

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

Direktor: Herr Prof. Dr. med. Peter Falkai



**Genetische Varianten im GRM3 Gen in Assoziation
mit dem akustisch evozierten Potenzial P300**

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

vorgelegt von

Luise Bartlitz

aus

Halle (Saale)

Jahr

2024

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

Erstes Gutachten: Priv. Doz. Dr. Ina Giegling

Zweites Gutachten: Priv. Doz. Dr. Cornelius Schüle

Drittes Gutachten: Prof. Dr. Susanne Schneider-Pils

ggf. weitere Gutachter: _____

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: _____

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 17.06.2024

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	3
Abstract.....	5
Abbildungsverzeichnis	6
Tabellenverzeichnis	7
Abkürzungsverzeichnis.....	9
1 Einleitung	12
1.1 Schizophrenie	12
1.1.1 Epidemiologie	12
1.1.2 Diagnostik und Klassifikation	12
1.1.3 Ätiologie der Schizophrenie	13
1.1.4 Genetik der Schizophrenie	14
1.1.5 Neurobiologie der Schizophrenie	15
1.1.6 Störung der Neurotransmitter	17
1.2 Der metabotrope Glutamaterezeptor 3.....	18
1.2.1 Grundlagen	18
1.2.2 Lokalisation und Funktion des metabotropen Glutamaterezeptor 3	18
1.2.3 Das <i>GRM3</i> - Gen	20
1.2.4 Das <i>GRM3</i> - Gen und Schizophrenie	20
1.3 Das Konzept der Endophänotypen.....	22
1.4 Das ereigniskorrelierte Potential P300.....	23
1.4.1 Grundlagen	23
1.4.2 Die P300- Amplitude	24
1.4.3 P300 als Endophänotyp der Schizophrenie	25
1.5 Ziel der Arbeit	26
2 Material und Methodik.....	28
2.1 Studiendesign	28
2.2 Studienteilnehmer.....	28
2.2.1 Endophänotypstichprobe	28
2.2.1.1 Rekrutierung der Kontrollprobanden.....	28
2.2.1.2 Rekrutierung der Patienten.....	29
2.2.2 Stichprobe zur Erfassung des psychopathologischen Schweregrades der Schizophrenie	30
2.3 EEG-Ableitung und Aufarbeitung	31
2.3.1 Paradigma	31
2.3.2 EKP-Aufzeichnung	32
2.4 Laborverfahren.....	34

2.4.1	DNA-Extraktion	34
2.4.2	Konzentrationseinstellung der DNA	35
2.4.3	Genotypisierung	36
2.4.3.1	Auswahl der SNPs	36
2.4.3.2	Genotypisierung mittels MALDI- TOF Massenspektrometrie	37
2.4.3.3	Genotypisierung mittels SNP-Arrays	42
2.4.4	Qualitätskontrolle	42
2.5	Statistische Auswertung	43
3	Ergebnisse	45
3.1	Beschreibung der <i>GRM3</i> - SNPs	45
3.2	Stichprobenbeschreibung	47
3.3	Einzel- SNP- Analyse	48
3.3.1	SNP rs13242038	49
3.3.2	SNP rs6465084	50
3.3.3	SNP rs802467	51
3.3.4	SNP rs2189812	53
3.3.5	SNP rs6465088	54
3.4	Ergebnisse der Haplotypanalyse bezüglich der P300	56
4	Diskussion	59
4.1	Zusammenfassung der Ergebnisse	59
4.2	Diskussion der Methoden	62
4.3	Diskussion der Ergebnisse	64
4.4	Ausblick	69
	Literaturverzeichnis	71
	Danksagung	81
	Affidavit	82

Zusammenfassung

Die Schizophrenie ist eine schwerwiegende psychiatrische Erkrankung. Die Ätiopathogenese deutet auf ein multifaktorielles Geschehen mit einer komplexen Gen- Umwelt- Interaktion hin. Biologische Prädispositionen, wie polygenetische Risikofaktoren und neurotransmitterbezogene Veränderungen, als auch immunologische Prozesse und psychosoziale Risikofaktoren spielen dabei eine Rolle. An der Pathophysiologie der Schizophrenie scheinen verschiedene Neurotransmittersysteme beteiligt. Erklärungsmodelle finden sich vor allem in der Dopaminhypothese als auch in der Glutamat-hypothese. Der Fokus bei der Suche nach möglichen Kandidatengenen der Schizophrenie wurde somit auch auf das *GRM3*- Gen gelegt. Es kodiert für den metabotropen Glutamatrezeptor 3. Dieser befindet sich auf prä- und auch auf postsynaptischen Neuronen des Hippocampus, des Kleinhirns und der Großhirnrinde, und darüber in anderen Teilen des Gehirns, in peripheren Geweben und in Gliazellen. Befunde mit experimentellen mGlu2/3- Agonisten legen eine Beteiligung an der Schizophrenie nahe, da diese Agonisten sowohl positive als auch negative Symptome der Schizophreniepatienten verbesserten. Ziel dieser vorliegenden Arbeit war entsprechend, einen Zusammenhang zwischen Polymorphismen des *GRM3*- Gens und der P300- Amplitude, einem Endophänotyp der Schizophrenie, zu analysieren. Dazu wurden neun SNPs des *GRM3*- Gens genotypisiert, welche alle in Introns des Gens lokalisiert sind. Es wurden insgesamt 115 Schizophreniepatienten und 262 Kontrollprobanden untersucht. Darüber hinaus wurden diese Polymorphismen bei 112 Patienten hinsichtlich Assoziationen zur PANSS überprüft. Von diesen neun untersuchten Polymorphismen des *GRM3*- Gens zeigten zwei SNPs, rs13242038 und rs6465084, in der Einzel- SNP- Analyse signifikante Ergebnisse in der Kontrollgruppe, mit einer Erhöhung der P300- Amplitude über der Ableitung Fz mit zunehmender Häufigkeit der minoren Allele. Die beiden SNPs befinden sich auf unterschiedlichen LD- Blöcken. In LD- Block 1 (rs13242038/rs11772736) kam der Haplotyp TT, der das seltenere Allel von rs13242038 enthielt, bei den Kontrollprobanden ebenfalls häufiger bei höheren P300- Amplitudenwerten über der Ableitung Fz vor. Im LD- Block 2 (rs6465084/rs2237561) zeigte der Haplotyp AC, der das häufigere Allel von rs6465084 enthielt, für Patienten eine P300- Amplitudenminderung über den Ableitungen Cz und Pz.

Hinsichtlich der psychopathologischen Symptome, welche mittels der PANSS erhoben wurden, zeigten die beiden signifikant mit der P300 assoziierten SNPs (rs13242038 und rs6465084) nominal signifikante Assoziationen hinsichtlich einzelner Items der PANSS. Für den SNP rs13242038 waren dies signifikante Ergebnisse auf der PANSS- Skala „Gesamt“, der „G- Skala gesamt“, sowie für das Item N2 (emotionaler Rückzug). Der SNP rs6465084 zeigte hinsichtlich der Items G3 (Schuldgefühle) und G16 (aktives soziales Verhalten) signifikante Assoziationen.

Zusammenfassung

Die Beobachtungen dieser Studie bedürfen der Durchführung weiterer und größerer Untersuchungen zur Bestätigung oder Widerlegung des Einflusses des *GRM3*- Gens hinsichtlich des Endophänotypen P300.

Abstract

Schizophrenia is a serious psychiatric disorder. The aetiopathogenesis indicates a multifactorial process with a complex gene-environment interaction. Biological predispositions, such as polygenetic risk factors and neurotransmitter-related changes, as well as immunological processes and psychosocial risk factors play a role. Various neurotransmitter systems seem to be involved in the pathophysiology of schizophrenia. Explanatory models are found mainly in the dopamine hypothesis as well as in the glutamate hypothesis. The focus in the search for possible candidate genes for schizophrenia was therefore also placed on the *GRM3* gene. It codes for the metabotropic glutamate receptor 3, which is found on pre- and postsynaptic neurons of the hippocampus, cerebellum and cerebral cortex, as well as in other parts of the brain, in peripheral tissues and in glial cells. Findings with experimental mGlu2/3- agonists suggest involvement in schizophrenia, as these agonists improved both positive and negative symptoms of schizophrenia patients.

Accordingly, the aim of the present study was to analyse a relationship between polymorphisms of the *GRM3* gene and P300 amplitude, an endophenotype of schizophrenia. For this purpose, nine SNPs of the *GRM3* gene were genotyped, which are all located in introns of the gene. A total of 115 schizophrenia patients and 262 control subjects were examined. In addition, these polymorphisms were tested for associations with the PANSS in 112 patients. Of these nine analysed polymorphisms of the *GRM3* gene, two SNPs, rs13242038 and rs6465084, showed significant results for the control group in the single SNP analysis, with an increase of the P300 amplitude on electrode Fz with increasing frequency of the minor alleles. The two SNPs are located on different LD blocks. In LD block 1 (rs13242038/rs11772736), haplotype TT, which contained the rarer allele of rs13242038, was also more frequent in control subjects with higher P300 amplitude values on the Fz electrode. In LD block 1 (rs13242038/rs11772736), haplotype TT, which contained the rarer allele of rs13242038, was also more frequent in control subjects at higher P300 amplitude values on electrode Fz. In LD block 2 (rs6465084/rs2237561), haplotype AC, which contained the more common allele of rs6465084, showed a P300 amplitude reduction on the Cz and Pz electrodes for patients.

With a focus on psychopathological symptoms assessed by the PANSS, the two SNPs significantly associated with the P300 (rs13242038 and rs6465084) showed nominally significant associations with single items of the PANSS. For the SNP rs13242038, these were significant results on the total PANSS scale, the total G scale, and for the item N2 (Emotional withdrawal). The SNP rs6465084 showed significant associations on items G3 (Guilt feelings) and G16 (Active social avoidance).

The observations of this study require further and larger studies to confirm or refute the influence of the *GRM3* gene on the endophenotype P300.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung des mGluR3 (adaptiert nach Blacker et al. 2017)	19
Abbildung 2: Schematische Darstellung der akustisch evozierten Potentiale (nach (Hegerl 1998))	24
Abbildung 3: Anordnung der EEG- Elektroden (rot markierte Ableitungen für spätere Analyse)	32
Abbildung 4: Schema iPLEX- Reaktion	41
Abbildung 5: Chromosom 7 mit Lage des <i>GRM3</i> - Gens.....	45
Abbildung 6: LD- Blockstruktur der untersuchten SNPs des <i>GRM3</i> - Gens.....	56

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Beurteilungskriterien der PANSS- Positiv- Skala (Kay et al. 1987).....	30
Tabelle 2: Beurteilungskriterien der PANSS- Negativ- Skala (Kay et al. 1987)	30
Tabelle 3: Beurteilungskriterien der PANSS- Allgemeine psychopathologische Skala (Kay et al. 1987)	31
Tabelle 4: Zubehör für die DNA- Extraktion	34
Tabelle 5: Zubehör für die Konzentrationseinstellung.....	35
Tabelle 6: Zubehör für die Multiplex- PCR	37
Tabelle 7: Zusammensetzung des Mastermix für die Multiplex- PCR	38
Tabelle 8: Zubehör für die SAP- Reaktion	39
Tabelle 9: Zusammensetzung des SAP- Mastermix.....	39
Tabelle 10: Zubehör für die Multiplex Extensionsreaktion	39
Tabelle 11: Zusammensetzung des Mastermix für die iPLEX- Reaktion	40
Tabelle 12: Materialien für die Messung der Extensionsprodukte im MALDI-TOF-MS	41
Tabelle 13: Lokalisation der neun genotypisierten SNPs des <i>GRM3</i> - Gens auf dem Chromosom 7 .	46
Tabelle 14: Genotypverteilung und Hardy- Weinberg- Gleichgewicht.....	46
Tabelle 15: SNP mit zugehörigem Proxy	47
Tabelle 16: Alters- und Geschlechterverteilung der Stichproben 1 und 2	47
Tabelle 17: Mittelwerte der P300 für die Genotypen von rs13242038 (Stichprobe 1)	49
Tabelle 18: Assoziationen und Trends mit der PANSS für rs13242038 (Stichprobe 2)	50
Tabelle 19: Mittelwerte der P300 für die Genotypen von rs6465084 (Stichprobe 1).....	51
Tabelle 20: Assoziationen mit der PANSS für rs6465084 (Stichprobe 2)	51

Tabellenverzeichnis

Tabelle 21: Mittelwerte der P300 für die Genotypen von rs802467 (Stichprobe 1).....	52
Tabelle 22: Assoziationen und Trends mit der PANSS für rs2189814 (Stichprobe 2)	52
Tabelle 23: Mittelwerte der P300 für die Genotypen von rs2189812 (Stichprobe 1).....	53
Tabelle 24: Assoziationen und Trends mit der PANSS für rs2237563 (Stichprobe 2)	54
Tabelle 25: Mittelwerte der P300 für die Genotypen von rs6465088 (Stichprobe 1).....	54
Tabelle 26: Assoziationen und Trends mit der PANSS für rs6465088 (Stichprobe 2)	55
Tabelle 27: Assoziationen und Trends der Haplotypen des Block 1 mit der P300- Amplitude.....	57
Tabelle 28: Assoziationen und Trends der Haplotypen des Block 2 mit der P300- Amplitude.....	58
Tabelle 29: Zusammenfassung der Assoziationen der EEG- Stichprobe mit dazugehörigen Assoziationen und Trends zur PANSS.....	59
Tabelle 30: Zusammenfassung der Assoziationen in den Haploblöcken	60
Tabelle 31: LD rs6943762/rs13242038.....	61
Tabelle 32: LD rs6943762/rs6465084.....	62
Tabelle 33: MAF der untersuchten SNPs im Vergleich zu Daten des 1000 Genomes- Projektes.....	64
Tabelle 34: p- Werte der untersuchten SNPs in der PGC- Studie (2022)	70

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung/Fachbegriff	Bedeutung
1H- MRS	Protonen- Magnetresonanzspektroskopie
A	Adenin
A1	Allel 1 Referenzallel (minores Allel)
A2	Allel 2 (majores Allel)
AHI1	<i>Abelson Helper Integration Site 1</i>
AMPA	<i>α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid</i> (α-Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolpropionsäure)
ANKK1	<i>Ankyrin repeat and kinase domain containing 1</i>
AS	Angelman- Syndrom
B	Regressionskoeffizient
BPRS	<i>Brief Psychiatric Rating- Scale</i>
C	Cytosin
CEPH	<i>Centre d'Etude du Polymorphisme Humain</i>
CNV	<i>copy number variations</i>
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
CPT	<i>Continuous Performance Test</i>
DAOA	<i>D-amino acid oxydase activator</i>
D'	<i>D prime</i> (Maß für LD)
ddNTP	Didesoxyribonukleosid-Triphosphate
DGPPN	Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie, Psychosomatik und Nervenheilkunde e. V.
DIMDI	Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information
dNTP	Desoxyribonukleotide
DRD2	Dopamin- Rezeptor D2
DRD3	Dopamin- Rezeptor D3
DRD4	Dopamin- Rezeptor D4
DSM	Diagnostisches und Statistisches Manual psychischer Störungen
DTI	<i>diffusion tensor imaging</i> (Diffusions- Tensor- Bildgebung)
EAAT2	<i>Excitatory amino acid transporter 2</i>
EAAT2	exzitatorischer Aminosäuretransporter 2
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EEG	Elektroenzephalogramm
EKP	ereigniskorreliertes Potential
FHAM	Family History Assessment Modules
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie
G	Guanin
GABA	<i>gamma- aminobutyric acid</i> (Gamma- Aminobuttersäure)

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung/Fachbegriff	Bedeutung
GABRB2	<i>Gamma- Aminobutyric Acid Receptor Subunit Beta-2</i>
GDP	Guanosindiphosphat
GHCI	Guanidinhydrochlorid
Gln	Glutamin
Glu	Glutamat
Glx	Glutamat- Glutamine
GRIA1	<i>Glutamate Ionotropic Receptor AMPA Type Subunit 1</i>
GRIN2A	<i>Glutamate Ionotropic Receptor NMDA Type Subunit 2A</i>
GRM3	<i>Glutamate Metabotropic Receptor 3</i>
GTP	Guanosintriphosphat
GWAS	genomweite Assoziationsstudien
HapMap	<i>haplotype map</i>
HTR2A	<i>5- hydroxytryptamine receptor 2A</i>
HWE	Hardy- Weinberg- Equilibrium
ICD- 10- GM	Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten, <i>German Modification</i>
iGlu/ iGluRs	ionotrope Glutamatrezeptoren
IL1B	Interleukin-1β
iPLEX	<i>Increased Plexing Efficiency and Flexibility</i>
KO	<i>knock out</i>
LD	<i>linkage disequilibrium</i> - Kopplungsungleichgewicht
MAF	Minore Allelfrequenz
MALDI-TOF	<i>Matrix- Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight</i>
Mb	Megabasen
mGlu/ mGluR	metabotroper Glutamatrezeptor
MHC	<i>major histocompatibility complex</i>
MHFR	<i>Methylenetetrahydrofolate Reductase</i>
MMN	<i>missmatch negativity</i>
MMST	Mini- Mental- Status- Test
MRT	Magnetresonanztomographie
MW	Mittelwert
n	Anzahl der Probanden
N100	negative EKP- Komponente ca. 100ms nach Reizdarbietung
NAA	N- Acetyl- Aspartat
NAAG	N- Acetylaspartylglutamat
NCBI	<i>National Centre of Biotechnology Information</i>
NMDA	N- Methyl- D- Aspartat
NRG1	Neuroregulin 1
NRXN1	Neurexin 1

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung/Fachbegriff	Bedeutung
P	Signifikanzwert
P3/ P300	positiver EKP- Gipfel ca. 300ms nach Reizdarbietung
P50	positiver EKP- Gipfel ca. 50ms nach Reizdarbietung
PANSS	<i>Positive and Negative Syndrome Scale for Schizophrenia</i>
PCP	Phencyclidin
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (Polymerase-Kettenreaktion)
PET	Positronen- Emissions- Tomographie
PGC	<i>Psychiatric Genomic Consortium</i>
PWS	Prader- Willi- Syndrom
R ²	<i>R square</i> (Maß für LD, Bestimmtheitsmaß)
RELN	<i>Reelin</i>
rpm	<i>revolutions per minute</i> (Umdrehungen pro Minute)
RSPM	Raven's Standard Progressive Matrices
SAP	<i>Shrimp Alkaline Phosphatase</i>
SD	Standardabweichung
SE	Standardfehler
SKID	Strukturelles Klinisches Interview für DSM-IV
SLC6A4	<i>solute carrier family 6 member 4</i>
SNP	<i>single nucleotide polymorphism</i> (Einzelnukleotid- Polymorphismus)
SPEM	<i>smooth pursuit eye movement</i>
SRR	<i>Serine Racemase</i>
T	Thymin
THP	Tryptophan Hydroxylase 1
TRIS	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
TRKA	<i>Tropomyosin receptor kinase A</i>
WCST	Wisconsin Card Sorting Test
WRAT	Wide Range Achievement Test
YLD	<i>years lived with disability</i> (mit Behinderung gelebte Jahre)

1 Einleitung

1.1 Schizophrenie

Die Schizophrenie ist eine schwerwiegende, komplexe, psychiatrische Erkrankung mit einem heterogenen Erscheinungsbild (Falkai et al. 2021). Weltweit zählt sie zu den zehn häufigsten Erkrankungen im Alter von 15 bis 44 Jahren, welche mit einer erheblichen Beeinträchtigung der Lebensjahre durch Behinderung (*YLD- years lived with disability*) einhergeht (World Health Organisation 2001; Charlson et al. 2018).

1.1.1 Epidemiologie

Die weltweite Fallzahl der Schizophrenie betrug im Jahr 2016 20,9 Millionen Fälle. Geschätzte 70,8 % dieser Fälle traten in der Altersgruppe der 25 bis 54-Jährigen auf. Die weltweite altersstandardisierte Punktprävalenz betrug zu diesem Zeitpunkt 0,28 %. Der Höhepunkt der Prävalenz lag im Alter von etwa 40 Jahren, wobei es hier bei den Prävalenzen keine geschlechtsspezifischen Unterschiede gab (Charlson et al. 2018). In Deutschland werden pro Jahr ca. 19 Neuerkrankungen pro 100.000 Einwohner diagnostiziert (Gaebel und Wölwer 2010).

1.1.2 Diagnostik und Klassifikation

Die Schizophrenie zeichnet sich durch unterschiedliche Störungen in den Bereichen der Wahrnehmung, des Denkens, der Aufmerksamkeit, der Ich- Funktion, der Affektivität, des Antriebs und der Psychomotorik aus. Die Symptome und ihre Ausprägungen können individuell und in Abhängigkeit der Krankheitsphase stark variieren (DGPPN e.V. 2019). Die Diagnose Schizophrenie wird anhand operationalisierter Kriterien gestellt. Hierfür stehen das Diagnostische und Statistische Manual psychischer Störungen (DSM- 5) (Falkai und Döpfner 2015), welches die Version des DSM- IV (Saß 2003) 2013 ablöste, und die Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten, *German Modification* (ICD- 10- GM) (BfArM 2022) zur Verfügung. Mit geringfügigen Veränderungen in den Kriterien A und F, beinhaltet das DSM- 5, wie vorher das DSM- IV, sechs Kriterien für die Diagnosestellung einer Schizophrenie. Kriterium A bezieht sich auf die *charakteristischen Symptome*, wie Wahn, Halluzination, desorganisierte Sprechweise, grob desorganisiertes oder katatones Verhalten sowie Negativsymptome, von denen mindesten zwei dieser Symptome über einen Monat hinweg präsent sein müssen. Dabei muss zur Diagnosestellung einer Schizophrenie eines der Symptome Wahn, Halluzination oder desorganisierte Sprechweise sein. Das Kriterium B bezieht sich auf die *sozialen/ beruflichen Leistungseinbußen*. Seit Beginn der Störung sind hier über einen erheblichen Zeitraum ein oder mehrere Bereiche des alltäglichen Lebens, wie zwischenmenschliche Beziehungen, Arbeit oder Selbstfürsorge, deutlich unter dem Niveau als vor dem Beginn der

Einleitung

Erkrankung. Das Kriterium C, die *Dauer*, verlangt das durchgängige Bestehen des Störungsbildes über einen Zeitraum von mindestens sechs Monaten. Während dieser Zeit muss mindestens einen Monat lang ein Symptom, welches das Kriterium A erfüllt, bestehen, und Prodromal- oder Residualsymptome können dieser sechsmonatigen Periode zugerechnet werden. Das Kriterium D schließt das Vorhandensein einer schizoaffectiven, einer depressiven oder einer bipolaren Störung mit psychotischen Merkmalen aus. Ursache für das Störungsbild dürfen weder Substanz Einfluss noch ein medizinischer Krankheitsfaktor sein (Kriterium E). Auch das Vorhandensein einer tiefgreifenden Entwicklungsstörung oder einer Autismus- Spektrum- Störung schließt die Diagnose einer Schizophrenie aus (Kriterium F), es sei denn, dass mindestens einen Monat lang zusätzlich zu den erforderlichen Symptomen einer Schizophrenie auch ausgeprägte Wahnphänomene oder Halluzinationen bestehen.

Die Subtypen der Schizophrenie des ICD- 10 (z.B. Paranoide Schizophrenie, Hebephrene Schizophrenie, Katatone Schizophrenie, Undifferenzierte Schizophrenie, Schizophrenia simplex) oder des DSM- IV (z.B. Paranoider Typus, Desorganisierter (hebephrener) Typus, Katatoner Typus, Undifferenzierter Typus und Residualer Typus) wurden nicht in das DSM- 5 übernommen.

Auch die 11. Revision der ICD der WHO, die ICD- 11, weist hier Weiterentwicklungen der Klassifikation psychotischer Störungen auf. So werden auch in der ICD- 11 keine Subtypen mehr unterschieden (Falkai et al. 2021).

1.1.3 Ätiologie der Schizophrenie

Die Krankheitsentstehung der Schizophrenie ist trotz jahrzehntelanger Forschung bisher nicht vollständig geklärt. Die Befunde deuten auf komplexe Gen- Umwelt- Interaktionen hin und somit auf ein multifaktorielles Geschehen, in dem biologische Prädispositionen, wie polygenetische Risikofaktoren und neurotransmitterbezogene Veränderungen, als auch immunologische Prozesse und psychosoziale Risikofaktoren eine Rolle spielen. Unterschiedlichste Umwelteinwirkungen in verschiedenen Phasen der neuronalen Entwicklung haben Einfluss auf Krankheitsentstehung und -verlauf einer Schizophrenie. Das 1. und 2.Trimester der Schwangerschaft als auch die Adoleszenz sind dabei besonders vulnerable Phasen (Löhrs und Hasan 2019). So konnten maternale Infektionen und Mangelernährung während der ersten beiden Schwangerschaftstrimester mit einem erhöhten Auftreten einer Schizophrenie in Verbindung gebracht werden (Penner und Brown 2007; Meyer et al. 2007; Lee et al. 2019). Aber auch maternale Adipositas und Gestationsdiabetes sind Faktoren, welche das Risiko der Nachkommen für eine Schizophrenie erhöhen können (Khandaker et al. 2012; Lipner et al. 2019).

Jugendliche Cannabiskonsumenten als auch Cannabiskonsumenten im Allgemeinen erkranken häufiger an einer Psychose. Eine Cannabis- Abhängigkeit erhöht das Risiko um ein 3,4-faches (Davis et

al. 2016; Hasan et al. 2019). Auch ein Migrationshintergrund, Diskriminierung, soziale Isolation oder Aufwachsen in einer städtischen Umgebung, scheinen weiterhin Faktoren für ein erhöhtes Schizophrenierisiko zu sein (Egerton et al. 2017; Henssler et al. 2020).

1.1.4 Genetik der Schizophrenie

Der Einfluss genetischer Faktoren auf die Entwicklung einer Schizophrenie wurde durch Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien nachgewiesen. Je höher der verwandtschaftliche Grad, umso höher ist das Risiko an einer Schizophrenie zu erkranken. Bei Verwandten zweiten Grades liegt das Risiko bei 2- 4 %. Ist ein Elternteil betroffen, steigt das Risiko auf 10- 15 %. Bei zwei an Schizophrenie erkrankten Elternteilen erhöht sich das Risiko auf bis zu 27 %. Bei einem betroffenen monozygoten Zwilling steigt das Risiko für den anderen Zwilling auf bis zu 45 % (Gottesman et al. 2010; Janoutová et al. 2016). Die Heritabilität der Schizophrenie ist mit 81 % als sehr hoch einzuschätzen (Sullivan et al. 2003).

Bei der Suche nach pathophysiologischen und neurobiologischen Erklärungsmodellen psychischer Erkrankungen konnten molekulargenetische Analysen auch bzgl. der Schizophrenie neue Erkenntnisse liefern. Ausgangspunkt für die ersten molekulargenetischen Untersuchungen waren zu Beginn der 1990er Jahre Kopplungsstudien. Eine der größten Meta- Analysen hierzu veröffentlichten Ng et al. (Ng et al. 2009). Sie fanden Hinweise für eine Kopplung in den Regionen 5q (142- 168 Mb) und 2q (103- 134 Mb). Insgesamt lieferten diese Kopplungsstudien im Hinblick auf die Schizophrenie aber keine konsistenten Ergebnisse. Mitte der 1990er Jahre lösten Kandidatengen- bzw. Assoziationsstudien diese Kopplungsstudien ab. Diese Kandidatengestudien stützten sich vornehmlich auf den Häufigkeitsvergleich von Allelfrequenzen der Einzelnukleotid- Polymorphismen (*single nucleotide polymorphisms*- kurz SNPs) in Fall- Kontroll- Studien. Anhand von neurobiologischen Hypothesen wurden Kandidatengene abgeleitet und molekulargenetisch untersucht (Rujescu 2019). Die stärksten Assoziationen fassten Gatt et al. (Gatt et al. 2015) in einer Meta- Analyse zusammen. Hier zeigten sich Gene, die am dopaminergen (*COMT, DRD2, DRD3, DRD4*), am glutamatergen (*DAOA, GABRB2, NRG1*) oder am serotonergen Neurotransmittersystem (z. B. *HTR2A, SLC6A4, TPH1*) beteiligt sind als auch Gene der neuronalen Entwicklung (*AHI1, MTHFR, RELN, TRKA*) und des Immunsystems (*IL1B*) (Gatt et al. 2015). Insgesamt waren diese Studien aber zu klein und die Signifikanzschwelle im Vergleich zu genomweiten Studien nicht streng genug, sodass davon auszugehen ist, dass es hierbei zu teilweise falsch- positiven Ergebnissen gekommen ist (Rujescu 2017). Mittlerweile bieten genomweite Assoziationsstudien (GWAS) in umfangreichen Fall- Kontroll- Studien einen hypothesenfreien Ansatz bei der Untersuchung von SNPs. In einer genomweiten Assoziationsstudie von Ripke und Kollegen (2014) konnten 108 potenzielle Genloci, die mit einer Schizophrenie assoziiert sind, identifiziert werden. Neben der MHC-Region, welche Bestandteil des Immunsystems ist, fielen insbesondere die

Einleitung

Gene, welche an der dopaminergen (*DRD2*) und glutamatergen Neurotransmission und der synaptischen Plastizität (z. B. *GRM3*, *GRIN2A*, *SRR*, *GRIA1*) beteiligt sind, auf (Ripke et al. 2014). In einer weiteren genomweiten Assoziationsstudie von Trubetskoy und Kollegen aus dem Jahre 2022 mit bis zu 76.755 an Schizophrenie erkrankten Personen und 243.649 Kontrollpersonen wurden insgesamt 287 verschiedene Genloci gefunden. Diese Assoziationen konzentrierten sich hier in Genen, welche in erregenden und hemmenden Neuronen des Zentralen Nervensystems (ZNS) exprimiert werden (Trubetskoy et al. 2022).

