

Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie

Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München



**Assoziation von Polymorphismen des NRG3-Gens mit der P300-Amplitude im EEG als  
Endophänotyp der Schizophrenie**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Lilya Naomi Glashauser

aus München

2024

---

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

Erster Gutachter: Priv. Doz. Dr. Ina Giegling

Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Oliver Pogarell

Dritter Gutachter: Priv. Doz. Dr. Urs Heilbronner

Weitere Gutachter: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter: \_\_\_\_\_

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 16.01.2024

..

**Inhaltsverzeichnis**

<b>Inhaltsverzeichnis .....</b>	<b>3</b>
<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>6</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>7</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>8</b>
<b>1 Einleitung.....</b>	<b>10</b>
1.1 Schizophrenie .....	10
1.1.1 Symptome und Klassifikationen.....	10
1.1.2 Subtypen der Schizophrenie.....	11
1.1.3 Epidemiologie .....	12
1.1.4 Krankheitsverlauf .....	12
1.2 Ätiologie .....	13
1.2.1 Risikofaktoren .....	13
1.2.2 Hypothesen der Schizophreniepathogenese.....	15
1.3 Gene und Schizophrenie .....	17
1.4 Neureguline und ihre Funktionen.....	19
1.4.1 Neuregulin 3.....	19
1.4.1.1 NRG3 – Signaltransduktion und ErbB4 .....	21
1.4.1.2 NRG3 und Schizophrenie .....	22
1.5 SNPs und ihre Bedeutung .....	23
1.5.1 SNPs im NRG3 und ihre Relevanz.....	23
1.6 Das Konzept der Endophänotypen.....	24
1.6.1 Endophänotypen und Schizophrenie.....	26
1.7 Ereigniskorrelierte Potentiale und die P300-Welle .....	26
1.7.1 Neuronaler Ursprung der P300-Welle .....	27
1.7.2 P300-Welle und Schizophrenie .....	27
<b>2 Zielstellung .....</b>	<b>29</b>
<b>3 Methoden und Material.....</b>	<b>30</b>
3.1 Stichprobe und Studiendesign.....	30
3.1.1 Rekrutierung .....	30
3.1.1.1 Gesunde Kontrollen .....	30
3.1.1.2 SchizophreniepatientInnen .....	31
3.1.2 Datenerhebung .....	32
3.1.2.1 Elektroenzephalogramm (EEG).....	32
3.1.2.2 Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS).....	33

## Inhaltsverzeichnis

3.2	Labor .....	34
3.2.1	DNA-Extraktion .....	34
3.2.2	DNA-Konzentrationseinstellung .....	35
3.2.3	Genotypisierung mittels MALDI-TOF Massenspektrometrie .....	36
3.2.4	Genotypisierung mittels Mikroarray-Technologie .....	40
3.3	Statistische Methoden .....	41
3.3.1	Hardy-Weinberg-Equilibrium.....	41
3.3.2	Gruppeneinteilung.....	41
3.3.3	Lineare Regression.....	41
3.3.4	Haplotypen.....	42
3.3.5	Signifikanzniveau .....	42
3.3.6	Korrektur für multiples Testen.....	42
<b>4</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>43</b>
4.1	Stichprobenbeschreibung .....	43
4.2	Lokalisation der Polymorphismen.....	44
4.3	Einzel-SNP-Analyse.....	45
4.3.1	Assoziationen über der zentro-frontalen EEG-Ableitung (Fz) .....	45
4.3.1.1	rs1336290 .....	46
4.3.1.2	rs561623 .....	47
4.3.1.3	rs7088441 .....	48
4.3.1.4	rs1576986 .....	49
4.3.2	Assoziationen über der zentro-zentralen EEG-Ableitung (Cz) .....	49
4.3.2.1	rs6584471 .....	50
4.3.3	Assoziationen über der zentro-parietalen EEG-Ableitung (Pz) .....	51
4.3.3.1	rs6584471 .....	51
4.3.3.2	rs722982 .....	52
4.3.3.3	rs2622807 .....	53
4.3.3.4	rs635481 .....	54
4.3.3.5	rs12763193 .....	55
4.4	Ergebnisse der Haplotypanalyse .....	56
4.5	Assoziationen mit der PANSS .....	57
<b>5</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>58</b>
5.1	Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse.....	58
5.2	Diskussion der Methoden .....	59
5.3	Vergleich mit der europäischen Stichprobe des 1000 Genomes Projects .....	60
5.4	Einflussnahme der SNPs .....	61
5.5	Diskussion der Studienergebnisse .....	61
5.6	Die P300-Welle als Endophänotyp .....	63
5.7	Diskussion der Korrelation von NRG3 und der P300-Amplitude.....	63

## Inhaltsverzeichnis

5.8	Ausblick.....	65
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>67</b>
	<b>Danksagung.....</b>	<b>78</b>
	<b>Affidavit .....</b>	<b>79</b>

## **Zusammenfassung**

Schizophrenie ist eine gravierende psychische Erkrankung mit enormen Folgen für Betroffene und Angehörige. Es wird von einer multifaktoriellen Genese ausgegangen. Neben unterschiedlichen Risikofaktoren spielt eine polygenetische Einflussnahme eine wesentliche Rolle, inzwischen konnte eine Vielzahl von Genen mit Schizophrenie assoziiert werden.

Neureuline sind Proteine, welche als Wachstumsfaktoren durch Bindung an ihre Rezeptoren zu der Aktivierung unterschiedlicher intrazellulärer Signalwege führen. Neuregulin 3 ist ein Gen, welches in der embryonalen neuronalen Entwicklung eine Rolle spielt und SNPs im NRG3 konnten bereits in verschiedenen Bevölkerungsgruppen mit Schizophrenie sowie mit der Ausprägung von Wahn assoziiert werden. Endophänotypen in der Psychiatrie stellen einer Erkrankung zugrunde liegende neuronale Veränderungen oder Strukturen dar. Die Erfassung dieser Endophänotypen bildet somit das Bindeglied zwischen Genotyp und Erkrankung und bietet die Möglichkeit Unklarheiten in der Ätiologie der Schizophrenie zu beseitigen. Die P300-Welle ist ein im EEG messbares Ereignis-korreliertes Potential. Viele Studien weisen auf eine Amplitudenminderung der P300-Welle bei Schizophreniekranken hin.

Diese Dissertation untersucht, ob Assoziationen zwischen SNPs des NRG3-Gens und einer Amplitudenveränderung der P300-Welle im EEG als potentieller Endophänotyp schizophrener PatientInnen bestehen. In Stichprobe 1 wurden 116 PatientInnen und 256 Kontrollpersonen einbezogen, bei welchen jeweils eine EEG-Untersuchung mit Erfassung der P300-Welle durchgeführt wurde. In Stichprobe 2 aus 112 PatientInnen wurden die signifikanten SNPs der EEG-Untersuchung auf eine Assoziation mit klinischen Phänotypen anhand der PANSS-Skala untersucht. Die SNPs rs2622807 und rs635481 sowie die daraus gebildeten Haplotypen konnten in der PatientInnengruppe bei der Ableitung Pz signifikant mit der Amplitudenhöhe assoziiert werden, wobei die selteneren Allele, bzw. der entsprechende Haplotyp eher bei hoher Amplitude zu finden waren. Eine weitere Assoziation ebenfalls bei PatientInnen und der Pz-Ableitung sowie zusätzlich über Cz wurde mit dem Haplotyp GCC, bestehend aus den minoren Allelen der SNPs rs11595793, rs1336290, rs722982 erfasst. Der Haplotyp war häufiger bei einer niedrigeren Amplitude zu finden. Zusätzlich war für 2 der 3 SNPs bei Vorliegen des minoren Alleles ein verstärktes Auftreten von Schuldgefühlen (PANSS) zu beobachten.

Diese Ergebnisse weisen auf eine Assoziation von Polymorphismen des NRG3-Gens und einer Amplitudenveränderung der P300-Welle hin. Es bedarf jedoch noch vieler weitergehender Untersuchungen, um eine vergleichbare Studienlage zu schaffen und die potentiellen Zusammenhänge zwischen Variationen im NRG3 und der P300-Amplitude als Endophänotyp zu validieren.

## **Abstract**

Schizophrenia is a serious mental illness with enormous consequences for those affected and their families. A multifactorial genesis is assumed. In addition to various risk factors, a polygenetic influence plays a significant role; in the meantime, a large number of genes have been associated with schizophrenia.

Neuregulins are proteins which, as growth factors, lead to the activation of various intracellular signalling pathways by binding to their receptors. Neuregulin 3 is a gene that plays a role in embryonic neuronal development and SNPs in NRG3 have already been associated with schizophrenia in various populations as well as with the expression of delusions. Endophenotypes in psychiatry represent neuronal changes or structures underlying a disorder. The detection of these endophenotypes thus forms the link between genotype and disease and offers the possibility of removing ambiguities in the aetiology of schizophrenia. The P300 wave is an event-correlated potential that can be measured in the EEG. Many studies indicate an amplitude reduction of the P300 wave in schizophrenia patients.

This dissertation investigates whether associations exist between SNPs of the NRG3 gene and an amplitude change of the P300 wave in the EEG as a potential endophenotype of schizophrenic patients. Sample 1 included 116 patients and 256 controls, each of whom underwent an EEG examination with recording of the P300 wave. In sample 2 of 112 patients, the significant SNPs of the EEG examination were examined for an association with clinical phenotypes using the PANSS scale. The SNPs rs2622807 and rs635481 as well as the haplotypes formed from them could be significantly associated with the amplitude level in the patient group in the derivation Pz, whereby the rarer alleles or the corresponding haplotype were more likely to be found at high amplitude. Another association, also in patients and the Pz derivation and additionally via Cz, was recorded with the haplotype GCC, consisting of the minor alleles of the SNP, rs11595793, rs1336290, rs722982. The haplotype was more frequently found at a lower amplitude. In addition, for 2 of the 3 SNPs, an increased incidence of guilt was observed in the presence of the minor allele.

These results indicate an association of polymorphisms of the NRG3 gene and an amplitude change of the P300 wave. However, more research is needed to establish a comparable set of studies and to validate the potential associations between variations in NRG3 and P300 amplitude as an endophenotype.

## Abkürzungsverzeichnis

A1	Minores Allel
A2	Majores Allel
A1; 2	Aurikuläre EEG-Ableitungen (links; rechts)
ANK3	Ankyrin-3
APBA2	<i>amyloid beta precursor protein binding family A member 2</i>
B	Regressionskoeffizient
BMI	Body-Mass-Index
BP	Basenposition
Cz	Zentro-zentrale EEG-Ableitung auf der Mittellinie (Vertex)
CACNA1I	<i>calcium voltage-gated channel subunit alpha 1 I</i>
CACNA1C	<i>calcium voltage-gated channel subunit alpha 1 C</i>
CACNB2	<i>calcium voltage-gated channel auxiliary subunit beta 2</i>
CEPH-Proben	<i>Centre d'Etude du Polymorphisme Humain</i> -Proben
CNVs	<i>Copy Number Variants</i>
COMT	Katechol-O-Methyltransferase
CP5; 6	Zentro-parietale EEG-Ableitung (links; rechts)
dB	Dezibel
dNTPs	Desoxynukleosidtriphosphate
ddNTPs	Didesoxynukleotide
D1-Rezeptor	Dopamin 1- Rezeptor
D2-Rezeptor	Dopamin 2- Rezeptor
DRD1-4	Dopamin-Rezeptor D1-4
DSM-IV/ (-5)	Diagnostisches und Statistisches Handbuch Psychischer Störungen, Ausgabe IV/ (5) ( <i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders</i> )
EEG	Elektroenzephalogramm
EGF	Epidermaler Wachstumsfaktor ( <i>epidermal growth factor</i> )
EKPs	Ereigniskorrelierte Potentiale
ErbB	<i>epidermal growth factor receptor = EGFR</i>
ErbB4	<i>erb-b2 receptor tyrosine kinase 4</i>
F3; 4	Frontale EEG-Ableitungen (links; rechts)
FC1, 5; 2, 6	Fronto-zentrale EEG-Ableitungen (links; rechts)
FHAM	<i>Family History Assessment Modules</i>
Fpz	Frontopolare-zentrale EEG-Ableitung auf der Mittellinie
Fz	Zentro-frontale EEG-Ableitung auf der Mittellinie
GABA	$\gamma$ -Aminobuttersäure
GABRA2	<i>gamma-aminobutyric acid type A receptor subunit alpha 2</i>
GRCh37	<i>Genome Reference Consortium Human Build 37</i>
GRM3	Metabotroper Glutamatrezeptor 3
GWAS	Genomweite Assoziationsstudie ( <i>Genome-Wide Association Study</i> )
hFBNRG3	<i>human fetal brain NRG3</i>
HWE	Hardy-Weinberg-Gleichgewicht
Hz	Hertz
ICD-10	Internationale Klassifikation der Krankheiten, 10. Revision ( <i>International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems</i> )
iPLEX-Reaktion	Primerextensionsreaktion
LD	Kopplungsungleichgewicht ( <i>Linkage Disequilibrium</i> )
M	adjustierte Mittelwerte
MAF	Minore Allelfrequenz ( <i>Minor Allele Frequency</i> )
MALDI-TOF-Massenspektrometrie	<i>Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation-Time of Flight</i> -Massenspektrometrie
Min	Minute
MIR137	microRNA 137
mGluR	metabotrope Glutamatrezeptoren



Abkürzungsverzeichnis

MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex ( <i>major histocompatibility complex</i> )
ml	Milliliter
ms	Millisekunde
n	Anzahl der ProbandInnen
NCBI	Nationales Zentrum für Biotechnologieinformation ( <i>National Center for Biotechnology Information</i> )
NDH	Neuroentwicklungshypothese ( <i>Neurodevelopmental Hypothesis</i> )
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NMDAR	N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor
NRGs	Neureguline
NRG 1-4	Neuregulin 1-4
NRG3	Neuregulin 3
NRGN	Neurogranin
OPCML	<i>opioid binding protein/cell adhesion molecule like</i>
P3; 4	Parietale EEG-Ableitungen (links; rechts)
PANSS	<i>Positive and Negative Syndrome Scale</i>
PCR	Polymerase Kettenreaktion
PGC	<i>The Schizophrenia Psychiatric Genome-Wide Association Study Consortium</i>
PO9; 10	Parieto-okzipitale Ableitungen (links; rechts)
Pz	Zentro-parietale EEG-Ableitung auf der Mittellinie
RPGRIP1L	<i>retinitis pigmentosa GTPase regulator interacting protein 1 like</i>
rpm	Umdrehungen pro Minute ( <i>revolutions per minute</i> )
SAP	<i>Shrimp Alkaline Phosphatase</i>
SD	Standardabweichung
SE	Standardfehler
SKID I	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV für Achse I Störungen
SKID II	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV für Achse II Störungen
SLC39A8	<i>solute carrier family 39 member 8</i>
SNPs	<i>Single Nucleotide Polymorphisms</i>
T1; 2	Temporale EEG-Ableitungen (links; rechts)
TCF4	Transkriptionsfaktor 4
ZNF804A	Zinkfingerprotein 804A
µl	Mikroliter
µV	Mikrovolt

## **1 Einleitung**

### **1.1 Schizophrenie**

Schizophrenie – gespaltener Geist (griechisch: *schizo* - gespalten und *phrene* - Geist). So bezeichnete schon Anfang des 20. Jahrhunderts Eugen Bleuler die Erkrankung (Rahman und Lauriello 2016; Häfner 2019).

Schizophrenie ist eine gravierende psychiatrische Erkrankung mit schwerwiegenden Auswirkungen auf die betroffenen Personen und ihr Umfeld (World Health Organization (WHO) 2022).

Es besteht eine große Heterogenität was die Verläufe, Symptome und Ätiologie betrifft, schizophrene Störungen sind dennoch durch eine Reihe von Charakteristika definiert (Tandon et al. 2009). Nach dem ICD-10 (F20) ist die Schizophrenie eine Beeinträchtigung des Denkens, der Wahrnehmung und der Affekte (Dilling 2011; Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information 2021).

#### **1.1.1 Symptome und Klassifikationen**

Das Krankheitsbild der Schizophrenie setzt sich aus vielen unterschiedlichen Merkmalen zusammen, die episodisch, dauerhaft oder gar nicht auftreten können (World Health Organization (WHO) 1993). Die Mischung aus positiven, negativen und kognitiven Symptomen sowie Veränderungen des Affekts ist charakterisierend (Tandon et al. 2009; Keshavan et al. 2020a).

Nach den Diagnosekriterien des ICD-10 muss eine gewisse Anzahl von Symptomen die meiste Zeit während einer mindestens einen Monat andauernden psychotischen Episode auftreten, um die Diagnosestellung zu ermöglichen:

Mindestens eines der Symptome, wie Gedankenlautwerden, -eingebung, -entzug oder Gedankenausbreitung, Wahnwahrnehmung (z.B. Kontrollwahn, Beeinflussungswahn, Gefühl des Gemachten), kommentierende oder dialogisierende Stimmen sowie bizarrer bzw. kulturell unangemessener Wahn ist zur Diagnosestellung erforderlich (World Health Organization (WHO) 1993). Alternativ gelten auch mindestens zwei der folgenden Merkmale als ausreichende Diagnosekriterien: täglich innerhalb eines Monats auftretende Halluzinationen jeglicher Sinneswahrnehmung in Verbindung mit Wahngedanken oder überwertigen Ideen; Neologismen, Gedankenabreißen oder -eingebung; katatone Merkmale (z.B. Erregung, Negativismus, Stupor) oder Negativsymptome wie Apathie, Affektverflachung oder Sprachverarmung (Dilling 2011).

Das DSM-5, wie DSM-IV, betrachtet neben dem Vorhandensein von zwei der genannten Symptome (darunter mindestens Wahnvorstellungen, Halluzinationen oder desorganisierte Sprechweise) auch eine Funktionseinschränkung, soziale Beeinträchtigung und das Vorhandensein von Symptomen für mindestens sechs Monate als Diagnosekriterien. Tiefgreifende Entwicklungsstörungen, Substanzmissbrauch und andere psychiatrische

Erkrankungen müssen zudem als ursächlich ausgeschlossen werden (Houben 1998; Tandon et al. 2009; Falkai und Wittchen 2015).

### **1.1.2 Subtypen der Schizophrenie**

Traditionell können mehrere Subtypen der Schizophrenie unterschieden werden.

Die häufigste Unterform ist die paranoide Schizophrenie, welche durch andauernde, vorwiegend paranoide Wahnvorstellungen (insbesondere Verfolgungswahn und Größenwahn) geprägt ist und meist gemeinsam mit akustischen Halluzinationen und Wahrnehmungsstörungen vorkommen (World Health Organization (WHO) 1993; Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information 2021). Bei dieser Form treten Stimmungsänderungen und katatone Symptome oft nicht oder nur in geringer Ausprägung auf (Dilling 2011). Ein weiteres Merkmal der paranoiden Schizophrenie ist, dass nicht vom Wahn beeinflusste Lebensbereiche meist weiterhin gut gemeistert werden können und oft ein vergleichsweise hohes Maß an sozialer Kompetenz erhalten bleibt (Peters 2007; Berger 2009).

Im Gegensatz dazu ist das nur bruchstückhafte Auftreten von Wahn und Halluzinationen bei der desorganisierten Schizophrenie, auch hebephrene Schizophrenie genannt, ein wesentliches Merkmal (Houben 1998; Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information 2021). Typisch für diese Form der Erkrankung ist die affektive Veränderung der PatientInnen (World Health Organization (WHO) 1993). Neben Affektverflachung und Antriebslosigkeit ist die Stimmung der Betroffenen oft unangemessen oder läppisch-heiter (Berger 2009). Im Zusammenspiel mit verantwortungs- und ziellosen Handlungsweisen zeigt sich neben meist ausgeprägten Manierismen, Denkzerfahrenheit und desorganisierter Sprechweise häufig eine Neigung zur sozialen Ausgrenzung (Dilling 2011).

Die katatone Schizophrenie zeichnet sich hauptsächlich durch Störungen der Psychomotorik aus. Die Symptome treten entlang eines breiten Spektrums auf und können von stuporösen Zuständen bis zu schweren Episoden katatoner Erregung mit Umherschlagen und ausgeprägten Selbstverletzungstendenzen reichen. Katatonie geht häufig mit Automatismen wie Echolalie, Echopraxie oder Echomimie einher (World Health Organization (WHO) 1993; Peters 2007).

Bei der undifferenzierten (atypischen) Form der Schizophrenie werden die generellen Diagnosekriterien der Schizophrenie erfüllt, jedoch kann kein klarer Typus charakterisiert werden (Berger 2009). Es können mehrere Symptome verschiedener Formen auftreten ohne dass die Diagnosekriterien einer einzelnen überwiegen (Dilling 2011; Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information 2021).

Einen umstrittenen Subtyp stellt die Schizophrenia simplex, charakterisiert durch einen blanden Verlauf mit hauptsächlich Negativsymptomen, dar. Die postschizophrene Depression besteht bei depressiven Symptomen folgend auf eine akute Episode mit regredienter Positivsymptomatik, ein

## Einleitung

schizophrenes Residuum bei chronischen Negativsymptomen nach einer früheren akuten schizophrenen Episode (DGPPN e.V. (Hrsg) 2019).

Das DSM-5 verzichtete auf die Unterteilung der Schizophrenie in verschiedene Subtypen (Ehret und Berking 2013).

### **1.1.3 Epidemiologie**

Die Schizophrenie tritt weltweit mit einer Häufigkeit von etwa 0,5 % bis 1 % auf (Rujescu 2017). International betrachtet scheint es keine gravierenden Unterschiede bezüglich der Prävalenz von Schizophrenie zu geben und auch klare geschlechterspezifische Differenzen wurden nicht gefunden (Peters 2007; Charlson et al. 2018; Merikangas und Almasy 2020).

Schizophrenie ist eine Erkrankung, welche in allen Altersstufen auftreten kann. Gehäuft liegt der Erkrankungsbeginn jedoch sowohl bei Männern als auch bei Frauen im Alter zwischen 18 und 30 Jahren. Bei Frauen zeigt sich zudem ein zweiter Erkrankungsgipfel postmenopausal in höherem Alter (Häfner 2019). Allerdings variiert der Erkrankungszeitpunkt auch je nach schizophrener Unterform der Betroffenen. Der Erkrankungsbeginn der paranoiden Schizophrenie liegt meist im mittleren Lebensalter, wohingegen sich die desorganisierte Form der Erkrankung bereits bei Jugendlichen oder jungen Erwachsenen zeigt (Berger 2009; Dilling 2011).

Im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung haben erkrankte Personen eine zwei- bis dreifach erhöhte Mortalität (McGrath et al. 2008). Die erhöhte Sterblichkeit schizophrener PatientInnen erstreckt sich über alle Altersgruppen und ist nur zu 15 % durch Suizid und andere unnatürliche Todesursachen bedingt. Der Hauptteil der Todesfälle ist auf die physischen Komorbiditäten schizophrener PatientInnen zurückzuführen, insbesondere auf chronische Erkrankungen wie koronarer Herzkrankheiten, Diabetes mellitus, Schlaganfälle und Krebserkrankungen (Charlson et al. 2018; DGPPN e.V. (Hrsg) 2019). Laut McGrath et al. (2008) zeigten die letzten Jahrzehnte eine zunehmende Differenz zwischen der Mortalität der Allgemeinbevölkerung und der der betroffenen PatientInnengruppe. Dies scheint jedoch eher auf die sinkende Sterblichkeit in der breiten Bevölkerung aufgrund von generellen Gesundheitsverbesserungen, als auf eine steigende Mortalität der Erkrankten zurückzuführen zu sein (McGrath et al. 2008).

### **1.1.4 Krankheitsverlauf**

Der Krankheitsprozess der Schizophrenie ist meist sehr individuell und heterogen (Charlson et al. 2018; Häfner 2019). Trotzdem lässt sich der Verlauf der Schizophrenie in verschiedene Abschnitte unterteilen, welche aufeinanderfolgend mit typischen Merkmalen versehen sind (Tandon et al. 2009).

Zunächst wird eine prämorbid Phase mit subtilen und unspezifisch kognitiven, motorischen oder sozialen Funktionseinbußen registriert. Darauf folgt die Prodromalphase, welche durch fortschreitenden Funktionsverlust und schwache Positivsymptome charakterisiert ist. Mit der ersten psychotischen Episode ist der Krankheitsausbruch formal definiert (DGPPN e.V. (Hrsg)

2019). Die Hälfte aller PatientInnen in der Prodromalphase mit dezenten psychotischen Symptomen entwickeln im Verlauf jedoch keine Schizophrenie (Tandon et al. 2009).

Die folgenden Jahre sind meist von wiederkehrenden Psychosen mit variablen Remissionsphasen und zunehmenden Einschränkungen geprägt. Zuletzt gelangen die Betroffenen oft in eine stabile Phase, charakterisiert durch Negativsymptomatik, weniger auffallende psychotische Symptome und symptomatisch überwiegend kognitiver Funktionseinschränkung. Eine Remission oder Genesung verschiedener Ausprägung kann während des gesamten Krankheitsverlaufes auftreten (Tandon et al. 2009; Häfner 2019).

Trotz bestmöglicher Verfahren ist das Therapieergebnis meist nicht vielversprechend. So zeigt sich, dass die Anzahl der PatientInnen, welche soziale und klinische Kriterien der Genesung erfüllen, nur 13.5 % beträgt (Charlson et al. 2018). Auch wenn eine Remission, komplett oder inkomplett, möglich ist, ist eine vollständige Genesung eher ungewöhnlich. Im Durchschnitt lebt eine betroffene Person etwa 30 Jahre mit der Erkrankung (Tandon et al. 2008).

Die Erkrankung wirkt stark auf das soziale, physische und psychische Sein der PatientInnen ein (Charlson et al. 2018). Die mit Schizophrenie einhergehende Belastung stellt sich in Gebieten mit geringerem sozioökonomischem Status am gravierendsten dar. Am stärksten sind Personen zwischen 25 und 54 Jahren betroffen, das Alter mit der höchsten ökonomischen Produktivität und demnach dem größten Ausfall für Betroffene und Haushalte. Schizophrene PatientInnen sind wahrscheinlicher arbeitslos, obdachlos und verarmt, haben eher Schwierigkeiten mit Haushaltsführung sowie Selbstfürsorge und geraten schneller in ein Abhängigkeitsverhältnis zu Angehörigen oder Bekannten (Charlson et al. 2018; Stilo und Murray 2019). Gepaart mit Stigmatisierung, dem frühen Auftreten der Erkrankung, den Therapiekosten, geringen Remissionsraten und der sozialen, psychischen und physischen Einschränkung ist die Belastung für die PatientInnen massiv (Tandon et al. 2009; Charlson et al. 2018; DGPPN e.V. (Hrsg) 2019).

## **1.2 Ätiologie**

Der momentane Forschungsstand weist auf eine heterogene, polygenetische und multifaktorielle Krankheitsentstehung hin (Tandon et al. 2008).

### **1.2.1 Risikofaktoren**

Es konnten neben genetischen und neuroanatomischen Variablen mehrere Risikofaktoren herausgearbeitet werden, welche die Wahrscheinlichkeit an Schizophrenie zu erkranken, erhöhen (McGrath et al. 2008; Tandon et al. 2008; Stilo und Murray 2019).

Insbesondere Drogenkonsum, Schwangerschaftskomplikationen, Traumata sowie Migration und Urbanität scheinen das Erkrankungsrisiko zu steigern (Tandon et al. 2008; Stilo und Murray 2019).

## Einleitung

Neben direkten Schwangerschaftskomplikationen, wie mütterlichen Infektionen und Blutungen während der Gravidität, konnten auch geringes Geburtsgewicht, Frühgeburt, Notfallkaiserschnitt und Präeklampsie mit einer erhöhten Suszeptibilität für Schizophrenie assoziiert werden. Auch die Geburt in den kälteren Winter- und Frühlingsmonaten scheint das Erkrankungsrisiko zu erhöhen (Stilo und Murray 2019).

Weitere Faktoren zur Entwicklung einer Schizophrenie stellen durchlebte Traumata und soziale Widrigkeiten dar. Diese können sowohl im Erwachsenen- und Kindesalter Einfluss nehmen, wobei jedoch Missbrauch jeglicher Art, Vernachlässigung und soziale Ausgrenzung in der Kindheit als besonders gravierend zu betrachten ist (Stilo und Murray 2019; Wahbeh und Avramopoulos 2021).

Auch Drogenkonsum, insbesondere Cannabiskonsum, wurde mit einer erhöhten Erkrankungsanfälligkeit verbunden. Stimulierende Substanzen wie Metamphetamine können Psychosen verursachen, jedoch kann insbesondere Cannabismissbrauch das Risiko an Schizophrenie zu erkranken steigern (Wahbeh und Avramopoulos 2021). Zudem scheint eine Korrelation zwischen Erkrankungsalter und Alter zu Beginn des Substanzmissbrauchs zu bestehen (Stilo und Murray 2019).

Ein weiterer vielfach diskutierter Risikofaktor ist Migration. So konnte ein deutlicher Unterschied in der Inzidenz zwischen einheimischen Personen und in das Gebiet migrierten Individuen dargestellt werden (McGrath et al. 2008). Laut Tandon et al. (2008) konnten sowohl persönliche Migrationsbewegungen als auch Migration in der familiären Vorgeschichte als Risikofaktor herausgearbeitet werden. Auch die Prävalenz der Erkrankung scheint durch Migration beeinflusst zu sein. Allerdings müssen Einflussfaktoren wie Zugang zu medizinischer Versorgung, Sprachbarrieren sowie kulturelle und soziale Unterschiede beachtet werden, welche zu Fehleinschätzungen und Fehlinterpretationen von Diagnosekriterien führen können (McGrath et al. 2008; Stilo und Murray 2019). Möglicherweise bedingen jedoch genau diese sozialen Widrigkeiten das gesteigerte Erkrankungsrisiko (Tandon et al. 2008).

Lange wurde diskutiert, ob erkrankte Personen eher in städtische Gebiete migrieren oder ob städtisches Wohnen ein Risiko an sich darstellt. Inzwischen konnten beide Varianten bestätigt werden (Tandon et al. 2008). Laut Tandon et al. (2008) besteht eine Verbindung zwischen Geburt und Aufwachsen in Stadtgebieten mit einem gesteigerten Erkrankungsrisiko. Außerdem konnte zwischen reiner Urbanität und eher ländlichen Gebieten eine Differenz in der Inzidenzrate gefunden werden (urban zu ländlich: 19 zu 13,3 pro 100.000 Personen) (McGrath et al. 2008). Was genau den urbanen Rahmen zum Risikofaktor macht, ist nicht abschließend geklärt. Als mögliche Ursache werden unter anderem Drogenkonsum, Umwelteinflüsse, soziale Stressoren, Vitamin-D Mangel, Armut und Infektionskrankheiten diskutiert (Tandon et al. 2008; Stilo und Murray 2019).

Niedrigem ökonomischen Status sowie männlichem Geschlecht konnte kein sicherer Einfluss auf die Erkrankungsentstehung nachgewiesen werden. Jedoch scheint das Geschlecht auf die

Schwere der Symptome und den Krankheitsverlauf zu wirken (Merikangas und Almasy 2020). Auch bezüglich des Alters der Eltern bei Konzeption und geographischer Höhe als Risikofaktor besteht keine eindeutige Studienlage (McGrath et al. 2008; Stilo und Murray 2019).

### 1.2.2 Hypothesen der Schizophreniepathogenese

Neben den bereits geschilderten Risikofaktoren gibt es eine Reihe an Erklärungsansätzen bezüglich möglicher Entstehungsmechanismen der Schizophrenie.

Im Verlauf der letzten Jahrzehnte konnte eine Anzahl an Abweichungen in Hirnstrukturen schizophrener PatientInnen herausgearbeitet werden (Keshavan et al. 2008; Keshavan et al. 2020a). Im Bereich der Temporallappen, insbesondere im Hippocampus, der Amygdala und dem Gyrus temporalis superior konnte eine Gewebsreduktion gefunden werden (Schmitt et al. 2015).

