Aus der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Campus Mitte
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Einflüsse von BLOC1S3-Polymorphismen auf Schizophrenie mit Fokus auf Negativsymptomatik und kognitive Defizite

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von
Friederike Auraß
aus
Potsdam

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. Imke Puls

2. Prof. Dr. med. G. Juckel

3. Prof. Dr. med. M. Baiboui

Datum der Promotion: 01.02.2013

INHALTSVERZEICHNIS

I	**EINLEITUNG**	**1**
1.1	**Schizophrenie**	**1**
1.1.1	Epidemiologie	1
1.1.2	Symptomatik	1
1.1.3	Klassifikation	7
1.1.4	Weitere schizophrenieforme Störungen	8
1.1.5	Verlauf	9
1.1.6	Therapie	9
1.1.7	Ätiologie/Pathogenese	10
1.1.7.1	Genetik	11
1.1.7.2	Neurobiologische Befunde und Hypothesen	12
1.1.7.3	Neurochemische Hypothesen	13
1.1.8	Konzept der Endophänotypen	14
1.2	**BLOC1**	**15**
1.2.1	Struktur	16
1.2.2	Funktion	17
1.2.3	BLOC1 und Schizophrenie	18
1.2.4	BLOC1S3	20
II	**FRAGESTELLUNG**	**22**
III	**METHODIK**	**24**
3.1	**Klinischer Teil**	**24**
3.1.1	Patientenkollektiv	24
3.1.2	Kontrollkollektiv	24
3.1.3	Ablauf der Studie	25
3.1.4	Psychometrische Messinstrumente	26
3.1.4.1	Skalen der allgemeinen Psychopathologie	26
3.1.4.2	Skalen der speziellen Psychopathologie bei Schizophrenie	27
3.1.4.3	Skalen für Depressivität	28
3.1.5	Kognitive Testungen	29

3.2 Experimenteller Teil 33
3.2.1 Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs) 33
3.2.2 SNP-Auswahl 34
3.2.3 Haplotypen 35
3.2.4 Ablauf der experimentellen Arbeit 35
3.2.4.1 Polymerase Chain Reaction (PCR) 35
3.2.4.2 Elektrophorese 38
3.2.4.3 Restriktion 38
3.3 Statistik 39
3.4 Zubehör 40

IV ERGEBNISSE 42
4.1 Demografische Daten 42
4.1.1 Geschlecht und Alter beider Kollektive 42
4.1.2 Familienanamnese 42
4.1.3 Zeitpunkt der Erstmanifestation 43
4.1.4 Stationäre Behandlungen 43
4.1.5 Suizidalität 44
4.1.6 Therapie 45
4.1.7 Schulbildung 45
4.1.8 Berufsbildung 45
4.1.9 Lebensgrundlage 46
4.2 Psychopathologie 47
4.2.1 Allgemeine Psychopathologie 47
4.2.1.1 Einflussfaktoren Geschlecht und Alter 47
4.2.2 Negativsymptomatik und Depressivität 48
4.2.2.1 Einflussfaktoren Geschlecht und Alter 49
4.3 Kognition 50
4.3.1 Kognitive Leistungsfähigkeit im Patientenkollektiv 50
4.3.1.1 Einflussfaktoren 51
4.3.1.1.1 Demografische Daten 51
4.3.1.1.2 Negativsymptomatik 52
4.3.2 Faktorenanalyse 52
4.3.2.1 Einflussfaktoren 54

4.3.2.1.1 Demografische Daten 54
4.3.2.1.2 Negativsymptomatik 54
4.4 Genetik 55
4.4.1 Charakterisierung der SNPs 55
4.4.1.1 Einfluss der SNPs auf die Diagnose 56
4.4.1.2 Einfluss der SNPs auf die Psychopathologie 57
4.4.1.3 Einfluss der SNPs auf die kognitive Leistungsfähigkeit 57
4.4.1.3.1 Einflüsse der SNPs auf die Komponenten der Faktorenanalyse 58
4.4.2 Charakterisierung der Haplotypen 58
4.4.2.1 Einfluss der Haplotypen auf die Diagnose 58
4.4.2.2 Einfluss der Haplotypen auf die Psychopathologie 58
4.4.2.3 Einfluss der Haplotypen auf die kognitive Leistungsfähigkeit 59
4.4.2.3.1 Einfluss der Haplotypen auf die Komponenten der Faktorenanalyse 59

V DISKUSSION 61
5.1 Negativsymptomatik und Kognition 61
5.2 BLOC1S3 und Schizophrenie 64
5.2.1 BLOC1S3 und die Diagnose Schizophrenie 64
5.2.2 BLOC1S3 und Negativsymptomatik 64
5.2.3 BLOC1S3 und kognitive Defizite 66
5.2.4 BLOC1S3, Negativsymptomatik und Kognition 68
5.6 Limitationen 69
5.6.1 Probanden 69
5.6.2 Klinisches Testen 70
5.6.3 Experimentelle Laborarbeit 71
5.6.4 Auswertung 71
5.7 Ausblick 72

VI ZUSAMMENFASSUNG 75
VII ABKÜRZUNGEN 77
VIII LITERATURVERZEICHNIS 79
IX DANKSAGUNG 90
X ERKLÄRUNG 91
XI LEBENSLAUF 92

I EINLEITUNG

1.1 Schizophrenie

Das Wort Schizophrenie leitet sich von altgriechisch σχίζειν schizein „abspalten“ und φρήν phrēn „Zwerchfell, Seele“ ab.

Nach ICD-10 (International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems - Version 10) ist die Erkrankung „ (…) durch grundlegende und charakteristische Störungen von Denken und Wahrnehmung, sowie inadäquate oder verflachte Affekte gekennzeichnet. Die Bewusstseinsklarheit und intellektuellen Fähigkeiten sind in der Regel nicht beeinträchtigt, obwohl sich im Laufe der Zeit gewisse kognitive Defizite entwickeln können.“.[1]

1.1.1 Epidemiologie

Schizophrenie ist eine häufige psychiatrische Erkrankung mit einer weltweiten Prävalenz von 0,2–1,0% und einer Inzidenz von ca. 8-40/100.000 pro Jahr. Das Lebenszeitrisiko zu erkranken liegt etwa bei 0,7%. Ein höheres Risiko für das männliche Geschlecht wird diskutiert.[2]

Die erste Episode erleben die Betroffenen meist im frühen Erwachsenenalter, wobei Männer im Durchschnitt zwischen dem 20. und 25. Lebensjahr, Frauen zwischen dem 25. und 30. Lebensjahr erkranken. Spätschizophrenien sind bei Frauen deutlich häufiger. Möglicherweise existiert ein protektiver Östrogeneffekt auf Dopamin-D2-Rezeptoren. Kindliche Schizophrenien sind sehr selten. Häufig finden sich jedoch Prodromalsymptome im jugendlichen Alter. Es sind Symptome wie Interessenverlust, Schlafstörungen und Misstrauen, die eine etwa 5jährige Vorlaufphase der ersten manifesten, psychotischen Episode markieren können. Häufig fällt der eigentliche Erkrankungsbeginn in eine Phase stärkeren Drogenkonsums.[3,4]

1.1.2 Symptomatik

Eine Schizophrenie kann mit sehr unterschiedlichen klinischen Erscheinungsbildern imponieren. Gemäß ICD-10 wird für die Diagnose Schizophrenie (F20) das Vorhandensein eines eindeutigen Symptoms (oder zweier weniger eindeutiger Symptome) der Gruppen a-d oder mindestens zweier Symptome der Gruppen e-h gefordert *(Tab.1)*. Die Symptomatik muss nach ICD-10 mindestens über einen Zeitraum von einem Monat Bestand haben, sonst handelt es sich zunächst um eine akute schizophrenieforme psychotische Störung.

Tab.1 Symptome der Schizophrenie. Gruppen a-h, klassiert nach ICD-10 Möller HJ, 2008 [5]

a	b	c	d
Ich-Störungen (Gedankenlautwerden, Gedankeneingebung, Gedankenentzug, Gedankenausbreitung)	Wahnwahrnehmung, Kontrollwahn, Beeinflussungswahn oder das Gefühl des Gemachten	kommentierende oder dialogisierende Stimmen oder andere Stimmen, die aus bestimmten Körperteilen kommen	anhaltender, kulturell unangemessener oder völlig unrealistischer Wahn
e	f	g	h
anhaltende Halluzinationen jeder Sinnesmodalität, begleitet von flüchtigen Wahngedanken oder langanhaltenden, überwertigen Ideen	formale Denkstörungen (Gedankenabreißen oder Einschiebungen in den Gedankenfluß, was zu Zerfahrenheit, Neologismen und Danebenreden führt)	katatone Symptome (Erregung, Haltungsstereotypien, Rigor, Negativismus, Mutismus, Stupor	negative Symptome (wie Apathie, Alogie, Affektverflachung, sozialer Rückzug)

In Forschungsarbeiten wird häufig eine Klassifikation nach DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders – Version IV) der ICD-10 vorgezogen, da sie genauere Diagnosekriterien beinhaltet.[6] Die Diagnose Schizophrenie nach DSM-IV geht mit folgenden charakteristischen Symptomen einher:

- Wahn
- Halluzinationen
- Desorganisierte Sprechweise
- Grob desorientiertes oder katatones Verhalten
- Negative Symptome

Handelt es sich um einen bizarren Wahn oder um akustische Halluzinationen durch dialogisierende Stimmen oder eine kommentierende Stimme, reicht dieses eine Symptom aus. Andernfalls müssen zwei dieser Symptome mindestens über einen Monat (bei einer Remission durch Medikation auch unter einem Monat) andauern. Dazu müssen kontinuierliche Krankheitszeichen über 6 Monate lang vorliegen. Des weiteren gehören Defizite im Bereich der zwischenmenschlichen Beziehungen oder der Eigenfürsorge, die seit einem geraumen Zeitraum andauern, zur Diagnose. Im Rahmen beider Klassifikationen (ICD-10 und DSM-IV) muss eine organische Ursache der Symptomatik ausgeschlossen werden.
In der vorliegenden Arbeit wurde die Klassifikation nach ICD-10 genutzt.

Das Bemühen um eine Klassifikation der Vielzahl schizophrener Symptome brachte Anfang des 20. Jahrhunderts den englischen Neurologen J.H. Jackson zur erstmaligen Unterscheidung von

floride-psychotischen (positiven) Symptomen (Gruppen a-f) und „Defekt"- (negativen) Symptomen ((Gruppe h)*Tab.1*).[7] Diese Einteilung konnte sich bis in den heutigen Sprachgebrauch durchsetzen und findet in etablierten psychometrischen Skalen wie der Scale for the Assessment of Negative / Positive Symptoms (SANS und SAPS) Anwendung.[8]

Im Fokus der vorliegenden Arbeit stand die Untersuchung der Einflüsse genetischer Polymorphismen auf Negativsymptomatik und kognitive Defizite. Einleitend wurden diese beiden Symptomkomplexe der Schizophrenie im Folgenden detaillierter betrachtet.

Negativsymptomatik

Der „defizitäre" Symptomkomplex beinhaltet nach Andreasen, 1987 die 6 „A":
Alogie (Sprachverarmung), Affektverflachung, Apathie (Antriebsminderung), Anhedonie (Unfähigkeit, Freude zu empfinden), Aufmerksamkeitsstörungen und Asozialität.[9]
Ätiologisch kann nach Carpenter zwischen primären, allein durch die Grunderkrankung bedingten, und sekundären Negativsymptomen unterschieden werden, die erst in Konsequenz der Schizophrenie entstanden sind, z.B. durch Nebenwirkungen der Therapie (z.B. extrapyramidalmotorische Störungen) oder problematisches Coping (z.B. sozialer Rückzug bei Halluzinationen).[10] Männer sind häufiger, stärker und früher von Negativsymptomatik betroffen als Frauen.[11,12]
Atypika sind den typischen Neuroleptika in der Therapie negativer Symptome überlegen.[10] Unklar bleibt, ob sich diese Wirksamkeit nur auf sekundäre Negativsymptomatik bezieht und im günstigeren Nebenwirkungsprofil der Atypika begründet liegt (deutlich seltener extrapyramidalmotorische Nebenwirkungen), oder ob es eine direkte Wirkung der Atypika auf die Negativsymptomatik gibt. Nach wie vor Negativsymptomatik bei dem Großteil der Patienten unzureichend auf medikamentöse Therapie an.

Kognitive Defizite

Der Begriff Kognition beschreibt die Gesamtheit menschlicher Denkprozesse, die ein zielgerichtetes und intelligentes Verhalten erlauben.
Die meisten Schizophreniekranken leiden unter kognitiven Defiziten, wobei einige Domänen mehr, andere weniger betroffen sind. Im Mittel schneiden schizophrene Patienten in kognitiven Leistungstestungen deutlich schlechter ab als gesunde

Kontrollen.[13] Die betroffenen Domänen sind vor allem Aufmerksamkeit, Gedächtnis einschließlich Arbeitsgedächtnis und Exekutivfunktionen.[14]
Diese kognitiven Domänen lassen sich nur unzureichend voneinander abgrenzen. Testpsychologisch ist eine stringente Auftrennung schwierig, da jede Aufgabe mehrere Domänen gleichzeitig beansprucht. Dickinson et al. betrachteten 2007 in einer Meta-Analyse 37 Studien, auf der Suche nach den hauptsächlich beeinträchtigten Domänen bei Schizophrenie. Laut dieser Arbeitsgruppe ist Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit (processing speed) die wichtigste beeinträchtigte Domäne. Defizite in diesem Bereich sind vor allem durch Ergebnisse von Zahl-Symbol-Testungen valide abgebildet. Kognitive Testungen, in denen Schnelligkeit gefordert ist, bilden sie jedoch ebenfalls ab. Defizite finden sich bei Schizophrenen und in geringerem Ausmaß bei deren Angehörigen.[15]

Aufmerksamkeit beschreibt eine gerichtete Informationsverarbeitung und stellt damit Grundvoraussetzung für angepasste Handlungen dar.[3] Nur durch Aufmerksamkeit ist Handlungskontrolle möglich, wodurch ein enger Zusammenhang zu den Exekutivfunktionen gegeben ist. Man unterscheidet drei verschiedene Formen der Aufmerksamkeit. Die Alertness (Wachheit) bezeichnet die Aufnahmefähigkeit für Umweltreize. Unterschieden werden dabei zwei Teilgebiete: ein tonischer, permanent unbewusst vorhandener Anteil und ein phasischer, durch Warnsignale getriggerter Anteil.[16] Die Vigilanz beschreibt die ausdauernde Aufmerksamkeit. Die selektive Aufmerksamkeit kann auf verschiedene Dimensionen untersucht werden (z.B. Sinnesmodalität, Selektionszeitpunkt). Im Rahmen solcher Untersuchungen gibt es physiologische Phänomene der Aufmerksamkeitsfokussierung, die bei Schizophrenen z. T. stark beeinträchtigt sind (z.B. Defizite in der räumlich, visuellen Zuwendung, Defizite in der Zuwendung zu wichtigen Stimuli, Detaildiskriminierung).[3,17] Diese Defizite scheinen im Zusammenhang mit einem dopaminergen Defizit zu stehen und sind somit möglicherweise therapeutisch beeinflussbar. Es findet sich im Allgemeinen ein mittleres Aufmerksamkeitsleistungsdefizit, wobei die Alertness unbeeinträchtigt zu sein scheint. Die Vigilanz ist bei schizophrenen Patienten, wie bei ihren Verwandten gering beeinträchtigt. Es zeigt sich jedoch eine verstärkte Schwächung der Vigilanz über den zeitlichen Testdauer (Vigilanzdekrement).[18]

Für das *Gedächtnis* gibt es eine Vielzahl von Modellkonzepten. Gebräuchlich ist die zeitliche Klassifikation (Ultrakurzzeit-, Kurzzeit-, Arbeits- und Langzeitgedächtnis), ebenso wie eine Einteilung nach Art der im Langzeitgedächtnis gespeicherten Information *(Abb.1)*.

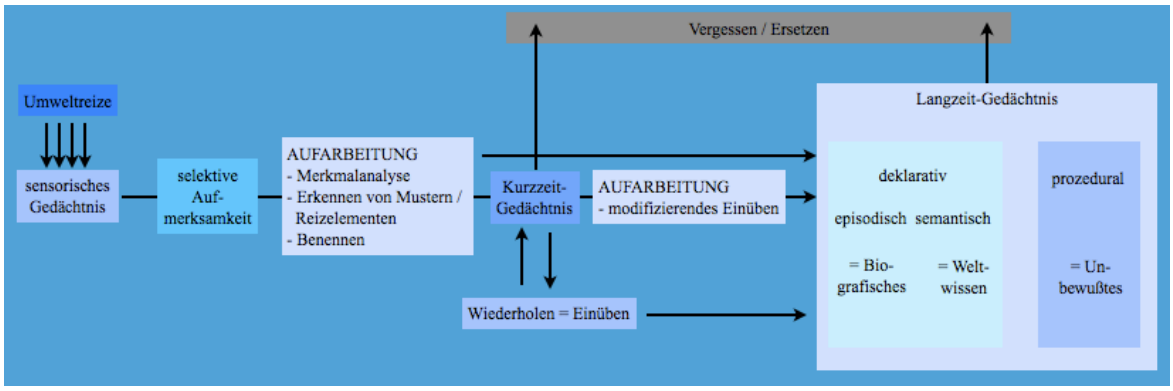


Abb.1 Mehrspeichermodell des Gedächtnisses, modifiziert nach Atkinson/Shiffrin[19]

Unklar ist die Stellung des Kurzzeit- und Arbeitsgedächtnises im Modell. Das heute gebräuchliche Modell nach Baddeley versteht das Kurzzeitgedächtnis als Teil eines komplexen Systems zur Aufarbeitung von Informationen, was insgesamt als Arbeitsgedächtnis bezeichnet wird.[20,21] Der visuell-räumliche Skizzenblock erfasst permanent passiv temporär visuell-räumlich Informationen, während der aktive Teil fokussiertes Handeln in den räumlichen Gegebenheiten ermöglicht. Als Komponente für vorübergehende, verbale Informationsspeicherung führte Baddeley die phonologische Schleife ein, in der nach passiver Aufnahme von verbaler Information ein aktiver Wiederholungsprozess durchlaufen wird und damit die Information zwischengespeichert wird.[22] Der episodische Speicher stellt die Verbindung zum Langzeitgedächtnis her *(Abb.2)*.

Bei Schizophrenie scheint insbesondere das verbale Gedächtnis beeinträchtigt zu sein. Hier liegen die Leistungen der Patienten im Durchschnitt 1,2-1,5 Standardabweichung unter den Normalwerten gesunder Probanden (Effektstärke (ES)1,41).[23] Während das reine Kurzzeitgedächtnis relativ unbeeinträchtigt wirkt, scheinen bestimmte Prozesse in der Informationsaufbereitung explizit gestört zu sein.[24] Insbesondere beim Einkodieren, wie auch beim Abruf von Informationen, werden ineffektiv Such- und Ordnungsstrategien angewandt. Die beschriebenen Defizite findet man auch bei Verwandten von Schizophreniepatienten. Zudem scheinen sie gute Prädiktoren der Entwicklung einer schizophrenen Störung in der Prodromalphase zu sein. Kurz- und

Langzeitgedächtnisleistungen werden heute als Prädiktor für die Prognose der Rehabilitation diskutiert.[25]

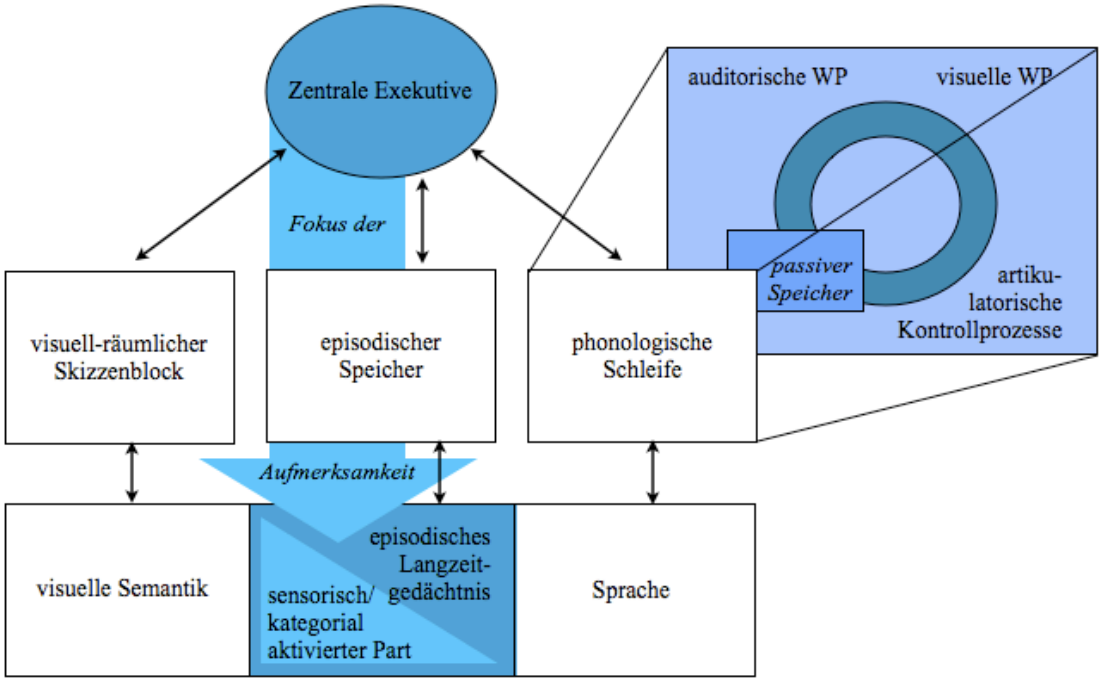


Abb.2 Arbeitsgedächtnismodell; farbig hinterlegt Arbeitsgedächtnismodell nach Cowan, 2005 modifiziert nach Baddeley mit Modell der phonologischen Schleife (WP – Wortpräsentation)[20,22]

Man stellt sich das *Arbeitsgedächtnis* als Funktionseinheit vor, die in engen Kapazitätsgrenzen Informationen verarbeitet.[8] Ob es somit eine einzelne kognitive Domäne bildet ist umstritten. Es speichert Informationen zwischen, um sie handlungsrelevant zu modifizieren und zu verwenden. Defizite im Bereich des Arbeitsgedächtnisses sind die zentrale Problematik bei schizophrenen Patienten, aber auch deren Angehöriger. Therapeutisch ist dieses Defizit bisher kaum beeinflussbar. Die Arbeitsgedächtnisleistung ist einer der wichtigsten Prädiktoren für soziale Rehabilitationsfähigkeit.[26]

Der Begriff der *Exekutivfunktionen* beschreibt alle Fähigkeiten, die zur Planung, Durchführung und Überwachung von Handlungen notwendig sind.[3] Es gibt demzufolge ein enges Zusammenspiel von Exekutivfunktionen, Aufmerksamkeit und Gedächtnis (z.B. Fokussieren der Aufmerksamkeit, Modellieren von Gedächtnisinhalten durch „Überlernen"), so dass insbesondere die gezielte, isolierte Erfassung von Exekutivfunktionen ein Problem der neuropsychologischen Testmethodik darstellt. Modelle zur Funktionsweise der Exekutivfunktionen sind stetigem Wandel unterlegen,

keines der bekannten Modelle liefert aktuell einen ganzheitlichen Erklärungsansatz. Nach Baddeley´s Modell entsprechen die Exekutivfunktionen einer Kontrollinstanz des Arbeitsgedächtnisses *(Abb. 2)*.[26] Ähnliches beschrieb Cowan 2005, wobei in seinem Modell das Arbeitsgedächtnis nur einem aktivierten Teil des Langzeitgedächtnisses entspricht. Die Aktivierung unterliegt dabei ebenfalls den Exekutivfunktionen. Bei Schizophreniekranken sind die Exekutivfunktionen beeinträchtigt.[3,28]

Regelhaft überdauern die kognitiven Defizite akute Exazerbationen und scheinen der Symptomkomplex mit der größten Stabilität im Langzeitverlauf zu sein.[29] Nachweislich finden sich eine Reihe der Defizite in geringerer Schwere auch bei nahen Verwandten schizophrener Patienten, was darauf schließen lässt, dass sie zu einem erheblichen Teil genetisch bedingt sind. Kognitive Leistungsminderungen beeinflussen im Langzeitverlauf die soziale Funktionsfähigkeit eines Patienten entscheidend und befinden sich in der Diskussion, ursächlich das Negativsyndrom zu begründen.[30,31] Somit sind diese Einschränkungen stärkster Prädiktor für die Unfähigkeit das tägliche Leben und dessen Anforderungen bewältigen zu können und gehen mit einer subjektiv reduzierten Lebensqualität einher.[15,25]

1.1.3 Klassifikation

Die Heterogenität des klinischen Bildes facht von jeher die Diskussion um einen einheitlichen Krankheitsbegriff der Schizophrenie an. Die Bemühungen der Kategorisierung zum Zwecke der Übersichtlichkeit und Homogenität in Forschung und Therapie sind so alt wie das Krankheitsbild selbst. Kraepelin, der 1893 die Schizophrenie („Dementia praecox“) erstmals beschrieb, fragte sich: „(ob) die erdrückende Zahl von Fällen, die wir heute in den „großen Topf“ der Dementia praecox einordnen, einem einheitlichen Krankheitsvorgange angehört“.[32] Im Laufe des 20. Jahrhunderts wurden eine Vielzahl von Symptom- und Subtypisierungen vorgeschlagen, von denen sich jedoch keine etablieren konnte. Alle Subtypisierungsversuche scheiterten an Langzeituntersuchungen. In der aktuellen Klassifikation nach ICD-10 finden noch immer von Kraepelin definierte Untergruppen Anwendung, wobei auch diese nicht das Kriterium der zeitlichen Stabilität erfüllen.[33]

Der *paranoide Typus* (F20.0) ist durch vordergründige Wahnvorstellungen und Halluzinationen gekennzeichnet. Es ist der weltweit am häufigsten vertretene Subtyp. Diese Patienten entwickeln im Verlauf der Erkrankung oft Negativsymptome, die bei guter medikamentöser Therapie der produktiven Symptomatik, schließlich das Krankheitsbild dominieren können. Der *hebephrene*

Typus (F20.1) ist durch flachen Affekt, Denkstörungen, verantwortungs- und zielloses Verhalten, Manierismen, läppisches Verhalten oder Klagen gekennzeichnet. Diese Form manifestiert sich in der Regel zwischen dem 15 und 25. Lebensjahr. Meist entwickeln sich frühzeitig Negativsymptome. Die Prognose ist ungünstig. Der *katatone Typus* (F20.2) ist durch eine beeinträchtigte Psychomotorik gekennzeichnet. Die Katatonie kann zwischen Extremen alternieren (Stupor, Erregung, Haltungsstereotypien) und mit einem traumähnlichen Geisteszustand mit szenischen Halluzinationen einhergehen. Dieser Subtyp ist heute in Industrieländern sehr selten, in Ländern der Dritten Welt und Schwellenländern nach wie vor häufig anzutreffen.
Im ICD-10 sind noch 4 weitere, nicht-klassische „Subtypen" charakterisiert (postschizophrene Depression, depressives Residuum, Schizophrenia simplex, sonstige Schizophrenie).[1] Diese Typen werden weitaus seltener diagnostiziert, weswegen hier nicht näher auf sie eingegangen werden soll.

1.1.4 Weitere schizophreniforme Störungen

Neben der Schizophrenie gehören laut ICD-10 noch andere Diagnosen zum schizophrenieformen Kreis: Schizotype Störungen, Anhaltende Wahnhafte Störungen, Akute Vorübergehende Psychotische Störungen, Induzierte wahnhafte Störungen und Schizoaffektive Störungen. Anzunehmen ist, dass mindestens einige dieser Erkrankungen Teil des genetischen Spektrums der Schizophrenie sind.
Die Schizoaffektive Störung ist die zweithäufigste Diagnose aus dem schizophrenen Formenkreis. Hier stehen affektive und psychotische Symptome gleichermaßen im Vordergrund der Erkrankung. Bei diesen episodisch verlaufenden Störungen treten beide Symptomkomplexe gleichzeitig oder rasch nacheinander auf. Unterschieden wird nach affektiver Komponente eine manische, depressive oder gemischte Form. Unklar ist, ob die Schizoaffektiven Erkrankungen Subtypen aus dem affektiven oder schizophrenen Formenkreis darstellen, oder ob sie in einem „psychotischen Kontinuum" zwischen beiden Erkrankungen stehen.[34] Frauen erkranken häufiger als Männer. Das Erstmanifestationsalter liegt zwischen dem der Schizophrenie und der affektiven Erkrankungen um das 30. Lebensjahr. Valide Zahlen zur Inzidenz oder Prävalenz der Erkrankung existieren aufgrund der Schwierigkeiten in der Abgrenzung der Diagnose nicht. Man schätzt, dass 10-25% der Erkrankungen, die als Schizophrenie bzw. Affektive Störung klassifiziert werden, die Kriterien einer Schizoaffektiven Erkrankung erfüllen würden.

1.1.5 Verlauf

Der Krankheitsverlauf ist individuell sehr verschieden. Die Erstmanifestation kann sich schleichend über Jahre entwickeln oder hoch akut einsetzen. ICD-10 unterscheidet sechs Verlaufsformen *(Abb.3)*. Bzgl. der Häufigkeit einzelner Verlaufstypen variieren die Angaben in der Literatur. Die aktuelle Situation ist zudem schlecht einzuschätzen, da sich die nun gängige Therapie mit atypischen Neuroleptika noch nicht in Längsschnittuntersuchungen repräsentativ widerspiegelt.

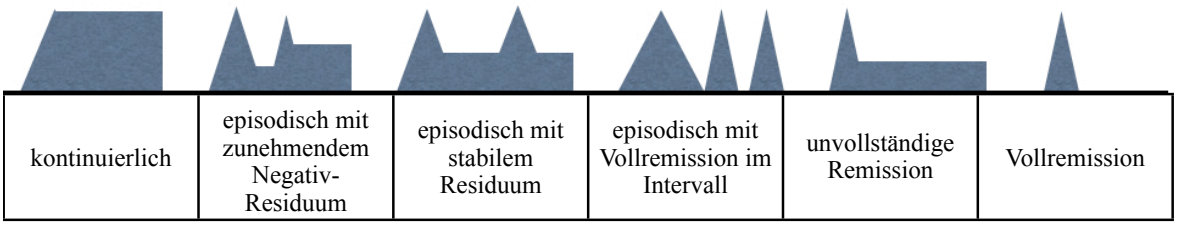


Abb.3 Verlaufsformen der Schizophrenie nach ICD-10[1]

Als negative Prädiktoren für den Krankheitsverlauf gelten das männliche Geschlecht, eine frühe Erstmanifestation, eine lange Zeit unbehandelte Erstepisode, stark ausgeprägte kognitive Defizite und/oder erhebliche Negativsymptomatik. Nach Ausbruch der Erkrankung modulieren vor allem psychische (anhaltender Wahn, psychiatrische Komorbidität) und soziale Stressoren (Familie, Beruf), Copingmechanismen und die Compliance des Patienten den Krankheitsverlauf. Etwa 25% der Patienten erleben eine Vollremission. Etwa 20-25% der Patienten zeigen dagegen einen ungünstigen episodischen Verlauf mit bleibenden Auffälligkeiten im Verhalten. Etwa 10% der Patienten werden pflegebedürftig.[3] Schizophreniepatienten bilden mit 30-40% die größte Gruppe der stationären Einweisungen in psychiatrische Kliniken.[35] Etwa 50% aller Betroffenen haben langfristig Probleme mit sozialer und beruflicher Integration, das Suizidrisiko ist erhöht (etwa 10%). Die somatische Morbidität und Mortalität ist deutlich erhöht, was insbesondere auf die hohe Zahl an Komorbiditäten in Form von Suchterkrankungen, aber auch an kardiovaskulären Erkrankungen und Übergewicht zurückzuführen ist.[36] Schizophrenie ist dementsprechend auch volkswirtschaftlich eine folgenschwere Erkrankung.

1.1.6 Therapie

Die Therapie der Schizophrenie besteht aus den drei Säulen: Psychopharmaka, Psychotherapie / Psychoedukation und Soziotherapie.[37]

Insbesondere in akut psychotischen Phasen ist die medikamentöse Therapie Basis jeglichen weiteren Vorgehens. In diesem Fall ist auch eine stationäre Behandlung häufig unumgänglich. Während produktive Symptome heute im Mittel gut zu beherrschen sind, stellen Negativsymptomatik und kognitive Defizite in vielen Fällen nicht oder nur unzureichend therapierbare Phänomene dar.