Neben der Möglichkeit SNPs zu identifizieren, bieten genomweite Assoziationsstudien auch die Technik strukturelle Varianten, wie *copy number variations* (CNVs) aufzudecken. CNVs sind chromosomale Veränderungen, bei denen große DNA- Abschnitte, von 1.000 bis zu mehreren Millionen Basenpaaren, gelöscht, dupliziert, invertiert oder transloziert sein können. 22q11.2-Deletionen waren dabei die ersten CNVs, die mit Schizophrenie assoziiert wurden (Karayiorgou et al. 1995). Mittlerweile sind insgesamt mindestens elf Loci mit einer starken Assoziation zur Schizophrenie bekannt: Duplikationen an 1q21.1, der WBS-Region, der AS/PWS-Region, 16p13.1 und 16p11.2 sowie Deletionen an *NRXN1*, 1q21.1, 3q29, 15q13.3 und 22q11.2 (Rees et al. 2014).

1.1.5 Neurobiologie der Schizophrenie

Die Neurobiologie der Schizophrenie ist in ihrer Gesamtheit noch nicht vollständig geklärt. Es lassen sich allerdings bei Patienten mit einer Schizophrenie unter Anderem verschiedene neuroanatomische Anomalien identifizieren, die sowohl die Struktur als auch die Funktion des Gehirns beeinflussen. Bei der Untersuchung dieser funktionellen, strukturellen und biochemischen Veränderungen des Gehirns von Schizophreniepatienten kommen verschiedene bildgebende Verfahren zum Einsatz. Nicht- invasive Methoden, um direkt die neuroelektrische Aktivität des Gehirns zu erfassen, bieten das Elektroenzephalogramm (EEG), sowie das Ableiten von ereigniskorrelierten Potentialen (EKP). Abweichungen von EKP- Komponenten können zu Rückschlüssen führen über die Art und den Ort von Hirnfunktionsstörungen (Duncan et al. 2009). Für die Schizophrenie relevante EKP- Komponenten sind unter anderem die P300, MMN (*mismatch negativity*), die P50 und die N100 (Light et al. 2012; Owens et al. 2016). Bei der Magnetresonanztomographie (MRT) liegt der Schwerpunkt auf strukturellen Hirnanomalien. Die Vergrößerung des Ventrikelvolumens und die Verringerung des Volumens der grauen Hirnsubstanz des Thalamus und der frontotemporalen Regionen, sowie reduzierte Volumina des Hippocampus und der Amygdala sind dabei die am besten gesicherten neurobiologischen Erkenntnisse bei der Schizophrenie (van Erp et al. 2016; Brugger und Howes 2017; van Erp et al. 2018). Mittels voxelbasierter Magnetresonanztomographie konnte in einer Metaanalyse bei ersterkrankten Schizophreniepatienten im Vergleich zu gesunden Probanden Volumenminderungen der grauen

Einleitung

Substanz im präfrontalen, anterior- cingulären, superior- temporalen und parahippocampalen Gyrus als auch der Insula festgestellt werden. Bei chronisch erkrankten Patienten ließen sich zusätzlich verminderte Volumina in den Regionen des Thalamus und dem superior- frontalen Gyrus erkennen (Shepherd et al. 2012). Durch die Diffusions- Tensor- Bildgebung (*diffusion tensor imaging*- DTI) lässt sich die Integrität der Fasertrakte in der weißen Substanz darstellen. Bei Schizophreniepatienten fallen bei dieser Untersuchung signifikante Verringerungen der fraktionellen Anisotropie auf. Dies zeigt sich insbesondere in der Region der anterioren Corona radiata und des Corpus callosum, aber auch in geringerem Ausmaß in weiteren Hirnregionen (Kelly et al. 2018). Mit Hilfe der funktionellen MRT des Ruhezustandes (Ruhe- fMRT) lassen sich ebenfalls neuronale Netzwerke des Gehirns analysieren. In einer Metaanalyse von Li und Kollegen (2019) zeigten sich für Schizophreniepatienten signifikante Hypokonnektivitäten im Vergleich zu gesunden Kontrollen vor allen in den Bereichen des auditorischen Netzwerkes (linke Insula), des Kernnetzwerkes (rechter superiorer temporaler Cortex), des Default-Mode-Netzwerkes (rechter medialer präfrontaler Kortex und linker Precuneus und anteriorer cingulärer Kortex), des Selbstreferenznetzwerkes (rechter superiorer temporaler Cortex) und des somatomotorischen Netzwerkes (rechter präzentraler Gyrus) (Li et al. 2019). In einer transdiagnostischen, multimodalen Meta- Analyse von funktionellen und strukturellen MRT- Studien des Ruhezustandes von Brandl et al. (2019) fanden sich für die Schizophrenie, aberrante funktionelle Konnektivitäten der präfrontal- limbischen Netzwerke, deren abweichende Vernetzung mit einem reduzierten Hirnvolumen der Insula, dem lateral- postzentralem Cortex, dem Striatum und des Thalamus korrelierte (Brandl et al. 2019). Die Befunde dieser Untersuchung sprechen dafür, dass die Schizophrenie eine die weiße und graue Hirnsubstanz beeinflussende Erkrankung ist, welche sich durch Konnektivitätsdefizite auf das gesamte zentrale Nervensystem auswirkt.

Der Einsatz der Protonen- Magnetresonanzspektroskopie (1H- MRS) bietet eine nicht- invasive Methode, um die Aktivität von Neurometaboliten im Gehirn in vivo zu untersuchen. In verschiedenen Studien wurden mithilfe der 1H- MRS Konzentrationsmessungen von Glutamat (Glu) und seines Metaboliten Glutamin (Gln) oder deren Kombination (Glx) durchgeführt. Die dabei entdeckten Veränderungen des Glutamat- und Glutaminspiegels in Gehirnen von Schizophreniepatienten im Vergleich zu gesunden Probanden werden im Allgemeinen als Marker einer glutamatergen Dysfunktion interpretiert (Duarte und Xin 2019). Trotz zahlreicher Untersuchungen konnte insgesamt aber noch keine für die Schizophrenie spezifische anatomische oder funktionelle Abweichung identifiziert werden.

1.1.6 Störung der Neurotransmitter

An der Pathophysiologie der Schizophrenie scheinen verschiedene Neurotransmittersysteme beteiligt. Als Erklärungsmodelle finden sich vor allem die Dopaminhypothese und die Glutamathypothese. Die Dopaminhypothese stützte sich anfangs auf indirekte Hinweise von antipsychotischen Effekten von Dopaminantagonisten. Jean Delay und Pierre Deniker berichteten 1952 erstmals über die antipsychotische Wirkung von Chlorpromazin, welches ursprünglich als präoperatives Sedativum entwickelt wurde (Delay et al. 1952). Später stellten Carlsson und Lindqvist fest, dass Chlorpromazin und Haloperidol die Konzentration von Dopamin- Metaboliten im Gehirn von Mäusen erhöhen, ohne die Dopamin- Konzentration zu verändern. Dies führte zu ihrer Annahme, dass eine Blockade der Dopamin- Neurotransmission psychotische Symptome lindert (Carlsson und Lindqvist 1963; Gründer und Cumming 2016). Diese Hypothese wurde durch die Beobachtung gestützt, dass hohe Dosen von Amphetamin bei gesunden Probanden eine akute Psychose hervorrufen können. Diese Amphetamin- induzierte Psychose war von einer Schizophrenie des paranoiden Subtypus nicht zu unterscheiden, zeigte aber durch eine antipsychotische Behandlung mittels des Neuroleptikums Haloperidol eine rasche Besserung (Angrist et al. 1974). Gestützt durch diese Befunde, wurde die „Dopaminhypothese der Schizophrenie“ postuliert. Sie stützt sich auf die Annahme, dass eine funktionelle Überaktivität der dopaminergen Neurotransmission zur Entstehung akuter schizophrener Symptome beiträgt (Meltzer und Stahl 1976). Im Wesentlichen wird die antipsychotische Wirksamkeit von Antipsychotika über den Dopaminrezeptor D2 vermittelt. Eine ungewöhnlich niedrige Dopamin- Aktivität präfrontal wird dabei mit einer Negativsymptomatik in Zusammenhang gebracht. Andererseits scheint eine überhöhte Dopamin- Aktivität im mesolimbischen System für eine Positivsymptomatik ursächlich zu sein (Davis et al. 1991). PET- Studien zur Dopaminhypothese lieferten dazu Beweise, dass die Dopaminsynthese und -freisetzungskapazität bei Schizophrenie erhöht sind, und zwar am stärksten im dorsalen Striatum. Durch das heterogene Erscheinungsbild der Schizophrenie lässt sich die Dopaminhypothese nicht vollständig auf jeden einzelnen Patienten übertragen. Kognitive Defizite und Negativsymptome lassen sich möglicherweise vielmehr durch eine gleichzeitige Dysfunktion des glutamatergen Systems erklären (Javitt 2010; Moghaddam und Krystal 2012; McCutcheon et al. 2020).

Die Glutamathypothese basiert auf der Beobachtung, dass Phencyclidin (PCP), Ketamin und andere Antagonisten am glutamatergen N- Methyl- D- Aspartat- (NMDA-)- Rezeptor Schizophrenie- ähnliche Psychosen mit Positiv- und Negativsymptomen sowie kognitive Funktionsstörungen hervorrufen (Javitt 1987; Olney und Farber 1995). Anfangs konzentrierte sich diese Hypothese auf eine NMDA- Rezeptor- Hypofunktion. Der Krankheitsmechanismus der Schizophrenie könnte dabei durch eine Funktionsstörung des NMDA- Rezeptors oder durch Downstream- Effekte, die durch die

Einleitung

Blockierung von NMDA-Rezeptoren erzeugt werden, erklärt werden (Olney et al. 1999). Eine Dopaminhyperaktivität könnte dabei Folge von Downstreameffekten einer Glutamatsdysregulation im präfrontalen Cortex sein. Eine Hypofunktion der NMDA- Rezeptoren führt hier über GABA- Interneurone im präfrontalen Cortex zu einer gesteigerten Aktivierung der glutamatergen Downstream- Signalübertragung zum ventralen tegmental Bereich. Die Hyperaktivität dieses Pfades wiederum führt zu überschüssigem Dopamin im ventralen Striatum über die mesolimbische Leitungsbahn (Stahl 2018).

1.2 Der metabotrope Glutamatrezeptor 3

1.2.1 Grundlagen

Glutamat ist der wichtigste exzitatorische Neurotransmitter des ZNS. Es ist das Salz der nicht essenziellen α - Aminosäure Glutaminsäure. Beide Begriffe werden häufig synonym verwendet. Diese L- Aminosäure besitzt eine Carbonsäure- Seitenkette, über welche sie ihre Signalfunktion an den auf der Zellmembran befindlichen Glutamatrezeptoren ausübt (Hubbard und Binder 2016). Glutamatrezeptoren werden in zwei Hauptgruppen unterteilt, ionotrope Glutamatrezeptoren (iGluRs) und metabotrope Glutamatrezeptoren (mGluRs). Zu den ionotropen Glutamatrezeptoren zählen, abhängig von ihren spezifischen Antagonisten, die NMDA- Rezeptoren, die AMPA- Rezeptoren und die Kainatrezeptoren. Diese sind ligandengesteuerte Ionenkanäle. Die an G- Protein gekoppelten Rezeptoren, sind die metabotropen Glutamatrezeptoren. Von dieser Rezeptoren- Gruppe sind acht metabotrope Glutamatrezeptoren bekannt (mGlu1 bis mGlu8). Sie werden aufgrund ihrer Sequenzhomologie, G- Protein- Kopplung und pharmakologischen Eigenschaften weiterhin in drei Gruppen aufgeteilt. Die Gruppe I sind Gq- gekoppelte- Rezeptoren (mGluR1 und mGlu5), sie aktivieren die Phospholipase C. Die Gruppe II sind Gi- gekoppelten Rezeptoren zu denen mGlu2 und mGlu3 gehören. Zur Gruppe III, welche ebenfalls Gi- gekoppelte Rezeptoren sind, zählen mGlu4, mGlu6, mGlu7, mGlu8. Gruppe II und III Rezeptoren sind mit einer Hemmung der Adenylatcyclase verbunden und reduzieren dadurch die intrazelluläre Konzentration des second messengers cAMP (Zoicas und Kornhuber 2019; Böhm 2020).

1.2.2 Lokalisation und Funktion des metabotropen Glutamatrezeptor 3

Der metabotrope Glutamatrezeptor 3 (mGluR3) befindet sich auf präsynaptischen und postsynaptischen Neuronen in Synapsen des Hippocampus, des Kleinhirns und der Großhirnrinde, aber auch in anderen Teilen des Gehirns, in peripheren Geweben und findet sich auch, im Gegensatz zum mGluR2, in Gliazellen (Jin et al. 2018). Die mGluR der Gruppe II sind beteiligt am Lernen, Gedächtnis, Angst und der Wahrnehmung von Schmerz (Marek 2010; Kandaswamy et al. 2013).

Einleitung

Der mGluR3 besteht aus sieben Transmembrandomänen (Abbildung 1), welche vorwiegend präsynaptisch aber auch postsynaptisch lokalisiert sind (Niswender und Conn 2010; Blacker et al. 2017).

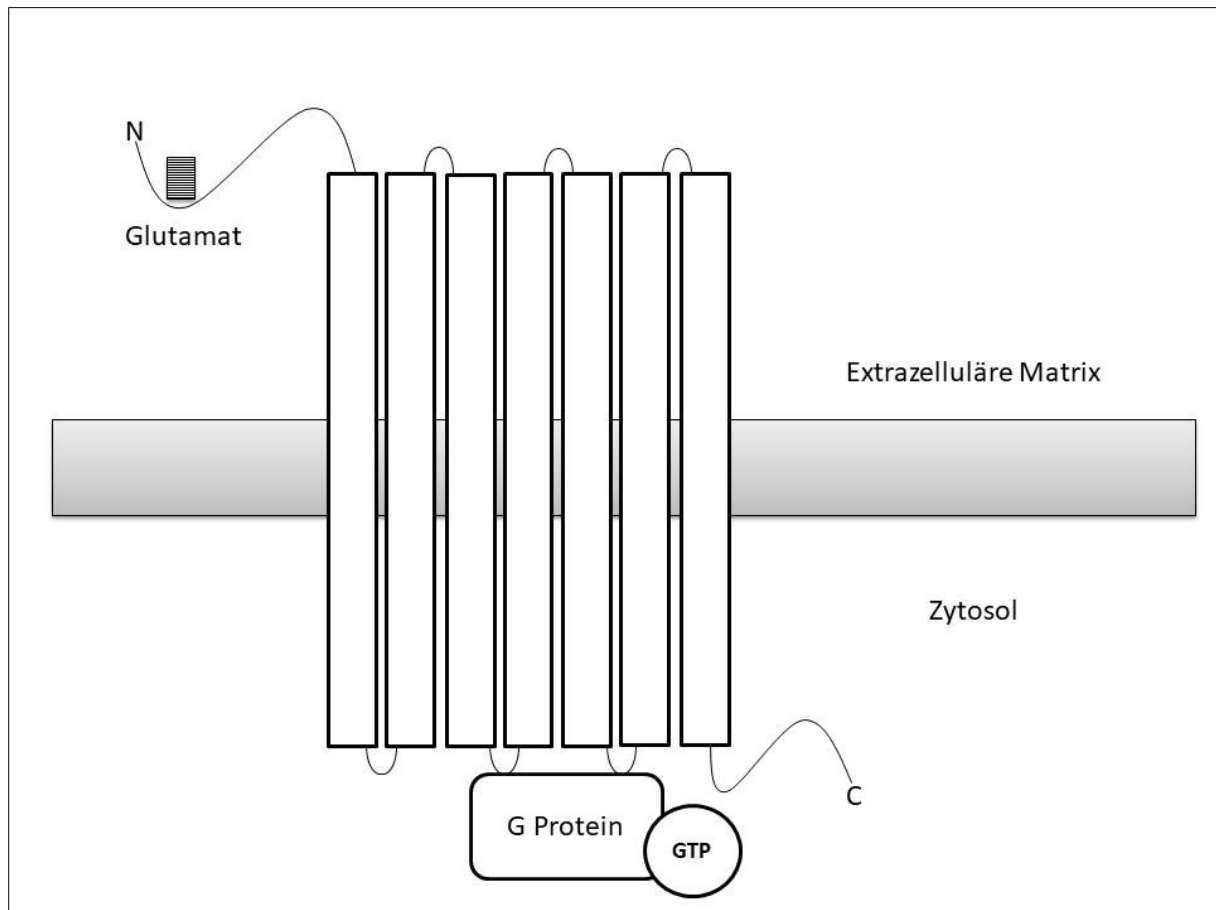


Abbildung 1: Schematische Darstellung des mGluR3 (adaptiert nach Blacker et al. 2017)

Im ZNS werden mGluR3-Rezeptoren durch Glutamat und auch durch N-Acetylaspartylglutamat (NAAG) aktiviert, wobei NAAG nur den präsynaptischen mGluR3-Rezeptor aktiviert (Morland und Nordengen 2022). Glutamat oder NAAG binden an der extrazellulären Domäne der mGluRs. Über das Rezeptorprotein werden Signale an die intrazellulären Signalfarmer übertragen. Dabei werden Signalkaskaden durch intrazelluläre G-Proteine geleitet, was den Austausch von Guanosindiphosphat (GDP) gegen Guanosintriphosphat (GTP) bewirkt (Blacker et al. 2017). Die Aktivierung der Rezeptoren hemmt die präsynaptische Glutamatfreisetzung und aktiviert postsynaptisch Kaliumkanäle, die die neuronale Hyperpolarisation steuern. Um die Glutamatübertragung im physiologischen Bereich zu halten und damit einer Hyperexzitabilität entgegenzuwirken, basiert die Funktion der mGluR2/3-Rezeptoren ausschließlich auf einer negativen Rückkopplungsschleife (Kargbo 2019). Bezüglich der Pathophysiologie liegt eine Assoziation mit verschiedenen neuropsychiatrischen

Einleitung

Erkrankungen wie der Schizophrenie, der Bipolaren Störung und auch der Alzheimer Erkrankung nahe (Kandaswamy et al. 2013; Kim et al. 2014; Saini et al. 2017; Dogra et al. 2022). Eine mögliche Beteiligung an der Schizophrenie wurde zunächst durch Befunde von mGlu2/3- Agonisten als potenzielle Antischizophrenie- Medikamente nahegelegt. Als vielversprechend galt hier eine Untersuchung mit LY2140023. Dieser Wirkstoff verbesserte positive als auch negative Symptome bei Schizophreniepatienten in ähnlichem Ausmaß wie in der Vergleichsgruppe mit Olanzapin (Patil et al. 2007). Auch hinsichtlich der Entwicklung neuartiger Antidepressiva zeigte sich die Gruppe II der mGlu-Rezeptoren als potenzielles Ziel. Dies könnte hier durch schützende Rückkopplungsmechanismen entstehen, welche Schäden durch eine Exzitotoxizität während intensiver Stresssituationen verhindern (Dogra und Conn 2021).

1.2.3 Das *GRM3*- Gen

Der mGluR3 wird durch das *GRM3*- Gen kodiert, welches auf Chromosom 7q21.1-q21.2 lokalisiert ist. Das *GRM3*- Gen hat sechs Exons, welche durch fünf Introns unterbrochen werden und umfasst 220,1 kb (Scherer et al. 1996; Corti et al. 2000) Von dem *GRM3*- Gen sind vier Spleiß- Varianten bekannt. Zum einen ist dies das Transkript der vollen Länge des *GRM3*, sowie das *GRM3* mit deletiertem 2. Exon (*GRM3Δ2*), mit deletiertem 4. Exon (*GRM3Δ4*), und deletiertem 2. und 3. Exon (*GRM3Δ2Δ3*). Der Volllängenrezeptor des mGlu3 stammt von dem vollständigen Sechs- Exon- Transkript des *GRM3*- Gens ab. Die Region der sieben Transmembrandomänen wird hier durch Exon 4 kodiert. Das Startcodon befindet sich in Exon 2 und das Stoppcodon in Exon 6. *GRM3Δ4* führt zu einem Frameshift, der zu einem neuen C- Terminus des mGlu3 führt. Die Spleiß- Variante *GRM3Δ4* ist dabei, neben des Transkripts der vollen Länge des *GRM3*- Gens, die häufigste anzutreffende Variante (Sartorius et al. 2006).

1.2.4 Das *GRM3*- Gen und Schizophrenie

Aufgrund der Vermutung eines pathophysiologischen Zusammenhangs einer glutamatergen Dysfunktion und der Entstehung einer Schizophrenie, fiel der Fokus bei der Suche nach Kandidatengenen unter anderem auf das *GRM3*- Gen. Genetische Assoziationsstudien haben bezüglich eines Zusammenhangs zwischen dem *GRM3*- Gen und dem Krankheitsbild der Schizophrenie widersprüchliche Hinweise gegeben.

In einer Studie von Egan et al. (2004) wurde eine funktionelle genetische Variante im *GRM3*- Gen (rs6465084) beschrieben, die die Glutamat- Konzentration beeinflussen kann. Dieser SNP wurde bei Egan mit der Celera- ID hcV11245618 benannt. Das A- Allel war hier mit schlechteren Leistungen in verschiedenen kognitiven Tests der präfrontalen und hippocampalen Funktion assoziiert. Der AA- Genotyp war zudem mit reduzierten N- Acetylaspartat- Signalen im präfrontalen Cortex in der

Einleitung

Magnetresonanztomographie assoziiert, welche mit den Glutamatkonzentrationen im Gewebe korrelierten. Im postmortalen Hirngewebe fiel das A- Allel des SNP rs6465084 mit einer geringeren Expression des glialen Glutamat- Transporters EAAT2 auf, welcher von *GRM3* reguliert wird (Egan et al. 2004). Die Ergebnisse von Mössner und Kollegen (2008) konnten diese Erkenntnisse replizieren. Es zeigte sich in dieser Studie ein signifikanter Effekt des Genotyps des SNP rs6465084 auf die Aufmerksamkeit. Schizophreniepatienten mit dem Genotyp AA hatten einen mittleren Wert von 47,1 im Zahlen- Symbol- Test, verglichen mit einem Wert von 51,5 für Träger des G- Allels ($p=0,008$). Die Werte der Kontrollprobanden zeigten dahingehend wenig Unterschied zwischen den Genotypen (Mössner et al. 2008). In einer anderen Studie von Bishop und Kollegen (2015a) wurden pharmakogenetische Zusammenhänge zwischen Polymorphismen der *GRM3*-, *COMT*- und *DRD2/ANKK1*- Genregionen und Veränderungen des räumlichen Arbeitsgedächtnisses und klinischer Symptomatik untersucht. Der AA- Genotyp des SNP rs6465084 zeigte hier wie der ebenfalls untersuchte SNP rs1468412 (TT- Genotyp) unter antipsychotischer Behandlung negative Auswirkungen auf das räumliche Arbeitsgedächtnis. Hinsichtlich der Negativsymptomatik verbesserte sich diese bei pharmakologisch behandelten Patienten mit Genotyp AA des SNP rs6465084 (Bishop et al. 2015). Lencer und Kollegen (2014) untersuchten in einer Studie die Assoziation von Polymorphismen des *GRM3*- Gens und des *DRD2*- Gens mit der motorischen und kognitiven Funktion von Psychose- Ersterkrankten. Das Ausmaß der Augenbewegungsstörung wurde bei den Patienten in Relation zur Leistung von gesunden Kontrollen definiert. In Bezug auf rs6465084 hatten GG- Allelträger eine unbeeinträchtigte Aufrechterhaltung der Augenfolgebewegungen zu Beginn der Behandlung, zeigten aber einen Leistungsabfall nach der antipsychotischen Behandlung. Das Ausgangsdefizit bei A- Allelträgern veränderte sich nach der Behandlung nicht (Lencer et al. 2014). In einer Untersuchung von Schwab und Kollegen (2008) konnten hingegen keine statistischen Beweise für einen Zusammenhang zwischen Polymorphismen des *GRM3*- Gens mit der Schizophrenie oder eine Korrelation mit kognitiven Defiziten beobachtet werden. Es zeigten sich allerdings Trends zur Assoziation mit Schizophrenie für einen einzelnen Marker (rs2237562) und für Haplotypen, die diese Variante enthalten, sowie für die Korrelation der Genotypen der Variante rs6465084 mit kognitiven Defiziten (Schwab et al. 2008). Die Befunde der genomweiten Assoziationsstudie von Ripke und Kollegen stützen (2014) allerdings die Annahme eines komplexen Zusammenspiels des Neurotransmittersystems in der Ätiologie der Schizophrenie. Es fanden sich in dieser Studie unter anderem Assoziationen zum *DRD2*- Gen, welches Ziel aller wirksamen antipsychotischen Medikamente ist und zu multiplen Genen wie dem *GRM3*-, *GRIN2A*-, *SRR*- und *GRIA1*- Gen die im Zusammenhang mit glutamaterger Neurotransmission und synaptischer Plastizität stehen (Ripke et al. 2014). Eine weitere genomweite Assoziationsstudie aus dem Jahre 2022 von Trubetskoy und Kollegen untermauerte die bisherigen Befunde einer Beteiligung des glutamatergen Systems. Bei bis zu 76.755

Einleitung

an Schizophrenie erkrankten Personen und 243.649 Kontrollpersonen wurden insgesamt 287 verschiedene Genloci gefunden. Die gefundenen Assoziationen konzentrierten sich hier auf Varianten in Genen, welche in erregenden und hemmenden Neuronen des ZNS exprimiert werden und an grundlegenden Prozessen der neuronalen Funktion eine Rolle spielen (Trubetskoy et al. 2022).

1.3 Das Konzept der Endophänotypen

Die aktuelle Methode zur Diagnosestellung von Schizophrenie in den Klassifikationsmodellen stützt sich auf die Erfassung von symptomatischen Erscheinungen und Zeichen, ohne die Ätiogenese einzubeziehen. Das hochkomplexe und symptomatologisch vielfältige Erscheinungsbild der Schizophrenie lässt allerdings vermuten, dass die Diagnose „Schizophrenie“ eher eine Zusammenfassung verschiedener Syndrome mit unterschiedlichen biologischen und genetischen Ursachen ist. Diese Komplexität und Heterogenität der Schizophrenie erschwert es, die möglichen ätiologischen Genloci einzugrenzen, zu bestimmen und zu differenzieren (Quednow und Pintsov 2012). Das Konzept der Endophänotypen wurde entwickelt, um diese Lücke zwischen Genotyp und Phänotyp zu schließen (Gottesman und Gould 2003). Man nimmt an, dass der Endophänotyp näher an der genetischen Basis liegt als der komplexe Krankheitsphänotyp und so die Gene leichter identifiziert werden können.

Ein Endophänotyp, auch intermediärer Phänotyp genannt, ist als ein quantifizierbares, stabiles und vererbbares Merkmal definiert, welches durch eine geringere Anzahl von Genen als der zugehörige Krankheitsphänotyp determiniert sein soll (Braff et al. 2007). Durch standardisierte, laborbasierte Methoden, wie z.B. neuropsychologische Tests, Blutanalysen oder funktionelle Bildgebungsverfahren, können diese gemessen werden. Damit ein Marker als Endophänotyp gelten kann, müssen fünf Kriterien erfüllt sein. Zum einen müssen der Endophänotyp und die Erkrankung in der Population assoziiert sein. Der Endophänotyp muss vererbbar und stabil sein, d.h. er ist unabhängig vom Ausbruch und Status der Erkrankung und ist durch äußere Einflüsse nicht veränderbar. Der Endophänotyp wird innerhalb von Familien gemeinsam mit der Erkrankung vererbt und auch nicht betroffene Angehörige zeigen eine erhöhte Assoziation mit dem Endophänotyp (Gottesman und Gould 2003). Als mögliche Endophänotypen der Schizophrenie zählen neben strukturellen und funktionellen Hirnanomalien (z.B. Ventrikelvolumen, Volumen oder Oberfläche des Planum temporale), neuromotorischen Abweichungen (z.B. Augenfolgebewegungen wie SPEM (*smooth pursuit eye movement*)) und neuropsychologischen Testungen (wie z.B. Wisconsin Card Sorting Test (WCST) Referenz, Continuous Performance Test (CPT) Referenz, visuell- räumliches Gedächtnis) unter anderem die EEG-Komponenten der ereigniskorrelierten Potentiale, wie die MMN, die P50, die N100 und die P300 (Allen et al. 2009; Light et al. 2012; Owens et al. 2016).