Weiteren Einfluss auf die Krankheitsentstehung könnte laut DeLisi et al. (1994) insbesondere während der neuronalen Entwicklung eine reduzierte Asymmetrie der Hirnstrukturen nehmen. Der Gyrus temporalis superior, insbesondere das Planum temporale mit inkludiertem Henschl'schem Gyrus, zeigte eine deutliche Volumenverringering im linken Kortex und eine korrelierende relative Volumenvergrößerung der selbigen Bereiche auf der rechten Hemisphäre bei schizophrenen PatientInnen (Chance et al. 2008). Andere, in gleicher Hinsicht auffällige Areale stellten der präfrontale Kortex, der Thalamus, der anteriore Gyrus cinguli und das Corpus callosum dar (Keshavan et al. 2008). Zudem scheint auch eine generalisierte Volumenverringering des Kortex mit der stärksten Ausprägung an den Frontal- und Temporallappen sowie eine Erweiterung der Seitenventrikel gehäuft bei Schizophreniekranken beobachtbar. Strukturelle Veränderungen im Gehirn wirken sich auf die Funktionalität der jeweiligen Areale aus (Keshavan et al. 2020a). Eine Reduktion des Volumens des medialen Temporallappens ist mit einer Einschränkung der Gedächtnisleistung, eine Substanzminderung im Gyrus temporalis superior mit einer verstärkten Positivsymptomatik assoziiert. Zudem scheint eine generalisierte intrakranielle Volumenverringering, insbesondere des Hippocampus bereits zu Krankheitsbeginn vorhanden zu sein, bei *early-onset* PatientInnen in stärkerer Ausprägung (Keshavan et al. 2008).

Diese neuronalen Alterationen wurden von der sogenannten *Neurodevelopmental Hypothesis* (NDH) aufgegriffen und auf neuronale Störungen in der prä-, peri- oder postnatalen Entwicklung zurückgeführt (McGrath et al. 2003; Schmitt et al. 2022). Es wurde davon ausgegangen, dass eine Interaktion zwischen Umwelteinflüssen und genetischen Faktoren in kritischen Entwicklungsphasen das Gehirn beeinflusst und sich in der psychischen Gesundheit im Erwachsenenalter zeigt (Schmitt et al. 2022). Zu den ökologischen Wirkungsfaktoren wurden insbesondere eine Winter- bzw. Frühlingsgeburt, damit einhergehend eine D-Hypovitaminose, die Geburt in einer urbanen Region, pränatale Infektionen und Geburtskomplikationen gezählt (McGrath et al. 2003; Tandon et al. 2008).

## Einleitung

In der wissenschaftlichen Entwicklung wurde die Interpretation der *Neurodevelopmental Hypothesis* verändert. So wurde nun davon ausgegangen, dass die genannten neuronalen Veränderungen und Umwelteinflüsse nur den ersten *Hit* (ein *Hit* bezeichnet ein prägendes Lebensereignis, zurückzuführen auf beispielsweise Umwelteinflüsse, neurodegenerative Prozesse oder Drogenkonsum) ausmachten und es zwei bis drei zeitlich getrennte *Hits* benötige, um die Erkrankung auszulösen (McGrath et al. 2003; Schmitt et al. 2022).

Die *Neurodevelopmental Hypothesis* unterlag die letzten Jahre noch einer weiteren Wandlung. Unter Einbeziehung der Bedeutung von Dopamin als gemeinsam zugrundeliegender, zu Psychosen führender Signalweg entstand das *Developmental Risk Factor Model*. Dieses Modell diene als struktureller Rahmen, in welchen ökologische, genetische, neuronale und soziale Einflussfaktoren als Stressoren einfließen, eine verstärkte Dopamin-Dysregulation auslösen und psychotische Symptome kreieren, was wiederum mehr Stress und eine vermehrte Dopaminausschüttung nach sich zieht und der Kreis sich somit wieder schließt (Murray et al. 2017).

Seit den 1970er Jahren war die sogenannte Dopaminhypothese als Erklärungsansatz der Schizophrenie relevant. Zunächst wurde der Blickpunkt auf einen erhöhten Dopaminspiegel, bzw. verstärkte Neurotransmitterausschüttung als mögliche Ursache gelegt. Doch bald wurde die grundlegende Hypothese revidiert. Nun stand ein erniedrigter Spiegel im frontalen Kortex und ein erhöhtes Dopaminlevel im Striatum im Fokus (Lau et al. 2013). So wurde die Positivsymptomatik der Schizophrenie hyperaktiven mesolimbischen Projektionen, welche im Striatum zu einer D2-Rezeptorhyperstimulation führen, zugeschrieben. Die Negativsymptomatik und kognitive Einschränkungen hingegen galten als basierend auf verringerten mesokortikalen Projektionen, welche D1-Rezeptorhypostimulationen im präfrontalen Kortex nach sich ziehen (Davis et al. 1991).

Zudem scheint die Zuschreibung von Salienz in der akuten Psychose durch eine verstärkte Dopaminausschüttung gestört zu sein. So kreiert überschüssiges Dopamin im Rahmen der Psychose abnorme Salienzen anstatt diese zu regulieren (Lau et al. 2013).

Auch verschiedene mit Schizophrenie assoziierte Gene, beispielsweise COMT und DRD2, konnten einen Bezug zum dopaminergen System herstellen (Giegling et al. 2017). Inzwischen geht man allerdings ursächlich von einem Zusammenspiel genetischer und Umweltfaktoren mit mehreren Neurotransmittern aus, deren gemeinsame Endstrecke im dopaminergen System liegt (Lau et al. 2013).

Einer dieser Neurotransmitter ist Glutamat. Während die Positivsymptomatik der Schizophrenie durch die Dopaminhypothese erklärt werden kann, lassen sich die Negativsymptomatik und kognitive Einschränkungen, die insbesondere auch das Outcome beeinflussen, besser mithilfe der sogenannten Glutamathypothese begründen (Howes et al. 2015; Uno und Coyle 2019).

Glutamat ist einer der primären exzitatorischen Neurotransmitter des menschlichen Gehirns und eine Beteiligung des glutaminergen Systems wird seit vielen Jahren in Betracht gezogen (Moghaddam und Javitt 2012). Der Zusammenhang zwischen Glutamat und Schizophrenie



wurde mithilfe der Anästhetika Phencyclidin und Ketamin entdeckt. Beide Medikamente fungieren als nicht-kompetitive Antagonisten des NMDA-Subtyps der Glutamatrezeptoren und lösen Schizophrenie-ähnliche Symptome aus (Uno und Coyle 2019). Ursprünglich führte die Glutamathypothese das Auftreten der Schizophrenie auf einen Mangel an glutamergen Neurotransmittern zurück. Diese Annahme wurde die letzten Jahre jedoch weiterentwickelt und inzwischen steht eine Dysfunktion der NMDA-Rezeptoren im Vordergrund (Howes et al. 2015). Man geht davon aus, dass neuronale, glutaminerge Signalwege in Ungleichgewicht geraten sind und Störungen in der Signalübermittlung der Glutamatrezeptoren, insbesondere des NMDAR und der metabotropen Glutamatrezeptoren (mGluR), auftreten (Poels et al. 2014). Zudem scheinen relevante Kreisläufe in ihrer Funktion eingeschränkt zu sein, wie beispielsweise die fehlende Hemmung der pyramidalen Neuronen oder eine verstärkte (Tandon et al. 2008) Dopaminausschüttung im Striatum (Uno und Coyle 2019).

Auch die NMDA-Rezeptorhypofunktion der GABAergen Interneuronen als Auslöser für die Schizophrenie-typische Symptomatik stehen im wissenschaftlichen Interesse (Nakazawa et al. 2012). Zudem konnte im Hippocampus und im medialen Temporallappen eine Korrelation zwischen erhöhtem Glutamatspiegel und verschlechterter kognitiver Funktion gefunden werden (Poels et al. 2014).

### 1.3 Gene und Schizophrenie

Die Genetik spielt bei der Entstehung von Schizophrenie eine wesentliche Rolle (Ripke et al. 2014). Die Relevanz der familiär-genetischen Komponente konnte unter anderem in Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien dargelegt werden (Rujescu 2019). Es lässt sich schließen, dass, auch wenn bei circa 2/3 der Fälle die Erkrankung spontan auftritt, in etwa 80 % die Krankheitsanfälligkeit auf genetische Faktoren zurückzuführen ist (Schmitt et al. 2022). Eine große Anzahl an vielversprechenden Genen und Genloci (u.a. ANK3, MHC, MIR137, NRG1, DRD1-4, COMT, GRM3) wurde in den vergangenen Jahren untersucht (Tandon et al. 2008; Ripke et al. 2014; Luvsannyam et al. 2022; Trubetsky et al. 2022). Die bisher identifizierten, signifikanten *Copy Number Variants* (CNVs) und *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs) erklären gemeinsam bisher nur etwa 5 % der Heritabilität (Marshall et al. 2017).

Viele assoziierte Variationen (z.B. SNPs, CNVs) stehen in Verdacht das Erkrankungsrisiko zu erhöhen, alle verbunden mit jeweils geringem Einfluss auf die Krankheitsanfälligkeit (Tandon et al. 2008; The Schizophrenia Psychiatric Genome-Wide Association Study (GWAS) Consortium (PGC) 2011; Ripke et al. 2013; Giegling et al. 2017).

Need et al. (2009) konnten die Assoziation zweier CNVs (u.a. APBA2) zu Schizophrenie nachweisen, eine Replikation von zuvor signifikanten SNPs gelang aber nicht. Weitere 8 Loci für signifikante CNVs, unter anderem eine Duplikation im Chromosom Xq28, korrelierten zudem mit der Diagnose (Marshall et al. 2017). In einer genomweiten Assoziationsstudie konnten O'Donovan et al. (2008) beispielsweise auch 3 weitere Gene (ZNF804A, RPGRIP1L, OPCML) signifikant mit der Erkrankungswahrscheinlichkeit assoziieren.

## Einleitung

Von Ripke et al. (2014) wurden 108 neue, mit der Erkrankung assoziierte Genloci herausgearbeitet, von denen 75 % Protein-kodierende Gene darstellen. Darin konnten mit verschiedenen Hypothesen der Schizophrenie zusammenhängende Gene eingeschlossen werden, wie beispielsweise das für den Dopamin-Rezeptor D2 kodierende DRD2 oder das mit glutamergen Neurotransmittern assoziierte GRM3. Auch für Gene, welche für Kalziumkanäle kodieren (CACNA1C, CACNB2, CACNA1I) wurde ein Zusammenhang mit Schizophrenie nachgewiesen (Ripke et al. 2013; Ripke et al. 2014).

Weitere Gene mit einer hohen Signifikanz sind Zinkfingerproteine (ZNF804A), Neurogranin (NRGN) und die Haupthistokompatibilitätskomplex-(MHC)-Region, welche zudem mit einem verringerten Hippocampusvolumen korreliert (Stefansson et al. 2009; The Schizophrenia Psychiatric Genome-Wide Association Study (GWAS) Consortium (PGC) 2011; Schmitt et al. 2015). Außerdem wurden signifikante Assoziationen mit dem immunrelevanten Transkriptionsfaktor 4 (TCF4), dem ANK3-Gen und MIR137, welches bedeutend in der neuronalen Entwicklung ist, herausgearbeitet (The Schizophrenia Psychiatric Genome-Wide Association Study (GWAS) Consortium (PGC) 2011; Schmitt et al. 2015). Zudem konnten von Pardini et al. (2018) in einer weiteren genomweiten Assoziationsstudie 145 signifikante, davon 50 neue Genloci, gefunden werden. Es wurden sechs weitere mit Schizophrenie assoziierte Gen-Kandidaten erkannt, unter anderem SLC39A8, ein Gen, welches für Mangan- und Zinktransporter kodiert und mit schweren neuronalen Entwicklungsstörungen assoziiert ist (Pardini et al. 2018). Die Suche nach Genloci, die die Krankheitsanfälligkeit beeinflussen, schreitet stetig voran: So wurde aktuell eine Korrelation zwischen eben dieser und der verstärkten Genexpression im dorsolateralen präfrontalen Kortex von 56 Genen, darunter 12 bisher unbekannte Assoziationen (unter anderem zu GABRA2, welches an der GABA-Rezeptor-Bildung beteiligt ist) gefunden (Hall et al. 2020). Zuletzt konnten Trubetsky et al. (2022) Assoziationen mit 287 Genloci nachweisen.

In den letzten Jahren wurde ferner die Verbindung zwischen Medikamentenwirksamkeit bzw. Behandlungsmöglichkeiten und genetischen Variationen vermehrt untersucht. Eine genomweite Assoziationsstudie suchte nach Schizophrenie-Kandidatengen, in deren Signalwege als potentieller Medikamentenangriffspunkt eingegriffen werden könnte (Chellappa et al. 2019). Etliche, die mit Schizophrenie assoziierten Gene spielen auch bei anderen psychischen Erkrankungen eine Rolle, was zum einen auf eine ausgeprägte Heterogenität innerhalb der jeweiligen Erkrankung und zum anderen auf eine starke Überlappung der genetischen Grundlagen zurückzuführen sein könnte (Bipolar Disorder and Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium 2018; Wu et al. 2019; Keshavan et al. 2020b).

Obwohl die Bedeutung genetischer Variationen in der Krankheitsanfälligkeit auf insgesamt circa 80 % geschätzt wird, wird dennoch angenommen, dass dies Ausdruck einer großen Ansammlung verschiedener genetischer Variationen mit jeweils kleiner Effektstärke ist (O'Donovan et al. 2008; Ripke et al. 2013).

## 1.4 Neureguline und ihre Funktionen

Neureguline (NRGs) sind Gene, welche für die gleichnamigen Proteine kodieren (Falls 2003; Mei und Nave 2014). Diese Proteine sind Wachstumsfaktoren, spezifischer *epidermal growth factor* (EGF)-like Proteine, von welchen man laut Mei und Nave (2014) annimmt, dass sie eine wichtige Rolle in der neuronalen Entwicklung und dem Gleichgewichtserhalt in der Gehirnaktivität spielen. Neureguline konnten in Strukturen des Zentralen Nervensystems bei Säugetieren nachgewiesen werden (Stefansson et al. 2002; Carteron et al. 2006; Paramo et al. 2018). Die Bindung der Proteine an die jeweiligen Rezeptoren (ErbBs) aktiviert intrazelluläre Signalwege, welche zu Stimulation oder Hemmung von Zellteilung, Apoptose, Zellausdifferenzierung sowie Zellmigration führen (Falls 2003).

Neureguline sind Signalproteine, welche Zell-Zell-Interaktionen in verschiedenen Organen, zum Beispiel im Nervensystem und Brustgewebe vermitteln (Falls 2003; Savcı et al. 2021). Des Weiteren spielen die NRGs eine wichtige Rolle bei der Kontrolle von Wachstum und Differenzierung von Gliazellen, Epithel- und Muskelzellen (Zhang et al. 1997; Savcı et al. 2021). Jedes Neuregulin-Gen führt zu mehreren verschiedenen Isoformen des jeweiligen Proteins. So bildet NRG1 beispielsweise mehr als 30 verschiedene, NRG3 mehr als 15 verschiedene Formen aus (Mei und Nave 2014). NRG1-Isoformen treten in vielen verschiedenen Gewebearten auf und wurden bereits im Gehirn, im Herzen, in Skelettmuskulatur, in Brustgewebe, in der Leber und der Lunge nachgewiesen (Zhang et al. 1997). Sie spielen zudem eine bedeutende Rolle in der Signalregulierung von NMDA-Rezeptoren im Gehirn (Savcı et al. 2021).

### 1.4.1 Neuregulin 3

Neuregulin 3 (NRG3) ist auf Chromosom 10q22-23 lokalisiert (Kao et al. 2010).

Laut Zhang et al. (1997) ist das Vorkommen von einigen Neuregulin 3-Isoformen sowohl während der Entwicklung, als auch im Erwachsenenalter auf das Nervensystem beschränkt und scheint spezifisch für neuronales Gewebe zu sein. Laut Paterson et al. (2017) werden Isoformen des NRG3 während aller Entwicklungsstufen im präfrontalen Kortex exprimiert. Auf die jeweiligen Expressionslevel können genetische und strukturelle Variationen Einfluss nehmen, was NRG3 als zentralen Faktor in der kortikalen Entwicklung impliziert (Paterson et al. 2017). In der neonatalen Phase und in der frühen Kindheit steht die Expression der Klasse I und IV Isoformen, in der fetalen Entwicklung hingegen insbesondere der Klasse II im Vordergrund. Klasse IV trat jedoch im höheren Erwachsenenalter wieder vermehrt auf. Die Isoformen der Klasse III waren demgegenüber unabhängig von den Entwicklungsstufen über die gesamte Lebenszeit kontinuierlich nachweisbar (Paterson et al. 2017).

NRG3 ist dennoch auch in extraneuronalen Gewebearten zu finden, wo es beispielsweise an der Entwicklung der Brustdrüse und karzinogenen Vorgängen beteiligt ist (Carteron et al. 2006; Howard 2008). Das Vorkommen von NRG3 konnte in Hoden, Plazenta, Herz, Nieren, Leber, Lunge, Skelettmuskeln und in Fibroblasten nachgewiesen werden (Paterson et al. 2017).

## Einleitung

Laut Carteron et al. (2006) wird davon ausgegangen, dass 60 % der menschlichen Gene alternativem Spleißen unterliegen. Dies lässt darauf schließen, dass auch das NRG3-Gen (wie andere NRGs) posttranskriptionellen Veränderungen unterworfen wird und so eine vielfältige Gruppe an gespleißten NRG3-Formen resultiert (Carteron et al. 2006; Zeledón et al. 2015). Insbesondere im menschlichen Neokortex unterliegt NRG3 differenzierten Spleiß-Vorgängen (Paterson et al. 2017). In einer Studie von Zeledón et al. (2015) konnte die Wirkung von in Introns gelegenen SNPs im NRG3 auf die Ausprägung von Wahn aufgezeigt werden. Die Wirkung von nicht codierenden Arealen kann zum einen durch alternatives Spleißen und so die Entstehung von unterschiedlichen Isoformen sowie zum anderen durch die direkte Einflussnahme auf die Genexpression durch Prozessivitätserhöhung oder die Bildung von alternativen Promotern zustande kommen (Barrett et al. 2012; Zeledón et al. 2015). So ist beispielsweise eine der Isoformen, hFBNRG3 (*human fetal brain NRG3*), spezifisch für das fötale Gehirn während dessen Entwicklung (Carteron et al. 2006). Laut Kao et al. (2010) spielt NRG3 speziell eine Rolle bei der embryonalen Entwicklung vom Kortex, indem es regulierend auf die kortikale Zellmigration und Strukturierung wirkt. Generell geht man davon aus, dass verschiedene Isoformen des NRG3 während der Entwicklung des zentralen Nervensystems relevant und so unter anderem am Erhalt von Oligodendrozyten beteiligt sind (Carteron et al. 2006). Da laut Huckins et al. (2019) der Erkrankungsstatus Einfluss auf die Genexpression ausüben kann, ist eine Analyse der genetisch regulierten Genexpression bedeutend, um die Wirkrichtung zwischen Erkrankung und Genetik zu untersuchen. Es ist demnach umso wichtiger die dezenten Veränderungen in der Genexpression während der Krankheitsentstehung zu ermitteln (Huckins et al. 2019).

Variationen im NRG3-Gen wurden mit einer Reihe von neurologischen Entwicklungsstörungen, neurokognitiven und neurologisch-psychiatrischen Störungen sowie mit Verhaltensauffälligkeiten in Verbindung gebracht, wie zum Beispiel Hyperaktivität, Autismus, Auftreten von Wahn und kognitiven Einschränkungen (Balciuniene et al. 2007; Meier et al. 2013; Paterson und Law 2014).

Studien zufolge spielt NRG3 bzw. dessen Signalweg über ErbB4 auch eine Rolle bezüglich Nikotinabhängigkeit. So konnte eine signifikante Verbindung zwischen der NRG3-Ausschüttung und der während des Nikotinentzuges auftretenden Angst und Anspannung hergestellt werden (Turner et al. 2014). Außerdem konnte eine signifikante Assoziation des NRG3-Gens (SNP rs6584471) mit Morbus Hirschsprung, einer angeborenen neuronalen Erkrankung des Kolons, entstehend durch Aganglionose des Plexus myentericus, dargelegt werden (Wang et al. 2016). Zudem wurde NRG3 (SNP rs1649942) mit einer verringerten Überlebenszeit bei Patientinnen mit Ovarialkarzinom assoziiert (DeLisi et al. 1994; Pinto et al. 2019). Laut Volpi et al. (2009) besteht ein Zusammenhang zwischen NRG3 (SNP rs4933824) und einer Verlängerung der QT-Zeit im EKG bei schizophrenen PatientInnen unter Iloperidon Therapie. Auch bezogen auf die Anfälligkeit für Tuberkulose wurde eine Assoziation mit NRG3 (SNP rs2224109) impliziert (Daya et al. 2014). Ferner wurde ein Erkranken an Morbus Alzheimer mit mehreren Variationen in dem Gen (u.a. SNP rs561623) verknüpft (Wang et al. 2014). Zusätzlich konnten Lee et al. (2016) eine Verbindung zwischen Polymorphismen im NRG3-Gen und Adipositas bei koreanischen Frauen finden.

#### **1.4.1.1 NRG3 – Signaltransduktion und ErbB4**

Die Signalvermittlung des NRG-Proteins erfolgt über die Bindung an die extrazelluläre Domäne einer Rezeptor-Tyrosin-Kinase aus der ErbB-Gruppe (Falls 2003). Zhang et al. (1997) beschreiben eine Homologie in der Aminosäurezusammensetzung des deutlich besser untersuchten NRG1 und NRG3, was auf eine enge Verwandtschaft der Neureguline schließen lässt. Die EGF-like Domäne des NRG3-Proteins stimmt zu 31 % mit der EGF-like Domäne des NRG1 überein. Im Gegensatz zum NRG1 enthält NRG3 mehrere mögliche extrazelluläre Bereiche zur O-linked, jedoch keine zu N-linked Glykolysierung und die intrazelluläre Domäne des Proteins enthält sieben Tyrosine (Zhang et al. 1997). Außerdem wurde eine Region unpolarer, ungeladener Aminosäuren am NRG3-Protein entdeckt. Es wird vermutet, dass diese Region als interne Signalsequenz verwendet wird, um die Translokation über die Membran des endoplasmatischen Retikulums zu vermitteln (Zhang et al. 1997).

Laut Zhang et al. (1997) bindet die EGF-like Domäne des NRG3 an den Rezeptor ErbB4 und bewirkt so eine Phosphorylierung des Rezeptors. Im Gegensatz zu NRG1 scheint NRG3 spezifisch für den ErbB4-Rezeptor zu sein, so dass die EGF-like Domäne des NRG3 mit den anderen Neuregulinen um die Bindung mit ErbB4 konkurriert. Dies deutet auf eine teilweise Überschneidung ihrer Bindungsstellen hin (Zhang et al. 1997; Benzel et al. 2007).

Generell ist der NRG-ErbB Signalweg äußerst ungewöhnlich, da eine kleine Gruppe an Liganden (NRGs) und Rezeptor-Genen (ErbBs) ein enorm komplexes Netzwerk an Signalproteinen mit mehreren Expressionsdomänen und vielen unterschiedlichen Funktionen bildet (Mei und Nave 2014). Die Rezeptor-Tyrosinkinase ErbB4 ist mit zahlreichen neuronalen Störungen in Verbindung gebracht worden und scheint auch ein wichtiges Ziel für fehlerhafte Signalübertragung von NRGs zu sein (Mei und Nave 2014). Laut Müller et al. (2018) sind NRG3 und ErbB4 beide prä- und postsynaptisch in exzitatorischen Parvalbumin-positiven Interneuronen lokalisiert und NRG3 nimmt dabei die Rolle eines funktionell dominanten Interaktionspartners ein.

Jedoch ist wenig darüber bekannt wie SNPs die Expression von NRGs und ErbBs in, an Schizophrenie erkrankten Personen verändern. ErbB4 wird im Kortex spezifisch in Interneuronen exprimiert und eine Verbindung von fehlerhaften Interneuronen mit kognitiven Defiziten bei schizophrenen PatientInnen wurde bereits vermutet (Mei und Nave 2014). Des Weiteren diskutierten Mei und Nave (2014) eine Assoziation von ErbB4-mRNA sowie im Gen liegenden SNPs mit Interneuronen-Defiziten. In einer aktuellen Studie konnte zudem gezeigt werden, dass eine Ablation von NRG3 sowohl in einer reduzierten Anzahl exzitatorischer Synapsen an Parvalbumin-positiven Interneuronen, in einer veränderten Kurzzeitplastizität, als auch in einer Enthemmung des hippocampalen Netzwerks resultiert (Müller et al. 2018). Die NRG3-ErbB4 Interaktion scheint für die Funktion exzitatorischer Synapsen an Interneuronen und für deren Entwicklung von gravierender Bedeutung zu sein (Müller et al. 2018). In einer Studie von Bartolini et al. (2017) wurde eine Beteiligung von NRG3 an der Regulation der Interneuronenmigration in die kortikale Platte der Großhirnrinde aufgezeigt.

#### **1.4.1.2 NRG3 und Schizophrenie**

Isoformen und Variationen im Neuregulin 3-Gen konnten bisher mit einer Bandbreite von neuronalen Entwicklungsstörungen, wie Entwicklungsverzögerungen, kognitiven Einschränkungen und nicht zuletzt mit Schizophrenie in Verbindung gebracht werden (Benzel et al. 2007; Blair et al. 2016). Bereits einige Gene der NRG-Familie, insbesondere NRG1, wurden mit einer genetischen Prädisposition für Schizophrenie assoziiert (Benzel et al. 2007; Kao et al. 2010). Ein konkreter Zusammenhang zwischen Schizophrenie und dem NRG3-Gen wurde erstmals erfasst als die Erkrankung bei Ashkenazi Juden/Jüdinnen (Fallin et al. 2003) und Han ChinesInnen mit dem Chromosom 10q22-q23 assoziiert werden konnte (Wang et al. 2008). Auch Erkenntnisse von Balciuniene et al. (2007) trugen zum Diskurs bei, welche durch Deletionen und Veränderungen im genannten Chromosom hervorgerufene kognitive und verhaltensauffällige Abweichungen aufzeigten. Obwohl nach wie vor nicht genau bekannt ist, welche explizite Rolle das NRG3-Gen in Bezug auf Schizophrenie einnimmt, wurde eine Assoziation zwischen dem Gen und der Erkrankung inzwischen wiederholt aufgezeigt (Kao et al. 2010; Morar et al. 2011; Tost et al. 2014). Auch wenn die Verknüpfung von NRG3 und Aufmerksamkeitsdefiziten sowie mit dem Ausmaß von Wahn hauptsächlich mit Schizophrenie in Verbindung gebracht wurde, so konnte dennoch nachgewiesen werden, dass diese Defizite nicht krankheitsspezifisch auftreten (Meier et al. 2013). Meier et al. (2013) konnten vergleichbare Assoziationen bei bipolaren PatientInnen nachweisen und deuten auf die Möglichkeit eines gemeinsamen biologischen Signalweges als Hintergrund hin. Zudem konnte ein Einfluss von NRG3 auf die präfrontale Kortexphysiologie während der Aktivierung des Arbeitsgedächtnisses dargelegt werden (Tost et al. 2014).

Kao et al. (2010) kommen in ihrer Studie zu der Schlussfolgerung, dass einer der Mechanismen, der Schizophrenie mit NRG3 verbindet, die transkriptionelle Regulation in der Genexpression sein könnte und diese durch gewebespezifische oder Isoform-abhängige Art und Weise die Wirksamkeit der Signalübertragung beeinflusst. Dies deutet darauf hin, dass eine pathophysiologische Abweichung im Gleichgewicht der Isoformen des NRG3 zu einer Instabilität in der Signalweiterleitung führt, was durch die Rolle des Gens bei diesen Vorgängen schwerwiegende Folgen auf die neuronale Entwicklung und Plastizität haben kann. Dies legt eine Verbindung zwischen den angesprochenen Signalwegen und der Anfälligkeit für Schizophrenie nahe (Kao et al. 2010). Weitere Hinweise auf eine Beteiligung dieses Zusammenhangs konnte von Greenwood et al. (2019) aufgezeigt werden, welche eine signifikante Assoziation von kognitiver Flexibilität und Abstraktion mit einem nahe des NRG3-Gens lokalisierten Bereich auf dem Chromosom 10q23 darlegten.

Die Relevanz des NRG3-Gens für neuropsychiatrische Störungen bzw. für die normale Gehirnentwicklung und -funktion, wurde durch eine Studie an neugeborenen Mäusen untersucht, durch welche belegt werden konnte, dass eine erhöhte Exposition an NRG3 in einem frühen postnatalen Zeitraum zu Veränderungen im angstbezogenen und sozialen Verhalten führt (Paterson und Law 2014). Auch beobachteten Loos et al. (2014) bei erhöhter NRG3-Exposition im medialen präfrontalen Kortex bei Mäusen eine verstärkte Impulsivität bei den Tieren. Der

Zusammenhang zwischen dem Gen und mit Schizophrenie assoziierten Phänotypen konnte auch in einer Studie von Hayes et al. (2016) mit NRG3 *knock-out* Mäusen dargelegt werden. Die homozygoten Tiere zeigten unter anderem eine gestörte Präpulsinhibition im Rahmen der akustischen Schreckreaktion und fehlerhafte Angstkonditionierung. Dies deutet darauf hin, dass ein Mangel an NRG3 zu Veränderungen führt, welche mit Symptomen der Schizophrenie kongruent sind, jedoch den Ergebnissen von Paterson und Law (2014) gegenüberstehen (Hayes et al. 2016).

In einer Studie von Rahman et al. (2019) an Ratten konnten Nachweise für eine im ZNS weit verbreitete Expression des NRG3, insbesondere im Vergleich zu anderen Neuregulinen, gefunden werden. Außergewöhnlich hohe Level an NRG3 wurden im Kortex erwachsener Ratten, im Hippokampus, Thalamus, Zerebellum und Hirnstamm gefunden. Dies weist darauf hin, dass NRG3 nicht nur während der Entwicklung, sondern auch im späteren Verlauf eine Rolle im reifen Gehirn spielt (Rahman et al. 2019).

### 1.5 SNPs und ihre Bedeutung

SNPs oder *Single Nucleotide Polymorphisms* sind häufige genetische Variationen. Die jeweilige Veränderung eines einzelnen SNPs ist auf ein einzelnes Nukleotid beschränkt. Dieses Nukleotid ist dabei jeweils durch ein anderes ausgetauscht. Ein solcher Polymorphismus kommt durchschnittlich einmal in 1000 Nukleotiden vor und somit existieren circa 4-5 Millionen SNPs in dem Genom einer einzelnen Person. SNPs haben an sich keinen Krankheitswert und befinden sich meist in der DNA zwischen den Genen. Seltener kommen sie auch in einer genregulierenden Region oder im Gen selbst vor, wo sie direkten Einfluss auf Krankheitsentstehungen haben können (Cichon et al. 2002; Wong et al. 2021).

Die meisten SNPs haben jedoch keinen direkten Einfluss auf die Krankheitsentstehung. Dennoch können die Polymorphismen die Gesundheit einer Person wesentlich beeinflussen. Sie wirken auf die Prädisposition für bestimmte Erkrankungen, die Reaktion auf bestimmte Toxine und Umwelteinflüsse ein (Wong et al. 2021).

SNPs können zudem dazu genutzt werden bestimmte krankheitsspezifische Gene innerhalb einer Familie zu verfolgen oder so als biologische Marker für bestimmte Erkrankungen verwendet werden (Wong et al. 2021)

#### 1.5.1 SNPs im NRG3 und ihre Relevanz

Es wurde bereits eine Vielzahl an Polymorphismen auf ihre Assoziation mit einer erhöhten Disposition bezüglich Schizophrenie untersucht sowie auf ihre Verbindung zu einzelnen Aspekten der Erkrankung. So konnte ein SNP im NRG3 (rs658440) bei einer deutschen PatientInnengruppe signifikant mit Aufmerksamkeitsdefiziten bei schizophrenen PatientInnen in Verbindung gebracht werden (Meier et al. 2013). Auch Kao et al. (2010) konnten eine Korrelation des Polymorphismus zur Erkrankungsanfälligkeit erarbeiten. Gleiches gilt für die Studie von Morar et al. (2011), welche außerdem eine Korrelation zwischen den SNPs rs658440 und

## Einleitung

rs10883866 und der kognitiven Leistung bei PatientInnen aufzeigen konnte. Dieselben SNPs, beziehungsweise insgesamt drei Polymorphismen im Intron 1 des NRG3-Gens (rs658440, rs10883866, rs10748842) wurden zudem mit dem Auftreten bzw. dem Schweregrad von Wahnvorstellungen assoziiert (Chen et al. 2009; Kao et al. 2010; Morar et al. 2011).