Im Krankheitsverlauf spielt Psychotherapie eine entscheidende Rolle. Die verhaltenstherapeutischen Behandlungsansätze sind sehr edukativ geprägt. Zum Beispiel können Übungsprogramme zu kognitiven Störungen, sozialer Wahrnehmung oder Belastungsstrategien absolviert werden Psychoedukation erhöht in vielen Fällen die Compliance der Patienten.[38]

Die Soziotherapie soll den Patienten bei der Bewältigung des Alltags unterstützen bzw. ihn darauf vorbereiten. Dazu bedient man sich der Arbeits- und Beschäftigungstherapie, berufsrehabilitativer Maßnahmen und der Arbeit an Milieufaktoren.[39]

1.1.7 Ätiologie / Pathogenese

Wieso manche Menschen an Schizophrenie erkranken, ist ebenso wenig geklärt, wie die Frage, welche biochemischen Vorgänge zu den Symptomen der Erkrankung führen.

Das Erkrankungsrisiko ist weltweit einheitlich, was für eine erbliche Komponente in der Pathogenese spricht. Zwillings- und Adoptionsstudien stützen diese Annahme. Bei monozygoten Zwillingen beträgt die Konkordanzrate 46%, bei dizygoten Zwillingen 14%. Ein Erkrankter in der Verwandtschaft 1. Grades erhöht das individuelle Risiko auf 10%. Es existiert folglich eine Veranlagung zur Schizophrenie, wobei man von einer polygen-bedingten, komplex-genetischen Erkrankung ausgeht.[37]

Aufgrund der unvollständigen Konkordanz geht man von einem multifaktoriellen Geschehen aus, d.h. von einem Zusammenspiel aus genetischen Determinanten und Umweltfaktoren. Nuechterlein beschrieb 1992 das Vulnerabilitäts-Stress-Modell, wonach eine überschwellige Beeinflussung durch Stressoren bei einem Menschen mit genetisch „günstigen“ Voraussetzungen eine Psychose induzieren kann.[40] Die Stressoren können psychosozialer, toxischer (Cannabis), traumatischer (Geburtskomplikationen) oder möglicherweise auch infektiöser Natur sein (Toxoplasma gondii-, Herpes-Virus-2).[37] Ausgehend davon gibt es weitere Risikofaktoren für die Entwicklung einer Schizophrenie: Geburt während der Wintermonate, alte Eltern, das Aufwachsen in städtischer Umgebung oder ein Migrationshintergrund.[36]

1.1.7.1 Genetik

Die genetische Forschung bedient sich u. a. zweier wichtiger Untersuchungsansätze. *Assoziationsstudien* basieren auf einer pathophysiologischen Hypothese. Im Fall-/ Kontrolldesign werden die Allel-Häufigkeiten einzelner genetischer Marker von funktionell potentiell relevanten Genen verglichen. Findet sich eine signifikant unterschiedliche Verteilung in beiden Gruppen, scheint dieses Gen mit der Erkrankung in Zusammenhang zu stehen und kann als Risikogen beschrieben werden.

Die Anzahl der diskutierten Risikogene für Schizophrenie ist groß. 2008 wurden von Nicole C. Allen in einer Metaanalyse 16 sichere Risikogene für Schizophrenie beschrieben und die SzGene-Database etabliert (*Tab.2*).[41]

Tab.2 sichere Risikogene für Schizophrenie, modifiziert nach Allen NC et al, 2008 [41]

Gen	Name	Ethnien	Lokalisation
APOE	Apolipoprotein E	Kaukasier	19q13.2
COMT	Catechol-O-methyltransferase	Alle	22q11.21
DAO	D-amino-acid oxidase	Alle	12q24
DRD1	Dopamin Rezeptor D1	Alle	5q35.1
DRD2	Dopamin Rezeptor D2	Alle	11q23
DRD4	Dopamin Rezeptor D4	Kaukasier	11p15.5
DTNBP1	Dysbindin	Kaukasier	6p22
GABRB2	GABA - A Rezeptor beta 2	Kaukasier	5q34
GRIN2B	Glutamat Rezeptor, ionotrop, N-methyl D-aspartat 2B	Alle	12p12
HP	Haptoglobin	Alle	16q22.1
IL1B	Interleukin 1 beta	Kaukasier	2q14
MTHFR	Methylenetetrahydrofolate Reduktase (NAD(P)H)	Alle	1q36.3
PLXNA2	Plexin A2	Alle	1q32.2
SLC6A4	Solute Carrier Family 6 (Neurotransmittertransporter Serotonin), member 4	Alle	17q11.2
TP53	Tumorprotein p53	Alle	17p13.1
TPH1	Tryptophan Hydroxylase 1	Alle	11p15.3-p14

In *Kopplungsstudien* werden überwiegend Familien untersucht. Gezielt werden genetische Marker auf potentiell interessanten chromosomalen Regionen verglichen. Diese Art der Untersuchung basiert auf der Annahme, dass DNA-Abschnitte, die auf einem Chromosom nahe beieinander liegen, mit großer Wahrscheinlichkeit gemeinsam vererbt werden. Gibt es eine signifikante Ungleichverteilung chromosomaler Areale zwischen kranken und gesunden Familienmitgliedern, spricht dies für eine Risikoregion um den untersuchten Marker.

Besonderes Interesse gilt dabei den folgenden Kollektiven:

- Obligate Genträger (z.B. Mutter eines schizophrenen Patienten, deren Mutter ebenfalls schizophreniekrank war)
- Zwillinge, die diskordant für Schizophrenie sind
- Multiplex- (mehrere Erkrankte) oder Simplexfamilien (ein Erkrankter)
- Prospektive Hoch-Risiko-Studien (z.B. Kinder schizophrener Eltern)

In den letzten Jahren haben wichtige neue Untersuchungsmethoden Einzug in die genetische Forschung erhalten. In Genom-weiten Assoziationsstudien wurde vor allem das zink finger binding protein 804A (ZNF804A; 2q32.1) als aussichtsreicher Locus etabliert.[42] Eine Metaanalyse von 2009 fand in 32 Genom-weiten Kopplungsanalysen zwei besonders interessante Regionen auf Chromosom 2q und 5q.[43]

1.1.7.2 Neurobiologische Befunde und Hypothesen

Bildgebungsstudien und Post-mortem-Untersuchungen haben gezeigt, dass Hirnvolumina von schizophrenen Patienten etwa 3% kleiner sind als bei gesunden Probanden.[44] Die Seitenventrikel sind leicht vergrößert, der dritte Ventrikel zeigt eine Volumenzunahme um 10-15%. Verluste von grauer Substanz finden sich vor allem in frontotemporalen Regionen. Im Temporallappen sind vor allem Hippocampus, Amygdala, Regio enterorhinalis und Gyrus temporalis superior betroffen.[45] Weiterhin sind Thalamus und Cerebellum verkleinert und es kommt zu einer Volumenverschiebung in den Basalganglien. Diese Veränderungen sind in jedem Stadium der Erkrankung, auch bei Neuroleptika-naiven Patienten nachweisbar.[46,47] Eine neurodegenerative Genese im klassischen Sinne scheint demnach bei Schizophrenie nicht vorzuliegen. Es sind therapeutische Effekte auf die Hirnvolumina beschrieben.[48] Alle Neuroleptika scheinen das Thalamusvolumen zu vergrößern. Auf das Volumen der Basalganglien wirken die verschiedenen Substanzgruppen jedoch gegensätzlich. Eine Therapie mit Typika vergrößert dieses Volumen. Atypika verändern das Basalganglien-Volumen bei Neuroleptika-naiven Patienten nicht. Bei einem Medikationswechsel von typischen zu atypischen Neuroleptika scheinen sie jedoch eine Volumenreduktion der Basalganglien auf das Niveau von gesunden Kontrollen zu induzieren. Einige neuropathologische Untersuchungen konnten Störungen der Zytoarchitektur insbesondere der Regio enterorhinalis nachweisen, was für eine gestörte Neuronenmigration spricht und auf eine Hirnentwicklungsstörung hinweisen könnte.

Bei Schizophrenie kommt es zum Hirnsubstanzverlust, nicht aber zum Neuronenverlust, wie bei klassisch-degenerativen Erkrankungen. Wahrscheinlich handelt es sich um einen Verlust an Neuropil (Synapsen, Axone, Dendriten).[49] Insbesondere im frontotemporalen Bereich konnte

eine verminderte Expression synaptischer Proteine und Komplexine (Steuerungsproteine) nachgewiesen werden.[50,51]

Reif et al. fanden 2006 Hinweise auf eine gestörte Neurogenese.[51] In Teilen des reifen Gehirns werden permanent Neuronen neu gebildet (z.B. im Hippocampus) und damit möglicherweise bestimmte Gedächtnisfunktionen aufrechterhalten. Bei Schizophrenie-Patienten (wie auch bei affektiven Erkrankungen) scheint dieser „Reparatur-Mechanismus" gestört zu sein.[51,52]

1.1.7.3 Neurochemische Hypothesen

Aufgrund des heterogenen klinischen Erscheinungsbildes der Schizophrenie ist nicht davon auszugehen, ein einziges neurochemisches Korrelat identifizieren zu können. Man geht ebenfalls von Multifaktorialität aus. Mit dem Aufkommen der Neuroleptikatherapie galt jahrzehntelang dem Dopaminsystem besondere Aufmerksamkeit. Seit der Einführung der Atypika sind weitere Transmittersysteme in den wissenschaftlichen Fokus gerückt.

Dopaminhypothese: Ein Dopaminüberschuss im mesolimbischen System verursacht psychotisches Erleben. Unklar dabei ist, ob es um einen absoluten Überschuss an Dopamin oder einen relativen Überschuss bei Hypersensibilität dopaminerger Rezeptoren handelt.[37,53] Argumente für die Dopaminhypothese fanden sich bei der Beobachtung pharmakologischer Effekte. Während klassische Neuroleptika über eine Blockade von Dopaminrezeptoren Typ 2 (DRD2) antipsychotisch wirken, ist es

andererseits möglich eine akute psychotische Symptomatik bei schizophrenen Patienten zu induzieren. Ein solcher Versuch gelingt durch die Gabe von Stimulanzien wie Amphitaminen, die die Dopamintransmission steigern.

1991 wurde die klassische Dopaminhypothese dahingehend erweitert, dass eine dopaminerge Hypoaktivität insbesondere in mesokortikalen/frontalen Bereichen in kausalen Zusammenhang mit Negativsymptomatik gebracht wurde.[54,55]

Serotoninhypothese: Eine Minimierung der serotonergen Inhibition des präfrontalen Kortex führt zu einer überschüssigen dopaminergen Reaktion in subkortikalen Strukturen. Die Einnahme von Halluzinogenen wie LSD kann kausal zu diesem Effekt beitragen und verursacht ein Schizophrenie-ähnliches Syndrom mit deutlichen Veränderungen in Wahrnehmungen und Denken. Jedoch empfinden Schizophreniepatienten die LSD-Psychose als ungewohnt und andersartig.[34] Dennoch kann durch Hemmung des Serotonin-Rezeptors eine antipsychotische Wirkung erzielt werden.

Glutamathypothese: Ein Mangel an Glutamat im kortikostriatalen und kortiko-mesolimbischen System sowie eine Abnahme von glutamatergen AMPA- und Kainatrezeptoren im medialen Temporallappen scheint mit Schizophrenie assoziiert zu sein. Unterstützt wird diese These durch die Kenntnis der Positiv- wie auch Negativsymptomatik-auslösenden Wirkung des Halluzinogens PCP (Phencyclidin – nicht-kompetitiver Glutamatantagonist).[41]
Veränderungen im cholinergen und GABAergen System werden ebenfalls als pathophysiologisch relevant diskutiert.[2]

1.1.8 Konzept der Endophänotypen

Ein moderner Ansatz zum Studiendesign in der Psychiatriefoschung liefert das Konzept der Endophänotypen. Psychiatrische Krankheitsbilder sind häufig multifaktorieller, oft unklarer Genese und bilden keine abgrenzbaren Krankheitsentitäten im klassischen Sinne.[56] Um dennoch z.B. der genetischen Komponente einer Erkrankung durch sinnvolles Studiendesign näher zu kommen, etablierten sich Endophänotypen.
Geht man von einer polygenen Erbkomponente der Schizophrenie aus, liegt nahe, sich mit den Effekten der Polymorphismen einzelner Gene zu beschäftigen. Gene wirken sich über Proteinexpression zunächst auf Hirnmorphologie und -funktion aus. Diese Einzeleffekte, die in ihrer Summe bei bestimmten Individuen ein Krankheitsbild auslösen, rückten in jüngster Zeit in den Fokus genetischer Forschung. Diese neuroanatomischen oder neuropsychologischen Auffälligkeiten findet man nicht nur bei Schizophrenie-Patienten, sondern auch bei deren Angehörigen. Dies sind stabile Parameter, die schon lang vor Diagnosestellung festgestellt werden können. Für diese Parameter prägte Irving I. Gottesman den Begriff der „Endophänotypen“.[57]
Gottesmann und Gould definierten Kriterien für diesen Begriff:

- Assoziation des Merkmals mit der Erkrankung
- Erblichkeit des Merkmals
- Weitgehend unabhängig vom Krankheitsstadium
- Endophänotyp und Erkrankung werden in Familien gemeinsam weitergegeben
- Der Phänotyp der Erkrankten tritt bei gesunden Verwandten häufiger auf als bei der Allgemeinbevölkerung [58,59]

Es werden unterschiedliche Endophänotypen bei Schizophrenie diskutiert. Auf dem Gebiet der Neurophysiologie wurden z.B. Aspekte der Okulomotorik (Antisakkaden, Backward Masking etc.) und evozierte Potentiale (p50, p500) untersucht.[3,18] Im Bereich Neuroanatomie/Bildgebung

wurden u. a. regionale Hirnvolumina, D1/D2-Rezeptordichten oder fMRT-Aktivierungsdaten untersucht. Im Bereich der Neuropsychologie liegt der Fokus auf Phänomenen des Gedächtnisses (verbales Lernen, Arbeitsgedächtnis), von Aufmerksamkeit (z.B. Daueraufmerksamkeit, serielle Reaktionszeiten) und Exekutivfunktionen (z.B. Inhibition, Konzeptbildung).

1.2 BLOC1

Im Rahmen der Erforschung des Hermansky-Pudlak-Syndroms (HPS) wurde BLOC1 durch Falcon-Perez et al. 2002 erstbeschrieben.[60] Die Autoren entdeckten, in Fibroblasten aus HPS-Mausmodellen, einen asymmetrischen Proteinkomplex und kalkulierten dessen Masse auf ~200kDa. Es sind über 15 HPS-Mausmodelle beschrieben, deren Phänotyp durch verlängerte Blutungszeiten und Hypopigmentierung in unterschiedlicher Ausprägung gekennzeichnet ist.[61]

Humanes Hermansky-Pudlak-Sydrom (HPS)

HPS ist eine weltweit sporadisch auftretende Erkrankung, die autosomal-rezessiv vererbt wird. Zum klinischen Bild gehören ein okulokutaner Albinismus und eine erhöhte Blutungsneigung aufgrund gestörter Thrombozytenaggregation Komplikationen sind Lungenfibrose und entzündliche Darmerkrankungen.[62] Kognitiv und affektiv sind die Patienten unbeeinträchtigt.

Die Pathophysiologie ist im Detail ungeklärt. Bekannt ist einzig, das es zu einer Ablagerung von Ceroid in Lysosomen, Melanosomen und den Serotoningranula (δ-Granula) der Thrombozyten kommt.[9] Bislang konnten 8 Subtypen (HPS1-8) der Erkrankung, durch Identifikation der zugrunde liegenden Mutationen beschrieben werden.[63]

Als morphologisches Korrelat konnten veränderte Lysosomen sowie defizitäre Lysosomen-verwandte Organellen (lysosom related organelles (LROs)) identifiziert werden, die in hochdifferenzierten Zellen mit „normalen“ Lysosomen koexistieren. Falcon-Perez et al. gingen von einer Beeinträchtigung der Biosynthese dieser Organellen im HPS-Modell aus und benannten den neu entdeckten Proteinkomplex „Biogenesis of Lysosome-related Organelles Complex 1“ (BLOC1).[60]

Die BLOC1-Untereinheiten *(Tab.3)* wurden überwiegend mittels klassischer Kopplungsanalyse von HPS-Mausmodellen entdeckt und mit Ausnahme von Dysbindin und BLOC1S1 - 3 nach den jeweiligen Tierstämmen benannt.[64] Dysbindin wurde auf der Suche nach Bindungspartnern von

α-(DTNA) und β-Dystrobrevin (DTNB) bei Forschungen zur Pathophysiologie der Muskeldystrophie Typ Duchenne entdeckt und 2003 als BLOC1-Untereinheit beschrieben.[60,65]

Tab. 3 BLOC1-Untereinheiten modifiziert nach Dell`Angelica, 2004 [66]

Protein	Gen	Locus
Dysbindin	DTNBP1, SDY, HPS7	6p22.3
Snapin	SNAPIN, SNAPAP	1q22
Muted	MU, MUTED	6p24.3
Pallidin	PLDN, PA, PALLID	15q15
Cappuccino	CNO	4p16.1
Bloc1s1	BLOC1S1, GCN5L1	12q13-q14
Bloc1s2	BLOC1S2	Chr.10
Bloc1s3	BLOC1S3, RP, HPS8	19q13

1.2.1 Struktur

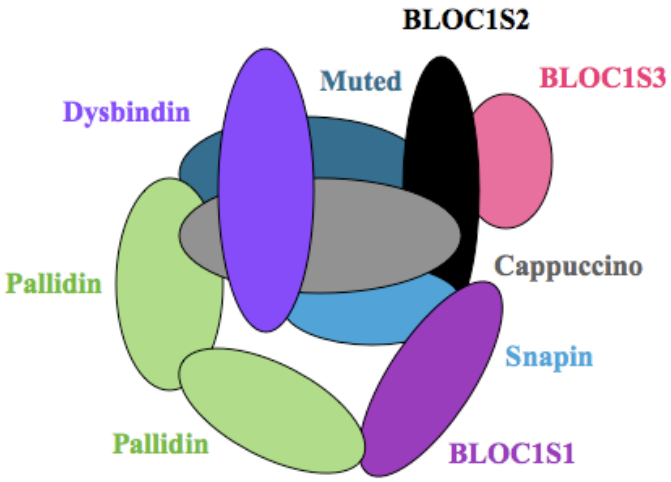


Abb. 4 BLOC1 – Struktur schematische Darstellung nach Li, 2003 und Starcevic, 2004 [61,67]

BLOC1 kommt ubiquitär im Zytosol gelöst, aber auch membranassoziiert (meist an frühen Endosomen) vor. Mit Hilfe von Yeast-2-Hybrid-Analysen (Y2H) konnten 17 binäre Interaktionen (Eigenassoziation ausgeschlossen) innerhalb des Komplexes dargestellt werden, wobei einige bi- und andere unidirektional sind.[67]

Alle Untereinheiten außer BLOC1S3 scheinen Coiled-Coil-Regionen zu beinhalten, was stabile Bindungen begünstigt.[68] Es sind eine Vielzahl an Assoziationen der Untereinheiten zu Strukturen außerhalb von BLOC1 beschrieben (z.B. SNARE – Proteine, Kinasen, Stachelsaum-Bläschen,

Aktinfilamente, Fusionsproteine, Rezeptoren der Signalregulierungsmoleküle).[69] Hier spielen vor allem Dysbindin, Pallidin und Snapin als Anknüpfungspunkte eine Rolle.

1.2.2 Funktion

Mutationen in fünf der acht beschriebenen BLOC1-Untereinheiten verursachen einen HPS-Subtypen. Neben BLOC1 existieren die Komplexe BLOC2 und -3, deren Untereinheiten mutiert ebenfalls HPS-Subtypen auslösen. Die drei BLOCs scheinen sich in einem gemeinsamen funktionellen System zu befinden.[68]

Alle bei HPS beeinträchtigten Zellen beinhalten defizitäre Lysosomen-verwandte Organellen (LROs). BLOC1 scheint eine entscheidende Rolle in der Synthese der LROs zu spielen bzw. anderweitig einen Beitrag zu deren Funktionsweise zu leisten. Um die Funktion von BLOC1 näher zu charakterisieren, wurden von Setty et al. 2007 BLOC1-defiziente Melanozyten untersucht.[70] Melanozyten synthetisieren und speichern Melanin in Melanosomen. Tyrosinase-related protein 1 (Tryp1) ist ein melanosomales Protein, das im Zusammenspiel mit der Tyrosinase wichtiger Bestandteil von funktionsfähigen Melanosomen ist. Tryp1 wird im Endosomalen Retikulum synthetisiert, durchläuft das Trans-Golgi-Netzwerk, um schließlich vom endosomalen System zum Melanosomen transportiert zu werden.[71] BLOC1 scheint einen Beitrag zum Tryp1-Transport von frühen Endosomen zu Melanosomen zu leisten. In den BLOC-1-defizienten Zellen ließ sich eine Akkumulation von Tryp1 in frühen Endosomen und an der Zelloberfläche detektieren. In den Melanosomen war kein Tryp1 nachweisbar. Die untersuchten Zellen waren sehr schlecht pigmentiert. In BLOC2-defizienten Zellen zeigte sich ein ähnliches Bild, wobei sich die Tryp1-Akkumulation hier im Bereich der Plasmamembran und in endosomalen Zwischenstufen zeigte. BLOC1 und –2 scheinen in einem Transportweg zu vermitteln und in Reihe zu funktionieren, BLOC2 downstream von BLOC1 *(Abb.4)*.

Vermutet wird, dass BLOC1 Tryp1 bei der Ablösung von einem frühen Endosom unterstützt und es in Richtung endosomale Zwischenstufe leitet. BLOC2 unterstützt die Ablösung von der Zwischenstufe und leitet dann in Richtung des Melanosoms. Fehlt ein funktionsfähiger BLOC-1, akkumuliert Tryp1 im frühen Endosomen, da die Ausschüttung in Richtung Melanosom nicht erleichtert wird. Es kommt zu einer ungerichteten Ausschüttung, die in einem vergeblichen Kreislauf aus Transport an die Zelloberfläche, Endozytose und Recycling von Tryp1 mündet.[70]

Die beschriebene Funktion von BLOC1 ist als Modell für einen endosomal-lysosomalen Transportweg zu verstehen, das Melanosom als Modell eines LROs. Die Assoziationen von Pallidin und Snapin zu SNARE-Molekülen (SNAP25 und synapsin I) sowie die Interaktion

zwischen BLOC1 und AP3 in Clathrin Coated Vesicles (Teil der Liganden-gesteuerten Endozytose) unterstützt diese Annahme.[72,73]

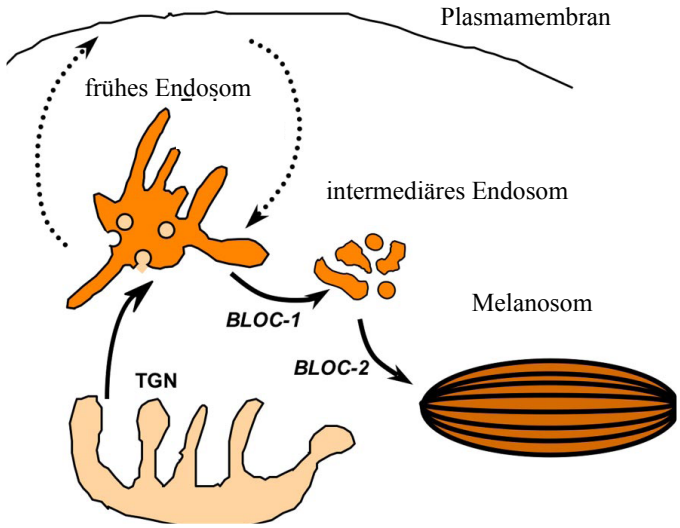


Abb.4 Modell der BLOC1- und BLOC2-Funktion im Tyrp1-Transport. Pfeile stehen für vesikulären oder tubulären Transport; gepunktete Linien stellen Transportwege in BLOC1-defizitären Zellen dar – modifiziert nach Setty, 2007 [70]

1.2.3 BLOC1 und Schizophrenie

Der Zusammenhang der Untereinheiten BLOC1S1 - 3, Pallidin, Cappuccino, Snapin und Muted mit dem Erkrankungsrisiko der Schizophrenie ist in einer veröffentlichten Assoziationsstudie untersucht worden, worin einzig BLOC1S3 bzgl. eines SNPs eine positive Assoziation zur Schizophrenie aufwies.[63] Jedoch wurden 2005 auf dem XIII World Congress on Psychiatric Genetics von der Arbeitsgruppe um R.E. Straub Daten vorgestellt, die eine Assoziation von Muted zur Diagnose Schizophrenie zeigten. Von den 17 Muted-SNPS zeigten fünf SNPs Risikopolymorphismen, jedoch wurden diese Daten nie schriftlich veröffentlicht.

Die Annahme, dass BLOC1 eine Rolle in der Pathophysiologie der Schizophrenie spielt, basiert auf Erkenntnissen zur Untereinheit Dysbindin. Dysbindin-Polymorphismen wurden seit 2002 in etlichen Fall-/Kontroll- und Familienstudien auf eine Assoziation zur Schizophrenie untersucht. 2008 wurden die Ergebnisse dieser Studien in einer Metaanalyse verglichen.[41] Die signifikante Assoziation eines SNPs (rs1011313) mit einem erhöhten Schizophrenierisiko konnte der Prüfung in diesem Kollektiv (2696 Patienten gegen 2849 Kontrollen) standhalten, womit Dysbindin als nahezu sicheres Risikogen der Schizophrenie einzustufen ist.

Bei Patienten mit Schizophrenie findet sich in verschiedenen Teilen des Gehirns (präfrontaler Cortex, Mittelhirn und Hippocampus) ein reduzierter Dysbindingehalt.[74] Talbot et al. wiesen in zwei getrennten Patientenkollektiven, unabhängig vom Tragen eines Dysbindin-Risiko-Allels,

einen signifikanten Abfall insbesondere des präsynaptischem Dysbindins nach, wohingegen der DPC (Dystrophin-Associated Protein Complex) mit DTNA und DTNB postsynaptisch lokalisiert sind.[74] Diese Ergebnisse unterstützen die Hypothese, dass Dysbindin als Komponente von BLOC1 eine Rolle in der Pathophysiologie der Schizophrenie spielt.

Ebenfalls wird der Einfluss von BLOC1 durch eine Hemmung der glutamatergen Neurotransmission diskutiert.[74] Eine Reduktion von Dysbindin zeigt sich mit einer Abnahme von präsynaptischen Elementen wie SNAP25 und Synapsin-1 assoziiert, was eine verminderte Freisetzung von Glutamat bewirkt.[75] Die BLOC1 Untereinheit Snapin interagiert mit diesen beiden präsynaptischen Proteinen. Das heißt, dass dieser bei einer Dysbindinreduktion beobachtete Effekt plausibel auf die Funktion von BLOC1 zurückgeführt werden könnte. Eine verminderte Glutamatfreisetzung wäre mit der Glutamathypothese zur Pathogenese der Schizophrenie kompatibel.

Die Dopaminhypothese kann ebenfalls mit Dysbindin in Verbindung gebracht werden. Iizuka et al. wiesen 2007 einen Zusammenhang zwischen Dysbindin und der Konzentration von Dopaminrezeptoren an der Zelloberfläche nach.[76] Untersuchungsmaterial waren humane Dysbindin-defiziente Zellen und Rattenneurone mit denselben Eigenschaften. Der reduzierte Dysbindingehalt ging mit einem signifikanten Anstieg der Dopaminrezeptoren Typ2 (DRD2) an der Zelloberfläche einher, wobei Typ1 (DRD1) unbeeinflusst blieb. Die durch Dopamingabe induzierte physiologische Downregulation der DRD2 war in den defizienten Zellen vollständig blockiert *(Abb.5)*. Mit dem gleichen Zellmaterial wurde auch die intrazelluläre Signaltransduktion untersucht. Die Ebene der second-messenger scheint durch Dysbindin ebenso beeinflusst zu sein. Es kommt in der Gi-Protein (inhibitorisches G-Protein)-vermittelten Signalkaskade zu einer weiteren Verstärkung des Effektes der DRD2-Überstimulation.

Unter Haloperidolgabe (typisches Neuroleptikum - DRD2-Antagonist) normalisiert sich die Funktion der sekundären Signalkaskade in Dysbindin-defizitären Zellen, wohingegen Haloperidol die Kontrollzellen nicht beeinträchtigt.[76] Diese Ergebnisse ließen sich mit Muted-defizienten Zellen reproduzieren. Dysbindin scheint demnach als BLOC1-Komponente die Dopamin-Neurotransmission zu beeinflussen.

Zusammenfassend kann BLOC1 als ein für die Schizophrenieforschung interessanter Proteinkomplex beschrieben werden. Da diese Annahme zum größten Teil auf Untersuchungen zur Untereinheit Dysbindin basiert, gilt es in Zukunft, eine Korrelation zwischen den bei Dysbindinreduktion erfassten Phänomenen und Mutationen in weiteren Untereinheiten von BLOC1 herzustellen. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit dem Gen BLOC1S3, welches für eine solche Untereinheit kodiert.

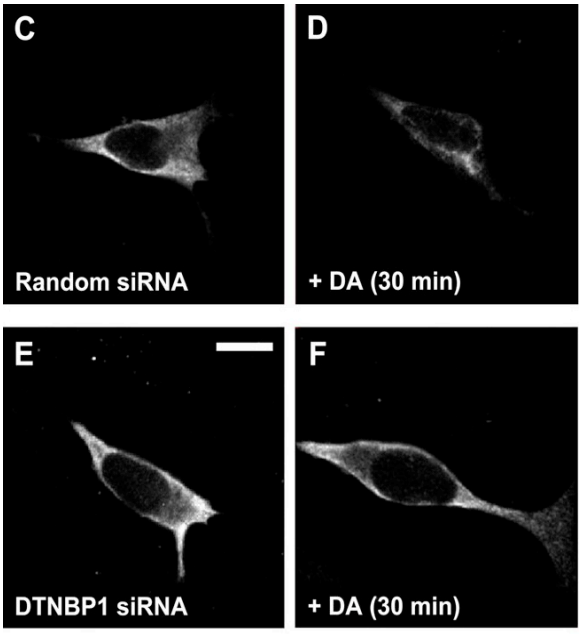


Abb.5 Effekte der Dopaminstimulation (+DA) auf Oberflächenexpression von DRD2 in Dopamin-defizienten humanen Zellen (DTNBP1siRNA). ***E, F*** im Vergleich zu Kontrollen (Random siRNA) ***C***, ***D*** . Scale bar, 10 µm. Konfokalmikroskopie - modifiziert nach Ilzuka, 2007 [62,76]

1.2.4 BLOC1S3

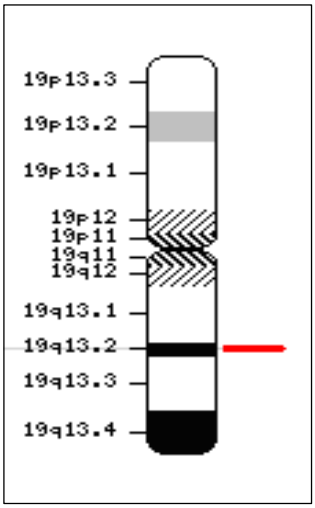


Abb.6 Chromosom 19, Position von BLOC1S3 rot markiert, modifiziert nach NCBI –Map Viewer [78]

BLOC1S3 (Biogenese of Lysosom-related Organelles Complex 1 Subunite 3) wurde erstmals von Starcevic und Dell´Angelica 2004 im Rahmen der Forschung zum Hermansky-Pudlak-Syndrom (HPS, *siehe Exkurs*) beschrieben.[67] BLOC1S3 liegt auf dem langen Arm des Chromosoms 19 (19q13.32) lokalisiert und umfasst 2599 Basenpaare. BLOC1S3 beinhaltet 2 Exons und kodiert für ein Protein von 202 Aminosäuren Länge und einer Masse von 21256

Dalton.[77] Es funktioniert im Verband mit 7 anderen Untereinheiten im Komplex zur Biogenese von Lysosomen-verwandten Organellen (BLOC1).