1.4 Das ereigniskorrelierte Potential P300

1.4.1 Grundlagen

Ereigniskorrelierte Potentiale (EKP) sind durch ein Elektroenzephalogramm ableitbare Spannungsschwankungen im μV -Bereich, welche zeitlich an ein sensorisches, motorisches oder kognitives Ereignis gekoppelt sind. Die Kurvenform der EKP erscheint als eine Reihe positiver und negativer Peaks, die sich im zeitlichen Verlauf in Polarität, Amplitude und Dauer unterscheiden (Kappenman und Luck 2012). Diese Potentiale weisen geringere Amplituden ($1\pm 30\ \mu\text{V}$) als die des spontanen Oberflächen-EEGs auf. Dadurch sind EKPs in einer einzelnen Ableitung nicht erkennbar. Erst nach Wiederholung und Mittelung der Daten (*Averaging*) sind EKPs von der Spontanaktivität zu unterscheiden (Friedman et al. 2001; Adamaszek 2016). Die Nomenklatur der EKP-Komponenten ist nicht konsistent und richtet sich teilweise nach der Art der Auslösung, nach vermuteten psychologischen Korrelaten oder häufig nach der Polarität ihrer Spannungsschwankungen. Positive Ausschläge werden mit einem „P“ gekennzeichnet und negative Ausschläge mit einem „N“. Des Weiteren werden die Amplituden je nach ihrem zeitlichen Auftreten bzw. ihrer Latenz nummeriert (Abbildung 2) (Altenmüller 1996; Hegerl 1998; Gerloff C. 2005). EKPs können in zwei Kategorien eingeteilt werden. Frühe Potentiale mit Latenzen von weniger als 100 ms, werden von späten Potentialen mit Latenzen von mehr als 100 ms unterschieden. Frühe Potentiale werden auch als exogene Potentiale bezeichnet, da sie weitgehend von physikalischen Reizqualitäten, wie Modalität, Intensität oder Interstimulusintervallen, abhängen. Frühe Potentiale bis 10 ms nach Reizdarbietung sind Hirnstammpotentiale, welche zur Beurteilung der zentralen und peripheren Hörbahn und der Erkrankung des Hörnervs sowie des Hirnstamms dienen können. Diese Hirnstammpotentiale bestehen aus sechs positiven Wellen und werden mit römischen Ziffern I-VI gekennzeichnet. Die späten Potentiale werden auch als endogene Potentiale bezeichnet. Diese sind assoziiert mit höheren kognitiven Prozessen und internen Verarbeitungen und spiegeln psychologische Prozesse wider. Sie sind weitgehend unabhängig von physikalischen Reizeigenschaften. Diese kategorische Einteilung ist allerdings unscharf, da auch späte Potentiale, wie z.B. die P300-Amplitude, von rein physikalischen Eigenschaften des Reizangebotes abhängen können (Hegerl 1998; Sur und Sinha 2009; Birbaumer und Schmidt 2010; Huang et al. 2015).

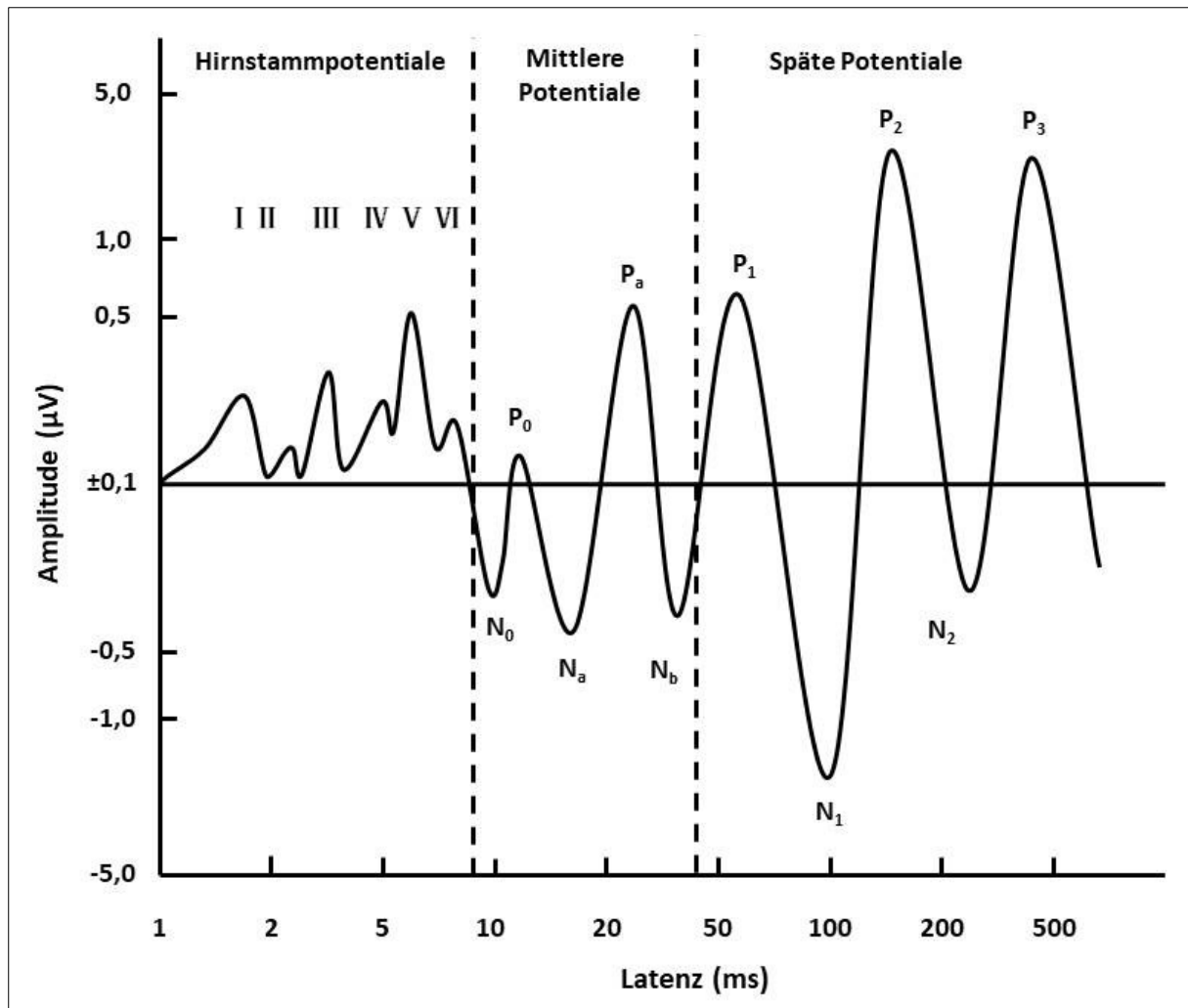


Abbildung 2: Schematische Darstellung der akustisch evozierten Potentiale (nach (Hegerl 1998))

1.4.2 Die P300- Amplitude

Die P300- Amplitude wurde erstmals 1965 von Sutton und Kollegen beschrieben (Sutton et al. 1965). Sie gehört zu den späten Potentialen der EKPs und ist eine positive Komponente, die mit einer Spitzenlatenz von ca. 300 ms nach einem akustischen Reiz auftritt. Nach einem visuellen Reiz verzögert sich die Latenz um ca. 100- 200 ms. Die Bezeichnung P300 bezieht sich auf die Polarität und auf die Latenzzeit des Potentials. In der Literatur wird die P300 auch P3 genannt, da ihr Peak das dritte positive EKP nach Reizdarbietung darstellt und um die Assoziation mit dem Zeitwert von 300 ms zu eliminieren (Kappenman und Luck 2012; Huang et al. 2015; Owens et al. 2016). Das auditorisch ereigniskorrelierte Potential lässt sich im Oddball- oder 2-Reiz-Diskriminations- Paradigma erzeugen. Den Probanden werden unter Standardtönen gelegentlich spezifische abweichende Stimuli (z.B. 20 % aller Stimuli) präsentiert, welche sie durch Tastendruck oder stilles Zählen registrieren sollen. Diese abweichenden Stimuli haben einen wahrnehmbaren Unterschied bzgl. ihrer Frequenz (z.B. 500 Hz vs. 1000 Hz). Das Interstimulusintervall beträgt 1 bis 2 s. Mit einer Latenz von etwa 300- 600 ms kann die P300- Welle

Einleitung

an den zentroparietalen Elektroden mit einer maximal ausgeprägten Positivierung von etwa 15- 20 μ V abgeleitet werden (Ullsperger und Cramon 2004; Gouzoulis-Mayfrank 2008; Polich 2012). Der typische Befund ist, dass die P300- Amplitude bei den abweichenden Stimuli größer ist als bei den Standardreizen (Squires et al. 1976). Dieser Unterschied nimmt mit der Neuartigkeit, der Unterscheidbarkeit und der subjektiven Relevanz zu (Polich und Criado 2006).

Die P300- Amplitude kann in zwei Komponenten unterteilt werden, welche beide innerhalb der P300- Zeitspanne beobachtet werden können (Polich 2012). Zum einen ist dies die P3a oder *novelty* P3 und zum anderen die P3b oder *target* P3, welche die „klassische“ P300 widerspiegelt. Die P3a wird durch neue oder unerwartete Reize hervorgerufen. Ihre Latenzzeit liegt zwischen 250 bis 350 ms. Ihr Amplitudenmaximum liegt frontozentral. Die P3a gilt als Korrelat von aufmerksamkeitsorientierenden Prozessen (Squires et al. 1975). Die Latenzzeit der P3b- Komponente liegt zwischen 340 und 700 ms und hat ihre maximale Amplitude über dem zentroparietalen Cortex (Altenmüller 1996). Sie ist mit Aufmerksamkeit und Gedächtnis verbunden und gilt als Antwort auf Zielreize. Die P3b spiegelt kognitive Prozesse wider, die mit Reizbewertung und Reizantwort assoziiert sind („*context- updating theory*“). Diese Theorie besagt, dass das EKP P3b durch den Prozess der Kontextaktualisierung entsteht. D.h. eine Veränderung oder ein deutlicher Unterschied eines Zielreizes in Bezug zu den Standardreizen wird erkannt, erfasst und das bisherige mentale Konzept wird infolgedessen überarbeitet (Polich 2007). An der Generierung der P300- Komponenten sind verschiedene Hirnregionen beteiligt. An der P3a sind Regionen wie der laterale frontale Cortex, der cinguläre Cortex und der Gyrus supramarginalis beteiligt. Die Regionen, welche zur Generierung der P3b beitragen, sind der mediale Temporallappen, der Lobulus parietalis superior, der Sulcus temporalis superior und der ventro- laterale präfrontale Cortex (Halgren et al. 1998; Kam et al. 2018). Die beiden Komponenten weisen auch im Hinblick auf die Neurotransmittersysteme Unterschiede auf. Die P3a- Komponente scheint mit dem dopaminergen Neurotransmittersystem verbunden zu sein, die P3b- Komponente hingegen mit dem noradrenergen Neurotransmittersystem (Polich 2007). Hinsichtlich eines glutamatergen Einflusses, scheint sich dieser auf die Komponente P3a auszuwirken (Hall et al. 2015).

1.4.3 P300 als Endophänotyp der Schizophrenie

Das ereigniskorrelierte Potential P300 wurde sowohl in klinischen als auch gesunden Populationen ausführlich untersucht. Die auditive Amplitudenreduktion der P300 konnte dabei in vielen Studien als eine der robustesten physiologischen Anomalien im Zusammenhang mit der Schizophrenie mit einem Effektmaß von $d=0,89$ repliziert werden (Jeon und Polich 2003; Bramon et al. 2005; Qiu et al. 2014). Insgesamt scheint die P300- Amplitude im Wesentlichen die Kriterien für einen Endophänotyp der Schizophrenie zu erfüllen. Sie besitzt eine hohe Test- Retest Zuverlässigkeit (Ip et al. 2018), die Amplitudenminderung ist unabhängig vom Krankheitsstatus, Dauer oder Schwere der Erkrankung,

Einleitung

sowie von psychotropen Medikamenten (Turetsky et al. 1998; Mathalon et al. 2000) und es gibt Hinweise auf ein genetisch bedingtes Defizit bei Patienten mit Schizophrenie und ihren Angehörigen (Earls et al. 2016). Meta-Analysen von van Beijsterveldt und van Baal (2002) geben, auf Grundlage von fünf Zwillingsstudien, die Heritabilität der P300-Amplitude mit 60 % an (van Beijsterveldt und van Baal 2002). Hall et al. (2006; 2007) bestätigen ebenfalls einen engen genetischen Zusammenhang zwischen der P300-Amplitude und der Schizophrenie und beschreiben eine Heritabilität von 69 % (Hall et al. 2006; Hall et al. 2007).

Insgesamt fehlt es der P300-Amplitude als Rolle eines Biomarkers der Schizophrenie an Spezifität. So wurde bei einer Vielzahl von neuropsychiatrischen Störungen ebenfalls eine beeinträchtigte P300-Amplitude beobachtet. Auch Patienten mit einer Bipolaren Störung weisen mitunter mäßig reduzierte P3a- oder P3b-Amplituden und leicht bis mäßig verzögerte P3b-Latenzen auf (Wada et al. 2019). Bei einer Alzheimer-Erkrankung (Hedges et al. 2015) und bei Nikotin- und Alkoholabusus lassen sich ebenfalls verminderte P300-Amplituden finden (Hedges und Bennett 2014; Yuan et al. 2022).

Die P300-Amplitude kann allerdings, in Hinblick auf die Beurteilung von Personen mit einem klinischen Hochrisiko eine Schizophrenie zu entwickeln, eine wichtige Rolle spielen. Eine verminderte P300-Amplitude scheint innerhalb einer Hochrisikogruppe ein empfindlicher Prädiktor dafür zu sein, welche Patienten mit prodromalen Symptomen tatsächlich eine Psychose entwickeln (Kim et al. 2015; Turetsky et al. 2015; Tang et al. 2020).

1.5 Ziel der Arbeit

Innerhalb der multifaktoriellen und polygenetischen Ätiologie der Schizophrenie gilt die genetische Komponente als gesichert. Verschiedene Neurotransmittersysteme scheinen dabei an der Entstehung dieser psychiatrischen Erkrankung beteiligt zu sein. Auf der Suche nach möglichen Kandidatengenen fiel auf Grundlage der Dopamin- und Glutamathypothese der Schizophrenie die Aufmerksamkeit auch auf das *GRM3*-Gen. Das Gen konnte in verschiedenen Studien mit der Schizophrenie in Verbindung gebracht werden (Egan et al. 2004; Mössner et al. 2008; Ripke et al. 2014). Dabei zeigten sich Defizite der motorischen und kognitiven Funktion.

Das Konzept der Endophänotypen bietet bei der Komplexität und Heterogenität der Schizophrenie, die Möglichkeit, die ätiologischen Genloci einzugrenzen. Die Beobachtung einer verminderten P300-Amplitude bei an Schizophrenie erkrankten im Vergleich zu gesunden Individuen führte zur Etablierung dieses Phänotyps als Endophänotyp (Turetsky et al. 2000; Jeon und Polich 2003; Bramon et al. 2005). Die P300-Amplitude spiegelt kognitive Prozesse wider, die mit Reizbewertung und Reizantwort assoziiert sind.

Einleitung

Ziel der Arbeit ist es, im Rahmen einer genetischen Assoziationsstudie Zusammenhänge zwischen Varianten des *GRM3*- Genes und der P300- Komponente der akustisch evozierten Potentiale in einer Stichprobe mit an Schizophrenie erkrankten und gesunden Probanden zu untersuchen, sowie den Einfluss relevanter SNPs auf die Psychopathologie in einer unabhängigen Stichprobe mit Schizophreniepatienten zu überprüfen.

2 Material und Methodik

2.1 Studiendesign

Bei dieser Arbeit handelt es sich um eine genetische Assoziationsstudie der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig- Maximilians- Universität München, sowie der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychotherapie und Psychosomatik der Martin- Luther- Universität Halle- Wittenberg.

Bei den ausgewerteten Daten handelt es sich um eine Endophänotypstichprobe aus Probanden und Schizophreniepatienten, an welcher EEG- Ableitungen vorgenommen wurden, und einer unabhängigen zweiten Stichprobe mit Schizophreniepatienten, in der ein Zusammenhang mit der Psychopathologie der EEG- assoziierten Marker überprüft werden sollte.

Die Studie wurde mit der Zustimmung der lokalen Ethikkommissionen der Ludwig- Maximilians- Universität München und der Martin- Luther- Universität Halle- Wittenberg und in Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Die Teilnahme erfolgte freiwillig. Alle Teilnehmenden wurden im Vorfeld der wissenschaftlichen Untersuchung über die Forschungsmethodik, die behandelten Themen und die Forschungsziele informiert. Zusätzlich wurden sie über die anonyme Verwendung ihrer gesammelten Daten sowie mögliche Risiken, die mit ihrer Teilnahme an der Studie verbunden sein könnten, aufgeklärt. Die Studienteilnehmer gaben ihre Einverständniserklärung schriftlich ab.

2.2 Studienteilnehmer

2.2.1 Endophänotypstichprobe

Die Rekrutierung der Endophänotypstichprobe erfolgte von 1997 bis 2012 an der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig- Maximilians- Universität München.

2.2.1.1 Rekrutierung der Kontrollprobanden

Die Rekrutierung der Kontrollgruppe erfolgte mittels eines randomisierten Auswahlverfahrens über das zuständige Einwohnermeldeamt. Die ausgewählten Personen erhielten über ein Anschreiben Informationen bezüglich der Studienziele sowie Rückmeldeformulare und Kontakttelefonnummern. Bei einem positiven Rücklauf an die Klinik wurde im Rahmen eines standardisierten telefonischen Screenings eine grobe Prüfung der Ein- und Ausschlusskriterien durchgeführt.

Alle Teilnehmer mussten das achtzehnte Lebensjahr vollendet haben und deutscher bzw. kaukasischer Abstammung sein. Diese bezog sich auf die Herkunft beider Elternteile und die vorherigen zwei Generationen.

Material und Methodik

Die Eigen- und Familienanamnese sollte bezüglich psychiatrischer oder neurologischer Vorerkrankungen unauffällig sein und führte sonst zum Ausschluss aus der Kontrollkohorte.

Verlief dieses Telefonat positiv, wurde den Probanden ein Anamnesebogen zugesandt. In diesem wurde umfassend die gesamte Krankengeschichte bis zur dritten Generation schriftlich erfasst. Darauffolgend wurden die Probanden zu einem dreistündigen, persönlichen Termin eingeladen. Hier erfolgten eine körperliche Untersuchung, eine Blutentnahme sowie weitere Interviews.

Zum Einsatz kamen u.a. das Strukturierte Klinische Interview für das DSM IV (Wittchen et al. 1997), die Beurteilung der DSM IV- Achsen IV (psychosoziale und umgebungsbedingte Beeinträchtigungen) und V (globale Beurteilung der Leistungsfähigkeit) und die Family History Assessment Modules (FHAM) (Rice et al. 1995). Der Mini- Mental- Status- Test (MMST) (Folstein et al. 1975) wurde bei über 60 jährigen Probanden durchgeführt.

Weitere anamnestische Angaben wie die genetische Abstammung, Informationen über Schwangerschaft, Geburt, Schul- und Berufslaufbahn, Familienstand und Lebenszufriedenheit wurden im Nachgang durch einen Fragebogen erfasst. Die Ableitung des EEGs erfolgte an einem separaten Termin.

Ein Studieneinschluss erfolgte nur bei unauffälliger psychiatrischer Familienanamnese, dem Fehlen von Achse- I- Störungen und Achse- II- Störungen (lifetime) und nach Ausschluss neurologischer Erkrankungen. Insgesamt wurden 262 Probanden eingeschlossen.

2.2.1.2 Rekrutierung der Patienten

Ehemals stationäre Patienten mit der Diagnose einer Schizophrenie wurden telefonisch kontaktiert und über die Art, die Inhalte und die Ziele der Studie aufgeklärt. Bei Interesse erfolgte eine Terminvereinbarung für eine klinische Untersuchung sowie für eine ausführliche somatische, psychiatrische und biographische Anamneseerhebung. Zur Diagnosesicherung der Schizophrenie kam das Strukturierte Klinische Interview für das DSM IV (SKID I und II, (Wittchen et al. 1997)) zum Einsatz. Ausschlussdiagnosen waren affektive Störungen mit psychotischen Symptomen und andere psychotische Störungen, deren Ursache organisch, alkohol- oder drogenbedingt war. Die Patienten durften, aufgrund labortechnischer Gegebenheiten, sowie zur Sicherheit des Personals, nicht an einer aktiven Hepatitis B, Hepatitis C oder HIV erkrankt sein.

Insgesamt wurden in einer ersten Stichprobe 115 Patienten genotypisiert und zusätzlich erfolgte bei diesen Patienten die Ableitung eines EEGs.

2.2.2 Stichprobe zur Erfassung des psychopathologischen Schweregrades der Schizophrenie

In einer zweiten Stichprobe von 112 Schizophreniepatienten, welche ab 2013 an der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychotherapie und Psychosomatik der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg rekrutiert wurden, wurden gleiche Ein- und Ausschlusskriterien angewandt. Der Fokus lag hierbei auf der Assoziation mit klinischen Phänotypen, welche durch die Anwendung der PANSS ermittelt wurden.

Die Erfassung der schizophrenen Symptomatik erfolgte mittels der PANSS (*Positive and Negative Syndrome Scale for Schizophrenia*) (Kay et al. 1987).

Die PANSS ist eine Fremdbeurteilungs-Skala, die es mit insgesamt 30 Items ermöglicht, positive, negative und allgemeine psychopathologische Symptome zu erfassen. Die „Positiv Skala“ (Tabelle 1) und die „Negativ Skala“ (Tabelle 2) bestehen dabei aus jeweils 7 Items. Die „Allgemeine psychopathologische Skala“ besteht aus insgesamt 16 Items (Tabelle 3, folgende Seite).

Tabelle 1: Beurteilungskriterien der PANSS- Positiv- Skala (Kay et al. 1987)

Positiv- Skala	P1 Wahnideen P2 formale Denkstörungen P3 Halluzinationen P4 Erregung P5 Größenideen P6 Misstrauen/ Verfolgungsideen P7 Feindseligkeit
-----------------------	--

Tabelle 2: Beurteilungskriterien der PANSS- Negativ- Skala (Kay et al. 1987)

Negativ- Skala	N1 Affektverflachung N2 emotionaler Rückzug N3 mangelnder affektiver Rapport N4 Soziale Passivität und Apathie N5 Schwierigkeiten beim abstrakten Denken N6 Mangel an Spontanität und Flüssigkeit der Sprache N7 Stereotype Gedanken
-----------------------	---

Tabelle 3: Beurteilungskriterien der PANSS- Allgemeine psychopathologische Skala (Kay et al. 1987)

Allgemeine psychopathologische Skala	G1 Sorge um die Gesundheit G2 Angst G3 Schuldgefühle G4 Anspannung G5 Manierismen und unnatürliche Körperhaltung G6 Depression G7 motorische Verlangsamung G8 unkooperatives Verhalten G9 ungewöhnliche Denkinhalte G10 Desorientiertheit G11 mangelnde Aufmerksamkeit G12 Mangel an Urteilsfähigkeit und Einsicht G13 Willensschwäche G14 mangelnde Impulskontrolle G15 Selbstbezogenheit G16 aktives soziales Vermeidungsverhalten
---	---

Die PANSS wird mittels einer 7- stufigen Ausprägung vom Interviewer eingeschätzt (1= Merkmal nicht vorhanden; 2= minimal ausgeprägt; 3= gering; 4= mäßig; 5= mäßig schwer; 6= schwer; 7= extrem ausgeprägt). Die Gesamtpunktzahl der PANSS beträgt mindestens 30 Punkte und maximal 210 Punkte. Die Punktzahl der positiven, negativen und allgemeinspsychopathologischen Skalen wird dabei auch getrennt angegeben. Insgesamt wurde die PANSS- Skala für den jemals am stärksten ausgeprägten Wert lifetime erhoben.

2.3 EEG-Ableitung und Aufarbeitung

2.3.1 Paradigma

Das ereigniskorrelierte Potential P300 wurde generiert, indem den Probanden binaural über Kopfhörer Töne vorgespielt wurden. Davon waren 80 % ungezielte Stimuli (540 Töne bei 500 Hz) und 20 % gezielte Stimuli (135 Töne bei 1000 Hz). Die Präsentation der Töne erfolgte in zufälliger Reihenfolge. Der Lautstärkepegel betrug 80 dB mit einer Dauer von 40 ms und einem Tonanstieg und Tonabstieg von 10 ms. Das Interstimulus-Intervall betrug 1,5 s. Mit der dominanten Hand waren die Probanden angehalten beim Wahrnehmen des Tones eine Taste zu drücken.

2.3.2 EKP-Aufzeichnung

Die Untersuchung der auditorisch evozierten Potentiale erfolgte in einem schallgedämpften und elektrisch abgeschirmten Raum. Während des Versuchs saßen die Probanden mit geschlossenen Augen in einem zurückgelehnten Stuhl mit Kopfstütze. Bei dem Aufzeichnungsgerät handelte es sich um das Gerät Neuroscan Synamps. Die evozierten Potenziale wurden mit 33 auf Cz bezogenen Elektroden (32 Kanäle) unter Verwendung einer Elektrodenkappe aufgezeichnet. Die Elektroden wurden nach dem internationalen 10/20- System mit den zusätzlichen Elektroden FC1, FC2, FC5, FC6, T1, T2, CP5, CP6, A1, A2, PO9, PO10 positioniert (Abbildung 3). Als Erdung diente Fpz.

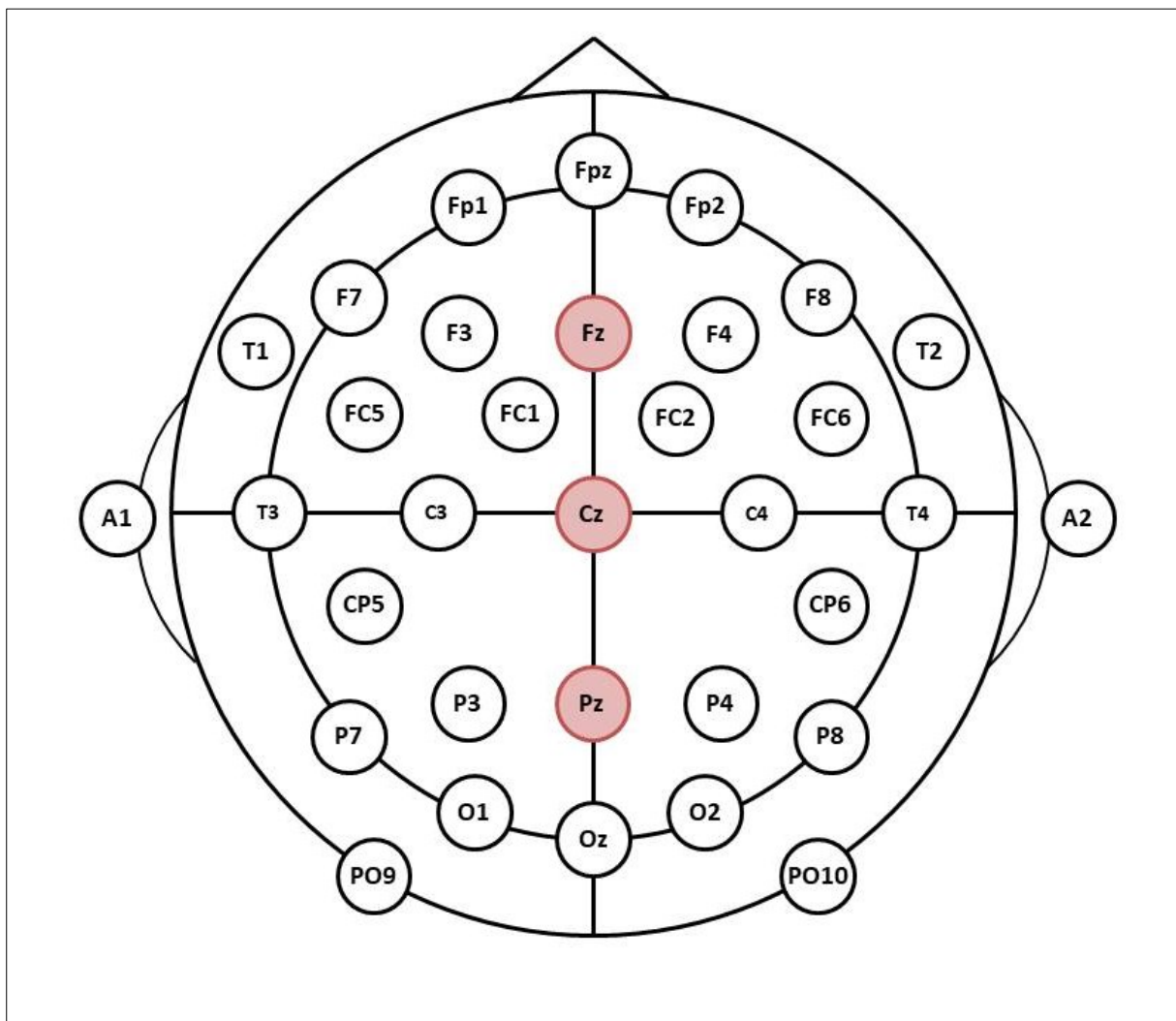


Abbildung 3: Anordnung der EEG- Elektroden (rot markierte Ableitungen für spätere Analyse)

Die Impedanz der Elektroden betrug weniger als 10 kOhm. Die Daten wurden mit einer Abtastrate von 250 Hz und einem analogen Bandpassfilter (0,16 bis 50 Hz) aufgezeichnet. Bei jedem Durchlauf wurde die Zeitspanne 200 ms vor und 800 ms nach dem Stimulus ausgewertet. Um Artefakte zu reduzieren,

Material und Methodik

wurden alle Amplituden aus der Mittelung ausgeschlossen, deren Spannung eine Abweichung von $\pm 70 \mu\text{V}$ in mindestens einer der 32 Elektroden während der Mittelungsperiode überstieg. Nur wenn die Mittelungszahl mindestens 50 betrug, wurden die entstandenen Wellenformen akzeptiert und in die Berechnung mit einbezogen.