Auch der SNP rs10748842 zeigte sich bei einer Studie mit kaukasischen TeilnehmerInnen mit einer erhöhten Erkrankungsdisposition verknüpft, wobei er hierbei auch mit Positiv- (auch rs6584400) und Negativsymptomatik assoziiert war (Kao et al. 2010). Außerdem fiel eine Assoziation mit einer veränderten präfrontalen Kortexphysiologie während der Aktivität des Arbeitsgedächtnisses auf (Kao et al. 2010; Tost et al. 2014). In einer Studie von Zhou et al. (2020) an chinesischen Personen konnte derselbe Polymorphismus mit erniedrigten Testwerten im Bereich Aufmerksamkeit sowie mit einer Korrelation von geringen Testwerten im Bereich Sprache mit einem erhöhten BMI bei schizophrenen PatientInnen in Verbindung gebracht werden. Der SNP rs6584471 konnte signifikant mit Morbus Hirschsprung assoziiert werden (Wang et al. 2016).

Auch wurde rs10748842 in einer weiteren Studie an schizophrenen ChinesInnen mit kognitiven Defiziten, insbesondere im Bereich Aufmerksamkeit, assoziiert, jedoch konnte keine signifikante Korrelation zwischen dem SNP und der Krankheitsanfälligkeit generell gefunden werden (Li et al. 2020).

In unterschiedlichen Populationen wurden weitere Assoziationen zwischen verschiedenen Polymorphismen und einer erhöhten Krankheitsdisposition erarbeitet. So stellten Fallin et al. (2005) in einer Studie an Ashkenazi jüdischen ProbandInnen eine Verbindung mit dem SNP rs1080293, Wang et al. (2008) mit rs1937970 und rs677221 an Han chinesischen StudienteilnehmerInnen dar. Zudem präsentierten Kao et al. (2010) in ihrer Untersuchung an kaukasischen NordamerikanerInnen eine signifikante Korrelation zur Krankheitsanfälligkeit unter anderen der SNPs rs1336286, rs1336291 und rs2992776. Für eben diese Polymorphismen konnte in einer Studie an Han chinesischen Schizophrenie-PatientInnen keine Assoziation gefunden werden (Zhang et al. 2013). Der Polymorphismus rs2295933 hingegen zeigte sich in unterschiedlichen Populationen als nicht erfolversprechend und es wurde weder in einer chinesischen, koreanischen noch europäisch-kaukasischen Population eine signifikante Verknüpfung gefunden (Wang et al. 2008; Sujin Shin et al. 2012).

Die Evidenzlage bezüglich der Assoziation verschiedener SNPs im NRG3-Gen mit Schizophrenie ist nicht durchgehend schlüssig (Avramopoulos 2018). So können genetische Variationen im NRG3-Gen spezifische Auswirkungen auf verschiedene Krankheitsaspekte haben und müssen nicht gezwungenermaßen auch mit der Erkrankungsanfälligkeit per se verknüpft sein (Avramopoulos 2018).

### **1.6 Das Konzept der Endophänotypen**

Endophänotypen, auch als intermediäre Phänotypen bezeichnet, sind ein seit Anfang des Jahrtausends wieder aufgekommenes Konzept, um die Ursachen von psychischen Erkrankungen



## Einleitung

besser untersuchen zu können (Gottesman und Gould 2003; Zobel und Maier 2004). Der Begriff Endophänotypen stammte ursprünglich aus der Biologie und wurde für die psychiatrische Genetik adaptiert (Quednow und Pintsov 2012).

Sowohl die klassische Bezeichnung des Phänotyps als auch der Begriff Endophänotyp werden als Ausprägungen bzw. Endprodukte von Genen verstanden (Zobel und Maier 2004). Jedoch werden laut Zobel und Maier (2004) Phänotypen als sichtbare Verhaltensweisen oder gestellte Diagnosen verstanden, während die Endophänotypen zugrundeliegende neurobiologische, neurokognitive oder -physiologische Veränderungen darstellen (Zobel und Maier 2004; Iacono 2018). Die Identifizierung von diesen Endophänotypen könnte viele ungeklärte Aspekte der Ätiologie zahlreicher Erkrankungen beleuchten und möglicherweise dazu beitragen fehlerhafte Gene zu erkennen und damit ein potentielles Erkrankungsrisiko einzuschätzen (Gottesman und Gould 2003; Luvsannyam et al. 2022).

Ausgehend von der Annahme, dass diese einzelne Aspekte der Pathophysiologie einer Störung darstellen, können validierte Endophänotypen helfen eben jene Verbindung zwischen pathophysiologischen Abläufen und der psychischen Erkrankung zu erkennen (Zobel und Maier 2004).

Um eine einheitliche Einschätzung der Endophänotypen zu gewährleisten, entwickelten Gottesman und Gould (2003) fünf Kriterien, die erfüllt werden müssen, um die Kandidaten als valide Endophänotypen einzustufen zu können:

1. Der Endophänotyp muss mit der Erkrankung in der Bevölkerung assoziiert sein.
2. Der Endophänotyp ist vererbbar.
3. Der Endophänotyp ist in erster Linie unabhängig vom gesundheitlichen Zustand einer Person. Dies bedeutet, der Endophänotyp manifestiert sich in Phasen der aktiven Erkrankung, wie auch in inaktiven Perioden.
4. Innerhalb von Familien ist das Auftreten des Endophänotyps und der Erkrankung voneinander getrennt.
5. Der Endophänotyp tritt stärker bei erkrankten Familienmitgliedern auf, als bei nicht erkrankten Verwandten. Dennoch ist der Endophänotyp bei diesen Familienmitgliedern im Vergleich zur allgemeinen Bevölkerung stärker ausgeprägt.

Das Fehlen einer biologischen Basis für die Klassifikation von psychiatrischen Erkrankungen kann für den bisher mäßigen Erfolg von neurobiologischen und genetischen Studien zu diesen Störungen mitverantwortlich gemacht werden (Gottesman und Gould, 2003). Mithilfe diese Kriterien erfüllender Endophänotypen kann nicht nur die Diagnosestellung und die Klassifikation von Erkrankungen genauer und effektiver gestaltet werden, sondern sie könnten auch enormen Einfluss auf unser Verständnis der zugrundeliegenden neurobiologischen und genetischen Psychopathologie ausüben (Gottesman und Gould, 2003). Ein entscheidender Vorteil dieses Konzeptes bei der Suche nach Suszeptibilitätsgenen psychischer Erkrankungen ist, dass die Endophänotypen, und die dadurch angezeigte Vulnerabilität für die Störung, eben nicht nur bei

betroffenen PatientInnen, sondern auch bei noch nicht oder nie erkrankten vulnerablen Personen auftreten (Zobel und Maier 2004; Braff 2015).

### **1.6.1 Endophänotypen und Schizophrenie**

In der Forschung zu Schizophrenie wird das Konzept der Endophänotypen für den Versuch genutzt, die Kluft zwischen Genotyp und Phänotyp zu schließen (Light et al. 2012; Braff 2015). Eine Endophänotypen-basierte Forschung hat in psychiatrischen Studien großes Potential für die Erkundung der genetischen Grundlagen psychischer Erkrankungen (Gottesman und Gould 2003). So konnte bereits eine Reihe an neurophysiologischen (zum Beispiel Präpulsinhibition, P50-, N100-, P300-Amplitude im EEG) und neurokognitiven Merkmalen (Tests zu Arbeitsgedächtnis, Aufmerksamkeit, etc.) als potentielle Endophänotypen für Schizophrenie herausgearbeitet werden (Allen et al. 2009; Light et al. 2012; Braff 2015). Dennoch muss beachtet werden, dass diese nicht zwangsweise genetische Risikofaktoren für psychische Erkrankungen darstellen. Es kann davon ausgegangen werden, dass Endophänotypen selbst polygenetische Ursachen haben und teilweise auch miteinander korrelieren sowie von Umwelt- als auch von genetischen Risikofaktoren für eine Störung beeinflusst sind (Kendler und Neale 2010; Seidman et al. 2015).

Da Endophänotypen messbare Merkmale sind, die sich im Vergleich zu klassischen Krankheitssymptomen näher an den verantwortlichen Genen zu befinden scheinen, könnten sie dafür genutzt werden die Heterogenität der psychischen Erkrankungen aufzudecken und hierbei Risikogene zu identifizieren (Reilly und Sweeney 2014).

### **1.7 Ereigniskorrelierte Potentiale und die P300-Welle**

Ereigniskorrelierte Potentiale (EKPs) sind niedrige Spannungen, welche in verschiedenen Strukturen des Gehirns als Reaktion auf Stimuli entstehen und mithilfe von Schädelableitungen als Spitzen und Senken im Elektroenzephalogramm (EEG) erkennbar sind (Huang et al. 2015). Diese reaktiven Veränderungen im EEG korrelieren zeitlich mit auftretenden kognitiven, sensorischen oder motorischen Ereignissen und können so Erkenntnisse über mentale Verarbeitungsprozesse liefern (Huang et al. 2015).

Wie bereits von Sutton et al. (1965) beschrieben tritt eine beobachtbare Veränderung der EEG-Welle als Antwort auf einen gesetzten Reiz (akustisch, visuell, etc.) auf, wobei die gravierendste positive Veränderung nach circa 300 ms eintritt. Diese als P300 bezeichnete Komponente der ereigniskorrelierten Potentiale wird anhand ihrer Latenz (ms), definiert als Zeitfenster vom gesetzten Stimulus bis zum Auftreten des maximalen positiven Amplitudenausschlags sowie anhand der Amplitude ( $\mu\text{V}$ ) selbst bewertet. Die Amplitude wird als Veränderung der Prästimulus-Grundspannung definiert, wobei der positive Amplitudenausschlag des EKPs innerhalb eines bestimmten Zeitfensters nach dem Stimulus auftreten muss (abhängig von der Art des Stimulus zwischen 250 ms und 500 ms) (Polich 2007). Der positivste Ausschlag der P300-

## Einleitung

Wellenamplitude wird meist über der zentroparietalen Ableitung gemessen und kann bis zu 15-20  $\mu\text{V}$  betragen (Ullsperger und Cramon 2004).

Es können zwei Typen der P300-Welle unterschieden werden. Zum einen die P3a, welche zwischen 220 ms und 280 ms auftritt und kaum abhängig von der Aufmerksamkeit der ProbandInnen ist, zum anderen die P3b (250-600 ms), welche eine starke Abhängigkeit zur Aufmerksamkeit der untersuchten Person zeigt und nur auftritt, wenn diese sich aktiv auf die Erfassung eines neuen Stimulus konzentriert (El Karoui et al. 2015). Die P3a zeigt ihren maximalen positiven Ausschlag in den zentro-frontalen (Fz) Ableitungen des EEGs, wohingegen die P3b insbesondere in den zentro-parietalen (Pz) Ableitungen erscheint (Ramchurn et al. 2014).

### 1.7.1 Neuronaler Ursprung der P300-Welle

Elektrophysiologisch lässt sich die P300-Welle als während der Informationsverarbeitung gebündelte synchronisierte Entladung von pyramidalen Neuronen im Kortex beschreiben (Huang et al. 2015).

Obwohl der genaue neuronale Ursprung der P300-Welle noch immer nicht endgültig geklärt ist, lassen sich einige wesentlich an ihrer Bildung beteiligten Strukturen, wie Frontal-, Parietal- und Temporallappen, beschreiben (Pogarell et al. 2011). So erläutert Polich (2007), dass der mediale Temporallappen einen Anteil an der P300-Wellengenerierung hat. Die Welle ist am stärksten in den parietalen und inferior-temporalen Arealen zu beobachten, was auf eine Bedeutung in der Kontextualisierung hindeutet (Thaker 2008). Auch ein Einfluss des glutaminergen und insbesondere des dopaminergen Neurotransmittersystems auf die P300-Welle werden diskutiert (Pogarell et al. 2011).

Die Wellenamplitude hängt stark von der Intaktheit des temporal-parietalen Übergangs ab, was auf einen Verschaltungspfad zwischen frontalen und temporal-parietalen Hirnarealen hinzuweisen scheint (Yamaguchi und Knight 1992). Dies spricht für einen Zusammenhang der P300-Welle mit Aufmerksamkeit, kognitiver Verarbeitung und Vorgängen des (Arbeits-) Gedächtnisses (Polich 2007; Rawdon et al. 2013; Huang et al. 2015; Kim et al. 2018).

### 1.7.2 P300-Welle und Schizophrenie

Bereits von O'Donnell et al. (1999) wurde die Bedeutung einer P300-Amplitudenreduktion als mögliches Merkmal schizophrener PatientInnen betont.

Eine reduzierte Amplitude des akustisch evozierten Potentials repräsentiert möglicherweise ein biologisches Merkmal typisch für Schizophreniekranken und scheint relativ unbeeinflusst von aktueller Symptomatik und medikamentöser Therapie zu sein (O'Donnell et al. 1999; Thaker 2008). Eine reduzierte P300-Amplitude könnte unterbrochene neuronale Prozesse darstellen, welchen Bedeutung in der Einschätzung des Stimulus und dem Zuordnen von Vorlagen zugeschrieben werden kann (Rawdon et al. 2013).

## Einleitung

Auch in aktuellen Studien wurde bei akustisch evozierten Potentialen eine P300-Amplitudenreduktion bei schizophrenen Personen gefunden (Hamilton et al. 2018; Kim et al. 2018). Eine P300-Amplitudenminderung über parietalen Ableitungen wird zudem bei psychotischen PatientInnen gemessen (Rawdon et al. 2013).

Es konnte bezüglich der Amplitudenhöhe kein Unterschied zwischen PatientInnen mit und ohne starker kognitiver Funktionseinschränkung gefunden werden, wohl aber zu gesunden Kontrollpersonen. Neurophysiologische Defizite, wie Veränderungen der P300-Amplitude, treten häufig bei Schizophreniekranken weit vor dem Beginn psychotischer Symptome auf. Auch sind diese meist bei nicht erkrankten Verwandten ersten Grades messbar (Thaker 2008). Dies spricht für eine genetische Grundlage dieser und unterstützt die Annahme, dass die Amplitude der P300-Welle potentiell als geeigneter Endophänotyp für die klinische Diagnostik verwendet werden könnte (Thaker 2008; Hamilton et al. 2018). Laut Johannesen et al. (2013) scheint die verringerte Amplitude auch in Verbindung mit der Chronizität der Schizophrenie zu stehen. Eine Studie von Tang et al. (2019) konnte allerdings nach einer vorangehenden Amplitudenreduktion, keine Amplitudendifferenz bei PatientInnen nach Remission und gesunden Kontrollpersonen finden, jedoch zu psychotischen PatientInnen. Eine Studie von Kang et al. (2012) konnte bei drei SNPs im NRG1 keine Unterschiede bezüglich der P300-Amplitude zwischen Kontrollpersonen und PatientInnen aufzeigen, ein Genotyp eines SNPs erwies sich jedoch bei beiden Gruppen als potentiell protektiver Faktor. In einer Studie von Díez et al. (2014), in der ein Polymorphismus im NRG3 (rs10748842) bezüglich des Einflusses auf die P300-Amplitude untersucht wurde, konnte keine signifikante Assoziation eruiert werden.

Ob und wie eine veränderte P300-Amplitude mit dem Auftreten, Verlauf und dem Status der Erkrankung, ob in Remission oder in akuter Psychose, in Zusammenhang steht, bleibt noch endgültig zu klären, jedoch ist eine Assoziation zwischen der Amplitudenreduktion der P300-Welle und Schizophrenie stark impliziert.

## 2 Zielstellung

Schizophrenie ist eine schwerwiegende psychische Erkrankung, welcher eine heterogene, multifaktorielle und polygenetische Genese zugrunde liegt.

Unter anderen wird Neuregulin 3 als mögliches Suszeptibilitätsgen der Schizophrenie diskutiert. NRG3 ist an der neuronalen Embryogenese beteiligt und scheint insbesondere Einfluss auf die kortikale Entwicklung zu nehmen.

Endophänotypen stellen in der Psychiatrie einen Zwischenschritt zwischen Geno- und Phänotyp (Symptom oder sichtbare Verhaltensweise) dar und können somit zur Erforschung der zugrundeliegenden neurophysiologischen Pathologien beitragen. Ein möglicher Endophänotyp ist die P300-Welle im EEG, für welche vielfach eine Verbindung zwischen einer Amplitudenminderung und schizophrenen PatientInnen aufgezeigt werden konnte.

An der Generierung der P300-Welle sind etliche kortikale Areale wie der Frontal- und Parietallappen beteiligt, eben jene Areale deren neuronale Entwicklung durch NRG3 beeinflusst zu sein scheint. So liegt ein Einwirken des Gens auf die P300-Welle nahe.

Ziel dieser Arbeit war es, potentielle Zusammenhänge zwischen 21 Polymorphismen des NRG3-Gens und Veränderungen der P300-Wellenamplitude als Endophänotyp der Schizophrenie zu untersuchen. Dazu wurde in einer Stichprobe 1 aus 116 PatientInnen und 256 Kontrollpersonen eine Einzel-SNP- sowie eine Haplotypanalyse durchgeführt, um die mögliche Assoziation von Allelen und Haplotypen zu Amplitudenveränderungen der P300-Welle zu erfassen.

Um zu prüfen, ob die in Stichprobe 1 signifikant assoziierten Allele der einzelnen SNPs bzw. Haploblöcke zudem mit spezifischen klinischen Symptomen oder Symptomenkomplexen zusammenhängen, wurden diese mithilfe einer zweiten Stichprobe, bestehend aus 112 SchizophreniepatientInnen, auf mögliche Assoziationen mit den klinischen Phänotypen anhand der PANSS-Skala untersucht.

### **3 Methoden und Material**

#### **3.1 Stichprobe und Studiendesign**

Die in dieser Arbeit vorgestellte Studie wurde als genetische Assoziationsstudie durchgeführt. Die dargestellte Untersuchung bezieht sich auf zwei Stichproben. Stichprobe 1 enthielt 372 TeilnehmerInnen, darunter 256 neurologisch und psychisch unauffällige Kontrollpersonen sowie 116 PatientInnen mit einer Schizophrenie und wurde für die Überprüfung eines Zusammenhangs zwischen der Genotypenverteilung von 21 NRG3-SNPs und der P300-Welle im EEG verwendet.

Darüber hinaus wurde an in diesem Zusammenhang signifikant assoziierten Markern der klinische Phänotyp in einer zweiten Stichprobe (Stichprobe 2) von 112 SchizophreniepatientInnen näher betrachtet.

Vor Durchführung der Studie wurde die Zustimmung der Ethikkommissionen der Ludwig-Maximilians-Universität München und der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg eingeholt. Die Untersuchung folgte den ethischen Richtlinien der medizinischen Forschung an Menschen gemäß der Deklaration von Helsinki. Alle StudienteilnehmerInnen wurden über die genaue Durchführung, die Inhalte, die Ziele der Untersuchung sowie mögliche Risiken und die anonyme Verwendung der erhobenen Daten aufgeklärt. Die Aufklärung und das Einverständnis zur Partizipation lagen jeweils schriftlich vor. Die Teilnahme an der Studie basierte auf Freiwilligkeit.

#### **Ein- und Ausschlusskriterien**

Die Ein- und Ausschlusskriterien unterschieden sich zwischen den PatientInnen der Stichproben 1 und 2 sowie den Kontrollen. Gemeinsame Merkmale aller Gruppen waren das Vorliegen einer Einverständniserklärung, Volljährigkeit, kaukasische Ethnizität und die Abwesenheit von (aktiven) Infektionen wie Hepatitis A, C oder HIV zum Schutz des Laborpersonals.

Während für die gesunden Kontrollen sowohl jegliche eigene psychische Auffälligkeit als auch das Vorhandensein derartiger Erkrankungen in der Primärfamilie zum Ausschluss führte, war bei beiden PatientInnengruppen eine Diagnose der Schizophrenie nach DSM-IV Bedingung für die Teilnahme an der Studie.

Da die ProbandInnen der Stichprobe 1 an einer Messung akustisch evozierter Potenziale teilnehmen sollten, war bei diesen eine Hörleistung von >30 dB bei einer Tonhöhe von 1000 Hz eine weitere Voraussetzung zur Studienteilnahme.

#### **3.1.1 Rekrutierung**

##### **3.1.1.1 Gesunde Kontrollen**

Die Rekrutierung der StudienteilnehmerInnen für die neurologisch und psychisch gesunden Kontrollen der Stichprobe 1 erfolgte mittels einer zufälligen Vorauswahl des zuständigen Einwohnermeldeamtes in München. An entsprechende Personen aus den jeweiligen Altersdekaden wurde seitens des Studienzentrums ein Anschreiben geschickt. Dieses

beinhaltete eine Aufklärung über die Ziele der Studie sowie einen Rückantwortbogen, der im Falle einer Interessensbekundung mit der Telefonnummer der jeweiligen Person zurückgesendet werden sollte. Die dadurch entstehende Möglichkeit der Kontaktaufnahme wurde von den MitarbeiterInnen eines Studienteams der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität München für ein Telefonscreening verwendet, welches dazu genutzt wurde, die Ein- bzw. Ausschlusskriterien zur Teilnahme orientierend zu überprüfen. Wurden die nötigen Merkmale erfüllt, wurde auf postalischem Weg ein, die somatische und psychiatrische Krankengeschichte umfassender Anamnesebogen ausgehändigt, welcher zu einem telefonisch vereinbarten, persönlichen Termin zur weiteren Datenerhebung mitgebracht werden sollte. Im Anschluss an das persönliche Treffen erhielt die Kontrollperson einen weiteren Anamnesebogen zur Erfassung biographischer Einzelheiten mit der Bitte diesen zurück an die Klinik zu schicken. Die Anamnese beinhaltete die persönliche somatische und psychiatrische Krankengeschichte sowie Informationen über eventuelle psychiatrisch-neurologische Interventionen (ambulant oder stationär) drei Generationen zurückreichend bis zu den Großeltern der jeweiligen Person, biographische Daten zur genetischen Abstammung, zur Schwangerschaft, Geburt, Schulausbildung und beruflichen Laufbahn, Familienstand und Zufriedenheit in Bezug auf verschiedene Lebensaspekte (Beruf, Freizeit, Kindheit, Familienstand, etc.).

Nach einer körperlichen Untersuchung wurde jeder teilnehmenden Person Blut entnommen, welches zur weiteren Bearbeitung direkt ans Labor weitergeleitet wurde. Folgend wurde ein Strukturiertes Klinisches Interview nach DSM-IV (Houben 1998) durchgeführt, welches sich in zwei Teile untergliederte, SKID I und SKID II (Wittchen et al. 1997). Verwendet wurde hier die Screeningversion des SKID I und die klinische Version des SKID II (Wittchen et al. 1997). Alle Fragen waren auf *lifetime* ausgelegt, was bedeutete, dass sich alle Fragen auf das gesamte bisherige Leben der Person bezogen. Während sich der erste Teil des Interviews auf akute psychiatrische Hauptdiagnosen (wie Schizophrenie) (Achse I) konzentriert, ist der SKID II zur genauen Erfassung von Persönlichkeitsstörungen (Achse II) konzipiert. Sowohl die Achse IV (psychosoziale Stressoren) als auch die Achse V (Funktionsniveau) werden ebenso im Interview erfasst. Zudem wurde der FHAM (*Family History Assessment Modules*) (Rice et al. 1995), ein kurzer Test zur Erfragung von psychischen Erkrankungen bei Familienangehörigen absolviert. Bei über 60-jährigen Kontrollpersonen wurde zusätzlich noch der Mini-Mental-State-Test (*the Mini-Mental State Examination*) durchgeführt (Folstein 1983). Dieser wenige Minuten andauernde Test wird als ein Screening-Verfahren für kognitive Einschränkungen und zur Demenzdiagnostik verwendet.

### **3.1.1.2 SchizophreniepatientInnen**

Die Rekrutierung der PatientInnengruppe der Stichprobe 1 erfolgte direkt über die Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität München. Ehemals stationär behandelte, an Schizophrenie erkrankte Personen wurden telefonisch kontaktiert und über die Studie und deren Ablauf aufgeklärt. Bei Interesse teilzunehmen konnte ein persönlicher Termin entweder direkt im Studienzentrum oder in den umliegenden Bezirkskrankenhäusern zur Datenerhebung und -prüfung vereinbart werden.

Die PatientInnen der Stichprobe 2 wurden während ihres stationären Aufenthalts in der Universitätsklinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychotherapie und Psychosomatik der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg rekrutiert. Wie für die PatientInnen der Stichprobe 1 galten für die TeilnehmerInnen der Stichprobe 2 die dargelegten Ein- und Ausschlusskriterien, wobei hier insbesondere noch die Einwilligungsfähigkeit zu berücksichtigen war.

Bei allen partizipierenden PatientInnen wurde die psychiatrische, somatische und biographische Anamnese im Gespräch erhoben. Wie bei den Kontrollpersonen erfolgte bei den PatientInnen die Durchführung von SKID I und II, allerdings SKID I in der klinischen Version (Wittchen et al. 1997) zur Symptomerfassung und um die Diagnose der Schizophrenie nach dem DSM-IV überprüfen zu können. Andere psychotische Störungen, affektive Störungen mit psychotischen Symptomen sowie psychische Störungen mit organischen Ursachen galten als Ausschlusskriterien, ebenso Alkohol- und Drogenmissbrauch vor Beginn der Erkrankung. Der SKID II wurde in der Kurzform zum Ausschluss von Persönlichkeitsstörungen durchgeführt (Wittchen et al. 1997).

### 3.1.2 Datenerhebung

#### 3.1.2.1 Elektroenzephalogramm (EEG)

Die EEG-Ableitung erfolgte in einem elektrisch abgeschirmten und akustisch gedämpften Raum, angrenzend an das Aufzeichnungsgerät (Neuroscan Synamps), wobei die zu untersuchenden Personen mit geschlossenen Augen auf einem leicht zurückgelehnten Sitz mit Kopfstütze positioniert waren (Mulert et al. 2006).

Die Messungen wurden entsprechend dem *Auditory Oddball Paradigm* durchgeführt.

Dieses wurde mit 80 % Nicht-Ziel-Stimuli (540 Töne, 500Hz) und 20 % Ziel-Stimuli (135 Töne, 1000 Hz) umgesetzt. Die Präsentation der Töne erfolgte über beide Ohren via Kopfhörer, wobei eine randomisierte Reihenfolge verwendet wurde. Die Stimuli wurden mit einem Schalldruckpegel von 80 db für 40 ms mit je 10 ms Anstiegs- und Abfallzeit dargeboten, wobei zwischen den Tönen je ein Intervall von 1,5 s eingehalten wurde. Die ProbandInnen mussten beim Ertönen des Ziel-Stimulus mit Ihrer dominanten Hand eine Taste drücken (Mulert et al. 2006).

Das EEG wurde mithilfe einer Elektrodenkappe (bezogen auf die Position Cz (zentro-zentral)) mit einem Neuroscan-Gerät (Synamps, München) aufgezeichnet. Die Elektroden wurden alle nach dem internationalen 10/20 System ausgerichtet und zusätzlich mit weiteren Elektroden (FC1, FC2, FC5, FC6, CP5, CP6, T1, T2, PO9, PO10, A1, A2; bezogen auf die Position Fpz) bestückt; insgesamt wurden 32 Kanäle aufgezeichnet. Die Impedanz der Elektroden betrug <10 kohms.

Die Datenerhebung lief mit einer Erfassungsfrequenz von 250 Hz und einem analogen Bandpassfilter von 0,16-50 Hz ab. Das ausgewertete Zeitfenster erstreckte sich von 200 ms prä-Stimulus bis 800 ms post-Stimulus. Zur Behebung von Artefakten wurde während der durchschnittlichen Messdauer zu allen inkludierten Zeitpunkten bei allen Ableitungen ein Amplitudenrichtwert von  $\pm 70 \mu\text{V}$  eingesetzt. Nur wellenförmige Verläufe, basierend auf mindestens 50 Messungen, wurden in die Auswertung eingeschlossen (Mulert et al. 2006).



Die akustisch evozierte P300-Amplitude und -Latenz wurde semiautomatisch mithilfe der Brain-Vision Analyzer (BVA) Software (München) erfasst und als der positivste Ausschlag zwischen 250-500 ms nach dem Stimulus definiert. Dabei wurde zudem eine visuelle Kontrolle an den Elektrodenpositionen F3 (links frontal), F4 (rechts frontal), Fz (fronto-zentral), P3 (links parietal), P4 (rechts parietal) sowie Pz (zentro-parietal), je in Bezug zum gemeinsamen Durchschnitt, durchgeführt (Mulert et al. 2006).

### 3.1.2.2 Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS)

Für die Analyse der Psychopathologie wurde die PANSS (*Positive and Negative Syndrome Scale for Schizophrenia*) erhoben (Kay et al. 1987). In dieser wurden durch Fremdbeurteilung die Psychopathologie, insbesondere Positiv- und Negativsymptomatik sowie allgemeine psychopathologische Symptome und deren Schweregrad anhand der abgefragten Interviewinhalte, durch Verhaltensbeobachtungen und eventuell durch fremdanamnestische Angaben eingeschätzt und eingestuft. Insgesamt werden in der PANSS 30 Items abgefragt, je 7 Items im Rahmen der „Positiven Skala“ (Tabelle 1) und „Negativen Skala“ (Tabelle 2) sowie 16 Items zur Erfassung der „Allgemeinen psychopathologischen Skala“ (Tabelle 3).

**Tabelle 1:** Beurteilungskriterien der PANSS- Positive Skala

Positive Skala	<p><b>P1</b> Wahnideen</p> <p><b>P2</b> Formale Denkstörungen</p> <p><b>P3</b> Halluzinationen</p> <p><b>P4</b> Erregung</p> <p><b>P5</b> Größenideen</p> <p><b>P6</b> Misstrauen/ Verfolgungsideen</p> <p><b>P7</b> Feindseligkeit</p>
----------------	---

**Tabelle 2:** Beurteilungskriterien der PANSS- Negative Skala

Negative Skala	<p><b>N1</b> Affektverflachung</p> <p><b>N2</b> Emotionaler Rückzug</p> <p><b>N3</b> Mangelnder affektiver Rapport</p> <p><b>N4</b> Passiver/ apathischer sozialer Rückzug</p> <p><b>N5</b> Schwierigkeiten im abstrakten Denken</p> <p><b>N6</b> Mangel an Spontanität und Flüssigkeit des Gesprächsflusses</p> <p><b>N7</b> Stereotype Gedanken</p>
----------------	---

**Tabelle 3:** Beurteilungskriterien der PANSS- Allgemeine psychopathologische Skala

Allgemeine psychopathologische Skala	<p><b>G1</b> Sorge um körperliche Gesundheit</p> <p><b>G2</b> Angst</p> <p><b>G3</b> Schuldgefühle</p> <p><b>G4</b> Anspannung</p> <p><b>G5</b> Manierismen und unnatürliche Körperhaltung</p> <p><b>G6</b> Depression</p> <p><b>G7</b> Motorische Verlangsamung</p> <p><b>G8</b> Unkooperatives Verhalten</p> <p><b>G9</b> Ungewöhnliche Denkinhalte</p>
--------------------------------------	---

	<p><b>G10</b> Desorientiertheit</p> <p><b>G11</b> Mangelnde Aufmerksamkeit</p> <p><b>G12</b> Mangel an Urteilsfähigkeit und Einsicht</p> <p><b>G13</b> Willensschwäche</p> <p><b>G14</b> Mangelnde Impulskontrolle</p> <p><b>G15</b> Selbstversunkenheit</p> <p><b>G16</b> Aktives soziales Vermeidungsverhalten</p>
--	--

Die Einschätzung der Symptomenausprägung erfolgte durch die interviewende Person anhand von 7 Stufen: 1 = nicht vorhanden; 2 = minimal; 3 = leicht; 4 = mäßig; 5 = mäßig schwer; 6 = schwer; 7 = extrem. Die Gesamtpunktzahl der PANSS reicht hierbei von mindestens 30 Punkten zu maximal 210 Punkten. Die Punktzahlen der einzelnen Skalen werden zusätzlich getrennt berechnet und angegeben: Positive Skala = 7-49 Punkte, Negative Skala = 7-49 Punkte, Allgemeine psychopathologische Skala = 16-112 Punkte.