BLOC1S3 wurde im Rahmen neuropsychiatrischer Forschung bislang in zwei Studien untersucht. Ein Zusammenhang zwischen BLOC1S3 und Schizophrenie wurde, soweit bekannt, bisher in nur einer Studie geprüft. Morris et al. konnten 2008 für den SNP rs12460985 (Single Nucleotide Polymorphism) eine signifikante Assoziation zur Schizophrenie nachweisen.[63] Im Rahmen einer dreistufigen genomweiten Assoziationsstudie (n=35 000) wurde 2010 für den SNP rs597668 nahe BLOC1S3 ein Risikopolymorphismus für Morbus Alzheimer identifiziert.[79]

II FRAGESTELLUNG

Die Entwicklung einer Schizophrenie basiert zu 80 % auf erblichen Faktoren.[80] Man geht davon aus, dass es viele einzelne variable Regionen im Genom gibt, die in bestimmten Varianten je einen Beitrag zur Pathophysiologie der Schizophrenie leisten. Wenn eine bestimmte Kombination aus Einzeleffekten schließlich auf „passende" Umweltfaktoren trifft, kommt es zum Ausbruch der Erkrankung. Aber was genau definiert „die Erkrankung"? Auch 100 Jahre nach der Erstbeschreibung ist die Schizophrenie keine eindeutige Krankheitsentität. Jegliche Klassifikation ist umstritten. Um dennoch in genetischen Studien der Pathophysiologie dieser häufigen Erkrankung näher zu kommen, wurde das Konzept der Endophänotypen entwickelt. Hier werden klinische, aber auch neurophysiologische oder bildgebende Parameter auf ihre Assoziation mit genetischen Faktoren untersucht unter der Vorstellung, hiermit im Vergleich zur ICD-10-Diagnose Schizophrenie einen eindeutigeren Zusammenhang zu identifizieren.

Eines der etablierten Risikogene für Schizophrenie ist Dysbindin. Die Funktion des Proteins im Gehirn ist bislang nicht abschließend geklärt. Dysbindin ist u. a. Teil von BLOC1, einem Proteinkomplex mit 9 Untereinheiten.[81] Interessant erschien die Frage, ob Dysbindin über eine veränderte Funktion von BLOC1 zur Pathophysiologie der Schizophrenie beiträgt und ob somit die Variation anderer Untereinheiten des Komplexes ähnliche Effekte zur Folge hat. In der vorliegenden Arbeit wurde die Untereinheit BLOC1S3 untersucht. Zu BLOC1S3-Polymorphismen existieren im Vergleich zu den anderen Untereinheiten nur wenige Studien. Einzig Morris et al. (2008) untersuchten einen Zusammenhang zu Schizophrenie und fanden für den SNP rs12460985 (in der 3´ Region von BLOC1S3 gelegen) eine Assoziation zu der Diagnose.[63] Im Rahmen der vorliegenden Studie sollte der erste Versuch unternommen werden dieses Ergebnis zu replizieren.

In einem zweiten Schritt sollte eine Assoziation von BLOC1S3-Polymorphismen zur Ausprägung bestimmter Symptomkomplexe geprüft werden. Negativsymptomatik wie auch kognitive Defizite stellen wichtige, prognoserelevante Syndrome dar, die noch immer therapeutisch schlecht zugänglich sind. Vor allem kognitive Defizite scheinen im Langzeitverlauf sehr stabil zu sein. In abgeschwächter Form finden sie sich auch bei Angehörigen schizophrener Patienten. Angelehnt an das Konzept der Endophänotypen sollte geprüft werden, ob sich hier diagnoseübergreifende Assoziationen finden lassen und ob es eine signifikante Coexistenz der Ausprägung beider Symptomkomplexe im untersuchten Kollektiv

gibt. In einem weiteren Schritt war von Interesse, ob es einzelne kognitive Domänen gibt, die bei ausgeprägter Negativsymptomatik überdurchschnittlich stark affiziert sind. Dem Problem der „uneindeutigen“ Krankheitsentität sollte hierbei begegnet werden, indem Patienten mit den Diagnosen Schizophrenie und Schizoaffektive Störung eingeschlossen wurden. Damit wurde der Hypothese Rechnung getragen, dass sich diese beiden Diagnosen in einem theoretischen Symptomkontinuum bewegen und Ausdruck ähnlicher oder gleicher neurobiologischer Veränderungen sind.

Folgende Hypothesen wurden untersucht:

1) Die Ausprägung kognitiver Defizite steht in Zusammenhang mit der Ausprägung von Negativsymptomatik bei Schizophreniepatienten.
2) BLOC1S3 ist Risikogen für Schizophrenie.
3) BLOC1S3-Polymorphismen stehen in Zusammenhang mit Negativsymptomatik.
4) BLOC1S3-Polymorphismen stehen in Zusammenhang mit kognitiven Defiziten.

Im Rahmen der Evaluierung der einzelnen Hypothesen wurden jeweils demografische Faktoren als Einflussfaktoren auf Kognition und Psychopathologie hinsichtlich ihrer Relevanz untersucht.

III Methodik

3.1 Klinischer Teil

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Charité Berlin bewilligt.

3.1.1 Patientenkollektiv

Das Patientenkollektiv umfasste 88 Probanden kaukasischer Herkunft, wovon 77 in der Institutsambulanz der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie Charité Mitte in Behandlung waren. 10 Patienten wurden aus den Sprechstunden niedergelassener Psychiater in Berlin rekrutiert.

- Einschlusskriterien
  - Alter: 18-70 Jahre
  - Diagnose nach ICD 10: F20 oder F25 (Schizophrenie oder Schizoaffektive Störung)
  - Stabilität der Erkrankung seit mindestens 6 Monaten (keine signifikanten Schwankungen der Symptomatik)
  - In regelmäßiger ambulanter psychiatrischer Behandlung
  - Kaukasische Herkunft

- Ausschlusskriterien
  - Diagnose einer hirnorganischen Erkrankung oder klinisch relevanter neurologischer Störungen
  - Aktueller Drogenmissbrauch, Suchterkrankungen

Nachträglich mussten zwei Probanden ausgeschossen werden, da sich ihre Erkrankung im Verlauf der Datenerhebung als instabil herausstellte.

3.1.2 Kontrollkollektiv

Das Kontrollkollektiv bestand aus 77 gesunden Versuchspersonen kaukasischer Herkunft. Die Rekrutierung erfolgte im Rahmen einer Bildgebungsstudie der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie Campus Charité Mitte. Geschlecht und Alter der gesunden Probanden waren bekannt.

3.1.3 Ablauf der klinischen Studie

Die Patientenrekrutierung erfolgte zum Großteil in der Institutsambulanz der Psychiatrie Charité Mitte. Im Rahmen ihrer regulären ambulanten Termine wurden die Probanden angesprochen. Die Vorstellung der Studie bei einem Treffen des Vereins für Psychiatrie und seelische Gesundheit e.V. führte dazu, dass niedergelassene Psychiater einige ihrer Patienten für die Untersuchung gewinnen konnten. Diese Probanden wurden dann telefonisch in die Klinik für Psychiatrie in Mitte eingeladen. Zunächst erhielten die Patienten ein Informationsblatt zu Hintergrund und Durchführung der Studie. Nachdem etwaige Fragen besprochen und der terminliche Ablauf geklärt war, erklärten die Probanden schriftlich ihr Einverständnis.
Die Studienteilnahme umfasste zwei Termine an zwei unterschiedlichen Tagen von je etwa 90-minütiger Dauer. Nach Abschluss der Datenerhebung wurde jedem Probanden Blut abgenommen. Die Teilnahme wurde mit 20 Euro entschädigt.

Erster Termin: Zunächst wurden psychometrischen Daten der Versuchsperson erhoben. Hierfür kam ein in der Klinik durch Prof. Gallinat etabliertes Universalrating zur Anwendung. Dabei handelt es sich um einen umfangreichen Fragebogen mit dessen Hilfe der Interviewer anamnestische Daten erfassen und beurteilen kann. Erhoben wurden damit: allgemeine Angaben (Name, Vorname, Geburtsdatum, Geburtsort, genetische Herkunft der Eltern, Geschwisterzahl), Familienanamnese (Anzahl schizophren /schizoaffektiv Erkrankter bzw. andere psychiatrisch Erkrankte in der Familie), Bildungsanamnese (Schul-, Berufsbildung, aktuelle finanzielle Bezüge) und Krankheitsanamnese (Erstmanifestationsalter und -symptome, stationäre Aufenthalte, Therapie, Suizidalität, Drogenkonsum). Zur Einschätzung der Prädestinierung der Patienten folgten Fragen nach Risikofaktoren für die Entstehung psychotischer Symptome (Alter der Eltern bei Geburt des Probanden, pränatale Komplikationen, neurologische Erkrankungen, cerebrale Traumata). Anschließend wurde im halbstrukturierten Interview mit einem erfahrenen Psychiater (Prof. I. Puls) eine Einschätzung der Symptomatik der Probanden unternommen. Genutzt wurden hierfür etablierte psychometrische Messinstrumente (Positive and Negative Syndrom Scale (PANSS), Scale of the Assessment of Negative Symptoms (SANS), Scale of the Assessment of Positive Symptoms (SAPS), Clinical Global Impression (CGI), Global Assessment of Functioning (GAF). Zum Abschluss des ersten Termins wurden zwei kognitive Testungen am Computer absolviert: der Continous Performance Test - Identical Pairs (CPT-IP) sowie der Wisconsin Card Sorting Test (WCST). Die Probanden erhielten zwei Fragebögen: das Beck-Depressions-Inventar (BDI) und das Eppendorfer-Schizophrenie-Inventar (ESI). Sie wurden aufgefordert, diese zu Hause zu bearbeiten und am nächsten Termin abzugeben.

Zweiter Termin: Die Patienten absolvierten eine umfangreiche neuropsychologische Testbatterie, bestehend aus zehn Einzeltests in Papierform (siehe 3.1.5). Anschließend wurden im halbstrukturierten Interview die Ratings Hamilton Depression Scale (HAMD), Quality of Life Scale (QLS) und Negative Symptoms Assessment (NSA-16) durchgeführt. Die beim ersten Termin ausgegebenen Fragebögen wurden abgegeben. Abschließend wurden jedem Patienten drei EDTA-Röhrchen venöses Blut abgenommen, kodiert und bei –20 °C gelagert. Jedem Probanden wurde schließlich die Aufwandsentschädigung von 20 Euro ausgehändigt.

3.1.4 Psychometrische Messinstrumente

Psychometrische Messinstrumente dienen der Quantifizierung von Psychopathologie.

3.1.4.1 Skalen der allgemeinen Psychopathologie

- Clinical Global Impression – Severity of Illness (CGI-S - Guy, 1976)[82]

Der CGI kommt häufig zur Beurteilung der globalen klinischen Funktionsfähigkeit von Probanden im Rahmen von Medikamenten-Studien zum Einsatz. Es existieren drei Subskalen des CGI (Severity of Illness, Global Improvement, Efficacy Index). Hier wurde nur die erste Subskala benutzt. Ein mit dem Krankheitsbild erfahrener Psychiater beschreibt hiermit 1-2 min nach einem Patientengespräch seinen allgemeinen klinischen Eindruck. Die Beurteilungsskala ist siebenfach abgestuft von 1=nicht krank bis 7= extrem schwer krank.

- Global Assessment Functioning (GAF – Weinheim, 1989)[83]

Die GAF- Skala ist Teil der DSM IV - Klassifikation (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders). Als Achse 5 spiegelt sie das psychische, soziale und berufliche Funktionsniveau eines Menschen wieder. Einflüsse durch Umfeld oder körperliche Gebrechen werden nicht berücksichtigt. Die Funktionsfähigkeit wird mit Hilfe eines theoretischem Kontinuums zwischen psychischer Gesundheit (100 Punkte) und Krankheit (0 Punkte) eingeschätzt. Ein Punktwert kleiner 70 steht dabei für leichte Beeinträchtigung, weniger als 50 Punkte kennzeichnen eine ernsthafte Beeinträchtigung. Bei einem Punktwert kleiner 20 muss von Selbst- und Fremdgefährdung ausgegangen werden.

3.1.4.2 Skalen der speziellen Psychopathologie bei Schizophrenie

- Quality of Life Scale (QLS - Heinrichs, 1984)[84]

Die Skala dient der Quantifizierung der Lebensqualitätseinschränkung bei Schizophrenie durch Negativsymptome. Im halbstrukturierten Interview werden, auf die vorangegangenen 4 Wochen bezogen, 21 Items beurteilt (z.B. Einbindung in ein soziales Netzwerk, Funktionsfähigkeit in der beruflichen Rolle, vertraute Beziehungen). Jedes Item wird auf einer Punkteskala von 0 – 6 bewertet, wobei 5 und 6 Ausdruck einer „normalen", unbeeinträchtigten Lebensqualität sind. 0 und 1 drücken eine sehr starke Beeinträchtigung aus. Zum Gesamtscore werden die Einzelwertungen addiert.

Im Rahmen eines halbstrukturierten Interviews wurden die verschiedenen Symptomausprägungen innerhalb der vorangegangenen 7 Tage evaluiert.

- Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS - Kay, 1987)[85]

Der Interviewer erfragt 30 schizophrenietypische Symptome dreier Skalen: Positiv-, Negativskala und der psychopathologischen Globalskala. Jedes Item kann von einem Punkt (nicht vorhanden) bis 7 Punkten (stark ausgeprägt) bewertet werden, so dass man bei Positiv- und Negativskala je 7-49 Punkte, bei der Globalskala 16 bis 112 Punkte vergeben kann. Addiert man diese Teilergebnisse, erhält man den PANSS Gesamtscore. Mit einer zweiten Größe definiert man die Dominanz eines Symptomkomplexes. Der Positiv-Negativscore ergibt sich aus Subtraktion und beschreibt einen zweiseitigen Index von –42 bis +42 Punkten. Nach diesem Kombinationsscore lassen sich Schizophrenie-Subtypen unterscheiden. Nach dem Subtypen-Modell nach Singh wurden Probanden oberhalb der 75. Perzentile (>3 Punkten) als Positiv-Subtyp und Probanden unter der 25. Perzentile (<-8 Punkten) als Negativ-Subtyp deklariert. [86]

- Scale of the Assessment of Negative Symptoms (SANS - Andreasen, 1983)[8]

Diese Skala soll die Vielfältigkeit des negativen Symptomkomplexes erfassen. Der SANS beschreibt 5 Gruppen negativer Symptome: Affektverflachung (7 Items), Alogie – Verarmung von Sprache und Denken (5 Items), Apathie – Antriebsmangel (4 Items), Anhedonie – Unfähigkeit Freude zu empfinden (5 Items) und Aufmerksamkeit (3 Items). Jedes Item wird durch eine Punktzahl zwischen 0 (nicht vorhanden) und 5 (stark ausgeprägt) charakterisiert. Durch Addition wird ein Gesamtscore errechnet.

- Negative Symptom Assessment (NSA-16 – Axelrod BN, Goldman RS, Alphs LD, 1993)[87]

16 Items führen im Rahmen dieses Ratings zu einer multidimensionalen Erfassung der Ausprägung von Negativsymptomatik. Dem Interviewer steht für jedes Item eine Skala von 1 (keine Ausprägung) bis 7 (extreme Ausprägung) zur Verfügung. Wenn ein Item nicht messbar ist, kann eine 9 vergeben werden. Diese Möglichkeit wurde hier für das Item „Affekt: Zeigen auf Aufforderung“ genutzt. Als Gesamtscore wurde der Mittelwert aller Items (zwischen 1 und 6) gewertet.

- Eppendorfer Schizophrenie Inventar (ESI – Mass, 2000)[88]

Das Eppendorfer Schizophrenie Inventar ist ein Fragebogen der 40 Items umfasst. Jedes Item kann auf einer 4stufigen Antwortskala von 0 („stimmt gar nicht“) bis 3 Punkten („stimmt genau“) bewertet werden. Zur Auswertung wurden 5 faktorenanalytisch fundierte Skalen genutzt: Aufmerksamkeit und Sprachbeeinträchtigung (AS), Akustische Unsicherheit (AU), Beziehungsideen (IR), Wahrnehmungsabweichung (DP) und Offenheit (FR). In dieser Arbeit wurde nur die Skala Aufmerksamkeit und Sprachbeeinträchtigung (AS) genutzt.

3.1.4.3 Skalen für Depressivität

- Hamilton Depression Scale (HAMD - Hamilton, 1960)[89,90]

Die Hamilton-Skala ist eine weit verbreitete Fremdbeurteilungsskala zur Erfassung des Schweregrades einer diagnostizierten Depression. 17 Items werden beurteilt (8 Items 3-stufig, 9 Items 5-stufig). Die Items werden nicht direkt abgefragt, vielmehr werden die Informationen während eines 30minütigen Gespräches vom Interviewer gesammelt. Richtwerte:

<10 Punkte – leichte Depression, >20 Punkte - mittelschwere Depression, >30 Punkte - schwere Depression.

- Beck-Depressions-Inventar (BDI - Beck, 1961)[91]

Der BDI ist ein Fragebogen zur Erfassung der Schwere depressiver Symptomatik. 21 Items sollen bewertet werden. Je vier in der Intensität abgeschwächten Aussagen stehen zur Wahl. Dementsprechend erhält der Proband je Item 0-3 Punkte, die zu einem Summengesamtscore addiert werden.

Richtwerte: < 9 Punkte - keine Depression,
10 bis 18 Punkte - milde Depression,
19 bis 29 Punkte - mittelschwere Depression,
> 30 Punkte - schwere Depression .

3.1.5 Kognitive Testungen

Die Probanden des Patientenkollektivs absolvierten eine Batterie aus 13 kognitiven Leistungstests. Zu Beginn der Studie wurden 10 Tests absolviert. Im Laufe der Rekrutierungszeit wurde die Batterie ergänzt, so dass für 30 der Probanden die Ergebnisse der gesamten Batterie vorlagen. In der Auswertung wurden ausschließlich sieben international etablierte Tests berücksichtigt, womit die bei Schizophrenie als vulnerabel geltenden Domänen Aufmerksamkeit, Exekutivfunktionen, Arbeitsgedächtnis und verbales Gedächtnis abgebildet wurden *(Abb.7)*.

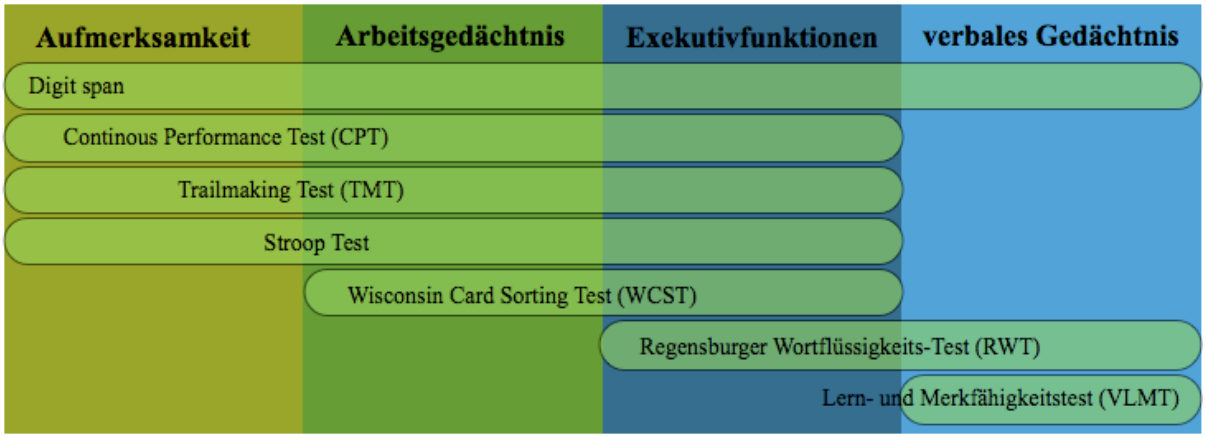


Abb. 7 Kognitive Leistungstests im Fokus mit den jeweilig hauptsächlich erfassten Testdomänen nach Kircher 2008 [3]

- STROOP-Test (Farb-Wort-Interferenz-Test – Stroop, 1935)[92]

Der Stroop-Test ist zweigeteilt. Im Teil 1 soll eine A4-Seite mit den in schwarz gedruckten Worten: „rot“, „blau“, „gelb“, „grün“ so schnell wie möglich Zeile für Zeile vorgelesen werden. Im zweiten Teil erhält der Proband ein weiteres Blatt, auf dem ebenfalls die vier Farbworte gedruckt sind, diesmal jedoch bunt – jeweils in einer Farbe, die abweichend von der Bedeutung des Wortes ist. Diesmal soll der Proband Zeile für Zeile die Farbe nennen, in der das jeweilige Wort gedruckt ist. Das soll wie im ersten Teil so schnell wie möglich erfolgen. In der vorliegenden Arbeit wurde diese Kurzversion des STROOP-Tests nach Wolfram, 1989, ausgewertet.[93] In beiden Testteilen wurde die benötigte Bearbeitungszeit gestoppt. Dieser Wert wurde dann nach einer Normwerttabelle von Wolfram et al. 1989 klassiert, so dass zwei Parameter zwischen -1 und 11 ausgewertet werden konnten. Teil 1 spiegelt die Lesegeschwindigkeit wider, in zweiten Teil werden vor allem Exekutivfunktionen abgebildet.

- Regensburger Wortflüssigkeits-Test (RWT - Aschbrenner, Taucha, Lange, 2000)[94]

Es wurden zwei Untertests des RWT verwendet. Die formallexikalische Wortflüssigkeit wird mit dem „S"-Wörter-Test abgebildet, die semantisch-kategoriale Flüssigkeit mit dem Untertest „Tiere". Bei beiden Aufgaben sollen in 60s so viele Worte der jeweiligen Kategorie wie möglich genannt werden, wobei Wortwiederholungen und Worte mit gleichem Wortstamm Fehler darstellen. Die Rohwerte (Anzahl korrekt genannter Worte) fungieren als Auswertungsparameter, wobei verschiedene Cut-Off-Werte in der Diskussion sind: < 10. Perzentile bzw. <16. Perzentile (Mittelwert +/- Standardabweichung (16.-84. Perzentile).[95,96] Abgebildet wird, wie bei Problemlöseaufgaben typisch, divergentes Denken, womit mehrere kognitive Domänen beeinträchtigt sind (Arbeitsgedächtnis, Kurzzeitgedächtnis, Vigilanz etc.).

- Digit Span (Tewes, 1994)[97]

Der Digit Span ist Teil des Hamburger-Wechsler-Intelligenztests für Erwachsene (HAWIE). Der Test besteht aus zwei Teilen. In jedem Teil sollen sieben verschiedene Zahlenreihen aufsteigender Länge (3-9 Ziffern) nachgesprochen werden. Jede Zahlenreihe wird zweimal vor- und nachgesprochen. Für jede richtige Lösung gibt es einen Punkt, so dass maximal 14 Punkte pro Abschnitt erreicht werden können. Im ersten Teil sollen die Zahlenreihen vorwärts, im zweiten Teil rückwärts nachgesprochen werden. Ein Testabbruch erfolgt, sobald ein Proband bei beiden Versuchen des Nachsprechens ein und derselben Zahlenreihe scheitert. Die Punkte beider Teile werden zusammengezählt und der Summenscore zur Auswertung genutzt. Dieser Test bildet eine Vielzahl kognitiver Funktionen ab, insbesondere Exekutivfunktionen. Neben Konzentration und Aufmerksamkeit spielt im ersten Teil das verbale Sofortgedächtnis eine Rolle. Im zweiten Teil liegt die Gewichtung auf dem Arbeitsgedächtnis.

- Trailmaking Test (TMT – Reitan, 1955)[98]

Die Aufgaben des TMT sollen so schnell wie möglich bearbeitet werden. Im ersten Teil (Version A) sollen auf einem A4-Blatt zufällig angeordnete Zahlen mit einer Bleistiftlinie der Reihenfolge nach verbunden werden. Im zweiten Teil (Version B) sollen nun abwechselnd Zahlen und Buchstaben miteinander verbunden werden, ebenfalls der Größe bzw. dem Alphabet folgend. Die Bearbeitungszeit wird in Sekunden gemessen. Nach Normwerttabellen werden Lesezeit und Interferenz bestimmt, die Werte zwischen -1 und 11 annehmen. In beiden Teilen werden Konzentration und motorische Geschwindigkeit verlangt. Im Teil B muss zusätzlich zwischen zwei Bezugssystemen umgeschaltet werden, was der Domäne der Exekutivfunktionen zugeordnet ist.

- Verbaler Lern- und Merkfähigkeitstest (VLMT – Rey, 1941)[99]

Eine Liste von 15 semantisch unabhängigen Worten wird innerhalb von 5 Durchgängen gelernt (Untersucher liest vor, Proband reproduziert nach jedem Durchgang). Danach wird als Interferenz eine zweite Wortliste gelernt. Anschließend, im 6. Durchgang, wird die erste Wortliste erneut abgefragt (diesmal ohne vorheriges Repetieren). Durchgang 7 folgt nach 30min zeitlicher Verzögerung, hier wird ein letztes Mal die erste Liste abgefragt. Abschließend werden Worte vorgelesen, bei der die Versuchsperson gefragt ist die Worte der ersten Liste zu diskriminieren. In dieser Studie wurden die Auswertungsparameter Summenscore der erinnerten Worte Durchgang (DG) 1-5 (Lernleistung), sowie Reproduktion nach zeitlicher Verzögerung (DG 7) verwendet. Für beide Werte sind Cut-Off Grenzen bekannt. Hier handelt es sich dabei um Bereiche jenseits einer Standardabweichung in der Normverteilung. Ein Lernleistungs-Rohwert von DG 1-5 < 49, sowie DG 7 < 9 gilt als pathologisch. Mit dem VLMT können vor allem das deklarative verbale Gedächtnis mit Lernleistung, Supraspanne, langfristiger Entkodierungs- und Abrufleistung, sowie das Wiedererkennen quantifiziert werden.

- Continous Performance Test - Identical Pairs (CPT-IP – Cornblatt, 1988)[100]

Der CPT-IP ist ein computergestütztes Testverfahren. Nach einer Übungsphase soll in zwei Testdurchläufen auf identisch nacheinander angezeigte Stimuli reagiert werden. Beim ersten Test leuchten 4-stellige Zahlen, beim zweiten Test geometrische Figuren für jeweils 50 ms auf. Reagiert wird, indem die permanent gedrückte linke Maustaste losgelassen wird. Insgesamt werden 150 Reize geboten, wovon 30 Zielreize sind. Die CPT Software gibt verschiedene Auswertungsscores aus. Der Deprime wird in dieser Studie zur Auswertung fokussiert. Dieser Wert stellt ein Vigilanzmaß dar. Die Fähigkeit des Probanden, einen Stimulus von Hintergrundrauschen trennen zu können, wird hiermit evaluiert, d.h. Deprime steht für die Distanz der Frequenzen der richtig erkannten Stimuli von den falschen Alarmen. Je höher der Deprime ist, desto mehr Aufmerksamkeitskapazität besitzt der Proband. Der CPT bildet verbale und nonverbale Vigilanz ab.

- Wisconsin Card Sorting Test (WCST- Grant und Berg, 1948)[101]

Der WCST ist ebenfalls ein computergestütztes Testverfahren. Auf dem Bildschirm sind vier Stapel von Karten zu sehen. Auf den Karten sind geometrischen Formen unterschiedlicher Gestalt, Anzahl und Farbe abgebildet. Im unteren Bereich erscheint zusätzlich eine fünfte Karte, die einem der vier Stapel zugeordnet werden soll (Abb. 20). Nach jeder Zuordnung erhält der Proband Feedback, ob richtig oder falsch geordnet wurde. Nach diesem Feedback soll der

Proband ein Ordnungssystem erkennen (z.B. nach Farbe) und daran sein Verhalten anpassen. Ohne Ankündigung wechselt das Sortierprinzip im Laufe der Untersuchung. Der Proband soll dies durch das veränderte Feedback bemerken und sein Entscheidungsverhalten anpassen. Während der Untersuchung wechselt 6mal das Ordnungssystem. In dieser Arbeit wurden drei Auswertungsparameter genutzt. Categories Completed beschreibt die Anzahl der Sortiersysteme, in denen der Proband 10mal hintereinander richtig geordnet hat (0 bis max. 6 Punkte). Der Percent Perversation Responses Score gibt an, wie hoch der prozentuale Anteil an Perversationsantworten war. Perversation beschreibt das wiederholte Anwenden eines falschen Ordnungsprinzipes. Failure to Maintain Set ist der dritte verwendete Parameter. Er beschreibt die Anzahl von Durchgängen, in denen der Proband nach fünf oder mehr richtigen Antworten einen Fehler macht (0 bis max. 6 Punkte).

Im Rahmen der Faktorenanalyse (siehe 4.3.2) kamen drei weitere Testungen zur Anwendung, die im Folgenden nur kurz beschrieben werden sollen.

- Leistungsprüfsystem - Untertest 3 (LPS-3 – Horn, 1983)[102]

Der LPS-3 misst nonverbale, fluide Intelligenz und abstrakte Denkfähigkeit. Die Bearbeitungszeit liegt bei 5min. Auf einem A4-Blatt sind geometrische Zeichen in Zeilen abgebildet. Diese Symbole sind pro Zeile nach einem bestimmten Prinzip geordnet, wobei je ein Symbol aus dieser Ordnung herausfällt. Dieses Symbol soll markiert werden. Chronologisch soll Zeile für Zeile abgearbeitet werden. Ausgewertet werden in Folge richtig bearbeiten Zeilen (Rohwert), von diesem Wert ausgehend wird in Normwerttabellen altersbezogen ein Intelligenz-Quotient bestimmt.

- Mehrfachwahl-Wortschatz-Intelligenztest (MWT- B – Lehrs, 1991)[103]

Der MWT-B ist wie der Digit Span ein Subtest des Hamburger- Wechsler-Intelligenztests für Erwachsene (HAWIE). Es quantifiziert verbale, kristalline Intelligenz. Auf einem A4-Blatt sind 37 Zeilen mit jeweils 5 Worten abgebildet. 4 Begriffe sind Neologismen. Das richtige deutsche Wort soll markiert werden. Ausgewertet wird der Rohwert (die anzahl richtig markierten Zeilen). Einen Intelligenzquotient ermittelt man durch Vergleich mit Normwerten eines deutschen Kollektivs.

- Bilderlerntest (BLT) (Wolfram, 1986)[104]

Der Bilderlerntest ist Teil der „Mnestischen Lerntestbatterie“ von Wolfram et al. 1986. Grundlage dieser Testbatterie sind Merkfähigkeitsaufgaben, wobei zwischen vier Merkfähigkeitsdimensionen unterschieden wird: visuelle, verbal-sprachliche, topographisch-räumliche und assoziative Merkfähigkeiten. Insgesamt besteht die Lerntestbatterie aus vier Testungen: Bilder- und Wörterlerntest, Stadtplanlerntest und assoziativer Wortlerntest. In der vorliegenden Arbeit wurde nur der Bilderlerntest verwendet. Auf einem A4-Blatt sind 20 stilisierte Abbildungen von Alltagsgegenständen und Tieren abgebildet. Diese Bilder soll sich der Proband einprägen, dazu erhält er das Blatt zunächst für 60sec, danach 2mal für 30sec. Nach jedem „Lerndurchgang“ sollen so viele Bilder wie möglich erinnert werden. Die Reihenfolge ist nicht entscheidend. Ausgewertet wird der Rohwert (die Anzahl der erinnerten Bilder), wobei die Leistungen der Probanden beim ersten Versuch als Maß für Merkfähigkeit, die Leistungen vom ersten bis zum letzten Versuch als Maß für Lernfähigkeit betrachtet werden.