Die P300- Amplitude und -Latenz wurden halbautomatisch mit der BrainVision Analyzer (BVA) Software bestimmt. Dabei suchte die Software nach der größten positiven Amplitude in einem Zeitabschnitt 250 bis 500 ms post Stimulus. Die Ergebnisse wurden anschließend einer Sichtkontrolle an den Elektroden F3 (links frontal), F4 (rechts frontal), Fz (frontozentral), P3 (links parietal), P4 (rechts parietal) und Pz (zentroparietal) unterzogen.

2.4 Laborverfahren

Für die Genotypisierung wurde hochreine DNA benötigt. Diese wurde durch die Blutentnahme bei jedem Studienteilnehmer mit anschließender DNA- Extraktion gewonnen. Die Durchführung der labortechnischen Methoden erfolgten standardisiert und nach etablierten Protokollen in dem assoziierten molekularbiologischen Labor durch ausgebildete Fachkräfte.

2.4.1 DNA-Extraktion

Zur Extraktion der DNA wurden von allen Studienteilnehmern circa 7-10 ml venöses Blut in EDTA-Monovetten (Sarstedt, Nümbrecht) abgenommen. Die für die DNA- Extraktion benötigten Materialien, Puffer und Reagenzien sind in Tabelle 4 aufgelistet:

Tabelle 4: Zubehör für die DNA- Extraktion

Material	Hersteller
EDTA- Monovette	Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
50 ml Zentrifugenröhre	Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
Micro-Schraubröhre, 2 ml	Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
1x PBS-Puffer: 8 g NaCl 0,2 g KCl 1,44 g Na ₂ HPO ₄ 0,24 g KH ₂ PO ₄ Ad 1 l mit Aqua dest. mit NaOH auf pH 7,4	Herstellung aus Reagenzien von Carl Roth, Hamburg, Deutschland
Qiagen DNA Blood Maxi Kit	Qiagen, Hilden, Deutschland
Ethanol Rotipuran (>98 % p.A.)	Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland
Vortex Genie	Scientific Industries, New York, USA
Wasserbad WNB 22	Memmert, Schwabhausen, Deutschland
Kühlzentrifuge CF 108-GR	VWR Life Science Competence Center, Erlangen, Deutschland

Die DNA- Extraktion erfolgte nach dem Protokoll des Qiagen DNA Blood Maxi Kits (Qiagen 2005). Alle Zentrifugenschritte wurden mithilfe der Kühlzentrifuge durchgeführt.

Zur Zellyse wurden in einem Zentrifugenröhrchen (Sarstedt, Nümbrecht) 10 ml Vollblut, 500 µl Qiagen Protease und 12 ml des Guanidinhydrochlorid (GHCl)- haltigen Lysepuffers zugegeben. Anschließend erfolgte 60 Sekunden lang die Homogenisierung des Gemisches auf dem Vortex Genie (Scientific

Industries, New York, USA). Abschließend folgte eine Inkubation des Gemisches für 30 min in einem Wasserbad WNB 22 (Mettler, Schwabhausen) bei 70 °C.

Zum Ausfällen der DNA wurden anschließend 10 ml Ethanol ROTIPURAN® >98 % p.a. (Carl Roth, Karlsruhe) hinzugefügt und weitere 2 min auf dem Vortex Genie homogenisiert.

Anschließend wurde das Gemisch sukzessive auf eine QiAamp Maxi Säule (Qiagen, Hilden) überführt und anschließend bei 3.000 rpm für 3 min zentrifugiert.

Durch die Salz- und pH- Bedingungen in der Lösung erfolgte bei Raumtemperatur eine selektive Bindung der DNA an die Silikagelmembran.

Verunreinigungen an der Säule wurden über zwei Waschschriffe gelöst, um eine Reinigung der DNA zu erreichen.

Im ersten Waschschriffe wurden 5 ml des GHCl- haltigen Waschpuffers (Qiagen, Hilden) auf die DNA- haltige Membran gegeben und anschließend für 2 min bei 4.000 rpm zentrifugiert. Hierbei lösen sich restliche Protein- und RNA-Kontaminationen und werden entfernt.

In einem zweiten Waschschriffe mit 5 ml eines ethanolhaltigen, salzarmen Puffers (Qiagen, Hilden) und anschließender Zentrifugation für 15 min bei 4.000 rpm wurden die GHCl- Salze ausgewaschen. Die Silikagelmembran wurde durch die lange Zentrifugationszeit gleichzeitig getrocknet.

Die Elution der DNA erfolgte durch zweimalige Inkubation mit insgesamt 1,5 ml TRIS- haltigem Puffer (Qiagen, Hilden) für jeweils 5 min bei Raumtemperatur und jeweils anschließender Zentrifugation bei 5.000 rpm für 2 min.

2.4.2 Konzentrationseinstellung der DNA

Da für die Genotypisierung alle eingesetzten DNA- Lösungen die gleiche Konzentration aufweisen müssen, erfolgte die Konzentrationseinstellung auf 50 ng/µl (Materialien vgl. Tabelle 5)

Tabelle 5: Zubehör für die Konzentrationseinstellung

Material	Hersteller
Human genomic DNA 100 ng/µl	Clontech, Mountain View, USA
Quant iT PicoGreen dsDNA reagent	Invitrogen GmbH, Karlsruhe, Deutschland
96 Well Flat Bottom Plate Black	Greiner Bio- One, Frickenhausen, Deutschland
Thermo Fast 96 well Plate	ABgene, Hamburg, Deutschland
Janus Automated Workstation	Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA
Victor 3 Multilabel Counter 1420	Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA

Material und Methodik

Die Bestimmung der DNA- Konzentration erfolgte mittels der PicoGreen- Methode. Es handelt sich bei PicoGreen um ein ultraselektiv fluoreszierendes Färbemittel, das spezifisch an die DNA bindet und mit dem kleinste Mengen doppelsträngiger DNA quantifiziert werden können.

Für die Quantifizierung der unbekannten DNA- Konzentrationen wurde eine Standardkurve verwendet. Dazu diente eine 1:2 Verdünnungsreihe eines 100 ng/ μ DNA- Standards, bestehend aus 8 Punkten mit 100; 50; 25; 12,5; 6,75; 3,125; 0 ng/ μ l, wobei zweifach destilliertes Wasser als Solvens verwendet wurde. Zur Vorbereitung der Messreihe wurde die zu bestimmende DNA- Lösung in einer 96 well Platte mit Wasser 1:10 verdünnt (45 μ l autoklaviertes, bidestilliertes Wasser plus 5 μ l der DNA- Lösung). Auf der Messplatte, einer schwarzen 96 well Platte mit flachem Boden, wurden anschließend pro Vertiefung 50 μ l autoklaviertes, bidestilliertes Wasser vorgelegt. Jeweils 5 μ l der Standardverdünnungsreihe und der vorverdünnten DNA wurden in Duplikaten zugeben. Anschließend wurde PicoGreen 1:156 ebenfalls mit bidestilliertem Wasser verdünnt und pro Vertiefung 145 μ l zu der vorverdünnten Proben- und Standard- DNA zugegeben.

Zur Fluoreszenzmessung wurde die Messplatte durch den Greifarm des Pipettierroboters automatisch in den Victor 3 Multilabel Counter 1420 überführt. Zur homogenen Durchmischung wurde die Platte im Messgerät 30 s in horizontaler Ebene in Doppelellipsen geschüttelt. Anschließend wurde der Fluoreszenzfarbstoff PicoGreen mit einer Wellenlänge von 485 nm angeregt, um dann bei 520 nm die Emissionsmessung durchzuführen. Die sich daraus ergebenden Fluoreszenzwerte dienten als Grundlage für die Berechnung der Konzentrationen der DNA- Lösungen anhand der Fluoreszenzwerte der Standardkurve berechnet.

Mit Hilfe der Standardkurve und der Mittelwerte der Doppelbestimmungen wurde errechnet, welche Volumina der zu messenden DNA- Lösung und des Wassers nötig waren, um eine Konzentrations-einstellung von 50 ng/ μ l zu erreichen. Die finale Konzentrationseinstellung führte die Janus Automated Workstation selbstständig durch.

2.4.3 Genotypisierung

Die Genotypisierung der SNPs wurde in der Endophänotypstichprobe mittels iPlex, einem Massenspektrometrie basiertem Verfahren, durchgeführt. Für die PANSS-Stichprobe wurden SNP- Arrays verwendet

2.4.3.1 Auswahl der SNPs

In die Vorauswahl der SNPs wurden einerseits *GRM3*- Varianten aufgenommen, für die aus der Literatur bereits Vorbefunde in Zusammenhang mit Schizophrenie und/oder dem hier untersuchten EEG- Phänotypen beschrieben wurden, andererseits lag der Fokus auf möglichst informativen Markern

(z.B. potentiell den Promoter beeinflussende SNPs in der 5'-Genregion, exonische Varianten), für die eine funktionelle Relevanz angenommen werden konnte, sowie abschließend auf einer möglichst lückenlosen Abdeckung des Gens unter Berücksichtigung der LD- Struktur. Für die finale Auswahl war zusätzlich maßgeblich, dass es sich um einen biallelischen SNP handelte und die MAF mind. 10 % in Europäern aufwies (CEU- Stichprobe des CEPH (The International HapMap Project 2003)), sowie eine technische Umsetzung mit der gewählten Methode möglich war. Auf dieser Basis wurden für die Genotypisierung 9 SNPs des *GRM3*- Gens ausgewählt (rs13242038, rs11772736, rs802467, rs2189812, rs6465084, rs2237561, rs13230421, rs1468413, rs646588).

2.4.3.2 Genotypisierung mittels MALDI- TOF Massenspektrometrie

Die Genotypisierung wurde mittels der MALDI- TOF- Massenspektrometrie (*Matrix- Assisted Laser Desorption / Ionization Time-Of-Flight*) durchgeführt. Die verwendete iPLEX- Methode verfolgt das Prinzip der Einzelbasenverlängerung (*Increased Plexing Efficiency and Flexibility for MassARRAY® System through Single Base Primer Extension with Mass-Modified Terminators*).

Mit Unterstützung der Software AssayDesign 3.1 Software (Sequenom Diego, CA, USA) erfolgte die Konzipierung der Assays. Alle für das Assaydesign benötigten Informationen für die zu analysierenden SNPs, wurden über die Datenbank des National Centre of Biotechnology Information (NCBI) eingeholt. Das Softwareprogramm entwirft für jeden SNP ein Primerset aus zwei PCR-Primern und einem Extensionsprimer und ermittelt die optimale Plexzusammenstellung.

Unter Verwendung des iPLEX- Verfahrens, das in drei Schritten abläuft, wurde die Genotypisierung durchgeführt.

Als erster Schritt erfolgte eine konventionelle Multiplex- Polymerase- Kettenreaktion zur Amplifizierung der die SNPs flankierenden Genomsequenzen (verwendete Materialien in Tabelle 6).

Tabelle 6: Zubehör für die Multiplex- PCR

Material	Hersteller
dNTP Set, 100 mM	ABgene, Hamburg, Deutschland
MgCl ₂ , 25 mM	Qiagen, Hilden, Deutschland
PCR-Puffer 10x	Qiagen, Hilden, Deutschland
HotStar Taq DNA Polymerase (5 U/μl)	Qiagen, Hilden, Deutschland
Primer	Metabion, Martinsried, Deutschland
Thermo Fast 96 well Plate	ABgene, Hamburg, Deutschland
Thermo Fast 384 well Plate	ABgene, Hamburg, Deutschland
Gene Amp PCR System 9700	Applied Biosystems, Foster City, USA

Nachdem die Primer mittels der Software AssayDesign 3.1 zu Multiplexen zusammengestellt worden waren, erfolgte die Erstellung eines Mastermix. Dieser wurde mittels der in Tabelle 7 (folgende Seite) aufgeführten Reagenzien angefertigt.

Tabelle 7: Zusammensetzung des Mastermix für die Multiplex- PCR

Reagenz	Konzentration	Volumen/Reaktion (inkl. 25 % Überhang)
H ₂ O	-	1,850 µl
10x PCR-Puffer	1,25 x	0,625 µl
MgCl ₂ 25 mM	1,625 mM	0,325 µl
dNTP Mix, 25 mM	500 µM	0,100 µl
Primer Mix, je 500 nM	100 nM	1,000 µl
Hotstar Taq Polymerase, 5 U/µl	0,5 U/Reaktion	0,100 µl
Total	-	4,000 µl

Mithilfe des Pipettierroboters Microlab MPH 96 wurden 3 µl Mastermix pro Vertiefung in einer 384 *well* Platte vorgelegt und anschließend 12,5 ng DNA dazugegeben.

Diese Reaktionsplatten wurden verschlossen, zentrifugiert und in einem Thermocycler (GeneAmp PCR System 9700, Applied Biosystems, Foster City, USA) weiter prozessiert.

Die Multiplex- PCR verlief nach folgendem Programm: Zu Beginn erfolgte die initiale Denaturierung, d.h. die Aufspaltung der Doppelstrang- DNA in Einzelstränge, bei 95°C über 5 min. Alle weiteren Denaturierungsschritte innerhalb der 45 Zyklen wurden für 20 s auf dieser Temperatur durchgeführt. Neben der Denaturierung erfolgte in jedem Zyklus eine Abkühlung der Proben auf 56°C für 30 s, die der Anlagerung der Primer an den Einzelstrang der DNA (Annealing) diene, sowie eine Erhöhung der Temperatur für 1 min auf 72°C, bei der die Anlagerung der jeweils komplementäre dNTPs mittels Taq Polymerase stattfand (Elongation). Die Probe wurde nach Abschluss der 45 Amplifizierungszyklen noch weitere 3 min auf 72°C gehalten (finale Elongation) und dann auf 12°C abgekühlt.

Im zweiten Schritt des iPLEX- Verfahrens erfolgte die Dephosphorylierung der PCR- Produkte. Die verwendeten Materialien für dieses Verfahren sind in Tabelle 8 aufgeführt.

Tabelle 8: Zubehör für die SAP- Reaktion

Material	Hersteller
SAP- Puffer	Sequenom, San Diego, USA
SAP- Enzyme	Sequenom, San Diego, USA
Multimek Pipettierroboter	Beckmann, Fullerton, USA
Gene Amp PCR System 9700	Applied Biosystems, Foster City, USA

Nukleotide, die während der PCR nicht angelagert wurden und somit die weiteren Prozesse beeinträchtigen könnten, wurden mit Hilfe der *Shrimp Alkaline Phosphatase* (SAP) dephosphoryliert und somit inaktiviert. Dafür wurden mit Hilfe eines Pipettierroboters 2 µl SAP- Mastermix (Zusammensetzung siehe Tabelle 9) zu den PCR- Produkten gegeben, gemischt abzentrifugiert und in einem Thermocycler inkubiert, zuerst für 40 min bei 37°C und anschließend für 10 min bei 85°C, um das SAP- Enzym irreversibel zu inaktivieren. Im Anschluss wurde das Reagenz auf 4°C abgekühlt.

Tabelle 9: Zusammensetzung des SAP- Mastermix

Reagenz	Volumen / Reaktion (inkl. 25 % Überhang)
H ₂ O	1,530 µl
10x SAP Puffer	0,170 µl
SAP- Enzym	0,300 µl
Total	2,000 µl

Im dritten Schritt des iPLEX- Verfahrens erfolgte die iPLEX- Reaktion, d.h. die Primer- extensionsreaktion. Die eingesetzten Verbrauchsmaterialien, Konzentrationen und Volumina zur Herstellung des iPLEX- Mix sind in den Tabellen 10 und 11 (folgende Seite) dargestellt.

Tabelle 10: Zubehör für die Multiplex Extensionsreaktion

Material	Hersteller
iPLEX Puffer Plus	Sequenom, San Diego, USA
iPLEX Enzyme	Sequenom, San Diego, USA
iPLEX Termination Mix	Sequenom, San Diego, USA

Material und Methodik

Es handelt sich bei der iPLEX- Reaktion um eine modifizierte Multiplex- PCR. In der iPLEX- Reaktion wird nur je ein Primer pro SNP eingesetzt. Der Primer ist so entworfen, dass er direkt neben der variablen Stelle (SNP) an die DNA bindet und wird um die komplementäre Base des probandenspezifischen SNP- Allels verlängert. Die Verwendung von Didesoxynukleotiden (ddNTPs) stellt sicher, dass jeder Primer nur um eine Base verlängert wird.

Tabelle 11: Zusammensetzung des Mastermix für die iPLEX- Reaktion

Reagenz	Konzentration	Volumen/ Reaktion (inkl. Überhang)
H ₂ O		0,755 µl
iPLEX Puffer Plus	0,222x	0,200 µl
iPLEX Termination Mix	1x	0,200 µl
Primer Mix (7µM bis 14µM)	0,625 µM bis 1,25 µM	0,804 µl
iPLEX Enzym	1x	0,041 µl
Total		2,000 µl

Je 2 µl des iPLEX- Mix wurden zu den mit SAP behandelten PCR- Produkten hinzugegeben.

Dieser Reaktionsansatz wurde in den Platten zentrifugiert und im Thermocycler nach folgendem Schema (Abbildung 4) prozessiert:

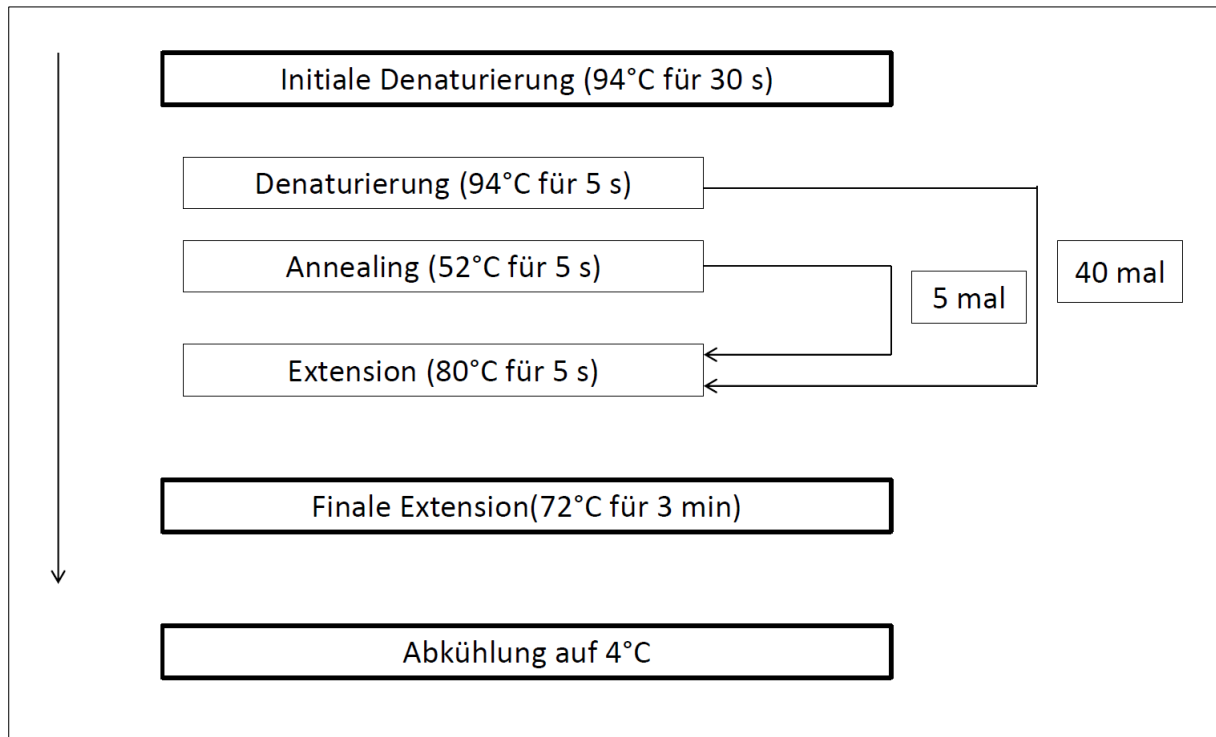


Abbildung 4: Schema iPLEX- Reaktion

Um Interferenzen der Extensionsprodukte mit bestimmten Ionen zu verhindern, wurden die Extensionsprodukte im Anschluss entsalzt (Clean Resin, Sequenom, San Diego).

Die Messung der Extensionsprodukte wurde mittels Massenspektrometrie mit dem MassARRAY Analyzer 4 (Agena Bioscience, Hamburg) durchgeführt (vgl. Tabelle 12).

Tabelle 12: Materialien für die Messung der Extensionsprodukte im MALDI-TOF-MS

Material	Hersteller
3-Punkt Kalibrant	Sequenom, San Diego, USA
SpectroCHIP	Sequenom, San Diego, USA
MassARRAY POINT Nanodispenser	Sequenom, San Diego, USA
MassARRAY Analyzer 4	Agena Bioscience, Hamburg, Deutschland
TyperAnalyzer 3.4.0.18	Sequenom, San Diego, USA

Die Proben wurden mittels des Nanodispensers auf Siliziumchips mit 384 bereits aufpräparierten Matrixpunkten und 8 Kalibrantenpunkten übertragen. Für die Kalibrierung des Geräts wurde ein 3-Punkt-Kalibrant eingesetzt. Dieser bestand aus einer Mischung von Oligonukleotiden bekannter Masse.

Der so präparierte Siliziumchip wurde in das MALDI-TOF Massenspektrometer eingeschleust. Im Hochvakuum wurde jeder Matrixpunkt mehrfach einem intensiven Laserpuls von wenigen Nanosekunden Dauer ausgesetzt.

Die Analytmoleküle wurden auf diese Weise ionisiert. Die dabei entstandenen einfach geladenen Molekülionen wurden in einem elektrischen Feld beschleunigt. Die Flugdauer und die Geschwindigkeit wurden im Flugrohr gemessen. Anhand der Flugzeit und der Geschwindigkeit konnte auf die jeweiligen Allele und Genotypen rückgeschlossen werden. Diese Analyse und Rückübersetzung in die entsprechenden Nukleotide wurden durch die TyperAnalyzer Software bewerkstelligt.

2.4.3.3 Genotypisierung mittels SNP-Arrays

Die Genotypisierung der zweiten Stichprobe erfolgte mittels SNP- Array unter Verwendung der Global Screening Arrays von Illumina bei deCODE genetics (Reykjavik, Island). Bei der SNP- Microarray Technologie von Illumina, Inc. werden von mehreren hunderttausend Variationen Oligonukleotide auf einer Array- Matrix mit einer SNP- spezifischen Sequenz immobilisiert. Diese bieten den Grundstock aller Varianten, welche direkt bestimmt werden können.

Um die Ausgangsmenge der DNA zur Genotypisierung eines Probanden zu erhöhen, wird dessen genomische DNA erst amplifiziert, anschließend fragmentiert. Für die Hybridisierung der Probanden-spezifischen DNA- Fragmente an die immobilisierten Oligonukleotide werden die DNA-Fragmente auf den SNP- Chip appliziert. Im nächsten Schritt wird eine allelspezifische Extension mit Nukleotiden durchgeführt, die mit zwei unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen (Cy3, Cy5) gekoppelt sind.

Nach entsprechender Anregung lassen sich in einem Fluoreszenzmessgerät die Intensitäten messen. Die Oligonukleotidsequenzen dieser SNP- Microarray Technologie besitzen in der Regel eine Art „Barcode“, mit dem sie einem SNP zugeordnet werden können, und enden mit dem letzten Nukleotid vor der variablen Stelle. Durch diesen „Barcode“ lassen sich in der bioinformatischen Auswertung die SNPs einem Farbpunkt und durch die Farbqualität (rot, grün für die homozygoten Genotypen und gelb als Mischfarbe für die heterozygoten Genotypen) die Probanden-spezifischen Allele für diesen Farbpunkt zuordnen.

2.4.4 Qualitätskontrolle

Die SNP- Ergebnisse der mittels iPLEX genotypisierten Varianten, die in die statistische Auswertung eingingen, mussten folgende Qualitätsanforderungen erfüllen. Für jeden SNP wurde in der TyperAnalyzer Software ein Clusterplot erstellt. Diese Genotypcluster mussten klar voneinander getrennt dargestellt werden, um sie als valide und von hoher Qualität einzuschätzen.

Es erfolgte eine Überprüfung mittels Blindproben ohne Genotypen und durch Kontrollproben, welche dieselbe DNA an irgendeiner Position auf jeder 96 well Platte hatten und alle die gleichen Genotypen aufweisen mussten.

Die Probanden- Callrate musste mindestens 0,8 betragen, d.h. mindestens 80 % aller untersuchten SNPs in einem Plex müssen für einen Probanden einen auswertbaren Genotyp ergeben. Die SNP- Callrate musste mindestens 0,90 betragen, d.h. mindestens 90 % aller untersuchten Probanden müssen für einen SNP auswertbare Genotypen ergeben.

Die mitprozessierten CEPH- Proben mussten die zu erwartenden Genotypen aufweisen, welche mit der HapMap- Datenbank abgeglichen wurden (The International HapMap Project 2003).

Für jeden SNP wurde das Hardy- Weinberg- Equilibrium (HWE) geprüft. Polymorphismen mit Abweichungen vom HWE mit $p < 10^{-5}$ wurden aufgrund technischer Mängel verworfen.

Folgende Qualitätskriterien wurden für die Array- basierte Genotypisierungsmethode angewendet:

Als Ausschlusskriterien galten Differenzen zwischen dem anamnestischen angegebenen und dem über X- chromosomale Marker bestimmten DNA-Geschlecht. Des Weiteren wurden doppelte Probanden und Verwandte als auch Probanden deren Herkunft basierend auf der Selbstauskunft nicht europäisch waren, ausgeschlossen. In Hinblick auf die Qualität der Genotypisierung kamen die Überprüfung der Genotypisierungsrate und des HWE zur Anwendung. Ausgeschlossen wurden SNPs mit einer Abweichung vom HWE mit $p < 0,01$, Probanden mit einer Callrate $< 93\%$, sowie einer SNP- Callrate von weniger als 99% . Im Anschluss wurden die vorab ausgewählten SNPs und geeignete Probanden aus dem Gesamtdatensatz extrahiert und für die Analyse verwendet. Waren die gewünschten SNPs nicht im Gesamtdatensatz enthalten, wurden über die Website LDlink geeignete Proxies gesucht (LDlink abgerufen am 23.06.2023; Machiela und Chanock 2015)

2.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mit PLINK Version 1.07 (Purcell et al. 2007) und PLINK Version 1.9 (Chang et al. 2015), R Version 3.0.0 (R Development Core Team, 2013) und Haploview Version 4.2 (Barrett et al. 2005) durchgeführt.

Für die Berechnungen des Zusammenhangs der Genotypverteilung mit dem EEG-Phänotypen (P300 Amplitude) erfolgte eine Einteilung in drei Gruppen: Patienten, Kontrollen und Gesamtgruppe.

Die Abweichung der Genotypverteilung vom Hardy- Weinberg- Equilibrium wurde mittels des exakten Tests nach Fisher geprüft. Zum Ausschluss eines SNP führte eine signifikante Abweichung von der erwarteten Verteilung innerhalb der Kontrollgruppe ($p\text{-HWE} < 0,01$) oder eine minimale Allelfrequenz von 1% oder weniger in der Gesamtstichprobe.