### 3.2 Labor

Zunächst wurde bei jedem der ProbandInnen eine Blutentnahme mit anschließender DNA-Extraktion durchgeführt, um die für die Genotypisierung benötigte hochreine genomische DNA zu gewinnen. Die Laborarbeiten wurden im Rahmen der Arbeitsgruppe von ausgebildetem Fachpersonal durchgeführt.

#### 3.2.1 DNA-Extraktion

Das von den StudienteilnehmerInnen gewonnene venöse Blut (ca. 7-10 ml) wurde in EDTA-Monovetten (Sarstedt, Nümbrecht) entnommen und im Weiteren zur DNA-Extraktion verwendet. Diese wurde mithilfe des Qiagen DNA Blood Maxi Kits (Qiagen, Hilden) durchgeführt und orientierte sich an dem entsprechenden Durchführungsprotokoll (Qiagen 2005). Zur exakten Adjustierung des EDTA-Blutvolumens auf 10 ml wurde eine Phosphat-gepufferte Salzlösung (1xPBS-Puffer (8 g NaCl, 0,2 g KCl, 1,44 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,24 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, ad 1 l mit Aqua dest., mit NaOH auf pH 7,4), Herstellung, Reagenzien von Carl Roth, Hamburg) verwendet. Diese wurde zur Herstellung der Blut-Puffer-Suspension in 50 ml Zentrifugalröhren (Sarstedt, Nümbrecht) zubereitet.

500 µl der Qiagen Protease und 12 ml eines Guanidinhydrochlorid (GHCl)-haltigen Lysepuffers wurden für die Zellyse hinzugefügt und im Anschluss zur Homogenisierung der Blut-Puffer-Suspensionen 60 s auf einem Vortex Gerät (Vortex Genie, Scientific Industries, New York, USA) geschüttelt. Die Lyse der Zellen fand für 30 min in einem 70 °C heißem Wasserbad (WNB 22, Memmert, Schwabhausen) statt. Anschließend wurden zum Entfernen der Hydrathülle der DNA 10 ml Ethanol (Ethanol Rotipuran (>98 % p.A.), Carl Roth, Karlsruhe) hinzugefügt und das Gemenge 2 min gevortext.

Die Lösung wurde nun graduell auf eine QIAamp Maxi Säule überführt und bei Raumtemperatur mit 3000 rpm (*revolutions per minute*) 3 min lang zentrifugiert (Kühlzentrifuge CF108-GR, VWR

Life Science Competence Center, Erlangen). Dieses Vorgehen war für die selektive Bindung der DNA an die Silikagelmembran notwendig. Um die restliche Protein- und RNA-Kontamination zu entfernen, wurde der erste Waschschrift mit 5 ml Guanidin-HCl-haltigem Waschpuffer durchgeführt und die Lösung anschließend bei 4000 rpm 2 min bei Raumtemperatur zentrifugiert. Für den zweiten Waschschrift wurden 5 ml eines ethanolhaltigen, salzarmen Puffers genutzt, durch welchen die GHCl-Salze ausgewaschen wurden. Als Vorbereitung für die Elution der DNA und zur Trocknung der Silikagelmembran erfolgte eine anschließende 15-minütige Zentrifugation bei 4000 rpm und Raumtemperatur.

Für das vollständige Herauslösen der DNA aus der Silikagelmembran wurde diese im Folgenden zweimal mit insgesamt 1,5 ml TRIS-haltigem Elutionspuffer jeweils 5 min bei Raumtemperatur inkubiert, um anschließend ebenfalls bei Raumtemperatur für 2 min bei 5000 rpm zentrifugiert zu werden und die DNA-Extraktion abzuschließen. Die DNA-Stammlösung wurde in 2 ml umfassenden Micro-Schraubröhren (Sarstedt, Nümbrecht) gelagert.

### 3.2.2 DNA-Konzentrationseinstellung

Um mittels quantitativer Analyse die unbekannte DNA-Konzentration zu ermitteln, wurde eine Standardkurve benutzt, genauer eine 1:2 Verdünnungsreihe eines 100 ng/µl DNA-Standards (Human genomic DNA 100 ng/µl, Clontech, Mountain View, USA). Dieser beinhaltete 8 Punkte mit 100; 50, 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,5625 und 0 ng/µl. Für die Fluoreszenzmessung der DNA wurde der Farbstoff PicoGreen (Quant iT PicoGreen dsDNA reagent, Invitrogen GmbH, Karlsruhe) verwendet, ein Fluorophor, welches selektiv an doppelsträngige DNA bindet (Rengarajan et al. 2002). Die folgende Konzentrationsmessung und Durchführung aller Pipettierschritte erfolgte halbautomatisch durch einen Roboter (Janus Automated Workstation, Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA).

Die zu messenden DNA-Proben wurden in einer 96 *well* Platte (Thermo Fast 96 well Plate, ABgene, Hamburg) mit destilliertem Wasser 1:10 verdünnt. In einer schwarzen 96 *well* Platte mit flachem Boden (96 Well Flat Bottom Plate Black, Greiner Bio-One, Frickenhausen) wurden 50 µl autoklaviertes, destilliertes Wasser pro Vertiefung eingebracht und je 5 µl der verdünnten DNA bzw. Standard-DNA in Duplikaten zugefügt. Nachdem pro *well* 145 µl des 1:156 verdünnten PicoGreen zu den DNA-Proben hinzugegeben wurde, war eine Endverdünnung des PicoGreen-Farbstoffes von 1:200 erreicht.

Für die nun folgende Fluoreszenzmessung transportierte der Greifarm der Janus Automated Workstation die befüllte *well* Platte automatisch in den Victor 3 Multilabel Counter 1420 (Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA). Zur homogenen Durchmischung der Lösung wurde die schwarze 96 *well* Platte 30 s horizontal in Doppellellipsen geschwenkt, um anschließend zur Messung des PicoGreen-Farbstoffes bei 485 nm und zur Emissionsmessung bei 520 nm überzugehen. So erfasste Fluoreszenzwerte konnten vom Victor 3 Multilabel Counter 1420 direkt an einen Rechner gesendet werden, welcher die DNA-Konzentrationen in den Lösungen anhand der Fluoreszenzwerte der Standardkurve errechnete. So konnte die für eine Konzentration von

50 ng/µl erforderliche Menge an DNA und Wasser ermittelt werden. Die notwendige Verdünnung führte der Pipettierroboter automatisch durch.

### 3.2.3 Genotypisierung mittels MALDI-TOF Massenspektrometrie

#### Untersuchte Polymorphismen

Für die Genotypisierung der Stichprobe 1 wurden 21 SNPs im NRG3-Gen anhand folgender Parameter in der angegebenen Reihenfolge ausgewählt (Tabelle 4): Variationen mit aus Publikationen bekannten Zusammenhängen zur Schizophrenie, exonisch kodierende und nicht kodierende Varianten, Index-Varianten mit möglichst großen abgedeckten LD-Bereichen, ggf. weitere Varianten zur Schließung physikalisch großer Abstände zwischen den SNPs. Ausgeschlossen wurden SNPs mit einer MAF (Minore Allelfrequenz) kleiner 5 % in der europäischen Kontrollpopulation des CEPH (*Centre d'Etude du Polymorphisme Humain*) sowie technisch mit der Genotypisierungsmethode nicht kompatible SNPs.

**Tabelle 4:** Die untersuchten SNPs des NRG3-Gens auf Chromosom 10

SNP	Basenposition
rs6584471	83783511
rs2207768	83802403
rs12569561	83865848
rs714255	83885339
rs11595793	83950971
rs1336290	83955422
rs722982	83962540
rs2622807	84301584
rs635481	84311992
rs2881886	84334510
rs2820108	84495179
rs2065537	84555444
rs715687	84571953
rs168199	84589026
rs561623	84594235
rs7088441	84616626
rs1576986	84669935
rs1923565	84682591
rs4474379	84713820
rs12763193	84740839
rs2295933	84745256

Basenpositionen beziehen sich auf das Referenzgenom NCBI build GRCH37

Die Genotypisierung erfolgte nach einer Matrix-gestützten Massenspektrometrie-Methode, der MALDI-TOF-Massenspektrometrie (*Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation*, MALDI; *Time of Flight*, TOF). Die verwendete iPLEX-Methode arbeitete nach dem Prinzip der Einzelbasenverlängerung, wodurch SNPs mittels MALDI-TOF genotypisiert werden konnten. Die in eben jene Genotypisierung inkludierten Polymorphismen wurden mit der Software

AssayDesign 3.1 (Sequenom, San Diego, USA) zu Multiplexen gruppiert. Mithilfe dieses Programms konnte für jeden SNP ein Primerset aus zwei PCR-Primern und einem Extensionsprimer designt und so die bestmögliche Plexzusammenstellung kreiert werden. Das gesamte Verfahren setzte sich aus drei Stufen zusammen, der konventionellen Multiplex-PCR, der Primerextensionsreaktion und der Messung der Extensionsprodukte im MALDI-TOF Massenspektrometer.

Multiplex-Polymerase Kettenreaktion (PCR)

Die Multiplex-PCR wird zunächst zur Amplifizierung der den jeweiligen SNP umgebenden Genomsequenz verwendet, denn nur so ist es möglich genügend Zielsequenzen für die Extensionsprimer bereit zu stellen. Für die Multiplex-PCR wurde ein sogenannter Mastermix angefertigt (Tabelle 5):

**Tabelle 5:** Konzentrationen und Volumina der Reagenzien im Mastermix der Multiplex-PCR

Reagenz	Konzentration	Volumen*/ Reaktion*	Volumen*/ 384 Reaktionen
Wasser	-	1,850 µl	1368 µl
10x PCR-Puffer (Qiagen, Hilden)	1,25 x	0,625 µl	300 µl
MgCl <sub>2</sub> 25 mM (Qiagen, Hilden)	1,625 mM	0,325 µl	156 µl
dNTP Mix, 25 mM (dNTP Set, 100 mM, ABene, Hamburg)	500 µl	0,100 µl	48 µl
Primer Mix, jeweils 500 nM (Metabion, Martinsried)	100 nM	1,000 µl	480 µl
Hotstar Taq Polymerase, 5 U/µl (Qiagen, Hilden)	0,5 U	0,100 µl	48 µl
Total	-	4,000 µl	2400 µl

\* = Angabe inklusive 25 % Überhang

Nach Erstellung des Mastermixes wurden mithilfe des Roboters in jede Vertiefung einer 384 well Platte (Thermo Fast 384 Well Plate, ABgene, Hamburg) 4 µl Mastermix pipettiert. Folgend wurden noch jeweils 12,5 ng DNA vorgelegt in 96 well Platten (Thermo Fast 96 well Plate; ABgene, Hamburg) hinzugegeben. Die befüllten Reaktionsplatten wurden zunächst abzentrifugiert, verschlossen und im Anschluss in den Thermocycler (Gene Amp PCR System 9700, Applied Biosystems, Foster City, USA) gegeben und prozessiert.

So wurde nun das Multiplex-PCR-Programm (Initiale Denaturierung, Denaturierung, Annealing, Extension, finale Extension und Halt) mit folgenden Abläufen durchgeführt:

## Methoden und Material

1. 95 °C für 5 min
  2. 95 °C für 20 sec
  3. 56 °C für 30 sec
  4. 72 °C für 1 min
  5. 72 °C für 3 min
  6. 12 °C unbegrenzt
- } 45 Zyklen

### Dephosphorylierung der PCR-Produkte

Ein weiterer Bearbeitungsschritt der PCR-Produkte wurde durchgeführt, um die in der Multiplex-PCR nicht inkorporierte Desoxynukleosidtriphosphate (dNTPs) zu dephosphorylieren, da diese die nachfolgende iPLEX-Reaktion stören und die Einzelbasenverlängerung verhindern würden. Dies wurde durch eine sogenannte SAP-Reaktion bewirkt, bei welcher die besagten dNTPs mit Alkalischer Phosphatase aus Shrimps (Shrimp Alkaline Phosphatase (SAP), Sequenom, San Diego, USA) bearbeitet wurden. Für die SAP-Reaktion war erneut ein Mastermix aus verschiedenen Reagenzien notwendig (Tabelle 6).

**Tabelle 6:** Eingesetzte Reagenzien und Volumina für den SAP-Mastermix

Reagenz	Volumen für 1 Reaktion	Volumen für 384 Reaktionen
Wasser	1,530 µl	734,4 µl
10x SAP Puffer (Sequenom, San Diego, USA)	0,170 µl	81,6 µl
SAP-Enzym	0,300 µl	144,0 µl
Total	2,000 µl	960,0 µl

Nun wurden 2 µl des SAP-Mastermix zu den PCR-Produkten hinzugefügt, diese vermischt und abzentrifugiert. Nach einer Inkubation bei 37 °C für 40 min erfolgte die irreversible Inaktivierung des SAP-Enzyms durch Erhitzen auf 85 °C für 10 min. Die Dephosphorylierung fand im Thermocycler (Gene Amp PCR System 9700, Applied Biosystems, Foster City, USA) statt.

### iPLEX-Reaktion (Primerextensionsreaktion)

Im Gegensatz zur Multiplex-PCR wurde bei der iPLEX-Reaktion pro SNP jeweils nur ein Primer eingesetzt. Bei dieser Primerextensionsreaktion wurde jeder Primer um exakt eine, jeweils die komplementäre Base des SNP-Allels verlängert. Um dies zu gewährleisten wurden die vier Didesoxynukleotide (ddNTPs) verwendet. Jeder Primer wurde so konstruiert, dass er genau am 5'-Ende des jeweiligen SNPs an die DNA band. Auch für die iPLEX-Reaktion wurden verschiedene Reagenzien in verschiedenen Konzentrationen und Volumina erstellt (Tabelle 7).

**Tabelle 7:** Reagenzien, Konzentrationen und Volumina für die Multiplex-Extensionsreaktion

Reagenz	Konzentration	Volumen*/ Reaktion	Volumen*/ 384 Reaktionen
Wasser		0,755 µl	362,40 µl
iPLEX Puffer Plus (Sequenom, San Diego, USA)	0,222x	0,200 µl	96,00 µl
iPLEX Termination Mix (Sequenom, San Diego, USA)	1x	0,200 µl	96,00 µl

## Methoden und Material

Primer Mix (7 $\mu\text{M}$ bis 14 $\mu\text{M}$ ) (Metabion, Martinsried)	0,625 $\mu\text{M}$ bis 1,25 $\mu\text{M}$	0,804 $\mu\text{l}$	385,92 $\mu\text{l}$
iPLEX Enzym (Sequenom, San Diego, USA)	1x	0,041 $\mu\text{l}$	19,68 $\mu\text{l}$
Total		2,000 $\mu\text{l}$	960,00 $\mu\text{l}$

\* = Angabe inklusive 25 % Überhang

Nun wurden je 2  $\mu\text{l}$  der Reaktionsmischung zu den mit SAP behandelten PCR-Produkten beigemischt und anschließend im nachfolgendem iPLEX-Programm in einem Thermocycler (Gene Amp PCR System 9700, Applied Biosystems, Foster City, USA) prozessiert:

1. 94 °C für 30 sec
  2. 94 °C für 5 sec
  3. 52 °C für 5 sec
  4. 80 °C für 5 sec
  5. 72 °C für 3 min
  6. 4 °C unbegrenzt
- } 5 Zyklen
- } 40 Zyklen

Da häufig unerwünschte Reaktionen zwischen Extensionsprodukten und bestimmten Ionen stattfinden, welche die Interferenz der iPLEX-Produkte störte, war es nötig diese im Anschluss an die Primerextensionsreaktion mit Clean Resin (Sequenom, San Diego, USA) zu entsalzen.

### Messung der Extensionsprodukte im MALDI-TOF Massenspektrometer

Für die massenspektrometrische Messung der Extensionsprodukte mussten diese zunächst auf einen Träger mit Matrix übertragen werden. Dazu wurden Siliziumchips (SpectroCHIPs, Sequenom, San Diego, USA) mit jeweils 384 bereits aufpräparierten Matrixspots verwendet. Auf jedem Chip befanden sich zur Kalibrierung der Massenspektren 8 weitere Spots, welche von einem 3-Punkt-Kalibrant (Sequenom, San Diego, USA) mit drei Substanzen bekannter Masse benetzt wurden. Das resultierende Kalibrandenspektrum konnte zur Einstellung der Analytenspektren genutzt werden. Die Übertragung der Extensionsprodukte von der 384 well Platte auf die Siliziumchips erfolgte mittels eines Nanodispensers (MassARRAY POINT Nanodispenser, Sequenom, San Diego, USA), welcher die Proben mithilfe von 24 Edelstahlpins auf die Matrixspots applizierte. Nach dieser Vorbereitung konnten die Extensionsprodukte auf den SpectroCHIPs im MALDI-TOF-Massenspektrometer (MassARRAY Analyzer 4, Agena Bioscience, Hamburg) analysiert werden. Dazu wurden die einzelnen Matrixspots mehrfach im Hochvakuum mit gepulsten Lasern beschossen und die ionisierten Analyten in ein Flugrohr geleitet und deren Geschwindigkeit gemessen. Anhand der erfassten Geschwindigkeit konnten Rückschlüsse auf das jeweilige Allel und die Genotypen gezogen werden.

### Qualitätskontrolle

Die SNP-Ergebnisse mussten bevor sie in die weitere Analyse inkludiert werden konnten, genau auf ihre Qualität überprüft werden. Dazu wurde eine TyperAnalyzer Software (TyperAnalyzer 3.4.0.18, Sequenom, San Diego, USA) zu Hilfe genommen. Diese Software stellte anhand der Spektren für jeden untersuchten SNP einen Clusterplot dar. Diese nach Genotyp sortierten Genotypcluster mussten klar voneinander getrennt sein, um die Qualitätskontrolle zu bestehen. Weiter wurden vor der massenspektrometrischen Analyse auf jeder Platte an unterschiedlicher Stelle sogenannte Blindproben ohne DNA aufgetragen, was zum einen dazu führte, dass die Sauberkeit der Chips anhand dieser Proben ohne Genotyp geprüft werden konnte, andererseits konnten die einzelnen Platten durch die jeweilige Position der Blindproben identifiziert werden. Zusätzlich zu den Blindproben wurden Kontrollproben genutzt, wobei dieselbe DNA an einer Position jeder 96 well Platte eingesetzt wurde und somit auch jeweils denselben Genotyp aufweisen musste. Als weitere Qualitätskriterien wurden eine ProbandInnen-*Callrate* von mindestens 0,8 und eine SNP-*Callrate* von 0,9 festgesetzt. Dies bedeutet, dass mindestens 80 % der untersuchten SNPs in einem Plex für eine/einen ProbandIn einen klaren Genotyp (ProbandInnen-*Callrate*) und mindestens 90 % aller ProbandInnen für einen Polymorphismus auswertbare Genotypen (SNP-*Callrate*) ergeben mussten. Zudem wurde die Analyse durch mitprozessierte CEPH (*Centre d'Etude du Polymorphisme Humain*)-Proben gesichert, welche mindestens 98 % der zu erwartenden Genotypen (von dem Internationalem HapMap Konsortium bereitgestellt) aufweisen mussten (Gibbs et al. 2003). Als abschließendes Qualitätskriterium der Genotypverteilung wurden Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWE) mit  $p < 10^{-5}$  verworfen und bei geringerer Diskrepanz im Folgenden genau überprüft.

### **3.2.4 Genotypisierung mittels Mikroarray-Technologie**

Die Genotypisierung der Stichprobe 2 erfolgte extern in Form von SNP Arrays bei deCode Genetics (Reykjavik, Island). Verwendet wurden dazu Illumina Global Screening Arrays (Illumina, Inc. 2023). Bei dieser Technologie werden Mikrobeads (Arrays) verwendet, welche auf einer Matrix angeordnet wurden. Die Oberfläche jedes Arrays war mit Oligonukleotiden einer je SNP-spezifischen Sequenz beschichtet, sodass sich insgesamt ein riesiger Datensatz an erfassbaren Variationen ergab (Ragoussis 2006; Illumina, Inc. 2023).

Um genügend genetisches Material für die Auswertung zu gewinnen, wurden die DNA-Proben der einzelnen ProbandInnen zunächst amplifiziert und mithilfe einer enzymatischen Reaktion fragmentiert. Es folgte das Ausfällen und die Resuspension der DNA-Proben, danach die Hybridisierung auf den Arrays. Nun konnte sich das Annealing der DNA-Proben an die SNP-spezifischen Oligonukleotide der jeweiligen Arrays anschließen. Weiter erfolgte eine Allel-spezifische Basenextensionsreaktion sowie eine Fluoreszenzfärbung. Dadurch konnten Unterschiede in der Fluoreszenz der einzelnen Mikrobeads erfasst und mithilfe der Illumina Software jeweils einzelnen Genotypen zugeschrieben werden. (Ragoussis 2006; Illumina, Inc. 2017)



Aus dem Datensatz der Arrays wurden gezielt die Varianten extrahiert, die in der Screening-Stichprobe 1 mit der P300-Amplitude assoziiert werden konnten. Waren diese SNPs nicht direkt in den Daten zu finden, wurden geeignete Proxies ausgewählt (Arnold et al. 2014). Ein Proxy ist ein SNP, welcher mit einem anderen im hohen LD liegt und an dessen Stelle untersucht werden kann, sollte der Original-SNP nicht erfasst worden sein. Der Proxy wird zudem mit dem jeweiligen Koeffizienten  $r^2$  und  $D'$  (Dprime) als Messwerte der Korrelation dargestellt. So kann bei einer signifikanten Assoziation des selteneren Allels des Proxys mit der PANSS-Skala, von einer signifikanten Assoziation des selteneren Allels des Original-SNPs mit derselben ausgegangen werden.

Von der Untersuchung ausgeschlossen wurden SNPs, deren Abweichung vom HWE bei  $p < 0,01$  lag sowie solche mit einer SNP-Callrate unter 99 %. ProbandInnen, deren Callrate unter 93 % lag oder deren auf Basis anamnestischer Erhebung erfasste Ethnizität Hinweise auf eine nicht-europäische Herkunft aufwies wurden exkludiert. Verwandtschaften wurden ebenfalls auf Basis anamnestischer Angaben erfasst und ProbandInnen ggf. aus der Studie entfernt. Unterschied sich das SNP basierte Geschlecht von dem in der Anamnese angegebenen, kam es ebenfalls zu einem Ausschluss.

### 3.3 Statistische Methoden

Für die statistische Analyse der erhobenen Daten wurde folgende Software eingesetzt: IBM SPSS Statistics 19, PLINK System (PLINK v1.07) (Purcell et al. 2007), R v 2.13.0 (R Core Team 2013) und Haploview (Barrett et al. 2005; Haploview 2005).

#### 3.3.1 Hardy-Weinberg-Equilibrium

Das Hardy-Weinberg-Equilibrium (HWE) wurde zur Ermittlung von Abweichungen der bestimmten Genotyp-Verteilung von einer erwarteten Verteilung genutzt. Das HWE ist ein viel genutztes Modell zur Beschreibung von Genotyp-Verteilungen innerhalb einer Population, was auf der Annahme beruht, dass alle Allele unabhängig und in jeder Generation gleichmäßig verteilt seien (Recke et al. 2015). Abweichungen vom Equilibrium wurden mit dem exakten Test nach Fisher überprüft (Jung 2014). Bei einer signifikanten Abweichung ( $p < 0,01$ ) vom HWE wurde der jeweilige SNP für weitere Analysen ausgeschlossen.

#### 3.3.2 Gruppeneinteilung

Die Geschlechtsverteilung zwischen PatientInnen und Kontrollen wurde mithilfe des Exakten Tests nach Fisher überprüft, die Altersverteilung mittels Mann-Whitney-U Test.

#### 3.3.3 Lineare Regression

Weiter wurde eine additive lineare Regression durchgeführt, um in Stichprobe 1 den Zusammenhang der SNPs mit der Amplitude der P300-Welle im EEG zu untersuchen. Die erfassten Amplitudenwerte wurde mittels inverser Rangtransformation normalisiert und standardisiert, um normalverteilte Abweichungen zu ermitteln. Dies erfolgte so, dass hohe Werte

in den Rohdaten auch hohen Werten der transformierten Daten entsprachen. Zudem wurde in der Analyse für die Einflussfaktoren Geschlecht, Alter und bei der Gesamtgruppe nach Erkrankungsstatus (krank/ gesund) korrigiert (Purcell 2009; R Core Team 2013). Der Phänotyp (PANSS) in Stichprobe 2 wurde keiner Transformation unterzogen, die Analyse erfolgte ansonsten analog.

Für alle Regressionskoeffizienten mit Ausnahme des Genotyps wurden Gleichungen mit den geschätzten Regressionskoeffizienten gebildet und der entsprechende Mittelwert eingefügt. So konnte für jeden Genotyp der adjustierte Mittelwert (adjusted mean) errechnet werden.

### **3.3.4 Haplotypen**

Mit der Haploview Software konnte die Analyse der Haplotypen durchgeführt werden (Barrett et al. 2005) und für die Bestimmung der Haplotyp-Blöcke wurde sich an die Methodik von Gabriel gehalten (Gabriel et al. 2002). Für die Überprüfung eines Zusammenhangs der Haplotyp-Frequenzen mit der P300-Amplitude wurde analog zur Einzel-SNP Analyse eine lineare Regression unter Einbezug von Alter, Geschlecht und Erkrankungsstatus genutzt. Nur Haplotypen mit einer Frequenz von über 1 % und StudienteilnehmerInnen mit mehr als 50 % vorhandenen Genotypen wurden mit in die Analyse aufgenommen.

### **3.3.5 Signifikanzniveau**

Generell wurden p-Werte von  $p < 0,05$  als nominal signifikant festgelegt, wobei ein Signifikanzniveau von  $p < 0,1$  als tendenzielle Signifikanz bzw. Trend interpretiert wurde.

### **3.3.6 Korrektur für multiples Testen**

Um eine Überschätzung falsch positiver oder negativer Ergebnisse zu vermeiden, sollte eine Korrektur für multiples Testen durchgeführt werden. Eine einfache Methode ist die Verwendung der Bonferroni-Korrektur, bei der ein p-Wert durch Multiplikation mit der Anzahl unabhängiger Tests korrigiert wird. Da die untersuchten SNPs jedoch zum Teil in sehr hohem LD miteinander lagen, ist eine Unabhängigkeit der Tests nicht gegeben, weshalb auf diese Korrektur verzichtet wurde und stattdessen eine Haplotypanalyse angeschlossen wurde, in welcher die LD-Struktur berücksichtigt wird. Eine konservative Korrektur nach Bonferroni für die Anzahl der untersuchten SNPs überstanden in dieser Arbeit keine Assoziationen mit der P300-Amplitude.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Stichprobenbeschreibung

Um einen Zusammenhang zwischen Veränderungen in der P300-Amplitude und Polymorphismen im NRG3-Gen zu untersuchen, wurde für alle TeilnehmerInnen der Stichprobe 1 eine Genotypisierung durchgeführt. Die Erhebung der EEG-Daten erfolgte bei insgesamt 372 Personen. Die Gruppe der eingeschlossenen ProbandInnen unterteilte sich in 116 (31,2 %) den PatientInnen zugehörige Personen und 256 (68,8 %) TeilnehmerInnen der Kontrollgruppe.

In der Gesamtgruppe betrug der Anteil der Probandinnen 52,4 % gegen 47,6 % an männlichen Teilnehmern. Von den insgesamt 195 Männern gehörten 123 der Kontrollgruppe, 72 der PatientInnengruppe an. 133 der 177 Probandinnen zählten zur Kontrollgruppe und 44 der Frauen zur PatientInnengruppe (Tabelle 8). Die Geschlechtsverteilung war zwischen PatientInnen- und Kontrollgruppe signifikant unterschiedlich ( $p < 0,014$ ) und ergab ein Überwiegen männlicher Teilnehmer in der PatientInnengruppe.

Die ProbandInnen befanden sich zum Zeitpunkt der EEG-Datenerhebung zwischen dem 20. und dem 75. Lebensjahr. Der/die jüngste TeilnehmerIn der Kontrollgruppe war 22 Jahre alt, der/die Älteste 74 Jahre. Im Vergleich zur Kontrollgruppe ergab sich ein niedrigeres Durchschnittsalter in der PatientInnengruppe ( $p = 0,000081$ ). Die PatientInnengruppe setzte sich aus Personen von 19 bis 70 Jahren zusammen (Tabelle 8).

**Tabelle 8:** Stichprobe 1: Alters- und Geschlechtsverteilung der Kontroll- und PatientInnengruppe

Gruppe	Alter in Jahren Mittelwerte (SD)	Geschlecht n (%)		Gesamt n
		männlich	weiblich	
Kontrollen	46,21 (15,223)	123 (48,0)	133 (52,0)	256
PatientInnen	39,47 (10,338)	72 (62,1)	44 (37,9)	116
Gesamt	44,11 (14,220)	195 (52,4)	177 (47,6)	372

n = Anzahl, SD = Standardabweichung

Zudem wurden im Rahmen einer zweiten Stichprobe 112 weitere SchizophreniepatientInnen auf Assoziationen mit der PANSS untersucht. Von diesen waren 59 (52,7 %) Personen männlich, 53 (47,3 %) weiblich; das Durchschnittsalter betrug 39,2 Jahre, 37,3 Jahre bei den männlichen, 41,3 Jahre bei den weiblichen PatientInnen (Tabelle 9).

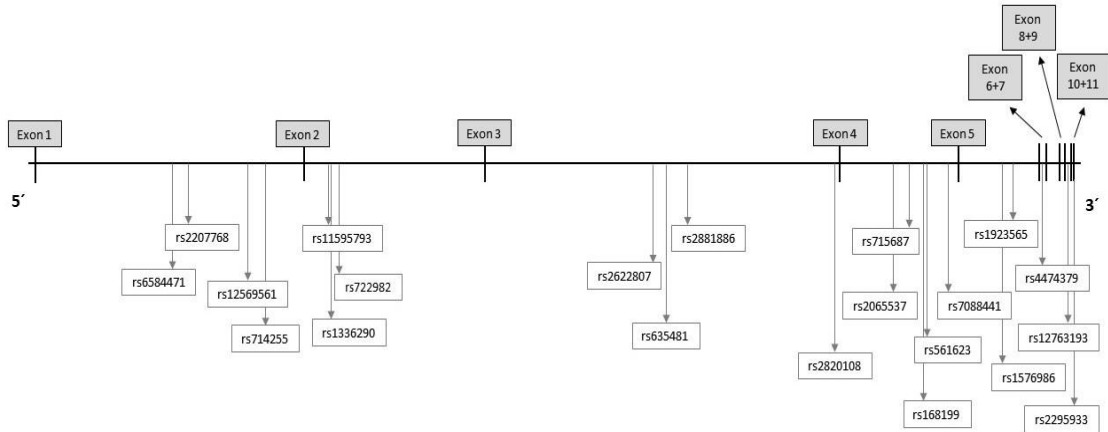
**Tabelle 9:** Stichprobe 2: Alters- und Geschlechtsverteilung

Gruppe	Alter in Jahren Mittelwerte (SD)	Geschlecht n (%)		Gesamt n
		männlich	weiblich	
Gesamt	39,2 (12,5)	59 (52,7)	53 (47,3)	112

n = Anzahl, SD = Standardabweichung

## 4.2 Lokalisation der Polymorphismen

Es wurden 21 Polymorphismen des auf Chromosom 10q22-23 liegenden NRG3-Gens (NCBI Build GRCh37) untersucht (Kao et al. 2010). Von diesen 21 SNPs waren 20 in Introns, ein SNP (rs2295933) war im Exon 11 lokalisiert (Abbildung 1).



**Abbildung 1:** Darstellung der 21 untersuchten SNPs auf dem NRG3-Gen in Leserichtung (5' nach 3'). Die senkrechten Striche stellen die 11 Exons dar, die verbindende Linie die Introns. Die Exons und Introns wurden nach Vorlage des NCBI (GRCh37, NM\_001165973.1) gezeichnet.