3.2 Experimenteller Teil

3.2.1 Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs)

Das menschliche Genom liegt in Form der zweisträngigen Desoxyribonukleinsäure (DNA) vor. Die Erbinformation ist darauf als Basenpaarabfolge kodiert. Abschnitte dieser Basensequenz, die für ein bestimmtes Protein kodieren, werden als Gen bezeichnet. Das humane Genom umfasst etwa 20 – 25.000 Gene.[105]

99,9% des Genoms sind bei jedem Menschen identisch. Individualität verleihen uns nur 0,1% der Erbanlage. Nur jeder 500. - 1000. DNA–Baustein unterscheidet sich von Mensch zu Mensch. Die einzelnen Bausteine der DNA (Nukleotide) bestehen je aus einem Zucker (2-Desoxyribose), einem Phosphatrest und einer Base, wobei einzig die Base im Nukleotid variabel ist (Adenin, Guanin, Cytosin oder Thymin). Die seltenen variablen DNA-Bausteine, die sich an einem definierten Ort befinden, und deren Base nicht bei jedem Menschen identisch ist, bezeichnet man als SNP (single nucleotide polmorphism). SNPs machen 90% der Variabilität des Genoms aus. In 2/3 aller humanen SNPs findet ein Austausch von Cytosin mit Thymin statt. Im evolutionären Sinn ist ein SNP eine Punktmutation, die in mehr als 1% der Individuen einer Population beschrieben ist. SNPs sind nicht gleichverteilt. Es gibt sehr variable und sehr konstante DNA-Abschnitte. Genetische Individualität beruht nicht ausschließlich auf dem Austausch einzelner Basen. Wichtige andere Untersuchungsgegenstände genetischer Forschung sind Marker wie Mikrosatelliten (kurze nicht kodierende, repetitive DNA-Abschnitte, deren Länge individuell

verschieden ist, z.B. CACACACA) oder Copy Number Variations (CNV, individuell verschieden häufige Anzahl von Kopien eines DNA-Abschnittes).

3.2.2 SNP-Auswahl

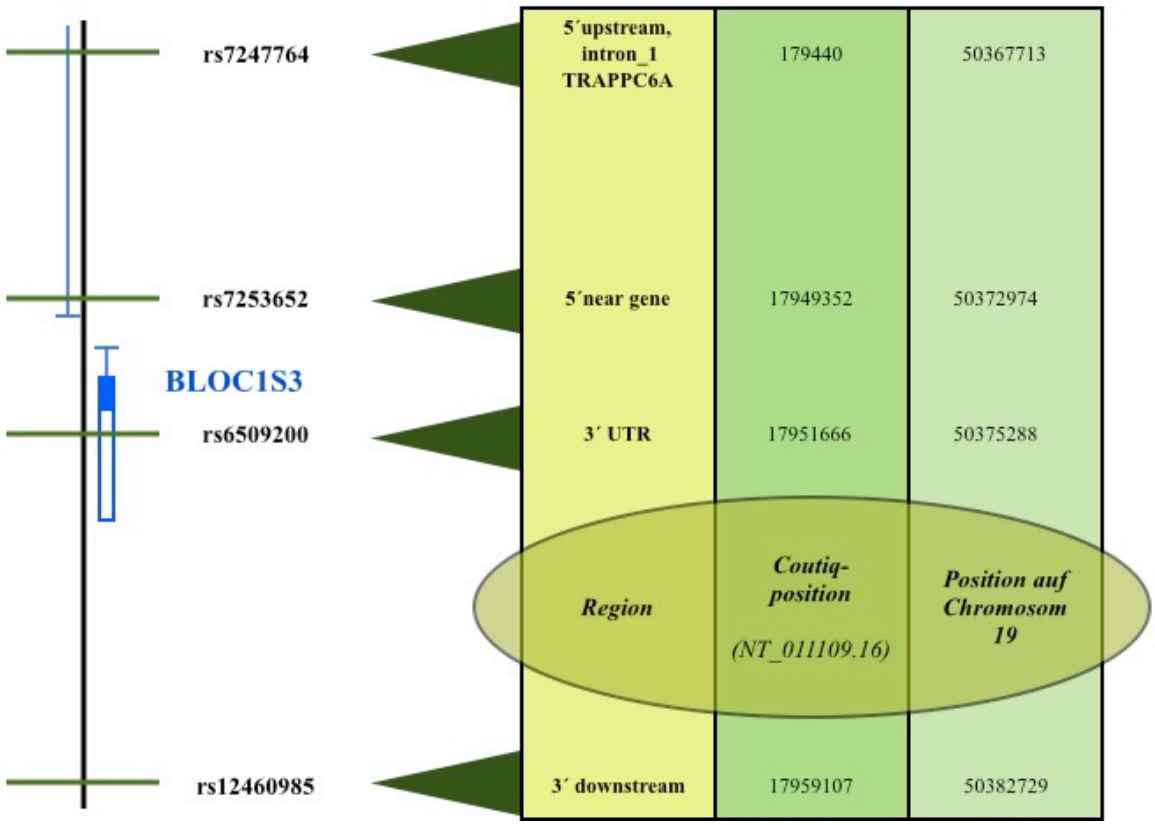


Abb. 8 Ausgewählte SNPs, ihre Region, ihre contig position, Lokalisation auf Chromosom 19 modifiziert nach NCBI Map Viewer (UTR – untranslated region)[78]

Untersucht wurden 4SNPs in der Genregion von BLOC1S3: rs7247764, rs7253652, rs6509200 und rs12460985. Zwei dieser SNPs wurden 2008 in einer Studie zur Schizophrenie von Morris et al. untersucht.[63] Die anderen beiden wurden mit Hilfe von NCBI (National Center for Biotechnology Information) ausgewählt.[106] Die SNPs sollten möglichst in einer funktionellen Region liegen (Exon, Promotorregion), gut validiert sein und idealerweise die gesamte Länge des Gens repräsentieren. Zudem wurde ein ausreichender Heterozygotenindex beachtet. Wie erwähnt, ist die Region um BLOC1S3 bislang wenig untersucht. Es sind sehr wenige SNPs bekannt, die mehrere dieser Kriterien erfüllen.

3.2.3 Haplotypen

Für die 4 untersuchten SNPs wurden im Anschluss an die Genotypisierung die häufigsten Haplotypen bestimmt. Diese wurden dann wie die einzelnen SNPs als genetische Marker betrachtet und mit den klinischen Daten korreliert.

Ein Haplotyp (griechisch: haplús oder haplóos „einfach“ und typos „Abbild, Muster“) auf einem Chromosom beschreibt eine Abfolge von Nukleotiden, d.h. eine Kombination von Allelen, die nach Häufigkeit unterschieden wird. Aus den Genotypisierungen geht nicht hervor, welches Allel auf welchem Chromosom liegt. Häufige Haplotypen vorgegebener SNPs lassen sich bioinformatisch bestimmen. In der vorliegenden Arbeit wurde die Software PHASE genutzt (http://depts.washington.edu/uwc4c/expess-licenses/assets/phase).

3.2.4 Ablauf der experimentellen Arbeit

Zu allen Patienten und Kontrollen lag bereits extrahierte DNA vor. Davon ausgehend wurden die ausgewählten 4 SNPs genotypisiert *(Abb.9)*.

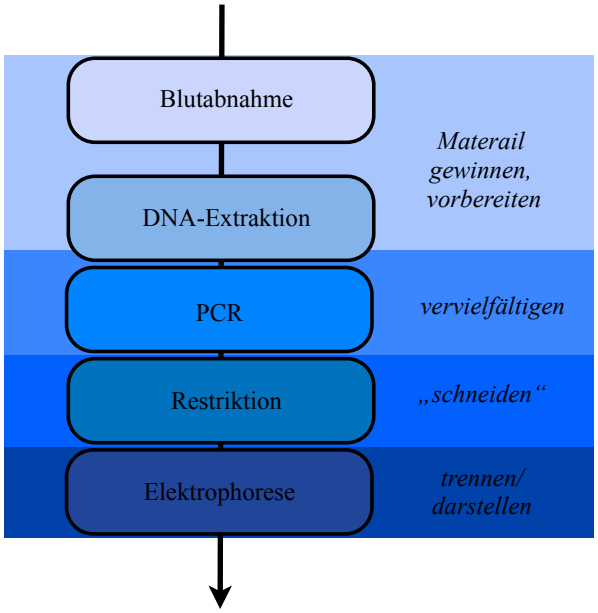


Abb. 9 Ablauf der Laborarbeit

3.2.4.1 Polymerase Chain Reaction (PCR)

Die PCR ist ein Verfahren zur in vitro-Vervielfältigung eines definierten Teilstücks der DNA. Die Amplifizierung erfolgt in mehreren Zyklen, wobei jeder Zyklus dreistufig ist:

A. Denaturierung: Der PCR-Ansatz wird auf 94-96°C erhitzt, was zu einer Auftrennung des DNA-Doppelstränge in zwei komplementäre Einzelstränge führt.

B. Hybridisierung: Bei einer Temperatur von 55-65°C binden Primer (kleine DNA-Stücke - Oligonukleotide) an komplementäre Abschnitte auf den beiden DNA-Strängen (Annealing). Die genaue Annealing-Temperatur hängt von der Struktur der Primer ab.
C. Elongation: Die DNA-Polymerase lagert sich an die DNA und verknüpft, beginnend am 3´-Ende des Primers, freie Nukleotide zu einem der Ausgangs-DNA komplementären Strang. Die ideale Temperatur ist Polymerase-abhängig (68-72°C).

Dieser Zyklus wurde 35mal durchlaufen, wobei sich in jedem Zyklus die kopierten Moleküle verdoppeln, d.h. man vervielfältigt die DNA-Abschnitte theoretisch um den Faktor 2^{35}. In der Praxis erreicht man etwas kleinere Amplifikationsraten.

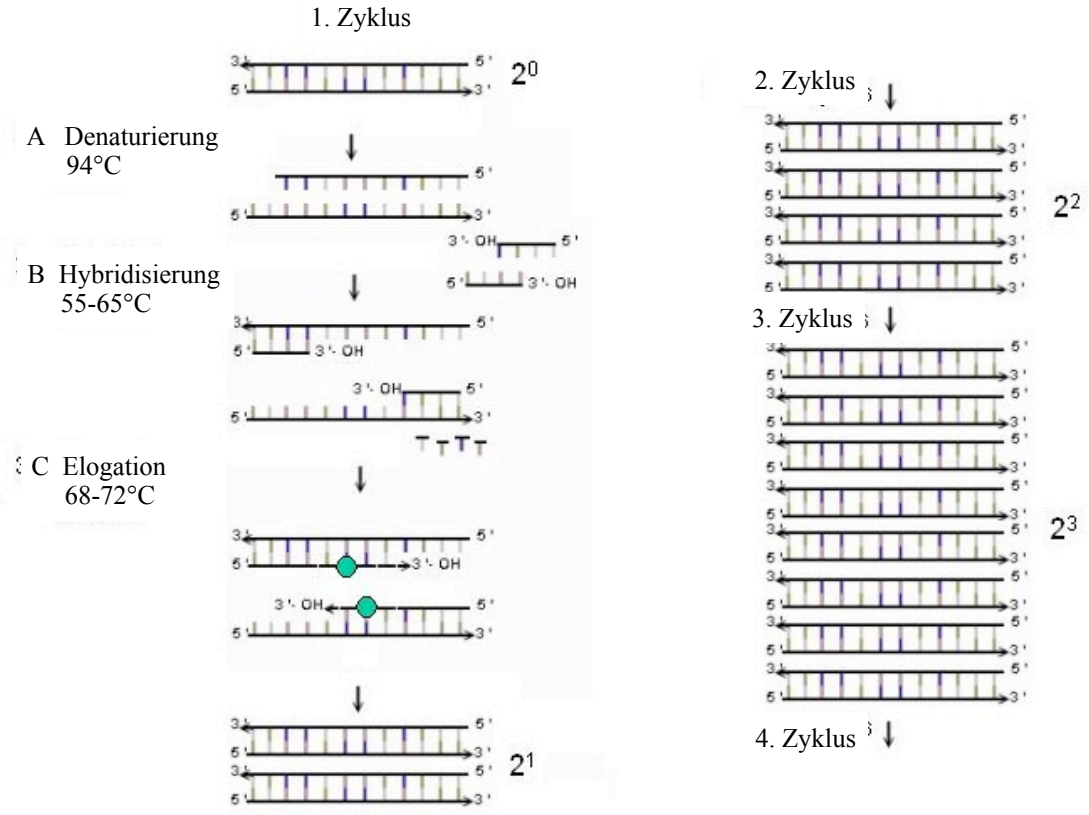


Abb. 10 Schema der PCR mit exponentiellen Amplifizierungsraten, modifiziert nach Sanel 2010 [107]

Welcher Abschnitt der DNA reproduziert werden soll, definieren die Primer. Sie dienen als Ansatzpunkt der DNA-Polymerase und ermöglichen so die Vervielfältigung eines Teilstückes der DNA, in dem der zu untersuchende SNP liegt.
An das Primerdesign wurden folgende Bedingungen gestellt:

- Länge: 18-22bp

- Differenz der Schmelztemperatur zwischen Forward- und Reward -Primer maximal 4°C
- Die Primerpaare dürfen an ihren 3`-Enden weder inter- noch intramolekular komplementär sein, um die Bildung von Primerdimeren zu verhindern
- Fragmentgröße zwischen 100bp und 400bp
- Theoretische Schmelztemperatur zwischen 60 und 70°C
-

Tab. 4 SNPs mit zugehörigen Forward- und Reverse-Primer und Länge des entstehenden Amplifikats

SNP	Primer	Länge des PCR-Produkts
rs7247764	rs7247764F: 5´-cacctgctgagccactctg-3´ rs7247764R: 5´-gcaggagcttaaggcagagg-3´	297bp
rs7253652	rs7253652F: 5´-ctcagcacac gcccaataacg-3´ rs7253652R: 5´-ggcgttcgcgacggtgcc-3´	130bp
rs6509200	rs6509200F: 5´-cactatccttagatctggttcc-3´ rs6509200R: 5´-cagattaaggagcaactatgtc-3´	120bp
rs12460985	rs12460985F: 5´-cagagcggcttcacagcag-3´ rs12460985R: 5´-gccaggtgggctaggactc-3´	356bp

Die optimalen PCR-Bedingungen für jeden SNP wurden durch Gradienten bestimmt. Es wurden PCR-Ansätze mit vier verschiedenen Magnesiumkonzentrationen je Probe, sowie jeweils 8 verschiedenen Annealingtemperaturen (in Abhängigkeit der rechnerisch bestimmten Annealingtemperatur der Primer) amplifiziert. Die Produkte wurden gelelektrophoretisch aufgetrennt, angefärbt und ausgewertet. Aus den Ergebnissen wurden die folgenden PCR-Bedingungen bestimmt *(Tab.5)*.

Ablauf des PCR - Zyklus im Thermocycler:

1. Denaturierung bei 94°C für 6 Minuten
2. Annealing für 1 Minute (Temperatur siehe *Tab.8*)
3. Elongation bei 72°C für 8 Minute

Nach 35 Zyklen schloss sich eine Kühlung bei 15°C an.

Tab. 5 PCR- Ansätze und Annealingtemperaturen bezogen auf eine Probe

PCR-Ansatz	rs7247764	rs7253652	rs7253652	rs12460985
Wasser	14,2µl	13,6µl	13,6µl	13,6µl
Puffer(10xBuffer von Gene Craft)	2µl	2µl	2µl	2µl
dNTP`s (2mM)	1µl	1µl	1µl	1µl
MgCl (50mM)	0,6µl	1,2µl	1,2µl	1,2µl
PrimerF (10µM)	0.5µl	0.5µl	0.5µl	0.5µl
PrimerR (10µM)	0.5µl	0.5µl	0.5µl	0.5µl
Taq Polymerase (5U/ µl)	0.2µl	0.2µl	0.2µl	0.2µl
Annealing-Temperatur	68°C	69°C	56°C	70°C

3.2.4.2 Elektrophorese

Die Elektrophorese diente zunächst der Kontrolle der PCR durch die Darstellung der Produkte.
Dazu wurde ein Ansatz aus Amplifikat und Loading Buffer im Verhältnis 1:1 (je 10µl) hergestellt. 10µl dieses Ansatzes pro Probe und 3µl 50bp Leiter-Marker wurden auf ein zweiprozentiges Agarosegel (6g SERVA Agarose mit 300ml TBE) aufgetragen. Die Elektrophorese wurde in einer mit TBE-Puffer gefüllten Kammer bei 110V für 30-60min durchgeführt.
Die Amplifikate legen in dieser Zeit größenabhängig verschiedene Strecken durch die netzähnlichen Polysaccharidstrukturen des Agarosegels zurück. PCR-Produkte gleicher Länge lagern sich bandenförmig auf einer Höhe ab, was durch Anfärben sichtbar gemacht wird. Das Färbebad wurde mit 5µl SYBR-Gold und 600ml TBE-Puffer für ca. 60min angesetzt. Anschließend wurden die Banden unter UV-Licht mit Hilfe des Gelbetrachtungssystems ausgewertet und fotografisch dokumentiert.

3.2.4.3 Restriktion

Die Restriktion ist Mittel der Genotypisierung von DNA-Proben durch enzymatischen Verdau. Restriktionsenzyme erkennen spezifische Basensequenzen. Je nachdem, ob eine solche Sequenz im Amplifikat vorhanden ist, schneidet das Enzym das PCR-Produkt in Fragmente. Wird diese spezifische Sequenz nicht erkannt, kann das Enzym nicht an die DNA binden, eine Restriktion unterbleibt und die Länge des Amplifikates bleibt unverändert.
Die Auswahl dieser spezifischen Enzyme (alle New England Biolabs), erfolgte mit NEBcutter (http://tools.neb.com/NEBcutter2/index.php) abhängig von den Allelen der jeweiligen SNPs. Die Enzymbindung an die DNA ermöglicht eine 16-stündige Inkubationszeit bei einer vom Hersteller empfohlenen Temperatur. Es wurden 5µl PCR-Produkt und 5µ Mastermix inkubiert.

Mastermix (je Probe):

Wasser	3,5µl
Puffer	1,0µl
Enzym	0,5µl

Tab.6 Restriktionsenzyme und –bedingungen

SNP	rs7247764	rs7253652	rs6509200	rs12460985
Enzym	MspA1I	Bsl I	BsmAI	Alu I
Menge	10.000U/ml	10.000U/ml	5.000U/ml	10.000U/ml
Schnitthäufigkeit	zweifach	einfach	einfach	vierfach
Puffer	NEB 4	NEB 3	NEB 3	NEB 2
Annealing-Temperatur	37°C	55°C	55°C	37°C

Diese Produkte wurden abermals gelelektrophoretisch getrennt. Ein Ansatz aus 10µl Laufpuffer und 10µl des Verdaus wurden auf einem dreiprozentigen Gel (9g SERVA Agarose und 300ml TBE) durch eine 60-80minütige Elektrophorese bei 100-130V getrennt. Anschließend wurde das Gel eine Stunde im Färbebad angefärbt und fotografisch ausgewertet.

Tab. 7 Bandenmuster (in Basenpaaren) nach Restriktionsenzymverdau und Aufteilung der Genotypen

SNP	homozygot I	heterozygot	homozygot II
rs7247764	297 C/C	297/151/146 C/T	151/146 T/T
rs7253652	107 C/C	107/89 C/G	89 G/G
rs6509200	87 A/A	120/87 A/T	120 T/T
rs12460985	206/ (64, 86) C/C	206/152/ (86, 64, 54) C/T	152/ (86, 64, 54) T/T

3.3 Statistik

Die Auswertung erfolgte mit dem Statistik-Programm PASW Statistics 18.0 für Windows XP.
Alle erhobenen demografischen Daten wurden mit Hilfe deskriptiv-statistischer Anwendungen beschrieben (Mittelwert, Minimum, Maximum). Mittels nichtparametrischen Chi-Quadrat-Tests konnten diesbezüglich Häufigkeitsvergleiche durchgeführt werden. Für den Vergleich der Heterozygoten-Indices beider Kollektive mit bekannten HapMap-Daten, wurde aufgrund der

kleinen Stichprobe der Exakte Test nach Fisher verwandt. Die univariate Varianzanalyse wurde für die Berechnungen zu Assoziationen genutzt (z. B. Einflussfaktoren auf psychometrische oder kognitive Daten, genetische Marker). Die Effektstärke (ES) wurde im Rahmen dieser Berechnungen „abgeschätzt". Nachdem zunächst ein möglicher Einfluss demografischer Daten auf die Ergebnisse der psychometrischen Ratings dokumentiert worden war, kam ein standardisiertes Verfahren zur Prüfung der genetischen Assoziationen zur Anwendung. Alle Assoziationen wurden mit Hilfe der univariaten Varianzanalyse unter Einschluss der Covariaten „Geschlecht" und „Alter" geprüft. Bei Assoziationen zu den kognitiven Leistungsdaten wurde zudem der Einflussfaktor „Schulbildung" in die Rechnung einbezogen. Unter Berücksichtigung der genannten Covariaten reduzierte sich die Anzahl der gefundenen Assoziationen merklich. Im Ergebnisteil wurden ausschließlich die korrigierten Daten dargestellt.

Die Faktorenanalyse wurde zur Dimensionsreduktion im Rahmen der kognitiven Berechnungen genutzt. Hier wurde das Signifikanzniveau für „Komponenten" mit $p > 0,6$ festgelegt. Für alle anderen Berechnungen wurde das Signifikanzniveau mit $p < 0,05$ (2-seitig) angesetzt.

3.4 Zubehör

Tab. 8: Auswertungssoftware

Software	Typ (Quelle)	Hersteller/Entwickler
NEBcutter	Programm zur Simulation von möglicher Restriktion (http://tools.neb.com/NEBcutter2/index.php)	New England Biolabs Inc., Frankfurt/Main, Deutschland
Genepop 4.0 Hardy-Weinberg Exact Test	Software für Populationsgenetische Berechnungen (http://genepop.curtin.edu.au/)	Raymond, M und Rousset, F Laboratiore de Genetique et Environment, Montpellier 1995 (Version 4.0m, Rousset, 2008)
Phase 2.1	Programm zur Haplotypenrekonstruktion aus populationsgenetischen Daten (http://depts.washington.edu/uwc4c/ expess-licenses/assets/phase)	Matthew Stephens Department of Statistics University of Chicago, 2004
PASW Statistics 18.0	Statistiksoftware	Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, 2009

Tab. 9: Verwendete Geräte

Gerät	Typ	Hersteller
Inkubator	Thermocenter Salvis Lab	Salvis Lab, Schweiz
Waage	OWA Labor	OWA Labor, Deutschland
Zentrifuge	Laboratorian Medical Centrifuge	Lab 4 you, Geesthach

Gerät	Typ	Hersteller
Thermocycler	Mastercycler Gradient	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Hamburg
	Thermo 2720 Cycler	Applied Biosystems, Kalifornien, USA
Kühlschrank	Economic (-20°C)	Bosch, München
Pipetten		Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Hamburg
Gelkammer	Maxi Large 480000	Harnischmacher
Spannungsquelle	Elite 300	Wealtec, Johannesburg, Südafrika
Gelbetrachtungssystem	Gel Imager U5S-20M-8E	Intas, Gel Imager, Göttingen, Deutschland
Mikrowelle	Bosch	Bosch, München, Deutschland
Vortexer	Combispin	G-Kisker, Steinfurth, Deutschland
Wippschüttler	Unitwist RT	G-Kisker, Steinfurth Deutschland

Tab. 10: Verwendete Chemikalien

Chemikalie	Hersteller
Ethanol absolut	Carl Roth, GmbH, Karlsruhe, Deutschland
QIAamp DNA Blood Maxi Kit	QIAGEN GmbH, Hilden, Deutschland
H_2O	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen, Deutschland
dNTP 10mM	Rapidozym GmbH
Primer	Tib Mobiol Syntheselabor GmbH, Berlin, Deutschland
10xPCR-Puffer	Gene Craft, Lüdinghausen, Deutschland
Taq-DNA-Polymerase 5U/ml	BioTherm, Gaithersburg, USA
Agarose SERVA 11404	SERVA electrophoresis GmbH, Heidelberg, Deutschland
10xNEB-Puffer 2, 3 und 4	New England Biolabs Inc., Frankfurt/Main, Deutschland
10xTBE-Puffer	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
DNA-Leiter 50bp 0,5µg/µl	MBI Fermentas GmbH, St. Leon Roth
$MgCl_2$	Bio Therm, Gaithersburg, USA
SYBR-Gold nucleid acid gel stain	Invitrogen molecular probes, Karlsruhe, Deutschland
Loading Buffer	BioTherm, Gaithersburg, USA
Restriktionsenzyme:	New England Biolabs Inc., Frankfurt/Main, Deutschland
AluI, BslI, MspA1I, BsmAI	

IV ERGEBNISSE

Für die genetischen Untersuchungen im Fall-Kontroll-Design wurde ein Patientenkollektiv einem gesunden Probanden gegenübergestellt. 88 Patienten und 77 gesunde Kontrollprobanden wurden untersucht. Für die psychometrischen Ratings und die kognitiven Leistungstestungen stand einzig das Patientenkollektiv zur Verfügung.

4.1 Demografische Daten

4.1.1 Geschlecht und Alter beider Kollektive

Tab. 11 Deskriptive Statistik der Geschlechts- und Altersverteilung in beiden Kollektiven

Kollektiv	Geschlecht			Alter		
	weiblich	männlich	gesamt	Minimum	Maximum	Mittelwert
Patienten	29 (33%)	59 (67%)	88	20	68	37,0
Kontrollen	15 (19,5%)	62 (80,5%)	77	22	59	38,5

Zur näheren Charakterisierung des Patientenkollektives wurden weitere demografische Daten im Rahmen des Universalratings erfasst. Bei zwei Patienten war diese Erhebung nicht möglich, womit sich die Fallzahl auf n=86 beschränkte.

4.1.2 Familienanamnese

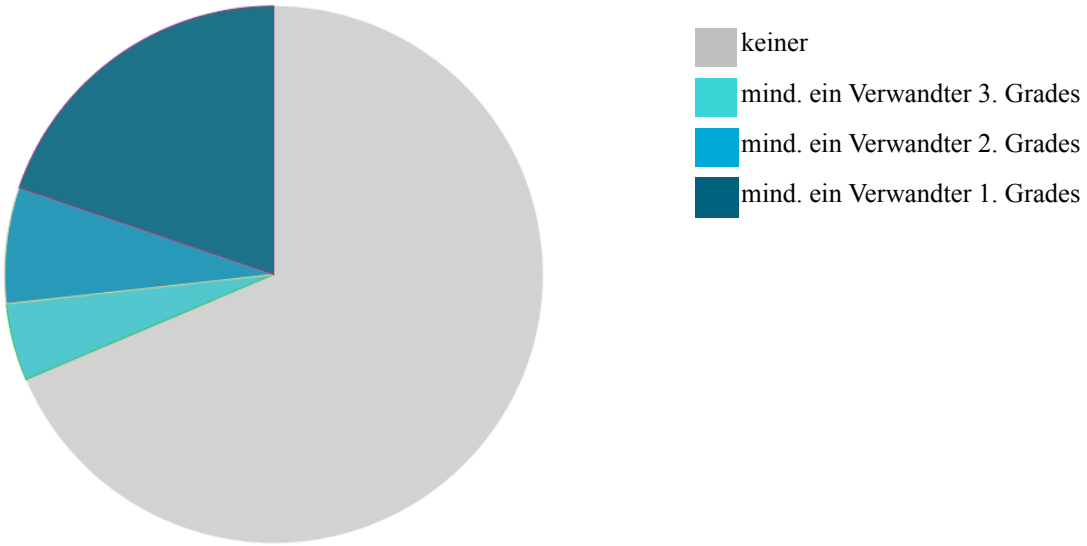


Abb.11 Familienanamnese im Patientenkollektiv (Anzahl der Probanden mit positiver Familienanamnese bzgl. Schizophrenie / Schizoaffektive Störung)

Bei 15% der Patienten sind Verwandte 1.Grades (Eltern oder Kinder) mit einer diagnostizierten Schizophrenie oder Schizoaffektiven Störung (F20/F25) bekannt. Betrachtet man auch andere

psychiatrische Diagnosen, scheinen 52% aller Patienten genetisch vorbelastet zu sein. Bei 32% der Patienten ist mindestens ein Verwandter ersten Grades betroffen. Bei 5% der Probanden sind mehrere Verwandte ersten Grades psychiatrisch erkrankt.

4.1.3 Zeitpunkt der Erstmanifestation

Die Probanden erkrankten zu über 50% zwischen dem 18. und 28. Lebensjahr. Zwei Probanden konnten das Auftreten erster Symptome zeitlich nicht einordnen. Das früheste Manifestationsalter lag bei 14 Jahren, der späteste Erkrankungsbeginn bei 48 Jahren. Das mittlere Ersterkrankungsalter lag bei 24,7 Jahren, unterschied sich jedoch signifikant nach Geschlecht (p=0,024, Effektstärke (ES) 0,06; Mittelwert (MW) Männer: 23,4 Jahre; MW Frauen: 27,1 Jahre). Im untersuchten Kollektiv traten Spätmanifestationen bei Frauen häufiger als bei Männern auf. Nach dem 38. Lebensjahr erkrankten 17 % der Frauen, gegenüber 4% der männlichen Probanden. Die mittlere Erkrankungsdauer lag bei 11,2 Jahren (Min <12 Monate, Max 45 Jahre).

4.1.4 stationäre Behandlungen

Den frühesten Zeitpunkt der ersten stationären Behandlung erlebte ein Proband im 15. Lebensjahr, die späteste Ersthospitalisation fand im 56. Lebensjahr statt. Die erste stationäre Behandlung erfolgte bei Frauen später (MW 30,6 Jahre) als bei Männern (MW 26,2 Jahren, p=0,020; ES 0,07) und damit im Mittel (geschlechtsunabhängig) drei Jahre nach dem Erkrankungsbeginn.

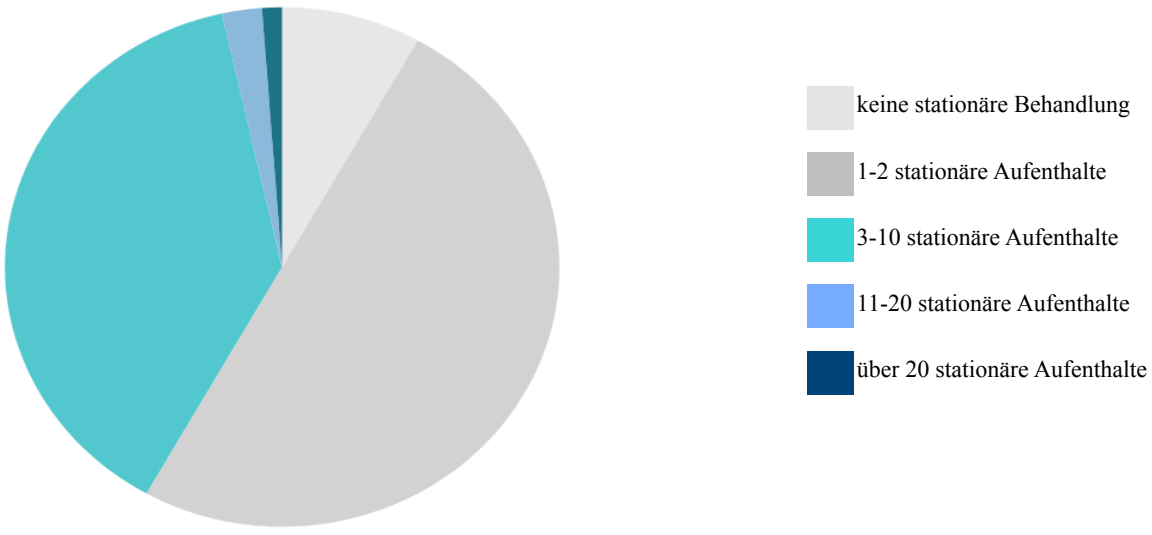


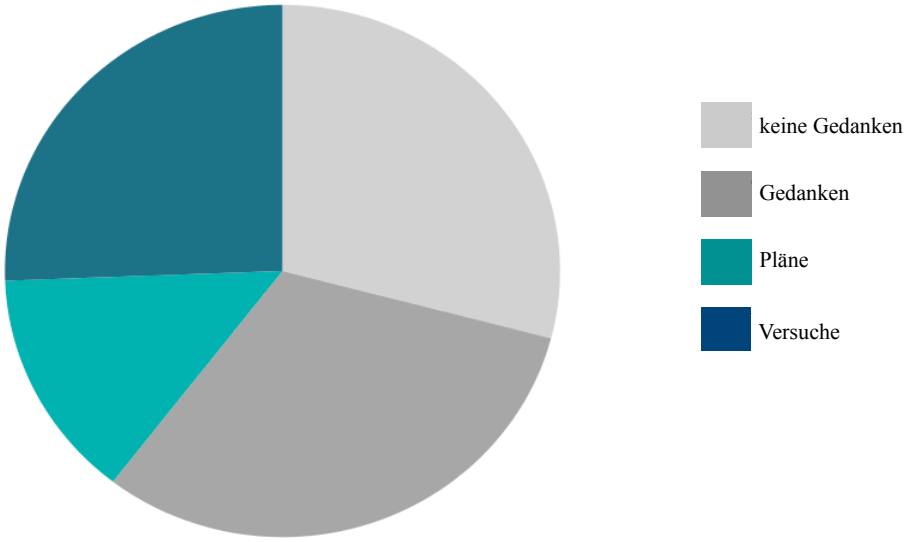
Abb.12 Häufigkeit stationärer Aufenthalte (klassiert)

Sieben Prozent der untersuchten Patienten waren bislang nicht in stationärer Behandlung *(Abb.12)*. Ein Proband war bereits 23mal in stationärer Behandlung. Die mittlere Aufenthaltszahl betrug 3,1, es fiel kein signifikanter Unterschied zwischen den Geschlechtern (p=0,309) auf.

