholinergic transmission to the circular muscle of the guinea-pig intestine Naunyn Schmiedebergs *Arch Pharmacol.* 328(4):446-53.
- Cooper PE, Fernstrom MH, Rorstad OP, Leeman SE, Martin JB (1981) The regional distribution of somatostatin, substance P and neurotensin in human brain *Brain Res.* 218(1-2):219-32.
- Creese I, Burt DR, Snyder SH (1976) Dopamine receptor binding predicts clinical and pharmacological potencies of antischizophrenic drugs. *Science.* 30;192(4238):481-3.
- Davis J, Eyre H, Jacka FN, Dodd S, Dean O, McEwen S, Debnath M, McGrath J, Maes M, Amminger P, McGorry PD, Pantelis C, Berk M (2016) A review of vulnerability and risks for schizophrenia: Beyond the two hit hypothesis. *Neurosci Biobehav Rev.* 65:185-94.
- Davis BM, Krause JE, McKelvy JF, Cabot JB (1984) Effects of spinal lesions on substance P levels in the rat sympathetic preganglionic cell column: evidence for local spinal regulation *Neuroscience.* 13(4):1311-26.
- Davis BM, Cabot JB (1984) Substance P-containing pathways to avian sympathetic preganglionic neurons: evidence for major spinal-spinal circuitry *J Neurosci.* 4(8):2145-59.
- Davis KL, Kahn RS, Ko G, Davidson M (1991) Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *Am J Psychiatry.* 148(11):1474-86.
- Dawson LA, Cato KJ, Scott C, Watson JM, Wood MD, Foxton R, de la Flor R, Jones GA, Kew JN, Cluderay JE, Southam E, Murkitt GS, Gartlon J, Pemberton DJ, Jones DN, Davies CH, Hagan J (2008) In vitro and in vivo characterization of the non-peptide NK3 receptor antagonist SB-223412 (talnetant): potential therapeutic utility in the treatment of schizophrenia *Neuropsychopharmacology* 33(7):1642-52.



- Degenhardt L, Hall W, Lynskey M (2003) Testing hypotheses about the relationship between cannabis use and psychosis *Drug Alcohol Depend.* 71(1):37-48.
- Devlin B, Roeder K, Wasserman L (2002) Genomic control, a new approach to genetic-based association studies *Theor Popul Biol.* 60(3):155-66.
- DeLisi LE (2008) The concept of progressive brain change in schizophrenia: implications for understanding schizophrenia. *Schizophr Bull.* 34(2):312-21.
- DeLisi, Fleischhacker\_WW (2015) The problem of substance abuse in people with schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry.* 28(3):199-200.
- Devlin B, Roeder K, Wasserman L (2001) Genomic control, a new approach to genetic-based association studies. *Theor Popul Biol.* 60(3):155-66.
- Dohrenwend BP, Levav I, Shroud PE, Schwartz S, Naveh G, Link BG, Skodol AE, Stueve A 1992 Socioeconomic status and psychiatric disorders: the causation-selection issue. *Science* 255(5047):946-52.
- Douglas FL, Palkovits M, Brownstein MJ (1982) Regional distribution of substance P-like immunoreactivity in the lower brainstem of the rat. *Brain Res.* 245(2):376-8.
- Ebert D, Loew T (2005) *Psychiatrie systematisch.* Bremen: Uni-Med.
- Ebert T, Kotler M (2005) Prenatal exposure to influenza and the risk of subsequent development of schizophrenia. *Isr Med Assoc J.* 7(1):35-8.
- Ebner K, Sartori SB, Singewald N (2009) Tachykinin receptors as therapeutic targets in stress-related disorders *Curr Pharm Des.* 15(14):1647-74.
- Emsley R, Chiliza B, Schoeman R. (2008) Predictors of long-term outcome in schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry* 21(2):173-7
- Ewens WJ, Spielman RS (1995) The transmission/disequilibrium test: history, subdivision, and admixture. *Am J Hum Genet.* 57(2):455-64.
- Floor E, Grad O, Leeman SE (1982) Synaptic vesicles containing substance P purified by chromatography on controlled pore glass. *Neuroscience.* 7(7):1647-55.
- Foroud T, Wetherill LF, Kramer J, Tischfield JA, Nurnberger JI Jr, Schuckit MA, Xuei X, Edenberg HJ (2008) The tachykinin receptor 3 is associated with alcohol and cocaine dependence *Alcohol Clin Exp Res.* 32(6):1023-30.
- Freudenberg J, Propping P (2002) A similarity-based method for genome-wide prediction of disease-relevant human genes. *Bioinformatics.* Suppl 2:S110-5.
- Gaddum JH, Schild H (1934) Depressor substances in extracts of intestine *J Physiol.* 83(1):1-14.
- Ganjiwale AD, Rao GS, Cowsik SM (2011) Molecular modeling of neurokinin B and tachykinin

NK<sub>3</sub> receptor complex. *J Chem Inf Model.* 28;51(11):2932-8.

Garcia-Recio S, Gascón P (2015) Biological and Pharmacological Aspects of the NK1-Receptor. *Biomed Res Int.* 495704.

Gerard NP, Bao L, Xiao-Ping H, Gerard C (1993) Molecular aspects of the tachykinin receptors *Regul Pept.*43(1-2):21-35.

Gianetti E, Tusset C, Noel SD, Au MG, Dwyer AA, Hughes VA, Abreu AP, Carroll J, Trarbach E, Silveira LF, Costa EM, de Mendonça BB, de Castro M, Lofrano A, Hall JE, Bolu E, Ozata M, Quinton R, Amory JK, Stewart SE, Arlt W, Cole TR, Crowley WF, Kaiser UB, Latronico AC, Seminara SB (2010) TAC3/TACR3 mutations reveal preferential activation of gonadotropin-releasing hormone release by neurokinin B in neonatal life followed by reversal in adulthood. *J Clin Endocrinol Metab.* 95(6):2857-67.

Giegling I, Rujescu D, Mandelli L, Schneider B, Hartmann AM, Schnabel A, Maurer K, De Ronchi D, Möller HJ, Serretti A (2007) Tachykinin receptor 1 variants associated with aggression in suicidal behavior. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 144B(6):757-61.

Gogtay N (2008) Cortical brain development in schizophrenia: insights from neuroimaging studies in childhood-onset schizophrenia *Schizophr Bull.* 34(1):30-6.

Goubillon ML, Forsdike RA, Robinson JE, Ciofi P, Caraty A, Herbison AE (2000) Identification of neurokinin B-expressing neurons as an highly estrogen-receptive, sexually dimorphic cell group in the ovine arcuate nucleus *Endocrinology.* 141(11):4218-25.

Gottesman II, McGuffin P, Farmer AE (1987) Clinical genetics as clues to the "real" genetics of schizophrenia (a decade of modest gains while playing for time). *Schizophr Bull* 13(1): 23-47.

Gottesman II (1994) Schizophrenia epigenesis: past, present, and future. *Acta Psychiatr Scand Suppl.* 384:26-33.

Gottesman II, Gould TD (2003) The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *Am J Psychiatry.* 160(4):636-45.

Guran T, Tolhurst G, Bereket A, Rocha N, Porter K, Turan S, Gribble FM, Kotan LD, Akcay T, Atay Z, Canan H, Serin A, O'Rahilly S, Reimann F, Semple RK, Topaloglu AK (2009) *J. Clin endocrinol Metab.* 94(10):3633-9.

Green T, Gothelf D, Glaser B, Debbane M, Frisch A, Kotler M, Weizman A, Eliez S (2009) Psychiatric disorders and intellectual functioning throughout development in velocardiofacial (22q11.2 deletion) syndrome *Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 48(11):1060-8.

Halberstadt AL, Geyer MA (2013) Serotonergic hallucinogens as translational models relevant to schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol.* 16(10):2165-80

Halliday GM, Gai WP, Blessing WW, Geffen LB (1990) Substance P-containing neurons in the pontomesencephalic tegmentum of the human brain. *Neuroscience.* 39(1):81-96.

- Hambrecht M, Maurer K, Häfner H (1992) Gender differences in schizophrenia in three cultures. Results of the WHO collaborative study on psychiatric disability. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol.* 27(3):117-21.
- Hamilton SP (2008) Schizophrenia candidate genes: are we really coming up blank? *Am J Psychiatry.* 165(4):420-3.
- Harrison PJ (1999) The neuropathology of schizophrenia. A critical review of the data and their interpretation. *Brain.* 122 ( Pt 4):593-624.
- Häfner H (2003) Gender differences in schizophrenia. *Psychoneuroendocrinology.* 28Suppl 2:17-54.
- Holzer P, Holzer-Petsche U (1997) Tachykinins in the gut. Part I. Expression, release and motor function *Pharmacol Ther.* 73(3):173-217. Review.
- Holzer P, Holzer-Petsche U (1997) Tachykinins in the gut. Part II. Roles in neural excitation, secretion and inflammation *Pharmacol Ther.* 73(3):219-63. Review.
- Howes OD, Kapur S (2009) The dopamine hypothesis of schizophrenia: version III--the final common pathway. *Schizophr Bull.* 35(3):549-62.
- Hoyle CH (1998) Neuropeptide families: evolutionary perspectives *Regul Pept.* 73(1):1-33.
- Hu D, Ziv E (2008) Confounding in genetic association studies and its solutions. *Methods Mol Biol.* 448:31-9.
- Humpel C, Saria A, Regoli D (1991) Injection of tachykinins and selective neurokinin receptor ligands into the substantia nigra reticulata increases striatal dopamine and 5-hydroxytryptamine metabolism *Eur J Pharmacol.* 195(1):107-14.
- Hui CL, Chiu CP, Li YK, Law CW, Chang WC, Chan SK, Lee EH, Sham P, Chen EY (2015) The Effect of Paternal Age on Relapse in First-Episode Schizophrenia. *Can J Psychiatry.* 60(8):346-53.
- Ikeda M, Aleksic B, Kinoshita Y, Okochi T, Kawashima K, Kushima I, Ito Y, Nakamura Y, Kishi T, Okumura T, Fukuo Y, Williams HJ, Hamshere ML, Ivanov D, Inada T, Suzuki M, Hashimoto R, Ujike H, Takeda M, Craddock N, Kaibuchi K, Owen MJ, Ozaki N, O'Donovan MC, Iwata N. (2011) Genome-wide association study of schizophrenia in a Japanese population. *Biol Psychiatry.* 1;69(5):472-8.
- Iritani S, Fujii M, Satoh K (1989) The distribution of substance P in the cerebral cortex and hippocampal formation: an immunohistochemical study in the monkey and rat *Brain Res Bull.* 22(2):295-303.
- Jarskog LF, Miyamoto S, Lieberman JA (2007) Schizophrenia: new pathological insights and therapies. *Annu Rev Med.* 58:49-61.
- Kage R, McGregor GP, Thim L, Conlon JM (1988) Neuropeptide-gamma: a peptide isolated from rabbit intestine that is derived from gamma-preprotachykinin *J Neurochem.* 50(5):1412-7.

- Kangawa K, Minamino N, Fukuda A, Matsuo H (1983) Neuromedin K: a novel mammalian tachykinin identified in porcine spinal cord *Biochem Biophys Res Commun.* 114(2):533-40.
- Kay SR, Fiszbein A, Opler LA (1987) The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr Bull.* 3(2):261-76.
- Kay SR, Opler LA, Lindenmayer JP (1989) The Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS): rationale and standardisation *Br J Psychiatry Suppl.* (7):59-67.
- Kendler KS, Gruenberg AM, Kinney DK (1994) Independent diagnoses of adoptees and relatives as defined by DSM-III in the provincial and national samples of the Danish Adoption Study of Schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry.* 51(6):456-68.
- Keshavan MS, Morris DW, Sweeney JA, Pearlson G, Thaker G, Seidman LJ, Eack SM, Tamminga C (2011) A dimensional approach to the psychosis spectrum between bipolar disorder and schizophrenia: the Schizo-Bipolar Scale. *Schizophr Res.* 133(1-3):250-4.
- Keshavan MS, Nasrallah HA, Tandon R (2011) Schizophrenia, "Just the Facts" 6. Moving ahead with the schizophrenia concept: from the elephant to the mouse. *Schizophr Res.* 127(1-3):3-13
- Knall C, Johnson GL (1998) G-protein regulatory pathways: rocketing into the twenty-first century. *J Cell Biochem Suppl.* 30-31:137-46.
- Kimura S, Goto K, Ogawa T, Sugita Y, Kanazawa I (1984) Pharmacological characterization of novel mammalian tachykinins, neurokinin alpha and neurokinin beta *Neurosci Res.* 2(1-2):97-104.
- Kirov G, Zaharieva I, Georgieva L, Moskvina V, Nikolov I, Cichon S, Hillmer A, Toncheva D, Owen MJ, O'Donovan MC (2009) A genome-wide association study in 574 schizophrenia trios using DNA pooling. *Mol Psychiatry.* 14(8):796-803.
- Kirov G, Gumus D, Chen W, Norton N, Georgieva L, Sari M, O'Donovan MC, Erdogan F, Owen MJ, Ropers HH, Ullmann R (2008) Comparative genome hybridization suggests a role for NRXN1 and APBA2 in schizophrenia. *Hum Mol Genet.* 7(3):458-65.
- Kotani H, Hoshimaru M, Nawa H, Nakanishi S (1986) Structure and gene organization of bovine neuromedin K precursor *Proc Natl Acad Sci U S A.* 83(18):7074-8.
- Kraepelin E, Emil Kraepelin (1913): *Psychiatrie. Ein Lehrbuch für Studierende und Aerzte.* 8. Auflage, Leipzig Barth. Band 3, Klinische Psychiatrie. S. 668
- Krause JE, Chirgwin JM, Carter MS, Xu ZS, Hershey AD (1987) Three rat preprotachykinin mRNAs encode the neuropeptides substance P and neurokinin A *Proc Natl Acad Sci U S A.* 84(3):881-5.
- Krystal JH, Karper LP, Seibyl JP, Freeman GK, Delaney R, Bremner JD, Heninger GR, Bowers MB Jr, Charney DS (1994) Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. *Arch Gen Psychiatry.* 51(3):199-214.

Kurtz MM, Wang R, Clements MK, Cascieri MA, Austin CP, Cunningham BR, Chicchi GG, Liu Q (2002) Identification, localization and receptor characterization of novel mammalian substance P-like peptides *Gene*. 296(1-2):205-12.

Lewis CM, Levinson DF, Wise LH, DeLisi LE, Straub RE, Hovatta I, Williams NM, Schwab SG, Pulver AE, Faraone SV, Brzustowicz LM, Kaufmann CA, Garver DL, Gurling HM, Lindholm E, Coon H, Moises HW, Byerley W, Shaw SH, Mesen A, Sherrington R, O'Neill FA, Walsh D, Kendler KS, Ekelund J, Paunio T, Lönngqvist J, Peltonen L, O'Donovan MC, Owen MJ, Wildenauer DB, Maier W, Nestadt G, Blouin JL, Antonarakis SE, Mowry BJ, Silverman JM, Crowe RR, Cloninger CR, Tsuang MT, Malaspina D, Harkavy-Friedman JM, Svrakic DM, Bassett AS, Holcomb J, 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. *Am J Hum Genet*. 73(1):34-48.

Langlois X, Wintmolders C, te Riele P, Leysen JE, Jurzak M (2001) Detailed distribution of Neurokinin 3 receptors in the rat, guinea pig and gerbil brain: a comparative autoradiographic study *Neuropharmacology*. 40(2):242-53.

Lidow MS, Goldman-Rakic PS, Gallager DW, Rakic P (1991) Distribution of dopaminergic receptors in the primate cerebral cortex: quantitative autoradiographic analysis using [3H]raclopride, [3H]spiperone and [3H]SCH23390. *Neuroscience*. 40(3):657-71.

Limosin F, Rouillon F, Payan C, Cohen JM, Strub N (2003) Prenatal exposure to influenza as a risk factor for adult schizophrenia. *Acta Psychiatr Scand*. 107(5):331-5.

MacDonald MR, Takeda J, Rice CM, Krause JE (1989) Multiple tachykinins are produced and secreted upon post-translational processing of the three substance P precursor proteins, alpha-, beta-, and gamma-preprotachykinin. Expression of the preprotachykinins in AtT-20 cells infected with vaccinia virus recombinants *J Biol Chem*. 264(26):15578-92.

Maggi CA, Parlani M, Astolfi M, Santicioli P, Rovero P, Abelli L, Somma V, Giuliani S, Regoli D, Patacchini R (1988) Neurokinin receptors in the rat lower urinary tract *J Pharmacol Exp Ther*. 246(1):308-15.

Maggi CA (1995) The mammalian tachykinin receptors *Gen Pharmacol*. 26(5):911-44.

Maggi CA, Catalioto RM, Criscuoli M, Cucchi P, Giuliani S, Lecci A, Lippi A, Meini S, Patacchini R, Renzetti AR, Santicioli P, Tramontana M, Zagorodnyuk V, Giachetti A (1997) Tachykinin receptors and intestinal motility *Can J Physiol Pharmacol*. 75(6):696-703.

Maggi CA, Giuliani S, Santicioli P (1997) CGRP potentiates excitatory transmission to the circular muscle of guinea-pig colon *Regul Pept*. 69(3):127-36.

Maggio JE (1985) "Kassinin" in mammals: the newest tachykinins *Peptides*. 6 Suppl 3:237-43.

Maier W, Rietschel M, Lichtermann D, Wildenauer DB (1999) Family and genetic studies on the relationship of schizophrenia to affective disorders. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 249 Suppl 4:57-61.

Mâgoul R, Onteniente B, Oblin A, Calas A (1986) Inter- and intracellular relationship of substance P-containing neurons with serotonin and GABA in the dorsal raphe nucleus: combination of autoradiographic and immunocytochemical techniques *J Histochem Cytochem.* 34(6):735-42.

Malherbe P, Ballard TM, Ratni H. (2011) Tachykinin neurokinin 3 receptor antagonists: a patent review (2005 - 2010). *Expert Opin Ther Pat.* 21(5):637-55.

Marshall CR, Howrigan DP, Merico D, Thiruvahindrapuram B, Wu W, Greer DS, Antaki D, Shetty A, Holmans PA, Pinto D, Gujral M, Brandler WM, Malhotra D, Wang Z, Fajardo KVF, Maile MS, Ripke S, Agartz I, Albus M, Alexander M, Amin F, Atkins J, Bacanu SA, Belliveau RA Jr, Bergen SE, Bertalan M, Bevilacqua E, Bigdeli TB, Black DW, Bruggeman R, Buccola NG, Buckner RL, Bulik-Sullivan B, Byerley W, Cahn W, Cai G, Cairns MJ, Champion D, Cantor RM, Carr VJ, Carrera N, Catts SV, Chambert KD, Cheng W, Cloninger CR, Cohen D, Cormican P, Craddock N, Crespo-Facorro B, Crowley JJ, Curtis D, Davidson M, Davis KL, Degenhardt F, Del Favero J, DeLisi LE, Dikeos D, Dinan T, Djurovic S, Donohoe G, Drapeau E, Duan J, Dudbridge F, Eichhammer P, Eriksson J, Escott-Price V, Essioux L, Fanous AH, Farh KH, Farrell MS, Frank J, Franke L, Freedman R, Freimer NB, Friedman JI, Forstner AJ, Fromer M, Genovese G, Georgieva L, Gershon ES, Giegling I, Giusti-Rodríguez P, Godard S, Goldstein JI, Gratten J, de Haan L, Hamshere ML, Hansen M, Hansen T, Haroutunian V, Hartmann AM, Henskens FA, Herms S, Hirschhorn JN, Hoffmann P, Hofman A, Huang H, Ikeda M, Joa I, Kähler AK, Kahn RS, Kalaydjieva L, Karjalainen J, Kavanagh D, Keller MC, Kelly BJ, Kennedy JL, Kim Y, Knowles JA, Konte B, Laurent C, Lee P, Lee SH, Legge SE, Lerer B, Levy DL, Liang KY, Lieberman J, Lönngqvist J, Loughland CM, Magnusson PKE, Maher BS, Maier W, Mallet J, Mattheisen M, Mattingsdal M, McCarley RW, McDonald C, McIntosh AM, Meier S, Meijer CJ, Melle I, Meshulam-Gately RI, Metspalu A, Michie PT, Milani L, Milanova V, Mokrab Y, Morris DW, Müller-Myhsok B, Murphy KC, Murray RM, Myin-Germeys I, Nenadic I, Nertney DA, Nestadt G, Nicodemus KK, Nisenbaum L, Nordin A, O'Callaghan E, O'Dushlaine C, Oh SY, Olincy A, Olsen L, O'Neill FA, Van Os J, Pantelis C, Papadimitriou GN, Parkhomenko E, Pato MT, Paunio T; Psychosis Endophenotypes International Consortium, Perkins DO, Pers TH, Pietiläinen O, Pimm J, Pocklington AJ, Powell J, Price A, Pulver AE, Purcell SM, Quedsted D, Rasmussen HB, Reichenberg A, Reimers MA, Richards AL, Roffman JL, Roussos P, Ruderfer DM, Salomaa V, Sanders AR, Savitz A, Schall U, Schulze TG, Schwab SG, Scolnick EM, Scott RJ, Seidman LJ, Shi J, Silverman JM, Smoller JW, Söderman E, Spencer CCA, Stahl EA, Strengman E, Strohmaier J, Stroup TS, Suvisaari J, Svrakic DM, Szatkiewicz JP, Thirumalai S, Tooney PA, Veijola J, Visscher PM, Waddington J, Walsh D, Webb BT, Weiser M, Wildenauer DB, Williams NM, Williams S, Witt SH, Wolen AR, Wormley BK, Wray NR, Wu JQ, Zai CC, Adolfsson R, Andreassen OA, Blackwood DHR, Bramon E, Buxbaum JD, Cichon S, Collier DA, Corvin A, Daly MJ, Darvasi A, Domenici E, Esko T, Gejman PV, Gill M, Gurling H, Hultman CM, Iwata N, Jablensky AV, Jönsson EG, Kendler KS, Kirov G, Knight J, Levinson DF, Li QS, McCarroll SA, McQuillin A, Moran JL, Mowry BJ, Nöthen MM, Ophoff RA, Owen MJ, Palotie A, Pato CN, Petryshen TL, Posthuma D, Rietschel M, Riley BP, Rujescu D, Sklar P, St Clair D, Walters JTR, Werge T, Sullivan PF, O'Donovan MC, Scherer SW, Neale BM, Sebat J; CNV and Schizophrenia Working Groups of the Psychiatric Genomics Consortium. Contribution of copy number variants to schizophrenia from a genome-wide study of 41,321 subjects. *Nat Genet.* 2017 Jan;49(1):27-35.

Massi M, Panocka I, de Caro G (2000) The psychopharmacology of tachykinin NK-3 receptors in laboratory animals *Peptides.* 21(11):1597-609.

- Marco N, Thirion A, Mons G, Bougault I, Le Fur G, Soubrié P, Steinberg R (1998) Activation of dopaminergic and cholinergic neurotransmission by tachykinin NK3 receptor stimulation: an in vivo microdialysis approach in guinea pig *Neuropeptides*. 32(5):481-8.
- McGrath J, Saha S, Welham J, El Saadi O, MacCauley C, Chant D (2004) A systematic review of the incidence of schizophrenia: the distribution of rates and the influence of sex, urbanicity, migrant status and methodology. *BMC Med*. 28;2:13.
- Meltzer HY, Stahl SM (1976) The dopamine hypothesis of schizophrenia: a review *Schizophr Bull*. 2(1):19-76.
- Meltzer HY (1987) Biological studies in schizophrenia. *Schizophr Bull*. 13(1):77-111.
- Meltzer HY, Arvanitis L, Bauer D, Rein W; Meta-Trial Study Group (2004) Placebo-controlled evaluation of four novel compounds for the treatment of schizophrenia and schizoaffective disorder *Am J Psychiatry*. 161(6):975-84.
- Meltzer HY, Massey BW (2011) The role of serotonin receptors in the action of atypical antipsychotic drugs. *Curr Opin Pharmacol*. 11(1):59-67.
- Menetrey D, Basbaum AI (1987) The distribution of substance P-, enkephalin- and dynorphin-immunoreactive neurons in the medulla of the rat and their contribution to bulbospinal pathways *Neuroscience*. 23(1):173-87.
- Mirnics K, Middleton FA, Lewis DA, Levitt P (2001) The human genome: gene expression profiling and schizophrenia. *Am J Psychiatry*. 158(9):1384.
- Mowry BJ, Ewen KR, Nancarrow DJ, Lennon DP, Nertney DA, Jones HL, O'Brien MS, Thornley CE, Walters MK, Crowe RR, Silverman JM, Endicott J, Sharpe L, Hayward NK, Gladis MM, Foote SJ, Levinson DF (2000) Second stage of a genome scan of schizophrenia: study of five positive regions in an expanded sample. *Am J Med Genet*. 96(6):864-9.
- Möller HJ (2005) Schizophrenie. In H. J. Möller, G. Laux & A. Deiser (Eds.), *Psychiatrie und Psychotherapie* (Vol. 3). Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Möller HJ, Deister A, Schaub A, Riedel M (2008) Schizophrene Psychosen. In H.-J. Möller, G. Laux & H.-P. Kapfhammer (Eds.) *Psychiatrie und Psychotherapie* (pp. 1255-1358): Springer Berlin Heidelberg
- Möller HJ, Jäger M, Riedel M, Obermeier M, Strauss A, Bottlender R (2010) The Munich 15-year follow-up study (MUFUSSAD) on first-hospitalized patients with schizophrenic or affective disorders: comparison of psychopathological and psychosocial course and outcome and prediction of chronicity *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 260(5):367-84.
- Murphy KC, Jones LA, Owen MJ (1999) High rates of schizophrenia in adults with velo-cardio-facial syndrome. *Arch Gen Psychiatry*. 56(10):940-5.

- Myers AC, (2002) Allergic inflammation-induced neuropeptide production in rapidly adapting afferent nerves in guinea pig airways *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 282(4):L775-81.
- Nagano M, Saitow F, Haneda E, Konishi S, Hayashi M, Suzuki H (2006) Distribution and pharmacological characterization of primate NK-1 and NK-3 tachykinin receptors in the central nervous system of the rhesus monkey. *Br J Pharmacol.* 147(3):316-23.
- Nakanishi S (1987) Substance P precursor and kininogen: their structures, gene organizations, and regulation *Physiol Rev.* 67(4):1117-42.
- Nakanishi S (1991) Mammalian tachykinin receptors *Annu Rev Neurosci.* 4:123-36.
- Nakane A (2007) Stressful life events influence occurrence, recurrence and the course of schizophrenia. *Seishin Shinkeigaku Zasshi.* 109(8):751-8.
- Nasrallah H, Tandon R, Keshavan M. (2011) Beyond the facts in schizophrenia: closing the gaps in diagnosis, pathophysiology, and treatment. *Epidemiol Psychiatr Sci.* 20(4):317-27.
- Nalivaiko E, Michaud JC, Soubrié P, Le Fur G, Feltz P (1997) Tachykinin neurokinin-1 and neurokinin-3 receptor-mediated responses in guinea-pig substantia nigra: an in vitro electrophysiological study *Neuroscience.* 78(3):745-57.
- Nawa H, Hirose T, Takashima H, Inayama S, Nakanishi S (1983) Nucleotide sequences of cloned cDNAs for two types of bovine brain substance P precursor *Nature.* 306(5938):32-6.
- Nestler EJ, Peña CJ, Kundakovic M, Mitchell A, Akbarian S. (2015) Epigenetic Basis of Mental Illness. *Neuroscientist.* pii: 1073858415608147.
- Network and Pathway Analysis Subgroup of Psychiatric Genomics Consortium (2015) Psychiatric genome-wide association study analyses implicate neuronal, immune and histone pathways. *Nat Neurosci.*; 18(2):199-209.
- Ng MY, Levinson DF, Faraone SV, Suarez BK, DeLisi LE, Arinami T, Riley B, Paunio T, Pulver AE, Irmansyah, Holmans PA, Escamilla M, Wildenauer DB, Williams NM, Laurent C, Mowry BJ, Brzustowicz LM, Maziade M, Sklar P, Garver DL, Abecasis GR, Lerer B, Fallin MD, Gurling HM, Gejman PV, Lindholm E, Moises HW, Byerley W, Wijsman EM, Forabosco P, Tsuang MT, Hwu HG, Okazaki Y, Kendler KS, Wormley B, Fanous A, Walsh D, O'Neill FA, Peltonen L, Nestadt G, Lasseter VK, Liang KY, Papadimitriou GM, Dikeos DG, Schwab SG, Owen MJ, O'Donovan MC, Norton N, Hare E, Raventos H, Nicolini H, Albus M, Maier W, Nimgaonkar VL, Terenius L, Mallet J, Jay M, Godard S, Nertney D, Alexander M, Crowe RR, Silverman JM, Bassett AS, Roy MA, Mérette C, Pato CN, Pato MT, Roos JL, Kohn Y, Amann-Zalcenstein D, Kalsi G, McQuillin A, Curtis D, Brynjolfson J, Sigmundsson T, Petursson H, Sanders AR, Duan J, Jazin E, Myles-Worsley M, Karayiorgou M, Lewis CM (2009) Meta-analysis of 32 genome-wide linkage studies of schizophrenia. *Mol Psychiatry.* 774-85.
- O'Donovan MC, Craddock N, Norton N, Williams H, Peirce T, Moskvina V, Nikolov I, Hamshere M, Carroll L, Georgieva L, Dwyer S, Holmans P, Marchini JL, Spencer CC, Howie B, Leung HT, Hartmann AM, Möller HJ, Morris DW, Shi Y, Feng G, Hoffmann P, Propping P, Vasilescu C, Maier



- W, Rietschel M, Zammit S, Schumacher J, Quinn EM, Schulze TG, Williams NM, Giegling I, Iwata N, Ikeda M, Darvasi A, Shifman S, He L, Duan J, Sanders AR, Levinson DF, Gejman PV, Cichon S, Nöthen MM, Gill M, Corvin A, Rujescu D, Kirov G, Owen MJ, Buccola NG, Mowry BJ, Freedman R, Amin F, Black DW, Silverman JM, Byerley WF, Cloninger CR; Molecular Genetics of Schizophrenia Collaboration (2008) Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up. *Nat Genet.* 40(9):1053-5.
- Olbrich HM, Maes H, Valerius G, Langosch JM, Feige B (2004) Event-related potential correlates selectively reflect cognitive dysfunction in schizophrenics. *J Neural Transm.* 112(2):283-95.
- Os van J, Driessen G, Gunther N, Delespaul P (2000) Neighbourhood variation in incidence of schizophrenia. Evidence for person-environment interaction. *Br J Psychiatry.* 176:243-8.
- Os van J, Krabbendam L, Myin-Germeys I, Delespaul P (2005) The schizophrenia envirome. *Curr Opin Psychiatry.* 18(2):141-5.
- Owen MJ (2000) Molecular genetic studies of schizophrenia. *Brain Res Brain Res Rev.* 31(2-3):179-86.
- Owen MJ, Williams NM, O'Donovan MC (2004) The molecular genetics of schizophrenia: new findings promise new insights. *Mol Psychiatry.* (1):14-27.
- Owen MJ (2005) Genomic approaches to schizophrenia. *Clin Ther.* 27 Suppl A:S2-7.
- Owen MJ, Craddock N, O'Donovan MC (2005) Schizophrenia: genes at last? *Trends Genet.* 21(9):518-25.
- Owen MJ, Craddock N, Jablensky A (2007) The genetic deconstruction of psychosis. *Schizophr Bull.* 33(4):905-11.
- Owen MJ, Williams HJ, O'Donovan MC (2009) Schizophrenia genetics: advancing on two fronts. *Curr Opin Genet Dev.* 19(3):266-70.
- Page NM, Bell NJ, Gardiner SM, Manyonda IT, Brayley KJ, Strange PG, Lowry PJ (2003) Characterization of the endokinins: human tachykinins with cardiovascular activity *Proc Natl Acad Sci U S A.* 100(10):6245-50.
- Page NM (2010) Neurokinin B and pre-eclampsia: a decade of discovery. *Reprod Biol Endocrinol.* 8:4.
- Papassotiropoulos A, Henke K, Aerni A, Coluccia D, Garcia E, Wollmer MA, Huynh KD, Monsch AU, Stähelin HB, Hock C, Nitsch RM, de Quervain DJ (2005) Age-dependent effects of the 5-hydroxytryptamine-2a-receptor polymorphism (His452Tyr) on human memory. *Neuroreport.* 16(8):839-42.
- Pennefather JN, Lecci A, Candenas ML, Patak E, Pinto FM, Maggi CA (2004) Tachykinins and tachykinin receptors: a growing family. *Life Sci.* 74(12):1445-63.

Pinto FM, Almeida TA, Hernandez M, Devillier P, Advenier C, Candenas ML (2004) mRNA expression of tachykinins and tachykinin receptors in different human tissues *Eur J Pharmacol.*494(2-3):233-9.

Popovic A, Bauer M, Sauerzopf M, Bartova L, Praschak-Rieder N, Sitte HH, Kasper S, Willeit M (2016) Making Sense of: Sensitization in Schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol.* pii: pyw081.

Popovic D, Benabarre A, Crespo JM, Goikolea JM, González-Pinto A, Gutiérrez-Rojas L, Montes JM, Vieta E. (2014) Risk factors for suicide in schizophrenia: systematic review and clinical recommendations. *Acta Psychiatr Scand.* 130(6):418-26

Pritchard JK, Donnelly P (2001) Case-control studies of association in structured or admixed populations. *Theor Popul Biol.* 60(3):227-37.

Propping P, Nöthen MM, Körner J, Rietschel M, Maier W (1994) Genetic association in psychiatric diseases. Concepts and findings. *Nervenarzt.* 65(11):725-40.

Purcell SM, Wray NR, Stone JL, Visscher PM, O'Donovan MC, Sullivan PF, Sklar P (2009) Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Nature.* 460(7256):748-52.

QIAmp® DNA Blood Midi/Maxi Handbook, 2005

Rapaport MH, Delrahim KK, Bresee CJ, Maddux RE, Ahmadpour O, Dolnak D (2005) Celecoxib augmentation of continuously ill patients with schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 57(12):1594-6.

Redden DT, Allison DB (2003) Nonreplication in genetic association studies of obesity and diabetes research. *J Nutr.* 133(11):3323-6.

Rees E, Walters JT, Georgieva L, Isles AR, Chambert KD, Richards AL, Mahoney-Davies G, Legge SE, Moran JL, McCarroll SA, O'Donovan MC, Owen MJ, Kirov G. Analysis of copy number variations at 15 schizophrenia-associated loci. *Br J Psychiatry.* 2014 Feb;204(2):108-14.

Regoli D, Boudon A, Fauchère JL (1994) Receptors and antagonists for substance P and related peptides *Pharmacol Rev.* 46(4):551-99.

Regoli D, Nguyen QT, Jukic D (1994) Neurokinin receptor subtypes characterized by biological assays *Life Sci.* 54(26):2035-47.

Reynolds GP, McGowan OO, Dalton CF (2014) Pharmacogenomics in psychiatry: the relevance of receptor and transporter polymorphisms. *Br J Clin Pharmacol.* 77(4):654-72.

Reynolds GP, Abdul-Monim Z, Neill JC, Zhang ZJ. (2004) Calcium binding protein markers of GABA deficits in schizophrenia--postmortem studies and animal models. *Neurotox Res.* 6(1):57-61.

Riley B, Kendler KS (2006) Molecular genetic studies of schizophrenia. *Eur J Hum Genet.* 14(6):669-80.

Ripke S, O'Dushlaine C, Chambert K, Moran JL, Kähler AK, Akterin S, Bergen SE, Collins AL, Crowley JJ, Fromer M, Kim Y, Lee SH, Magnusson PK, Sanchez N, Stahl EA, Williams S, Wray NR, Xia K, Bettella F, Borglum AD, Bulik-Sullivan BK, Cormican P, Craddock N, de Leeuw C, Durmishi N, Gill M, Golimbet V, Hamshere ML, Holmans P, Hougaard DM, Kendler KS, Lin K, Morris DW, Mors O, Mortensen PB, Neale BM, O'Neill FA, Owen MJ, Milovancevic MP, Posthuma D, Powell J, Richards AL, Riley BP, Ruderfer D, Rujescu D, Sigurdsson E, Silagadze T, Smit AB, Stefansson H, Steinberg S, Suvisaari J, Tosato S, Verhage M, Walters JT; Multicenter Genetic Studies of Schizophrenia Consortium, Levinson DF, Gejman PV, Kendler KS, Laurent C, Mowry BJ, O'Donovan MC, Owen MJ, Pulver AE, Riley BP, Schwab SG, Wildenauer DB, Dudbridge F, Holmans P, Shi J, Albus M, Alexander M, Campion D, Cohen D, Dikeos D, Duan J, Eichhammer P, Godard S, Hansen M, Lerer FB, Liang KY, Maier W, Mallet J, Nertney DA, Nestadt G, Norton N, O'Neill FA, Papadimitriou GN, Ribble R, Sanders AR, Silverman JM, Walsh D, Williams NM, Wormley B; Psychosis Endophenotypes International Consortium, Arranz MJ, Bakker S, Bender S, Bramon E, Collier D, Crespo-Facorro B, Hall J, Iyegbe C, Jablensky A, Kahn RS, Kalaydjieva L, Lawrie S, Lewis CM, Lin K, Linszen DH, Mata I, McIntosh A, Murray RM, Ophoff RA, Powell J, Rujescu D, Van Os J, Walshe M, Weisbrod M, Wiersma D; Wellcome Trust Case Control Consortium 2, Donnelly P, Barroso I, Blackwell JM, Bramon E, Brown MA, Casas JP, Corvin AP, Deloukas P, Duncanson A, Jankowski J, Markus HS, Plomin R, Palmer CN, Rautanen A, Sawcer SJ, Trembath RC, Viswanathan AC, Wood NW, Spencer CC, Band G, Bellenguez C, Freeman C, Hellenthal G, Giannoulatou E, Pirinen M, Pearson RD, Strange A, Su Z, Vukcevic D, Donnelly P, Langford C, Hunt SE, Edkins S, Gwilliam R, Blackburn H, Bumpstead SJ, Dronov S, Gillman M, Gray E, Hammond N, Jayakumar A, McCann OT, Liddle J, Potter SC, Ravindrarajah R, Ricketts M, Tashakkori-Ghanbaria A, Waller MJ, Weston P, Widaa S, Whittaker P, Barroso I, Deloukas P, Mathew CG, Blackwell JM, Brown MA, Corvin AP, McCarthy MI, Spencer CC, Bramon E, Corvin AP, O'Donovan MC, Stefansson K, Scolnick E, Purcell S, McCarroll SA, Sklar P, Hultman CM, Sullivan PF. (2013) Genome-wide association analysis identifies 13 new risk loci for schizophrenia. *Nat Genet.* 45(10):1150-9.

Rice JP, Reich T, Bucholz KK, Neuman RJ, Fishman R, Rochberg N, Hesselbrock VM, Nurnberger JI Jr, Schuckit MA, Begleiter H (1995) Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence *Alcohol Clin Exp Res.* 19(4):1018-23.

Richter V, Guthke J, (1996) Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI); Handanweisung. Göttingen, Bern, Toronto, Seattle: Hogrefe Verlag für Psychologie

Roberts GW, Woodhams PL, Polak JM, Crow TJ (1984) Distribution of neuropeptides in the limbic system of the rat: the hippocampus *Neuroscience.* 11(1):35-77.

Ruderfer DM, Fanous AH, Ripke S, McQuillin A, Amdur RL; Schizophrenia Working Group of Psychiatric Genomics Consortium; Bipolar Disorder Working Group of Psychiatric Genomics Consortium; Cross-Disorder Working Group of Psychiatric Genomics Consortium, Gejman PV, O'Donovan MC, Andreassen OA, Djurovic S, Hultman CM, Kelsoe JR<sup>0</sup>, Jamain S, Landén M, Leboyer M, Nimgaonkar V, Nurnberger J, Smoller JW, Craddock N, Corvin A, Sullivan PF, Holmans P, Sklar P, Kendler KS (2014) Polygenic dissection of diagnosis and clinical dimensions of bipolar disorder and schizophrenia. *Mol Psychiatry.* 19(9):1017-24

Rujescu D, Collier DA (2009) Dissecting the many genetic faces of schizophrenia. *Epidemiol Psychiatr Soc.* 18(2):91-5.

- Rujescu D, Giegling I (2010) The genetics of neurosystems in mental ill-health and suicidality: beyond serotonin. *Eur Psychiatry*. 25(5):272-4.
- Rujescu D, Ingason A, Cichon S, Pietiläinen OP, Barnes MR, Toulopoulou T, Picchioni M, Vassos E, Ettinger U, Bramon E, Murray R, Ruggeri M, Tosato S, Bonetto C, Steinberg S, Sigurdsson E, Sigmundsson T, Petursson H, Gylfason A, Olason PI, Hardarsson G, Jonsdottir GA, Gustafsson O, Fossdal R, Giegling I, Möller HJ, Hartmann AM, Hoffmann P, Crombie C, Fraser G, Walker N, Lonnqvist J, Suvisaari J, Tuulio-Henriksson A, Djurovic S, Melle I, Andreassen OA, Hansen T, Werge T, Kiemeny LA, Franke B, Veltman J, Buizer-Voskamp JE; GROUP Investigators, Sabatti C, Ophoff RA, Rietschel M, Nöthen MM, Stefansson K, Peltonen L, St Clair D, Stefansson H, Collier DA (2008) Disruption of the neurexin 1 gene is associated with schizophrenia. *Hum Mol Genet.* ;18(5):988-96.
- Saffroy M, Torrens Y, Glowinski J, Beaujouan JC (2003) Autoradiographic distribution of tachykinin NK2 binding sites in the rat brain: comparison with NK1 and NK3 binding sites *Neuroscience*. 116(3):761-73.
- Saha S, Chant D, Welham J, McGrath J (2005) A systematic review of the prevalence of schizophrenia. *PloS Med* 2(5): e141.
- Saito S, Takahashi N, Maeno N, Ito Y, Aleksic B, Usui H, Iidaka T, Inada T, Ozaki N (2008) An association study of tachykinin receptor 3 gene with schizophrenia in the Japanese population *Neuroreport*. 19(4):471-3.
- Sapkota K, Mao Z, Synowicki P, Lieber D, Liu M, Ikezu T, Gautam V, Monaghan DT (2016) GluN2D N-Methyl-d-Aspartate Receptor Subunit Contribution to the Stimulation of Brain Activity and Gamma Oscillations by Ketamine: Implications for Schizophrenia. *J Pharmacol Exp Ther*. 356(3):702-11.
- Sariaslan\_A, Fazel\_S, D'Onofrio\_BM, Långström\_N, Larsson\_H, Bergen\_SE, Kuja-Halkola\_R, Lichtenstein\_P (2016) Schizophrenia and subsequent neighborhood deprivation: revisiting the social drift hypothesis using population, twin and molecular genetic data. *Transl Psychiatry*. 3;6:e796.
- Satake H, Kawada T (2006) Overview of the primary structure, tissue-distribution, and functions of tachykinins and their receptors. *Curr Drug Targets*. 7(8):963-74.
- Satake H, Aoyama M, Sekiguchi T, Kawada T. (2013) Insight into molecular and functional diversity of tachykinins and their receptors. *Protein Pept Lett*. 20(6):615-27.
- Sawa A, Snyder SH (2002) Schizophrenia: diverse approaches to a complex disease. *Science* 296(5568):692-5.
- Seabrook GR, Bowery BJ, Hill RG (1995) Pharmacology of tachykinin receptors on neurones in the ventral tegmental area of rat brain slices *Eur J Pharmacol*. 273(1-2):113-9.
- Seeman MV, Seeman P (2013) Is schizophrenia a dopamine supersensitivity psychotic reaction? *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 3;48:155-60.

Severini C, Improta G, Falconieri-Ersparmer G, Salvadori S, Ersparmer V (2002) The tachykinin peptide family *Pharmacol Rev.* 54(2):285-322.

Schneider K (1957) Primäre und sekundäre Symptome bei Schizophrenie. *Fortschr Neurol Psychiatr* 25(9) 487-490

Schultze-Lutter F, Schimmelmann BG (2014) Changes to Schizophrenia Spectrum and other psychotic disorders in DSM-5. *Z Kinder Jugendpsychiatr Psychother.* 42(3):193-202.

Serretti A, Drago A, De Ronchi D (2007) HTR2A gene variants and psychiatric disorders: a review of current literature and selection of SNPs for future studies. *Curr Med Chem.* 14(19):2053-69.

Severini C, Improta G, Falconieri-Ersparmer G, Salvadori S, Ersparmer V The tachykinin peptide family. (2002) *Pharmacol Rev.* 54(2):285-322.

Shi J, Levinson DF, Duan J, Sanders AR, Zheng Y, Pe'er I, Dudbridge F, Holmans PA, Whittemore AS, Mowry BJ, Olincy A, Amin F, Cloninger CR, Silverman JM, Buccola NG, Byerley WF, Black DW, Crowe RR, Oksenberg JR, Mirel DB, Kendler KS, Freedman R, Gejman PV (2008) Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia. *Nature* 460(7256):753-7.

Shifman S, Johannesson M, Bronstein M, Chen SX, Collier DA, Craddock NJ, Kendler KS, Li T, O'Donovan M, O'Neill FA, Owen MJ, Walsh D, Weinberger DR, Sun C, Flint J, Darvasi A (2008) Genome-wide association identifies a common variant in the reelin gene that increases the risk of schizophrenia only in women. *PLoS Genet.* 4(2):e28.

Shishido E, Aleksic B, Ozaki N (2014) Copy-number variation in the pathogenesis of autism spectrum disorder. *Psychiatry Clin Neurosci* 68(2):85-95.

Simonsen KB, Juhl K, Steiniger-Brach B, Nielsen SM (2010) Novel NK(3) receptor antagonists for the treatment of schizophrenia and other CNS indications *Curr Opin Drug Discov Devel.* 13(4):379-88.

Smith PW, Dawson LA (2008) Neurokinin 3 (NK3) receptor modulators for the treatment of psychiatric disorders. *Recent Pat CNS Drug Discov.* 3(1):1-15.

Spielman RS, McGinnis RE, Ewens WJ (1993) Transmission test for linkage disequilibrium: the insulin gene region and insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). *Am J Hum Genet.* 52(3):506-16.

Spooren W, Riemer C, Meltzer H (2005) Opinion: NK3 receptor antagonists: the next generation of antipsychotics? *Nat Rev Drug Discov.* (12):967-75.

Steeds H, Carhart-Harris RL, Stone JM (2015) Drug models of schizophrenia. *Ther Adv Psychopharmacol.* 5(1):43-58.

Stefansson H, Sigurdsson E, Steinthorsdottir V, Bjornsdottir S, Sigmundsson T, Ghosh S, Brynjolfsson J, Gunnarsdottir S, Ivarsson O, Chou TT, Hjaltason O, Birgisdottir B, Jonsson H, Gudnadottir VG, Gudmundsdottir E, Bjornsson A, Ingvarsson B, Ingason A, Sigfusson S,

Hardardottir H, Harvey RP, Lai D, Lemke G, Sainz J, Johannesson G, Andresson T, Gudbjartsson D, Manolescu A, Frigge ML, Gurney ME, Kong A, Gulcher JR, Petursson H, Stefansson K (2002) Neuregulin 1 and susceptibility to schizophrenia. *Am J Hum Genet.* 71(4):877-92.

Schneider K, (1957) Primäre und sekundäre Symptome bei der Schizophrenie. *Fortschr Neurol Psychiatr*, 25(9), 487-490.

Stefansson H, Sarginson J, Kong A, Yates P, Steinthorsdottir V, Gudfinnsson E, Gunnarsdottir S, Walker N, Petursson H, Crombie C, Ingason A, Gulcher JR, Stefansson K, (2003) Association of neuregulin 1 with schizophrenia confirmed in a Scottish population. *Am J Hum Genet.* 72(1):83-7.

Stefansson H, Rujescu D, Cichon S, Pietiläinen OP, Ingason A, Steinberg S, Fossdal R, Sigurdsson E, Sigmundsson T, Buizer-Voskamp JE, Hansen T, Jakobsen KD, Muglia P, Francks C, Matthews PM, Gylfason A, Halldorsson BV, Gudbjartsson D, Thorgeirsson TE, Sigurdsson A, Jonasdottir A, Jonasdottir A, Bjornsson A, Mattiasdottir S, Blondal T, Haraldsson M, Magnusdottir BB, Giegling I, Möller HJ, Hartmann A, Shianna KV, Ge D, Need AC, Crombie C, Fraser G, Walker N, Lonnqvist J, Suvisaari J, Tuulio-Henriksson A, Paunio T, Touloupoulou T, Bramon E, Di Forti M, Murray R, Ruggeri M, Vassos E, Tosato S, Walshe M, Li T, Vasilescu C, Mühleisen TW, Wang AG, Ullum H, Djurovic S, Melle I, Olesen J, Kiemenev LA, Franke B; GROUP, Sabatti C, Freimer NB, Gulcher JR, Thorsteinsdottir U, Kong A, Andreassen OA, Ophoff RA, Georgi A, Rietschel M, Werge T, Petursson H, Goldstein DB, Nöthen MM, Peltonen L, Collier DA, St Clair D, Stefansson K (2008) Large recurrent microdeletions associated with schizophrenia. *Nature.* 11;455(7210):232-6.

Stefansson H, Ophoff RA, Steinberg S, Andreassen OA, Cichon S, Rujescu D, Werge T, Pietiläinen OP, Mors O, Mortensen PB, Sigurdsson E, Gustafsson O, Nyegaard M, Tuulio-Henriksson A, Ingason A, Hansen T, Suvisaari J, Lonnqvist J, Paunio T, Børglum AD, Hartmann A, Fink-Jensen A, Nordentoft M, Hougaard D, Norgaard-Pedersen B, Böttcher Y, Olesen J, Breuer R, Möller HJ, Giegling I, Rasmussen HB, Timm S, Mattheisen M, Bitter I, Réthelyi JM, Magnusdottir BB, Sigmundsson T, Olason P, Masson G, Gulcher JR, Haraldsson M, Fossdal R, Thorgeirsson TE, Thorsteinsdottir U, Ruggeri M, Tosato S, Franke B, Strengman E, Kiemenev LA; Genetic Risk and Outcome in Psychosis (GROUP), Melle I, Djurovic S, Abramova L, Kaleda V, Sanjuan J, de Frutos R, Bramon E, Vassos E, Fraser G, Ettinger U, Picchioni M, Walker N, Touloupoulou T, Need AC, Ge D, Yoon JL, Shianna KV, Freimer NB, Cantor RM, Murray R, Kong A, Golimbet V, Carracedo A, Arango C, Costas J, Jönsson EG, Terenius L, Agartz I, Petursson H, Nöthen MM, Rietschel M, Matthews PM, Muglia P, Peltonen L, St Clair D, Goldstein DB, Stefansson K, Collier DA Common variants conferring risk of schizophrenia. (2009) *Nature.* ;460(7256):744-7.

Steeds H, Carhart-Harris RL , Stone JM (2015) Drug models of schizophrenia. *Ther Adv Psychopharmacol* 5(1):43-58.

Steinhoff MS, von Mentzer B, Geppetti P, Pothoulakis C, Bunnett NW (2014) Tachykinins and their receptors: contributions to physiological control and the mechanisms of disease *Physiol Rev.* 94(1):265-301.

Stoessl AJ, Dourish CT, Iversen SD (1988) The NK-3 tachykinin agonist senktide elicits yawning and chewing mouth movements following subcutaneous administration in the rat. Evidence for cholinergic mediation *Psychopharmacology (Berl).* 95(4):502-6.

Stoessl AJ, Dourish CT, Iversen SD (1988) The NK-3 tachykinin receptor agonist senktide elicits 5-HT-mediated behaviour following central or peripheral administration in mice and rats *Br J Pharmacol.* 94(2):285-7.

Stoessl AJ, Szczutkowski E, Glenn B, Watson I. (1991) Behavioural effects of selective tachykinin agonists in midbrain dopamine regions *Brain Res.* 565(2):254-62.

Stoessl AJ (1994) Localization of striatal and nigral tachykinin receptors in the rat *Brain Res.* 646(1):13-8.

Stone JM, Morrison PD, Pilowsky LS (2007) Glutamate and dopamine dysregulation in schizophrenia--a synthesis and selective review. *J Psychopharmacol.* 21(4):440-52.

Stone JM, Pilowsky LS (2007) Novel targets for drugs in schizophrenia. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 6(4):265-72.

Stone JM, Raffin M, Morrison P, McGuire PK (2010) Review: The biological basis of antipsychotic response in schizophrenia. *J Psychopharmacol.* 24(7):953-64.

Sullivan PF, Kendler KS, Neale MC (2003) Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. *Arch Gen Psychiatry.* (12):1187-92.

Sullivan PF, Lin D, Tzeng JY, van den Oord E, Perkins D, Stroup TS, Wagner M, Lee S, Wright FA, Zou F, Liu W, Downing AM, Lieberman J, Close SL. Genomewide association for schizophrenia in the CATIE study: results of stage 1. *Mol Psychiatry.* 13(6):570-84.

Takumi T, Tamada K (2018), *Curr Opin Neurobiol.* 2018 Feb;48:183-192. doi: 10.1016/j.conb.2017.12.004. Epub 2018 Jan 11. Review.

Talkowski ME, Chowdari K, Lewis DA, Nimgaonkar VL (2006) Can RGS4 polymorphisms be viewed as credible risk factors for schizophrenia? A critical review of the evidence. *Schizophr Bull.* 32(2):203-8.

Tan N, van Os J (2014) The schizophrenia spectrum and other psychotic disorders in the DSM-5. *Tijdschr Psychiatr.* 56(3):167-72.

Tandon R., Nasrallah HA, Keshavan MS (2009) Schizophrenia, "just the facts" 4. Clinical features and conceptualization. *Schizophrenia Res.* 110(1-3):1-23

Tatemoto K, Lundberg JM, Jörnvall H, Mutt V (1985) Neuropeptide K: isolation, structure and biological activities of a novel brain tachykinin *Biochem Biophys Res Commun.* 128(2):947-53.  
The International Genome Sample Resource (IGSR) <http://www.1000genomes.org/>

Topaloglu AK, Reimann F, Guclu M, Yalin AS, Kotan LD, Porter KM, Serin A, Mungan NO, Cook JR, Ozbek MN, Imamoglu S, Akalin NS, Yuksel B, O'Rahilly S, Semple RK. (2008) TAC3 and TACR3 mutations in familial hypogonadotropic hypogonadism reveal a key role for Neurokinin B in the central control of reproduction. *Nat Genet.* 41(3):354-8.

Torrey EF, Yolken RH (2007) Schizophrenia and toxoplasmosis. *Schizophr Bull.* 33(3):727-8.

Tsuang MT, Stone WS, Faraone SV (2001) Genes, environment and schizophrenia. *Br J Psychiatry Suppl.* 40:18-24.

Ukai M, Shinkai N, Kameyama T (1996) Neurokinin A and senktide attenuate scopolamine-induced impairment of spontaneous alternation performance in mice *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi.* 16(3):97-101.

Wacholder S, Rothman N, Caporaso N (2002) Counterpoint: bias from population stratification is not a major threat to the validity of conclusions from epidemiological studies of common polymorphisms and cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 11(6):513-20.

Williams J, McGuffin P, Nöthen M, Owen MJ (1997) Meta-analysis of association between the 5-HT2a receptor T102C polymorphism and schizophrenia. EMASS Collaborative Group. European Multicentre Association Study of Schizophrenia. *Lancet.* 349(9060):1221.

Wittchen HU, Zaudig M, Fydrich T (1997) SKID Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV Achse I und II. Göttingen, Bern, Toronto, Seattle: Hogrefe

[www.internationalgenome.org](http://www.internationalgenome.org)

Zhang Y, Lu L, Furlonger C, Wu GE, Paige CJ (2000) Hemokinin is a hematopoietic-specific tachykinin that regulates B lymphopoiesis *Nat Immunol.* 1(5):392-7.

Zhang F, St Clair D, Liu X, Sun X, Sham PC, Crombie C, Ma X, Wang Q, Meng H, Deng W, Yates P, Hu X, Walker N, Murray RM, Collier DA, Li T (2005) Association analysis of the RGS4 gene in Han Chinese and Scottish populations with schizophrenia. *Genes Brain Behav.* 4(7):444-8.

Zhao Y, Castellanos FX (2016) Annual Research Review: Discovery science strategies in studies of the pathophysiology of child and adolescent psychiatric disorders--promises and limitations. *J Child Psychol Psychiatry.* 57(3):421-39.

Zhou D, Gochman P, Broadnax DD, Rapoport JL, Ahn K (2016) 15q13.3 duplication in two patients with childhood-onset schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 171(6):777-83.

Zobel A, Maier W (2004) Endophenotype--a new concept for biological characterization of psychiatric disorders. *Nervenarzt.* 75(3):205-14.



## 7 Tabellenverzeichnis

<u>Tabelle 1:</u>	Charakteristische Symptome der Schizophrenie nach ICD-10/DMS-V.....	5
<u>Tabelle 2:</u>	Dauer der Symptome nach ICD-10/DMS-V.....	6
<u>Tabelle 3:</u>	Ausschlusskriterien nach ICD-10/DMS-V.....	6
<u>Tabelle 4:</u>	Symptome ersten- und zweiten Ranges nach Kurt Schneider.....	7
<u>Tabelle 5:</u>	charakteristische Symptome nach ICD 10.....	7
<u>Tabelle 6:</u>	Tachykinine (Auswahl), Präkursorgene und Aminosäuren der Proteine.....	22
<u>Tabelle 7:</u>	Affinität der Neurokinine zum jeweiligen Rezeptor aus (Garcia-Recio und Gascón, 2015).....	26
<u>Tabelle 8:</u>	Überblick der bekannten humanen Tachykinin Rezeptoren mit genetischer Lokalisation.....	27
<u>Tabelle 9:</u>	Übersicht Ausschlusskriterien für das Patientenkollektiv.....	36
<u>Tabelle 10:</u>	Überblick der untersuchten Polymorphismen im NK3-Rezeptor Gen auf Chromosom 4q24.....	39
<u>Tabelle 11:</u>	Primersequenzen für das iPLEX-Verfahren.....	40
<u>Tabelle 12:</u>	Zusammensetzung des SAP-Cocktails.....	41
<u>Tabelle 13:</u>	Aufteilung der Studienteilnehmer nach Geschlecht.....	44
<u>Tabelle 14:</u>	Darstellung der Allelverteilung des Polymorphismus rs17033903.....	45
<u>Tabelle 15:</u>	Darstellung der Genotypenverteilung von rs17033903.....	45
<u>Tabelle 16:</u>	Vergleich der Träger des C-Allels mit homozygoten Trägern des T-Allels des Markers rs17033903.....	46
<u>Tabelle 17:</u>	Vergleich der homozygoten Träger des C-Allels mit Trägern des T-Allels des Markers rs17033903.....	46
<u>Tabelle 18:</u>	Allelverteilung des Markers rs17303520.....	47
<u>Tabelle 19:</u>	Genotypenverteilung rs17303520.....	47
<u>Tabelle 20:</u>	Träger des A-Allels und homozygote Träger des C-Allels des SNP rs17303520.....	47

6 Literaturverzeichnis

<u>Tabelle 21:</u>	Homozygote Träger A-Allel und Träger C-Allel des SNP rs17303520.....	48
<u>Tabelle 22:</u>	Allelverteilung des SNP rs17033923.....	48
<u>Tabelle 23:</u>	Genotypenverteilung des SNP rs17033923.....	49
<u>Tabelle 24:</u>	Träger des C-Allels (C/C und C/T) verglichen mit homozygoten Trägern des T-Allels.....	49
<u>Tabelle 25:</u>	Träger des T-Allels verglichen mit homozygoten Trägern des C-Allels.....	50
<u>Tabelle 26:</u>	Allelverteilung SNP rs3796972.....	50
<u>Tabelle 27:</u>	Genotypenverteilung des SNP rs3796972.....	51
<u>Tabelle 28:</u>	Träger T-Allel und homozygote G-Allelträger rs3796972.....	51
<u>Tabelle 29:</u>	Träger des G-Allels und homozygote Träger des T-Allels SNP rs3796972.....	52
<u>Tabelle 30:</u>	Allelverteilung SNP rs6854678.....	52
<u>Tabelle 31:</u>	Genotypenverteilung des Basenaustauschpolymorphismus rs6854678.....	53
<u>Tabelle 32:</u>	Träger des T-Allels (C/T und T/T) verglichen mit homozygoten Trägern des C-Allels des Polymorphismus rs6854678.....	53
<u>Tabelle 33:</u>	homozygote Träger T-Allel und Träger C-Allel von rs6854678.....	54

## 8 Abkürzungsverzeichnis

Ad-Fasern	A-delta-Fasern
Ala	Alanin
APA	American Psychiatric Association
Arg	Arginin
Asp	Aspartat
ATP	Adenosintriphosphat
cAMP	cyclisches Adenosin Mono-Phosphat
C, Cyt	Cytosin
CCD60	Coiled-Coil Domain Containing 60
CNV	Copy Number Variation
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
COS	childhood-onset Schizophrenia
DAG	Diacylglycerin
DA2-Antagonist	Dopaminrezeptor-2 Antagonist
D1/2-Rezeptor	Dopamin 1 und 2 Rezeptor
DMS-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorde (fourth edition) der American Psychiatric Association
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphate
DRD2	Dopaminrezeptor D2
dsDNA	doppelsträngige DNA
EDTA	Ethylendiamintetraacetat / Ethylendiamintetraessigsäure
EKA-D	Endokinin A-D
FHAM	Family History Assessment Modul
FSME	Frühsommermeningoenzephalitis
GABA	Gamma Amino-Buttersäure
GAS	Goal Attainment Scale
Glu	Glutamin
Gly	Glycin
GDP	Guanosindiphosphat
GPCR	G-Protein-gekoppelten Rezeptor

## 8 Abkürzungsverzeichnis

GPT	Guanosintriphosphat
GTP	Guanosintriphosphat-bindendes Protein
GWA	Genomweite Assoziationsstudie
HAWIE-R	Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene in der revidierter Form
HCl	Chlorwasserstoff
HK-1	Hemokinin-1
His	Histidin
5-HT	5-Hydroxy-Tryptamin / Serotonin
HIV	Humanes Immundefizienz Virus
H <sub>2</sub> O	Wasser
3-HPA	3-Hydroxypicolinsäure 3-HPA
ICD-10	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems (10 revision) der WHO
ICV	intracerebroventiculär
IP3	Inositol-1,4,5-trisphosphat
iPLEX	Increased Plexing Efficiency and Flexibility for MassARRAY
IQ	Intelligenzquotient
LD	Linkage-Disequilibrium
LEBI	Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar
Leu	Leucyin
LSD	Lysergsäurediethylamid
Lys	Lysin
MALDI-TOF MS	Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation Time Of Flight Mass Spectrometry
Mb	Megabasen
Met	Methionin
MgCl <sub>2</sub>	Magnesiumchlorid
MHC	Major Histocompatibility Complex
MMST	Mini-Mental-Status-Test
mRNA	Messenger Ribonucleic Acid
MRT	Magnet Resonanz Tomograph
m/z	Masse-/ Ladungsverhältnis

## 8 Abkürzungsverzeichnis

NCBI	National Center of Biotechnology Information
NKA, B	Neurokinin A, B
NK1-3	Neurokinin 1-3
nM	Nanomolar
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NPK	Neuropeptid K
NP $\gamma$	Neuropeptid $\gamma$
NRG1	Neuroregulin-1-Gen
p	p-Wert, Signifikanz
p (Chromosom)	petit, kurzer Arm eines Chromosom
PBS	phosphate buffered saline
PCP	Phencyclidin, Phenylcyclohexylpiperidin
pH	negative dekadische Logarithmus der Wasserstoffionen Aktivität
Phe	Phenylalanin
PIP2	Phosphatidyl-Inositol-4,5-bisphosphat
PPT	Präprotachykinin
PPT-A, -B, -C	Präprotachykinin-A, -B, -C
Pro	Prolin
q (Chromosom)	queue, langer Arm eines Chromosom
r	Korrelationskoeffizient
RGS4	Regulator of G-Protein signaling 4
RNA	Ribonukleinsäure
rpm	revolutions per minute
SAP	Shrimp Alkaline Phosphatase
Ser	Serin
SKID I/II	Strukturierte Klinische Interview für DSM-V Achse I/II
SNP	Single Nukleotid Polymorphismus
SP	Substanz P
TAC1R (-2R, -3R)	Tachykinin-1(-2, -3)-Rezeptor
Thr	Threonin
Tris	Trishydroxymethylaminomethan
Tyr	Tyrosin

## 8 Abkürzungsverzeichnis

Val	Valin
WHO	World Health Organization
WST	Wortschatztest
$\chi^2$ - Test	Chi-Quadrat-Test
ZNS	Zentrales Nervensystem

## **9 Danksagung**

Herrn Professor Dr. H.-J. Möller und Herrn Professor Dr. P. Falkai möchte ich dafür danken, dass ich die vorliegende Promotionsarbeit an der von ihnen geleiteten Psychiatrischen Universitätsklinik der Ludwig-Maximilians-Universität absolvieren durfte.

Bei Herrn Professor Dr. Rujescu bedanke ich mich für die Möglichkeit der Durchführung und Betreuung dieser Arbeit im Rahmen seiner Forschungsgruppe.

Bei Frau PD Dr. Ina Giegling bedanke ich mich herzlich für die Betreuung, Korrekturlesen sowie Unterstützung bei der Auswertung der Studienergebnisse.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. Annette Hartmann vor allem für ihre Geduld, die allzeit kompetente Unterstützung, Korrekturlesen und Hilfestellung in labortechnischen und genetischen Angelegenheiten.

Meinen Eltern danke ich herzlich für ihre ermutigenden Worte und Vertrauen.

Frau Dr. med. Helena Class danke ich herzlich für ihre liebevolle Motivationsarbeit.



LUDWIG-  
MAXIMILIANS-  
UNIVERSITÄT  
MÜNCHEN

Promotionsbüro  
Medizinische Fakultät



## Eidesstattliche Versicherung

# Keiler Tobias

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

"Der Einfluss von Variationen im Tachykinin 3 Rezeptorgen auf die Schizophrenie"

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

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

**Berlin 23.02.2023**

Ort, Datum

**Tobias Keiler**

Unterschrift Doktorandin bzw. Doktorand