Die Genotypverteilung für die 21 SNPs lagen mit  $p > 0,01$  in der Stichprobe 1 im Hardy-Weinberg-Equilibrium (Tabelle 10).

**Tabelle 10:** HWE der 21 SNPs des NRG3-Gens in Leserichtung von 5' nach 3'

SNP	Allele		MAF (%)	Genotypanzahl			HWE – p	Funktion
	A1	A2		A1A1	A1A2	A2A2		
rs6584471	G	A	44,2	358	873	568	0,502	Intron
rs2207768	C	T	27,4	128	726	940	0,475	Intron
rs12569561	C	T	45,2	368	867	539	0,566	Intron
rs714255	A	G	33,0	205	720	788	0,042	Intron
rs11595793	C	G	41,7	296	831	580	1,000	Intron
rs1336290	C	T	37,4	252	845	709	1,000	Intron
rs722982	C	T	32,8	197	784	816	0,669	Intron
rs2622807	A	G	32,0	181	777	824	0,957	Intron
rs635481	G	A	30,2	162	771	872	0,697	Intron
rs2881886	G	A	35,5	209	773	697	0,830	Intron
rs2820108	A	C	46,2	376	808	506	0,118	Intron
rs2065537	A	G	42,8	330	868	588	0,772	Intron
rs715687	C	T	34,3	218	771	765	0,290	Intron
rs168199	C	A	47,4	385	926	479	0,118	Intron
rs561623	A	C	30,4	165	754	864	1,000	Intron
rs7088441	G	A	46,0	372	910	516	0,448	Intron
rs1576986	C	A	27,0	140	693	973	0,310	Intron
rs1923565	G	C	34,7	212	816	753	0,715	Intron
rs4474379	G	A	29,6	153	762	891	0,610	Intron
rs12763193	T	C	47,8	412	895	492	0,925	Intron
rs2295933	T	C	28,8	148	743	914	0,909	Exon

A1 = minores Allel, A2 = majores Allel, MAF = Minore Allelfrequenz, HWE = Hardy-Weinberg-Equilibrium, p = Signifikanzniveau

### 4.3 Einzel-SNP-Analyse

In der Stichprobe 1 wurde für jeden SNP die Assoziation zu der P300-Amplitude nach den EEG-Ableitungen über den zentralen Elektrodenpunkten in der Mittellinie Fz (zentro-frontal), Cz (zentro-zentral) und Pz (zentro-parietal) nach dem 10:20-Elektrodensystem mittels linearer Regression analysiert. Des Weiteren wurde diese Analyse auch getrennt nach Erkrankungsstatus für die gesunden Kontrollpersonen und die SchizophreniepatientInnen durchgeführt.

Für 12 der 21 Varianten (rs2207768, rs12569561, rs714255, rs11595793, rs2881886, rs2820108, rs2065537, rs715687, rs168199, rs1923565, rs4474379, rs2295933) konnte keine signifikante oder tendenziell signifikante Assoziation bezüglich einer Veränderung der Amplitude der P300-Welle im EEG nachgewiesen werden.

Tabelle 11 zeigt die tendenziell ( $p < 0,1$ ) und signifikant ( $p < 0,05$ ) mit der P300-Amplitude assoziierten 9 von 21 SNPs des NRG3-Gens getrennt nach zentralen EEG-Ableitungen:

**Tabelle 11:** Assoziation der 9/21 NRG3-SNPs mit der P300-Amplitude (in blau unterlegt die signifikanten Ergebnisse)

Abl.	SNP	A1/A2	BP	p-Wert	B	Gruppe
Fz	rs1336290	C/T	83955422	0,0984	-0,1595	Kontrollen
	rs561623	A/C	84594235	0,0985	0,1537	
	rs7088441	G/A	84616626	0,0999	0,1480	
	rs1576986	C/A	84669935	0,0669	-0,1797	
Cz	rs6584471	G/A	83783511	0,0687	-0,1285	Gesamt
				0,0624	-0,2283	PatientInnen
Pz	rs6584471	G/A	83783511	0,0822	-0,2162	PatientInnen
	rs2622807	A/G	84301584	0,0465	0,2514	
	rs635481	G/A	84311992	0,0314	0,2707	
	rs12763193	T/C	84740839	0,0673	-0,2375	
	rs722982	C/T	83962540	0,0685	0,1435	Gesamt
0,0608				0,2452	PatientInnen	

Abl. = Ableitung, Fz = zentro-frontal, Cz = zentro-zentral, Pz = zentro-parietal, A1 = minores Allel, A2 = majores Allel, BP = Basenposition, p-Wert = Signifikanzniveau, B = Regressionskoeffizient

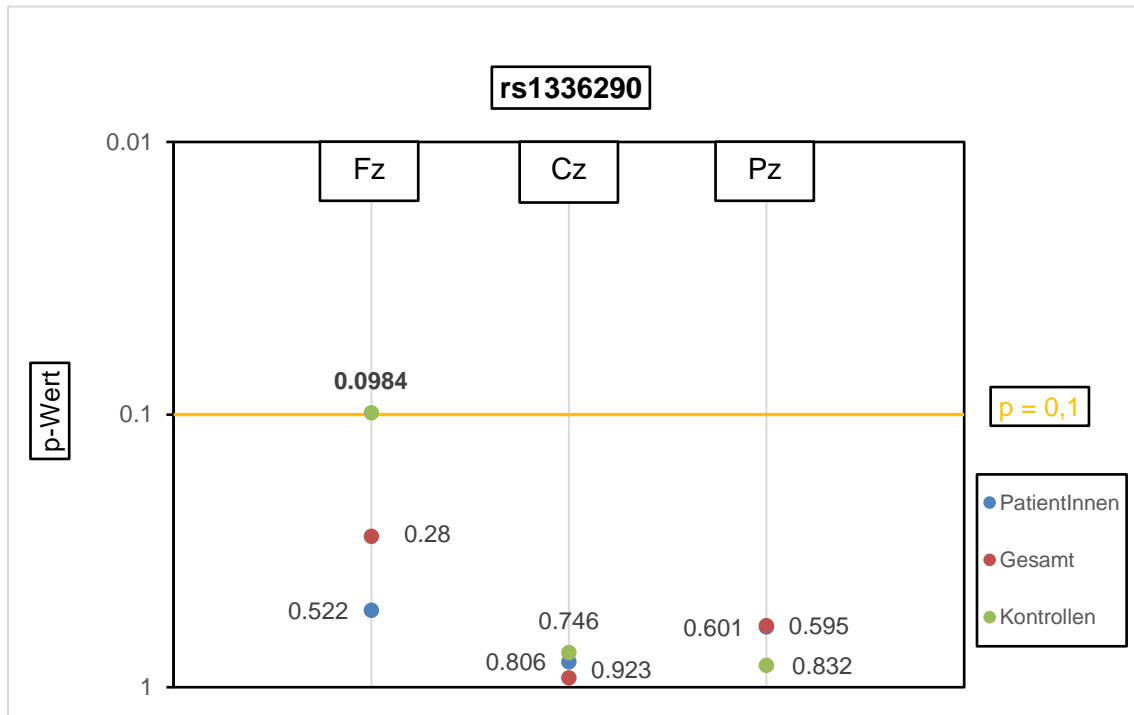
Die mit der P300-Amplitude assoziierten 9 Polymorphismen (Tabelle 11) werden im Folgenden genauer dargestellt.

#### 4.3.1 Assoziationen über der zentro-frontalen EEG-Ableitung (Fz)

Im Bereich der zentro-frontalen Ableitung zeigten sich ausschließlich in der Kontrollgruppe Tendenzen. Dabei wurden bei Vorliegen des minoren Allels der SNPs rs1336290 und rs1576986 niedrigere und der SNPs rs561623 und rs7088441 tendenziell höhere Amplitudenwerte aufgezeichnet.

**4.3.1.1 rs1336290**

Der SNP rs1336290 war bei der Kontrollgruppe über der Ableitung Fz tendenziell signifikant ( $p = 0,0984$ ) assoziiert (Abbildung 2).



**Abbildung 2:** Graphische Darstellung der Assoziation (p-Werte) zwischen dem SNP rs1336290 und der Amplitude der P300-Welle. Die y-Achse (p-Werte) ist logarithmisch skaliert. Die p-Werte wurden getrennt nach Gesamt-, PatientInnen- und Kontrollgruppe den Ableitungen (Fz = zentro-frontal, Cz = zentro-zentral, Pz = zentro-parietal) zugeordnet. Die durchgezogene gelbe Linie markiert das Signifikanzniveau für Trends  $p = 0,1$ .

Bei der Kontrollgruppe zeigten TrägerInnen des selteneren Genotyp CC eine geringere P300-Amplitude über der Ableitung Fz. Die größte Amplitude wurde bei ProbandInnen mit dem Genotyp TT gemessen (Tabelle 12).

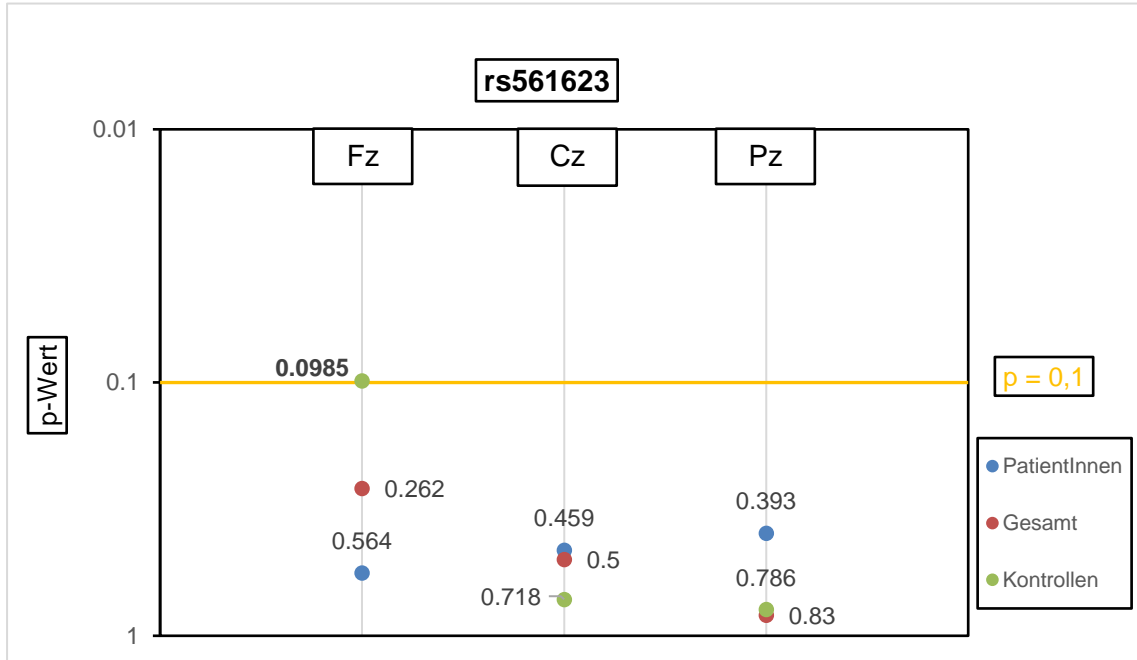
**Tabelle 12:** Mittelwerte der P300-Amplitude über Fz nach Genotypen für rs1336290

Gruppe	Genotyp			B
	C/C	T/C	T/T	
Fz - Kontrollen (= 254)				-0,1595
n (%)	25 (9,3)	122 (48,0)	107 (43,6)	
M (SE)	-0,210 (0,140)	-0,050 (0,068)	0,109 (0,089)	

n = Anzahl der ProbandInnen, M = adjustierte Mittelwerte, SE = Standardfehler, B = Regressionskoeffizient

### 4.3.1.2 rs561623

Eine tendenziell signifikante Assoziation des bezogen auf die chromosomale Position nächsten SNPs rs561623 ( $p = 0,0985$ ) konnte in der EEG-Ableitung Fz für die Kontrollgruppe dargestellt werden (Abbildung 3).



**Abbildung 3:** Graphische Darstellung der Assoziation (p-Werte) zwischen dem SNP rs561623 und der Amplitude der P300-Welle. Die y-Achse (p-Werte) ist logarithmisch skaliert. Die p-Werte wurden getrennt nach Gesamt-, PatientInnen- und Kontrollgruppe den Ableitungen (Fz = zentro-frontal, Cz = zentro-zentral, Pz = zentro-parietal) zugeordnet. Die durchgezogene gelbe Linie markiert das Signifikanzniveau für Trends  $p = 0,1$ .

Der seltenere Genotyp AA war bei TeilnehmerInnen der Kontrollgruppe häufiger mit höheren Amplituden über Fz vergesellschaftet. Die niedrigste Amplitude wurde bei den ProbandInnen mit dem Genotyp CC gemessen (Tabelle 13).

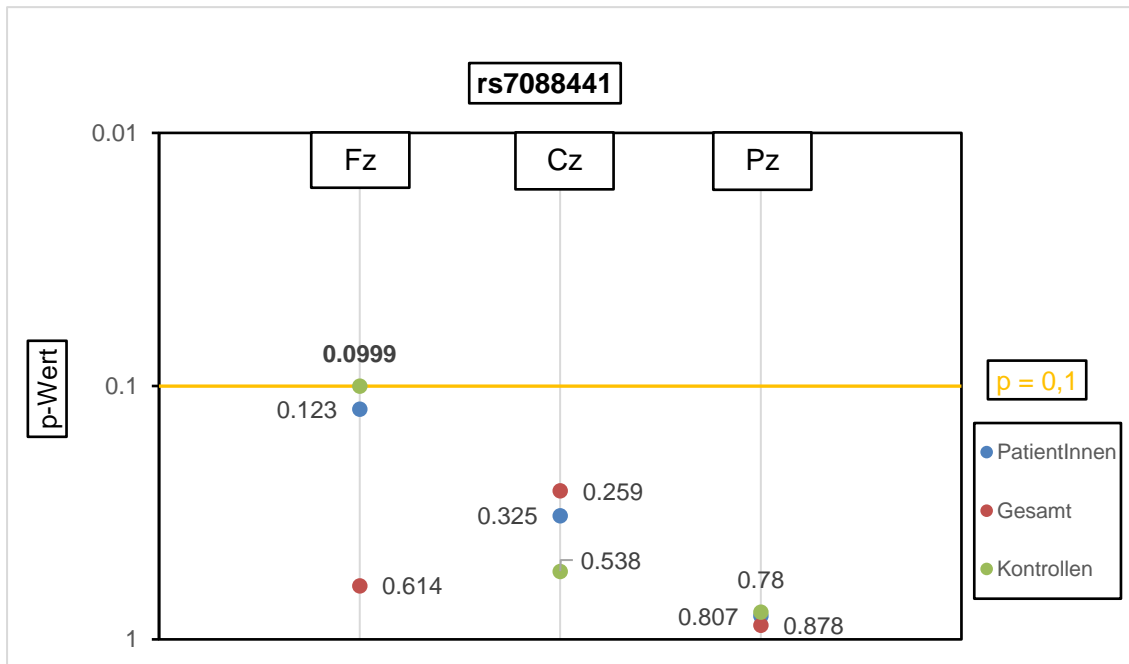
**Tabelle 13:** Mittelwerte der P300-Amplitude über Fz nach Genotypen für rs561623

Gruppe	Genotyp			B
	A/A	C/A	C/C	
Kontrollen (n = 251)				0,1537
n (%)	27 (10,7)	106 (42,1)	118 (47,0)	
M (SE)	0,191 (0,141)	0,037 (0,070)	-0,114 (0,086)	

n = Anzahl der ProbandInnen, M = adjustierte Mittelwerte, SE = Standardfehler, B = Regressionskoeffizient

### 4.3.1.3 rs7088441

Beim SNP rs7088441 ( $p = 0,0999$ ) zeigte sich eine tendenziell signifikante Assoziation zu Veränderungen der P300-Amplitude in der Kontrollgruppe über Fz (Abbildung 4).



**Abbildung 4:** Graphische Darstellung der Assoziation (p-Werte) zwischen dem SNP rs7088441 und der Amplitude der P300-Welle. Die y-Achse (p-Werte) ist logarithmisch skaliert. Die p-Werte wurden getrennt nach Gesamt-, PatientInnen- und Kontrollgruppe den Ableitungen (Fz = zentro-frontal, Cz = zentro-zentral, Pz = zentro-parietal) zugeordnet. Die durchgezogene gelbe Linie markiert das Signifikanzniveau für Trends  $p = 0,1$ .

Der seltenere Genotyp GG war bei den ProbandInnen der Kontrollgruppe mit einer Amplitudenerhöhung über Fz vergesellschaftet. Die geringste Amplitude zeigte der Genotyp AA (Tabelle 14).

**Tabelle 14:** Mittelwerte der P300-Amplitude über Fz nach Genotypen für rs7088441

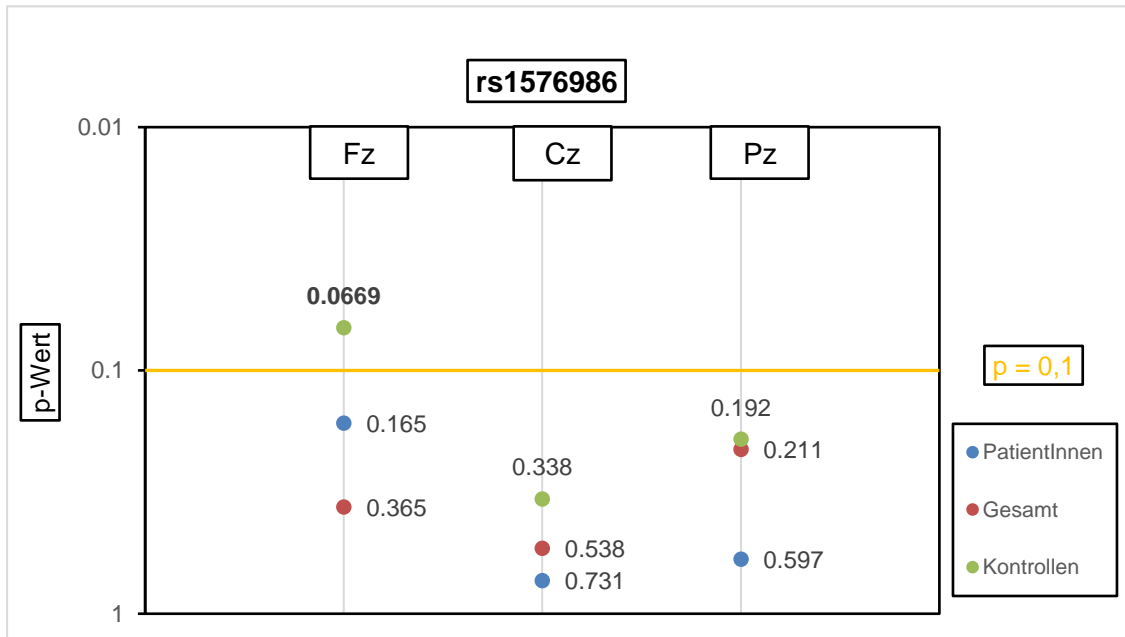
Gruppe	Genotyp			B
	G/G	A/G	A/A	
Kontrollen (n = 252)				0,1479
n (%)	55 (21,9)	131 (51,9)	66 (26,2)	
M (SE)	0,152 (0,111)	0,004 (0,061)	-0,143 (0,106)	

n = Anzahl der ProbandInnen, M = adjustierte Mittelwerte, SE = Standardfehler, B = Regressionskoeffizient



#### 4.3.1.4 rs1576986

Zudem wurde ein Trend zur einer Amplitudenveränderung der P300-Welle beim SNP rs1576986 ( $p = 0,0669$ ) in Verbindung mit der Kontrollgruppe über der EEG-Ableitung Fz gefunden (Abbildung 5).



**Abbildung 5:** Graphische Darstellung der Assoziation (p-Werte) zwischen dem SNP rs1576986 und der Amplitude der P300-Welle. Die y-Achse (p-Werte) ist logarithmisch skaliert. Die p-Werte wurden getrennt nach Gesamt-, PatientInnen- und Kontrollgruppe den Ableitungen (Fz = zentro-frontal, Cz = zentro-zentral, Pz = zentro-parietal) zugeordnet. Die durchgezogene gelbe Linie markiert das Signifikanzniveau für Trends  $p = 0,1$ .

Der seltenere Genotyp CC wurde bei der Kontrollgruppe bei einer Verringerung der P300-Amplitude über der Ableitung Fz beobachtet. Die größte Amplitude wiesen ProbandInnen mit dem Genotyp AA auf (Tabelle 15).

**Tabelle 15:** Mittelwerte der P300-Amplitude über Fz nach Genotypen für rs1576986

Gruppe	Genotyp			B
	C/C	A/C	A/A	
Kontrollen (n = 255)				-0,1797
n (%)	19 (7,4)	87 (34,0)	149 (58,3)	
M (SE)	-0,268 (0,158)	-0,090 (0,078)	0,088 (0,077)	

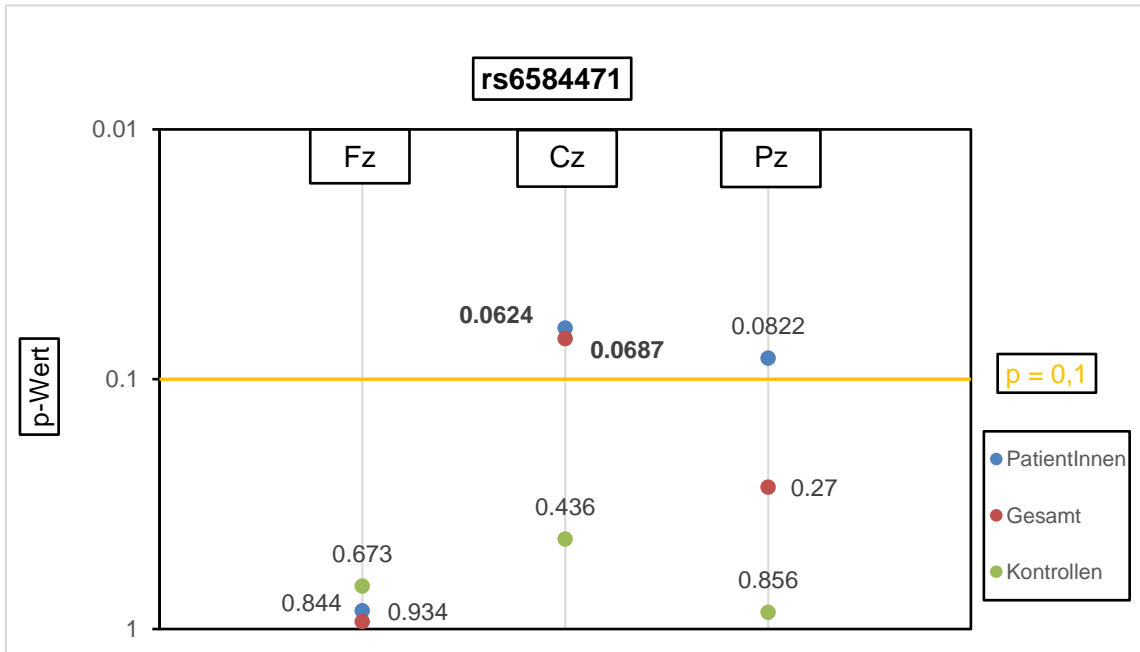
n = Anzahl der ProbandInnen, M = adjustierte Mittelwerte, SE = Standardfehler, B = Regressionskoeffizient

#### 4.3.2 Assoziationen über der zentro-zentralen EEG-Ableitung (Cz)

Für eine Veränderung der P300-Welle im EEG in Assoziation mit Polymorphismen im NRG3-Gen konnte über der zentro-zentralen Ableitung (Cz) bei einem SNP rs6584471 sowohl in der Gesamtgruppe als auch in der Untergruppe der SchizophreniepatientInnen ein tendenzieller Zusammenhang mit einer niedrigeren P300-Amplitude bei Vorhandensein des selteneren G-Allels identifiziert werden.

**4.3.2.1 rs6584471**

Der SNP rs6584471 war in der PatientInnengruppe ( $p = 0,0624$ ) und in der Gesamtgruppe ( $p = 0,0687$ ) über der Ableitung Cz tendenziell signifikant ( $p < 0,1$ ) assoziiert (Abbildung 6).



**Abbildung 6:** Graphische Darstellung der Assoziation (p-Werte) zwischen dem SNP rs6584471 und der Amplitude der P300-Welle. Die y-Achse (p-Werte) ist logarithmisch skaliert. Die p-Werte wurden getrennt nach Gesamt-, PatientInnen- und Kontrollgruppe den Ableitungen (Fz = zentro-frontal, Cz = zentro-zentral, Pz = zentro-parietal) zugeordnet. Die durchgezogene gelbe Linie markiert das Signifikanzniveau für Trends  $p = 0,1$ .

Bei ProbandInnen der PatientInnengruppe und Gesamtgruppe mit dem selteneren Genotyp GG konnte über Cz eine niedrigere Amplitude gemessen werden. Die größte Amplitude wiesen Personen mit dem Genotyp AA auf (Tabelle 16).

**Tabelle 16:** Mittelwerte der P300-Amplitude über Cz nach Genotypen für rs6584471

Gruppe	Genotyp			B
	G/G	A/G	A/A	
Cz - PatientInnen (n = 114)				-0,2283
n (%)	22 (19,3)	50 (43,8)	42 (36,7)	
M (SE)	-0,252 (0,166)	-0,026 (0,091)	0,203 (0,132)	
Cz - Gesamt (n = 370)				-0,1285
n (%)	76 (20,5)	168 (45,4)	126 (34,0)	
M (SE)	-0,155 (0,095)	-0,026 (0,051)	0,101 (0,078)	

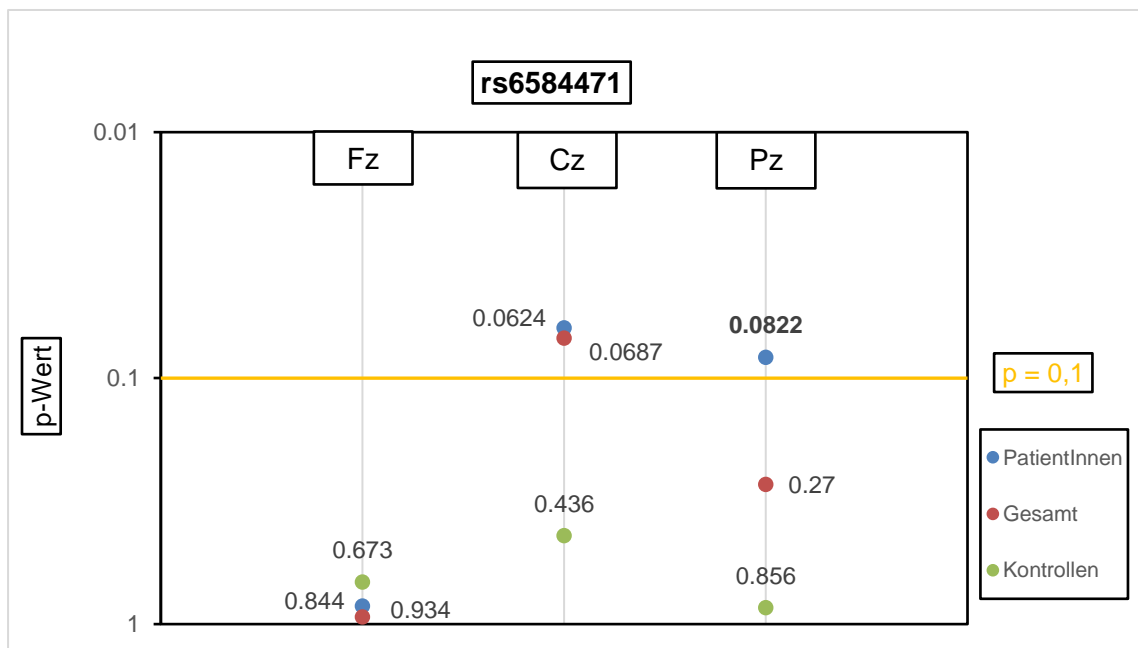
n = Anzahl der ProbandInnen, M = adjustierte Mittelwerte, SE = Standardfehler, B = Regressionskoeffizient

### 4.3.3 Assoziationen über der zentro-parietalen EEG-Ableitung (Pz)

Die zentro-parietale Ableitung ergab hauptsächlich Zusammenhänge in der PatientInnengruppe. Während bei den signifikant assoziierten SNPs rs2622807 und rs635481 sowie dem tendenziell in der PatientInnengruppe und der Gesamtgruppe assoziierten SNP rs722982 das minore Allel eher in Zusammenhang mit höheren Amplituden zu finden war, zeigten rs12763193 und rs6584471 bei TrägerInnen des minoren Allels eher niedrigere Amplituden.

#### 4.3.3.1 rs6584471

Für den SNP rs6584471 zeigte sich in der PatientInnengruppe ( $p = 0,0822$ ) über Pz eine tendenzielle Assoziation ( $p < 0,1$ ) bezüglich einer Amplitudenveränderung der P300-Welle (Abbildung 7).



**Abbildung 7:** Graphische Darstellung der Assoziation (p-Werte) zwischen dem SNP rs6584471 und der Amplitude der P300-Welle. Die y-Achse (p-Werte) ist logarithmisch skaliert. Die p-Werte wurden getrennt nach Gesamt-, PatientInnen- und Kontrollgruppe den Ableitungen (Fz = zentro-frontal, Cz = zentro-zentral, Pz = zentro-parietal) zugeordnet. Die durchgezogene gelbe Linie markiert das Signifikanzniveau für Trends  $p = 0,1$ .

Für ProbandInnen der PatientInnengruppe mit dem selteneren Genotyp GG konnte über Pz eher eine Amplitudenminderung der P300-Welle nachgewiesen werden. Die größte Amplitude wurde bei ProbandInnen mit dem Genotyp AA beobachtet (Tabelle 17).

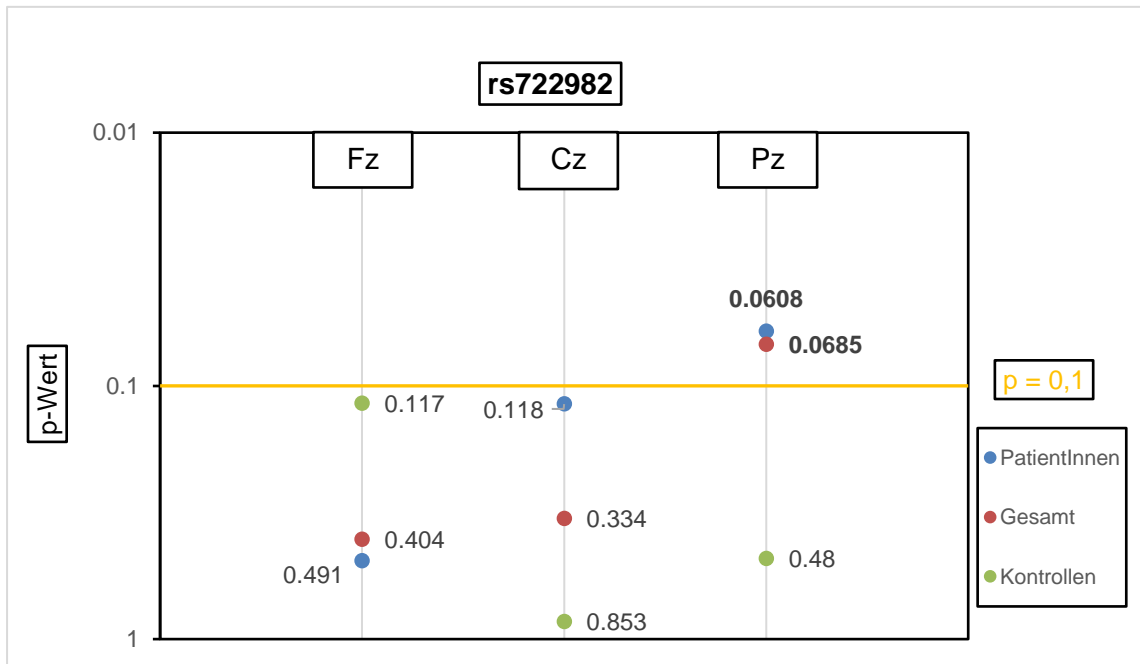
**Tabelle 17:** Mittelwerte der P300-Amplitude über Pz nach Genotypen für rs6584471

Gruppe	Genotyp			B
	G/G	A/G	A/A	
Pz - PatientInnen (n = 114)				-0,2161
n (%)	22 (19,3)	50 (43,8)	42 (36,7)	
M (SE)	-0,234 (0,170)	-0,018 (0,091)	0,197 (0,136)	

n = Anzahl der ProbandInnen, M = adjustierte Mittelwerte, SE = Standardfehler, B = Regressionskoeffizient

**4.3.3.2 rs722982**

Der SNP rs722982 erwies sich über der Ableitung Pz für die PatientInnengruppe ( $p = 0,0608$ ) und die Gesamtgruppe ( $p = 0,0685$ ) als tendenziell assoziiert (Abbildung 8).