Bestimmt wurde eine relative Aufenthaltsfrequenz bezogen auf die Erkrankungsdauer. Das Maximum betrug hier 2 Aufenthalte/ Erkrankungsjahr. Der Großteil der Probanden (59%) erlebte eine relative Häufigkeit von 4 Aufenthalten/10 Erkrankungsjahre. Mittels univariater Varianzanalyse wurde der Einfluss von Alter zum Zeitpunkt der Datenerhebung, Erstmanifestationsalter und Geschlecht auf diese Größe untersucht. Je höher das Alter bei Erstmanifestation desto höher die relative Anzahl stationärer Aufenthalte (p=0,023, ES 0,06). Je älter der Proband, desto geringer die relative Häufigkeit stationärer Aufenthalte pro Erkrankungsjahre (p= 0,001; ES 0,12)..

4.1.5 Suizidalität

Es wurde Lifetime-Suizidalität, sowie Zahl und Art möglicher Suizidversuche erfasst *(Abb.13)*.



bb.13 Lifetime-Suizidalität – Selbsteinschätzung der Probanden, welches Ausmaß ihre Beschäftigung mit Suizid je maximal erreicht hat.

Während für 29% das Thema Suizidalität keine Rolle spielte, hatten 15 Probanden bereits einen Suizidversuch, zwei Probanden zwei Versuche und vier Probanden drei Versuche unternommen, sich das Leben zu nehmen. Es fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Geschlechtern (p=0,573).

4.1.6 Therapie

Alle Probanden des Kollektivs waren Neuroleptika-erfahren. Insgesamt 28% der Probanden wurden über einen Zeitraum von mehr als 10 Jahren mit Neuroleptika behandelt. Sieben Prozent waren weniger als 12 Monate therapiert. 51% der Patienten waren bislang nur mit einem Medikament (Monotherapie) in Berührung gekommen. Vier Präparate wurden im Kollektiv gehäuft zur Monotherapie eingesetzt: Olanzapin (13%), Quetiapin (9%), Risperidon und Ziprasidon (jeweils 8% der Probanden). Diese Präparate gehören, wie alle häufig eingesetzten Therapeutika, zur Gruppe der atypischen Neuroleptika.

4.1.7 Schulbildung

Über die Hälfte der Probanden legte das Abitur ab (keine Differenzierung zwischen Allgemeiner und Fachhochschulreife *(Abb.14)*. 37% der Patienten besuchten 10 Jahre lang eine allgemeinbildende Schule und absolvierten erfolgreich den Haupt- oder Realschulabschluss. Fünf Prozent beendeten nach acht Jahren ihre schulische Ausbildung. Vergleicht man diese Zahlen mit Daten des statistischen Bundesamtes ist das Bildungsniveau des Patientenkollektives weit überdurchschnittlich. 1992 (was dem mittleren Abiturjahrgang der Probanden entspricht) betrug die gesamtdeutsche Abiturientenquote 31%. [108]

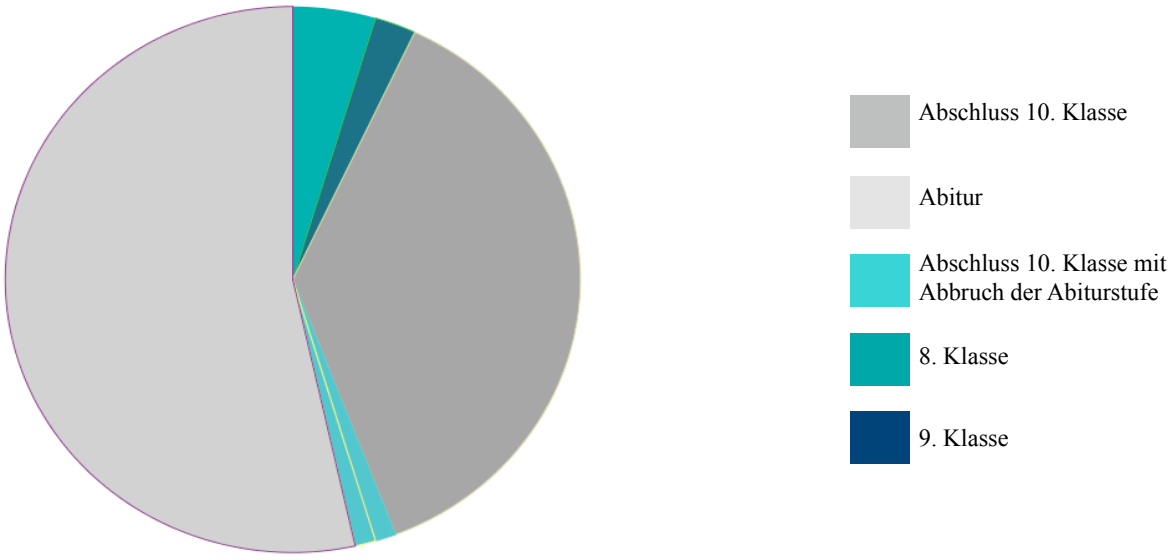


Abb.14 Schulbildung innerhalb des Patientenkollektives

4.1.8 Berufsbildung

Zum Zeitpunkt der Untersuchung befanden sich 10% der Probanden in der Ausbildung (zwei Auszubildende, sieben Studenten, *Abb.15)*. Von den 77 Probanden die sich zum Untersuchungszeitpunkt nicht in einer beruflichen Ausbildung befanden, haben 49% einen

Ausbildungsberuf erlernt. Ein Viertel hat ein Hochschulstudium abgeschlossen. 26% der Probanden hatten keinen Berufsabschluss.

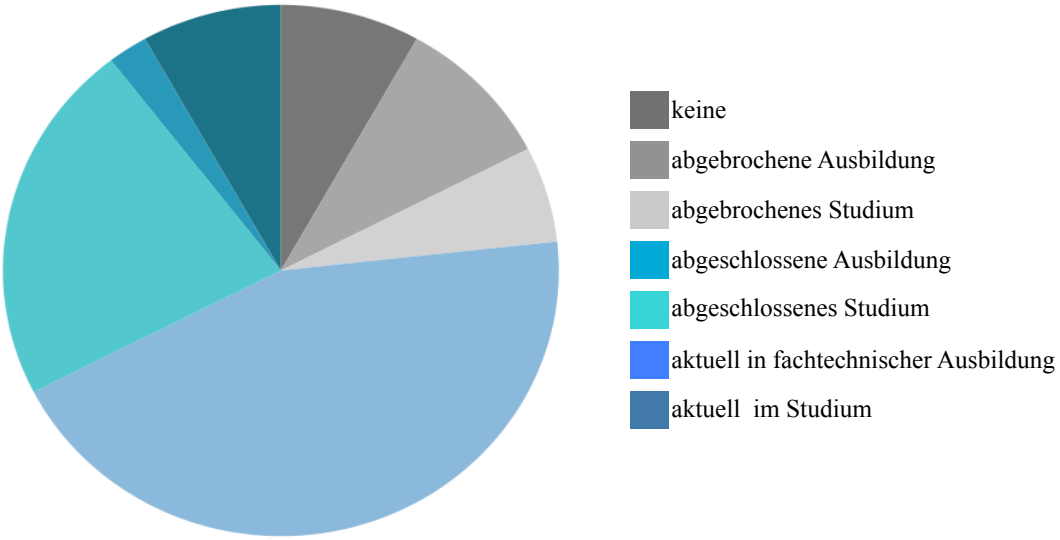


Abb. 15 Berufsbildung innerhalb des Patientenkollektives

4.1.9 Lebensgrundlage

Die Probanden wurden nach der Finanzierung ihres Lebensunterhaltes befragt *(Abb. 16)*.

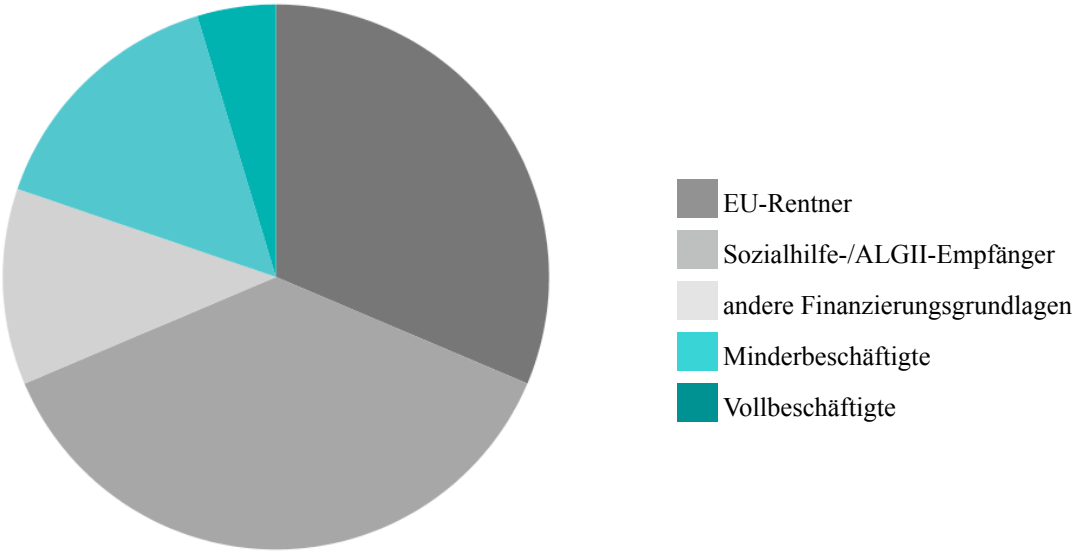


Abb.16 Finanzielle Lebensgrundlage der Probanden

75% der Probanden finanzierten sich nicht eigenständig. Ein Anteil von 68% der Probanden war staatlich finanziert (Erwerbsunfähigkeits(EU)-Rente, Arbeitslosengeld (ALGII) oder Sozialhilfe). Weitere Finanzierungsmodelle basierten auf einer gemachten Erbschaft, Unterstützung durch die Familie oder vorübergehender Krankengeldzahlungen der gesetzlichen

Krankenversicherung. 25% der Probanden finanzierten sich selbständig, wobei 10% qualitativ oder quantitativ „minderbeschäftigt“ waren. Der Anteil ihrer Ausbildung entsprechend Vollbeschäftigten lag bei 15% (BAföG-Empfänger bis zum 25. Lebensjahr wurden den Vollbeschäftigten zugerechnet, ältere BAföG-Empfänger als „minderbeschäftigt“ gewertet). Zusammenfassend standen 85% der Probanden dem Arbeitsmarkt nicht oder nur teilweise zur Verfügung.

4.2 Psychopathologie

Im folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse der psychometrischen Ratings und Fragebögen dargestellt. Nach Betrachtungen zur Allgemeinen Psychopathologie soll der Fokus auf der Quantifizierung von Negativsymptomatik und den damit verbundenen Einschränkungen der Alltagsfunktionsfähigkeit liegen.

4.2.1 Allgemeine Psychopathologie

Zur Beurteilung der Allgemeinen Psychopathologie und der krankheitsbedingten Einschränkung der Lebensqualität wurden PANSS Gesamtscore, CGI, GAF und QLS genutzt (*Tab 12*).
Das Kollektiv zeigte im CGI und GAF durchschnittlich eine mäßige Beeinträchtigung. Vertreten war ein weites Spektrum von nicht beeinträchtigten bis schwer kranken Patienten. Die allgemeine Funktionsfähigkeit war im Mittel leicht vermindert, was sich im PANSS Gesamtscore, wie auch der QLS niederschlägt.

Tab.12 Allgemeinen Psychopathologie (deskriptive Statistik)

Rating mit Wertebereich		Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
PANSS Gesamtscore	(30-210)	30	91	55,5	14,74
CGI	(1-7)	1	6	3,2	1,17
GAF	(0-100)	35	90	64,0	13,67
QLS	(0-126)	25	119	81,0	24,26

4.2.1.1 Einflussfaktoren Geschlecht und Alter

Die allgemeine Beeinträchtigung durch die Erkrankung war signifikant geschlechtsabhängig (*Tab. 13*). Frauen schienen eine weniger beeinträchtigte Lebensqualität zu haben und eine mildere Symptomatik zu erleben. Das Alter war signifikanter Einflussfaktor auf die Ergebnisse von GAF, CGI und QLS. Im Querschnitt sank mit zunehmendem Alter die allgemeine Funktionsfähigkeit und Lebensqualität.

Tab. 13 Einfluss von Alter und Geschlecht auf Lebensqualität und Funktionsniveau (univariate Varianzanalyse), signifikante Ergebnisse sind fettgedruckt dargestellt.

Rating	Einflussfaktor (p-Wert, Effektstärke)	
	Geschlecht	Alter
PANSS Gesamtscore	0,003 ES 0,10	0,196 ES 0,02
CGI	**0,005 ES 0,10**	**0,007 ES 0,09**
GAF	**0,024 ES 0,06**	**0,013 ES 0,08**
QLS	**0,000 ES 0,14**	**0,006 ES 0,09**

4.2.2 Negativsymptomatik und Depressivität

Zur Beurteilung von Negativsymptomatik wurden die Schizophrenie-spezifischen Ratings PANSS, NSA-16 und ESI-AS genutzt. Depressivität wurde mit HAMD und BDI abgebildet (*Tab.14*).

In beiden PANSS-Skalen zeigte sich insgesamt eine mittlere Ausprägung der Negativsymptomatik (30. Perzentile). Nach dem Subtypenmodell von Singh et al. (1987) waren 30% der Probanden dem Negativen-Subtypus zuzuordnen, wovon 81% männliche Probanden waren (das Patientenkollektiv bestand zu 67% aus Männern).[86] 64% der Probanden gehörten keinem extremen Typus an. Zwei Probanden zeigten überwiegend Positivsymptomatik. Der Mittelwert des NSA-16 stand für eine leichte Ausprägung der Minussymptomatik.

Tab.14 Negativsymptomatik und Depressivität (deskriptive Statistik)

Rating mit Wertebereich		Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
PANSS Plus-/Minus-Score	(-42 - +42)	-27	5	- 7,1	6,80
PANSS Minus-Skala	(7-49)	7	35	17,8	6,73
SANS Gesamtscore	(0-120)	0	87	38,1	19,66
NSA-16	(1-6)	1	5	2,6	,83
HAMD	(0-52)	0	33	10,8	7,74
BDI	(0-63)	0	45	10,9	8,62
ESI - AS	(0-30)	0	24	4,7	4,79

Die mittlere Einschätzung durch den HAMD entspricht einer leichten Depression. Im Fragebogen BDI spiegelte sich im Mittel keine Depression wieder. Die mittlere Aufmerksamkeits- und Sprachbeeinträchtigung (ESI-AU) lag unter dem Normwert für ein schizophreniekrankes Kollektiv. Zeigte jedoch eine erhöhte Beeinträchtigung im Vergleich zu Gesunden.

4.2.2.1 Einflussfaktoren Geschlecht und Alter

Mittels univariater Varianzanalyse wurde ein signifikanter Zusammenhang zwischen Geschlecht und PANSS bzw. SANS ermittelt *(Tab.15)*. Frauen schienen vor Negativsymptomatik besser geschützt zu sein. Das einzige krankheitsspezifische Selbstrating ESI-AS zeigte keine signifikanten geschlechts- oder altersabhängigen Unterschiede in der Selbstwahrnehmung der Symptomschwere.

Die Ergebnisse des HAMD waren geschlechts- und altersabhängig. Frauen schienen hier ebenfalls vor Depressivität geschützt zu sein, während im Querschnitt mit steigendem Alter der Hang zur Depression zunahm. Die Ergebnisse des Selbstratings BDI waren frei von diesen Einflüssen *(Abb. 17)*.

Tab.15 Einfluss von Alter und Geschlecht auf Negativsymptomatik und Depressivität (univariate Varianzanalyse), signifikante Ergebnisse sind fettgedruckt dargestellt.

Rating	Einflussfaktor (p-Wert Effektstärke)	
	Geschlecht	Alter
PANSS Plus-/Minus-Score	**0,009 ES 0,08**	0,052 ES 0,05
PANSS Minusskala	**0,004 ES 0,10**	0,097 ES 0,03
SANS	**0,016 ES 0,07**	0,295 ES 0,13
HAMD	**0,004 ES 0,10**	**0,005 ES 0,09**
BDI	0,509 ES 0,01	0,316 ES 0,01

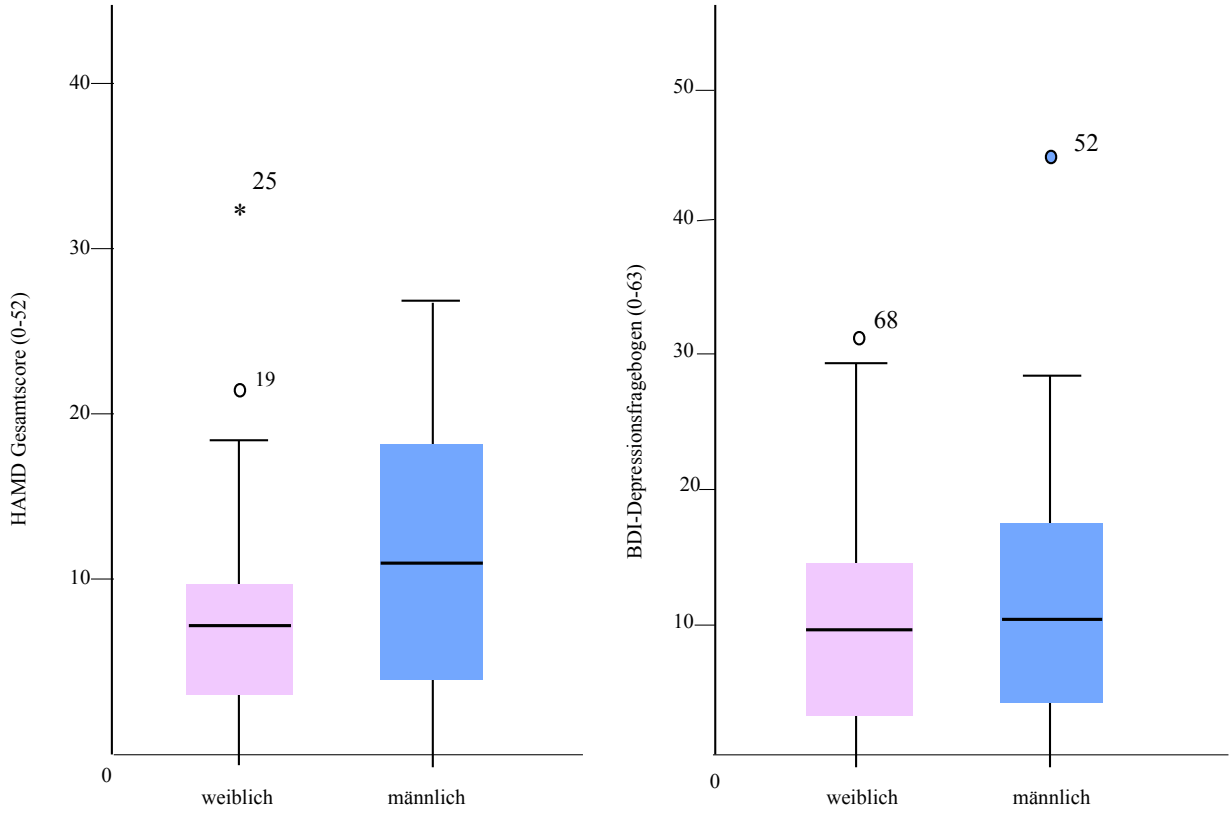


Abb.17 Einfluss des Geschlechts auf Depressivitätsskalen - Boxplot HAMD und BDI

4.3 Kognition

4.3.1. Kognitive Leistungsfähigkeit im Patientenkollektiv

Einen Überblick über die mittlere kognitive Leistungsfähigkeit im Kollektiv bietet *Tab 16*.

Bzgl. der meisten Testungen bewegte sich das Kollektiv im Mittelfeld einer gesunden Erwachsenenpopulation. Auf eine genaue Einordnung der einzelnen Testergebnisse nach alters-, geschlechts- und bildungsabhängigen Prozenträngen wurde aufgrund der Stichprobengröße verzichtet. Auf Testungen mit deutlicher Beeinträchtigung soll im Folgenden kurz eingegangen werden.

Erwartungsgemäß erzielten die Probanden im Bereich der formallexikalischen Wortflüssigkeit bessere Ergebnisse (etwa 65. Perzentile) als in der Testung der semantischen Wortflüssigkeit (21. Perzentile).[94] Eine deutliche Beeinträchtigung zeigte sich durchschnittlich im Bereich des verbalen Gedächtnisses. Hier bewegten sich die Leistungen (nach Altersgruppen) maximal auf der 25. Perzentile eines gesunden Kontrollkollektives.[99]

Tab. 16 Kognitiven Testungen – deskriptive Statistik

Testung ggf. mit Wertebereich		Minimum	Maximum	Mittelwert	Standard-abweichung
STROOP Lesezeit lang	(-1-11 Punkte)	3	11	7,0	1,90
STROOP Interferenztest	(-1-11 Punkte)	0	11	4,0	2,60
RWT "S" Rohwert (60s)		4	32	16,8	5,75
RWT "Tiere" Rohwert (60s)		2	40	20,8	6,26
Digit Span Rohwert	(0-24 Punkte	3	24	14,4	3,92
Zahlenspanne rückwärts	(0-12 Punkte	1	12	6,2	2,36
TMT Rohwert Test A in s		11	73	32,2	13,48
TMT Rohwert Test B in s		31	186	82,5	31,36
VLMT Lernleistung (DG 1-5)	(0-75 Punkte)	24	64	44,8	9,84
VLMT nach zeitlicher Verzögerung	(0-15 Punkte)	2	15	8,2	3,24
WCST Perservationsscore prozentual		27	80	49,2	10,78
WCST Categories Completed		0	6	4,9	1,79
WCST Failure to Maintain Set		0	7	1,0	1,21
CPT Deprime Zahlen		0,89	2,94	1,0	,83
CPT Deprime Symbole		0,57	2,94	1,3	,86

4.3.1.1 Einflussfaktoren

4.3.1.1.1 Demografische Daten

Die Schulbildung der Probanden stand in signifikantem Zusammenhang mit sechs der sieben ausgewerteten Testungen. Einzig der CPT-IP, der Aufmerksamkeit misst, war frei von diesem Einfluss. Die berufliche Bildung schien dagegen in keinem Zusammenhang zur Testleistung zu stehen. Während die Ergebnisse von RWI, Digit span (beides Exekutivfunktionen) und CPT-IP einen Zusammenhang zum Geschlecht aufzuweisen schienen, zeigten VLMT und WCST (Quantifizierung von Gedächtnisleistungen/Exekutivfunktionen) einen Zusammenhang zum Alter *(Tab.17)*.

Tab. 17 Demografische Einflussfaktoren auf kognitive Leistungstestungen (univariate Varianzanalyse) mit Angabe von P-Wert und Effektstärke, signifikante Ergebnisse sind fettgedruckt dargestellt

Test	Wert	Geschlecht	Alter	Schuljahre
STROOP	Interferenz	0,561 ES 0,00	0,740 ES 0,00	**0,001 ES 0,13**
RWT	„S“ RW	**0,048 ES 0,05**	0,248 ES 0,02	**0,003 ES 0,11**
RWT	„Tiere“ RW	**0,045 ES 0,05**	0,625 ES 0,00	**0,003 ES 0,10**
Digit Span	gesamt	**0,048 ES 0,05**	0,112 ES 0,03	**0,003 ES 0,11**
Digit Span	rückwärts	0,204 ES 0,02	0,300 ES 0,01	**0,002 ES 0,12**

Test	Wert	Geschlecht	Alter	Schuljahre
VLMT	DG 1-5	0,316 ES 0,01	**0,027 ES 0,06**	**0,000 ES 0,20**
VLMT	DG7	0,069 ES 0,04	**0,003 ES 0,11**	**0,009 ES 0,08**
VLMT	Wiedererkennung	0,432 ES 0,01	**0,037 ES 0,05**	0,141 ES 0,03
WCST	Categories Completed	0,356 ES 0,01	**0,008 ES 0,09**	**0,027 ES 0,06**
WCST	Failure to Maintain Set	0,441 ES 0,00	**0,027 ES 0,06**	0,821 ES 0,00
CPT	Deprime Zahlen	0,203 ES 0,02	**0,014 ES 0,08**	0,085 ES 0,04
CPT	Deprime Symbole	**0,034 ES 0,06**	0,112 ES 0,03	0,226 ES 0,03

4.3.1.1.2 Negativsymptomatik

Nach der PANSS Minus-Skala, dem Subtypenmodell von Singh et al und dem SANS Gesamtscore wurden im Kollektiv Probanden mit ausgeprägter Negativsymptomatik getrennt von den übrigen Probanden untersucht *(Tab.18)*.

Tab.18 Zusammenhang ausgeprägter Negativsymptomatik (Subtypenmodell nach Singh) mit dem Outcome der kognitiven Tests – (univariate Varianzanalyse) mit Angabe von p-Werten und Effektstärken, signifikante Ergebnisse sind fettgedruckt dargestellt

Test	Skala	PANSS		SANS
		Minusskala	Subtypenmodell nach Singh	
STROOP	Lesezeit	**0,003 ES 0,10**	**0,008 ES 0,08**	**0,000 ES 0,25**
STROOP	Interferenz	**0,006 ES 0,09**	**0,041 ES 0,05**	**0,003 ES 0,10**
RWT	„S“ RW	**0,000 ES 0,22**	**0,000 ES 0,18**	**0,000 ES 0,23**
RWT	„Tiere“ RW	**0,000 ES 0,18**	**0,013 ES 0,07**	**0,000 ES 0,19**
TMT	Test A RW	**0,000 ES 0,23**	**0,000 ES 0,16**	**0,000 ES 0,23**
TMT	Test B RW	0,113 ES 0,03	0,250 ES 0,02	**0,028 ES 0,06**
VLMT	DG1-5 Summenscore	**0,003 ES 0,10**	0,063 ES 0,04	**0,003 ES 0,11**
VLMT	DG7 RW	**0,043 ES 0,05**	0,198 ES 0,02	**0,032 ES 0,06**
CPT	Deprime Zahlen	0,098 ES 0,04	0,081 ES 0,04	**0,038 ES 0,06**
CPT	Deprime Symbole	0,088 ES 0,04	**0,038 ES 0,06**	0,084 ES 0,04

Probanden vom Negativsubtypus schnitten in den erwähnten Testungen signifikant schlechter ab als andere Probanden. WCST und Digit span (die als gemeinsame Domäne das Arbeitsgedächtnis abbilden) schienen in keinem Zusammenhang mit der Psychopathologie zu stehen (Daten nicht dargestellt).

4.3.2 Faktorenanalyse

Mittels Faktorenanalyse wurden zunächst die sieben etablierten Testverfahren auf mögliche kognitive Komponenten untersucht *(Tab. 19)*.

Tab.19 Faktorenanalyse A - 7 Testungen - Varimax-rotierte Komponentenmatrix mit inhaltlicher Zuordnung

Test	Wert	Komponente 1	2	3	4
STROOP	Lesezeit	**0,710**			
STROOP	Interferenz	0,586			
RWT	„S“ RW	**0,772**			
RWT	„Tiere“ RW	**0,757**			
Digit Span	Summenscore		**0,908**		
Digit Span	rückwärts RW		**0,905**		
TMT	Test A RW	**-0,631**			
TMT	Test B RW				
VLMT	DG 1-5 Summenscore			**0,798**	
VLMT	DG 7 RW			**0,874**	
WCST	Perservationsscore				
WCST	Categories Completed				
CPT	Deprime Zahlen				**0,836**
CPT	Deprime Symbole				**0,860**
mögliche Komponenten		**Exekutiv-funktionen**	**Arbeits-gedächtnis**	**verbales Gedächtnis**	**Aufmerksam-keit**

Tab. 20 Faktorenanalyse B - 10 Testungen – Varimax-rotierte Komponentenmatrix mit inhaltlicher Zuordnung

Test	Wert	Komponente 1	2	3	4
STROOP	Lesezeit	**0,702**			
STROOP	Interferenz	**0,613**			
RWT	„S“ RW	**0,742**			
RWT	„Tiere“ RW	**0,730**			
Digit Span	Summenscore		**0,895**		
Digit Span	rückwärts RW		**0,870**		
TMT	Test A RW				
TMT	Test B RW				
VLMT	DG 1-5 Summenscore			**0,746**	
VLMT	DG 7 RW			**0,864**	
VLMT	Wiedererkennungswert			**0,746**	
WCST	Perservationsscore				
WCST	Categories Completed				
CPT	Deprime Zahlen				**0,812**
CPT	Deprime Symbole				**0,805**
LPS 3	RW				
MWT-B	RW				
BLT	DG I			**0,750**	
BLT	DG II			**0,778**	
mögliche Komponenten		**Exekutiv-funktionen**	**Arbeits-gedächtnis**	**verbales Gedächtnis**	**Aufmerksam-keit (Vigilanz)**

In einem nächsten Schritt wurden zusätzlich drei weitere Testungen in der Faktorenanalyse berücksichtigt (MWT-B, LPS3, Bilderlerntest). Die vier Komponenten zeigten sich stabil, wobei

die Leistung im Bilderlerntest mit der Leistung im VLMT (verbales Gedächtnis) assoziiert zu sein scheint *(Tab.20).*

4.3.2.1 Einflussfaktoren

4.3.2.1.1 Demografischen Daten

Die Erkrankungsdauer, die erworbene Berufsbildung sowie die aktuelle berufliche Situation der Probanden schienen in keinem signifikanten Zusammenhang mit den kognitiven Komponenten zu stehen. Geschlecht, Alter, und Schulbildung scheinen jedoch einen Effekt zu haben *(Tab.21).*

Tab 21 Einflussfaktoren auf die Komponenten der Faktorenanalyse A, kumulativ untersucht

Komponente /Faktor:	1 (Exekutivfunktionen)	2 (Arbeitsgedächtnis)	3 (verbales Gedächtnis)	4 (Aufmerksamkeit)
Geschlecht	**0,022 ES 0,06**	**0,047 ES 0,05**	0,322 ES 0,01	**0,029 ES 0,06**
Alter	0,817 ES 0,00	**0,038 ES 0,05**	**0,002 ES 0,10**	**0,007 ES 0,09**
Schulbildung	**0,003 ES 0,10**	**0,001 ES 0,12**	**0,003 ES 0,10**	0,429 ES 0,00

4.3.2.1.2 Negativsymptomatik

Die Ausprägung der Negativsymptomatik stand in signifikantem Zusammenhang mit Komponente 1 (Exekutivfunktionen) der Faktorenanalyse (repräsentiert durch SANS Gesamtscore p=0,005 ES 0,82; durch Minusskala der PANSS p=0,027 ES 0,47; durch Negativsubtyp nach dem Subtypenmodell von Singh et al p=0,000, ES 0,15 *(Abb.18)).*

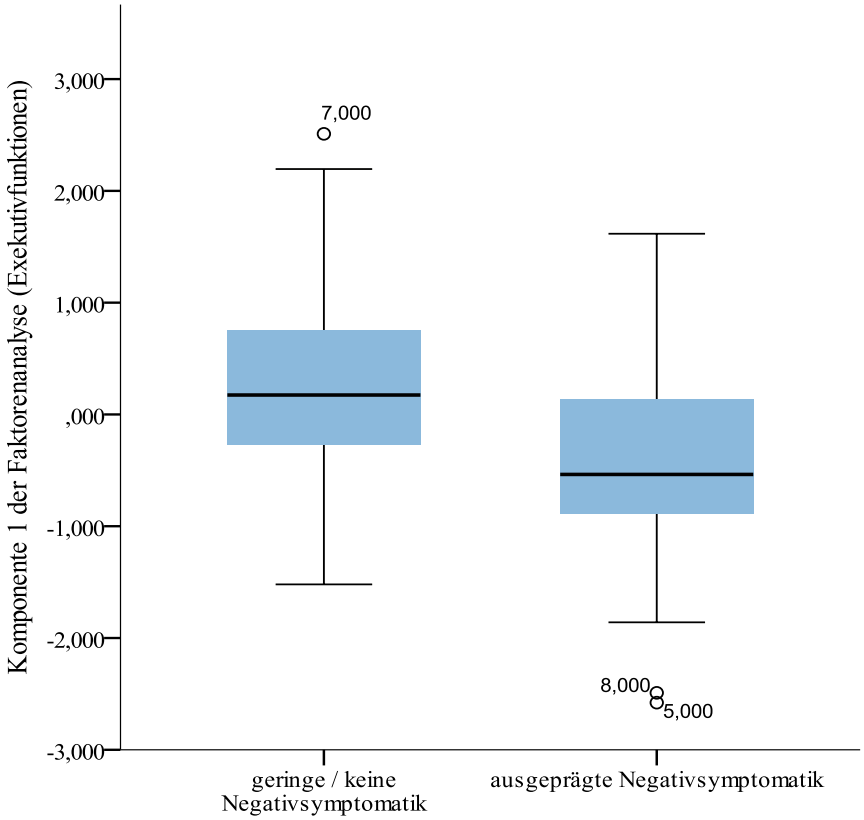


Abb.18 Leistung in den Exekutivfunktionen abhängig von der Negativsympomatik, hier Negativsymptomatik nach Singh[93] dargestellt (p=0,000 ES 0,15), Boxplott

4.4 Genetik

Als Marker des BLOC1S3-Gens wurden 4 SNPs (rs7247764, rs7253652, rs6509200, rs12460985) ausgewählt.