Material und Methodik

Unterschiede zwischen Fall- und Kontrollgruppe wurden in der Verteilung der Geschlechter mit dem exakten Test nach Fisher und in der Altersverteilung mit dem Mann-Whitney-U-Test geprüft.

Um normalverteilte Residuen der ermittelten Amplitudenwerte zu erhalten, wurden diese durch eine inverse Rang-Transformation normalisiert und standardisiert. Hohe Werte der Rohdaten korrelieren dabei mit hohen Werten der transformierten Variablen. Die Assoziationsanalyse erfolgte mittels additiver linearer Regression mit Hilfe der Software PLINK 1.9 (Chang et al. 2015).

Die Assoziationen der einzelnen SNPs als auch der Haplotypen mit den jeweiligen Phänotypen wurden mittels einer multiplen linearen Regression im additiven Modell berechnet. Das Geschlecht, das Alter und der Erkrankungsstatus (dieser nur in der Gesamtgruppe) wurden dafür als Covariablen einbezogen.

Die Haplotyp-Analyse wurde mit Hilfe der Haploview Software (Barrett et al. 2005) durchgeführt. Haplotyp-Blöcke wurden nach der Methode von Gabriel (Gabriel et al. 2002) bestimmt.

Die Assoziation der signifikanten SNPs mit den (Sub)skalen der PANSS (Kay et al. 1987) erfolgte ebenfalls mittels linearer Regression auf Basis eines additiven Modells. Als Covariablen wurden Alter und Geschlecht einbezogen.

Für das Signifikanzniveau in beiden Stichproben wurden p-Werte von $p < 0,05$ als nominal signifikant festgelegt, während ein p-Wert von $p < 0,1$ als tendenzielle Signifikanz bzw. Trend gewertet wurde.

Um zu prüfen, ob die Ergebnisse multiplen Testen standhielten, wurde zusätzlich das Signifikanzniveau nach Bonferroni korrigiert für die Anzahl der untersuchten SNPs ($p < 0,0056$).

3 Ergebnisse

Diese Arbeit untersuchte die Assoziation von Polymorphismen des *GRM3*- Gens mit der Größe der P300- Amplitude im EEG in den Ableitungen Cz, Fz und Pz.

Darüber hinaus wurden die SNPs aus dieser Assoziation in einer weiteren klinischen Stichprobe von Schizophreniepatienten weiterverfolgt.

3.1 Beschreibung der *GRM3*- SNPs

Das *GRM3*- Gen befindet sich auf dem langen Arm des Chromosoms 7. Es hat 6 Exons, die durch 5 Introns unterbrochen werden (Abbildung 5). Die untersuchten SNPs rs13242038, rs11772736, rs802467, rs2189812, rs6465084, rs2237561, rs13230421, rs1468413 und rs646588 befinden sich in den intronischen Bereichen des Gens (vgl. Abbildung 5, Tabelle 13 (folgende Seite)).

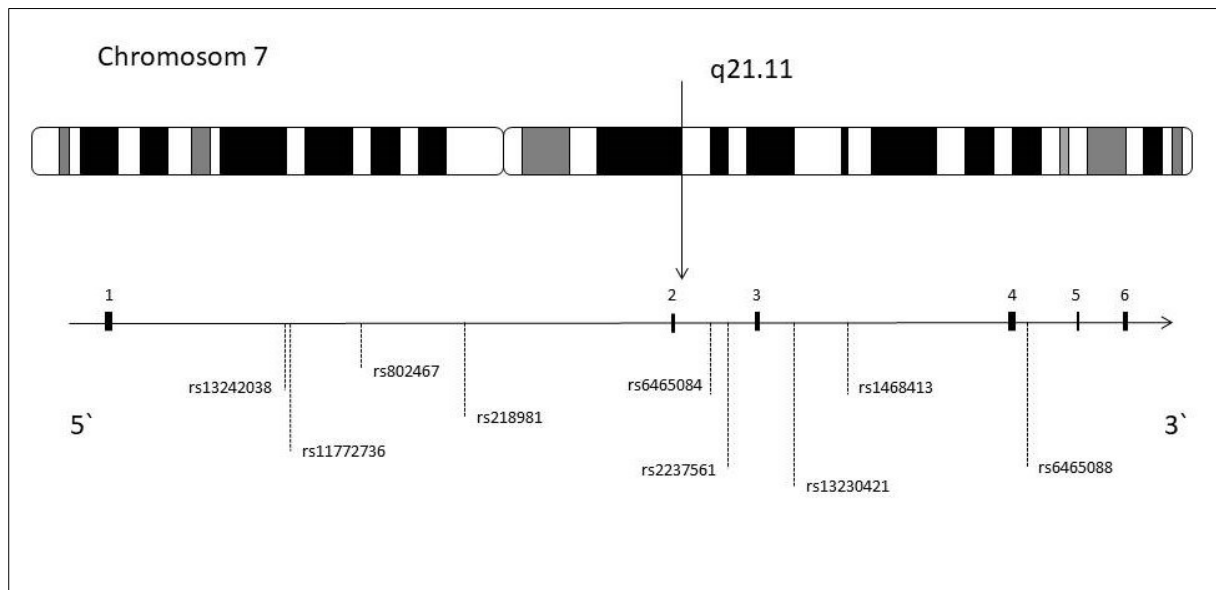


Abbildung 5: Chromosom 7 mit Lage des *GRM3*- Gens

Oberer Teil: Lage des Gens auf Chromosom 7. Unterer Teil: schematische Darstellung des Transkripts *GRM3*-201 mit Lokalisation der SNPs auf dem Gen. Die schwarzen Rechtecke stellen die Exons dar, verbindende Linien die Introns. Leserichtung 5' nach 3'. Modifiziert nach (Ensembl release 96 2019) und (NCBI 2019).

Ergebnisse

Tabelle 13: Lokalisation der neun genotypisierten SNPs des *GRM3*- Gens auf dem Chromosom 7

SNP-ID	Position*	Funktion
rs13242038	86314420	Intron
rs11772736	86315922	Intron
rs802467	86328610	Intron
rs2189812	86348999	Intron
rs6465084	86403475	Intron
rs2237561	86407567	Intron
rs13230421	86420126	Intron
rs1468413	86433653	Intron
rs6465088	86470554	Intron

*Die SNP- Positionen beziehen sich auf das Referenzgenom GRCh37.p10, db SNP build 138.

Die Genotypverteilung lag für alle SNPs mit $p > 0,01$ im Hardy- Weinberg- Equilibrium (vgl. Tabelle 14). Um eine Assoziation zwischen der P300- Amplitude und den Polymorphismen des *GRM3*- Gens zu prüfen, wurde bei 115 Patienten mit einer Schizophrenie und bei 262 Kontrollen zusätzlich zur Genotypisierung ein EEG abgeleitet.

Tabelle 14: Genotypverteilung und Hardy- Weinberg- Gleichgewicht

SNP	Allele		MAF	Genotypverteilung n A1A1 A1A2 A2A2 (pHWE)		
	A1	A2		Patienten	Kontrollen	Gesamtgruppe
rs13242038	T	C	0,193	19 138 335 (0,356)	26 192 381 (0,801)	45 330 716 (0,381)
rs11772736	G	T	0,332	53 230 213 (0,483)	66 264 277 (0,782)	119 494 490 (0,786)
rs802467	C	T	0,409	85 226 163 (0,706)	103 261 217 (0,120)	188 494 490 (0,786)
rs2189812	C	G	0,297	42 195 228 (1,000)	62 210 295 (0,011)	104 405 523 (0,053)
rs6465084	G	A	0,219	15 165 303 (0,207)	29 217 346 (0,565)	44 382 649 (0,211)
rs2237561	C	T	0,288	29 195 246 (0,291)	47 248 267 (0,370)	76 443 513 (0,150)
rs13230421	A	T	0,113	4 87 402 (1,000)	9 133 453 (1,000)	13 220 855 (0,881)
rs1468413	A	C	0,177	7 144 345 (0,066)	24 170 372 (0,418)	31 314 717 (0,675)
rs6465088	G	T	0,240	22 167 300 (0,894)	31 246 317 (0,069)	53 413 617 (0,134)

A1= minores Allel, A2= majores Allel, n= Anzahl der Probanden, pHWE= Hardy- Weinberg- Equilibrium, MAF= minore Allelfrequenz

Ergebnisse

In der Stichprobe 2 wurden fünf Varianten weiterverfolgt, wobei für zwei der ausgewählten SNPs Proxies verwendet wurden (Tabelle 15).

Tabelle 15: SNP mit zugehörigem Proxy

SNP	A1	MAF	r^2	D'	Proxy	A1	MAF
rs2189812	C	0,278	0,489	0,811	rs2237563	C	0,222
rs802467	C	0,389	0,751	1,000	rs2189814	C	0,323

A1= minores Allel, MAF= Minore Allelfrequenz, r^2 = Bestimmtheitsmaß, D'= D prime

3.2 Stichprobenbeschreibung

Die Stichprobe 1 bestand aus 262 Kontrollprobanden und aus 115 an Schizophrenie erkrankten Patienten. Die Stichprobe 2 setzte sich aus 112 Schizophreniepatienten zusammen. Die Altersverteilung am Tag der EEG- Ableitung, sowie die Geschlechterverteilung der Stichproben 1 und 2 ist der Tabelle 16 zu entnehmen.

Tabelle 16: Alters- und Geschlechterverteilung der Stichproben 1 und 2

Stichprobe 1	Alter MW (SD)	Geschlecht n (%)		Gesamt n (%)
		männlich	weiblich	
Kontrollen	46,42 (15,18)	127 (48,5)	135 (51,5)	262 (69,5)
Patienten	39,61 (10,27)	71 (61,7)	44 (38,3)	115 (30,5)
gesamt n (%)	44,34 (14,20)	198 (52,5)	179 (47,5)	377 (100)
Stichprobe 2				
Patienten	39,18 (12,47)	59 (52,7)	53 (47,3)	112 (100)

MW= Mittelwert, SD= Standardabweichung, n= Anzahl der Probanden

Die Geschlechterverteilung beider Gruppen der Stichprobe 1 ist signifikant unterschiedlich (Fisher's Exact Test: $p=0,019$). Während das Geschlechterverhältnis bei den Kontrollprobanden nahezu ausgeglichen war, überwog bei der Patientengruppe das männliche Geschlecht mit 61,7 %. Das Durchschnittsalter aller Probanden lag bei 44,34 Jahren (Standardabweichung 14,20). Die Kontrollprobanden waren zwischen 19 und 74 Jahre und die Patienten zwischen 22 und 74 Jahre alt. Die Altersverteilung der beiden Gruppen war signifikant unterschiedlich ($U=11165$, $p=6,21519E-05$). Das Durchschnittsalter der Kontrollprobanden lag im Durchschnitt ca. sieben Jahre höher als das der Patienten.

Die Geschlechterverteilung der Stichprobe 2 war mit 59 Männern und 53 Frauen nahezu ausgeglichen. Das Durchschnittsalter des Samples betrug 39,18 Jahre (SD= 12,47), wobei die Patienten zwischen 19 und 88 Jahre alt waren.

3.3 Einzel- SNP- Analyse

Von den neun untersuchten SNPs des *GRM3*- Gens zeigten die Polymorphismen rs13242038 und rs6465084 signifikante Ergebnisse bezüglich der P300- Amplitude. Des Weiteren zeigten sich Trends bezüglich einer Assoziation mit der P300- Amplitude in den Ergebnissen der Polymorphismen rs802467, rs2189812, rs6465088 als auch rs13242038.

Für die Polymorphismen rs11772736, rs2237561, rs13230421 und rs146868 konnten keine signifikanten Assoziationen oder Trends zur P300- Amplitude ermittelt werden.

Darüber hinaus wurden SNPs mit Hinweisen auf eine Assoziation zur P300 ($p < 0,1$) mit der PANSS in einem zweiten Sample an Schizophreniepatienten (Stichprobe 2) weiterverfolgt.

3.3.1 SNP rs13242038

In Stichprobe 1 ergab sich für den selteneren Genotypen TT des SNP rs13242038 in der Kontrollgruppe ($p = 0,021$) und in der Gesamtgruppe ($p = 0,070$) an der Ableitung Fz eine größere P300- Amplitude als für CT und CC, wobei CC die niedrigsten Werte aufwies (Tabelle 17).

Tabelle 17: Mittelwerte der P300 für die Genotypen von rs13242038 (Stichprobe 1)

Ableitung	Gruppe	Genotyp					
		TT	CT	CC			
		MW (SD)			p	B _T	KI L95 U95
Cz	Gesamt	0,081 (0,152)	0,020 (0,074)	-0,041 (0,063)	0,496	0,061	-0,114 0,236
	Fall	-0,108 (0,261)	-0,056 (0,123)	-0,005 (0,113)	0,742	-0,051	-0,355 0,253
	Kontrolle	0,212 (0,185)	0,074 (0,090)	-0,064 (0,075)	0,204	0,138	-0,074 0,350
Fz	Gesamt	0,240 (0,151)	0,078 (0,074)	-0,083 (0,062)	0,070	0,161	-0,013 0,336
	Fall	-0,060 (0,256)	-0,053 (0,126)	-0,047 (0,111)	0,966	-0,007	-0,304 0,291
	Kontrolle	0,408 (0,185)	0,155 (0,091)	-0,098 (0,075)	0,021	0,253	0,040 0,465
Pz	Gesamt	0,069 (0,152)	0,020 (0,071)	-0,030 (0,063)	0,579	0,050	-0,126 0,225
	Fall	0,064 (0,264)	0,026 (0,130)	-0,012 (0,114)	0,808	0,038	-0,269 0,345
	Kontrolle	0,074 (0,184)	0,017 (0,090)	-0,039 (0,075)	0,600	0,057	-0,155 0,268

T= minores Allel, MW= adjustierter Mittelwert, SD= Standardabweichung, p= Signifikanzwert, B_T= Regressionskoeffizient in Bezug auf das minore T- Allel, KI= Konfidenzintervall, fett gedruckt= $p < 0,05$

Interessanterweise zeigte dieser SNP in der zweiten Schizophreniestichprobe (Stichprobe 2) eine Assoziation mit dem PANSS Totalwert, mit der Global- Skala gesamt und dem Item N2 (emotionaler Rückzug). Darüber hinaus zeigten sich Trends in Bezug auf die Negativ- Skala gesamt $p = 0,060$, N4 (Soziale Passivität und Apathie), N5 (Schwierigkeiten beim abstrakten Denken), G9 (ungewöhnliche Denkinhalte) und G12 (Mangel an Urteilsfähigkeit und Einsicht) (Tabelle 18).

Der seltener Genotyp TT ging dabei in den genannten PANSS- Items mit höheren Werten und damit einer Zunahme der Symptomatik einher.

Ergebnisse

Tabelle 18: Assoziationen und Trends mit der PANSS für rs13242038 (Stichprobe 2)

SNP	A1	PANSS-Item	p	B _{A1}	SE	KI L95 U95
rs13242038	T	gesamt PANSS	0,038	8,977	4,272	0,605 17,35
		N gesamt	0,060	2,761	1,451	-0,083 5,605
		N2	0,016	0,679	0,278	0,135 1,224
		N4	0,073	0,509	0,280	-0,041 1,058
		N5	0,081	0,544	0,308	-0,060 1,148
		G gesamt	0,031	5,037	2,306	0,517 9,557
		G9	0,054	0,504	0,259	-0,003 1,011
		G12	0,078	0,503	0,282	-0,050 1,056

A1= minores Allel, p= Signifikanzwert, fett gedruckt= $p < 0,05$, B_{A1}= Regressionskoeffizient bezogen auf minores Allel, SE= Standardfehler, KI= Konfidenzintervall, N gesamt= Summenskala Negativsymptomatik, N2= emotionaler Rückzug, N4= Soziale Passivität und Apathie, N5= Schwierigkeiten beim abstrakten Denken, G gesamt= Summenskala Allgemeine Psychopathologie, G9= ungewöhnliche Denkinhalte, G12= Mangel an Urteilsfähigkeit und Einsicht

3.3.2 SNP rs6465084

Bei dem SNP rs6465084 zeigte sich in den Ergebnissen an der Ableitung Fz bei Kontrollprobanden eine signifikante Assoziation ($p = 0,025$) zur P300- Amplitude und ein Trend in der Gesamtgruppe ($p = 0,051$). Das minore G- Allel war dabei mit einer höheren P300- Amplitude verbunden als das majore A- Allel (Tabelle 19).

Hinsichtlich der PANSS Stichprobe zeigte sich eine Assoziation mit dem PANSS- Item G3 (Schuldgefühle) und dem PANSS- Item G16 (aktives soziales Vermeidungsverhalten).

Für den Genotyp GG zeigte das Item G3 (Schuldgefühle) eine signifikant größere Ausprägung der Symptomatik und für das Item G16 (aktives soziales Vermeidungsverhalten) eine signifikante Abnahme der Symptomatik auf der PANSS (Tabelle 20).

Ergebnisse

Tabelle 19: Mittelwerte der P300 für die Genotypen von rs6465084 (Stichprobe 1)

Ableitung	Gruppe	Genotyp					
		GG	GA	AA			
		MW (SD)			p	B _G	KI L95 U95
Cz	Gesamt	0,191 (0,146)	0,054 (0,070)	-0,082 (0,065)	0,121	0,137	-0,036 0,309
	Fall	0,154 (0,274)	0,029 (0,130)	-0,096 (0,117)	0,452	0,125	-0,200 0,450
	Kontrolle	0,205 (0,170)	0,067 (0,083)	-0,072 (0,078)	0,181	0,138	-0,064 0,340
Fz	Gesamt	0,241 (0,145)	0,070 (0,070)	-0,102 (0,065)	0,051	0,172	0,000 0,344
	Fall	-0,077 (0,270)	-0,053 (0,128)	-0,029 (0,115)	0,884	-0,024	-0,345 0,297
	Kontrolle	0,349 (0,171)	0,115 (0,083)	-0,118 (0,078)	0,025	0,234	0,031 0,436
Pz	Gesamt	0,002 (0,146)	-0,007 (0,071)	-0,015 (0,065)	0,923	0,009	-0,165 0,182
	Fall	0,337 (0,276)	0,111 (0,131)	-0,114 (0,118)	0,180	0,225	-0,102 0,553
	Kontrolle	-0,135 (0,170)	-0,054 (0,083)	0,0258 (0,077)	0,435	-0,080	-0,282 0,121

G= minores Allel, MW= adjustierter Mittelwert, SD= Standardabweichung, p= Signifikanzwert, B_G= Regressionskoeffizient in Bezug auf das minore G- Allel, KI= Konfidenzintervall, fett gedruckt= p< 0,05

Tabelle 20: Assoziationen mit der PANSS für rs6465084 (Stichprobe 2)

SNP	A1	PANSS-Item	p	B _{A1}	SE	KI L95 U95
rs6465084	G	G3	0,037	0,657	0,311	0,047 1,267
		G16	0,043	-0,538	0,263	-1,053 -0,022

A1= minores Allel, p= Signifikanzwert, fett gedruckt= p< 0,05, B_{A1}= Regressionskoeffizient, SE= Standardfehler, KI= Konfidenzintervall, G3= Schuldgefühle, G16= aktives soziales Vermeidungsverhalten

3.3.3 SNP rs802467

Für den Polymorphismus rs802467 zeigten sich bezüglich einer Assoziation mit der P300- Amplitude vier Trends. In der Ableitung Fz bei den Kontrollprobanden (p= 0,051) und in der Gesamtgruppe (p= 0,050), sowie in der Ableitung Pz in der Patientengruppe (p= 0,064) und in der Gesamtgruppe an der Ableitung Pz (p= 0,069).

Bei diesen Ergebnissen war das minore C- Allel in allen Gruppen assoziiert mit einer kleineren P300- Amplitude (Tabelle 21).

Ergebnisse

Tabelle 21: Mittelwerte der P300 für die Genotypen von rs802467 (Stichprobe 1)

Ableitung	Gruppe	Genotyp					
		CC	CT	TT			
		MW (SD)			p	B _c	KI L95 U95
Cz	Gesamt	-0,204 (0,104)	-0,068 (0,055)	0,068 (0,079)	0,069	-0,136	-0,282 0,010
	Fall	-0,285 (0,185)	-0,115 (0,096)	0,054 (0,138)	0,200	-0,169	-0,428 0,089
	Kontrolle	-0,166 (0,125)	-0,044 (0,065)	0,077 (0,094)	0,173	-0,122	-0,296 0,053
Fz	Gesamt	-0,198 (0,104)	-0,052 (0,054)	0,094 (0,078)	0,050	-0,146	-0,291 0,000
	Fall	-0,287 (0,184)	-0,108 (0,096)	0,071 (0,138)	0,176	-0,179	-0,437 0,079
	Kontrolle	-0,211 (0,124)	-0,037 (0,065)	0,137 (0,094)	0,051	-0,174	-0,348 0,000
Pz	Gesamt	-0,124 (0,104)	-0,061 (0,054)	0,002 (0,078)	0,395	-0,063	-0,208 0,082
	Fall	-0,375 (0,184)	-0,129 (0,096)	0,118 (0,138)	0,064	-0,246	-0,504 0,011
	Kontrolle	0,019 (0,123)	-0,025 (0,064)	-0,070 (0,093)	0,611	0,045	-0,127 0,217

C= minores Allel, MW= adjustierter Mittelwert, SD= Standardabweichung, p= Signifikanzwert, B_c= Regressionskoeffizient in Bezug auf das minore C- Allel, KI= Konfidenzintervall

In der zweiten Stichprobe der Schizophreniepatienten zeigte der dafür verwendete Proxy rs2189814 ($r^2 = 0,65$, $D' = 1$) eine Assoziation mit dem PANSS- Item N4 (Soziale Passivität und Apathie) und einen Trend bezüglich des Items G6 (Depression).

Tabelle 22: Assoziationen und Trends mit der PANSS für rs2189814 (Stichprobe 2)

SNP	A1	PANSS-Item	p	B _{A1}	SE	KI L95 U95
rs2189814	C	N4	0,023	-0,551	0,239	-1,020 -0,082
		G6	0,093	-0,465	0,274	-1,002 0,073

A1= minores Allel, p= Signifikanzwert, fett gedruckt= $p < 0,05$, B_{A1}= Regressionskoeffizient, SE= Standardfehler, KI= Konfidenzintervall, N4= Soziale Passivität und Apathie, G6= Depression

Für das seltenere C- Allel sind diese Items mit niedrigeren Werten auf den PANSS-Subskalen und damit mit geringerer Symptomatik assoziiert bzw. zeigen dafür einen Trend (Tabelle 22).

3.3.4 SNP rs2189812

Für den Polymorphismus rs2189812 zeigte sich in der Patientengruppe über der Ableitung Fz ein schwacher Trend ($p = 0,097$) bezüglich einer Assoziation mit der P300- Amplitude. Das minore C- Allel war dabei mit einer P300- Amplitudenerhöhung assoziiert (Tabelle 23).

Tabelle 23: Mittelwerte der P300 für die Genotypen von rs2189812 (Stichprobe 1)

Ableitung	Gruppe	Genotyp					
		CC	CG	GG			
		MW (SD)			p	B _c	KI L95 U95
Cz	Gesamt	0,035 (0,128)	-0,007 (0,063)	-0,050 (0,074)	0,611	0,042	-0,121 0,205
	Fall	0,314 (0,241)	0,078 (0,114)	-0,159 (0,129)	0,132	0,237	-0,069 0,543
	Kontrolle	-0,070 (0,150)	-0,034 (0,075)	0,002 (0,088)	0,712	-0,036	-0,226 0,154
Fz	Gesamt	0,013 (0,125)	-0,037 (0,062)	-0,086 (0,072)	0,542	0,049	-0,109 0,208
	Fall	0,297 (0,238)	0,039 (0,113)	-0,219 (0,128)	0,097	0,258	-0,044 0,560
	Kontrolle	-0,051 (0,146)	-0,044 (0,073)	-0,036 (0,086)	0,934	-0,008	-0,193 0,178
Pz	Gesamt	0,068 (0,126)	0,025 (0,062)	-0,019 (0,073)	0,598	0,043	-0,117 0,204
	Fall	0,235 (0,242)	0,066 (0,115)	-0,102 (0,130)	0,285	0,168	-0,139 0,475
	Kontrolle	-0,015 (0,147)	0,006 (0,074)	0,026 (0,087)	0,832	-0,020	-0,207 0,167

C= minores Allel, MW= adjustierter Mittelwert, SD= Standardabweichung, p= Signifikanzwert, B_c= Regressionskoeffizient in Bezug auf das minore C- Allel, KI= Konfidenzintervall

Wie in der Tabelle 24 ersichtlich, zeigte der für diesen SNP verwendet Proxy rs2237563 ($r^2 = 0,27$, $D' = 0,81$) in der zweiten Stichprobe mit Schizophreniepatienten eine Assoziation mit dem PANSS- Item P7 (Feindseligkeit) und einer zunehmenden Symptomatik mit dem selteneren Allel C. Einen Trend zeigte dieses Allel hinsichtlich einer Abnahme der Symptomatik des Items G16 (aktives soziales Vermeidungsverhalten).

Ergebnisse

Tabelle 24: Assoziationen und Trends mit der PANSS für rs2237563 (Stichprobe 2)

SNP	A1	PANSS-Item	p	B _{A1}	SE	KI L95 U95
rs2237563	C	P7	0,024	0,006	0,245	-0,475 0,490
		G16	0,051	-0,522	0,265	-1,041 -0,003

A1= minores Allel, p= Signifikanzwert, fett gedruckt= $p < 0,05$, B_{A1}= Regressionskoeffizient, SE= Standardfehler, KI= Konfidenzintervall, P7= Feindseligkeit, G16= aktives soziales Vermeidungsverhalten

3.3.5 SNP rs6465088

Für den Polymorphismus rs6465088 zeigte sich in der Kontrollgruppe über der Ableitung Pz ein Trend ($p = 0,082$) bezüglich einer Assoziation mit der P300- Amplitude.

Für den Trend des SNP rs6465088 ergab sich für den selteneren Genotypen GG in der Kontrollgruppe an der Ableitung Pz eine kleinere P300- Amplitude als für die Genotypen GT und TT, wobei TT die größten Werte aufwies (Tabelle 25).

Tabelle 25: Mittelwerte der P300 für die Genotypen von rs6465088 (Stichprobe 1)

Ableitung	Gruppe	Genotyp					
		GG	GT	TT			
		MW (SD)			p	B _G	KI L95 U95
Cz	Gesamt	-0,087 (0,149)	-0,043 (0,071)	0,001 (0,066)	0,632	-0,044	-0,222 0,134
	Fall	-0,311 (0,295)	-0,133 (0,140)	0,045 (0,115)	0,310	-0,178	-0,520 0,164
	Kontrolle	0,0003 (0,172)	-0,010 (0,082)	-0,020 (0,081)	0,926	0,010	-0,197 0,217
Fz	Gesamt	0,044 (0,150)	0,005 (0,072)	-0,035 (0,067)	0,668	0,039	-0,140 0,218
	Fall	-0,351 (0,292)	-0,147 (0,138)	0,056 (0,113)	0,242	-0,203	-0,542 0,135
	Kontrolle	0,217 (0,173)	0,067 (0,083)	-0,084 (0,081)	0,160	0,150	-0,059 0,360
Pz	Gesamt	-0,235 (0,149)	-0,093 (0,071)	0,050 (0,066)	0,115	-0,143	-0,320 0,034
	Fall	-0,163 (0,298)	-0,068 (0,141)	0,026 (0,116)	0,594	-0,094	-0,440 0,251
	Kontrolle	-0,292 (0,169)	-0,110 (0,081)	0,072 (0,080)	0,082	-0,182	-0,387 0,023

G= minores Allel, MW= adjustierter Mittelwert, SD= Standardabweichung, p= Signifikanzwert, B_G= Regressionskoeffizient in Bezug auf das minore G- Allel, KI= Konfidenzintervall

Ergebnisse

In der Stichprobe der Schizophreniepatienten zeigte dieser SNP eine Assoziation mit den PANSS- Items N6 (Mangel an Spontanität und Flüssigkeit der Sprache) und G14 (mangelnde Impulskontrolle), sowie Trends bezüglich der Skala N gesamt, N5 (Schwierigkeiten beim abstrakten Denken) und G8 (unkooperatives Verhalten). Mit Zunahme des selteneren Allels zeigte sich in diesen Items eine Zunahme der Symptomatik (Tabelle 26). Für den Trend bezüglich des Items P2 (formale Denkstörungen) zeigte sich für das seltenere Allel G eine Besserung der Symptomatik.

Tabelle 26: Assoziationen und Trends mit der PANSS für rs6465088 (Stichprobe 2)

SNP	A1	PANSS-Item	p	B _{A1}	SE	KI L95 U95
rs6465088	G	P2	0,100	0,391	0,290	-0,070 0,853
		N gesamt	0,070	2,330	1,273	-0,164 4,825
		N5	0,072	0,490	0,270	-0,039 1,019
		N6	0,020	0,611	0,259	0,103 1,119
		G8	0,067	0,449	0,243	-0,027 0,925
		G14	0,029	0,479	0,217	0,054 0,903

A1= minores Allel, p= Signifikanzwert, fett gedruckt= $p < 0,05$, B_{A1}= Regressionskoeffizient, SE= Standardfehler, KI= Konfidenzintervall, P2= formale Denkstörungen, N gesamt= Summenskala Negativsymptomatik, N5= Schwierigkeiten beim abstrakten Denken, N6= Mangel an Spontanität und Flüssigkeit der Sprache, G8= unkooperatives Verhalten, G14= mangelnde Impulskontrolle

3.4 Ergebnisse der Haplotypanalyse bezüglich der P300

In der Haplotypanalyse wurden anhand der neun untersuchten SNPs drei Haploblöcke identifiziert (Abbildung 10).

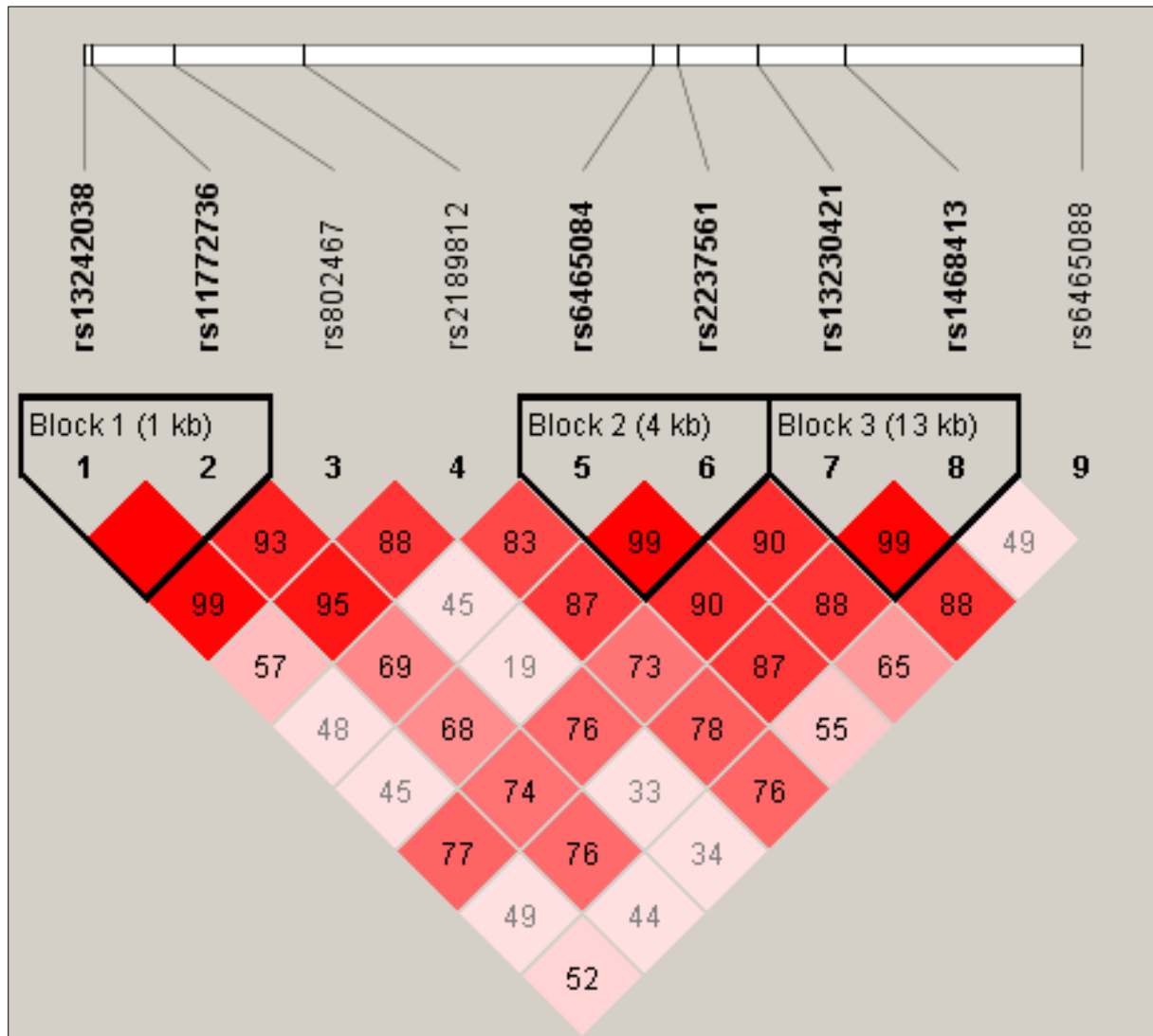


Abbildung 6: LD- Blockstruktur der untersuchten SNPs des *GRM3*- Gens

Zahl in den Rauten gibt den zu den jeweiligen SNP- Paaren gehörigen D' Wert an. Raute ohne Zahl entspricht einem D' Wert von 1. (Barrett et al. 2005)

Der Haploblock 1 (1 kb), bestehend aus den SNPs rs13242038 und rs11772736, konnte bei den Kontrollprobanden mit dem Haplotyp TT über der Ableitung Fz mit höheren Amplitudenwerten der P300 assoziiert werden ($p=0,023$). In der Gesamtgruppe zeigte sich dafür ein Trend mit $p=0,076$ (Tabelle 27).

Ergebnisse

Tabelle 27: Assoziationen und Trends der Haplotypen des Block 1 mit der P300- Amplitude

Block SNP-ID	Gruppe	Ableitung	Haplotyp	F	B	SE	p
Block 1 rs13242038 rs11772736	Patienten	Cz	CT	0,488	0,060	0,324	0,699
			TT	0,177	-0,051	-0,469	0,742
			CG	0,335	-0,021	-1,035	0,888
		Fz	CT	0,488	0,125	0,145	0,356
			TT	0,177	-0,007	-3,522	0,966
			CG	0,335	-0,133	-0,152	0,352
		Pz	CT	0,488	0,063	0,312	0,654
			TT	0,177	0,038	0,644	0,808
			CG	0,335	-0,103	-0,209	0,483
	Kontrollen	Cz	CT	0,474	-0,023	-0,359	0,799
			TT	0,202	0,138	0,086	0,205
			CG	0,324	-0,083	-0,113	0,392
		Fz	CT	0,474	-0,109	-0,078	0,238
			TT	0,202	0,249	0,048	0,023
			CG	0,324	-0,074	-0,129	0,449
		Pz	CT	0,474	-0,113	-0,072	0,213
			TT	0,202	0,053	0,222	0,625
			CG	0,324	0,086	0,108	0,374
	Gesamtgruppe	Cz	CT	0,480	0,012	0,490	0,875
			TT	0,191	0,061	0,132	0,496
			CG	0,329	-0,064	-0,104	0,433
		Fz	CT	0,480	-0,054	-0,108	0,481
			TT	0,191	0,159	0,050	0,076
			CG	0,329	-0,070	-0,094	0,391
		Pz	CT	0,480	-0,047	-0,124	0,537
			TT	0,191	0,048	0,168	0,595
			CG	0,329	0,014	0,472	0,863

F= Haplotypfrequenz, B= Regressionskoeffizient, SE= Standardfehler, p= Signifikanzwert, fett gedruckt= $p < 0,05$

Im Haplotypblock 2 (4 kb), bestehend aus den SNPs rs6465084 und rs2237561, zeigten Patienten mit dem Haplotyp AC in den Ableitungen Cz ($p= 0,001$) und Pz ($p= 0,019$) signifikant niedrigere P300- Amplituden. In der Ableitung Fz ($p= 0,085$) zeigte sich für diese Gruppe ein Trend. Für die Kontrollgruppe des Blocks 2 zeigte sich für den Haplotyp GC in Ableitung Fz ein Trend ($p= 0,061$) zur P300 mit höheren Amplitudenwerten. In der Gesamtgruppe stellten sich in den Ableitungen

Ergebnisse

Cz ($p=0,056$) und Fz ($p=0,078$) für den Haplotypen AC Trends mit einer Amplitudenminderung der P300- Amplitude dar (Tabelle 28).

Tabelle 28: Assoziationen und Trends der Haplotypen des Block 2 mit der P300- Amplitude

Block SNP-ID	Gruppe	Ableitung	Haplotyp	F	B	SE	p
Block 2 rs6465084 rs2237561	Patienten	Cz	AC	0,0510	-1,050	-0,092	0,001
			AT	0,7360	0,155	0,157	0,323
			GC	0,2130	0,106	0,283	0,542
		Fz	AC	0,0510	-0,549	-0,181	0,085
			AT	0,7360	0,150	0,156	0,329
			GC	0,2130	-0,029	-1,000	0,865
		Pz	AC	0,0510	-0,763	-0,135	0,019
			AT	0,7360	0,015	1,688	0,926
			GC	0,2130	0,199	0,153	0,257
	Kontrollen	Cz	AC	0,0615	-0,057	-0,769	0,787
			AT	0,6960	-0,125	-0,089	0,237
			GC	0,2410	0,136	0,089	0,218
		Fz	AC	0,0615	-0,147	-0,290	0,477
			AT	0,6960	-0,163	-0,067	0,120
			GC	0,2410	0,204	0,058	0,061
		Pz	AC	0,0615	-0,105	-0,386	0,603
			AT	0,6960	0,078	0,134	0,447
			GC	0,2410	-0,068	-0,166	0,523
	Gesamtgruppe	Cz	AC	0,0568	-0,337	-0,091	0,056
			AT	0,7140	-0,043	-0,182	0,630
			GC	0,2280	0,131	0,067	0,162
		Fz	AC	0,0568	-0,305	-0,097	0,078
			AT	0,7140	-0,066	-0,114	0,448
			GC	0,2280	0,150	0,056	0,102
		Pz	AC	0,0568	-0,280	-0,106	0,105
			AT	0,7140	0,049	0,152	0,571
			GC	0,2280	0,014	0,603	0,879

F= Haplotypfrequenz, B= Regressionskoeffizient, SE= Standardfehler, p= Signifikanzwert, fett gedruckt= $p < 0,05$

Für die Haplotypen aus Block 3 (13 kb), bestehend aus den SNPs rs13230421 und rs1468413, konnten keine signifikanten Assoziationen oder Trends bzgl. der P300- Amplitude nachgewiesen werden.

4 Diskussion

4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

In dieser Arbeit wurden neun Polymorphismen, sowie drei Haplotypblöcke des *GRM3*- Gens in Zusammenhang mit dem ereigniskorrelierten Potential P300 und im Weiteren die Assoziation der Polymorphismen mit klinischen Parametern der PANSS untersucht.

Tabelle 29: Zusammenfassung der Assoziationen der EEG- Stichprobe mit dazugehörigen Assoziationen und Trends zur PANSS

SNP (A1)	A _{SCI} (p-Wert)	Ableitung	Gruppe	P300 (p-Wert)	PANSS	Symptome (p-Wert)
rs13242038 (T)	C (1,98 x 10 ⁻⁶)	Fz	Gesamt	↑ (0,070)	gesamt PANSS	↑↑ (0,038)
					N gesamt	↑ (0,060)
					N2	↑↑ (0,016)
					N4	↑ (0,073)
			Kontrolle	↑↑ (0,021)	N5	↑ (0,081)
					G gesamt	↑↑ (0,031)
					G9	↑ (0,054)
					G12	↑ (0,078)
rs6465084 (G)	A (2,22 x 10 ⁻⁶)	Fz	Gesamt	↑ (0,051)	G3	↑↑ (0,037)
			Kontrolle	↑↑ (0,025)	G16	↓↓ (0,043)
rs802467 (C)	C (2,36 x 10 ⁻⁴)	Cz	Gesamt	↓ (0,069)	N4	↓↓ (0,023)
		Fz	Gesamt	↓ (0,050)		
			Kontrolle	↓ (0,051)	G6	↓ (0,093)
		Pz	Fall	↓ (0,064)		
rs2189812 (C)	nicht signifikant (0,1533)	Fz	Fall	↑ (0,097)	P7	↑↑ (0,024)
					G16	↓ (0,051)
rs6465088 (G)	T (2,18 x 10 ⁻³)	Pz	Kontrolle	↓ (0,080)	P2	↑ (0,100)
					N gesamt	↑ (0,070)
					N5	↑ (0,072)
					N6	↑↑ (0,020)
					G8	↑ (0,067)
					G14	↑↑ (0,029)

A1= minores Allel, A_{SCI}= Schizophrenie- Risikoallel und p- Wert (Trubetsky et al. 2022), ↑= Erhöhung/Zunahme, ↓= Erniedrigung/Abnahme, ↑↑= signifikant, ↑= Trend, N gesamt= Summenskala Negativsymptomatik, G gesamt= Summenskala Allgemeine Psychopathologie, P2= formale Denkstörungen, P7= Feindseligkeit, N2= emotionaler Rückzug, N4= Soziale Passivität und Apathie, N5= Schwierigkeiten beim abstrakten Denken, N6= Mangel an Spontaneität und Flüssigkeit der Sprache, G3= Schuldgefühle, G6= Depression, G8= unkooperatives Verhalten, G9= ungewöhnliche Denkinhalte, G12= Mangel an Urteilsfähigkeit und Einsicht, G14= mangelnde Impulskontrolle, G16= aktives soziales Vermeidungsverhalten

Insgesamt fanden sich für fünf Polymorphismen Hinweise auf einen Einfluss der Genotypverteilung auf die P300- Amplitude, darunter vier mit der Fz- Ableitung. Bei drei davon zeigten die Träger des

Diskussion

jeweils selteneren Allels höhere Amplitudenwerte im Vergleich zum häufigeren Allel, lediglich bei rs802467 waren hier niedrigere Werte zu verzeichnen (Tabelle 29). Für diesen SNP zeigten sich zusätzlich niedrigere Amplitudenwerte in den Cz und Pz Ableitungen. Für den SNP rs6465088 zeigten sich Hinweise auf einen Einfluss auf die P300-Amplitude über der Ableitung Pz. Hier zeigten Träger des minoren Allels (G) einen Trend für niedrigere P300- Amplitudenwerte.

Bei einem Bezug der Ergebnisse auf die Risikoallele für Schizophrenie in der europäischen Stichprobe, entnommen aus den Summary Statistics der letzten großen GWAS zur Schizophrenie (Trubetskoy et al. 2022), ergab sich ein Zusammenhang des jeweiligen Risikoallels (häufigeres Allel bei rs13242038 (C) und rs6465084 (A), selteneres Allel bei rs802467 (C)) mit niedrigerer P300 Amplitude. Für das Risikoallel von rs6465088 (T= majores Allel) zeigte sich dafür ein reziproker Trend bezüglich der P300- Amplitude. Der SNP rs2189812 zeigte in der europäischen Stichprobe keine Assoziation. (Tabelle 29).

Die Assoziationen der Einzel- SNP- Analyse wurden teilweise durch die Haplotypenanalyse gestützt. So war der Haplotyp TT des LD- Block 1, der u.a. das bei höherer Amplitude in der Fz- Ableitung gehäuft beobachtete T- Allel für rs13242038 enthielt, ebenfalls mit dieser Ableitung und in gleicher Richtung assoziiert (Tabelle 30). Der zweite assoziierte LD- Block bestand ebenfalls aus 2 SNPs, darunter der SNP rs6465084, welcher ebenfalls bei Vorliegen des selteneren Allels (G) mit höheren P300 Amplituden in der Fz Ableitung vergesellschaftet war. Der Haplotyp GC war mit höheren, der für rs6465084, komplementäre Haplotyp AC mit niedrigeren Amplitudenwerten assoziiert (Tabelle 30).

Tabelle 30: Zusammenfassung der Assoziationen in den Haploblöcken

Haploblock (Haplotyp) SNPs	Gruppe	Ableitung	P300 (p- Wert)
Block 1 (TT) rs13242038 rs11772736	Gesamt	Fz	↑ (0,076)
	Kontrolle		↑↑ (0,023)
Block 2 (AC) rs6465084 rs2237561	Patienten	Cz	↓↓ (0,001)
		Fz	↓ (0,085)
		Pz	↓↓ (0,019)
	Gesamt	Cz	↓ (0,056)
		Fz	↓ (0,078)
Block 2 (GC) rs6465084 rs2237561	Kontrolle	Fz	↑ (0,061)

↑Erhöhung, ↓Erniedrigung ↑↑/↓↓= signifikant, ↑/↓= Trend

Ein Zusammenhang mit der PANSS- Symptomatik konnte für alle 5 Varianten gezeigt werden, für die es auch Hinweise auf einen Einfluss der Genotypverteilung auf die P300 Amplitude gab. Die SNPs

Diskussion

waren mit unterschiedlichen Subskalen assoziiert, allerdings konnten außer bei dem Item G16 (aktives soziales Vermeidungsverhalten) die bei einer geringeren P300 Amplitude gehäuft auftretenden Schizophrenie- Risikoallele bei niedrigeren PANSS Skalenwerten beobachtet werden (Tabelle 29).

Insgesamt weisen die Ergebnisse darauf hin, dass die mit Schizophrenie assoziierten Risikoallele der hier untersuchten *GRM3*- SNPs, bis auf den SNP rs6465088, einen Zusammenhang mit einer verringerten P300- Amplitude hauptsächlich über der Ableitung Fz zeigen und entgegen der Erwartung mit einer geringeren Psychopathologie gemessen mit der PANSS einhergehen. Für den SNP rs6465088 weisen die Ergebnisse für das Schizophrenie- Risikoallel T auf eine Amplitudenerhöhung der P300 über der Ableitung Pz hin, welche sich mit einer verminderten Psychopathologie hinsichtlich der PANSS begleitet wird.

Der SNP rs6943762 (Chromosom 7, Position: 86403263) erreichte mit $p = 1,57 \times 10^{-15}$ das höchste Signifikanzniveau der untersuchten SNPs des *GRM3*- Gens in der Studie von Trubetskoy (2022). Als Risikoallel des SNPs rs6943762 erscheint dabei das häufigere T- Allel. Der SNP liegt im *GRM3*- Gen in einem intronischen Bereich.

Setzt man die beiden SNPs rs13242038 und rs6465084 in Bezug zu diesem Top-SNP rs6943762, welcher das höchste Assoziationsniveau des *GRM3*- Gens in der europäischen Population der PGC- Studie von 2022 erreichte (Trubetskoy et al. 2022), zeigten sich basierend auf der CEU- Population für die Haplotypen folgende Ergebnisse hinsichtlich eines Kopplungsungleichgewichts (Tabelle 31 und 32) (LDlink abgerufen am 23.06.2023; Machiela und Chanock 2015)

Tabelle 31: LD rs6943762/rs13242038

Block A	Haplotyp	n (%)	D' = 0,761 r ² = 0,373
rs6943762 rs13242038	TC	145 (0,732)	
	CT	27 (0,270)	
	TT	20 (0,101)	
	CC	6 (0,030)	

n= Anzahl, D' = D prime, r² = Bestimmtheitsmaß

Das häufigere C- Allel von rs13242038 korreliert als Risikoallel für Schizophrenie (Trubetskoy et al. 2022) und erniedrigte P300 Amplitude in der Kontrollgruppe über der Ableitung Fz (vorliegende Studie, $p = 0,021$) in nord- und westeuropäischstämmigen Einwohnern Uthas, USA (CEU) mit dem ebenfalls häufigeren Risikoallel T des Top-SNPs rs6943762.

Tabelle 32: LD rs6943762/rs6465084

Block B	Haplotyp	n (%)	D'= 1,0 r ² = 0,592
rs6943762 rs6465084	TA	148 (0,747)	
	CG	33 (0,167)	
	TG	17 (0,086)	
	CA	0 (0,000)	

n= Anzahl, D'= D prime, r²= Bestimmtheitsmaß

Für den SNP rs6465084 zeigte sich ebenfalls eine Korrelation des häufigeren Schizophrenierisikos Allels A mit dem Risikoallel T des Top-SNPs rs6943762. Das häufigerer A- Allel zeigte in den vorliegenden Ergebnissen der Einzel- SNP- Analyse über der Ableitung Fz ebenfalls niedrigere P300- Amplitudenwerte in der Kontrollgruppe (p= 0,025).

4.2 Diskussion der Methoden

In dieser Arbeit wurden mittels eines standardisierten Schemas an Schizophrenie erkrankte Patienten und Kontrollprobanden eingeschlossen. Eine sorgfältige Rekrutierung mit dem zuverlässigen Ausschluss anderer psychiatrischer Erkrankungen wie z.B. einer Depression, einer bipolaren Störung oder einer Demenz ist eine unbedingte Voraussetzung, um Störfaktoren zu erkennen und auszuschließen. Als anerkannte Verfahren wurde hierbei das Klassifikationssystem des DSM- IV, sowie die standardisierten Tests und Interviews SKID I/II, MMST, FHAM und die PANSS eingesetzt. Definierte und operationalisierte Kriterien zur Fremdbeurteilung von Patienten werden dabei über klare Instruktionen durch den Untersucher angewandt. Die Fremdbeurteilungsskala wie die PANSS ist dabei durchaus vom klinischen Erfahrungsgrad des Untersuchers abhängig. Zwar lässt sich auch durch wenig erfahrenere Interviewer hinreichend akzeptable Beurteilungsübereinstimmungen finden, hinsichtlich der schizophrenen Negativsymptomatik sind diese im Vergleich zur Positivsymptomatik jedoch nicht von gleicher Güte (Müller et al. 2000).

Die Ableitung des EEGs mit den dazugehörigen Paradigmen zur Erfassung der EKPs fand gleichfalls unter standardisiert anerkannten Handlungsanweisungen und Bedingungen statt. Die Untersuchung ist nicht- invasiv und kostengünstig, sodass eine hohe Anzahl an Wiederholungen möglich ist. Durch die einheitliche Durchführung der Messungen unter standardisierten Bedingungen kann eine hohe Validität und Objektivität der Messergebnisse gewährleistet werden. Als mögliche Störfaktoren, welche die Ergebnisse beeinflussen können, sind willkürliche Augenbewegungen, Muskelanspannung, Kopfgröße, Elektrodensitz und Vigilanz des Probanden zu beachten. Die Datenerhebung des EEGs erfolgte bei insgesamt 377 Probanden (115 Patienten und 262 Kontrollprobanden). Mit dieser

Diskussion

insgesamt im Verhältnis kleinen Assoziationsstudie müssen die Ergebnisse unter Vorbehalt betrachtet werden und bedürfen ggf. einer Replikation mittels einer größeren Studie.

Die Geschlechterverteilung innerhalb der Studiengruppe zeigte einen signifikanten Unterschied. In der Patientengruppe überwog das männliche Geschlecht. Auch bzgl. der Altersverteilung zeigte sich zwischen den beiden untersuchten Gruppen ein signifikanter Unterschied. Das durchschnittliche Alter der Patienten war deutlich jünger als das der Kontrollprobanden. Zwar sollte die Studiengruppe möglichst homogen sein, hinsichtlich des Alters lässt sich so das Risiko einer möglichen Late-onset Schizophrenie allerdings minimieren.

Zur Vermeidung von Populationsstratifikationseffekten innerhalb einer Assoziationsstudie, sollten zudem alle Teilnehmer der Studie die gleiche ethnische Herkunft haben. In dieser Untersuchung wurden ausschließlich Personen aus dem Großraum München und Halle (Saale) mit kaukasischer Abstammung eingeschlossen, um eine ethnisch homogene Stichprobe zu gewährleisten. Im Vergleich mit den Allelfrequenzen des 1000 Genomes-Projektes (Ensembl GRCh37 release 109 2023) lässt sich feststellen, dass die in dieser Arbeit gefundenen Allelfrequenzen eine hohe Übereinstimmung mit den europäischen Referenzpopulationen aufweisen (Tabelle 33). Die Allelfrequenzen der europäischen Bevölkerungsgruppe und somit auch dieser Studie unterscheiden sich dabei zum Teil deutlich von denen der anderen Bevölkerungsgruppen. Dies muss hinsichtlich der Vergleichbarkeit mit den Studienergebnissen auf internationaler Ebene beachtet werden.

Tabelle 33: MAF der untersuchten SNPs im Vergleich zu Daten des 1000 Genomes- Projektes

SNP	Minores Allel	MAF						
		Stich-probe gesamt	ALL	AFR	AMR	EAS	EUR	SAS
rs13242038	T	0,19	0,15	0,20	0,17	0,08	0,20	0,10
rs11772736	G	0,33	0,42	0,04	0,53	0,72	0,34	0,63
rs802467	C	0,41	0,59	0,39	0,61	0,82	0,42	0,79
rs2189812	C	0,30	0,12	0,08	0,16	0,05	0,27	0,07
rs6465084	G	0,22	0,23	0,31	0,17	0,14	0,26	0,22
rs2237561	C	0,29	0,40	0,8	0,25	0,21	0,30	0,29
rs13230421	A	0,11	0,07	0,02	0,06	0,08	0,12	0,08
rs1468413	A	0,18	0,14	0,05	0,13	0,14	0,20	0,20
rs6465088	G	0,24	0,36	0,77	0,20	0,18	0,26	0,20

ALL= all individuals, AFR= African, AMR= American, EAS= East Asian, EUR= European, SAS= South Asian

Um zu prüfen, ob die Ergebnisse auch dem multiplen Testen standhielten, wurde zusätzlich das Signifikanzniveau nach Bonferroni korrigiert für die Anzahl der untersuchten SNPs ($p < 0,0056$). Die Ergebnisse nach Bonferroni zu korrigieren, hat die LD-Unabhängigkeit aller SNPs zur Grundlage, was für viele Teile des Genomes nicht gegeben ist. Diese Korrektur, nach der in dieser Arbeit keine Assoziationen mit der P300 signifikant blieb, muss deshalb als zu konservativ betrachtet werden, da die SNPs zum Teil in sehr hohem LD lagen.

4.3 Diskussion der Ergebnisse

Das Ziel dieser Dissertation bestand darin, Assoziationen von neun Polymorphismen des *GRM3*- Gens mit der Erkrankung Schizophrenie und der P300- Amplitude als Endophänotyp zu untersuchen. Des Weiteren wurden die SNPs hinsichtlich einer Assoziation auf die Ergebnisse der PANSS geprüft. Bei den Polymorphismen handelt es sich um rs13242038, rs11772736, rs802467, rs2189812, rs6465084, rs2237561, rs13230421, rs1468413 und rs6465088. Alle neun untersuchten SNPs sind im Intron des

Diskussion

Gens lokalisiert. Introns sind nichtcodierende Abschnitte der DNA, welche die benachbarten codierenden Exons voneinander trennen. Bei der Transkription und der Reifung von prä-mRNA zu mRNA werden während des Spleißens diese Intronsequenzen entfernt. Dabei scheinen die Introns die Reifung über Transkriptionsinitiation, Transkriptionsverlängerung, Transkriptionstermination, Polyadenylierung, Export aus dem Zellkern und mRNA-Stabilität zu beeinflussen (Chorev und Carmel 2012).

Im neuronalen Erregungsnetzwerk des zentralen Nervensystems spielen Glutamaterezeptoren eine wesentliche Rolle. Der G-Protein-gekoppelte Glutamaterezeptor, mGluR3, kommt dabei prä- und postsynaptisch in den Neuronen vor und wird auch in Gliazellen exprimiert. Anomalien der neuronalen Glutamat-Neurotransmission deuten darauf hin, dass diese Rezeptoren an der Pathophysiologie verschiedener psychiatrischer und neurologischer Erkrankungen beteiligt sind.

Zum besseren Verständnis der funktionellen Rolle des Rezeptors mGluR3 wurden Studien mit mGluR3- KO- Mäusen durchgeführt. Bei Fujioka und Kollegen (2014) zeigten Verhaltensanalysen bei den (*knock-out*) KO- Mäusen eine Hyperaktivität und ein beeinträchtigtes Arbeitsgedächtnis. In der pharmakologischen Analyse dieser Studie zeigte sich bei den mGluR3- KO- Mäusen unter Methamphetamin-Gabe eine erhöhte Dopaminfreisetzung im Nucleus accumbens (Fujioka et al. 2014).

In einer anderen Studie von Seeman et al. (2009) zeigten mGluR3- KO- Mäuse im Vergleich zur Kontrolle eine D2- Rezeptor- Hypersensitivität, welche ursächlich für die, bei den KO- Mäusen beobachtete, hyperlokomotorische Aktivität sein könnte (Seeman et al. 2009).

In einer weiteren Studie von Lainiola und Kollegen (2014) wurden an mGluR3- KO- Mäusen unter Gabe des psychotomimetischen NMDA- Rezeptorantagonisten Dizocilpin (MK- 801) Analysen von Gedächtnis- und Aufmerksamkeitsprozessen durchgeführt. Im T- Labyrinth- Test war hier die spontane Wechselbereitschaft bei mGluR3- KO- Mäusen signifikant reduziert im Vergleich zu Wildtyp- Mäusen. Dies zeigte sich insbesondere nach einer niedrigen Dosis von MK- 801. Im *Continuous Y Maze Novel Object Discrimination test* (NOD) war die lokomotorische stimulierende Wirkung von MK- 801 bei mGluR3- KO- Mäusen verstärkt. Außerdem zeigten die KO- Mäuse eine Links- Rechts- Asymmetrie (Lainiola et al. 2014).

Dorga und Kollegen (2021) griffen die Annahme auf, dass mGlu3- Rezeptoren mit kognitiven Beeinträchtigungen und neuropsychiatrischen Störungen wie der Schizophrenie zusammenhängen und untersuchten das assoziative Lernen bei Mäusen des Wildtyps und mGluR3- KO- Mäusen mittels der *Trace Fear Conditioning*, einer vom Hippocampus abhängigen Lernaufgabe, die bei Menschen mit Schizophrenie beeinträchtigt ist. In der Studie zeigte die Aktivierung des mGlu3- Rezeptors eine verbesserte *Trace Fear Conditioning* und kehrte auch die durch Phencyclidin verursachten Defizite um,

Diskussion

indem sie eine neuartige Form der Metaplastizität zur Regulierung der Schaltkreisfunktionen hervorrief (Dogra et al. 2021).

Um die Rolle des *GRM3*- Gens als ein Suszeptibilitäts-gen der Schizophrenie zu untersuchen, wurden bisher diverse humangenetische Assoziationsstudien durchgeführt-

Im Hinblick auf die in dieser Arbeit untersuchten SNPs zeigte eine familienbasierte Assoziationsstudie von Egan et al. aus dem Jahr 2004 eine starke Assoziation des SNP rs6465084 des *GRM3*- Gens mit der Schizophrenie. In der Arbeit wurde diese funktionelle genetische Variante mit der Celera- ID hCV11245618 bezeichnet. Das A- Allel ging dabei mit einer schlechteren kognitiven Leistung einher, welche von der präfrontalen und Hippocampus- Funktion abhängen. Es zeigten sich im fMRT von gesunden A- Allel- Trägern abnormale Aktivitätsmuster präfrontal und hippocampal, sowie niedrige In- vivo-Konzentrationen von NAA (N- Acetyl- Aspartat) im präfrontalen Kortex, was auf einen verminderten Glutamatspiegel und geringere synaptische Aktivität hindeutet. Im postmortalen präfrontalen Kortex ging das A- Allel mit niedrigeren mRNA- Spiegeln des glialen Glutamat- Transporters EAAT2 einher, welcher ein astrozytäres Protein ist und durch das *GRM3*- Gen reguliert wird (Egan et al. 2004).

Eine Studie von Mössner und Kollegen aus dem Jahr 2008 untersuchte ebenfalls den SNP rs6465084 des *GRM3*- Gens in einer Stichprobe mit 631 Schizophreniepatienten und 519 Kontrollprobanden. Hinsichtlich der Bewertung der untersuchten Endophänotypen fand sich hier ein signifikanter Effekt auf die Aufmerksamkeit. Schizophrenie- Patienten mit dem Genotyp AA erreichten im Zahlensymboltest signifikant schlechtere Werte als die Träger des G- Allels. Bei den Kontrollprobanden zeigte sich dafür kein Effekt (Mössner et al. 2008).

Im Jahr 2014 untersuchten Lencer und Kollegen an 138 unbehandelten Patienten mit einer ersten Episode einer psychotischen Störung das Ausmaß an Augenfolgestörungen. 83 Patienten wurden davon nach einer 6- wöchigen antipsychotischen Behandlung nachbeobachtet. Die Patienten wurden mit niedrigen bis mittleren Dosen von Antipsychotika behandelt, darunter Risperidon (N=72, mittlere Dosierung 3,0 mg (SD= 1,7), Olanzapin (n= 5, mittlere Dosierung 12 mg (SD= 7,6), Haloperidol (n= 2 mit 4 und 8 mg/d), Aripiprazol (n= 2 mit 10 und 15 mg/d) und Quetiapin (n= 2 mit 100 und 300 mg/d). Sechzehn Patienten erhielten zusätzlich eine Behandlung mit Antidepressiva. Als Kontrollpersonen dienten 130 gesunde Probanden. Es wurden dabei vier Polymorphismen des *DRD2*- Gens (rs1799732, rs6277, rs1800497, rs1800498) und vier des *GMR3*- Gens (rs6465084, rs274622, rs1989796, rs1468412) genotypisiert. Hinsichtlich des SNPs rs6465084 zeigten in dieser Studie G- Allel- Träger vor einer medikamentösen Behandlung keine Beeinträchtigung der Verfolgungsleistung. Nach einer Behandlung zeigte sich bei den G- Allel- Trägern ein Leistungsabfall. Bei den A- Allel- Trägern veränderte sich das schon vorbestehende Ausgangsdefizit nicht weiter (Lencer et al. 2014).

Diskussion

In einer Studie von Bishop und Kollegen (2015) wurden ebenfalls pharmakogenetische Assoziationen mit dem Arbeitsgedächtnis und das klinische Ansprechen von Antipsychotika bei Patienten mit einer Erstdiagnose Schizophrenie untersucht. Dazu wurden 61 Patienten mittels des DSM- IV verifiziert, von denen 55 Patienten bisher keine Medikation erhielten und 6 Patienten erst minimal antipsychotisch behandelt waren. Der Schweregrad der Symptome wurde anhand der *Brief Psychiatric Rating- Scale* (BPRS) erfasst. Als Kontrolle dienten 130 Probanden ohne psychiatrische Erkrankungen. Die Ergebnisse der Untertests des *Wide Range Achievement Tests* (WRAT) Referenz diente zur Bewertung der kognitiven Leistungsfähigkeit der Kontrollen, sowie der Patienten vor und nach 6- wöchiger Psychopharmakotherapie. Als Mittel der Wahl galt hier Risperidon ($n=47$, $3,0 \pm 1,7$ mg/Tag) als Antipsychotikum. Als Alternativen wurden eingesetzt Olanzapin ($n=2$, $15,0 \pm 7,1$ mg/Tag), Haloperidol ($n=8$, $3,0 \pm 1,7$ mg/Tag), Aripiprazol ($n=3$, $13,3 \pm 2,9$ mg/Tag) und Quetiapin ($n=1$, 300 mg/Tag). Zur Bewertung des Arbeitsgedächtnisses diente die verzögerte okulomotorische Reaktion. Hier zeigten die Patienten signifikant schlechtere Ergebnisse als die Kontrollprobanden. Genotypisiert wurden fünf SNPs des *GRM3*- Gens (rs6465084, rs274622, rs1989796, rs1468412, und rs2228595), zwei SNPs in *DRD2/ANKK1* [rs1799732 (-141C Ins/del) und rs1800497 (TaqIA)], und ein SNP im *COMT*- Gen [rs4680 (Val158Met)]. Im Ergebnis zeigten sich für zwei SNPs des *GRM3*- Gens (rs274622 und rs1468412) Verschlechterungen im Arbeitsgedächtnis nach einer pharmakotherapeutischen Behandlung. Hinsichtlich der klinischen Symptomatik zeigten sich für zwei SNPs (rs6465084 und rs1989796) Veränderungen der *BPRS- Negativsymptom- Scores*. Nach der Behandlung zeigte die AA- Genotyp- Gruppe des SNPs rs6465084 einen geringeren Schweregrad der Negativsymptome, während G- Allel- Träger minimale Veränderungen oder Verschlechterungen der Negativsymptome aufwiesen. Die Ethnizität (Afroamerikaner und Kaukasier) stand mit diesen Ergebnissen nicht in Zusammenhang und in stratifizierten Analysen war der Effekt des Genotyps AA in beiden Gruppen ähnlich (Bishop et al. 2015).

Dieser SNP rs6465084 wurde mit weiteren Varianten des *GRM3*- Gens von Li et al. (2021) hinsichtlich seiner Einflüsse auf die räumliche Lokalisierungsfähigkeit und somit seine Auswirkung auf die räumliche kognitive Leistungsfähigkeit untersucht. Dazu wurden 956 ausschließlich gesunde Studenten der Hochschule Xi'an rekrutiert. Psychiatrische Störungen, Alkoholabusus, Drogenmissbrauch oder -abhängigkeit waren dabei Ausschlusskriterien. Als kognitiver Leistungstest diente der *Raven's Standard Progressive Matrices* (RSPM) für Erwachsene. Hierbei fielen Träger der AA- Variante von rs6465084 mit einer schwächeren Fähigkeit der räumlichen Lokalisierung auf (Li et al. 2021).

Eine Studie von Jia und Kollegen aus dem Jahr 2014 untersuchte den Einfluss verschiedener Polymorphismen des *GRM3*- Gens hinsichtlich verschiedener psychiatrischer Erkrankungen. Es

Diskussion

wurden in dieser Studie 433 Patienten mit einer Schizophrenie, 409 Patienten mit einer Major Depression, 584 Heroin- abhängige Patienten und 619 gesunde Kontrollen untersucht. Zu beachten ist, dass alle Teilnehmer Han- chinesischer Abstammung waren. Insgesamt wurden 17 Polymorphismen hinsichtlich einer Assoziation der verschiedenen Erkrankungen untersucht. Der SNP rs13242038, welcher auch Bestandteil dieser Arbeit war, sowie die SNPs rs274618, rs274622, rs1990040, rs724226, und rs2189814 zeigten hier bei Patienten mit einer Heroinabhängigkeit nominell signifikant unterschiedliche Genotypen- und/oder Allelverteilungen im Vergleich zu den Kontrollen auf. Für die anderen Erkrankungen ließen sich in dieser Studie keine weiteren Zusammenhänge nachweisen (Jia et al. 2014).

In einer vom *Psychiatric Genomic Consortium* (PGC) 2014 unternommenen Meta- Analyse mehrerer unabhängiger GWAS- Datensätze mit insgesamt 36.989 Schizophreniepatienten und 113.075 Kontrollen fanden sich verschiedene Loci mit Genen, die an der glutamatergen Übertragung beteiligt sind. Hierbei erreichte der SNP rs12704290 (Chromosom 7, Position: 86427626) ($p = 3,33 \times 10^{-10}$) des *GRM3*- Gens ein signifikantes Assoziationsniveau. Dieser SNP liegt, wie die in dieser Arbeit untersuchten SNPs, in einer intronischen Region des *GRM3*- Gens (Ripke et al. 2014). In einer weiterführenden Analyse des PGC mit bis zu 76.755 an Schizophrenie erkrankten Personen und 243.649 Kontrollpersonen wurden unter anderem ca. 1.500 SNPs des *GRM3*- Gens analysiert. Der SNP rs12704290 erreichte in dieser Untersuchung in der europäischen CEU- Population ein signifikantes Assoziationsniveau von $p = 7,60 \times 10^{-15}$. Das höchste Assoziationsniveau des *GRM3*- Gens in der europäischen CEU- Population erreichte in der PGC- Studie von 2022 der SNP rs6943762 (Chromosom 7, Position: 86403263) ($p = 1,57 \times 10^{-15}$) (Trubetskoy et al. 2022). Dieser korreliert mit den zwei sich als signifikant darstellenden SNPs dieser Arbeit rs13242038 und rs6465084.

Die Methode der GWAS bietet dabei im Gegensatz zu den Kandidatengenstudien die hypothesenfreie Untersuchung genetischer Ursachen komplexer Krankheitsbilder. Hierbei wird eine große Anzahl verschiedener Polymorphismen des gesamten Genoms zur Identifizierung herangezogen.

Bisher gibt es keine Studien, die genetische Variationen des *GRM3*- Gens hinsichtlich einer Assoziation zur P300- Amplitude untersucht haben. Da die P300- Amplitude allerdings eng mit Aufmerksamkeitsprozessen und Kognition verbunden ist, können hier Parallelen gezogen werden. In der vorliegenden Arbeit zeigte der SNP rs6465084 in der gesunden Kontrollgruppe für A- Allel- Träger niedrigere P300- Amplituden als für G- Allel- Träger. Dieser Effekt konnte in der Einzel- SNP- Analyse der Patientengruppe nicht repliziert werden. In der Analyse des Haploblocks 2 mit den SNPs rs6465084 und rs2237561 zeigte sich hingegen dieser Effekt in der Patientengruppe. Für den Haplotyp AC zeigte sich über den Ableitungen Cz und Pz eine signifikante Amplitudenminderung und ein Trend

diesbezüglich in der Ableitung Fz. Bei der Kontrollgruppe zeigte sich in dem Haploblock 2 über der Ableitung Fz für den Haplotyp GC ein Trend hinsichtlich einer Amplitudenerhöhung.

Wie in den bisherigen Untersuchungen des Polymorphismus rs6465084 ersichtlich, scheint auch in dieser Arbeit das A- Allel als ein Risikoallel zu fungieren. Auf der PANSS zeigte dieser SNP allerdings interessanterweise für das Effekt- Allel G signifikant schlechtere Werte im allgemeinen psychopathologischen Bereich, wie Schuldgefühle (G3) und aktives soziales Vermeidungsverhalten (G16). Dies könnte auf eine spezifische Symptomkombination bei Patienten hindeuten, wobei Schuldgefühle und aktives soziales Vermeidungsverhalten oft mit einer Negativsymptomatik oder auch einer postpsychotischen Depression assoziiert sein können.

4.4 Ausblick

Im Hinblick auf Assoziationen der in dieser Arbeit untersuchten SNPs bezüglich des Endophänotyps der Schizophrenie „P300- Amplitude“, lassen sich für den SNP rs6465084 indirekt Zusammenhänge in der Literatur mit Aufmerksamkeitsprozessen und Kognition finden. Wie die Ergebnisse von Li et al. (2021) nahelegen, könnte der Effekt des A- Allels dabei, auch unabhängig einer Grunderkrankung, Defizite hinsichtlich kognitiver Leistungsprozesse mitverursachen und scheint folglich nicht spezifisch für die Schizophrenie zu sein. Um bezüglich der P300- Amplitude sicherere Aussagen treffen zu können, bedarf es dazu an weiteren Studien mit einem größeren Studienkollektiv.

Essenziell scheint das Wissen über den Genotyp des SNPs rs6465084 allerdings hinsichtlich der psychopharmakotherapeutischen Behandlung von Schizophreniepatienten zu sein. Wie die Ergebnisse von Lencer et al. (2014) und Bishop et al. (2015) zeigen, scheinen die G- Allel-Träger hinsichtlich der neurokognitiven Einschränkungen, der Augenfolgestörungen und der Negativsymptomatik nicht von der psychopharmakotherapeutischen Behandlung zu profitieren (Lencer et al. 2014; Bishop et al. 2015). In der vorliegenden Studie wurde die Medikation der Patienten nicht in die Analyse einbezogen. Mit einer Berücksichtigung der Medikation wären hier die in der PANSS gefundenen Ergebnisse besser zu interpretieren. Um pharmakologische Effekte zu replizieren, bedarf es an weiteren Studien, um die Therapie der Patienten möglichst zu optimieren und damit eine Verbesserung der Lebensqualität zu erreichen.

In der Analyse der GWAS der PGC- Studie von Trubetskoy und Kollegen aus dem Jahr 2022 zeigte sich, dass die häufigsten Varianten auf Gene verteilt waren, die in verschiedenen Regionen des zentralen Nervensystems in den Neuronen exprimiert werden. Eine wesentliche Rolle scheint dabei vor allem auch das glutamaterge Neurotransmittersystem zu spielen, so erreichten auch acht der in dieser Arbeit untersuchten SNPs ein signifikantes Assoziationsniveau (Tabelle 34).

Tabelle 34: p- Werte der untersuchten SNPs in der PGC- Studie (2022)

SNP-ID	Position	A _{SCI} (p- Wert)
rs13242038	86314420	C ($1,98 \times 10^{-6}$)
rs11772736	86315922	T ($4,26 \times 10^{-2}$)
rs802467	86328610	C ($2,36 \times 10^{-4}$)
rs2189812	86348999	C (0,1533)
rs6465084	86403475	A ($2,22 \times 10^{-06}$)
rs2237561	86407567	T ($2,67 \times 10^{-4}$)
rs13230421	86420126	T ($5,56 \times 10^{-15}$)
rs1468413	86433653	C ($2,31 \times 10^{-12}$)
rs6465088	86470554	T ($2,18 \times 10^{-3}$)

A_{SCI}= Schizophrenie-Risikoallel, p- Wert= (Trubetskoy et al. 2022)

Die Ergebnisse der PCG- Studie deuten insgesamt darauf hin, dass sich die abweichende neuronale Funktion bei der Schizophrenie dabei nicht auf einige wenige Hirnstrukturen begrenzt. Folglich kann die Psychopathologie mit einem breiten Spektrum an kognitiven Beeinträchtigungen assoziiert sein (Trubetskoy et al. 2022).

Vorausschauend betrachtet müssen in späteren Studien in die Berechnungen multifaktorielle und polygenetische Hintergründe der Pathogenese der Schizophrenie eingebunden werden. So sind an der individuellen Krankheitsentstehung mit großer Wahrscheinlichkeit diverse Allele, Umweltfaktoren, immunologische Prozesse und psychosoziale Risikofaktoren ursächlich und bedürfen weiterer Forschung, um neue diagnostische Ansätze und Therapiemöglichkeiten zu ergründen.

Literaturverzeichnis

- Adamaszek, Michael (2016): Ereignis-korrelierte Potentiale zur Untersuchung cerebraler kognitiver und emotionaler Funktionen. In: *Das Neurophysiologie-Labor* 38 (2), S. 63–78. DOI: 10.1016/j.neulab.2016.03.001.
- Allen, Allyssa J.; Griss, Mélina E.; Folley, Bradley S.; Hawkins, Keith A.; Pearson, 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.
- Altenmüller, E. (1996): Ereigniskorrelierte Potentiale. In: *Evozierte Potentiale. SEP · VEP · AEP · EKP · MEP*. Berlin, Heidelberg, s.l.: Springer Berlin Heidelberg. Online verfügbar unter <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-662-07146-5>.
- Angrist, B.; Lee, H. K.; Gershon, S. (1974): The antagonism of amphetamine-induced symptomatology by a neuroleptic. In: *The American journal of psychiatry* 131 (7), S. 817–819. DOI: 10.1176/ajp.131.7.817.
- 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.
- BfArM (2022): ICD-10-GM- Version 2023, Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme, 10. Revision, German Modification Stand: 16. September 2022. Hg. v. Herausgegeben vom Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) im Auftrag des Bundesministeriums für Gesundheit (BMG) unter Beteiligung der Arbeitsgruppe ICD des Kuratoriums für Fragen der Klassifikation im Gesundheitswesen (KKG). Köln. Online verfügbar unter <https://www.dimdi.de/static/de/klassifikationen/icd/icd-10-gm/kode-suche/htmlgm2023/>, zuletzt aktualisiert am 16.09.2022, zuletzt geprüft am 22.06.2023.
- Birbaumer, Niels-Peter; Schmidt, Robert F. (2010): Methoden der Biologischen Psychologie. In: *Biologische Psychologie*. 7., überarbeitete und ergänzte Auflage. Heidelberg: Springer Medizin (Springer-Lehrbuch).
- Bishop, Jeffrey R.; Reilly, James L.; Harris, Margret S. H.; Patel, Shitalben R.; Kittles, Rick; Badner, Judith A. et al. (2015): Pharmacogenetic associations of the type-3 metabotropic glutamate receptor (GRM3) gene with working memory and clinical symptom response to antipsychotics in first-episode schizophrenia. In: *Psychopharmacology* 232 (1), S. 145–154. DOI: 10.1007/s00213-014-3649-4.
- Blacker, Caren J.; Lewis, Charles P.; Frye, Mark A.; Veldic, Marin (2017): Metabotropic glutamate receptors as emerging research targets in bipolar disorder. In: *Psychiatry research* 257, S. 327–337. DOI: 10.1016/j.psychres.2017.07.059.
- Böhm, Stefan (2020): Glutamaterges System. In: *Pharmakologie und Toxikologie*. 3., überarbeitete Auflage: Springer, Berlin, Heidelberg (Springer-Lehrbuch).
- Braff, David L.; Freedman, Robert; Schork, Nicholas J.; Gottesman, Irving I. (2007): Deconstructing schizophrenia. An overview of the use of endophenotypes in order to understand a complex disorder. In: *Schizophrenia Bulletin* 33 (1), S. 21–32. DOI: 10.1093/schbul/sbl049.
- Bramon, Elvira; McDonald, Colm; Croft, Rodney J.; Landau, Sabine; Filbey, Francesca; Gruzelier, John H. et al. (2005): Is the P300 wave an endophenotype for schizophrenia? A meta-analysis and a family study. In: *NeuroImage* 27 (4), S. 960–968. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2005.05.022.
- Brandl, Felix; Avram, Mihai; Weise, Benedikt; Shang, Jing; Simões, Beatriz; Bertram, Teresa et al. (2019): Specific Substantial Dysconnectivity in Schizophrenia. A Transdiagnostic Multimodal Meta-analysis of Resting-State Functional and Structural Magnetic Resonance Imaging Studies. In: *Biological psychiatry* 85 (7), S. 573–583. DOI: 10.1016/j.biopsych.2018.12.003.

- Brugger, Stefan P.; Howes, Oliver D. (2017): Heterogeneity and Homogeneity of Regional Brain Structure in Schizophrenia. A Meta-analysis. In: *JAMA psychiatry* 74 (11), S. 1104–1111. DOI: 10.1001/jamapsychiatry.2017.2663.
- Carlsson, A.; Lindqvist, M. (1963): Effect of Chlorpromazine or Haloperidol on Formation of 3-Methoxytyramine and Normetanephrine in Mouse Brain. In: *Acta pharmacologica et toxicologica* 20, S. 140–144. DOI: 10.1111/j.1600-0773.1963.tb01730.x.
- Chang, Christopher C.; Chow, Carson C.; Tellier, Laurent Cam; Vattikuti, Shashaank; Purcell, Shaun M.; Lee, James J. (2015): Second-generation PLINK. Rising to the challenge of larger and richer datasets. In: *GigaScience* 4, S. 7. DOI: 10.1186/s13742-015-0047-8.
- 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.
- Chorev, Michal; Carmel, Liran (2012): The function of introns. In: *Frontiers in genetics* 3, S. 55. DOI: 10.3389/fgene.2012.00055.
- Corti, C.; Sala, C. F.; Yang, F.; Corsi, M.; Xuereb, J. H.; Ferraguti, F. (2000): Genomic organization of the human metabotropic glutamate receptor subtype 3. In: *Journal of Neurogenetics* 14 (4), 207–25, 271. DOI: 10.3109/01677060009084499.
- Davis, Justin; Eyre, Harris; Jacka, Felice N.; Dodd, Seetal; Dean, Olivia; McEwen, Sarah et al. (2016): A review of vulnerability and risks for schizophrenia. Beyond the two hit hypothesis. In: *Neuroscience and biobehavioral reviews* 65, S. 185–194. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2016.03.017.
- 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.
- Delay, J.; Deniker, P.; Harl, J. M. (1952): Utilisation en thérapeutique psychiatrique d'une phénothiazine d'action centrale élective (4560 RP). In: *Annales medico-psychologiques* 110 (2 1), S. 112–117.
- DGPPN e.V. (2019): (Hrsg.) 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 geprüft am 21.06.2023.
- Dogra, Shalini; Conn, P. Jeffrey (2021): Targeting metabotropic glutamate receptors for the treatment of depression and other stress-related disorders. In: *Neuropharmacology* 196, S. 108687. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2021.108687.
- Dogra, Shalini; Putnam, Jason; Conn, P. Jeffrey (2022): Metabotropic glutamate receptor 3 as a potential therapeutic target for psychiatric and neurological disorders. In: *Pharmacology, biochemistry, and behavior* 221, S. 173493. DOI: 10.1016/j.pbb.2022.173493.
- Dogra, Shalini; Stansley, Branden J.; Xiang, Zixiu; Qian, Weilun; Gogliotti, Rocco G.; Nicoletti, Ferdinando et al. (2021): Activating mGlu3 Metabotropic Glutamate Receptors Rescues Schizophrenia-like Cognitive Deficits Through Metaplastic Adaptations Within the Hippocampus. In: *Biological psychiatry* 90 (6), S. 385–398. DOI: 10.1016/j.biopsych.2021.02.970.
- Duarte, João M. N.; Xin, Lijing (2019): Magnetic Resonance Spectroscopy in Schizophrenia. Evidence for Glutamatergic Dysfunction and Impaired Energy Metabolism. In: *Neurochem Res* 44 (1), S. 102–116. DOI: 10.1007/s11064-018-2521-z.
- Duncan, Connie C.; Barry, Robert J.; Connolly, John F.; Fischer, Catherine; Michie, Patricia T.; Näätänen, Risto et al. (2009): Event-related potentials in clinical research. Guidelines for eliciting,

recording, and quantifying mismatch negativity, P300, and N400. In: *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology* 120 (11), S. 1883–1908. DOI: 10.1016/j.clinph.2009.07.045.

Earls, Holly A.; Curran, Tim; Mittal, Vijay (2016): A Meta-analytic Review of Auditory Event-Related Potential Components as Endophenotypes for Schizophrenia. Perspectives From First-Degree Relatives. In: *Schizophrenia Bulletin* 42 (6), S. 1504–1516. DOI: 10.1093/schbul/sbw047.

Egan, Michael F.; Straub, Richard E.; Goldberg, Terry E.; Yakub, Imtiaz; Callicott, Joseph H.; Hariri, Ahmad R. et al. (2004): Variation in GRM3 affects cognition, prefrontal glutamate, and risk for schizophrenia. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101 (34), S. 12604–12609. DOI: 10.1073/pnas.0405077101.

Egerton, Alice; Howes, Oliver D.; Houle, Sylvain; McKenzie, Kwame; Valmaggia, Lucia R.; Bagby, Michael R. et al. (2017): Elevated Striatal Dopamine Function in Immigrants and Their Children. A Risk Mechanism for Psychosis. In: *Schizophrenia Bulletin* 43 (2), S. 293–301. DOI: 10.1093/schbul/sbw181.

Ensembl GRCh37 release 109. Release 105 (2023). Online verfügbar unter <http://grch37.ensembl.org/index.html>, zuletzt geprüft am 20.06.2023.

Ensembl release 96 (2019): Chromosome 7: 86,639,495-86,869,303 - Region in detail - Homo sapiens - Ensembl genome browser 96. Online verfügbar unter https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Location/View?db=core;g=ENSG00000198822;r=7:86639495-86869303, zuletzt geprüft am 21.06.2023.

Falkai, Peter; Döpfner, Manfred (Hg.) (2015): Diagnostisches und statistisches Manual psychischer Störungen DSM-5®. Göttingen: Hogrefe. Online verfügbar unter http://sub-hh.ciando.com/book/?bok_id=1792418.

Falkai, Peter; Laux, Gerd; Deister, Arno; Möller, Hans-Jürgen (Hg.) (2021): Duale Reihe Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie. 7. vollständig überarbeitete Auflage. Stuttgart: Thieme (Duale Reihe). Online verfügbar unter <http://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:bsz:24-epflicht-2059950>.

Folstein, Marshal F.; Folstein, Susan E.; McHugh, Paul R. (1975): "Mini-mental state". In: *Journal of Psychiatric Research* 12 (3), S. 189–198. DOI: 10.1016/0022-3956(75)90026-6.

Friedman, David; Cycowicz, Yael M.; Gaeta, Helen (2001): The novelty P3. An event-related brain potential (ERP) sign of the brain's evaluation of novelty. In: *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 25 (4), S. 355–373. DOI: 10.1016/S0149-7634(01)00019-7.

Fujioka, Ryuta; Nii, Takenobu; Iwaki, Akiko; Shibata, Atsushi; Ito, Isao; Kitaichi, Kiyoyuki et al. (2014): Comprehensive behavioral study of mGluR3 knockout mice. Implication in schizophrenia related endophenotypes. In: *Molecular brain* 7, S. 31. DOI: 10.1186/1756-6606-7-31.

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.

Gaebel, Wolfgang; Wölwer, Wolfgang (Hg.) (2010): Schizophrenie. Berlin: Robert-Koch-Inst (Gesundheitsberichterstattung des Bundes, 50).

Gatt, Justine M.; Burton, Karen L. O.; Williams, Leanne M.; Schofield, Peter R. (2015): Specific and common genes implicated across major mental disorders. A review of meta-analysis studies. In: *Journal of Psychiatric Research* 60, S. 1–13. DOI: 10.1016/j.jpsychires.2014.09.014.

Gerloff C. (2005): Ereignis-korrelierte Potenziale (EKP). In: Evozierte Potenziale. SEP - VEP - AEP - EKP - MEP. 4., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer Medizin

Verlag Heidelberg. Online verfügbar unter

<http://site.ebrary.com/lib/alltitles/docDetail.action?docID=10182565>.

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.

Gottesman, Irving I.; Laursen, Thomas Munk; Bertelsen, Aksel; Mortensen, Preben Bo (2010): Severe mental disorders in offspring with 2 psychiatrically ill parents. In: *Archives of general psychiatry* 67 (3), S. 252–257. DOI: 10.1001/archgenpsychiatry.2010.1.

Gouzoulis-Mayfrank (2008): Kognition bei Modellpsychosen. In: *Neuropsychologie der Schizophrenie*. Springer, Berlin, Heidelberg.

Gründer, G.; Cumming, P. (2016): The Dopamine Hypothesis of Schizophrenia. In: *The Neurobiology of Schizophrenia*: Elsevier, S. 109–124.

Halgren, Eric; Marinkovic, Ksenija; Chauvel, Patrick (1998): Generators of the late cognitive potentials in auditory and visual oddball tasks. In: *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 106 (2), S. 156–164. DOI: 10.1016/S0013-4694(97)00119-3.

Hall, Mei Hua; Schulze, Katja; Rijdsdijk, Frühling; Picchioni, Marco; Ettinger, Ulrich; Bramon, Elvira et al. (2006): Heritability and reliability of P300, P50 and duration mismatch negativity. In: *Behavior genetics* 36 (6), S. 845–857. DOI: 10.1007/s10519-006-9091-6.

Hall, Mei-Hua; Jensen, J. Eric; Du, Fei; Smoller, Jordan W.; O'Connor, Lauren; Spencer, Kevin M.; Öngür, Dost (2015): Frontal P3 event-related potential is related to brain glutamine/glutamate ratio measured in vivo. In: *NeuroImage* 111, S. 186–191. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2015.02.014.

Hall, Mei-Hua; Rijdsdijk, Frühling; Picchioni, Marco; Schulze, Katja; Ettinger, Ulrich; Touloupoulou, Timothea et al. (2007): Substantial shared genetic influences on schizophrenia and event-related potentials. In: *The American journal of psychiatry* 164 (5), S. 804–812. DOI: 10.1176/ajp.2007.164.5.804.

Hasan, Alkomiet; Keller, Rupert von; Friemel, Chris Maria; Hall, Wayne; Schneider, Miriam; Koethe, Dagmar et al. (2019): Cannabis use and psychosis. A review of reviews. In: *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*. DOI: 10.1007/s00406-019-01068-z.

Hedges, Dawson; Bennett, David P. (2014): Cigarette smoking and p300 amplitude in adults. A systematic review. In: *Nicotine & tobacco research : official journal of the Society for Research on Nicotine and Tobacco* 16 (9), S. 1157–1166. DOI: 10.1093/ntr/ntu083.

Hedges, Dawson; Janis, Rebecca; Mickelson, Stephen; Keith, Cierra; Bennett, David; Brown, Bruce L. (2015): P300 Amplitude in Alzheimer's Disease. In: *Clin EEG Neurosci* 47 (1), S. 48–55. DOI: 10.1177/1550059414550567.

Hegerl, Ulrich (1998): Ereigniskorrelierte Potentiale. In: *Neurophysiologische Untersuchungen in der Psychiatrie. EEG, EKP, Schlafpolygraphie, Motorik, autonome Funktionen*. Vienna, s.l.: Springer Vienna. Online verfügbar unter <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-7091-6447-1>.

Henssler, Jonathan; Brandt, Lasse; Müller, Martin; Liu, Shuyan; Montag, Christiane; Sterzer, Philipp; Heinz, Andreas (2020): Migration and schizophrenia: meta-analysis and explanatory framework. In: *European archives of psychiatry and clinical neuroscience* 270 (3), S. 325–335. DOI: 10.1007/s00406-019-01028-7.

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.

- Hubbard, Jacqueline A.; Binder, Devin K. (2016): Glutamate Metabolism. In: *Astrocytes and Epilepsy*: Elsevier, S. 197–224.
- Ip, Cheng-Teng; Ganz, Melanie; Ozenne, Brice; Sluth, Lasse B.; Gram, Mikkel; Viardot, Geoffrey et al. (2018): Pre-intervention test-retest reliability of EEG and ERP over four recording intervals. In: *International journal of psychophysiology : official journal of the International Organization of Psychophysiology* 134, S. 30–43. DOI: 10.1016/j.ijpsycho.2018.09.007.
- Janoutová, Jana; Janácková, Petra; Serý, Omar; Zeman, Tomáš; Ambroz, Petr; Kovalová, Martina et al. (2016): Epidemiology and risk factors of schizophrenia. In: *Neuro endocrinology letters* 37 (1), S. 1–8.
- Javitt, D. C. (1987): Negative schizophrenic symptomatology and the PCP (phencyclidine) model of schizophrenia. In: *The Hillside journal of clinical psychiatry* 9 (1), S. 12–35.
- Javitt, Daniel C. (2010): Glutamatergic theories of schizophrenia. In: *The Israel journal of psychiatry and related sciences* 47 (1), S. 4–16.
- Jeon, Yang-Whan; Polich, John (2003): Meta-analysis of P300 and schizophrenia. Patients, paradigms, and practical implications. In: *Psychophysiology* 40 (5), S. 684–701. DOI: 10.1111/1469-8986.00070.
- Jia, Wei; Zhang, Rui; Wu, Bin; Dai, Zun-xiao; Zhu, Yong-sheng; Li, Ping-ping; Zhu, Feng (2014): Metabotropic glutamate receptor 3 is associated with heroin dependence but not depression or schizophrenia in a Chinese population. In: *PloS one* 9 (1), e87247. DOI: 10.1371/journal.pone.0087247.
- Jin, Lu E.; Wang, Min; Galvin, Veronica C.; Lightbourne, Taber C.; Conn, Peter Jeffrey; Arnsten, Amy F. T.; Paspalas, Constantinos D. (2018): mGluR2 versus mGluR3 Metabotropic Glutamate Receptors in Primate Dorsolateral Prefrontal Cortex. Postsynaptic mGluR3 Strengthen Working Memory Networks. In: *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)* 28 (3), S. 974–987. DOI: 10.1093/cercor/bhx005.
- Kam, J. W. Y.; Szczepanski, S. M.; Canolty, R. T.; Flinker, A.; Augustine, K. I.; Crone, N. E. et al. (2018): Differential Sources for 2 Neural Signatures of Target Detection. An Electrocoricography Study. In: *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)* 28 (1), S. 9–20. DOI: 10.1093/cercor/bhw343.
- Kandaswamy, Radhika; McQuillin, Andrew; Sharp, Sally I.; Fiorentino, Alessia; Anjorin, Adebayo; Blizard, Robert A. et al. (2013): Genetic association, mutation screening, and functional analysis of a Kozak sequence variant in the metabotropic glutamate receptor 3 gene in bipolar disorder. In: *JAMA psychiatry* 70 (6), S. 591–598. DOI: 10.1001/jamapsychiatry.2013.38.
- Kappenman, Emily S.; Luck, Steven J. (2012): ERP Components: The Ups and Downs of Brainwave Recordings - Oxford Handbooks: Oxford University Press.
- Karayorgou, M.; Morris, M. A.; Morrow, B.; Shprintzen, R. J.; Goldberg, R.; Borrow, J. et al. (1995): Schizophrenia susceptibility associated with interstitial deletions of chromosome 22q11. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92 (17), S. 7612–7616. DOI: 10.1073/pnas.92.17.7612.
- Kargbo, Robert B. (2019): Allosteric mGluR3 Modulators for the Treatment of Psychiatric Disorders. In: *ACS medicinal chemistry letters* 10 (2), S. 145–146. DOI: 10.1021/acsmchemlett.8b00619.
- 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. DOI: 10.1093/schbul/13.2.261.
- Kelly, S.; Jahanshad, N.; Zalesky, A.; Kochunov, P.; Agartz, I.; Alloza, C. et al. (2018): Widespread white matter microstructural differences in schizophrenia across 4322 individuals. Results from the ENIGMA Schizophrenia DTI Working Group. In: *Molecular Psychiatry* 23 (5), S. 1261–1269. DOI: 10.1038/mp.2017.170.

Literaturverzeichnis

- Khandaker, G. M.; Dikken, C. R. M.; Jones, P. B. (2012): Does maternal body mass index during pregnancy influence risk of schizophrenia in the adult offspring? In: *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity* 13 (6), S. 518–527. DOI: 10.1111/j.1467-789X.2011.00971.x.
- Kim, Minah; Lee, Tae Young; Lee, Suji; Kim, Sung Nyun; Kwon, Jun Soo (2015): Auditory P300 as a predictor of short-term prognosis in subjects at clinical high risk for psychosis. In: *Schizophrenia research* 165 (2-3), S. 138–144. DOI: 10.1016/j.schres.2015.04.033.
- Kim, S. H.; Steele, J. W.; Lee, S. W.; Clemenson, G. D.; Carter, T. A.; Treuner, K. et al. (2014): Proneurogenic Group II mGluR antagonist improves learning and reduces anxiety in Alzheimer A β oligomer mouse. In: *Molecular Psychiatry* 19 (11), S. 1235–1242. DOI: 10.1038/mp.2014.87.
- Lainiola, Mira; Procaccini, Chiara; Linden, Anni-Maija (2014): mGluR3 knockout mice show a working memory defect and an enhanced response to MK-801 in the T- and Y-maze cognitive tests. In: *Behavioural brain research* 266, S. 94–103. DOI: 10.1016/j.bbr.2014.03.008.
- LDlink abgerufen am 23.06.2023: <https://ldlink.nih.gov/>. Online verfügbar unter <https://ldlink.nih.gov/>, zuletzt geprüft am 23.06.2023.
- Lee, Younga H.; Cherkerzian, Sara; Seidman, Larry J.; Papandonatos, George D.; Savitz, David A.; Tsuang, Ming T. et al. (2019): Maternal Bacterial Infection During Pregnancy and Offspring Risk of Psychotic Disorders. Variation by Severity of Infection and Offspring Sex. In: *The American journal of psychiatry*, appiajp201918101206. DOI: 10.1176/appi.ajp.2019.18101206.
- Lencer, Rebekka; Bishop, Jeffrey R.; Harris, Margret S. H.; Reilly, James L.; Patel, Shitalben; Kittles, Rick et al. (2014): Association of variants in DRD2 and GRM3 with motor and cognitive function in first-episode psychosis. In: *European archives of psychiatry and clinical neuroscience* 264 (4), S. 345–355. DOI: 10.1007/s00406-013-0464-6.
- Li, Junlin; Yu, Yan; Zhao, Junhong; Zhang, Jing; Wang, Yan; Ding, Kefan et al. (2021): Genetic variants of the type-3 metabotropic glutamate receptor gene associated with human spatial localization ability. In: *Gene Reports* 23 (613–33), S. 101135. DOI: 10.1016/j.genrep.2021.101135.
- Li, Siyi; Hu, Na; Zhang, Wenjing; Tao, Bo; Dai, Jing; Gong, Yao et al. (2019): Dysconnectivity of Multiple Brain Networks in Schizophrenia. A Meta-Analysis of Resting-State Functional Connectivity. In: *Frontiers in psychiatry* 10, S. 482. DOI: 10.3389/fpsy.2019.00482.
- 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.
- Lipner, Emily; Murphy, Shannon K.; Eelman, Lauren M. (2019): Prenatal Maternal Stress and the Cascade of Risk to Schizophrenia Spectrum Disorders in Offspring. In: *Current psychiatry reports* 21 (10), S. 99. DOI: 10.1007/s11920-019-1085-1.
- Löhrs, Lisa; Hasan, Alkomiet (2019): Risikofaktoren für die Entstehung und den Verlauf der Schizophrenie. In: *Fortschr Neurol Psychiatr* 87 (02), S. 133–143. DOI: 10.1055/a-0836-7839.
- Machiela, Mitchell J.; Chanock, Stephen J. (2015): LDlink: a web-based application for exploring population-specific haplotype structure and linking correlated alleles of possible functional variants. In: *Bioinformatics (Oxford, England)* 31 (21), S. 3555–3557. DOI: 10.1093/bioinformatics/btv402.
- Marek, Gerard J. (2010): Metabotropic glutamate2/3 (mGlu2/3) receptors, schizophrenia and cognition. In: *European journal of pharmacology* 639 (1-3), S. 81–90. DOI: 10.1016/j.ejphar.2010.02.058.

- Mathalon, Daniel H.; Ford, Judith M.; Pfefferbaum, Adolf (2000): Trait and state aspects of p300 amplitude reduction in schizophrenia. A retrospective longitudinal study. In: *Biological psychiatry* 47 (5), S. 434–449. DOI: 10.1016/S0006-3223(99)00277-2.
- McCutcheon, Robert A.; Krystal, John H.; Howes, Oliver D. (2020): Dopamine and glutamate in schizophrenia. Biology, symptoms and treatment. In: *World psychiatry : official journal of the World Psychiatric Association (WPA)* 19 (1), S. 15–33. DOI: 10.1002/wps.20693.
- Meltzer, H. Y.; Stahl, S. M. (1976): The dopamine hypothesis of schizophrenia. A review. In: *Schizophrenia Bulletin* 2 (1), S. 19–76. DOI: 10.1093/schbul/2.1.19.
- Meyer, Urs; Yee, Benjamin K.; Feldon, Joram (2007): The neurodevelopmental impact of prenatal infections at different times of pregnancy. The earlier the worse? In: *The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry* 13 (3), S. 241–256. DOI: 10.1177/1073858406296401.
- Moghaddam, Bitá; Krystal, John H. (2012): Capturing the angel in "angel dust". Twenty years of translational neuroscience studies of NMDA receptor antagonists in animals and humans. In: *Schizophrenia Bulletin* 38 (5), S. 942–949. DOI: 10.1093/schbul/sbs075.
- Morland, Cecilie; Nordengen, Kaja (2022): N-Acetyl-Aspartyl-Glutamate in Brain Health and Disease. In: *International journal of molecular sciences* 23 (3). DOI: 10.3390/ijms23031268.
- Mössner, Rainald; Schuhmacher, Anna; Schulze-Rauschenbach, Svenja; Kühn, Kai-Uwe; Rujescu, Dan; Rietschel, Marcella et al. (2008): Further evidence for a functional role of the glutamate receptor gene GRM3 in schizophrenia. In: *Eur Neuropsychopharmacol* 18 (10), S. 768–772. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2008.05.007.
- Müller, M. J.; Rossbach, W.; Davids, E.; Wetzel, H.; Benkert, O. (2000): Evaluation eines standardisierten Trainings für die "Positive and Negative Syndrome Scale" (PANSS). In: *Der Nervenarzt* 71 (3), S. 195–204. DOI: 10.1007/s001150050029.
- NCBI (2019): GRM3 glutamate metabotropic receptor 3 [Homo sapiens (human)]. Online verfügbar unter <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2913>, zuletzt geprüft am 14.05.2019.
- Ng, M. Y. M.; Levinson, D. F.; Faraone, S. V.; Suarez, B. K.; DeLisi, L. E.; Arinami, T. et al. (2009): Meta-analysis of 32 genome-wide linkage studies of schizophrenia. In: *Molecular Psychiatry* 14 (8), S. 774–785. DOI: 10.1038/mp.2008.135.
- Niswender, Colleen M.; Conn, P. Jeffrey (2010): Metabotropic glutamate receptors. Physiology, pharmacology, and disease. In: *Annual review of pharmacology and toxicology* 50, S. 295–322. DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.011008.145533.
- Olney, J. W.; Farber, N. B. (1995): Glutamate receptor dysfunction and schizophrenia. In: *Archives of general psychiatry* 52 (12), S. 998–1007. DOI: 10.1001/archpsyc.1995.03950240016004.
- Olney, John W.; Newcomer, John W.; Farber, Nuri B. (1999): NMDA receptor hypofunction model of schizophrenia. In: *Journal of Psychiatric Research* 33 (6), S. 523–533. DOI: 10.1016/S0022-3956(99)00029-1.
- Owens, Emily M.; Bachman, Peter; Glahn, David C.; Bearden, Carrie E. (2016): Electrophysiological Endophenotypes for Schizophrenia. In: *Harvard review of psychiatry* 24 (2), S. 129–147. DOI: 10.1097/HRP.0000000000000110.
- Patil, Sandeep T.; Zhang, Lu; Martenyi, Ferenc; Lowe, Stephen L.; Jackson, Kimberley A.; Andreev, Boris V. et al. (2007): Activation of mGlu2/3 receptors as a new approach to treat schizophrenia. A randomized Phase 2 clinical trial. In: *Nature medicine* 13 (9), S. 1102–1107. DOI: 10.1038/nm1632.

- Penner, Justin D.; Brown, Alan S. (2007): Prenatal infectious and nutritional factors and risk of adult schizophrenia. In: *Expert review of neurotherapeutics* 7 (7), S. 797–805. DOI: 10.1586/14737175.7.7.797.
- 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.
- Polich, John (2012): Neuropsychology of P300 - Oxford Handbooks: Oxford University Press.
- Polich, John; Criado, José R. (2006): Neuropsychology and neuropharmacology of P3a and P3b. In: *International journal of psychophysiology : official journal of the International Organization of Psychophysiology* 60 (2), S. 172–185. DOI: 10.1016/j.ijpsycho.2005.12.012.
- 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): QIAamp® DNA Blood Midi/Maxi Handbook (2nd Edition ed.). Hilden, Germany.
- Qiu, Yao-qin; Tang, Yun-xiang; Chan, Raymond C. K.; Sun, Xin-yang; He, Jia (2014): P300 aberration in first-episode schizophrenia patients. A meta-analysis. In: *PLoS one* 9 (6), e97794. DOI: 10.1371/journal.pone.0097794.
- Quednow, Boris B.; Pintsov, O. (2012): Endophänotypen in der psychiatrischen Forschung - Brückenschlag zwischen Genetik und Psychopathologie? In: Böker, H; Seifritz, E. Psychotherapie und Neurowissenschaften : Integration, Kritik, Zukunftsaussichten. Bern: Hans Huber, 216-233.
- R Development Core Team, 2013: R: A language and environment for statistical computing. Hg. v. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. Online verfügbar unter <http://www.R-project.org>, zuletzt geprüft am 15.04.2019.
- Rees, Elliott; Walters, James T. R.; Georgieva, Lyudmila; Isles, Anthony R.; Chambert, Kimberly D.; Richards, Alexander L. et al. (2014): Analysis of copy number variations at 15 schizophrenia-associated loci. In: *The British journal of psychiatry : the journal of mental science* 204 (2), S. 108–114. DOI: 10.1192/bjp.bp.113.131052.
- Rice, John P.; Reich, Theodore; Bucholz, Kathleen K.; Neuman, Rosalind J.; Fishman, Roberta; Rochberg, Nanette et al. (1995): Comparison of Direct Interview and Family History Diagnoses of Alcohol Dependence. In: *Alcoholism Clin Exp Res* 19 (4), S. 1018–1023. DOI: 10.1111/j.1530-0277.1995.tb00983.x.
- Ripke, Stephan; Neale, B. M.; Corvin, A.; Walters, J. T.; Farh, K. H.; Holmans, P. A. et al. (2014): Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. In: *Nature <London>* 511 (2014), S. 421–427. DOI: 10.1038/nature13595.
- 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 // Genetics in schizophrenia. In: *Journal für Neurologie, Neurochirurgie und Psychiatrie* 20 (2), S. 76–79. Online verfügbar unter <http://www.kup.at/kup/pdf/14456.pdf>.
- Saini, S. M.; Mancuso, S. G.; Mostaid, Md S.; Liu, C.; Pantelis, C.; Everall, I. P.; Bousman, C. A. (2017): Meta-analysis supports GWAS-implicated link between GRM3 and schizophrenia risk. In: *Translational psychiatry* 7 (8), e1196. DOI: 10.1038/tp.2017.172.

Literaturverzeichnis

- Sartorius, Leah J.; Nagappan, Guhan; Lipska, Barbara K.; Lu, Bai; Sei, Yoshitatsu; Ren-Patterson, Renee et al. (2006): Alternative splicing of human metabotropic glutamate receptor 3. In: *Journal of neurochemistry* 96 (4), S. 1139–1148. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2005.03609.x.
- Saß, Henning (2003): Diagnostisches und statistisches Manual psychischer Störungen. Textrevision ; DSM-IV-TR ; übersetzt nach der Textrevision der vierten Auflage des Diagnostic and statistical manual of mental disorders der American Psychiatric Association. Göttingen: Hogrefe.
- Scherer, S. W.; Duvoisin, R. M.; Kuhn, R.; Heng, H. H.; Belloni, E.; Tsui, L. C. (1996): Localization of two metabotropic glutamate receptor genes, GRM3 and GRM8, to human chromosome 7q. In: *Genomics* 31 (2), S. 230–233. DOI: 10.1006/geno.1996.0036.
- Schwab, Sibylle G.; Plummer, Christie; Albus, Margot; Borrmann-Hassenbach, Margitta; Lerer, Bernard; Trixler, Matyas et al. (2008): DNA sequence variants in the metabotropic glutamate receptor 3 and risk to schizophrenia. An association study. In: *Psychiatric Genetics* 18 (1), S. 25–30. DOI: 10.1097/YPG.0b013e3282ef48d9.
- Seeman, Philip; Battaglia, Giuseppe; Corti, Corrado; Corsi, Mauro; Bruno, Valeria (2009): Glutamate receptor mGlu2 and mGlu3 knockout striata are dopamine supersensitive, with elevated D2(High) receptors and marked supersensitivity to the dopamine agonist (+)PHNO. In: *Synapse (New York, N.Y.)* 63 (3), S. 247–251. DOI: 10.1002/syn.20607.
- Shepherd, Alana M.; Laurens, Kristin R.; Matheson, Sandra L.; Carr, Vaughan J.; Green, Melissa J. (2012): Systematic meta-review and quality assessment of the structural brain alterations in schizophrenia. In: *Neuroscience and biobehavioral reviews* 36 (4), S. 1342–1356. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2011.12.015.
- Squires, K. C.; Wickens, C.; Squires, N. K.; Donchin, E. (1976): The effect of stimulus sequence on the waveform of the cortical event-related potential. In: *Science* 193 (4258), S. 1142–1146. DOI: 10.1126/science.959831.
- Squires, Nancy K.; Squires, Kenneth C.; Hillyard, Steven A. (1975): Two varieties of long-latency positive waves evoked by unpredictable auditory stimuli in man. In: *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 38 (4), S. 387–401. DOI: 10.1016/0013-4694(75)90263-1.
- Stahl, Stephen M. (2018): Beyond the dopamine hypothesis of schizophrenia to three neural networks of psychosis. Dopamine, serotonin, and glutamate. In: *CNS spectrums* 23 (3), S. 187–191. DOI: 10.1017/S1092852918001013.
- Sullivan, Patrick F.; Kendler, Kenneth S.; Neale, Michael C. (2003): Schizophrenia as a complex trait. Evidence from a meta-analysis of twin studies. In: *Archives of general psychiatry* 60 (12), S. 1187–1192. DOI: 10.1001/archpsyc.60.12.1187.
- Sur, Shravani; Sinha, V. K. (2009): Event-related potential. An overview. In: *Industrial Psychiatry Journal* 18 (1), S. 70–73. DOI: 10.4103/0972-6748.57865.
- Sutton, Samuel; Braren, Margery; Zubin, Joseph; John, E. R. (1965): Evoked-Potential Correlates of Stimulus Uncertainty. In: *Science* 150 (3700), S. 1187–1188. DOI: 10.1126/science.150.3700.1187.
- Tang, Yingying; Wang, Junjie; Zhang, Tianhong; Xu, Lihua; Qian, Zhenying; Cui, Huiru et al. (2020): 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* 226, S. 74–83. DOI: 10.1016/j.schres.2019.02.014.
- The International HapMap Project (2003). In: *Nature* 426 (6968), S. 789–796.
- 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.

Literaturverzeichnis

- Turetsky, B. I.; Cannon, T. D.; Gur, R. E. (2000): P300 subcomponent abnormalities in schizophrenia. III. Deficits In unaffected siblings of schizophrenic probands. In: *Biological psychiatry* 47 (5), S. 380–390. DOI: 10.1016/S0006-3223(99)00290-5.
- Turetsky, Bruce; Colbath, Elisabeth A.; Gur, Raquel E. (1998): P300 Subcomponent Abnormalities in Schizophrenia. Longitudinal Stability and Relationship to Symptom Change. In: *Biological psychiatry* 43 (1), S. 31–39. DOI: 10.1016/S0006-3223(97)00261-8.
- Turetsky, Bruce I.; Dress, Erich M.; Braff, David L.; Calkins, Monica E.; Green, Michael F.; Greenwood, Tiffany A. et al. (2015): The utility of P300 as a schizophrenia endophenotype and predictive biomarker. Clinical and socio-demographic modulators in COGS-2. In: *Schizophrenia research* 163 (1-3), S. 53–62. DOI: 10.1016/j.schres.2014.09.024.
- 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.
- van Beijsterveldt, C.E.M; van Baal, G.C.M (2002): Twin and family studies of the human electroencephalogram. A review and a meta-analysis. In: *Biological Psychology* 61 (1-2), S. 111–138. DOI: 10.1016/S0301-0511(02)00055-8.
- van Erp, T. G. M.; Hibar, D. P.; Rasmussen, J. M.; Glahn, D. C.; Pearlson, G. D.; Andreassen, O. A. et al. (2016): Subcortical brain volume abnormalities in 2028 individuals with schizophrenia and 2540 healthy controls via the ENIGMA consortium. In: *Mol Psychiatry* 21 (4), S. 547–553. DOI: 10.1038/mp.2015.63.
- van Erp, Theo G.M.; Walton, Esther; Hibar, Derrek P.; Schmaal, Lianne; Jiang, Wenhao; Glahn, David C. et al. (2018): Cortical Brain Abnormalities in 4474 Individuals With Schizophrenia and 5098 Control Subjects via the Enhancing Neuro Imaging Genetics Through Meta Analysis (ENIGMA) Consortium. In: *Biological psychiatry* 84 (9), S. 644–654. DOI: 10.1016/j.biopsych.2018.04.023.
- Wada, Masataka; Kurose, Shin; Miyazaki, Takahiro; Nakajima, Shinichiro; Masuda, Fumi; Mimura, Yu et al. (2019): The P300 event-related potential in bipolar disorder. A systematic review and meta-analysis. In: *Journal of affective disorders* 256, S. 234–249. DOI: 10.1016/j.jad.2019.06.010.
- Wittchen, Hans-Ulrich; Zaudig, Michael; Fydrich, Thomas (1997): Strukturiertes klinisches Interview für DSM-IV. SKID ; Achse I und II ; Handanweisung. Göttingen: Hogrefe.
- World Health Organisation (2001): Mental health. New understanding, new hope. reprinted. Geneva: World Health Organization (The world health report, 2001).
- Yuan, Jing; Wu, Changjiang; Wu, Li; Fan, Xinxin; Zeng, Tingting; Xu, Li et al. (2022): The Association of P300 Components With Clinical Characteristics and Efficacy of Pharmacotherapy in Alcohol Use Disorder. In: *Frontiers in psychiatry* 13, S. 770714. DOI: 10.3389/fpsyt.2022.770714.
- Zoicas, Iulia; Kornhuber, Johannes (2019): The Role of Metabotropic Glutamate Receptors in Social Behavior in Rodents. In: *International journal of molecular sciences* 20 (6). DOI: 10.3390/ijms20061412.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die es mir ermöglicht haben diese Arbeit durchzuführen und mich dabei, jeder auf seine Weise, unterstützt haben.

Bedanken möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Dan Rujescu für die Möglichkeit der Durchführung meines praktischen Abschnitts der Arbeit, an der von ihm während dieser Zeit geleiteten Universitätsklinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychotherapie und Psychosomatik des Universitätsklinikums Halle (Saale) der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, sowie die Bereitstellung des Promotionsthemas.

Des Weiteren geht mein spezieller Dank an Frau PD Dr. Ina Giegling und an Frau Dr. Annette Hartmann für ihre zuverlässige Betreuung, die motivierende Unterstützung und konstruktive Hilfestellung bei Fragen sowie die Korrektur und die wertvollen Veränderungs- und Verbesserungsvorschläge zur Umsetzung dieser Arbeit.

Besonderen Dank für ihre Unterstützung und Betreuung möchte ich zudem ausdrücklich an Herrn Prof. Dr. Oliver Pogarell und Herrn PD Dr. Cornelius Schüle sowie der gesamten Münchner Arbeitsgruppe richten.

Mein Dank gilt weiterhin den MitarbeiterInnen und DoktorandInnen der Arbeitsgruppe der Universitätsklinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychotherapie und Psychosomatik Halle (Saale) für die angenehme und freundliche Zusammenarbeit und die bereichernden Erfahrungen.

Mein besonderer Dank gilt ferner allen ProbandInnen, die durch ihre Bereitschaft zur Mitwirkung die gesamte Studie erst möglich gemacht haben.

Zuletzt möchte ich die Möglichkeit nutzen, von Herzen meiner Familie und meinen Freunden für die uneingeschränkte Unterstützung zu danken.

Affidavit

	LUDWIG- MAXIMILIANS- UNIVERSITÄT MÜNCHEN	Promotionsbüro Medizinische Fakultät		
Eidesstattliche Versicherung				

Bartlitz, Luise

Name, Vorname

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

Genetische Varianten im GRM3- Gen in Assoziation mit dem akustisch evoziertem Potential P300

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.

Halle, 17.09.2024

Ort, Datum

Luise Bartlitz

Unterschrift Doktorandin bzw. Doktorand