**Abbildung 8:** Graphische Darstellung der Assoziation (p-Werte) zwischen dem SNP rs722982 und der Amplitude der P300-Welle. Die y-Achse (p-Werte) ist logarithmisch skaliert. Die p-Werte wurden getrennt nach Gesamt-, PatientInnen- und Kontrollgruppe den Ableitungen (Fz = zentro-frontal, Cz = zentro-zentral, Pz = zentro-parietal) zugeordnet. Die durchgezogene gelbe Linie markiert das Signifikanzniveau für Trends  $p = 0,1$ .

Bei der PatientInnengruppe und der Gesamtgruppe konnte bei TrägerInnen des selteneren Genotyps CC vermehrt eine Amplitudenerhöhung über der Ableitung Pz erfasst werden. Niedrige Wellenamplituden zeigten sich eher bei Personen mit dem Genotyp TT (Tabelle 18).

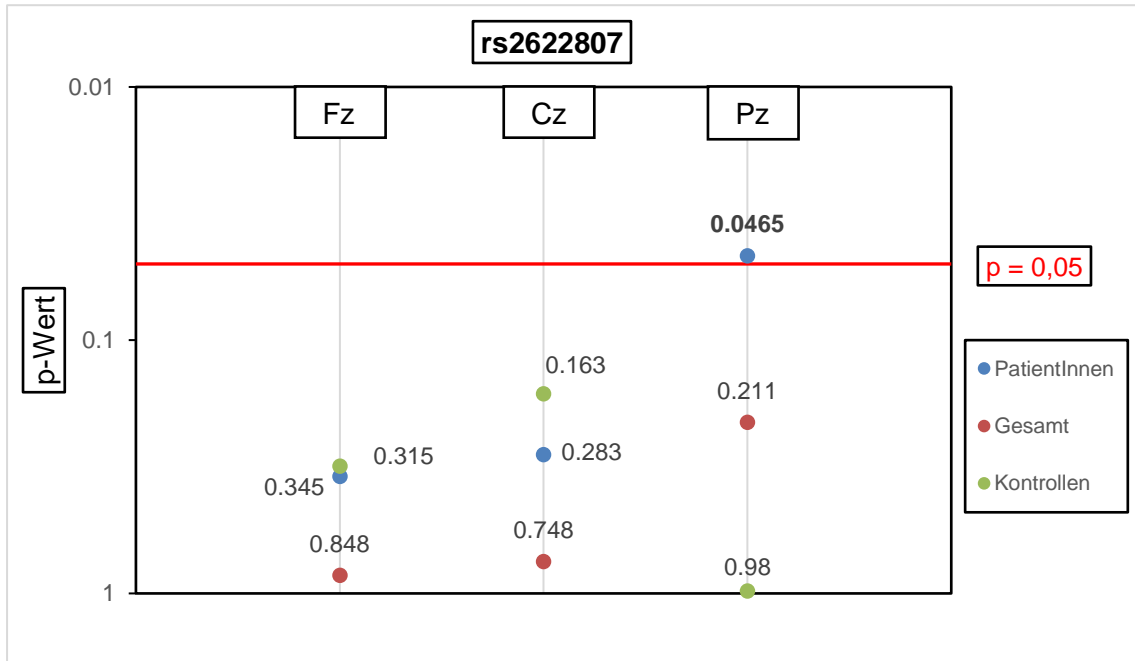
**Tabelle 18:** Mittelwerte der P300-Amplitude über Pz nach Genotypen für rs722982

Gruppe	Genotyp			B
	C/C	T/C	T/T	
Pz - PatientInnen (n = 116)				0,2452
n (%)	14 (12,1)	43 (37,1)	59 (50,9)	
M (SE)	0,337 (0,201)	0,092 (0,103)	-0,151 (0,119)	
Pz - Gesamt (n = 370)				0,1435
n (%)	34 (9,2)	153 (41,3)	183 (49,4)	
M (SE)	0,179 (0,120)	0,034 (0,060)	-0,107 (0,068)	

n = Anzahl der ProbandInnen, M = adjustierte Mittelwerte, SE = Standardfehler, B = Regressionskoeffizient

#### 4.3.3.3 rs2622807

Der SNP rs2622807 konnte in der PatientInnengruppe über der Ableitung Pz signifikant ( $p = 0,0465$ ) assoziiert werden (Abbildung 9).



**Abbildung 9:** Graphische Darstellung der Assoziation (p-Werte) zwischen dem SNP rs2622807 und der Amplitude der P300-Welle. Die y-Achse (p-Werte) ist logarithmisch skaliert. Die p-Werte wurden getrennt nach Gesamt-, PatientInnen- und Kontrollgruppe den Ableitungen (Fz = zentro-frontal, Cz = zentro-zentral, Pz = zentro-parietal) zugeordnet. Die durchgezogene rote Linie markiert das Signifikanzniveau  $p = 0,05$ .

In der PatientInnengruppe wiesen ProbandInnen mit dem selteneren Genotyp AA höhere P300-Amplituden über der Ableitung Pz auf. Die PatientInnen mit dem Genotyp GG zeigten eher niedrige Amplituden (Tabelle 19).

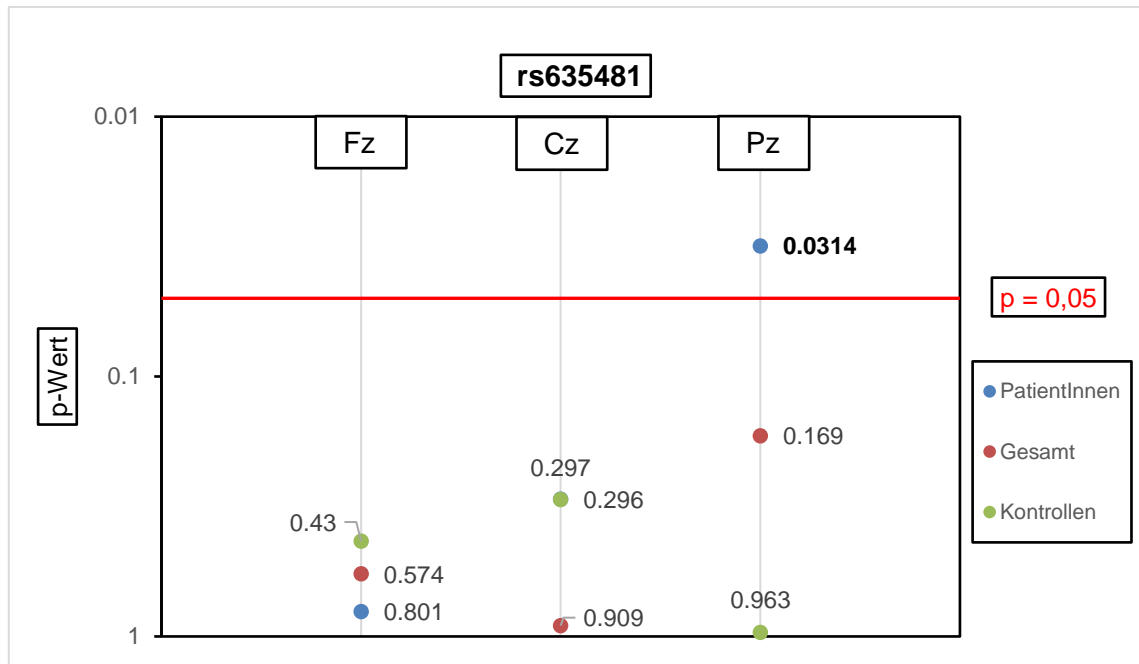
**Tabelle 19:** Mittelwerte der P300-Amplitude über Pz nach Genotypen für rs2622807

Gruppe	Genotyp			B
	A/A	A/G	G/G	
Pz - PatientInnen (n = 112)				0,2514
n (%)	20 (17,85)	49 (43,75)	43 (38,39)	
M (SE)	0,310 (0,174)	0,058 (0,094)	-0,193 (0,134)	

n = Anzahl der ProbandInnen, M = adjustierte Mittelwerte, SE = Standardfehler, B = Regressionskoeffizient

**4.3.3.4 rs635481**

Ebenso wurde der SNP rs635481 bezüglich der Amplitude der P300-Welle bei der PatientInnengruppe über der EEG-Ableitung Pz signifikant assoziiert ( $p = 0,0314$ ) (Abbildung 10).



**Abbildung 10:** Graphische Darstellung der Assoziation (p-Werte) zwischen dem SNP rs635481 und der Amplitude der P300-Welle. Die y-Achse (p-Werte) ist logarithmisch skaliert. Die p-Werte wurden getrennt nach Gesamt-, PatientInnen- und Kontrollgruppe den Ableitungen (Fz = zentro-frontal, Cz = zentro-zentral, Pz = zentro-parietal) zugeordnet. Die durchgezogene rote Linie markiert das Signifikanzniveau  $p = 0,05$ .

Die StudienteilnehmerInnen der PatientInnengruppe mit dem selteneren Genotyp GG zeigten eher eine Amplitudenvergrößerung der P300-Welle über der Ableitung Pz. Bei ProbandInnen mit den Genotypen AA ließen sich hingegen kleinere Amplituden beobachten (Tabelle 20).

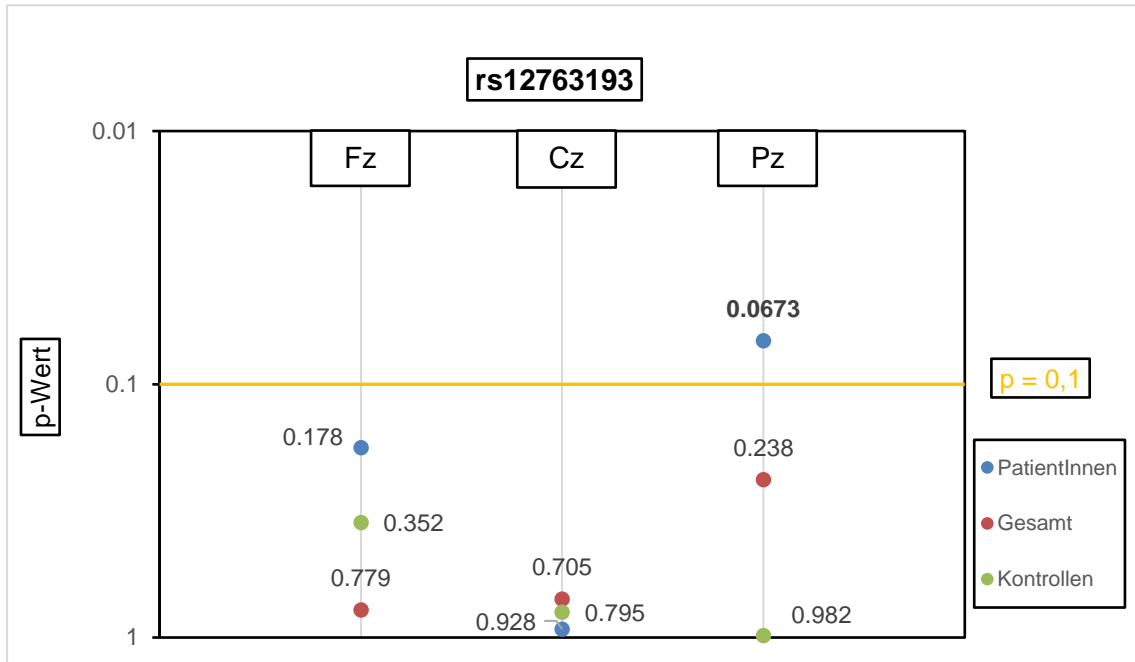
**Tabelle 20:** Mittelwerte der P300-Amplitude über Pz nach Genotypen für rs635481

Gruppe	Genotyp			B
	G/G	G/A	A/A	
Pz – PatientInnen (n = 116)				0,2707
n (%)	19 (16,38)	49 (56,84)	48 (41,38)	
M (SE)	0,335 (0,179)	0,066 (0,093)	-0,205 (0,129)	

n = Anzahl der ProbandInnen, M = adjustierte Mittelwerte, SE = Standardfehler, B = Regressionskoeffizient

#### 4.3.3.5 rs12763193

Beim SNP rs12763193 ( $p = 0,0673$ ) konnte über der Ableitung Pz eine tendenzielle Assoziation in der PatientInnengruppe bezogen auf die P300-Wellenamplitude aufgezeigt werden (Abbildung 11).



**Abbildung 11:** Graphische Darstellung der Assoziation (p-Werte) zwischen dem SNP rs12763193 und der Amplitude der P300-Welle. Die y-Achse (p-Werte) ist logarithmisch skaliert. Die p-Werte wurden getrennt nach Gesamt-, PatientInnen- und Kontrollgruppe den Ableitungen (Fz = zentro-frontal, Cz = zentro-zentral, Pz = zentro-parietal) zugeordnet. Die durchgezogene gelbe Linie markiert das Signifikanzniveau für Trends  $p = 0,1$ .

Der seltenere Genotyp TT bei PatientInnen war eher mit einer Amplitudenreduktion der P300-Welle über der Ableitung Pz vergesellschaftet. Die höheren Amplituden wurde bei TeilnehmerInnen der PatientInnengruppe mit dem Genotyp CC gemessen (Tabelle 21).

**Tabelle 21:** Mittelwerte der P300-Amplitude über Pz nach Genotypen für rs12763193

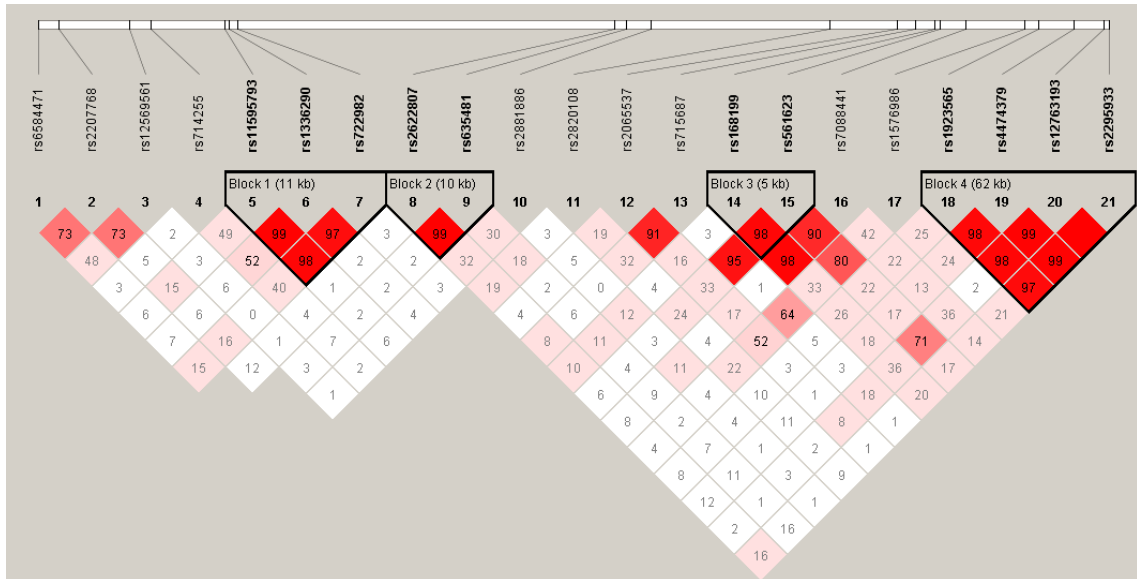
Gruppe	Genotyp			B
	T/T	C/T	C/C	
Pz - PatientInnen (n = 113)				-0,2375
n (%)	21 (18,6)	53 (46,8)	39 (34,4)	
M (SE)	-0,269 (0,175)	-0,031 (0,094)	0,205 (0,141)	

n = Anzahl der ProbandInnen, M = adjustierte Mittelwerte, SE = Standardfehler, B = Regressionskoeffizient

#### 4.4 Ergebnisse der Haplotypanalyse

Nahe beieinander auf dem Genom lokalisierte SNPs werden häufig nicht einzeln vererbt, sondern gemeinsam als ein Haplotypblock.

Um diese überzufällige gekoppelte Vererbung zweier oder mehrerer Allele, *Linkage Disequilibrium* (LD) oder Kopplungsungleichgewicht genannt, zu erfassen, wurden die 21 Polymorphismen in der Stichprobe 1 paarweise auf ein *Linkage Disequilibrium* hin untersucht, wobei 4 Haplotypblöcke erfasst werden konnten (Abbildung 12).



**Abbildung 12:** Darstellung der LD-Blockstruktur der 21 untersuchten SNPs in der Gesamtstichprobe (Stichprobe 1). Die in den Rauten angegebene Zahl gibt den zu den jeweiligen SNP-Paaren gehörigen D-Wert an. Keine Zahl bedeutet 100 Prozent.  $D'$  = Koeffizient des *Linkage Disequilibriums*

Ein Haplotyp besteht aus den individuellen Allelen der jeweilig zum Haploblock gehörenden SNPs. Im Rahmen der Haplotypanalyse wurden die unterschiedlichen Haplotypen der Blöcke auf eine signifikante Assoziation zu einer Amplitudenveränderung der P300-Welle über den jeweiligen EEG-Ableitungen untersucht.

Der Haplotyp GCT in Block 1 (11kb), bestehend aus den SNPs rs11595793, rs1336290 und rs722982, konnte in der PatientInnengruppe und der Gesamtgruppe in der EEG-Ableitung Cz und Pz signifikant mit einer Amplitudenminderung der P300-Welle assoziiert werden. Der Haplotyp GCC desselben Haplotypblocks zeigte zudem ebenfalls in der PatientInnen- und Gesamtgruppe höhere P300-Amplituden über der Ableitung Pz.

Auch in Haploblock 2 (10kb) (rs2622807, rs635481) konnte in der Schizophreniegruppe der Haplotyp GA mit niedrigeren P300-Amplituden über der Ableitung Pz in Verbindung gebracht werden sowie der komplementäre Haplotyp AG tendenziell mit höheren Amplituden (Tabelle 22).



**Tabelle 22:** Assoziation der Haplotypen mit einer Veränderung in der P300- Amplitude (in blau unterlegt die signifikanten Ergebnisse)

Haplotypblock	Gruppe	Abl.	Haplotyp	F	B	P
Block 1: rs11595793, rs1336290, rs722982	PatientInnen	Cz	GCT	0,0451	-0,7630	0,0046
		Pz		0,0451	-0,8140	0,0021
			GCC	0,3340	0,2720	0,0408
	Gesamt	Cz	GCT	0,0508	-0,4510	0,0084
		Pz		0,0508	-0,5420	0,0014
			GCC	0,3210	0,1610	0,0452
Block 2: rs2622807, rs635481	PatientInnen	Pz	GA	0,6480	-0,2510	0,0465
			Trend (p<0,1)			
			AG	0,3320	0,2420	0,0536

Abl. = EEG-Ableitung, F = Haplotypfrequenz, B = Regressionskoeffizient, p = Signifikanzniveau (p<0,05),

#### 4.5 Assoziationen mit der PANSS

In einer zweiten Stichprobe bestehend aus schizophrenen PatientInnen wurde die Assoziation zwischen SNPs und einzelnen Aspekten der PANSS-Skala untersucht.

Zur weiteren Analyse wurden die in Stichprobe 1 einzeln mit einer Amplitudenveränderung signifikant assoziierten SNPs rs2622807 und rs635481, welche zudem den Haplotypblock 2 darstellten, sowie die SNPs rs11595793, rs1336290, rs722982, welche den Haplotypblock 1 bildeten und als dieser signifikant assoziiert waren, ausgewählt.

Da der SNP rs2622807 in der Stichprobe 2 nicht direkt bestimmt wurde, wurde ein Proxy ermittelt. Für diesen, mit dem SNP rs2622807 ( $r^2 = 0,71$ ,  $D' = 0,98$ ) im LD liegenden SNP rs581628 (minores Allel = A, majores Allel = G) konnten keine signifikanten Assoziationen mit der PANSS gefunden werden. Auch für den SNP rs635481 ( $r^2 = 0,64$ ,  $D' = 0,92$ ) wurde ein Proxy ermittelt, welcher jedoch dem für rs2622807 (rs581628) entsprach, sodass hier ebenfalls keine signifikanten Assoziationen vorlagen. Damit ergaben sich für die beiden SNPs des LD-Blocks 2 keine Zusammenhänge zur Symptomlast.

Für die beiden SNPs rs11595793 ( $r^2 = 0,94$ ,  $D' = 0,98$ ) und rs1336290 ( $r^2 = 0,74$ ,  $D' = 0,96$ ), die beide im LD-Block 1 enthalten waren, wurden ebenfalls derselbe Proxy (rs12769829, minores Allel = A, majores Allel = G) verwendet. In Stichprobe 2 wurde daher für beide SNPs mithilfe des Proxys rs12769829 die Assoziation zur Symptomlast überprüft. Es konnte eine signifikante Assoziation zwischen dem selteneren A-Allel und dem verstärkten Auftreten von Schuldgefühlen (G3) ( $p = 0,030$ ,  $B = 0,569$ ) gemessen mit der PANSS-Skala gefunden werden.

Auch für den dritten SNP des LD-Blocks 1 (rs722982,  $r^2 = 0,73$ ,  $D' = 0,96$ ) wurde in der zweiten Stichprobe ein Proxy (rs1649943, minores Allel = A, majores Allel = G) verwendet. Eine signifikante Assoziation konnte nicht erfasst werden, jedoch eine tendenzielle Assoziation zwischen dem selteneren Allel A und ebenfalls dem verstärkten Auftreten von Schuldgefühlen (G3) ( $p = 0,084$ ,  $B = 0,476$ ) anhand der PANSS.

## **5 Diskussion**

### **5.1 Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse**

In dieser Arbeit wurde die Assoziation von 21 Polymorphismen im NRG3-Gen als Einzel-SNPs und im Rahmen von Haplotypen in LD-Blöcken zu einer Amplitudenänderung der P300-Welle im EEG untersucht. Die signifikanten Polymorphismen wurden weiter in einer zweiten Stichprobe auf Assoziationen mit klinischen Phänotypen anhand der PANSS geprüft.

Insgesamt konnten zwei signifikante Assoziationen zwischen SNPs des NRG3-Gens (rs2622807, rs635481) und der P300-Amplitude über Pz in der PatientInnenstichprobe identifiziert werden, welche in der Haplotypanalyse bestätigt wurden. Ein Zusammenhang zur Psychopathologie gemessen mit der PANSS ergab sich hier nicht.

Ein weiterer Haplotypblock (rs11595793, rs1336290, rs722982) zeigte sich ebenfalls nominal signifikant mit der Amplitude über Pz in der PatientInnengruppe assoziiert. Die assoziierten Haplotypen unterschieden sich lediglich für rs722982, wobei der das seltenere Allel enthaltende Haplotyp GCC mit einer höheren Amplitude einherging. Zusätzlich fanden sich hier Assoziationen in der Gesamtgruppe sowie über der Ableitung Cz. Es scheint auch ein Zusammenhang zu dem Auftreten von Schuldgefühlen (PANSS) zu bestehen. Die selteneren Allele waren jeweils häufiger bei erhöhten Schuldgefühlen zu finden.

Unterschwellige Zusammenhänge ergaben sich zusätzlich über der Ableitung Fz, hier jedoch ausschließlich in der Kontrollgruppe (4 SNPs), gemeinsam über den Ableitungen Cz und Pz (1 SNP bei PatientInnen, Cz zusätzlich auch in der Gesamtgruppe) sowie über der Ableitung Pz allein (2 SNP).

#### **Ergebnisse über Fz**

Mit Zunahme des minoren Allels C des SNPs rs1336290 bei der Kontrollgruppe ließ sich über Fz eine P300-Amplitudenminderung erfassen.

Außerdem konnten bei der Kontrollgruppe über der Ableitung Fz das minore Allel A des SNP rs561623 sowie das minore Allel G des SNP rs7088441 eher mit einer höheren P300-Amplitude, das minore Allel C des SNP rs1576986 eher mit einer niedrigeren Amplitude in Verbindung gebracht werden.

#### **Ergebnisse über Cz**

Für das minore Allel G des SNPs rs658471 zeigte sich in der PatientInnen- und Gesamtgruppe über der Ableitung Cz eher eine Amplitudenminderung der P300-Welle.

Zudem konnte beim Haplotyp GCT des LD-Blocks 1 (rs11595793, rs1336290, rs722982) über der Ableitung Cz (und Pz) bei der PatientInnen- und Gesamtgruppe eine Amplitudenminderung der P300-Welle beobachtet werden.

### **Ergebnisse über Pz**

Mit Zunahme des minoren Allels A des SNPs rs2622807 und des minoren Allels G des SNPs rs635481 war in der EEG-Ableitung Pz eine Amplitudenerhöhung in der PatientInnengruppe assoziiert. Zudem korrelierte bei Haploblock 2 (rs2622807, rs635481) in der PatientInnengruppe über Pz der Haplotyp GA mit einer Amplitudenminderung der P300-Welle, beim komplementären Haplotyp AG wurde eher einer Amplitudenerhöhung erfasst. Zusammenfassend wird das je selteneren Allel bei der PatientInnengruppe bei rs2622807 und rs635481 häufiger bei einer höheren P300-Amplitude über Pz beobachtet. Eine signifikante Verbindung zu klinischen Phänotypen anhand der PANSS-Skala wurde nicht erfasst.

Auch mit Zunahme des minoren Allels G des SNPs rs6584471 wurde in der PatientInnengruppe über Pz eine tendenzielle Assoziation mit einer Amplitudenminderung der P300-Welle gefunden. Das minore Allel T des SNPs rs12763193 der PatientInnengruppe konnte ebenfalls eher mit einer Amplitudenminderung in Verbindung gebracht werden.

Der Haplotyp GCT des Haploblock 1 (rs11595793, rs1336290, rs722982) zeigte über der Ableitung Pz (und Cz) in der PatientInnen- und Gesamtgruppe gehäuft eine Amplitudenminderung der P300-Welle im EEG. Der Haplotyp GCC hingegen konnte über Pz in denselben Gruppen mit einer Amplitudenerhöhung verbunden werden. Beim minoren Allel C des SNP rs722982 wurde in der Einzel-SNP Analyse eher eine höhere P300-Amplitude in der PatientInnen- und Gesamtgruppe beobachtet, was darauf hinweisen könnte, dass das Signal des Haploblocks von rs722982 getrieben wird.

Zudem konnte eine signifikante Assoziation mit Zunahme des jeweils selteneren Allels der SNPs rs1336290 und rs11595793, für beide wurde ein gemeinsamer Proxy verwendet, mit dem vermehrten Auftreten von Schuldgefühlen in der PANSS erfasst werden. Auch für den SNP rs722982 konnte mithilfe eines Proxys ein Trend zwischen dem selteneren C-Allel und dem verstärkten Auftreten von Schuldgefühlen anhand der PANSS-Skala gefunden werden.

Dies scheint darauf hinzuweisen, dass die minoren Allele der SNPs aus dem LD-Block 1 mit vermehrten Schuldgefühlen und bezogen auf die P300-Welle getrieben durch das seltenere C-Allel des SNPs rs722982 mit einer höheren P300-Amplitude über Pz assoziiert sein könnten.

### **5.2 Diskussion der Methoden**

Die hier vorliegende Studie wurde als genetische Assoziationsstudie in zwei Stichproben durchgeführt.

Bei der Datenerhebung wurde sich an stringente Ein- und Ausschlusskriterien gehalten. Die Inkludierung der ProbandInnen erfolgte nach einem standardisierten Schema und mittels etablierter Testverfahren. Beispielsweise wurde beim PatientInnenkollektiv zur Diagnosesicherung, bei den TeilnehmerInnen der Kontrollgruppe, um mögliche psychische Erkrankungen auszuschließen, eine Befragung nach dem DSM-IV mit SKID I, SKID II und PANSS durchgeführt. Zudem wurde der FHAM zur Erfassung psychisch kranker Angehöriger und bei

## Diskussion

Kontrollpersonen über 60 Jahren ein Mini-Mental-State-Test zum Demenzausschluss durchgeführt.

Die Assoziationen der Stichprobe 2 mit der PANSS-Skala wurde mittels Proxies ermittelt. Das LD zwischen den jeweiligen P300-SNPs und den Proxies wurden mithilfe von  $r^2$  und  $D'$  validiert.

Auch die EEG-Erhebung wurde einheitlich nach standardisierten Bedingungen und dem Auditory Oddball Paradigma durchgeführt.

Insgesamt konnte durch dieses Vorgehen die Objektivität der Studienergebnisse gewährleistet werden.

Alle ProbandInnen waren kaukasisch, was zu einer ethnischen Homogenität innerhalb der Studiengruppe und einer Vergleichbarkeit mit anderen kaukasischen Kollektiven führte. Ein globaler Vergleich der Studienergebnisse war dadurch jedoch limitiert.

Die EEG-Datenerhebung erfolgte bei insgesamt 372 Personen (116 PatientInnen und 256 Kontrollpersonen), die Stichprobe 2 umfasste 112 PatientInnen. Das somit relativ kleine Studienkollektiv kann Auswirkungen auf die Aussagekraft der Ergebnisse haben.

Innerhalb der Studiengruppe 1 gab es einen signifikanten Unterschied zwischen dem Geschlecht und der Zugehörigkeit zur PatientInnen- oder Kontrollgruppe. So gab es in der PatientInnengruppe ein Ungleichgewicht zugunsten der männlichen Probanden (72:44, m:w). Und auch zwischen dem Alter bei EEG-Datenerhebung und Zugehörigkeit zur PatientInnen- bzw. Kontrollgruppe wurde eine signifikante Diskrepanz erfasst. Die ProbandInnen der Schizophreniegruppe waren im Mittel bei der EEG-Datenerhebung deutlich jünger als die TeilnehmerInnen der Kontrollgruppe (PatientInnen:Kontrollen, 39,47:46,21 in Jahren). In Stichprobe 2 ergab sich kein signifikanter Unterschied bezüglich des Geschlechts (59:53, m:w). Generell ist zwar eine möglichst homogene Studiengruppe anzustreben jedoch ist es von Vorteil, wenn die Kontrollgruppe älter ist, da so eine mögliche zukünftige Schizophrenieerkrankung eher ausgeschlossen werden kann. Die Abweichung zwischen den Gruppen ist in der Betrachtung der Ergebnisse zu berücksichtigen.

### **5.3 Vergleich mit der europäischen Stichprobe des 1000 Genomes Projects**

Um die Homogenität innerhalb der Studiengruppe zu gewährleisten wurden nur kaukasische Personen europäischer Herkunft in die Studiengruppe inkludiert. Dadurch konnte eine Vergleichbarkeit mit anderen kaukasischen Kollektiven ermöglicht werden. Im Folgenden wurde zur genaueren Darstellung die Allelfrequenzen der signifikant und tendenziell assoziierten SNPs mit der europäischen Stichprobe des *1000 Genomes Projects* verglichen:

Der signifikant assoziierte Polymorphismus rs2622807 (MAF = 32,0 %) zeigte in der inkludierten Stichprobe vergleichbare Allelfrequenzen mit der europäischen Stichprobe des *1000 Genomes Projects* (MAF = 32,1 %). Der Vergleich der Allelfrequenzen bei dem ebenso signifikant

assoziierten SNP rs635481 (MAF = 30,2 %) stimmten ebenso annähernd mit der europäischen Vergleichsstichprobe (MAF = 31,2 %) überein.