Mit Hilfe der Genotypisierungsdaten dieser SNPs wurden anschließend die 5 häufigsten Haplotypen charakterisiert, die ebenfalls als genetische Marker fungierten.

4.4.1 Charakterisierung der SNPs

Drei der vier SNPs lagen im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht. Für rs7253652 wurde für das Kontrollkollektiv hochsignifikant ein Abweichen vom Gleichgewicht berechnet (p=0,0003). Die SNPs wurden mit Hilfe mehrerer Modelle untersucht. Zunächst wurden die jeweiligen Allele als gleichwertig betrachtet, anschließend wurden die möglichen Dominanzmodelle untersucht. Da die Betrachtung in Dominanzmodellen in jeglichen Untersuchungen keine relevanten, zusätzlichen Informationen erbrachte, wurde auf deren Darstellung im Ergebnisteil verzichtet.

Mit dem Exakten Test nach Fisher wurden Allelfrequenzen und Genotypenverteilungen vom Gesamtkollektiv mit zwei kaukasischen Kollektiven aus den HapMap-Daten verglichen. Der

Vergleich unseres Gesamtkollektives mit den zwei bislang veröffentlichten Kollektiven ist in *Tab.22* dargestellt. Hier zeigten sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede in der Genotyp-Verteilung.

Tab 22. Genotypverteilung der SNPs im Vergleich zu HapMap-Daten HapMap-Ceu1/2 steht für 2 untersuchte Probandengruppen, rekruitiert aus Einwohner Utahs/USA mit Nord- oder Westeuropäischen Wurzeln - sie alle gehören zu den vom Centre d´Etude de Polymorphisme Humaine (CEPH) rekruitierten Versuchspersonen) [109]

rs7247764	CC	C/T	TT	C	T	n
HapMap-Ceu1	0,017	0,254	0,729	0,144	0,856	118
HapMap-Ceu2	0,017	0,25	0,733	0,142	0,858	120
Gesamtkollektiv	0,075	0,338	0,588	0,244	0,756	160
rs7253652	**CC**	**C/G**	**GG**	**C**	**G**	**n**
HapMap-Ceu1	.	0,25	0,75	0,125	0,875	120
HapMap-Ceu2	0,35	0,05	0,6	0,375	0.625	120
Gesamtkollektiv	0,13	0,224	0,646	0,242	0,758	161
rs6059200	**AA**	**A/T**	**TT**	**A**	**T**	**n**
HapMap-Ceu2	.	0,25	0,75	0,125	0,875	120
Gesamtkollektiv	0,037	0,267	0,696	0,171	0,829	161
rs12460985	**CC**	**C/T**	**TT**	**C**	**T**	**n**
HapMap-Ceu1	0,017	0,2	0,783	0,117	0,883	120
HapMap-Ceu2	0,017	0,203	0,78	0,119	0,881	118
Gesamtkollektiv	0,049	0,34	0,611	0,219	0,781	162

4.4.1.1 Einfluss der SNPs auf die Diagnose

Die genotypischen Ausprägungen der 4 SNPs wurden in Patienten- und Kontrollkollektiv mittels $\chi 2$-Test untersucht. Für keinen SNP konnte eine signifikante Assoziation zur Diagnose Schizophrenie nachgewiesen werden *(Tab. 23)*.

Tab. 23 SNP-Ausprägungen und die Diagnose Schizophrenie - Ergebnisse der $\chi 2$-Vierfelderanalyse

SNP	$\chi 2$	d	p-Wert
rs7247764	$\chi 2$=2,843	df=2	0,241
rs7253652	$\chi 2$=1,863	df=2	0,394
rs6509200	$\chi 2$=2,522	df=2	0,283
rs12460985	$\chi 2$=2,374	df=2	0,305

4. 4.1.2 Einfluss der SNPs auf die Psychopathologie

Mit der univariaten Varianzanalyse konnten Einflüsse einzelner SNPs auf psychopathologische Messwerte nachgewiesen werden. Ausgewertet wurden die Ergebnisse von PANSS (Gesamtscore, Minus-Skala, Plus-/Minus-Score), SANS Gesamtscore, CGI, GAF, QLS, NSA-16, HAMD, ESI-AS und BDI. rs7247764 und rs12460985 standen in signifikantem Zusammenhang zum Ergebnis psychometrischer Skalen (*Tab.24).*

Tab. 24 SNPs mit signifikantem Zusammenhang zu psychopathologischen Ratings mit Angabe von p-Wert und Effektstärke (univariate Varianzanalyse)

SNP	Rating	Skala	p-Wert, Effektstärke
rs7247764	BDI	Gesamtpunktzahl	0,030 ES 0,09
rs12460985	SANS	Gesamtscore	0,021 ES 0,10
	HAMD	Gesamtpunktzahl	0,043 ES 0,08
	CGI	Score	0,031 ES 0,09

4. 4.1.3 Einfluss der SNPs auf die kognitive Leistungsfähigkeit

Insbesondere rs12460985 steht in signifikantem Zusammenhang mit validen Auswertungsparametern von STROOP und RWI *(Tab.25).* Diese Testungen bilden (verbale) Arbeitsgedächtnisleistung ab.

Tab.25 SNPs mit signifikantem Zusammenhang zu kognitiven Testungen, mit Angabe von p-Wert, Effektstärke univariate Varianzanalyse

SNP	Testung	Skala	p-Wert, Effektstärke
rs7247764	VLMT	Summenscore DG 1-5	0,028 ES 0,09
rs12460985	STROOP	Lesezeit	0,031 ES 0,09
	RWI	RW „S“	0,018 ES 0,10

4.4.1.3.1 Einflüsse der SNPs auf die Komponenten der Faktorenanalyse

Mittels Univariater Varianzanalyse wurden die Covariaten Geschlecht, Alter und Schulbildung in die Berechnung mit einbezogen. Diesen Korrekturen konnte keine Assoziation zwischen einem einzelnen SNP und einer Komponente standhalten (Daten nicht dargestellt).

4.4.2 Charakterisierung der Haplotypen

Mit Hilfe der Software PHASE wurden die möglichen Haplotypen der 4 untersuchten SNPs ermittelt *(Abb.19)*. In der Auswertung wurden die 5 häufigsten Haplotypen näher untersucht.

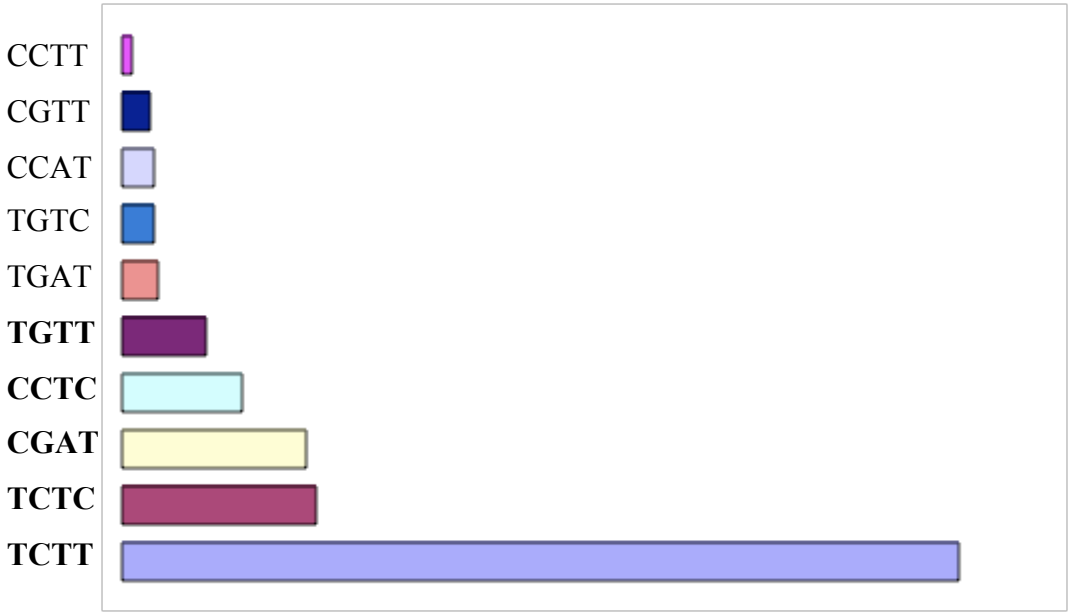


Abb. 19 Die zehn häufigsten Haplotypen der 4 untersuchten SNPs und ihre relative Häufigkeit im Kollektiv, fettgedruckt dargestellt sind die 5 häufigsten, die zu weiteren Berechnungen herangezogen wurden

4.4.2.1 Einfluss der Haplotypen auf die Diagnose

Es fand sich keine signifikant unterschiedliche Verteilung der fünf häufigsten Haplotypen in Patienten- und Kontrollkollektiv (p=0,445).

4.4.2.2 Einfluss der Haplotypen auf die Psychopathologie

Der häufigste Haplotyp TCTT scheint im Zusammenhang mit Negativsymptomatik und der Schwere der allgemeinen Funktionsbeeinträchtigung zu stehen. Auch der fünfthäufigste Haplotyp zeigte eine Assoziation zum Negativ-Subtypus (*Tab.26)*.

Tab. 26 Haplotypen mit signifikantem Zusammenhang zu psychopathologischen Ratings, mit Angabe von p-Wert und Effektstärke (univariate Varianzanalyse)

Haplotyp	Rating	Skala	p-Wert, Effektstärke
TCTT	PANSS	Plus/Minus-Score	0,039 ES 0,08
	PANSS	Negativ- Subtyp	0,014 ES 0,10
	SANS	Gesamtscore	0,014 ES 0,10
	GAF	Score	0,043 ES 0,08
TGTT	PANSS	NS- Subtyp	0,007 ES 0,09

4.4.2.3. Einfluss der Haplotypen auf die kognitive Leistungsfähigkeit

TCTT, der häufigste Haplotyp im Kollektiv, steht ebenfalls signifikant mit den Ergebnissen etablierter Leistungstestungen bei Schizophrenie in Zusammenhang *(Tab.27, Abb.20, Abb.21)*. Der zweithäufigste Haplotyp zeigt eine Assoziation zum WCST *(Tab. 27)*.

Tab.27 Haplotypen mit signifikantem Zusammenhang zu kognitiven Testungen. mit Angabe von p-Wert und Effektstärke (univariate Varianzanalyse; Covariaten: Geschlecht, Alter, Schulbildung)

Haplotyp	Testung	Auswertungswert	p-Wert, Effektstärke
TCTT	STROOP	Interferenz	0,044 ES 0,08
	RWI	Rohwert „S“	0,000 ES 0,20
TCTC	WCST	Failure to Maintain Set	0,012 ES 0,08

4.4.2.3.1 Einflüsse der Haplotypen auf die Komponenten der Faktorenanalyse:

Der häufigste Haplotyp TCTT steht in Zusammenhang mit der Komponente 1 der Faktorenanalyse (Exekutivfunktionen, p= 0,036, ES 0,08 *(Abb. 22))*.

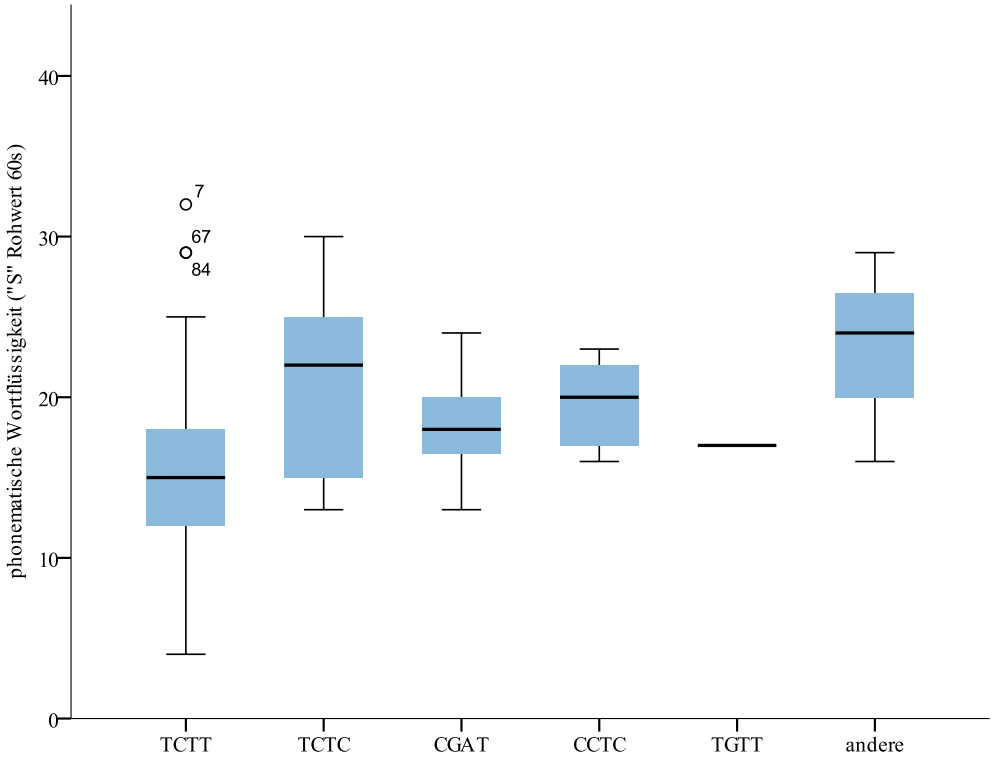


Abb. 20 Boxplott - Rohwert(60s) der formallexikalischen Wortflüssigkeit des RWT"S" (Regensburger Wortflüssigkeits-Test: S-Wörter-Test) in Abhängigkeit vom Haplotyp (dargestellt sind die fünf häufigsten Haplotypen des Kollektives)

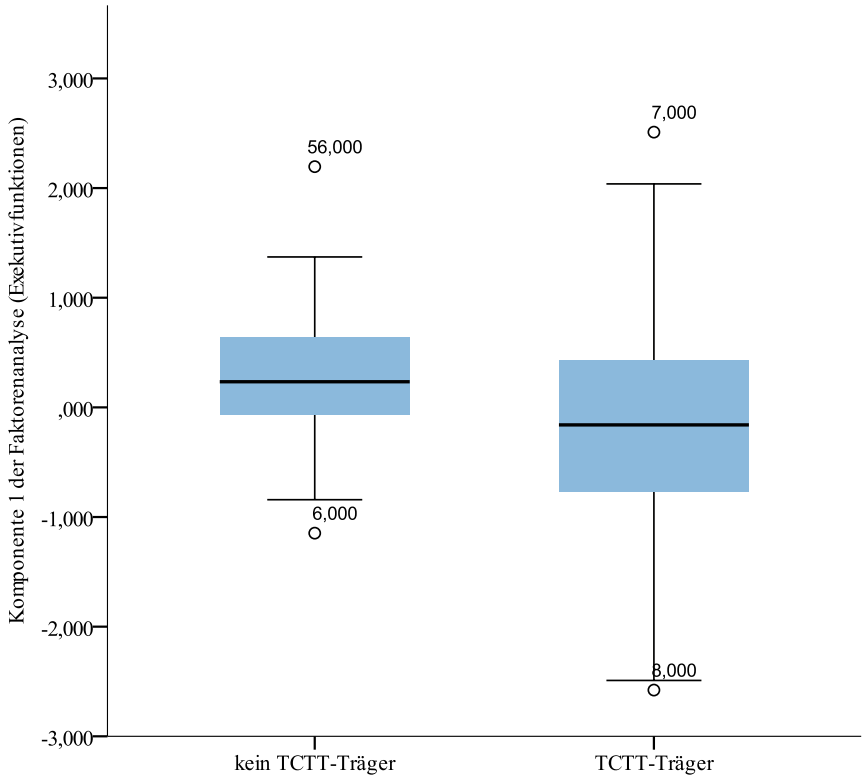


Abb. 21 Boxplott - Leistung Exekutivfunktionen abhängig vom Haplotyp TCTT (p=0,036, ES 0,08)

V DISKUSSION

Zunächst wurde das Patientenkollektiv durch die Auswertung ihrer demografischen Daten näher charakterisiert. Auffallend war dabei der hohe Bildungsgrad der Probanden. Über 50% der Versuchspersonen hatte das Abitur abgelegt, 25% anschließend ein Hochschulstudium erfolgreich abgeschlossen. Im Kontrast dazu standen die Beschäftigungsbedingungen der Probanden. Nur 15% waren voll berufstätig. Etwa 30% der Probanden litten unter ausgeprägter Negativsymptomatik. Den Fremdbeurteilungsverfahren zu Folge, waren die weiblichen Probanden davon weniger stark betroffen. In den Selbstbeurteilungsbögen zeigte sich dieser Unterschied jedoch nicht. Im Alter war eine Zunahme depressiver Symptomatik zu detektieren.
Diese erste Charakterisierung der Patienten zeigt die enorme auch wirtschaftliche Bedeutung der Erkrankung für den Einzelnen und die Gesellschaft und unterstreicht die Relevanz der Schizophrenieforschung.

5.1 Negativsymptomatik und Kognition

In der vorliegenden Arbeit konnte ein Zusammenhang zwischen der Ausprägung von Negativsymptomatik und der Schwere von kognitiven Defiziten bei Schizophrenie beschrieben werden.
Insbesondere die Leistung in den Testungen STROOP und RWT korrelierte mit Negativsymptomatik, die mittels verschiedener Ratings objektiviert wurde. Die Assoziation war Rating-übergreifend, was als Stärkemaß interpretiert werden könnte. Kognitive Leistung in anderen Testungen (CPT-IP, VLMT, TMT B) war nur mit einigen psychopathologischen Ratings korreliert, weshalb eine schwächere Assoziation angenommen wird. Die Schnittmenge der von den Testungen erfassten Domänen rückt Exekutivfunktionen und verbales Gedächtnis (insbesondere phonematische Wortflüssigkeit) vor Aufmerksamkeit und Arbeitsgedächtnis in den Fokus des Interesses. Die Faktorenanalyse stützt die Annahme einer besonders starken Beeinträchtigung der Exekutivfunktionen.
Ein biografisch wichtiger Einflussfaktor auf kognitive Leistungsfähigkeit schien die Anzahl der absolvierten Schuljahre zu sein, wohingegen die Berufsbildung in keinem signifikanten Zusammenhang zur Testleistung stand.

Ein Zusammenhang von ausgeprägter Negativsymptomatik und kognitiven Defiziten bei Schizophrenie ist etabliert.[110] Mehrere Arbeitsgruppen untersuchten die Veränderlichkeit der kognitiven Defizite bei erfolgreicher Therapie der Negativsymptomatik. Die motorische Geschwindigkeit der Probanden verbesserte sich mit nachlassender Negativsymptomatik

deutlich, wobei Intelligenzquotient, Wortflüssigkeit, Gedächtnisleistung und weitere kognitive Parameter stabil blieben.[111,112]

Schuepbach et al. veröffentlichten hingegen 2004 Ergebnisse einer Studie, die frühes therapeutisches Intervenieren bei Neuroleptika-naiven, erstdiagnostizierten Schizophrenen (n=32) untersuchte.[113] Die Medikation wurde nach Maßgabe des jeweils behandelnden Arztes (typische/atypische Neuroleptika, Anticholinergika) ausgewählt. Die Patienten wurden über den Verlauf von 2 Jahren begleitet. Mit einem frühen Rückgang von Negativsymptomatik konnte die Arbeitsgruppe eine langfristige Verbesserung der Leistungen in den Domänen Wortflüssigkeit, Aufmerksamkeit, nicht-verbales Lernen und Gedächtnis erfassen. Möglicherweise spielt der Zeitpunkt der therapeutischen Intervention eine entscheidende Rolle.

Bilder et al. beschrieben 2000 eine Korrelation zwischen Negativsymptomatik (erfasst durch SANS) und Exekutivfunktionen, hervorgegangen aus der faktorenanalytischen Dimensionsreduktion einer großen Testbatterie (35 Testungen).[114] Im Fokus standen hier die Symptome Sprachverarmung und affektive Verflachung. O´Leary, aus der Arbeitsgruppe um Nancy Andreasen, beschrieb 2000 eine Partialkorrelation (mit aktivem Herausrechnen von nicht untersuchten Symptomkomplexen) von Negativsymptomatik (SANS) mit Wortflüssigkeit und Gedächtnis bei n=134 Patienten.[115] Müller et al. konnten 2001 bei n=100 Schizophreniepatienten, deren Symptomatik mit dem PANSS erfasst wurde, die Korrelation von (phonematischer) Wortflüssigkeit und Negativsymptomatik bestätigen.[116] Einschränkend soll erwähnt sein, dass Studien zu Exekutivfunktionen und Negativsymptomatik keine einheitlichen Resultate zeigen.[3]

Die Frage nach einem Kausalzusammenhang zwischen beiden Symptomkomplexen bleibt unklar. Negativsymptomatik könnte Ausdruck eines schlechten kognitiven Leistungsniveaus sein. Symptome wie Alogie, Lethargie und Interessenlosigkeit könnten jedoch ebenso das Leistungsvermögen in neuropsychologischen Tests einschränken. Eine Koexistenz mit gemeinsamer pathophysiologischer Wegstrecke wäre ebenfalls denkbar.

Im Rahmen der Faktorenanalyse wurden 4 Komponenten ermittelt, die den Domänen Exekutivfunktionen, Digit span (Arbeitsgedächtnis), verbalem Gedächtnis und Aufmerksamkeit (Vigilanz) zugeordnet wurden. Die Domänen Digit span, verbales Gedächtnis und Aufmerksamkeit wurden nur durch mehrere Auswertungsparameter einer Testung charakterisiert. Das mag eine gute Validität der Testungen unterstreichen, jedoch lieferte hier die Faktorenanalyse in der Auswertung keine relevanten Zusatzinformationen. Die Komponente

Exekutivfunktionen setzte sich aus zwei Testungen zusammen: STROOP (Lesezeit und Interferenz) und RWT („S“ und „Tiere“). In einer Faktorenanalyse von Müller et al. 2004 konnte ebenfalls eine Komponente beschrieben werden, die explizit durch eine Wortflüssigkeitstestung und STROOP charakterisiert wird, wobei in der genannten Untersuchung nur semantische Wortflüssigkeit und STROOP-Interferenzleistung zur Komponente beitrugen.[117] Bei STROOP und RWT spielt die Bearbeitungszeit eine entscheidende Rolle, der Proband steht unter Druck. Inhaltlich muß bei der STROOP Interferenztestung automatisch die semantische Enkodierung der Wortfarbe unterdrückt werden, um das „richtige“ Wort zu lesen.[118] In der vorliegenden Arbeit waren neben der „Interferenzzeit“, zwei weitere etablierte Auswertungsparameter („Lesezeit“ und Rohwert zur phonematischen Wortflüssigkeit) in die Komponente integriert.

Im untersuchten Kollektiv zeigte sich die semantische Wortflüssigkeit stark eingeschränkt (mittlere Leistungen im Bereich der 21. Perzentile), die phonematische Wortflüssigkeit war weniger stark beeinträchtigt. Die Unterschiede im Leistungsvermögen Schizophreniekranker in diesen beiden Wortflüssigkeitsdomänen sind gut repliziert.[3] Bokat und Goldberg beschäftigten sich 2001 mit der Frage, ob diesen beiden Funktionen möglicherweise zwei unterschiedliche Physiologien zu Grunde liegen.[119] Zahlreiche Studien belegen, dass die kategoriale, semantische Testung für gesunde Probanden eine wesentlich einfachere Aufgabe darstellt als die phonematischen Testung.[3] Möglicherweise „irren“ Schizophreniepatienten länger in einem semantischen Netzwerk, ehe sie kategoriekonforme Worte formulieren können. Folglich wäre die Verarbeitungsgeschwindigkeit als limitierender Faktor der semantischer Wortflüssigkeit zu sehen.[15,120] Die Inhibition falscher oder sich wiederholender Antworten würde dann die zusätzlich benötigte Zeit in Anspruch nehmen, möglicherweise im Sinne eines STROOP-Interferenz-Phänomens.[121] Sumiyoshi et al. 2001 untersuchten die semantische Strukturbildung bei Schizophreniepatienten.[122] Die Defizite (Sz (Schizophreniepatienten) n=57 / Con (gesunde Kontrollen) n=33) lagen im Bilden von Clustern und im Wechsel verschiedener Cluster bei freecall-Wortflüssigkeitsausgaben. Die Defizite sind damit am ehesten im Bereich der Exekutivfunktionen in der Frontalregion zu lokalisieren.[123] Etwa im Rahmen der Testung semantischer Wortflüssigkeit der Rubrik „Tiere“ zeigten Kontrollen eine Clusterbildung nach Haustieren und Größe. Schizophrene Patienten taten das nicht. Ein Einflussfaktor auf die semantische Strukturbildung scheint der Erkrankungszeitpunkt zu sein. Ein frühes Auftreten der Schizophrenie korreliert eng mit einer schlechteren verbalen Intelligenz und wesentlich schlechterem Clusterverhalten. Bei Spätformen der Schizophrenie ist die semantische Strukturbildung der Probanden nahezu ungestört. Die Testleistung der Patienten mit dominierend

paranoider Symptomatik war bedeutend besser als die anderer Subtypen. Die These von einem Zusammenhang zwischen dominanter affektiver Symptomatik und Kognition wird durch diese Ergebnisse gestützt. [124]

5.2 BLOC1S3 und Schizophrenie

5.2.1 BLOC1S3 und die Diagnose Schizophrenie

Im zweiten Teil der Arbeit war zunächst Ziel die Erkenntnisse zu BLOC1S3 von Morris et al, 2008 zu replizieren.[63] Basierend auf dem Wissen über das valide Schizophrenie-Risikogen Dysbindin waren systematisch alle Untereinheiten von BLOC1 analysiert worden. In einem irischen Sample (Sz n=373, Con n=812) wurden im Fall-Kontroll-Design die Gene Muted, Cappuccino, Pallidin, Snapin, BLOC1S1, BLOC1S2 und BLOC1S3 auf eine Assoziation zu Schizophrenie untersucht. Jedes der Gene wurde mittels Denaturating High-Performance Liquid Chromatography (DHPLC) auf Sequenzvarianten untersucht. Im Fokus des Interesses standen Promoterregionen, Exons und die Exon-nahen Intronregionen. Im Fall von BLOC1S3 konnten die Exons jedoch aufgrund eines hohen GC-Gehaltes nicht ausreichend untersucht werden. 52 SNPs wurden genotypisiert und 2-3 Marker-Haplotypen für die einzelnen Gene ermittelt. Rs12480965 war der einzige SNP, dessen Assoziation zur Diagnose Schizophrenie der Korrektur für multiples Testen standhalten konnte (p=0,0028). Ein 2-Marker-BLOC1S3-Haplotyp (rs12480965 und rs7247764) zeigte eine grenzwertige Assoziation (p=0,052). In dieser Analyse wurden ausschließlich diese beiden SNPs für BLOC1S3 untersucht.

In der vorliegenden Arbeit konnten diese Ergebnisse nicht repliziert werden. Es fand sich für keinen der untersuchten genetischen Marker eine signifikante Assoziation zu der Diagnose Schizophrenie / Schizoaffektive Störung. Es gelang jedoch der Nachweis einer Korrelation von BLOC1S3-Polymorphismen und der Ausprägung der Symptomkomplexe Negativsymptomatik und kognitive Defizite.

5.2.1 BLOC1S3 und Negativsymptomatik

In dieser Arbeit konnte eine Assoziation von BLOC1S3 und Negativsymptomatik auf SNP- und Haplotyp-Ebene dargestellt werden. Es fanden sich Assoziationen von einzelnen SNPs zu HAMD, BDI, SANS und CGI. Haplotypen korrelierten mit PANSS Plus/Minus-Score, der Subtypen-Klassifikation, SANS und GAF. Die Differenzen in den Ergebnissen liegen möglicherweise in der Größe des untersuchten Kollektivs begründet, weswegen eine Replikation der Resultate mit größeren Probandenzahlen wünschenswert wäre. Die Untersuchung von BLOC1S3 und Negativsymptomatik wurde in der vorliegenden Arbeit erstmals unternommen,

weswegen die Ergebnisse mit Literatur zu Dysbindin verglichen werden sollen. Diese Vorgehensweise basiert auf der Annahme, dass sowohl Dysbindin als auch BLOC1S3 als Teilstücke von BLOC1 funktionieren.

Eine Assoziation von Risiko-Markern des Dysbindin-Gens und Negativsymptomatik wurde vielfach beschrieben.[125,126] Ergebnisse, die auf einen Zusammenhang mit der gesamten Symptomlast oder auf einen Schutz vor Positivsymptomatik hinweisen, sind weniger einheitlich.[127,128]

Im Zuge der Überlegungen zu einem etwaigen Kontinuum zwischen Schizophrenie und Affektiven Erkrankungen wurde Dysbindin auf Assoziationen zu andere Diagnosen untersucht. Für Dysbindin fanden sich signifikante Zusammenhänge zu psychotischen Symptomen bei unipolarer Depression sowie die Assoziation zu Antidepressiva-Respondern bei psychotischer Depression.[129] Domschke et al. untersuchten 2010 ein kaukasisches Kollektiv mit unipolarer Depression (n=243) und klassierte die Probanden auf vorhandene oder nicht-vorhandene paranoide Symptomatik.[130] Diese Einteilung basierte auf der Annahme, dass die Diagnose „Depression mit psychotischen Symptomen“ einem klinischen Phänotyp gleichkommt. Die Arbeitsgruppe konnte signifikante Assoziationen zwischen vier Dysbindin-SNPs und der psychotischen Symptomatik beschreiben. Es wurden vier Kombinationen von je 3 SNPs als 3 Marker-Haplotypen untersucht. Jeder dieser Haplotypen stand im Zusammenhang mit psychotischer Depression. Jeweils der häufigste Haplotyp schien vor psychotischen Symptomen zu schützen, wogegen der zweithäufigste eine Risikovariante darstellte.