Für die Trend-Polymorphismen rs6584471 (MAF = 44,2 %), rs1576986 (MAF = 27,0 %) und rs12763193 (MAF = 45,2 %) konnte eine Vergleichbarkeit mit der europäischen *1000 Genomes Project* Stichprobe (MAF = 44,6 %; 25,0 %; 45,9 %) festgestellt werden. Die Trend-Polymorphismen rs722982 (MAF = 32,8 %) und rs561623 (MAF = 30,4 %) waren ebenso zu der europäischen Vergleichsstichprobe passend (MAF = 29,7 %; 34,8 %). Der SNP rs7088441 (MAF = 46,0 %) zeigte Unterschiede zur europäischen *1000 Genomes Project* Population, bei welcher das in dieser Studie minore Allel G, mit einer MAF von 52,1 % das majore Allel darstellte. Für den Polymorphismus rs1336290 (MAF = 37,4 %) konnten ebenso Übereinstimmungen mit der europäischen *1000 Genome Project* Stichprobe (MAF = 34,4 %) gezeigt werden. (Ensembl 2023)

Ein globaler Vergleich mit anderen Gruppen war aufgrund der ethnischen Homogenität nur limitiert möglich, was in der weiteren Betrachtung der Ergebnisse zu berücksichtigen ist.

### 5.4 Einflussnahme der SNPs

Nur einer der untersuchten SNPs (rs2295933), für welchen in dieser Studie keine Signifikanz nachgewiesen werden konnte, befand sich in einem Exon (Exon 11) des NRG3-Gens. Ein Exon ist der Teil des Gens, welcher bei den posttranskriptionellen Spleißvorgängen erhalten bleibt und die reife mRNA bildet. Dieser Polymorphismus hat jedoch meist keinen Einfluss auf das Genprodukt, da trotz des Nukleotidaustausches für die gleiche Aminosäure kodiert wird. Dennoch kann, je nach Transkriptionsvariante, selten auch eine Veränderung der kodierten Aminosäure oder eine Veränderung des Transkriptionsablaufes resultieren, was direkte Veränderungen nach sich zieht (Cichon et al. 2002; Wong et al. 2021).

Die übrigen untersuchten SNPs befanden sich alle in intronischen Bereichen des NRG3-Gens. Durch eine Vielzahl an epigenetischen Modifikationen können sich jedoch auch diese Polymorphismen auswirken. Auch unterliegt das NRG3-Gen insbesondere im Neokortex differenzierten Spleißvorgängen (Paterson et al. 2017). Die Polymorphismen können Einfluss auf diese nehmen und so durch alternatives Spleißen unterschiedliche NRG3-Isoformen erzeugen, welche die neuronale Entwicklung beeinflussen können (Zeledón et al. 2015). Zudem kann durch in Introns gelegene Polymorphismen auch Einfluss auf die Genexpression genommen werden. Zum einen können dort gelegene SNPs die Prozessivität verändern, durch die regulatorische Wirkung auf die Transkription zu einer veränderten, verminderten oder beispielsweise durch die Bildung von alternativen Promotoren ein vermehrte Proteinbildung bewirken, zum anderen zu einer Veränderung der Sekundärstruktur der DNA führen (Barrett et al. 2012).

### 5.5 Diskussion der Studienergebnisse

NRG3 gewann die letzten Jahre als Suszeptibilitätsgen für Schizophrenie an Aufmerksamkeit. Neureguline binden an die jeweiligen ErbB-Rezeptoren, NRG3 nur an ErbB4, und aktivieren so

Signalwege, welche Apoptose, Zellmigration, Zellausdifferenzierung oder -teilung nach sich führen (Falls 2003). Neuregulin 3 lässt sich lebenslang insbesondere im präfrontalen Kortex aber auch in anderen Hirnarealen finden, wobei bestimmte Isoformen zu unterschiedlichen Phasen verstärkt exprimiert werden (Paterson et al. 2017). Dies macht seine Bedeutung in der kortikalen Entwicklung deutlich.

Einige Polymorphismen im NRG3-Gen konnten bereits in zahlreichen Studien verschiedener Populationen erfolgreich mit einer erhöhten Erkrankungsanfälligkeit assoziiert werden (Fallin et al. 2003; Fallin et al. 2005; Wang et al. 2008; Morar et al. 2011; Tost et al. 2014). Die stringente Zuteilung zwischen genetischen Variationen und bestimmten Erkrankungen hat sich inzwischen vor dem Hintergrund der zahlreichen Überschneidungen psychiatrischer Erkrankungen zugunsten eines Fokus auf verschiedene Erkrankungssymptome oder neurophysiologische Auffälligkeiten, unter anderem Wahn, Aufmerksamkeitsdefizite oder andere kognitive Einschränkungen verschoben (Chen et al. 2009; Kao et al. 2010; Morar et al. 2011; Li et al. 2020; Zhou et al. 2020). In einer Studie von Tost et al. (2014) konnte beispielsweise eine Veränderung in der präfrontalen Kortexphysiologie während der Aktivierung des Arbeitsgedächtnisses mit einem SNP im NRG3 in Verbindung gebracht werden, während Meier et al. (2013) genetische Überschneidungen zwischen Schizophrenie- und Bipolar-I-PatientInnen herausarbeiten konnten (Meier et al. 2013). Dazu passend wurde in dieser hier vorgestellten Studie eine Assoziation zwischen den SNPs rs11595793 und rs1336290 mit dem verstärkten Auftreten von Schuldgefühlen in der PANSS erfasst, was den Ansatz einer zugrunde liegenden Genetik als gemeinsame Basis mehrerer psychiatrischer Erkrankungen bzw. Symptome unterstützt.

Von den in dieser Studie untersuchten 21 Polymorphismen des NRG3-Gens wurden bisher keine im Zusammenhang mit einer Veränderung der P300-Amplitude untersucht.

Einige der, in dieser Studie untersuchten Polymorphismen im NRG3-Gen wurden auch mit anderen Erkrankungen in Verbindung gebracht. So konnte der tendenziell mit einer Amplitudenminderung assoziierte SNP rs6584471 signifikant mit Morbus Hirschsprung (Wang et al. 2016), die Polymorphismen rs561623 und rs7088441 unter anderem mit einer Suszeptibilität für Morbus Alzheimer verknüpft werden (Wang et al. 2014). Bei Wang et al. (2008) und bei koreanischen PatientInnen in einer Untersuchung von Sujin Shin et al. (2012) wurde analog zu diesen Studienergebnissen keine signifikante Assoziation für den im Exon gelegenen SNP rs2295933 gefunden.

Kao et al. (2010) fanden eine verstärkte NRG3-Expression in den Gehirnen Schizophreniekranker, welche durch spezifische alternative Transkripte verursacht wurde. Darauf aufbauend gelang es Zeledón et al. (2015) in vitro eine Allel-spezifische Differenz derselben Variation im NRG3 in Reporter-gen-Expression zu identifizieren. Ebenso wurde von einer verringerten Expression bestimmter Transkripte bei TrägerInnen des Risikoallels des SNP rs10748842 im dorsolateralen präfrontalen Kortex und im Gyrus temporalis superior in einer postmortalen Untersuchung berichtet (Zeledón et al. 2015). In einer weiteren postmortalen Studie am Gewebe des dorsolateralen präfrontalen Kortex konnten verschiedene Expressionsmuster der 4 Isoformklassen des NRG3 abhängig von der Entwicklungsstufe und des Lebensabschnitts

aufgezeigt werden (Paterson et al. 2017). Die Bedeutung der Expression des NRG3 für neuronales Überleben konnte zudem in einer weiteren Untersuchung untermauert werden (Plani-Lam et al. 2015).

Weiter wurde eine Störung im NRG3-Gen und deren mögliche Auswirkung auf die Suszeptibilität für Schizophrenie in mehreren Tierstudien dargelegt (Avramopoulos 2018). Sowohl eine induzierte Überexpression als auch eine verminderte Expression manifestierte sich in Schizophrenie-ähnlichen Symptomen. Eine vermehrte Expression im medialen präfrontalen Kortex zog ein verstärkte Impulsivität, eine generelle Überexpression gestörtes Sozialverhalten im Erwachsenenalter nach sich (Paterson und Law 2014; Loos et al. 2014). Hayes et al. (2016) wiesen eine gestörte Präpulsinhibition, Hyperaktivität und eine mangelhafte Angstkonditionierung bei fehlendem NRG nach.

Trotz zum Teil ambivalenter Studienergebnisse, ist die Assoziation verschiedener Polymorphismen im NRG3-Gen mit dessen Rolle in der neuronalen Entwicklung mit verschiedenen Aspekten der Schizophrenie oder der Krankheitssuszeptibilität selbst stark impliziert. Es bedarf weiterer Untersuchungen, um die genauen Einflüsse auf den Phänotypen zu klären.

### **5.6 Die P300-Welle als Endophänotyp**

Wie bereits von O'Donnell et al. (1999) postuliert, ist eine Veränderung der P300-Welle als potentieller Endophänotyp der Schizophrenie inzwischen mehrfach dargelegt worden (Thaker 2008; Light et al. 2012; Hamilton et al. 2018). Die P300-Amplitude entspricht den von Gottesman und Gould (2003) dargelegten Kriterien eines Endophänotyps. Zum einen entspricht die EEG-Welle einem reproduzierbaren Merkmal, welches messbar und vergleichbar ist, zum anderen konnte, im Gegensatz zu bei Erkrankten keine Amplitudenminderung bei nicht verwandten Kontrollen gefunden werden (Hamilton et al. 2018). Bei nicht erkrankten Verwandten von SchizophreniepatientInnen wurde jedoch laut Thaker (2008) eine Veränderung der P300-Amplitude gemessen. Demgegenüber stehen Ergebnisse von Tang et al. (2019), welche keinen Unterschied in der P300-Amplitude zwischen PatientInnen in Remission und gesunden Kontrollpersonen, wohl aber zu akut psychotischen Erkrankten beschrieben.

Auch wenn die Deutung der P300-Amplitudenänderung noch nicht endgültig geklärt ist, stellt die akustisch evozierte P300-Welle neben anderen neurophysiologischen und kognitiven Merkmalen einen validen Endophänotypen dar.

### **5.7 Diskussion der Korrelation von NRG3 und der P300-Amplitude**

In dieser Untersuchung konnte eine Assoziation zwischen Polymorphismen des NRG3-Gens und einer Veränderung der P300-Amplitude im EEG dargelegt werden. Wie bereits erörtert, führten die Variationen rs2622807-A und rs635481-G als Einzel-SNPs über der zentro-parietalen Ableitung zu einer Amplitudenerhöhung bei der PatientInnengruppe. Der konträre Haplotyp GA des beide SNPs beinhaltenden Haploblocks 2 konnte hingegen signifikant mit einer

## Diskussion

Amplitudenminderung über Pz bei schizophrenen ProbandInnen assoziiert werden. Auch eine erniedrigte Amplitude konnte mit dem Haplotyp GCT des Block 1 über Pz und Cz für PatientInnen- und die Gesamtgruppe signifikant korreliert werden. Die Änderung des Haplotyps zu GCC wurde mit einer Wellenerhöhung über Pz bei PatientInnen und in der Gesamtgruppe assoziiert. Analog dazu konnte der SNP rs722982 bei Zunahme des minoren Allels C mit einer Amplitudensteigerung tendenziell assoziiert werden.

Eine Amplitudenminderung bei Schizophreniekranken wurde bereits durch Hamilton et al. (2018) und Kim et al. (2018) aufgezeigt. Wie auch Tang et al. (2019) konnten Rawdon et al. (2013) diese Ergebnisse über der parietalen Ableitung bei psychotischen PatientInnen bestätigen. Ebenso wurde die verringerte P300-Amplitude in Verbindung mit der Chronizität der Schizophrenie impliziert (Johannesen et al. 2013). Die mit einer Amplitudenerhöhung assoziierten Allele könnten somit eher eine Bedeutung als protektive Faktoren innehaben.

In einer Untersuchung des bereits mehrfach mit Schizophrenie assoziierten Polymorphismus rs10748842 im NRG3-Gen, wurde jedoch keine signifikante Assoziation zu einer Amplitudenänderung gefunden (Kao et al. 2010; Díez et al. 2014).

Trotz teilweise ambivalenter Ergebnisse kann eine Verbindung zwischen dem NRG3-Gen und Veränderungen in der P300-Welle durch mehrere Aspekte hergestellt werden. Veränderungen in der Amplitude sind abhängig von mentalen Verarbeitungsprozessen, wie der Aufmerksamkeit der ProbandInnen (El Karoui et al. 2015; Huang et al. 2015). Eine Minderung der P300-Amplitude spricht demzufolge für ein Aufmerksamkeitsdefizit.

Meier et al. (2013) waren in der Lage eine solche Assoziation zwischen dem NRG3-Gen und Aufmerksamkeitsdefiziten darzustellen. Dies wurde von Zhou et al. (2020) bei einer chinesischen Untersuchung unterstützt, bei welcher signifikant schlechtere Ergebnisse bei einer Testung im Bereich Aufmerksamkeit mit schizophrenen PatientInnen assoziiert werden konnten. Auch Li et al. (2020) fanden bei ihrem Studienkollektiv eine Assoziation zwischen Polymorphismen im NRG3 und schlechteren Aufmerksamkeitsleistungen, jedoch keine direkte Assoziation zur Krankheitsanfälligkeit. Eine Korrelation zwischen Defizit-bedingenden, zugrundeliegenden Variationen im NRG3-Gen und einer daraus resultierenden Änderung der P300-Amplitude, ist daher durchaus naheliegend.

Die P300-Welle lässt sich insbesondere an den zentro-parietalen Ableitungen beobachten (Thaker 2008; Ramchurn et al. 2014). Die Amplitude ist laut Yamaguchi und Knight (1992) von der Intaktheit der temporoparietalen Verbindung abhängig und impliziert die Relevanz einer funktionsfähigen Schaltung zwischen frontalen und temporoparietalen Arealen. Es kann diskutiert werden, dass für eben diesen Schaltungspfad NRG3 in seiner Bedeutung in der neuronalen Entwicklung relevant ist. Die insbesondere im präfrontalen Kortex prominent während der Entwicklungsphasen exprimierten und von Variationen im Gen beeinflussten Isoformen des NRG3 könnten somit auf dessen Ausbildung einwirken (Paterson et al. 2017). Wie Bartolini et al. (2017) aufzeigen, wird NRG3 während der Kortexentwicklung, wie auch in reifen Stadien



insbesondere in Pyramidenzellen exprimiert. Dort bleibt die Expression konstant erhalten während die Reifung voranschreitet und unterschiedliche Lagen der Großhirnrinde gebildet werden (Bartolini et al. 2017). Huang et al. (2015) beschreiben die P300-Amplitude als gebündelte synchronisierte Entladung von pyramidalen Neuronen im Kortex. Auch dies deutet auf einen möglichen Einfluss des Gens auf die Generierung der Amplitude hin.

### 5.8 Ausblick

Die Assoziation von Polymorphismen im Neuregulin 3 mit einer Veränderung der P300-Amplitude als Endophänotyp ist nicht abschließend geklärt. Neben vielen vorhergehenden Untersuchungen deuten die, in dieser Studie dargestellten Assoziationen jedoch auf eine mögliche Verbindung zwischen Variationen im NRG3 und deren Auswirkung auf die Amplitude der P300-Welle hin.

Sowohl die möglichen Effekte einzelner genetischer Variationen im NRG3, als auch die Rolle und Bedeutung des Gens mit seinen Isoformen im Rahmen der neuronalen Entwicklung werfen noch immer viele Fragen auf. Auch um die Korrelation zwischen Genetik und den Veränderungen der P300-Amplitude eindeutig zu klären, werden weitere, tiefgreifende Untersuchungen benötigt.

Es bedarf weiterer nachfolgender Untersuchungen an großen und homogenen Stichproben, um eine konkrete und eindeutige Studienlage zu schaffen. Dennoch können die, in dieser Studie dargestellten Assoziationen trotz ihrer Limitationen einen Anstoß geben, das Suszeptibilitätsgen NRG3 und die P300-Amplitude als Endophänotypen in den Fokus zukünftiger Untersuchungen zu rücken und somit möglicherweise einen kleinen Teil zur Aufklärung der Ätiologie der Schizophrenie beitragen.

Schizophrenie ist eine gravierende psychische Erkrankung, die für Betroffene und ihre Angehörigen weitreichende Auswirkungen nach sich zieht. Es wird von einer polygenetischen und multifaktoriellen Krankheitsentstehung ausgegangen.

Während der letzten Jahre konnten mithilfe genomweiter Assoziationsstudien eine Vielzahl an potentiellen Suszeptibilitätsgenen gefunden werden. Untersuchungen verschiedener Variationen, wie SNPs in den einzelnen Genen, konnten zur Klärung der heterogenen Ätiologie beitragen. Dennoch ist die Suche nach weiteren, mit der Krankheitsanfälligkeit assoziierten Genloci erforderlich.

Auch Endophänotypen, messbare und reproduzierbare Merkmale, die direkt genetisch beeinflusst sind und somit zwischen Genotyp und klassischem Phänotyp einzureihen sind, trugen maßgeblich zum Diskurs bei. Die Untersuchung möglicher neurophysiologischer, wie die P300-Welle, und kognitiver Phänotypen in ihrer Assoziation zu potentiellen Suszeptibilitätsgenen, bietet die Möglichkeit genetische Einflüsse direkter zu erfassen. Zudem können mithilfe von Endophänotypen Überschneidungen in der genetischen Grundlage verschiedener psychiatrischer Erkrankungen mit ähnlichen oder überschneidenden Symptomenkomplexen dargestellt werden.

## Diskussion

Neben den genetischen Faktoren tragen auch soziale und Umwelteinflüsse, wie Winter- bzw. Frühlingsgeburt, pränatale Infektionen, Leben in urbanen Regionen und Migration zur Krankheitsanfälligkeit bei. Diese Risikofaktoren und ihr Zusammenwirken mit genetischen Komponenten bedürfen ebenso weiterer Nachforschungen.

Weitreichende Untersuchungen könnten die nächsten Jahre unsere Wissenslücken bezüglich Genetik, Suszeptibilität und Ätiologie der Schizophrenie zunehmend schließen und so unser Verständnis der Schizophrenie maßgeblich formen.

## 6 Literaturverzeichnis

Allen, Allyssa J.; Griss, Mélina E.; Folley, Bradley S.; Hawkins, Keith A.; Pearlson, Godfrey D. (2009): Endophenotypes in schizophrenia: a selective review. In: *Schizophrenia research* 109 (1-3), S. 24–37. DOI: 10.1016/j.schres.2009.01.016.

Arnold, M.; Raffler, J.; Pfeufer, A.; Suhre, K.; Kastenmüller, G. (2014): SNiPA: an interactive, genetic variant-centered annotation browser. Hg. v. Bioinformatics. Online verfügbar unter [https://snipa.helmholtz-muenchen.de/snipa3/index.php?task=proxy\\_search](https://snipa.helmholtz-muenchen.de/snipa3/index.php?task=proxy_search), zuletzt geprüft am 05.03.2022.

Avramopoulos, Dimitrios (2018): Neuregulin 3 and its roles in schizophrenia risk and presentation. In: *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics* 177 (2), S. 257–266. DOI: 10.1002/ajmg.b.32552.

Balciuniene, Jorune; Feng, Ningping; Iyadurai, Kelly; Hirsch, Betsy; Charnas, Lawrence; Bill, Brent R. et al. (2007): Recurrent 10q22-q23 deletions: a genomic disorder on 10q associated with cognitive and behavioral abnormalities. In: *American journal of human genetics* 80 (5), S. 938–947. DOI: 10.1086/513607.

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

Barrett, Lucy W.; Fletcher, Sue; Wilton, Steve D. (2012): Regulation of eukaryotic gene expression by the untranslated gene regions and other non-coding elements. In: *Cellular and molecular life sciences : CMLS* 69 (21), S. 3613–3634. DOI: 10.1007/s00018-012-0990-9.

Bartolini, Giorgia; Sánchez-Alcañiz, Juan Antonio; Osório, Catarina; Valiente, Manuel; García-Frigola, Cristina; Marín, Oscar (2017): Neuregulin 3 Mediates Cortical Plate Invasion and Laminar Allocation of GABAergic Interneurons. In: *Cell reports* 18 (5), S. 1157–1170. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.12.089.

Benzel, Isabel; Bansal, Aruna; Browning, Brian L.; Galwey, Nicholas W.; Maycox, Peter R.; McGinnis, Ralph et al. (2007): Interactions among genes in the ErbB-Neuregulin signalling network are associated with increased susceptibility to schizophrenia. In: *Behavioral and brain functions : BBF* 3, S. 31. DOI: 10.1186/1744-9081-3-31.

Berger, Mathias (Hg.) (2009): Psychische Erkrankungen. Klinik und Therapie. Unter Mitarbeit von Jörg Angenendt. 3., vollst. neu bearb. und erw. Aufl. mit Online-Zugang. München, Jena: Elsevier, Urban & Fischer.

Bipolar Disorder and Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium (2018): Genomic Dissection of Bipolar Disorder and Schizophrenia, Including 28 Subphenotypes. In: *Cell* 173 (7), 1705-1715.e16. DOI: 10.1016/j.cell.2018.05.046.

Blair, Lisa M.; Pickler, Rita H.; Anderson, Cindy (2016): Integrative Review of Genetic Factors Influencing Neurodevelopmental Outcomes in Preterm Infants. In: *Biological research for nursing* 18 (2), S. 127–137. DOI: 10.1177/1099800415605379.

Braff, David L. (2015): The importance of endophenotypes in schizophrenia research. In: *Schizophrenia research* 163 (1-3), S. 1–8. DOI: 10.1016/j.schres.2015.02.007.

Carteron, Christelle; Ferrer-Montiel, Antonio; Cabedo, Hugo (2006): Characterization of a neural-specific splicing form of the human neuregulin 3 gene involved in oligodendrocyte survival. In: *Journal of cell science* 119 (Pt 5), S. 898–909. DOI: 10.1242/jcs.02799.

- Chance, Steven A.; Casanova, Manuel F.; Switala, Andy E.; Crow, Timothy J. (2008): Auditory cortex asymmetry, altered minicolumn spacing and absence of ageing effects in schizophrenia. In: *Brain : a journal of neurology* 131 (Pt 12), S. 3178–3192. DOI: 10.1093/brain/awn211.
- Charlson, Fiona J.; Ferrari, Alize J.; Santomauro, Damian F.; Diminic, Sandra; Stockings, Emily; Scott, James G. et al. (2018): Global Epidemiology and Burden of Schizophrenia: Findings From the Global Burden of Disease Study 2016. In: *Schizophrenia bulletin* 44 (6), S. 1195–1203. DOI: 10.1093/schbul/sby058.
- Chellappa, S. Anirudh; Pathak, Ankit Kumar; Sinha, Prashant; Jainarayanan, Ashwin K.; Jain, Sanjeev; Brahmachari, Samir K. (2019): Meta-analysis of genomic variants and gene expression data in schizophrenia suggests the potential need for adjunctive therapeutic interventions for neuropsychiatric disorders. In: *Journal of genetics* 98 (2). DOI: 10.1007/s12041-019-1101-6.
- Chen, Pei-Lung; Avramopoulos, Dimitrios; Lasseter, Virginia K.; McGrath, John A.; Fallin, M. Daniele; Liang, Kung-Yee et al. (2009): Fine mapping on chromosome 10q22-q23 implicates Neuregulin 3 in schizophrenia. In: *American journal of human genetics* 84 (1), S. 21–34. DOI: 10.1016/j.ajhg.2008.12.005.
- Cichon, Sven; Freudenberg, Jan; Propping, Peter; Nöthen, Markus M. (2002): Variabilität im menschlichen Genom. Bedeutung für die Krankheitsforschung (46).
- Davis, K. L.; Kahn, R. S.; Ko, G.; Davidson, M. (1991): Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. In: *The American journal of psychiatry* 148 (11), S. 1474–1486. DOI: 10.1176/ajp.148.11.1474.
- Daya, Michelle; van der Merwe, Lize; van Helden, Paul D.; Möller, Marlo; Hoal, Eileen G. (2014): Investigating the Role of Gene-Gene Interactions in TB Susceptibility. In: *PloS one* 10 (4), e0123970. DOI: 10.1371/journal.pone.0123970.
- DeLisi, L. E.; Hoff, A. L.; Neale, C.; Kushner, M. (1994): Asymmetries in the superior temporal lobe in male and female first-episode schizophrenic patients: measures of the planum temporale and superior temporal gyrus by MRI. In: *Schizophrenia research* 12 (1), S. 19–28. DOI: 10.1016/0920-9964(94)90080-9.
- Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information (Hg.) (2021): ICD-10-GM. Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme, 10. Revision - German Modification -. Online verfügbar unter <https://www.icd-code.de/>, zuletzt geprüft am 27.02.2021.
- DGPPN e.V. (Hrgs) (2019): für die Leitliniengruppe: S3-Leitlinie Schizophrenie. Langfassung, 2019, Version 1.0, zuletzt geändert am 15. März 2019. Online verfügbar unter <https://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/038-009.html>, zuletzt aktualisiert am 15.03.2019, zuletzt geprüft am 19.01.2023.
- Díez, Alvaro; Cieza-Borrella, Clara; Suazo, Vanessa; González-Sarmiento, Rogelio; Papiol, Sergi; Molina, Vicente (2014): Cognitive outcome and gamma noise power unrelated to neuregulin 1 and 3 variation in schizophrenia. In: *Annals of general psychiatry* 13, S. 18. DOI: 10.1186/1744-859X-13-18.
- Dilling, Horst (Hg.) (2011): Taschenführer zur ICD-10-Klassifikation psychischer Störungen. Mit Glossar und diagnostischen Kriterien ICD-10 : DCR-10 und Referenztabellen ICD-10 v.s. DSM-IV-TR. 1. Nachdr. der 5., überarb. Aufl. unter Berücksichtigung der German Modification (GM) der ICD-10. Bern: Huber.
- Ehret, Anna M.; Berking, Matthias (2013): DSM-IV und DSM-5: Was hat sich tatsächlich verändert? In: *Verhaltenstherapie* 23 (4), S. 258–266. DOI: 10.1159/000356537.
- El Karoui, Imen; King, Jean-Remi; Sitt, Jacobo; Meyniel, Florent; van Gaal, Simon; Hasboun, Dominique et al. (2015): Event-Related Potential, Time-frequency, and Functional Connectivity

Facets of Local and Global Auditory Novelty Processing: An Intracranial Study in Humans. In: *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)* 25 (11), S. 4203–4212. DOI: 10.1093/cercor/bhu143.

Ensembl (2023): release 109. Online verfügbar unter [https://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Explore?r=10:82541328-82542328;v=rs2622807;vdb=variation;vf=167095685](https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?r=10:82541328-82542328;v=rs2622807;vdb=variation;vf=167095685), zuletzt geprüft am 06.03.2023.

Falkai, Peter; Wittchen, Hans-Ulrich (Hg.) (2015): Diagnostisches und Statistisches Manual Psychischer Störungen - DSM-5 ®. American Psychiatric Association. Göttingen, Bern, Wien: Hogrefe. Online verfügbar unter <http://elibrary.hogrefe.de/9783840925993/U1>.

Fallin, M. Daniele; Lasseter, Virginia K.; Avramopoulos, Dimitrios; Nicodemus, Kristin K.; Wolyniec, Paula S.; McGrath, John A. et al. (2005): Bipolar I disorder and schizophrenia: a 440-single-nucleotide polymorphism screen of 64 candidate genes among Ashkenazi Jewish case-parent trios. In: *American journal of human genetics* 77 (6), S. 918–936. DOI: 10.1086/497703.

Fallin, M. Daniele; Lasseter, Virginia K.; Wolyniec, Paula S.; McGrath, John A.; Nestadt, Gerald; Valle, David et al. (2003): Genomewide linkage scan for schizophrenia susceptibility loci among Ashkenazi Jewish families shows evidence of linkage on chromosome 10q22. In: *American journal of human genetics* 73 (3), S. 601–611. DOI: 10.1086/378158.

Falls, D. (2003): Neuregulins: functions, forms, and signaling strategies. In: *Experimental Cell Research* 284 (1), S. 14–30. DOI: 10.1016/S0014-4827(02)00102-7.

Folstein, Marshal F. (1983): The Mini-Mental State Examination. In: *Arch Gen Psychiatry* 40 (7), S. 812. DOI: 10.1001/archpsyc.1983.01790060110016.

Gabriel, Stacey B.; Schaffner, Stephen F.; Nguyen, Huy; Moore, Jamie M.; Roy, Jessica; Blumenstiel, Brendan et al. (2002): The structure of haplotype blocks in the human genome. In: *Science (New York, N.Y.)* 296 (5576), S. 2225–2229. DOI: 10.1126/science.1069424.

Gibbs, Richard A.; Belmont, John W.; Hardenbol, Paul; Willis, Thomas D.; Yu, Fuli; Yang, Huanming et al. (2003): The International HapMap Project. In: *Nature* 426 (6968), S. 789–796. DOI: 10.1038/nature02168.

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

Gottesman, Irving I.; Gould, Todd D. (2003): The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. In: *The American journal of psychiatry* 160 (4), S. 636–645. DOI: 10.1176/appi.ajp.160.4.636.

Greenwood, Tiffany A.; Lazzeroni, Laura C.; Maihofer, Adam X.; Swerdlow, Neal R.; Calkins, Monica E.; Freedman, Robert et al. (2019): Genome-wide Association of Endophenotypes for Schizophrenia From the Consortium on the Genetics of Schizophrenia (COGS) Study. In: *JAMA psychiatry* 76 (12), S. 1274–1284. DOI: 10.1001/jamapsychiatry.2019.2850.

Häfner, Heinz (2019): From Onset and Prodromal Stage to a Life-Long Course of Schizophrenia and Its Symptom Dimensions: How Sex, Age, and Other Risk Factors Influence Incidence and Course of Illness. In: *Psychiatry journal* 2019, S. 9804836. DOI: 10.1155/2019/9804836.

Hall, Lynsey S.; Medway, Christopher W.; Pain, Oliver; Pardiñas, Antonio F.; Rees, Elliott G.; Escott-Price, Valentina et al. (2020): A transcriptome-wide association study implicates specific pre- and post-synaptic abnormalities in schizophrenia. In: *Human molecular genetics* 29 (1), S. 159–167. DOI: 10.1093/hmg/ddz253.

- Hamilton, Holly K.; Perez, Veronica B.; Ford, Judith M.; Roach, Brian J.; Jaeger, Judith; Mathalon, Daniel H. (2018): Mismatch Negativity But Not P300 Is Associated With Functional Disability in Schizophrenia. In: *Schizophrenia bulletin* 44 (3), S. 492–504. DOI: 10.1093/schbul/sbx104.
- Haploview (2005): Haploview 4.2. Online verfügbar unter <https://www.broadinstitute.org/haploview/haploview>, zuletzt aktualisiert am 16.02.2021.
- Hayes, Lindsay N.; Shevelkin, Alexey; Zeledon, Mariela; Steel, Gary; Chen, Pei-Lung; Obie, Cassandra et al. (2016): Neuregulin 3 Knockout Mice Exhibit Behaviors Consistent with Psychotic Disorders. In: *Molecular neuropsychiatry* 2 (2), S. 79–87. DOI: 10.1159/000445836.
- Houben, Isabel (Hg.) (1998): Diagnostisches und statistisches Manual psychischer Störungen DSM-IV. Übersetzt nach der vierten Auflage des Diagnostic and statistical manual of mental disorders der American Psychiatric Association. Unter Mitarbeit von Henning Saß. American Psychiatric Association. 2., verb. Aufl. Göttingen, Bern, Toronto, Seattle: Hogrefe, Verl. für Psychologie.
- Howard, Beatrice A. (2008): The role of NRG3 in mammary development. In: *Journal of mammary gland biology and neoplasia* 13 (2), S. 195–203. DOI: 10.1007/s10911-008-9082-8.
- Howes, Oliver; McCutcheon, Rob; Stone, James (2015): Glutamate and dopamine in schizophrenia: an update for the 21st century. In: *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)* 29 (2), S. 97–115. DOI: 10.1177/0269881114563634.
- Huang, W-J; Chen, W-W; Zhang, X. (2015): The neurophysiology of P 300--an integrated review. In: *European review for medical and pharmacological sciences* 19 (8), S. 1480–1488.
- Huckins, Laura M.; Dobbyn, Amanda; Ruderfer, Douglas M.; Hoffman, Gabriel; Wang, Weiqing; Pardiñas, Antonio F. et al. (2019): Gene expression imputation across multiple brain regions provides insights into schizophrenia risk. In: *Nature genetics* 51 (4), S. 659–674. DOI: 10.1038/s41588-019-0364-4.
- Iacono, William G. (2018): Endophenotypes in psychiatric disease: prospects and challenges. In: *Genome medicine* 10 (1), S. 11. DOI: 10.1186/s13073-018-0526-5.
- Illumina, Inc. (2017): Infinium Assay Workflow. The Infinium assay provides extensive levels of multiplexing for genome-wide and targeted genotyping applications with a manual or automated workflow. Online verfügbar unter [https://www.illumina.com/Documents/products/workflows/workflow\\_infinium\\_ii.pdf](https://www.illumina.com/Documents/products/workflows/workflow_infinium_ii.pdf), zuletzt geprüft am 18.02.2023.
- Illumina, Inc. (2023): Trusted bead-based technology. A fundamentally different approach to high-density arrays. Online verfügbar unter <https://www.illumina.com/science/technology/microarray.html>, zuletzt geprüft am 18.02.2023.
- Johannesen, Jason K.; O'Donnell, Brian F.; Shekhar, Anantha; McGrew, John H.; Hetrick, William P. (2013): Diagnostic specificity of neurophysiological endophenotypes in schizophrenia and bipolar disorder. In: *Schizophrenia bulletin* 39 (6), S. 1219–1229. DOI: 10.1093/schbul/sbs093.
- Jung, Sin-Ho (2014): Stratified Fisher's exact test and its sample size calculation. In: *Biometrical journal. Biometrische Zeitschrift* 56 (1), S. 129–140. DOI: 10.1002/bimj.201300048.
- Kang, ChuanYuan; Yang, XiaoBin; Xu, XiuFeng; Liu, Hua; Su, Ping; Yang, JianZhong (2012): Association study of neuregulin 1 gene polymorphisms with auditory P300 in schizophrenia. In: *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics* 159B (4), S. 422–428. DOI: 10.1002/ajmg.b.32045.
- Kao, Wee-Tin; Wang, Yanhong; Kleinman, Joel E.; Lipska, Barbara K.; Hyde, Thomas M.; Weinberger, Daniel R.; Law, Amanda J. (2010): Common genetic variation in Neuregulin 3 (NRG3) influences risk for schizophrenia and impacts NRG3 expression in human brain. In:

- Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107 (35), S. 15619–15624. DOI: 10.1073/pnas.1005410107.
- Kay, S. R.; Fiszbein, A.; Opler, L. A. (1987): The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. In: *Schizophrenia bulletin* 13 (2), S. 261–276.
- Kendler, K. S.; Neale, M. C. (2010): Endophenotype: a conceptual analysis. In: *Molecular psychiatry* 15 (8), S. 789–797. DOI: 10.1038/mp.2010.8.
- Keshavan, Matcheri S.; Collin, Guusje; Guimond, Synthia; Kelly, Sinead; Prasad, Konasale M.; Lizano, Paulo (2020a): Neuroimaging in Schizophrenia. In: *Neuroimaging clinics of North America* 30 (1), S. 73–83. DOI: 10.1016/j.nic.2019.09.007.
- Keshavan, Matcheri S.; Kelly, Sinead; Hall, Mei-Hua (2020b): The Core Deficit of “Classical” Schizophrenia Cuts Across the Psychosis Spectrum. In: *Canadian journal of psychiatry. Revue canadienne de psychiatrie* 65 (4), S. 231–234. DOI: 10.1177/0706743719898911.
- Keshavan, Matcheri S.; Tandon, Rajiv; Boutros, Nash N.; Nasrallah, Henry A. (2008): Schizophrenia, "just the facts": what we know in 2008 Part 3: neurobiology. In: *Schizophrenia research* 106 (2-3), S. 89–107. DOI: 10.1016/j.schres.2008.07.020.
- Kim, Minah; Lee, Tak Hyung; Kim, Ji-Hun; Hong, Hanwoom; Lee, Tae Young; Lee, Youngjo et al. (2018): Decomposing P300 into correlates of genetic risk and current symptoms in schizophrenia: An inter-trial variability analysis. In: *Schizophrenia research* 192, S. 232–239. DOI: 10.1016/j.schres.2017.04.001.
- Lau, Chi-leong; Wang, Han-Cheng; Hsu, Jung-Lung; Liu, Mu-En (2013): Does the dopamine hypothesis explain schizophrenia? In: *Reviews in the neurosciences* 24 (4), S. 389–400. DOI: 10.1515/revneuro-2013-0011.
- Lee, Myoungsook; Kwon, Dae Young; Kim, Myung-Sunny; Choi, Chong Ran; Park, Mi-Young; Kim, Ae-Jung (2016): Genome-wide association study for the interaction between BMR and BMI in obese Korean women including overweight. In: *Nutrition research and practice* 10 (1), S. 115–124. DOI: 10.4162/nrp.2016.10.1.115.
- Li, Zezhi; Liu, Lihua; Lin, Wei; Zhou, Yongjie; Zhang, Guangya; Du, Xiangdong et al. (2020): NRG3 contributes to cognitive deficits in chronic patients with schizophrenia. In: *Schizophrenia research* 215, S. 134–139. DOI: 10.1016/j.schres.2019.10.060.
- Light, Gregory A.; Swerdlow, Neal R.; Rissling, Anthony J.; Radant, Allen; Sugar, Catherine A.; Sprock, Joyce et al. (2012): Characterization of neurophysiologic and neurocognitive biomarkers for use in genomic and clinical outcome studies of schizophrenia. In: *PloS one* 7 (7), e39434. DOI: 10.1371/journal.pone.0039434.
- Loos, Maarten; Mueller, Thomas; Gouwenberg, Yvonne; Wijnands, Ruud; van der Loo, Rolinka J.; Birchmeier, Carmen et al. (2014): Neuregulin-3 in the mouse medial prefrontal cortex regulates impulsive action. In: *Biological psychiatry* 76 (8), S. 648–655. DOI: 10.1016/j.biopsych.2014.02.011.
- Luvsannyam, Enkhmaa; Jain, Molly S.; Pormento, Maria Kezia Lourdes; Siddiqui, Hira; Balagtas, Angela Ria A.; Emuze, Bernard O.; Poprawski, Teresa (2022): Neurobiology of Schizophrenia: A Comprehensive Review. In: *Cureus* 14 (4), e23959. DOI: 10.7759/cureus.23959.
- Marshall, Christian R.; Howrigan, Daniel P.; Merico, Daniele; Thiruvahindrapuram, Bhooma; Wu, Wenting; Greer, Douglas S. et al. (2017): Contribution of copy number variants to schizophrenia from a genome-wide study of 41,321 subjects. In: *Nature genetics* 49 (1), S. 27–35. DOI: 10.1038/ng.3725.
- McGrath, John; Saha, Sukanta; Chant, David; Welham, Joy (2008): Schizophrenia: a concise overview of incidence, prevalence, and mortality. In: *Epidemiologic reviews* 30, S. 67–76. DOI: 10.1093/epirev/mxn001.

- McGrath, John J.; Féron, François P.; Burne, Thomas H. J.; Mackay-Sim, Alan; Eyles, Darryl W. (2003): The neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia: a review of recent developments. In: *Annals of medicine* 35 (2), S. 86–93. DOI: 10.1080/07853890310010005.
- Mei, Lin; Nave, Klaus-Armin (2014): Neuregulin-ERBB signaling in the nervous system and neuropsychiatric diseases. In: *Neuron* 83 (1), S. 27–49. DOI: 10.1016/j.neuron.2014.06.007.
- Meier, Sandra; Strohmaier, Jana; Breuer, Rene; Mattheisen, Manuel; Degenhardt, Franziska; Mühleisen, Thomas W. et al. (2013): Neuregulin 3 is associated with attention deficits in schizophrenia and bipolar disorder. In: *The international journal of neuropsychopharmacology* 16 (3), S. 549–556. DOI: 10.1017/S1461145712000697.
- Merikangas, Alison K.; Almasy, Laura (2020): Using the tools of genetic epidemiology to understand sex differences in neuropsychiatric disorders. In: *Genes, brain, and behavior* 19 (6), e12660. DOI: 10.1111/gbb.12660.
- Moghaddam, Bitá; Javitt, Daniel (2012): From revolution to evolution: the glutamate hypothesis of schizophrenia and its implication for treatment. In: *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* 37 (1), S. 4–15. DOI: 10.1038/npp.2011.181.
- Morar, B.; Dragović, M.; Waters, F. A. V.; Chandler, D.; Kalaydjieva, L.; Jablensky, A. (2011): Neuregulin 3 (NRG3) as a susceptibility gene in a schizophrenia subtype with florid delusions and relatively spared cognition. In: *Molecular psychiatry* 16 (8), S. 860–866. DOI: 10.1038/mp.2010.70.
- Mulert, Christoph; Juckel, Georg; Giegling, Ina; Pogarell, Oliver; Leicht, Gregor; Karch, Susanne et al. (2006): A Ser9Gly polymorphism in the dopamine D3 receptor gene (DRD3) and event-related P300 potentials. In: *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* 31 (6), S. 1335–1344. DOI: 10.1038/sj.npp.1300984.
- Müller, Thomas; Braud, Stephanie; Jüttner, René; Voigt, Birgit C.; Paulick, Katharina; Sheean, Maria E. et al. (2018): Neuregulin 3 promotes excitatory synapse formation on hippocampal interneurons. In: *The EMBO journal* 37 (17). DOI: 10.15252/embj.201798858.
- Murray, Robin M.; Bhavsar, Vishal; Tripoli, Giada; Howes, Oliver (2017): 30 Years on: How the Neurodevelopmental Hypothesis of Schizophrenia Morphed Into the Developmental Risk Factor Model of Psychosis. In: *Schizophrenia bulletin* 43 (6), S. 1190–1196. DOI: 10.1093/schbul/sbx121.
- Nakazawa, Kazu; Zsiros, Veronika; Jiang, Zhihong; Nakao, Kazuhito; Kolata, Stefan; Zhang, Shuqin; Belforte, Juan E. (2012): GABAergic interneuron origin of schizophrenia pathophysiology. In: *Neuropharmacology* 62 (3), S. 1574–1583. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2011.01.022.
- Need, Anna C.; Ge, Dongliang; Weale, Michael E.; Maia, Jessica; Feng, Sheng; Heinzen, Erin L. et al. (2009): A genome-wide investigation of SNPs and CNVs in schizophrenia. In: *PLoS genetics* 5 (2), e1000373. DOI: 10.1371/journal.pgen.1000373.
- O'Donnell, B. F.; McCarley, R. W.; Potts, G. F.; Salisbury, D. F.; Nestor, P. G.; Hirayasu, Y. et al. (1999): Identification of neural circuits underlying P300 abnormalities in schizophrenia. In: *Psychophysiology* 36 (3), S. 388–398.
- O'Donovan, Michael C.; Craddock, Nicholas; Norton, Nadine; Williams, Hywel; Peirce, Timothy; Moskvina, Valentina et al. (2008): Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up. In: *Nature genetics* 40 (9), S. 1053–1055. DOI: 10.1038/ng.201.
- Paramo, Blanca; Wyatt, Sean; Davies, Alun M. (2018): An essential role for neuregulin-4 in the growth and elaboration of developing neocortical pyramidal dendrites. In: *Experimental neurology* 302, S. 85–92. DOI: 10.1016/j.expneurol.2018.01.002.



- Pardinas, Antonio F.; Holmans, Peter; Pocklington, Andrew J.; Escott-Price, Valentina; Ripke, Stephan; Carrera, Noa et al. (2018): Common schizophrenia alleles are enriched in mutation-intolerant genes and in regions under strong background selection. In: *Nature genetics* 50 (3), S. 381–389. DOI: 10.1038/s41588-018-0059-2.
- Paterson, Clare; Law, Amanda J. (2014): Transient overexposure of neuregulin 3 during early postnatal development impacts selective behaviors in adulthood. In: *PLoS one* 9 (8), e104172. DOI: 10.1371/journal.pone.0104172.
- Paterson, Clare; Wang, Yanhong; Hyde, Thomas M.; Weinberger, Daniel R.; Kleinman, Joel E.; Law, Amanda J. (2017): Temporal, Diagnostic, and Tissue-Specific Regulation of NRG3 Isoform Expression in Human Brain Development and Affective Disorders. In: *The American journal of psychiatry* 174 (3), S. 256–265. DOI: 10.1176/appi.ajp.2016.16060721.
- Peters, Uwe Henrik (2007): Lexikon Psychiatrie, Psychotherapie, medizinische Psychologie. Mit einem englisch-deutschen Wörterbuch im Anhang. 6., völlig neu bearb. und erw. Aufl. München, Jena: Elsevier, Urban & Fischer.
- Pinto, Ricardo; Assis, Joana; Nogueira, Augusto; Pereira, Carina; Coelho, Sara; Brandão, Mariana et al. (2019): Pharmacogenomics in epithelial ovarian cancer first-line treatment outcome: validation of GWAS-associated NRG3 rs1649942 and BRE rs7572644 variants in an independent cohort. In: *The pharmacogenomics journal* 19 (1), S. 25–32. DOI: 10.1038/s41397-018-0056-y.
- Plani-Lam, Janice Hiu-Chor; Chow, Tai-Cheong; Siu, Kam-Leung; Chau, Wing Hin; Ng, Ming-Him James; Bao, Suying et al. (2015): PTPN21 exerts pro-neuronal survival and neuritic elongation via ErbB4/NGF signaling. In: *The international journal of biochemistry & cell biology* 61, S. 53–62. DOI: 10.1016/j.biocel.2015.02.003.
- Poels, Eline M. P.; Kegeles, Lawrence S.; Kantrowitz, Joshua T.; Javitt, Daniel C.; Lieberman, Jeffrey A.; Abi-Dargham, Anissa; Girgis, Ragy R. (2014): Glutamatergic abnormalities in schizophrenia: a review of proton MRS findings. In: *Schizophrenia research* 152 (2-3), S. 325–332. DOI: 10.1016/j.schres.2013.12.013.
- Pogarell, Oliver; Padberg, Frank; Karch, Susanne; Segmiller, Felix; Juckel, Georg; Mulert, Christoph et al. (2011): Dopaminergic mechanisms of target detection - P300 event related potential and striatal dopamine. In: *Psychiatry research* 194 (3), S. 212–218. DOI: 10.1016/j.psychresns.2011.02.002.
- Polich, John (2007): Updating P300: an integrative theory of P3a and P3b. In: *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology* 118 (10), S. 2128–2148. DOI: 10.1016/j.clinph.2007.04.019.
- Purcell, Shaun (2009): PLINK v1. v1.07. Online verfügbar unter <http://pngu.mgh.harvard.edu/purcell/plink/>, zuletzt geprüft am 16.02.2021.
- Purcell, Shaun; Neale, Benjamin; Todd-Brown, Kathe; Thomas, Lori; Ferreira, Manuel A. R.; Bender, David et al. (2007): PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. In: *American journal of human genetics* 81 (3), S. 559–575. DOI: 10.1086/519795.
- Qiagen (2005): Handbuch für QIAamp® DNA Mini Kits und QIAamp DNA Blood Mini Kits. Hilden.
- Quednow, Boris B.; Pintsov, O. (2012): Endophänotypen in der psychiatrischen Forschung - Brückenschlag zwischen Genetik und Psychopathologie?: Hans Huber.
- R Core Team (2013): R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. Online verfügbar unter <http://www.R-project.org/>.16.07.2013.

- Ragoussis, Jiannis (2006): Genotyping technologies for all. In: *Drug discovery today. Technologies* 3 (2), S. 115–122. DOI: 10.1016/j.ddtec.2006.06.013.
- Rahman, Afrida; Weber, Janet; Labin, Edward; Lai, Cary; Prieto, Anne L. (2019): Developmental expression of Neuregulin-3 in the rat central nervous system. In: *The Journal of comparative neurology* 527 (4), S. 797–817. DOI: 10.1002/cne.24559.
- Rahman, Tahir; Lauriello, John (2016): Schizophrenia: An Overview. In: *Focus (American Psychiatric Publishing)* 14 (3), S. 300–307. DOI: 10.1176/appi.focus.20160006.
- Ramchurn, Anusha; Fockert, Jan W. de; Mason, Luke; Darling, Stephen; Bunce, David (2014): Intraindividual reaction time variability affects P300 amplitude rather than latency. In: *Frontiers in human neuroscience* 8, S. 557. DOI: 10.3389/fnhum.2014.00557.
- Rawdon, Caroline; Murphy, Jennifer; Blanchard, Mathieu M.; Kelleher, Ian; Clarke, Mary C.; Kavanagh, Fergal et al. (2013): Reduced P300 amplitude during retrieval on a spatial working memory task in a community sample of adolescents who report psychotic symptoms. In: *BMC psychiatry* 13, S. 125. DOI: 10.1186/1471-244X-13-125.
- Recke, Andreas; Recke, Klaus-Günther; Ibrahim, Saleh; Möller, Steffen; Vonthein, Reinhard (2015): Hardy-Weinberg equilibrium revisited for inferences on genotypes featuring allele and copy-number variations. In: *Scientific reports* 5, S. 9066. DOI: 10.1038/srep09066.
- Reilly, James L.; Sweeney, John A. (2014): Generalized and specific neurocognitive deficits in psychotic disorders: utility for evaluating pharmacological treatment effects and as intermediate phenotypes for gene discovery. In: *Schizophrenia bulletin* 40 (3), S. 516–522. DOI: 10.1093/schbul/sbu013.
- Rengarajan, Kalpana; Cristol, Stephen M.; Mehta, Milan; Nickerson, John M. (2002): Quantifying DNA concentrations using fluorometry: a comparison of fluorophores. In: *Molecular vision* 8, S. 416–421.
- Rice, J. P.; Reich, T.; Bucholz, K. K.; Neuman, R. J.; Fishman, R.; Rochberg, N. et al. (1995): Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence. In: *Alcoholism, clinical and experimental research* 19 (4), S. 1018–1023. DOI: 10.1111/j.1530-0277.1995.tb00983.x.
- Ripke, Stephan; Neale, Benjamin M.; Corvin, Aiden; Walters, James T. R.; Farh, Kai-How; Holmans, Peter A. (2014): Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. In: *Nature* 511 (7510), S. 421–427. DOI: 10.1038/nature13595.
- Ripke, Stephan; O'Dushlaine, Colm; Chambert, Kimberly; Moran, Jennifer L.; Kahler, Anna K.; Akterin, Susanne et al. (2013): Genome-wide association analysis identifies 13 new risk loci for schizophrenia. In: *Nature genetics* 45 (10), S. 1150–1159. DOI: 10.1038/ng.2742.
- Rujescu, D. (2017): Suche nach Risikogenen bei Schizophrenie. In: *Der Nervenarzt* 88 (7), S. 751–754. DOI: 10.1007/s00115-017-0330-2.
- Rujescu, D. (2019): Genetik der Schizophrenie. In: *Journal für Neurologie, Neurochirurgie und Psychiatrie* (20 (2)), S. 76–79. Online verfügbar unter <https://www.kup.at/kup/pdf/14456.pdf>, zuletzt geprüft am 26.11.2022.
- Savcı, D.; Karadeniz, S.; Erbaş, O. (2021): Neuregulin 1 and Its Roles in Schizophrenia: A Systematic Review. In: *Journal of Experimental and Basic Medical Science* (Volume 2 - Issue 3), 406-413. Online verfügbar unter <https://jebms.org/full-text/82>, zuletzt geprüft am 25.11.2022.
- Schmitt, A.; Malchow, B.; Keeser, D.; Falkai, P.; Hasan, A. (2015): Neurobiologie der Schizophrenie: Aktuelle Befunde von der Struktur zu den Molekülen. In: *Der Nervenarzt* 86 (3), 324-6, 328-31. DOI: 10.1007/s00115-014-4115-6.

- Schmitt, Andrea; Falkai, Peter; Papiol, Sergi (2022): Neurodevelopmental disturbances in schizophrenia: evidence from genetic and environmental factors. In: *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)*, S. 1–11. DOI: 10.1007/s00702-022-02567-5.
- Seidman, Larry J.; Helleman, Gerhard; Nuechterlein, Keith H.; Greenwood, Tiffany A.; Braff, David L.; Cadenhead, Kristin S. et al. (2015): Factor structure and heritability of endophenotypes in schizophrenia: findings from the Consortium on the Genetics of Schizophrenia (COGS-1). In: *Schizophrenia research* 163 (1-3), S. 73–79. DOI: 10.1016/j.schres.2015.01.027.
- Stefansson, Hreinn; Ophoff, Roel A.; Steinberg, Stacy; Andreassen, Ole A.; Cichon, Sven; Rujescu, Dan et al. (2009): Common variants conferring risk of schizophrenia. In: *Nature* 460 (7256), S. 744–747. DOI: 10.1038/nature08186.
- Stefansson, Hreinn; Sigurdsson, Engilbert; Steinthorsdottir, Valgerdur; Bjornsdottir, Soley; Sigmundsson, Thordur; Ghosh, Shyamali et al. (2002): Neuregulin 1 and susceptibility to schizophrenia. In: *American journal of human genetics* 71 (4), S. 877–892. DOI: 10.1086/342734.
- Stilo, Simona A.; Murray, Robin M. (2019): Non-Genetic Factors in Schizophrenia. In: *Current psychiatry reports* 21 (10), S. 100. DOI: 10.1007/s11920-019-1091-3.
- Sujin Shin, M. D.; Jong-Taek Choi, M. D.; Ji-Won Kim, M. D.; Yang-Ho Roh, M. D.; Byung-Lae Park, PhD; Joon Seol Bae, PhD et al. (2012): Association Analysis of Neuregulin 3 Gene with Schizophrenia in a Korean Population. In: *Korean J Biol Psychiatry* 2012 (19), S. 128–133.
- Sutton, S.; Braren, M.; Zubin, J.; John, E. R. (1965): Evoked-potential correlates of stimulus uncertainty. In: *Science (New York, N.Y.)* 150 (3700), S. 1187–1188.
- Tandon, Rajiv; Keshavan, Matcheri S.; Nasrallah, Henry A. (2008): Schizophrenia, "just the facts" what we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology. In: *Schizophrenia research* 102 (1-3), S. 1–18. DOI: 10.1016/j.schres.2008.04.011.
- Tandon, Rajiv; Nasrallah, Henry A.; Keshavan, Matcheri S. (2009): Schizophrenia, "just the facts" 4. Clinical features and conceptualization. In: *Schizophrenia research* 110 (1-3), S. 1–23. DOI: 10.1016/j.schres.2009.03.005.
- Tang, Yingying; Wang, Junjie; Zhang, Tianhong; Xu, Lihua; Qian, Zhenying; Cui, Huiru et al. (2019): P300 as an index of transition to psychosis and of remission: Data from a clinical high risk for psychosis study and review of literature. In: *Schizophrenia research*. DOI: 10.1016/j.schres.2019.02.014.
- Thaker, Guntav K. (2008): Neurophysiological endophenotypes across bipolar and schizophrenia psychosis. In: *Schizophrenia bulletin* 34 (4), S. 760–773. DOI: 10.1093/schbul/sbn049.
- The Schizophrenia Psychiatric Genome-Wide Association Study (GWAS) Consortium (PGC) (2011): Genome-wide association study identifies five new schizophrenia loci. In: *Nature genetics* 43 (10), S. 969–976. DOI: 10.1038/ng.940.
- Tost, Heike; Callicott, Joseph H.; Rasetti, Roberta; Vakkalanka, Radhakrishna; Mattay, Venkata S.; Weinberger, Daniel R.; Law, Amanda J. (2014): Effects of neuregulin 3 genotype on human prefrontal cortex physiology. In: *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 34 (3), S. 1051–1056. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3496-13.2014.
- Trubetskoy, Vassily; Pardiñas, Antonio F.; Qi, Ting; Panagiotaropoulou, Georgia; Awasthi, Swapnil; Bigdeli, Tim B. et al. (2022): Mapping genomic loci implicates genes and synaptic biology in schizophrenia. In: *Nature* 604 (7906), S. 502–508. DOI: 10.1038/s41586-022-04434-5.
- Turner, J. R.; Ray, R.; Lee, B.; Everett, L.; Xiang, J.; Jepson, C. et al. (2014): Evidence from mouse and man for a role of neuregulin 3 in nicotine dependence. In: *Molecular psychiatry* 19 (7), S. 801–810. DOI: 10.1038/mp.2013.104.

- Ullsperger, M.; Cramon, D. Y. von (2004): Ereigniskorrelierte Potenziale in der kognitiven Neurologie. In: *Akt Neurol* 31 (8), S. 396–403. DOI: 10.1055/s-2004-828373.
- Uno, Yota; Coyle, Joseph T. (2019): Glutamate hypothesis in schizophrenia. In: *Psychiatry and clinical neurosciences* 73 (5), S. 204–215. DOI: 10.1111/pcn.12823.
- Volpi, S.; Heaton, C.; Mack, K.; Hamilton, J. B.; Lannan, R.; Wolfgang, C. D. et al. (2009): Whole genome association study identifies polymorphisms associated with QT prolongation during iloperidone treatment of schizophrenia. In: *Molecular psychiatry* 14 (11), S. 1024–1031. DOI: 10.1038/mp.2008.52.
- Wahbeh, Marah H.; Avramopoulos, Dimitrios (2021): Gene-Environment Interactions in Schizophrenia: A Literature Review. In: *Genes* 12 (12). DOI: 10.3390/genes12121850.
- Wang, Ke-Sheng; Xu, Nuo; Wang, Liang; Aragon, Lorenzo; Ciubuc, Radu; Arana, Tania Bedard et al. (2014): NRG3 gene is associated with the risk and age at onset of Alzheimer disease. In: *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)* 121 (2), S. 183–192. DOI: 10.1007/s00702-013-1091-0.
- Wang, Yang; Wang, Jun; Zhou, Ying; Wei, Zhiyun; Xiao, Yongtao; Zhou, Kejun et al. (2016): Contribution of Common Variants in GABRG2, RELN and NRG3 and Interaction Networks to the Risk of Hirschsprung Disease. In: *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology* 40 (3-4), S. 509–526. DOI: 10.1159/000452565.
- Wang, Ying-Chieh; Chen, Jen-Yeu; Chen, Mao-Liang; Chen, Chia-Hsiang; Lai, I-Ching; Chen, Tzu-Ting et al. (2008): Neuregulin 3 genetic variations and susceptibility to schizophrenia in a Chinese population. In: *Biological psychiatry* 64 (12), S. 1093–1096. DOI: 10.1016/j.biopsych.2008.07.012.
- Wittchen, Hans-Ulrich; Zaudig, Michael; Fydrich, Thomas (1997): SKID - Strukturiertes klinisches Interview für DSM-IV. Achse I u. II. Göttingen u. a.: Hogrefe Verl. f. Psychologie.
- Wong, Aaron K.; Sealfon, Rachel S. G.; Theesfeld, Chandra L.; Troyanskaya, Olga G. (2021): Decoding disease: from genomes to networks to phenotypes. In: *Nature reviews. Genetics* 22 (12), S. 774–790. DOI: 10.1038/s41576-021-00389-x.
- World Health Organization (WHO) (1993): The ICD-10 classification of mental and behavioural disorders. Version 2016. Hg. v. World Health Organization (WHO). Genève, Switzerland. Online verfügbar unter <https://icd.who.int/browse10/2016/en#/F20>, zuletzt geprüft am 27.05.2022.
- World Health Organization (WHO) (2022): Schizophrenia. Hg. v. World Health Organization (WHO). Online verfügbar unter <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/schizophrenia>, zuletzt aktualisiert am 10.01.2022, zuletzt geprüft am 25.05.2022.
- Wu, Ying; Dang, Meilin; Li, Hongxia; Jin, Xing; Yang, Wenxiao (2019): Identification of genes related to mental disorders by text mining. In: *Medicine* 98 (42), e17504. DOI: 10.1097/MD.00000000000017504.
- Yamaguchi, S.; Knight, R. T. (1992): Effects of temporal-parietal lesions on the somatosensory P3 to lower limb stimulation. In: *Electroencephalography and clinical neurophysiology* 84 (2), S. 139–148.
- Zeledón, Mariela; Eckart, Nicole; Taub, Margaret; Vernon, Hilary; Szymanski, Megan; Wang, Ruihua et al. (2015): Identification and functional studies of regulatory variants responsible for the association of NRG3 with a delusion phenotype in schizophrenia. In: *Molecular neuropsychiatry* 1 (1), S. 36–46. DOI: 10.1159/000371518.
- Zhang, D.; Sliwkowski, M. X.; Mark, M.; Frantz, G.; Akita, R.; Sun, Y. et al. (1997): Neuregulin-3 (NRG3): a novel neural tissue-enriched protein that binds and activates ErbB4. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94 (18), S. 9562–9567.

## Literaturverzeichnis

Zhang, Rui; Du, Xiao-Yun; Yu, Jie; Xu, Nan; Zheng, Yue-Wen; Zhao, Ya-Ling et al. (2013): No genetic evidence for Neuregulin 3 conferring risk of schizophrenia in the Chinese population. In: *Psychiatry research* 205 (3), S. 279–281. DOI: 10.1016/j.psychres.2012.08.017.

Zhou, Yongjie; Li, Yuhuan; Meng, Yujie; Wang, Jiesi; Wu, Fengchun; Ning, Yuping et al. (2020): Neuregulin 3 rs10748842 polymorphism contributes to the effect of body mass index on cognitive impairment in patients with schizophrenia. In: *Translational psychiatry* 10 (1), S. 62. DOI: 10.1038/s41398-020-0746-5.

Zobel, A.; Maier, W. (2004): Endophänotypen-ein neues Konzept zur biologischen Charakterisierung psychischer Störungen. In: *Der Nervenarzt* 75 (3), S. 205–214. DOI: 10.1007/s00115-003-1642-y.

## **Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich abschließend allen meinen großen Dank aussprechen, die mich bei der Anfertigung dieser Dissertation unterstützt haben.

Allen voraus gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. Dan Rujescu für die Möglichkeit diese Arbeit in einem spannenden und professionellen Umfeld durchführen zu dürfen.

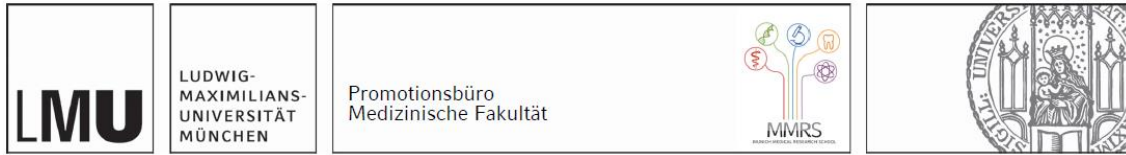
Besonderer Dank gilt zudem Frau PD Dr. Ina Giegling für die ausgezeichnete Betreuung meiner Dissertation sowie Frau Dr. Annette Hartmann und Frau Bettina Konte für das geduldige Beantworten aller Fragen, die zeitnahen Korrekturen sowie die enorme Unterstützung während der gesamten Arbeit, welches maßgeblich zum Gelingen meiner Dissertation beigetragen hat.

Desweiteren möchte ich explizit Herrn Prof. Dr. Oliver Pogarell und Herrn PD Dr. Cornelius Schüle für ihre Unterstützung und Betreuung danken sowie der gesamten Münchener Arbeitsgruppe.

Mein Dank gilt auch den MitarbeiterInnen der Arbeitsgruppe in Halle (Saale) für den herzliche Umgang und die freundschaftliche Arbeitsatmosphäre, insbesondere Frau Dr. Bente Flier, Herrn Dr. Stephan Maul, Frau Jessica Fehse und nicht zuletzt den MitstreiterInnen meiner DoktorandInnengruppe.

Abschließend möchte ich meinen Eltern, meiner Schwester Jade sowie meinem Partner Steffen für ihre Geduld, die stets ermutigenden Worte und ihren Zuspruch während der Arbeit an dieser Dissertation danken.

## Affidavit



### Eidesstattliche Versicherung

Glashauser, Lilya Naomi

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

### **Assoziation von Polymorphismen des NRG3-Gens mit der P300-Amplitude im EEG als Endophänotyp der 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.

Hamburg, den 20.01.2024

Lilya Naomi Glashauser