Raybould et al. untersuchten 2005 in einem größeren Kollektiv (Bipolar Erkrankte n=726 / Con n=1407) Zusammenhänge von Dysbindin und Bipolarer Erkrankung. Diese Arbeitsgruppe konnte keine Assoziationen zur Diagnose nachweisen. Sie identifizierten dennoch eine Korrelation zwischen Dysbindin und psychotischem Erleben bei Bipolarer Störung, sowohl auf SNP-, als auch auf Haplotyp-Ebene. [131]

Pae et al. fanden 2007 einen 5-Marker-Haplotyp von Dysbindin, der in einem Sample mit 629 Probanden (Bipolar I Erkrankte n=151 / Con n=478), einen protektiven Effekt vor Bipolar I Störung aufwies.[132] Bipolar I Störungen sind nach DSM IV solche Bipolaren Erkrankungen, die mit mindestens einer manischen oder gemischten Episode einhergehen, die von einem depressiven Einbruch gefolgt ist. Bipolar II Störungen kennzeichnet dagegen eine längere depressive Episode, die von einer hypomanischen Phase gefolgt ist.

5.2.2 BLOC1 und kognitive Defizite

In der vorliegenden Arbeit fanden sich Assoziationen zwischen BLOC1S3-Polymorphismen und der kognitiven Leistungsfähigkeit der Probanden. Insbesondere die Leistungsstärke in zwei der Testungen korrelierte mit genetischen Markern (rs12460985 und der häufigste Haplotyp T-C-T-T): der RWT, als Maß für Wortflüssigkeit (zugeordnet zu den Domänen verbales Gedächtnis und Exekutivfunktionen) und der STROOP-Test (Aufmerksamkeit, Arbeitsgedächtnis und ebenfalls Exekutivfunktionen). Beide Testungen bilden Exekutivfunktionen ab, weswegen dies als zentral-beeinflusste Domäne im Folgenden diskutiert werden soll. Beide Testungen sind zeitabhängig und spiegeln somit auch Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit („processing speed“) wieder. Dieses Ergebnis geht mit der These von Dickinson konform. Er sieht „processing speed“ als zentrale Domäne der kognitiven Einschränkungen bei Schizophrenie.[15] Die SNP-Analyse zeigte weiterhin für rs7247764 Zusammenhänge zur verbalen Gedächtnisleistung.

BLOC1S3 wurde im Rahmen neuropsychiatischer Forschung nur zweimal untersucht. Neben Morris et al, 2008 erbrachte eine Untersuchung zu Morbus Alzheimer weiterführende Erkenntnisse.[63] Seshadri et al. beschäftigten sich 2010 mit der Genese des Morbus Alzheimer in einer genomweiten Assoziationsstudie.[79] Es gelang 4 SNPs zu identifizieren, die mit einer Signifikanz von $p<1.7x10^{-9}$ mit der Diagnose Alzheimer assoziiert waren (der bekannte Alpha-Lipoprotein E (APOE) Locus wurde hierbei jedoch nicht getestet). In einer 3-stufigen Analyse wurden insgesamt 35000 Probanden untersucht (Morbus Alzheimer Patienten n=8371). Zwei der identifizierten Loci wurden in dieser Arbeit erstmalig beschrieben: rs744373 nahe von BIN1 (Myc box-dependent-interacting protein 1 / Amphiphysin 2) auf Chromosom 2 und rs597668 nahe BLOC1S3 (und EXOC3L2 (Exocyst complex component3-like2) / MARK4 (Mikrotubule affinity-regulating kinase 4)) auf Chromosom 19. Die anderen zwei Loci lagen in Regionen der zuvor identifizierten möglichen Risikogene CLU (Clusterin) und PICALM (Phosphatidylinositol-binding clathrin assembly protein isoform 1).[133] Der SNP rs597668 liegt in der Region 19q13.3 unweit des bekannten Risikogens für Morbus Alzheimer APOE (19q32.2). In dieser Region liegen sechs Gene (u.a. BLOC1S3, EXOC3L2 und MARK4).[134] Zwei dieser Gene könnte nach bisherigen Erkenntnissen eine Rolle in der Pathophysiologie des Morbus Alzheimer zukommen. BLOC1S3, welches endo- und lysosomale Transportvorgänge zu bahnen scheint, steht wie MARK4 in Diskussion, die Neuronen-Differenzierung zu beeinflussen.[135] MARK4, die „Affinitäts-regulierende Kinase 4“, könnte zur abnormalen Tau-Phosphorylierung bei Morbus Alzheimer beitragen.[136]

Der von Seshadri et al. identifizierten Risikolocus auf Chromosom 2 nahe BIN1 ist möglicherweise auch für die Schizophenieforschung von Interesse. Schizophreniekranke zeigen nachweisbar eine veränderte Expression von dem von BIN1 kodiertem Amphiphysin 2.[137]
Der untersuchte SNP rs597668 auf Chromosom 19 liegt 3´downstream von BLOC1S3. Von den vier SNPs, die in der vorliegenden Arbeit untersucht wurden, liegt rs12460985, der die meisten Assoziationen zeigte, diesem am nächsten (etwa 1 Mio. Basenpaare entfernt). Kognitive Defizite, die im Rahmen der Schizophrenie wie auch beim Morbus Alzheimer auftreten, spiegeln u. U. eine gemeinsame Teilstrecke in der Pathophysiologie wieder.

Es sind vielfältige Assoziationen von Dysbindin zu einzelnen kognitiven Domänen beschrieben. Im Bereich der Gedächtnisfunktionen untersuchten Alfimova et al. 2009 knapp 700 Probanden (Sz n=405 / Con n=290) auf eine mögliche Assoziation zwischen zwei DTNBP1-SNPs und der Leistung des verbalen Kurzzeitgedächtnisses.[138] Mit Hilfe einer direkten Recall-Aufgabe von zwei Wortlisten à 10 Worten wurden mehrere Gedächtnisparameter erfasst. In jedem dieser Parameter unterschied sich die Leistung der Schizophreniekranken von derer der gesunden Kontrollen. Die Prozessvariablen, wie z.B. die proaktive Interferenz (Überlagerung von neu erlerntem durch vorheriges Wissen) zeigten eine signifikante Assoziation zu Dysbindin-Markern. Die Gesamtleistungsfähigkeit stand in keinem Zusammenhang mit Dysbindin.
Donohoe et al. zeigten 2010 an 52 Schizophreniekranken, dass vor allem ein Defizit im räumlichen Arbeitsgedächtnis mit Dysbindin-Risiko-Haplotypen in Verbindung stehen könnte.[139] Bei einem japanischen Probandenkollektiv konnten Dysbindin-Haplotypen ebenfalls mit Gedächtnisleistung in Zusammenhang gebracht werden. Die Arbeitsgruppe um Hashimoto untersuchte einen protektiven DTNBP1-Haplotypen (Sz n=70 / Con n=165).[140] Die Träger des schützenden Haplotyps unter den gesunden Probanden zeigten eine signifikant bessere Gedächtnisleistung als die übrigen Teilnehmer. Versucht man die Gedächtnisleistung von Probanden mit Risikohaplotyp mittels fMRT sichtbar zu machen, fielen Markov et al. 2010 bei Schizophreniepatienten eine ineffektive Aktivierung der zuständigen Areale auf.[141] Etwa für eine Arbeitsgedächtnis-Testung zeigte sich bei Dysbindin-Risiko-Haplotyp-Trägern eine vermehrte bilaterale Aktivierung des mittleren Frontalgyrus. Gewertet werden diese Ergebnisse als Ineffektivität oder zusätzliche Aktivität im Sinne einer nötigen exekutiven Kontroll-Aktivierung.
2010 untersuchen Thimm et al. ebenfalls in einer fMRT-Studie die Aufmerksamkeitsleistung Schizophrener mit bestimmten Dysbindin-Polymorphismen.[142] Drei Subtypen der Aufmerksamkeit wurden untersucht: warnende und orientierende Aufmerksamkeit sowie die exekutive Aufmerksamkeitskontrolle. Im linken präfrontalen Netzwerk konnte bei Risikoallel-

Trägern ein Defizit sichtbar gemacht werden. Diese Region ist bekannt als exekutive Kontrollebene von Aufmerksamkeitsprozessen. In post-mortem Untersuchungen konnte bei Schizophrenen eine verminderte Dysbindin-Expression in Hirnregionen wie Hippocampus und präfrontalem Cortex nachgewiesen werden, Regionen, deren Bedeutung für kognitive Leistungsfähigkeit unumstritten ist.[143]

5.2.3 BLOC1S3, Negativsymptomatik und Kognition

Negativsymptomatik und kognitives Leistungsvermögen fanden sich in ihrer Ausprägung mit spezifischen genetischen Markern assoziiert. (zwei SNPs: rs7247764 und rs12460985 und der häufigste Haplotyp: T-C-T-T).

Für den SNP rs12460985 zeigten sich sowohl Assoziationen zu Negativ- bzw. depressiver Symptomatik (SANS, HAMD), als auch zum kognitiven Leistungsvermögen der Probanden, insbesondere in den Testungen STROOP und RWT. Für den SNP rs7247764 konnte eine Assoziationen zu Negativsymptomatik (BDI) und verbalem Gedächtnis (VLMT) beschrieben werden.

Die Analyse häufiger Haplotypen ergab eine Assoziation zur Ausprägung der Negativsymptomatik (SANS, PANSS). Die heterozygoten T-C-T-T-Träger schienen am stärksten von ausgeprägter Negativsymptomatik betroffen zu sein. Homozygote T-C-T-T-Träger waren vor Negativsymptomatik geschützt. Der fünfthäufigste Haplotyp T-G-T-T zeigte ebenfalls einen Zusammenhang zur Negativsymptomatik, wobei auch heterozygote Träger dieses Haplotypen stärker von Negativsymptomatik betroffen zu sein schienen als homozygote. Bezüglich der kognitiven Leistungen bestätigte sich für den häufigsten Haplotypen das Korrelationsmuster des SNPs rs12460985: phonematische Wortflüssigkeit (RWT) und Leistungen im STROOP (Aufmerksamkeit, Arbeitsgedächtnis, Exekutivfunktionen) zeigten sich mit dem Vorhandensein von T-C-T-T assoziiert, wobei Träger dieses Haplotypen signifikant schlechtere Leistungen erzielten als Nicht-Träger. Mittels Faktorenanalyse konnte eine Komponente der Exekutivfunktionen ausgemacht werden, die signifikant mit T-C-T-T korreliert war. Der Haplotyp T-C-T-C und ein Auswertungsparameter des WCST (Failure to Maintain Set) standen ebenfalls in einem signifikanten Zusammenhang.

Die vorhandene Literatur zu einer möglichen Assoziation von kognitiven Defiziten, Negativsymptomatik und BLOC1 beschränkt sich wieder auf Untersuchungen zur Untereinheit Dysbindin.

Funke et al. konnten 2004 einen Risiko-Haplotypen von Dysbindin ausmachen, der bei weißen und hispanischen Probanden mit reduzierter kognitiver Leistung assoziiert war - sowohl bei

Schizophreniepatienten als auch gesunden Kontrollen.[144] Im Fall-Kontroll-Studiendesign (Schizoaffektive Störung und Sz n=524 / Con n=573) wurde ein Faktor für generelle kognitive Leistungsfähigkeit getestet, der sich aus einer Faktorenanalyse ergab, in die 7 Testungen Eingang erhielten: Digit Span, CPT-IP, Trailmaking Test A&B, ein Wortlisten-Lern-Test, ein Wort-Assoziationstest und ein Lesetest. Die Arbeitsgruppe fand eine Assoziation zwischen dem Risiko-Haplotypen C-T-C-T-A-C und schlechter kognitiver Leistung in beiden Kollektiven - gesunde Kontrollen als auch Schizophreniepatienten. Pamela DeRosso et al. beschrieb 2006 die Assoziation des gleichen Schizophrenie-Risiko-Haplotypen von Dysbindin mit Negativsymptomatik (nach dem Clinical Structured Interview for DSMIV, die lifetime-Symptome erfassend - 3 Items Alogie, affektive Verflachung und Antriebslosigkeit).[125]
Auch Burdick et al untersuchten 2006 den gleichen Risiko-Haplotypen für Schizophrenie auf Assoziationen zu kognitiven Defiziten, wobei sich eine Assoziation zu schlechter generell-kognitiver Leistung (wie bei Funke et al) replizieren ließ.[144,145] Im Fall-Kontroll-Studiendesign (Schizoaffektive Störung und Sz n=213 / Con n=126) wurde der zuvor beschriebene Faktor für generelle kognitive Leistungsfähigkeit getestet. Die Arbeitsgruppe fand ebenfalls eine Assoziation zwischen dem Risiko-Haplotypen und schlechter kognitiver Leistung in beiden Kollektiven - gesunde Kontrollen als auch Schizophreniepatienten. Dennoch zeigte keiner der Probanden des gesunden Kollektivs Negativsymptome. Dysbindin könnte dementsprechend in die Pathophysiologie beider Symptomkomplexe involviert sein, ohne dass beide ursächlich zusammenhängen.

5.6 Limitationen

5.6.1 Probanden

Basierend auf der Hypothese, dass Schizophrenie und Schizoaffektive Störungen Erkrankungen sind, denen eine ähnliche Pathophysiologie zu Grunde liegt, wurden Personen mit der Diagnose F20 (Schizophrenie) und F25 (Schizoaffektive Störung) nach ICD10 in das Patientenkollektiv eingeschlossen. Marneros et al. untersuchten 1989 beide Patientenkollektive im Vergleich.[146] Schizophreniepatienten waren durchschnittlich erheblich stärker durch ihrer Erkrankung beeinträchtigt als Patienten mit Schizoaffektiver Störung *(Tab.28*). Möglicherweise widersprechen diese Ergebnisse gemeinsamen pathophysiologischen Wegstrecken.

Tab.28 Vergleich von Schizophrenie und Schizoaffektiver Störung nach Marneros et al.1989[146]

Charakteristika	Schizophrenie	Schizoaffektive Störung
Patienten in Vollremission	10%	50%
Schizophrenes Residuum	Häufig	In Ausnahmefällen
Funktionelle Einschränkungen im Verlauf	häufig, schwer	selten, leicht
Geschlechtsspezifische Unterschiede	Männer starker betroffen als Frauen	keine

Das Patientenkollektiv zeigte eine weit überdurchschnittliche Schulbildung und eine im Durchschnitt sehr gute Berufsbildung, jedoch war nur ein kleiner Teil der Probanden vollständig berufstätig. Möglich ist, dass die finanzielle Aufwandsentschädigung, sowie der nötige zeitliche Aufwand zur Studienteilnahme die Anzahl berufstätiger Erkrankter verminderte.

Eine weitere Limitation begründet sich in der Natur der untersuchten Symptomatik. Anzunehmen ist, dass Patienten mit ausgeprägter Negativsymptomatik seltener die Sprechstunde aufsuchen als andere bzw. auch schwieriger zur Studienteilnahme zu bewegen sind. Schließlich leiden sie meist unter Symptomen wie sozialem Rückzug und Antriebsarmut. Die Probanden waren verschiedentlich medikamentös therapiert, etwaige Effekte der Medikation wurden nicht berücksichtigt.

Das Kontrollkollektiv bestand aus gesunden, kaukasischen Probanden, von denen einzig Geschlecht und Alter bekannt waren. Es ist nicht auszuschließen, dass sich darunter Probanden mit positiver Familienanamnese bzgl. Schizophrenie befanden bzw. Probanden, die später in ihrem Leben noch eine Schizophrenie entwickeln werden (z.B. als weiblicher Late-Onset-Typus).

5.6.2 Klinisches Testen

Die Probanden erfüllten das Kriterium der 6-monatigen Symptom-Stabilität. Der Komplex der Negativsymptomatik gilt im Krankheitsverlauf als relativ stabil und war aus ärztlicher Sicht bestmöglich behandelt. Dennoch ist möglich, dass nicht das Optimum der Behandlung erreicht war. Der Einsatz der beiden Depressionsratings HAMD und BDI ist insofern kritisch zu werten, als dass deren Einsatz nur für die Quantifizierung von Symptomatik im Rahmen einer diagnostizierten Depression evaluiert ist.

Durch das Absolvieren einer ganzen Testbatterie zur kognitiven Leistungsfähigkeit sind Verfälschungen durch geringe Ausdauer bzgl. der Einzelergebnisse nicht auszuschließen. Einige Probanden waren durch mehrfache Studienteilnahmen oder kognitives Training an die Testsituation gewöhnt. Effekte durch die privaten Erfahrungen im Umgang mit dem Computer sind bei WCST und CPT-IP möglich. Alle hier eingeschlossenen Probanden sprachen fließend

Deutsch. Dennoch sind Leistungsunterschiede zwischen Muttersprachlern und anderen Probanden insbesondere in den Domänen verbales Gedächtnis und Wortflüssigkeit möglich.

5.6.3 Experimentelle Laborarbeit

Die vorliegende Arbeit untersuchte BLOC1S3 in Zusammenhang mit Schizophrenie. Die Literatur zu diesem Thema ist limitiert. Die Anzahl der bekannten SNPs in diesem Bereich ist sehr gering. Durch einen enorm hohen GC-Gehalt im einzigen Exon des Gens kann dieser Bereich nur schlecht untersucht werden. Folglich liegen die genetischen Marker, die hier stellvertretend für BLOC1S3 untersucht wurden, in Gennähe. Insofern ist unsicher, ob BLOC1S3 durch die hier verwendeten Marker ausreichend und korrekt repräsentiert wurde. Der SNP rs1260985, der von funktioneller Relevanz zu sein scheint, liegt 3´downstream von BLOC1S3. Er könnte ebenso mit SNPs anderer Gene im Kopplungsungleichgewicht liegen und ein anderes potentielles Risikogen anzeigen.

Einer der untersuchten SNPs - rs7253652 - lag nicht im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht, womit eine wichtige Voraussetzung von Assoziationsstudien nicht erfüllt war. Rs7253652 zeigte jedoch keinerlei Assoziationen.

5.6.4 Auswertung

In der statistischen Auswertung mittels univariater Varianzanalyse wurden standardisiert bei der Betrachtung der Psychopathologie Alter und Geschlecht, bei Berechnung zu kognitiven Daten zusätzlich die Zahl der absolvierten Schuljahre als Covariaten in die Analyse einbezogen.

Im Rahmen der Faktorenanalyse erfolgte eine inhaltliche Zuordnung nach den jeweilig erfassten Hauptdomänen der Testungen. Es ist allerdings unumstritten, dass neuropsychologische Tests immer mehrere Domänen gleichzeitig erfassen.

Es erfolgte keine Korrektur auf multiples Testen.

In der Diskussion der vorliegenden Arbeit wird vielfach auf Dysbindin verwiesen. Unklar bleibt, welche Effekte von Dysbindin durch BLOC1 vermittelt sind und somit relevante Ansätze für die Untersuchung der anderen Untereinheiten liefern. Denkbar ist ebenso eine funktionelle Bedeutung als Einzelprotein oder eine Funktionsweise im Verband mit anderen Interaktionspartnern. Die britische Arbeitsgruppe um Dwyer untersuchte Dysbindin auf eine Assoziation zur Diagnose Schizophrenie (Sz n= 669, Con n=710).[147] Elf Exonregionen von Dysbindin wurden auf Sequenzvarianten gescreent. Alle signifikant assoziierten SNPs lagen außerhalb der Exons. Wenn DTNBP1 eine Rolle in der Pathophysiologie der Schizophrenie zukommt, dann ist der Effekt nach heutigem Kenntnisstand nicht aufgrund einer veränderten

Proteinstruktur zu erwarten. Dementsprechend bleibt unklar, ob Studienergebnisse zu Dysbindin auf BLOC1 übertragen werden können.

5.7 Ausblick

In Anbetracht der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit scheint BLOC1S3 lohnender Gegenstand zukünftiger Forschung zu sein. Da bislang, wie aus der Literaturrecherche ersichtlich, kaum Studien zu BLOC1S3 im Bereich Neurowissenschaften/Psychiatrie durchgeführt wurden, ist das Spektrum an interessanten Untersuchungen groß.

Die beschriebenen Assoziationen von BLOC1S3-Polymorphismen mit Negativsymptomatik und kognitiven Defiziten muss in größeren Kollektiven repliziert werden.

Für Dysbindin wurden Assoziationen zu fast jedem Symptomkomplex der Schizophrenie und vielen kognitiven Domäne beschrieben. Im Rahmen einer Evaluierung der Hypothese Dysbindin trage als Teil von BLOC1 zur Genese der Schizophrenie bei, gilt es, weitere Untereinheiten des Komplexes zu untersuchen. Über Assoziationsstudien könnte eine pathophysiologische Relevanz des Proteinkomplexes gesichert werden. Aber auch gegenteilige Studien, die eine Funktion von Dysbindin im Rahmen anderer Interaktionen außerhalb von BLOC1 nahelegen würden, erscheinen sinnvoll (z.B. Assoziationsstudien zu Interaktionspartnern Dysbindins wie Dystrobrevin A und B (DTNB-A/-B), Adaptor-related protein complex 3(AP3) und Synaptosomal-associated protein 25 (SNAP25)).

Im Bereich Neuropsychologie zeigen sich die hier vorliegenden Ergebnisse zu der These von Dickinson et al. stimmig, dass die verlangsamte kognitive Verarbeitungsgeschwindigkeit („processing speed“) zentraler Limitationsfaktor der kognitiven Leistungsfähigkeit bei Schizophrenie sein könnte.[15] Um diese Hypothese weiter zu belegen, sollte in Folgeuntersuchungen der hierbei zentrale Zahlen-Symbol-Test Verwendung finden. Dabei handelt es sich um ein etabliertes Testverfahren für Verarbeitungsgeschwindigkeit, es ist Teil des Hamburg-Wechsler-Tests für Erwachsene (HAWIE).[148]

In Hinblick auf die therapeutische Versorgung weckt die Untersuchung von Schuepbach et al, 2004 Hoffnung auf erfolgreiche Frühintervention bei den beiden therapeutisch schwer zugänglichen Symptomkomplexen Negativsyndrom und Kognitive Defizite.[113] Interessant wären dementsprechend Studien zur Frühintervention, in denen mittels kognitivem Training mögliche Auswirkungen auf bestehende bzw. im Verlauf entstehende/ausbleibende Negativsymptomatik untersucht werden. Weitere Arbeiten zu diesem Ansatz wären wünschenswert und könnten einen Beitrag zur Diskussion eines Kausalzusammenhangs der beiden Syndrome liefern.

Die Diagnosekriterien für schizophrene Störungen, aber auch affektive Erkrankungen sind umstritten. Die Idee eines Kontinuums zwischen Schizophrenie und affektiven Störungen wird diskutiert. Im Rahmen moderner, genetischer Forschung sollte diese Debatte zunehmend Berücksichtigung finden. Assoziationsstudien zu Untereinheiten von BLOC1 bzgl. Negativsymptomatik und kognitiven Defiziten könnten einen entscheidenden Beitrag zur Neubewertung der Diagnosekriterien für Schizophrenie leisten. Es zeigten sich mehrfach Assoziationen von Dysbindin zu einem Symptomkomplex, bestehend aus depressiv/negativer Symptomatik, kognitiven Defiziten und nur hintergründigem psychotischen Erleben, wobei die gestellte Diagnose (Schizophrenie, Schizoaffektive Erkrankung, Unipolare Depression, Bipolare Störung) dabei nur eine untergeordnete Rolle zu spielen schien.[3] Insbesondere die Assoziation von Dysbindin-Haplotypen zu genereller kognitiver Leistungsfähigkeit, die sich sowohl bei Gesunden als auch Schizophreniepatienten gleichermaßen zeigte, legt nahe, dass in zukünftigen Untersuchungen ein Aufweichen der Studien-Einschlusskriterien aussichtsreich wäre.[145] Für Studien zu einem depressiv/psychotischen Phänotyp, wie von Domschke et al. 2010 vorgeschlagen, gilt Ähnliches.[130] Auch die Ergebnisse von Seshadri et al. zur neurodegenerativen Erkrankung Morbus Alzheimer und dem möglichen Risikolocus BLOC1S3 legen eine symptomorientiertere Denkweise als Basis für Einschlusskritierien nahe.[79]

Probanden sollten als Individuen eingeschlossen werden, nicht als „Diagnose“. Hierbei ist auch die strikte Abgrenzung von „kranken“ Probanden und „gesunden“ Kontrollen zu überdenken. Betrachtet man die Schizophrenie als Kombination verschiedener Ausprägungen spezifischer Symptomkategorien (etwa psychomotorische Verlangsamung, Realitätsverzerrung und Desorganisiertheit im dimensionalen Ansatz nach Liddle), gibt es in jeder Kategorie geringe Ausprägungen, die allein oder in Kombination zwar mit dem „Stigma Gesund“ zu vereinbaren sind, jedoch auf molekularer Ebene pathologische Grundlagen mitbringen, die ebenso wie bei „kranken“ Ausprägungen nachweisbar sein könnte.[149] Ein mehrdimensionaler Ansatz in der Schizophrenieforschung stellt eine Herausforderung in der Entwicklung sensitiverer psychopathologischer und neuropsychologischer Test- und Rating-Verfahren dar. Hierbei käme der Frage nach der internationalen, kulturübergreifenden Vergleichbarkeit solcher sensibler Methodik eine große Bedeutung zu. Vielleicht könnte mit einem mehrdimensionalen Forschungsansatz in der Psychiatrie ein Beitrag zur Destigmatisierung der schizophrenen Störungen geleistet werden.

BLOC1 ist ein Proteinkomplex, dessen Funktionsweise es genauer zu verstehen gilt. Welche Rolle spielen die Lysosomen-ähnlichen Organellen in der Physiologie der Zellen? Welche

Recyclingvorgänge werden unterstützt, welche durch andere Organellen übernommen? Zur Klärung dieser Fragen erscheint die nähere Untersuchung jeder BLOC1-Untereinheit sinnvoll. Bei BLOC1S3 stellt sich dennoch - wie bei Dysbindin - die Frage, ob die Wirksamkeit tatsächlich über das Zusammenspiel mit den anderen BLOC1-Untereinheiten funktioniert, oder ob doch andere Mechanismen wirken. Untersuchungen mit BLOC1S3-defiziente Zellkulturen, folglich mit BLOC1-defizienten Zellen, könnten helfen, die Vorgänge des Organellen-Stoffwechsels der Lysosomen-Ähnlichen zu verstehen. Womit nicht nur ein Beitrag zur Klärung der Pathophysiologie der Schizophrenie, sondern auch ein Schritt auf dem Weg zum Verständnis der Funktionsweise des Gehirns gelingen kann.

VI ZUSAMMENFASSUNG

Schizophrenie ist eine häufige, schwere psychiatrische Erkrankung, die meist im jungen Erwachsenenalter ausbricht. Häufig wird die Krankheit die Betroffenen ein Leben lang begleiten. Kennzeichnend sind Positivsymptome, wie Wahnerleben, Ich-Störungen und akustische Halluzinationen; aber auch Negativsymptome und kognitive Defizite gehören zum Spektrum des klinischen Bildes. Während die Positivsymptome zunehmend erfolgreich und nebenwirkungsarm medikamentös behandelt werden, stellen Negativsymptome (Desozialisation, Depression u.a.) und kognitive Defizite weiterhin relativ therapieresistente Phänomene dar, deren Ausprägung als prognostisch relevant gilt.

Die Ursachen und Mechanismen der Entstehung einer Schizophrenie sind unklar. Ausgegangen wird von einer multifaktoriellen Genese - einem Zusammenspiel aus genetischen Faktoren und Umwelteinflüssen. Wobei sich die erbliche Komponente nicht auf die variable Ausprägung eines Gens zu beschränken scheint. In der Literatur ist eine Vielzahl von Risikogenen beschrieben. Dennoch konnte bislang kein plausibles Konzept zur Pathophysiologie der Erkrankung vorgestellt werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde ein weiteres Risikogen untersucht. BLOC1S3 (Biogenesis of Lysosome-related Organelles Complex 1-Subunit 3) ist ein Gen auf Chromosom 19, welches für das gleichnamige Protein codiert. Dieses Protein bildet mit sieben weiteren Untereinheiten BLOC1 (Biogenesis of Lysosome-related Organelles Complex 1) – einem Komplex zur Biogenese Lysosomen-verwandter Organellen. Eine dieser Untereinheiten ist Dysbindin. Nachweisbar ist, dass Dysbindin im menschlichen Gehirn bei Patienten mit Schizophrenie anders verteilt ist als im gesunden Gehirn. Das Dysbindin verschlüsselnde Gen gilt als gut evaluiertes Risikogen für Schizophrenie. Sollte Dysbindin als Untereinheit von BLOC1 zur Pathophysiologie der Schizophrenie beitragen, müssten sich u.U. auch Einflüsse von BLOC1S3-Polymorphismen im Gehirn von Schizophrenen nachweisen lassen. Eine solche Assoziation von Schizophrenie mit Polymorphismen dieses Gens konnte von der Arbeitsgruppe um Douglas Morris 2008 gezeigt werden.[63] Dieses Ergebnis sollte in der vorliegenden Studie repliziert werden. Ob Schizophrenie auch zukünftig als eigene Krankheitsentität beschrieben werden sollte, ist Gegenstand aktueller Debatten. Um diesem Diskurs Rechnung zu tragen, wurden die Probanden zudem auf Ebene von Symptomkomplexen untersucht. Hierbei stellte sich die Frage, ob der Schweregrad von Negativsymptomen oder kognitiver Defizite innerhalb des Patientenkollektives Assoziationen zu BLOC1S3-Polymorphismen aufweist.

Die Studie wurde im Fall-Kontroll-Design an 88 stabilen Schizophreniepatienten (Schizophrenie oder Schizoaffektive Störung) und 77 gesunden Kontrollen untersucht. Als genetische Marker der Studie dienten vier ausgewählte SNPs (Single Nucleotid Polymorphismus), sowie die fünf häufigsten Haplotypen dieser SNPs.

Die Ergebnisse der vorangegangenen Morris-Studie konnten hier nicht bestätigt werden. Es fand sich kein Zusammenhang zwischen BLOC1S3-Polymorphismen und der Diagnose Schizophrenie/Schizoaffektive Störung.
Auf Ebene der Symptomkomplexe konnte sich BLOC1S3 jedoch als aussichtsreiches Risikogen behaupten. Rs12460985 zeigte sich mit Negativsymptomatik wie auch mit kognitiven Defiziten assoziiert. Insbesondere auf die Leistung im STROOP-Test, sowie auf die Wortflüssigkeit der Probanden schien ein veränderliches BLOC1S3 Einfluss zu haben. Der bislang nicht untersuchte SNP rs7247764 zeigte ebenfalls Assoziationen zu Negativsymptomatik und verbalem Gedächtnis. Die Haplotyp-Analyse konnte diese Ergebnisse bestätigen. Der häufigste Haplotyp stand in Zusammenhang zur Ausprägung der Negativsymptomatik und zeigte bzgl. der kognitiven Daten dasselbe Muster wie der SNP rs12460985. Wortflüssigkeit und STROOP-Leistung waren die abhängigen Domänen. In der abschließenden Faktorenanalyse fanden sich Assoziationen des häufigsten Haplotypen zu dem Leistungsvermögen im Bereich der Exekutivfunktionen, was im Einklang zu den Ergebnissen der Einzeltestungen steht.
Zwischen Negativsymptomen und kognitiven Defiziten schien ein direkt-proportionaler Zusammenhang zu bestehen. Insbesondere die Domäne der Exekutivfunktionen war hierbei beeinträchtigt. Patienten mit ausgeprägter Negativsymptomatik zeigten schlechtere Testergebnisse in STROOP- und Wortflüssigkeitstestungen. Aufgaben zur verbalen Gedächtnisleistung und zur Aufmerksamkeit wurden von diesen Versuchspersonen ebenfalls schlechter bewältigt, jedoch war diese Assoziation weniger stark ausgeprägt.
Der vermutete Zusammenhang zwischen Negativsyndrom und kognitiven Defiziten könnte kausalen Charakter haben oder durch eine gemeinsame pathophysiologische Wegstrecke bedingt sein. Möglicherweise läge diese im Bereich der Stoffwechselvorgänge der Lysosomen-ähnlichen Organellen. BLOC1 kommt dabei eine Rolle im Rahmen des Wiederverwertungsprozesses einzelner Organellen zu.

Die Arbeit konnte BLOC1S3 als interessanten Gegenstand zukünftiger Untersuchungen weiter etablieren und die Hypothese stärken, dass Dysbindin als Untereinheit eines veränderten BLOC1 zur Entstehung der Schizophrenie oder einzelner Symptomkomplexe beträgt.

VII ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

°C	Grad Celsius
5-HT	5-Hydroxytryptamin; Serotonin
µl	Mikroliter
A	Adenin
Abb.	Abbildung
ALG II	Arbeitslosengeld II
APOE	Apolipoprotein E
AP3	adaptor-related protein complex 3
Aqua dest.	Aqua destillatum
BAföG	Bundesausbildungsförderungsgesetz
BIN1	Myc box-dependent-interacting protein 1; Amphiphysin 2
BLAST	Basic Local Alignement Search Tool
BLOC-1	Biogenesis of lysosome-related organelles complex-1
BLOC-1S1	Biogenesis of lysosome-related organelles complex-1 subunite 1
BLOC-1S2	Biogenesis of lysosome-related organelles complex-1 subunite 2
BLOC-1S3	Biogenesis of lysosome-related organelles complex-1 subunite 3
bp	Basenpaare
bzgl.	bezüglich
bzw.	beziehungsweise
C	Cytosin
CCM	Charité Campus Mitte
CEPH	Centre d'Etude du Polymorphisme Humain
CEU	spezielles europäisches Sample aus HapMap
CGI	clinical global impressions scale
CLU	Clusterin
COMT	Catecholamin-Oxidase-Methyltransferase
Con	Controls (gesundes Kontrollkollektiv)
CPT (-IP)	Continues Performance Test (-Identical Pairs)
DG	Durchgang
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DLPFC	dorsolateralen präfrontalen Cortex
DRD-2	Dopamin-2-Rezeptor
DRD-3	Dopamin-3-Rezeptor
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders Version IV
DTNB-A	Dystrobrevin - A
DTNB-B	Dystrobrevin - B
DTNBP1	Dysbindin / dystrobrevin-binding protein 1
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ES	Effektstärke
EU-Rente	Erwerbungsunfähigkeitsrente
EXOC3L2	Exocyst complex component3-like2
F20	ICD-10-Code für die Diagnose Schizophrenie
F25	ICD-10-Code für die Diagnose Schizoaffektive Störung
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie
G	Guanin
GABA	Gamma-Amino Buttersäure
ggf.	gegebenenfalls

GRM 3	metabotroper Glutamatrezeptor
h	Hour; Stunde
HapMap	Projekt zur Kartographierung der Haplotypen des menschlichen Genoms
HPS	Hermansky-Pudlak-Syndrom
ICD-10	International Classification of Diseases-Version 10
kb	Kilobasen
kDA	Kilodalton
mA	Milliampere
MARK4	Mikrotubule affinity-regulating kinase 4
Max	Maximum
$MgCl_2$	Magnesiumchlorid
min	Minute
Min	Minimum
Mind.	mindestens
Mio.	Millionen
ml	Milliliter
mM	Millimol
MRT	Magnetresonanztomographie
MW	Mittelwert
n	Anzahl
N-Back	Test mit kontinuierlicher Variation der Gedächtnisbelastung
NCBI	National Center for Biotechnology Information
Ncl.	Nucleus
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
OR	Odds ratio
p	aus der Statistik: hier Irrtumswahrscheinlichkeit
PANSS	Positive and Negative Syndrome Scale
PCR	Polymerase Chain Reaktion
PET	Positronenemissionstomographie
PICALM	phosphatidylinositol-binding clathrin assembly protein isoform 1
Primer F	Primer forward
Primer R	Primer reward
RW	Rohwert
s	Sekunden
SNAP 25	Synaptosomal-associated protein 25
SNP	Single Nukleotid Polymorphism
SYBR	Eigenname des Färbemittels
Sz	Schizophrenia
T	Thymin
Tab.	Tabelle
Taq	Thermus aquaticus
TBE	Tris-borate-EDTA
U	Units
UTR	Untranslated region
WHO	World Health Organisation
WP	Wortpräsentation
ZNS	zentrales Nervensystem

VIII LITERATUR

1 WHO. ICD-10-GM Version 2011 - Kapitel V Psychische und Verhaltensstörungen (F00-F99) Schizophrenie, schizotype und wahnhafte Störungen (F20-F29) In: Deutsches Institut für medizinisches Wissen und Information; 2010.

2 Tandon R, Keshavan MS, Nasrallah HA. Schizophrenia, "Just the Facts": what we know in 2008 part 1: overview. Schizophr Res 2008;100:4-19.

3 Kircher K GS. Neuropsychologie der Schizophrenie. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag; 2008.

4 Shotelersuk V, Gahl WA. Hermansky-Pudlak syndrome: models for intracellular vesicle formation. Mol Genet Metab 1998;65:85-96.

5 Möller HJ DA, Schaub A, Riedel M. Psychiatrie und Psychotherapie - Band 2 Spezielle Psychiatrie. 3 ed. Heidelberg Springer Verlag; 2008.

6 American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-IV. Washington, DC: American Psychiatric Publishing, Inc.; 2000.

7 Hughlings-Jackson. Selected Writings. London: Hodder and Stoughton Ltd 1931.

8 Andreasen NC. The Scale for the Assessment of Negative Symptoms (SANS): conceptual and theoretical foundations. Br J Psychiatry Suppl 1989:49-58.

9 Andreasen NC. The diagnosis of schizophrenia. Schizophr Bull 1987;13:9-22.

10 Leucht S. Therapie der Schizophrenie - Evidenzbasierte Behandlung. München: Urban&Fischer; 2007.

11 Marneros A, Andreasen NC. [Positive and negative symptoms of schizophrenia]. Nervenarzt 1992;63:262-70.

12 Lewine RR. Sex differences in schizophrenia: timing or subtypes? Psychol Bull 1981;90:432-4.

13 White L, Harvey PD, Opler L, Lindenmayer JP. Empirical assessment of the factorial structure of clinical symptoms in schizophrenia. A multisite, multimodel evaluation of the factorial structure of the Positive and Negative Syndrome Scale. The PANSS Study Group. Psychopathology 1997;30:263-74.

14 Harvey PD, Serper MR, White L, et al. The convergence of neuropsychological testing and clinical ratings of cognitive impairment in patients with schizophrenia. Compr Psychiatry 2001;42:306-13.

15 Dickinson D, Ramsey ME, Gold JM. Overlooking the obvious: a meta-analytic comparison of digit symbol coding tasks and other cognitive measures in schizophrenia. Arch Gen Psychiatry. 2007;64(5):532-42.

16 Zimmermann P FB. Testbatterie zur Aufmerksamkeitsprüfung. Herzogenrath; 2002.

17 Förstl H JT. Schizophrenie - Kognition bei Schizophrenie. 1 ed. Stuttgart: Thieme Verlag; 2006.

18 Nuechterlein KH, Dawson ME, Green MF. Information-processing abnormalities as neuropsychological vulnerability indicators for schizophrenia. Acta Psychiatr Scand Suppl 1994;384:71-9.

19 Astrid Blumstengel, 07/1998; Entwicklung hypermedialer Lernsysteme, http://dsor-fs.upb.de/~blumstengel/Gedaechtnismodelle.html , Stand 02.03.2011

20 Baddeley A. Working memory. Curr Biol 1986;20:R136-40.

21 Baddeley A. The episodic buffer: a new component of working memory? Trends Cogn Sci 2000;4:417-23.

22 Baddeley A. Working memory and language: an overview. J Commun Disord 2003;36:189-208.

23 Heinrichs RW, Zakzanis KK. Neurocognitive deficit in schizophrenia: a quantitative review of the evidence. Neuropsychology 1998;12:426-45.

24 Aleman A, Hijman R, de Haan EH, Kahn RS. Memory impairment in schizophrenia: a meta-analysis. Am J Psychiatry 1999;156:1358-66.

25 Green MF, Kern RS, Braff DL, Mintz J. Neurocognitive deficits and functional outcome in schizophrenia: are we measuring the "right stuff"? Schizophr Bull 2000;26:119-36.

26 Wolf RC, Vasic N, Walter H. [The concept of working memory in schizophrenia: current evidence and future perspectives]. Fortschr Neurol Psychiatr 2006;74:449-68.

27 Baddeley A, Logie R, Bressi S, Della Sala S, Spinnler H. Dementia and working memory. Q J Exp Psychol A 1986;38:603-18.

28 Cowan N, Elliott EM, Scott Saults J, et al. On the capacity of attention: its estimation and its role in working memory and cognitive aptitudes. Cogn Psychol 2005;51:42-100.

29 Ring N, Tantam D, Montague L, Newby D, Black D, Morris J. Gender differences in the incidence of definite schizophrenia and atypical psychosis--focus on negative symptoms of schizophrenia. Acta Psychiatr Scand 1991;84:489-96.

31 Green MF. What are the functional consequences of neurocognitive deficits in schizophrenia? Am J Psychiatry 1996;153:321-30.

31 Green MF, Kern RS, Heaton RK. Longitudinal studies of cognition and functional outcome in schizophrenia: implications for MATRICS. Schizophr Res 2004;72:41-51.

32 Kircher T. Neuronale Korrelate psychopathologischer Syndrome: Denk- und Sprachprozesse bei Gesunden und Patienten mit Schizophrenie. Darmstadt: Steinkopff Darmstadt; 2003.

33 Deister A, Marneros A. Long-term stability of subtypes in schizophrenic disorders: a comparison of four diagnostic systems. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci 1993;242:184-90.

34 Möller HJ LG, Deister A. Psychiatrie und Psychotherapie. 3th ed. Stuttgart: Thieme-Verlag; 2005.

35 Gleixner. Neurologie und Psychiatrie. 6th ed: Medizinische Verlags- und Informationsdienste; 2007.

36 Tandon R, Nasrallah HA, Keshavan MS. Schizophrenia, "just the facts" 4. Clinical features and conceptualization. Schizophr Res 2009;110:1-23.

37 Hegarty JD, Baldessarini RJ, Tohen M, Waternaux C, Oepen G. One hundred years of schizophrenia: a meta-analysis of the outcome literature. Am J Psychiatry 1994;151:1409-16.

38 Kraemer S SK, Schmid R, Lässle R. Cognitive therapy of schizophrenic patients managed by standard means. Nervenarzt 1987;58(2):84-90.

39 Laux GD, O König, W. Pharmakopsychiatrie. München: Urban&Fischer; 2001.

40 Nuechterlein KH, Dawson ME, Ventura J, et al. The vulnerability/stress model ofschizophrenic relapse: a longitudinal study. Acta Psychiatr Scand Suppl 1994;382:58-64.

41 Allen NC, Bagade S, McQueen MB, et al. Systematic meta-analyses and field synopsis of genetic association studies in schizophrenia: the SzGene database. Nat Genet 2008;40:827-34.

42 O'Donovan MC, Craddock N, Norton N, et al. Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up. Nat Genet 2008;40:1053-5.

43 Ng MY, Levinson DF, Faraone SV, et al. Meta-analysis of 32 genome-wide linkage studies of schizophrenia. Mol Psychiatry 2009;14:774-85.

44 Lawrie SM, Abukmeil SS. Brain abnormality in schizophrenia. A systematic and quantitative review of volumetric magnetic resonance imaging studies. Br J Psychiatry 1998;172:110-20.

45 Wright IC, Rabe-Hesketh S, Woodruff PW, David AS, Murray RM, Bullmore ET. Meta-analysis of regional brain volumes in schizophrenia. Am J Psychiatry 2000;157:16-25.

46 Bogerts B, Meertz E, Schonfeldt-Bausch R. Basal ganglia and limbic system pathology in schizophrenia. A morphometric study of brain volume and shrinkage. Arch Gen Psychiatry 1985;42:784-91.

47 Steen RG, Mull C, McClure R, Hamer RM, Lieberman JA. Brain volume in first-episode schizophrenia: systematic review and meta-analysis of magnetic resonance imaging studies. Br J Psychiatry 2006;188:510-8.

48 Scherk H, Falkai P. Effects of antipsychotics on brain structure. Curr Opin Psychiatry 2006;19:145-50.

49 Selemon LD, Rajkowska G, Goldman-Rakic PS. Elevated neuronal density in prefrontal area 46 in brains from schizophrenic patients: application of a three-dimensional, stereologic counting method. J Comp Neurol 1998;392:402-12.

50 Sawada K, Barr AM, Nakamura M, et al. Hippocampal complexin proteins and cognitive dysfunction in schizophrenia. Arch Gen Psychiatry 2005;62:263-72.

51 Reif A, Herterich S, Strobel A, et al. A neuronal nitric oxide synthase (NOS-I) haplotype associated with schizophrenia modifies prefrontal cortex function. Mol Psychiatry 2006;11:286-300.

52 Toro CT, Deakin JF. Adult neurogenesis and schizophrenia: a window on abnormal early brain development? Schizophr Res 2007;90:1-14.

53 Nazarian R, Starcevic M, Spencer MJ, Dell'Angelica EC. Reinvestigation of the dysbindin subunit of BLOC-1 (biogenesis of lysosome-related organelles complex-1) as a dystrobrevin-binding protein. Biochem J 2006;395:587-98.

54 Davis KL, Kahn RS, Ko G, Davidson M. Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. Am J Psychiatry 1991;148:1474-86.

55 Berman KF WD. Prefrontal dopamine and defect symptoms in schizophrenia. Washington DC American Psychiatric Press; 1991.

56 Holsboer DG, G Benkert, O Handbuch der Psychopharmakotherapie. Berlin: Springer; 2007.

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

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

59 Leboyer M, Bellivier F, Nosten-Bertrand M, Jouvent R, Pauls D, Mallet J. Psychiatric genetics: search for phenotypes. Trends Neurosci 1998;21:102-5.

60 Falcon-Perez JM, Starcevic M, Gautam R, Dell'Angelica EC. BLOC-1, a novel complex containing the pallidin and muted proteins involved in the biogenesis of melanosomes and platelet-dense granules. J Biol Chem 2002;277:28191-9.

61 Li W, Zhang Q, Oiso N, et al. Hermansky-Pudlak syndrome type 7 (HPS-7) results from mutant dysbindin, a member of the biogenesis of lysosome-related organelles complex 1 (BLOC-1). Nat Genet 2003;35:84-9.

62 Hermansky F, Pudlak P. Albinism associated with hemorrhagic diathesis and unusual pigmented reticular cells in the bone marrow: report of two cases with histochemical studies. Blood 1959;14:162-9.

63 Morris DW, Murphy K, Kenny N, et al. Dysbindin (DTNBP1) and the biogenesis of lysosome-related organelles complex 1 (BLOC-1): main and epistatic gene effects are potential contributors to schizophrenia susceptibility. Biol Psychiatry 2008;63:24-31.

64 Wei ML. Hermansky-Pudlak syndrome: a disease of protein trafficking and organelle function. Pigment Cell Res 2006;19:19-42.

65 Benson MA, Newey SE, Martin-Rendon E, Hawkes R, Blake DJ. Dysbindin, a novel coiled-coil-containing protein that interacts with the dystrobrevins in muscle and brain. J Biol Chem 2001;276:24232-41.

66 Dell'Angelica EC. The building BLOC(k)s of lysosomes and related organelles. Curr Opin Cell Biol 2004;16:458-64.

67 Starcevic M, Dell'Angelica EC. Identification of snapin and three novel proteins (BLOS1, BLOS2, and BLOS3/reduced pigmentation) as subunits of biogenesis of lysosome-related organelles complex-1 (BLOC-1). J Biol Chem 2004;279:28393-401.

68 Di Pietro SM, Falcon-Perez JM, Tenza D, et al. BLOC-1 interacts with BLOC-2 and the AP-3 complex to facilitate protein trafficking on endosomes. Mol Biol Cell 2006;17:4027-38.

69 Borner GH, Harbour M, Hester S, Lilley KS, Robinson MS. Comparative proteomics of clathrin-coated vesicles. J Cell Biol 2006;175:571-8.

70 Setty SR, Tenza D, Truschel ST, et al. BLOC-1 is required for cargo-specific sorting from vacuolar early endosomes toward lysosome-related organelles. Mol Biol Cell 2007;18:768-80.)

71 Lüllmann-Rauch R. Histologie. Stuttgart: Thieme-Verlag; 2003.

72 Zhang Q, Li W, Novak EK, et al. The gene for the muted (mu) mouse, a model for Hermansky-Pudlak syndrome, defines a novel protein which regulates vesicle trafficking. Hum Mol Genet 2002;11:697-706.

73 Huang L, Kuo YM, Gitschier J. The pallid gene encodes a novel, syntaxin 13-interacting protein involved in platelet storage pool deficiency. Nat Genet 1999;23:329-32.

74 Talbot K, Eidem WL, Tinsley CL, et al. Dysbindin-1 is reduced in intrinsic, glutamatergic terminals of the hippocampal formation in schizophrenia. J Clin Invest 2004;113:1353-63.

75 Numakawa T, Yagasaki Y, Ishimoto T, et al. Evidence of novel neuronal functions of dysbindin, a susceptibility gene for schizophrenia. Hum Mol Genet 2004;13:2699-708.

76 Iizuka Y, Sei Y, Weinberger DR, Straub RE. Evidence that the BLOC-1 protein dysbindin modulates dopamine D2 receptor internalization and signaling but not D1 internalization. J Neurosci 2007;27:12390-5.

77 GeneCards - BLOC1S3-Gene, http://www.genecards.org/cgibin/carddisp.pl?gene= BLOC1S3 (Stand 10.07.2012)

78 NCBI MapViewer, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/mapview/ maps.cgi?taxid=9606&chr=19&MAPS=ugHs,genes,snp-r&cmd=focus&fill=40& query=uid%28112111606%29&QSTR=rs12460985 (Stand 08.04.2010)

79 Seshadri S, Fitzpatrick AL, Ikram MA, et al. Genome-wide analysis of genetic loci associated with Alzheimer disease. Jama 2010;303:1832-40.

80 Cardno AG, Gottesman, II. Twin studies of schizophrenia: from bow-and-arrow concordances to star wars Mx and functional genomics. Am J Med Genet 2000;97:12-7.

81 Ghiani CA, Starcevic M, Rodriguez-Fernandez IA, et al. The dysbindin-containing complex (BLOC-1) in brain: developmental regulation, interaction with SNARE proteins and role in neurite outgrowth. Mol Psychiatry 2009;15:115, 204-15.

82 Guy W. Clinical global impression. In ECDEU assessment manual for psychopharmacology, revised 1976:217-22.

83 Weinheim R. GAF-Skala: Global Assessment of Functioning Scale Basel: Beltz; 1989.

84 Heinrichs DW, Hanlon TE, Carpenter WT, Jr. The Quality of Life Scale: an instrument for rating the schizophrenic deficit syndrome. Schizophr Bull 1984;10:388-98.

85 Kay SR, Fiszbein A, Opler LA. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. Schizophr Bull 1987;13:261-76.

86 Singh MM, Kay SR, Opler LA. Anticholinergic-neuroleptic antagonism in terms of positive and negative symptoms of schizophrenia: implications for psychobiological subtyping. Psychol Med 1987;17:39-48.

87 Axelrod BG, RS Alphs, LD. Validation of the 16-item Negative Symptom Assessment. J Psychiatr Res 1993;27:253-8.

88 Mass R, Haasen C, Wolf K. [The Eppendorf Schizophrenia Inventory (ESI). Development and evaluation of a questionnaire for assessment of characteristic self perception of cognitive dysfunctions by schizophrenic patients]. Nervenarzt 2000;71: 885-92.

89 Hamilton M. A rating scale for depression. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1960;23: 56-62.

90 Hamilton M. Development of a rating scale for primary depressive illness. Br J Soc Clin Psychol 1967;6:278-96.

91 Beck AT, Ward CH, Mendelson M, Mock J, Erbaugh J. An inventory for measuring depression. Arch Gen Psychiatry 1961;4:561-71.

92 Stroop JR. Studies of interference in serial verbal reactions. Journal of Experimental Psychology 1935;Band 18:S. 643-62.

93 Wolfram H NJ, Wieczorek V. Psychologische Leistungstests in der Neurologie und Psychiatrie: Methoden und Normwerte. Leipzig: Thieme; 1989.

94 Aschenbrenner A, Tucha, O., Lange K. RWT Regensburger Wortflüssigkeits-Test. Handanweisung. Göttingen; 2000.

95 Lezak MD. Neuropsychological assessment. New York: Oxford University Press; 1995.

96 Fisseni H. Lehrbuch der psychologischen Diagnostik. Göttingen: Hogrefe; 1990.

97 Tewes U. HAWIE-R. Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991; Handbuch und Testanweisungen. Bern ; Göttingen ; Toronto ; Seattle: Verlag Hans Huber; 1994.

98 Reitan RM. The relation of the trail making test to organic brain damage. J Consult Psychol 1955;19:393-4.

99 Rey A. L'examen psychologique dans les cas d'encephalopathie traumatique.(Les problems.). Archives de Psychologie 1941;28:215-85.

100 Cornblatt BA, Risch NJ, Faris G, Friedman D, Erlenmeyer-Kimling L. The Continuous Performance Test, identical pairs version (CPT-IP): I. New findings about sustained attention in normal families. Psychiatry Res 1988;26:223-38.

101 Berg EA. A simple objective technique for measuring flexibility in thinking. J Gen Psychol 1948;39:15-22.

102 Horn W. L-P-S Leistungsprüfsystem. Göttingen: Hogrefe, 1983.

103 Lehrl S. Mehrfachwahl-Wortschatz-Intelligenztest MWT-B. Balingen: Spitta Verlag; 2005.

104 Wolfram H NJ, Wieczorek V. Psychologische Leistungstests in der Neurologie und Psychiatrie: Methoden und Normwerte. Leipzig: Thieme; 1986.

105 Gregory SG, Barlow KF, McLay KE, et al. The DNA sequence and biological annotation of human chromosome 1. Nature 2006;441:315-21.

106 NCBI SNP, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?locusId=388552 (Stand 08.10.2010)

107 Sanel 2010, www. laborwissen.de/old_hp/fachbereiche/molbio/methoden/pcr/pcr.hti.gfi (Stand 03.08.2010)

108 Nichtmonetäre hochschulstatistische Kennzahlen: Statistisches Bundesamt 1992, http://www.unisaarland.de/uploads/media/Nichtmonetaere_hochschulstatistische_Kennzahlen_1980-2006_FS_11_R_4-3-1.pdf (Stand 12.05.2010)

109 NCBI - SNP - http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP (Stand 04.10.2010)

110 Möller HJ BR, Wegner U, Wittmann J, Strauss A. Long term course of schizophrenic, affective and schizoaffective psychosis: focus on negative Symptoms and their impact of global indicators fo outcome. Acta Psychiatr Scand Suppl 2000(407):54-7.

111 Hughes C KV, Soni W, Das M et al. Longitudinal study of symptoms and cognitive function in chronic schizophrenia. Schizophr Res 2003;59(2-3):137-46.

112 Mishara AL GT. A meta-analysis and critical review of the effects of conventional neuroleptic treatment on cognition in schizophrenia: opening a closed book. Biol Psychiatry 2004;55(10):1013-22.

113 Schuepbach D HS, Sanders RD, Hell D, Keshavan MS, Sweeney JA. Early treatment-induced improvement of negative symptoms predicts cognitive functioning in treatment-naive first episode schizophrenia: a 2-year followup. Schizophr Bull 2004;30(4):837-48.

114 Bilder RM GR, Robinson D, Reiter G et al. Neuropsychology of first-episode schizophrenia: initial characterization and clinical correlates. Am J Psychiatry 2000;157(4):549-59.

115 O'Leary DS FM, Kesler ML, Flashman LA, Arndt S, Andreasen NC. Cognitive correlates of the negative, disorganized, and psychotic symptom dimensions of schizophrenia. J Neuropsychiatry Clin Neurosci 2000;12(1):4-15.

116 Müller MJ SA, Wetzel H, Benkert O. Depressive Factors and their relationships with other symptom domains in schizophrenia, schizoaffective disorder and psychotic depression. Schizophr Bull 2001;27(1):19-28.

117 Müller U UM, Hammerstein E, Sachweh S, Becker T. Directed forgetting in schizophrenia: prefrontal memory and inhibition deficits. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci 2005;255(4):251-7.

118 Carter CS MM, Cohen JD. Interference and facilitation effects during selective attention: an H215O PET study of Stroop task performance. Neuroimage 1995;2(4):264-72.

119 Bokat C GT. Letter and category fluency in schizophrenic patients: a meta-analysis. . Schizophr Res 2003;64(1):73-8.

120 Aloia MS GM, Missar D, Pickar D, Weinberger DR, Goldberg TE. Cognitive Substrates of thought disorder, II: specifying a candidate cognitive mechanism. Am J Psychiatry 1998;155(12):1677-84.

121 Spitzer M BU, Maier S, Hermie L, Maher BA. Indirect semantic priming in schizophrenic patients. Schizophr Res 1993;11(1):71-80.

122 Sumiyoshi C MM, Sumiyoshi T, Yamashita, Sumiyoshi S, Kurachi M. Semantic Structure in schizophrenia as assessed by the category fluenca test: effect of verbal intelligence and age of onset. Psychiatry Res 2001;105(3):187-99.

123 Henry JD, Crawford JR. Cogn Neuropsychiatry. A meta-analytic review of verbal fluency deficits in schizophrenia relative to other neurocognitive deficits. Cogn Neuropsychiatry. 2005 Jan;10(1):1-33.

124 Zakzanis KK TA, Rich JB, Heinrichs W. Component analysis of verbal fluency in patients with schizophrenia. Neuropsychiatry Neuropsychol Behav Neurol 2000;13(4):239-45.

125 DeRosse P FB, Burdick KE, Lencz T et al. Dysbindin genotype and negative symptoms in schizophrenia. Am J Psychiatry 2006;163(3):532-4.

126 Fanous AH, van den Oord EJ, Riley BP et al. Relationship between a high-risk haplotype in the DTNBP1 (dysbindin) gene and clinical features of schizophrenia. Am J Psychiatry 2005;162(10):1824-32.

127 Wirgenes KV DS, Agartz I, Jonsson EG, Werge T, Melle I, Andreassen OA. Dysbindin and d-amino-acid-oxidase gene polymorphisms associated with positive and negative symptoms in schizophrenia. Neuropsychobiology 2009;60(1):31-6.

128 Pae CU DA, Kim JJ, Patkar AA et al. DTNBP1 haplotype influences baseline assessment scores of schizophrenic in-patients. Neurosci Lett 2008;440(2):150-4.

129 Kim JJ ML, Pae CU, De Ronchi D et al. Is there protective haplotype of dysbindin gene (DTNBP1) 3 polymorphisms for major depressive disorder. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2007;32(2):375-9.

130 Domschke K LB, Young R, Voisey J et al. Dysbindin (DTNBP1) - A role in psychotic depression? J Psychiatr Res 2010.

131 Raybould R GE, MacGregor S, Gordon-Smith K et al. Bipolar disorder and polymorphisms in the dysbindin gene (DTNBP1). Biol Psychiatry 2005 57(7):696-701.

132 Pae CU SA, Mandelli L, Yu HS et al. Effect of 5-haplotype of dysbindin gene (DTNBP1) polymorphisms for the susceptibility to bipolar I disorder. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet 2007;144B(5):701-3.

133 Harold D, Abraham R, Hollingworth P et al. Genome-wide association study identifies variants at CLU and PICALM associated with Alzheimer´s Disease. Nat Genet.2009;41 (10):1088-1093)

134 Poduslo SE, Yin X, A New Locus on chromosome 19 linked with late-onset Alzheimer´s disease. Neuroreport.2001; 12(17):3759-3761)

135 R.F. Moronia SDB, P. Colapietroa, L. Larizzaa and A. Beghinia. Cellular neuroscience, Distinct expression pattern of microtubule-associated protein/microtubule affinity-regulating kinase 4 in differentiated neurons. Neuroscience 2006;143(1):83-94.

136 Trinczek B BM, Ebneth A, Drewes G. MARK4 is a novel microtubule-associated proteins/microtubule affinity-regulating kinase that binds to the cellular microtubule network and to centrosomes. J Biol Chem 2004;279(7):5913-23.

137 English JA DP, Föcking M, Dunn MJ, Cotter DR. 2-D DIGE analysis implicates cytoskeletal abnormalities in psychiatric disease. Proteomics 2009;9(12):3368-82.

138 Alfimova MV MM, Abramova LI, Golubev SA, Golimbet VE. [Serotonin receptor (5-HTR2A) and dysbindin (DTNBP1) genes and component process variables of short-term verbal memory in schizophrenia].Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova 2009;109(7): 70-5

139 Donohoe G, Morris DW, Clarke S et al. Variance in neurocognitive performance is associated with dysbindin-1 in schizophrenia: a preliminary study. Neuropsychologia. 2007;45:454–458.

140 Hashimoto R, Noguchi H, Hori H et al. A genetic variation in the dysbindin gene (DTNBP1) is associated with memory performance in healthy controls. World J Biol Psychiatry. 2010 Mar;11(2 Pt 2):431-8.

141 Markov V, Krug A, Krach S et al. Impact of schizophrenia-risk gene dysbindin 1 on brain activation in bilateral middle frontal gyrus during a working memory task in healthy individuals. Hum Brain Mapp. 2010 Feb;31(2):266-75.

142 Thimm M, Krug A, Kellermann T et al. The effects of a DTNBP1 gene variant on attention networks: an fMRI study. Behav Brain Funct. 2010 Sep 16;6:54.

143 Weickert CS SR, McClintock BW, Matsumoto M et al. Human dysbindin (DTNBP1) gene expression in normal brain and in schizophrenic prefrontal cortex and midbrain. Arch Gen Psychiatry 2004;61(6):544-55.

144 Funke B FC, Plocik AM, Lake S et al. Association of the DTNBP1 locus with schizophrenia in a U.S. population. Am J Hum Genet 2004;75(5):891-8.

145 Burdick KE LT, Funke B, Finn CT et al. Genetic variation in DTNBP1 influences general cognitive ability. Hum Mol Genet 2006;15(10):1563-8.

146 Marneros A DA, Rohde A, Steinmeyer EM, Jünemann H. Long-term outcome of schizoaffective and schizophrenic disorders: a comparative study. I. Definitions, methods, psychopathological and social outcome. Eur Arch Psychiatry Neurol Sci 1989;238(3):118-25.

147 Dwyer S CL, Mantripragada KK, Owen MJ, O'Donovan MC, Williams NM. Mutation screening of the DTNBP1 exonic sequence in 669 schizophrenics and 710 controls using high-resolution melting analysis. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet 2010;153B(3):766-74.

148 Volz HP RF, Riedel M. [Cognitive disorders in schizophrenic patients]. Nervenarzt 2010;81(1):39-54.

149 Liddle, P.F.: The symptoms of chronic schizophrenia: a re-examination of the positive-negative dichotomy. British Journal of Psychiatry. 1987(151);145–151

IX DANKSAGUNG

Zunächst danke ich allen bereitwilligen Patienten, die mit der Teilnahme an dieser Studie die vorliegende Arbeit ermöglicht haben.

Frau Prof. Imke Puls danke ich für die Übernahme des Themas, die hervorragende Betreuung, ihre permanente Ansprechbarkeit, zahlreiche nächtliche Korrekturen und ihre schier übermenschliche Geduld mit mir.
Für ihre Hilfsbereitschaft und die ausgesprochen freundliche und kollegiale Arbeitsatmosphäre danke ich den Mitarbeitern der AG „Genetik der Psychiatrie“ der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie Charité Campus Mitte. Mein Dank gilt insbesondere Dr. Werner Kitzrow, Sarina Richter und Dr. George Bakanidze für die geduldige Betreuung im Labor, sowie meinen Mitstreitern Silke Onken, Christine Hutzler und Martin Liening für ihre Unterstützung. Den Mitarbeitern der psychiatrischen Institutsambulanz, allen voran Silvia Thiel, danke ich für die unkomplizierte Hilfe bei der Rekrutierung der Probanden. PD Dr. Michael Rapp und Dr. Thomas Bengner möchte ich für die Beratung in neuropsychologischen Fragen danken.

Ganz herzlicher Dank gilt meinen großartigen Freunden für ihre Hilfsbereitschaft und manche Durchhalteparolen. Insbesondere Dörte Faust danke ich für unsere einzigartige, kraftspendende Freundschaft.

Abschließend möchte ich meiner Familie – insbesondere meinen Eltern - danken. Neben der materiellen Unterstützung im Studium, danke ich ihnen für die zahllosen Gespräche, ihre ständige Bereitschaft zur Krisenintervention, für das Schaffen eines heimatlichen Anlaufpunktes und das Vertrauen in meine Möglichkeiten. Merci.

X ERKLÄRUNG

„Ich, Friederike Auraß, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Einflüsse von BLOC1S3-Polymorphismen auf Schizophrenie mit Fokus auf Negativsymptomatik und kognitive Defizite“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Potsdam, 01. August 20112 Friederike Auraß

XI LEBENSLAUF

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht."