

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

DISSERTATION

Dysbindin-1 (DTNBP-1) und Negativsymptomatik bei Patienten mit Schizophrenie

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Susanne Büttner

aus Frankfurt/Oder

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. I. Puls
 2. Prof. Dr. med. R. Hellweg
 3. Prof. Dr. med. M. Rietschel

Datum der Promotion: 30. Januar 2009

*>>Das Talent eines Neuerers besteht darin,
das zu sehen, was jeder sieht und das zu
denken, was niemand denkt.>>
(Claude Bernard)*

Inhaltsverzeichnis

I.	Zusammenfassung	<u>Seite 7</u>
II.	Einleitung	
	2.1. Schizophrenie	
	2.1.1. Geschichtliches	<u>Seite 9</u>
	2.1.2. Definition	<u>Seite 9</u>
	2.1.3. Epidemiologie	<u>Seite 10</u>
	2.1.4. Diagnose/Symptome	<u>Seite 10</u>
	2.1.5. Verlauf/Prognose	<u>Seite 11</u>
	2.1.6. Ätiopathogenese	<u>Seite 12</u>
	2.1.6.1. Neurochemische Ursachen	<u>Seite 12</u>
	2.1.6.2. Neuropathologische Ursachen/Bildgebung	<u>Seite 12</u>
	2.1.6.3. Psychosoziale Ursachen	<u>Seite 13</u>
	2.1.6.4. Genetische Ursachen	<u>Seite 14</u>
	2.2. Negativsymptomatik	
	2.2.1. Das Konzept der Negativsymptomatik	<u>Seite 15</u>
	2.2.2. Einzelne negative Symptome	<u>Seite 16</u>
	2.2.3. Phänomenologie der Negativsymptomatik	<u>Seite 16</u>
	2.2.4. Ursachen der Negativsymptomatik	<u>Seite 17</u>
	2.3. Dysbindin-1 (DTNBP-1) und Negativsymptomatik	
	2.3.1. Dysbindin-1	<u>Seite 18</u>
	2.3.2. Dysbindin-1 in der Muskulatur	<u>Seite 18</u>
	2.3.3. Dysbindin-1 im Gehirn	<u>Seite 20</u>
	2.3.4. Dysbindin-1- Einfluss auf Schizophrenie und Negativsymptomatik	<u>Seite 21</u>
III.	Fragestellung	<u>Seite 24</u>
IV.	Methoden	
	4.1. Klinischer Teil	
	4.1.1. Kontrollgruppe	<u>Seite 25</u>
	4.1.2. Patientengruppe	<u>Seite 25</u>
	4.1.3. Einschlusskriterien	<u>Seite 26</u>

4.1.4. Ausschlusskriterien	Seite 27
4.1.5. Psychometrische Messinstrumente	Seite 27
4.1.5.1. Universal Rating	Seite 27
4.1.5.2. PANSS	Seite 28
4.1.5.3. NSA-16	Seite 28
4.1.5.4. CGI	Seite 29
4.1.5.5. GAF	Seite 29
4.2. Experimenteller Teil	
4.2.1. allgemeine Erklärungen	Seite 31
4.2.1.1. Einzelnukleotidpolymorphismen/single nucleotide polymorphisms (SNPs)	Seite 31
4.2.1.2. PCR	Seite 31
4.2.1.3. Agarose-Elektrophorese	Seite 33
4.2.1.4. RFLP (Restriktionslängenpolymorphismus)	Seite 34
4.2.2. DNA-Extraktion	Seite 33
4.2.3. Genotypisierung	Seite 34
4.2.4. PCR-Ansätze/Restriktionsenzymverdau	Seite 35
4.2.5. Software	Seite 37
4.2.6. Geräte und Chemikalien	Seite 37
4.3. Statistische Auswertung	Seite 38

V. **Ergebnisse**

5.1. Linkage Disequilibrium	Seite 39
5.2. Auswertungen der Genotypisierungen	
5.2.1. Analyse SNP rs909706	Seite 41
5.2.2. Analyse SNP rs1018381	Seite 42
5.2.3. Analyse SNP rs2619522	Seite 43
5.2.4. Analyse SNP rs760761	Seite 44
5.2.5. Analyse SNP rs2619528	Seite 45
5.2.6. Analyse SNP rs1011313	Seite 47
5.3. Auswertung der psychometrischen Fremdbeurteilungsbogen und deren Assoziation mit den Genotypisierungsbefunden	
5.3.1. PANSS	Seite 48
5.3.2. NSA-16	Seite 50

5.3.3.	CGI	<u>Seite 50</u>
5.3.4.	GAF	<u>Seite 51</u>
5.3.5.	Einfluss der Genotypen auf den Verlauf der Negativsymptomatik	<u>Seite 52</u>
5.4.	Haplotypenberechnungen und Einfluss auf Schizophrenie und Negativsymptomatik	
5.4.1.	Haplotypenberechnung/Blöcke für das gesamte Kollektiv	<u>Seite 54</u>
5.4.2.	Einfluss der Haplotypen auf Schizophrenie	<u>Seite 55</u>
5.4.3.	Einfluss der Haplotypen auf Negativsymptomatik	<u>Seite 55</u>
VI.	Diskussion	
6.1	Überblick zu Design und Resultaten von Referenzstudien	<u>Seite 57</u>
6.2.	Vergleich der in unserer Studie untersuchten Einzelmarker und Haplotypen mit Referenzstudien	<u>Seite 63</u>
6.3.	Haplotypen des DTNBP-1 Gens und Einfluss auf Negativsymptomatik	<u>Seite 70</u>
6.4.	Limitationen der vorliegenden Arbeit und Referenzstudien	<u>Seite 72</u>
6.5.	Ausblick auf zukünftige Untersuchungen	<u>Seite 75</u>
VII.	Abkürzungen und Fachbegriffe	<u>Seite 77</u>
VIII.	Literaturverzeichnis	<u>Seite 79</u>
IX.	Danksagung	<u>Seite 87</u>
X.	Erklärung	<u>Seite 88</u>
XI.	Lebenslauf	<u>Seite 89</u>

I. Zusammenfassung

Die Schizophrenie ist eine schwerwiegende chronische psychiatrische Störung multifaktorieller Genese mit einer ausgeprägten Heritabilität und einem Lebenszeiterkrankungsrisiko von annähernd 1%. Charakteristisch ist sowohl die Positivsymptomatik (u.a. Wahn, Halluzinationen, formale Denkstörungen) als auch die Negativsymptomatik (u.a. Affektverflachung, Antriebsschwäche, Anhedonie). Durch eine medikamentöse Therapie mittels typischer und atypischer Neuroleptika gelang es vor allem, die hervorstechende Positivsymptomatik zu lindern. Die Negativsymptomatik hingegen stellt auch heute noch ein unzureichend gelöstes Problem dar, das als schwerwiegender und erheblich beeinträchtigender Symptomenkomplex für den schizophrenen Patienten gilt.

Bei der Suche nach kausalen chromosomalen Loci und Genen wurden multiple Gene mit jeweils nur geringen Beiträgen zur Entstehung und Ausprägung der Erkrankung gefunden. Bisher gelang kein Nachweis von eindeutig pathogenen Mutationen. Eine definitive Bestätigung von spezifischen Genen als Suszeptibilitätsgene für die Schizophrenie könnte das pathogenetische Verständnis verbessern und den Fortschritt in der gezielten Entwicklung neuer Medikamente sowie in der Prävention unterstützen.

Dystrobrevin-binding protein 1 (DTNBP-1) oder Dysbindin-1 ist ein Kandidatengen auf Chromosom 6, das sowohl in Kopplungs- als auch in Assoziationsstudien als Risikogen für die Schizophrenie und insbesondere Negativsymptomatik identifiziert wurde. DTNBP-1 spielt eine entscheidende Rolle in der Signalübertragung im Gehirn und ist Teil der postsynaptischen Verdichtung. Es zeigte sich eine signifikant verringerte Expression auf Gen- und Proteinebene im präfrontalen Kortex und Hippocampus schizophrener Patienten. Hinzu kommt, dass eine Assoziation zwischen DTNBP-1 Varianten und kognitiven Defiziten bei Patienten mit Duchenne-Muskeldystrophie ebenso wie eine Assoziation mit niedrigeren IQ-Werten und kognitiven Defiziten bei anderen nicht-schizophrenen Patienten gezeigt werden konnte.

In der vorliegenden Arbeit wurde in einer Fall-Kontrollstudie bei 129 schizophrenen Patienten kaukasischer Herkunft und 130 gesunden Kontrollen eine Beziehung zwischen sechs SNPs des DTNBP-1 Gens und der Diagnose Schizophrenie untersucht. Die sechs

SNPs rs909706, rs1018381, rs2619522, rs760761, rs2619528 und rs1011313 wurden in Studien von Funke et al., DeRosse et al. und Burdick et al. als assoziiert mit Schizophrenie beschrieben. Zusätzlich wurde für 75 schizophrene Patienten der Verlauf der Symptomatik unter Medikation über 6 Wochen mit den psychometrischen Fremdbeurteilungsbogen PANSS, NSA-16, CGI und GAF beobachtet, um in einer explorativen Analyse einen Zusammenhang zwischen den SNPs beziehungsweise Haplotypen des DTNBP-1 Gens und der Entwicklung der Negativsymptomatik zu untersuchen. DeRosse et al. hatten gezeigt, dass der sich aus diesen SNPs ergebende Haplotyp CT-CT-AC signifikant mit einer stärkeren Ausprägung der negativen Symptome „Affektverflachung“, „sozialer Rückzug“ und „Alogie“ assoziiert war.

Die Assoziation mit diesem Haplotyp konnte in unserer Studie nicht repliziert werden, jedoch kamen die Haplotypen CC-AC-AT, CC-AC-GT, TC-CC-AT signifikant häufiger in der Patientengruppe vor, waren somit mit der Diagnose Schizophrenie assoziiert. Weiterhin zeigten Patienten, die diesen Haplotypen tragen, bereits zu Studienbeginn eine signifikant höhere Negativsymptomatik. Zudem wurde bei Trägern dieser Haplotypen eine geringere Rückbildung der Negativsymptomatik gegenüber Trägern anderer Haplotypen gefunden. Für SNP rs2619522 konnte ein signifikanter Unterschied zwischen A-Allelträgern und Trägern des C-Allels bezüglich des Verlaufs der Negativsymptomatik berechnet werden. Bei der Untersuchung der Allel- und Genotypfrequenzen konnte in unserer Studie eine signifikante Häufung des A-Allels für SNP rs2619522, des T-Allels für SNP rs760761 und des A-Allels für SNP rs2619528 bei den Schizophreniepatienten gezeigt werden. Die Assoziation der Einzelmarker zur Diagnose Schizophrenie konnte auch nach Korrektur des Signifikanzniveaus, bedingt durch Multiples Testen, bestätigt werden.

Die vorliegende Arbeit bestätigt, dass die DTNBP-1-Einzelnukleotidpolymorphismen SNP rs2619522, rs760761 und rs2619528 mit Schizophrenie assoziiert sind und Unterschiede des Verlaufs und der Ausprägung der Negativsymptomatik zwischen den Trägern unterschiedlicher Haplotypen bestehen. Um diese Daten zu bestätigen, sind Genotypisierungen in einer größeren, unabhängigen Studienpopulation notwendig. Zudem sollte eine genauere Erfassung des Verlaufs der Negativsymptomatik über eine längere Studiendauer von mehreren Monaten erfolgen.

II. Einleitung

2.1. Schizophrenie

2.1.1. Geschichtliches

Das Wort „schizo“ stammt aus dem Griechischen und heißt „ich spalte“. Auch „phren“ ist ein griechisches Wort und lässt sich mit „der Geist, das Bewusstsein“ übersetzen.

„Dementia praecox“, ein Begriff, der 1896 von Emil Kraepelin (Ordinarius für Psychiatrie in München) geprägt wurde, sollte vor allem die charakteristischen Störungen des Denkens und den frühzeitigen Abbau der intellektuellen Fähigkeiten deutlich machen [1].

Der Begriff „Schizophrenie“ geht auf Eugen Bleuler (Ordinarius für Psychiatrie in Zürich) zurück. Er bezog sich damit eher auf das psychopathologische Querschnittsbild, wobei seiner Auffassung nach ein Mangel an der Einheit der Persönlichkeit bei erkrankten Patienten deutlich wurde. Er unterschied *Grundsymptome*, wie formale Denkstörungen und Störungen der Affektivität, sowie *akzessorische Symptome* (Wahn, Halluzinationen, katatone Symptome etc.) [2].

Kurt Schneiders Konzept [3] einige Jahrzehnte später (1959) ging von Symptomen ersten Ranges (*Ich-Störungen*: Gedankeneingebung, Gedankenentzug, Gedankenausbreitung; *akustische Halluzinationen*: dialogische, kommentierende, imperative Stimmen, Gedankenlautwerden; leibliche Beeinflussungserlebnisse; Wahnwahrnehmungen) und Symptomen zweiten Ranges aus (Sonstige akustische, optische, geruchliche, geschmackliche Halluzinationen, Zoenästhesien) aus.

J.H. Jackson [4] nahm eine weitere Einteilung in *positive* (Halluzinationen, Wahnwahrnehmung und formale Denkstörungen) und *negative* Symptome (Apathie, Alogie, sozialer Rückzug, Anhedonie, Affektverflachung und Aufmerksamkeitsstörung) vor.

2.1.2. Definition

Die Schizophrenie zählt zur Gruppe der endogenen Psychosen. Unter einer Psychose werden psychische Erkrankungen zusammengefasst, die mit Realitätsverlust, Trugwahrnehmung, Wahnvorstellungen, Bewusstseinsstörungen, Störungen des Denkens und der Gefühlswelt verbunden sind. Der Begriff „endogen“ meint, dass die Ursachen der

Psychose nur bedingt erklärbar sind, die Erkrankung entsteht aus einer Vielzahl von Faktoren „von innen“ heraus.

Nach der ICD-10 [5] und der DSM-IV [6] sind die schizophrenen Störungen im Allgemeinen durch grundlegende und charakteristische Störungen von Denken und Wahrnehmung sowie inadäquate oder verflachte Affektivität gekennzeichnet. In der neueren Diskussion über die psychopathologische Symptomatik schizophrener Erkrankungen spielt auch die Unterscheidung zwischen Positiv- (Wahnvorstellungen, Halluzinationen und Ich-Erlebnis-Störungen) und Negativsymptomatik (Affektverflachung, Apathie, Anhedonie u.a.) eine wichtige Rolle.

2.1.3. Epidemiologie

Die Prävalenz der Schizophrenie liegt in der Bundesrepublik Deutschland und den westeuropäischen Ländern zwischen 0,5% und 1%. Die jährliche Neuerkrankungsrate (Inzidenz) beträgt etwa 0,05%. Die Wahrscheinlichkeit, im Laufe des Lebens an Schizophrenie zu erkranken (Morbiditätsrisiko), wird auf ca. 1% geschätzt, dabei sind Männer und Frauen gleich häufig betroffen. Männer erkranken meist früher als Frauen. Das Prädilektionsalter für den Beginn der Erkrankung liegt bei Männern um das 21. Lebensjahr, Frauen erkranken im Durchschnitt 5 Jahre später [7].

2.1.4. Diagnose/Symptome

Die ICD-10 stellt acht Gruppen von Symptomen auf, die für die Diagnose der Schizophrenie relevant sind:

Diagnostische Kriterien der Schizophrenie nach ICD-10 sind:

1. Gedankenlautwerden, Gedankeneingebung, Gedankenentzug, Gedankenausbreitung
2. Kontrollwahn, Beeinflussungswahn, Gefühl des Gemachten, deutlich bezogen auf Körper- oder Gliederbewegungen oder bestimmte Gedanken, Tätigkeiten oder Empfindungen, Wahnwahrnehmungen,
3. kommentierende oder dialogische Stimmen, die über den Patienten reden oder andere Stimmen, die aus bestimmten Körperteilen kommen,
4. anhaltender kulturell unangemessener, bizarrer Wahn, wie der, das Wetter kontrollieren zu können oder mit Ausserirdischen in Verbindung zu stehen,
5. anhaltende Halluzinationen jeder Sinnesmodalität, täglich während mindestens eines Monats, begleitet von flüchtigen oder undeutlich ausgebildeten Wahngedanken, ohne deutlich affektive Beteiligung oder begleitet von lang anhaltenden überwertigen Ideen

6. Neologismen, Gedankenabreißen oder Einschiebungen in den Gedankenfluss, was zu Zerfahrenheit oder Danebenreden führt,
 7. katatone Symptome wie Erregung, Haltungstereotypen oder wächserne Biagsamkeit (Flexibilitas cerea), Negativismus, Mutismus und Stupor,
 8. „negative“ Symptome, wie auffällige Apathie, Sprachverarmung, verflachte oder inadäquate Affekte
- Erforderlich für die Diagnose Schizophrenie ist mindestens ein eindeutiges Symptom (zwei oder mehr, wenn weniger eindeutig) der Gruppen 1-4 oder mindestens zwei Symptome der Gruppen 5-8. Diese Symptome müssen fast ständig während eines Monats oder länger deutlich vorhanden gewesen sein.

2.1.5. Verlauf/Prognose

Auch heute noch gehört die Schizophrenie zu den schwerwiegendsten psychiatrischen Erkrankungen. Auftreten kann ein akuter oder chronisch schleichender Verlauf. Viele Patienten zeigen unspezifische Prodromalsymptome (u.a. sozialer Rückzug, Interessenlosigkeit, Schlafstörungen, erhöhtes Misstrauen, Trugwahrnehmungen, Anspannung, etc.) in den Monaten bis Jahren vor der akuten Manifestation [8].

Es gilt die Drittelregel, demnach erleben 1/3 der Patienten eine einzelne schizophrene Episode, die folgenlos ausheilt. 1/3 der Patienten ist durch einen rezidivierenden Krankheitsverlauf betroffen. Den ungünstigsten Verlauf erlebt ein weiteres Drittel der Patienten, diese leiden unter einer chronischen Schizophrenie mit beeinträchtigenden Residualsymptomen [9].

Einige Faktoren, wie das weibliche Geschlecht, ein hoher sozialer Status, verheiratete Patienten, keine an Schizophrenie erkrankten Familienmitglieder, ein akuter Beginn, kaum Negativsymptome und eine späte Erstmanifestation, scheinen einen günstigen Krankheitsverlauf zu beeinflussen [10]. Möller et al. [11] belegten, dass immerhin 50% der Betroffenen von einem ungünstigen Verlauf mit Rezidiven und Residualsymptomatik, sowie erheblichen Störungen der sozialen Integration betroffen sind. 10-15% der Betroffenen sterben durch Suizid. Schizophrenie rechnet sich zu den zehn häufigsten zu einer Behinderung führenden Erkrankungen, sie ist die teuerste psychische Erkrankung überhaupt, ihre Kosten sind mit denen somatischer Volkskrankheiten (Diabetes, Herzerkrankungen etc.) vergleichbar.

2.1.6. Ätiopathogenese

Bis heute lässt sich nicht „die“ Ursache benennen, die krankheitsverursachend ist. Es wird grundsätzlich davon ausgegangen, dass sogenannte „konstitutionelle“ Faktoren mit „umwelt- bzw. milieubedingten“ Faktoren zusammenwirken müssen, um eine schizophrene Erkrankung auszulösen. Weder die Erbanlage noch die Umweltfaktoren alleine sind im Regelfall dazu imstande. Diese Verkettung von Erbfaktoren und Umweltfaktoren wird durch den Begriff „Vulnerabilitäts-Stress-Modell“ beschrieben [12].

2.1.6.1. Neurochemische Ursachen

Auf der Suche nach der Pathophysiologie der Schizophrenie postulierten Carlsson et al., dass eine Überaktivität des mesolimbischen dopaminergen Systems psychotische Symptome verursacht [13]. Die *Dopaminhypothese* begründet sich auf der Beobachtung, dass zentrale Dopamin-D2-Rezeptoren durch Neuroleptika blockiert werden [14]. Die Beobachtung, dass PCP (Phencyclidin, ein nicht-kompetitiver Glutamatantagonist) sowohl Positivsymptomatik als auch Negativsymptomatik auslösen kann, führte dazu, dass die *Glutamathypothese* an Bedeutung gewann. Möglicherweise besteht eine Unterfunktion des glutamergen kortikostriatalen und kortikomesolimbischen Systems bei schizophrenen Patienten sowie eine Verminderung der glutamatergen AMPA- und Kainatrezeptoren in Strukturen des medialen Temporallappens [15].

Wahrnehmung und Empfinden werden wesentlich durch das serotonerge System beeinflusst, außerdem können Substanzen wie LSD (Lysergsäurediethylamid) psychotische Symptome auslösen. Die *Serotoninhypothese* geht davon aus, dass der Wegfall der serotonergen Hemmung des präfrontalen Kortex auf subkortikale Strukturen zu einer gesteigerten dopaminergen Funktion führt [16].

2.1.6.2. Neuropathologische Ursachen/Bildgebung

In den letzten Jahrzehnten konnten durch die Anwendung moderner bildgebender Verfahren auch über strukturelle Grundlagen schizophrener Erkrankungen neue Erkenntnisse gewonnen werden.

Es konnten Hirnregionen (präfrontaler Kortex, Cingulum, sensorische Areale-visuell/auditorisch, Motorkortex, Hippocampus, lateraler Temporallappen) identifiziert werden, die eine gestörte Signalgebung in der funktionellen Bildgebung zeigen [17].

Weitere bildgebende Studien belegten, dass die Gehirne schizophrener Patienten eine Volumenminderung, besonders im Bereich der grauen Substanz im Temporallappen, inklusive Hippocampus aufweisen [18]. In CT-Studien zeigte sich, dass schizophrene Patienten links betont erweiterte Seitenventrikel haben, wobei sich dies vermutlich auf eine Volumenminderung im Bereich des Hippocampus zurückführen lässt [19]. SPECT- und PET-Untersuchungen belegten einen „Hypometabolismus“ und eine verminderte Durchblutung im Bereich des Frontalhirns [20].

Defizite im Stoffwechsel der Nervenzellmembranen und Störungen der Myelinisierung bei schizophrenen Patienten konnten in MRT-Studien festgestellt werden [21].

Histologische Befunde [22] schizophrener Gehirne zeigten Auffälligkeiten, wie Neuronenverluste im dorsalen Thalamus, Verlust der Neuronen im Cortex und Hippocampus, sowie eine Dysplasie des entorhinalen Cortex. Hauptsächlich finden sich Verminderungen der präsynaptischen und dendritischen Parameter. Insgesamt geht man davon aus, dass möglicherweise Störungen in der Gehirnentwicklung für die strukturellen Veränderungen ursächlich sind. Hierbei sind nicht nur Komplikationen vor oder während der Geburt wie Infektionen, Sauerstoffmangel oder das Einwirken unterschiedlicher Toxine, sondern auch genetische Faktoren in Betracht zu ziehen, welche die normale Reifung des Gehirns in der Embryonalzeit und in den ersten Lebensjahren verhindern oder verzögern.

2.1.6.3. Psychosoziale Ursachen

Neben neurobiologischen Ursachen schizophrener Erkrankungen werden auch Umweltfaktoren als mit krankheitsverursachend angesehen. Hierzu wurde in den Familien der Betroffenen geforscht und das Konzept der „High Expressed Emotions“ (einerseits emotionales Überengagement, andererseits vermehrte Kritik und Feindseeligkeit gegenüber dem Erkrankten) aufgestellt. Patienten, die in diesen Familien leben, zeigen höhere Rückfall- und Erkrankungsraten als Patienten aus Familien ohne dieses Verhalten [23]. Eine höhere Rate an Neuerkrankungen lässt sich in sozial niedrigeren Schichten finden, sowie sozialökonomisch schwachen Gebieten der Großstadt. Jedoch kann man nicht davon ausgehen, dass Schizophrenien häufiger in sozial schlechter gestellten Gesellschaftsschichten auftreten, vielmehr kommt es zu einem Abstieg in eine niedrigere soziale Schicht in der Prodromalphase der Erkrankung, wobei soziale Stressoren den

Erkrankungsbeginn beschleunigen [24]. Dieses Modell wird als „Drift-Hypothese“ bezeichnet.

2.1.6.4. Genetische Ursachen

Beträgt das Risiko an Schizophrenie zu erkranken in der Normalbevölkerung noch 1%, steigt es bereits auf 10% an, wenn ein Angehöriger ersten Grades an Schizophrenie erkrankt ist [25]. Bei monozygoten Zwillingen steigt das Erkrankungsrisiko sogar auf 44% an, während es bei dizygoten Zwillingen bei etwa 12% liegt [26]. In Adoptionsstudien konnte gezeigt werden, dass Kinder, die früh adoptiert wurden und deren leibliche Eltern an einer Schizophrenie erkrankt waren, häufiger erkranken, als Kinder, die früh adoptiert wurden, aber deren biologischen Eltern nicht an Schizophrenie erkrankt waren [27, 28]. Diese unvollständige Konkordanz ist aber auch Beleg dafür, dass nicht nur genetische Ursachenfaktoren pathophysiologisch beteiligt sind [29].

Mit Hilfe von *Kopplungsstudien* werden chromosomale Regionen identifiziert, die mit Schizophrenie assoziiert sind. In einem weiteren Schritt werden dann sämtliche in dieser Region lokalisierten Gene auf mögliche Veränderungen der genetischen Sequenz bei den Patienten untersucht. Kopplungsstudien sind dann besonders vielversprechend, wenn große Familien untersucht werden, in denen viele Familienmitglieder betroffen sind. Für die Schizophrenie gelang dies u.a. bisher für Chromosom 6 [30], Chromosom 13 [31], Chromosom 8 [32] und Chromosom 1 [33].

Assoziationsstudien liefern einen alternativen Ansatz zur Identifizierung solcher Gene. Sie stellen eine empfindliche Methode zum Nachweis von Suszeptibilitätsgenen mit einem geringen Einfluss auf die Krankheit dar, wie es bei der Schizophrenie meistens der Fall ist. Ihr Ziel ist es, durch Vergleich einer Fall- mit einer Kontrollgruppe funktionell relevante Genvarianten (Allele), denen bei der Entstehung der Schizophrenie eine mögliche Rolle zugeschrieben wird, mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko in Zusammenhang zu bringen. Tabelle 1 bietet einen Überblick über einige wichtige Assoziationsbefunde mit den zugehörigen chromosomalen Regionen.

Gen	zytogenetische Lokalisation	Studien
DRD 3	3q13	Williams et al. [34]
DRD 2	11q23	Breen et al. [35]
COMT	22q11	Shifman et al. [36]
5-HT-2A	13q11	Inayama et al.[37]
NRG 1	8p12-p21	Steffanson et al. [38]
DTNBP 1	6p22	Straub et al. [30]
RGS4	1q21-22	Chowdari et al. [39]
PRODH	22q11	Gogos et al. [40]
DAAO	12q24	Chumakov et al. [41]
G72	13q22-34	Chumakov et al. [41]
G30	13q22-34	Chumakov et al. [41]
NOTCH 4	6p23	Wei et el. [42]
PPP3CC	8p21	Gerber et al. [43]
HTR4	5q31-q33	Claeysen et al. [44]
GRIA4	11q22	Makino et al. [45]
AKT1	14q32	Staal et al. [46]
ZDHC8	22q11	Mukai et al. [47]
TRAR4	6q23	Duan et al. [48]

Tabelle 1: Auswahl von Suzeptibilitätsgenen der Schizophrenie mit zytogenetischer Lokalisation.

2.2. Negativsymptomatik

2.2.1. Das Konzept der Negativsymptomatik

In den Schriften des Arztes J.H. Jackson (1835-1911) tauchte erstmals der Begriff der Negativsymptomatik auf. Er unterschied zwischen florid-psychotischen (positiven) und „Defekt“- (negativen) Symptomen. Als Ursache hierfür stellte man sich eine Hirnschädigung vor, die zu kognitiven Defiziten (Negativsymptomatik) und verminderter Hemmung (Positivsymptomatik) führt [4].

Zu Beginn der 80er Jahre stellte der englische Psychiater Tim Crow die Unterteilung zweier Typen von Schizophrenie vor. Demnach zeichne sich die Typ-I-Schizophrenie durch akutes Auftreten, späten Erkrankungsbeginn und Vorherrschen von Positivsymptomatik aus. Vorherrschen von chronischer Negativsymptomatik, kognitive Einbußen und ein früher Erkrankungsbeginn sind Merkmal der Typ-II-Schizophrenie [49].

Das Konzept der Defizit- (Affektverflachung, eingeschränkte emotionale Schwingungsfähigkeit, Interessenverlust etc.) und Non-Defizit-Form der Schizophrenie wurde durch Carpenter et al. entwickelt [50]. Hierbei fand eine Unterscheidung in primäre Negativsymptomatik, die zu den Kernsymptomen der Schizophrenie gehört und sekundäre Negativsymptomatik als Folge von Positivsymptomatik: sozialer Rückzug (aufgrund von Halluzinationen), extrapyramidale Wirkungen (als Folge der Medikation) und sozialer Isolation (Hospitalismus des Betroffenen) statt.

Peter F. Liddle entwickelte ein Konzept von drei Dimensionen der Schizophrenie. Demnach lassen sich die Symptome Sprachverarmung, Affektverflachung und Apathie auf eine Läsion des linken dorsalen präfrontalen Kortex zurückführen. Wahn und Halluzinationen hingegen beruhen auf einer Läsion des medialen Temporallappens. Bei einer Läsion des rechten ventralen präfrontalen Kortex finden sich als Symptome formale Denkstörungen, Ablenkbarkeit und inadäquater Affekt [51].

2.2.2. Einzelne negative Symptome

Nachdem lange Zeit das Hauptinteresse der Schizophrenieforschung auf die hervorstechenden positiven Symptome wie Wahn und Halluzinationen gerichtet war, berichtete Nancy Andreasen im Jahre 1982 von einer Renaissance des Interesses an der Negativsymptomatik [52]. Sie führte als Faustregel die „sechs A“ ein:

- *Asozialität* (Störung der Kontaktfähigkeit bis hin zur Kontaktunfähigkeit, verbunden mit einem Mangel an zwischenmenschlichem Interesse und persönlichen Verbindungen)
- *Anhedonie* (Unfähigkeit, Freude und Vergnügen zu empfinden)
- *Apathie* (Mangel an Energie, Schwung, Ausdauer, Dynamik bis hin zur unkorrigierbaren Antriebsminderung, verbunden mit einer Einengung des Interessenspektrums)
- *Alogie* (Sprachverarmung, Verarmung des Sprachinhaltes, Gespräche sind verarmt oder versiegen, weil der Betroffene häufig wortkarg ist oder gleichgültig wirkt)
- *Affektverflachung* (Verarmung der Affekte, Einbuße von Stimmung, Befindlichkeit, die Variationsmöglichkeit der Gemütsreaktion ist nur äußerst gering ausgeprägt, der Betroffene kann auf die Ereignisse in seinem Umfeld nicht mehr gefühlsmäßig adäquat reagieren)
- *Aufmerksamkeitsstörungen* (Unfähigkeit des Betroffenen, in allen Lebensbezügen aufmerksam, konzentriert und aktiv zu sein)

Während die primären negativen Symptome eng krankheitsverbunden auftreten, sind sekundäre negative Symptome eher Folge der Erkrankung, Konsequenz von Copingstrategien und Nebenwirkungen von Medikamenten [53].

2.2.3. Phänomenologie der Negativsymptomatik

Eine Erstmanifestation der Schizophrenie zeigt sich häufig durch Negativsymptome, ohne dass die Diagnose Schizophrenie gestellt wurde oder bereits psychotische Symptome aufgetreten sind. Negative Symptome werden oft lange nicht als krank erkannt. Je länger diese bestehen, desto eher besteht die Gefahr, dass sich diese verfestigen, zum einen biologisch und zum anderen psychosozial. Häufig wirken sie sich stark auf schulische und soziale Interaktionen aus [54]. Studien belegen, dass erwachsene schizophrene Patienten,

die eine starke Ausprägung der Negativsymptomatik aufweisen, oft alleinstehend, sozial schlechter integriert und beruflich weniger erfolgreich sind. Schizophrene Patienten mit vorherrschender Negativsymptomatik zeigen eher eine geringe Krankheitseinsicht, kognitive Einbußen, sowie kaum Verbesserungen bezüglich der Ausprägung der Erkrankung. Hinzu kommt eine geringe Compliance, sowie ein schlechteres Ansprechen auf atypische Neuroleptika [55]. Häufiger und stärker sind Männer von Negativsymptomatik betroffen, bei ihnen manifestiert sich diese früher als bei Frauen im Krankheitsverlauf und sie sind stärker durch kognitive Defizite beeinträchtigt [56, 57]. In Längs- und Querschnittsstudien hat sich die schizophrene Negativsymptomatik als am hartnäckigsten erwiesen [58], wobei die nachgewiesene Assoziation mit neurokognitiven Veränderungen und schlechterem Outcome als besonders beeinträchtigend für den Patienten gilt [59].

Am günstigsten erscheint die Behandlung mit atypischen Neuroleptika (Risperidon, Zotepin, Olanzapin etc.), da Evidenz für eine bessere Wirksamkeit im Vergleich zu typischen Neuroleptika bei Negativsymptomatik erbracht wurde [60].

2.2.4. Ursachen der Negativsymptomatik

Seitdem die Negativsymptomatik in den Fokus der Schizophrenieforschung getreten ist, wird vermehrt nach den biochemischen, strukturellen und genetischen Ursachen der Negativsymptomatik gesucht.

Biochemisch scheint vor allem eine Reduktion der dopaminergen, serotonergen, glutamergen und acetylcholinergen Transmittersysteme in Betracht zu kommen [61].

Wiederholt wurde die Negativsymptomatik mit einer Hypoaktivität im mesokortikalen Dopaminsystem in Verbindung gebracht [62]. Eine Beteiligung glutamerger und acetylcholinergener Transmittersysteme vermutet man, da pharmakologische Blockaden glutamerger NMDA-Rezeptoren [63], ebenso wie eine medikamentös induzierte Hypoaktivität muskarinergere Acetylcholin-Rezeptoren [64], auf der Verhaltensebene Folgen haben, die auffallend dem Negativsyndrom ähneln. Die Verabreichung von selektiven Serotonin-Wiederaufnahmehemmern hat sich in ersten klinischen Versuchen als effektiv zur Linderung primärer Negativsymptomatik erwiesen. Diese Tatsache macht wiederum eine Störung des Serotoninhaushaltes in den Gehirnen schizophrener Patienten möglich [65].

Kandel [66] führt in seiner Studie insbesondere drei Arten neuroanatomischer Anomalien auf, die in Zusammenhang mit der Negativsymptomatik wiederholt Bestätigung fanden. Es lässt sich ein zerebraler Volumenverlust finden, der sich in Erweiterungen der lateralen und des dritten Ventrikels sowie der frontalen und der temporalen Sulci zeigt. Hinzu kommen atrophische Erscheinungen im präfrontalen Kortex, sowie in frontosubkortikalen Schaltkreisen. Auffällig sind auch Veränderungen des medialen Temporallappens mit einer Ausdünnung des Kortex und einer linkshemisphärisch betonten Größenminderung des anterioren Hippocampus.

2.3. Dysbindin-1 (DTNBP-1)

2.3.1. Dysbindin-1

Dysbindin-1, welches auch als DTNBP-1 (dystrobrevin-binding protein) bekannt ist, wurde durch Benson et al. im Jahre 2001 auf der Suche nach einer möglichen Rolle von α - und β -Dystrobrevin in der Pathophysiologie der Duchenne-Muskeldystrophie (DMD) entdeckt [67]. Es handelt sich um ein Gen, welches auf Chromosom 6p22.3 lokalisiert ist (Abbildung 1).

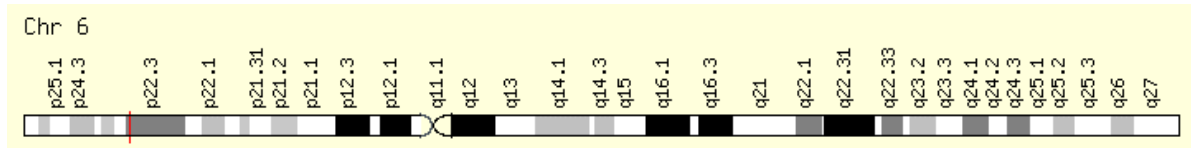


Abbildung 1: Darstellung von Chromosom 6 mit Position des Dysbindin-Gens (rot markiert)

2.3.2. Dysbindin-1 in der Muskulatur

Dysbindin-1 bindet α - und β - Dystrobrevin in der Muskulatur und im Gehirn . α - und β -Dystrobrevin gehören zur Familie der Dystrophin-assoziierten Proteinkomplexe. Während α -Dystrobrevin hauptsächlich eine Rolle in der Muskulatur zugeschrieben wird, findet sich β -Dystrobrevin bevorzugt im Gehirn.

Dysbindin-1 bindet direkt und indirekt an eine Gruppe von Proteinen, die als Dystrophin-assoziiertes Proteinkomplex (DPC oder DAPC) bezeichnet werden. Dysbindin-1 bindet diesen Komplex mittels Interaktion mit dessen WW-Domäne, ein Protein bindendes Modul, welches aus 35 bis 40 Aminosäuren besteht, sowie aus zwei Untereinheiten Tryptophan (W = Abkürzung für Tryptophan) gebildet wird.

Zusätzliche Komponenten des DAPC enthalten verschiedene Sarcoglykane, die die Membran des Sarkolemm durchspannen, sowie periphere Membranproteine, u.a. Syntrophin und Dystrobrevin. Diese Proteine sind daran beteiligt, die Komponenten des DAPC zu verbinden. Syntrophin bindet nNOS (neuronal Nitrooxidsynthase) und ist an der Signalverarbeitung innerhalb der Zellen beteiligt. Desweiteren ist der DAPC für die korrekte Kalziumkonzentration in den Zellen verantwortlich und reguliert das Muskelwachstum [67, 68, 69, 70].

Diese Zusammenhänge soll Abbildung 2 verdeutlichen.

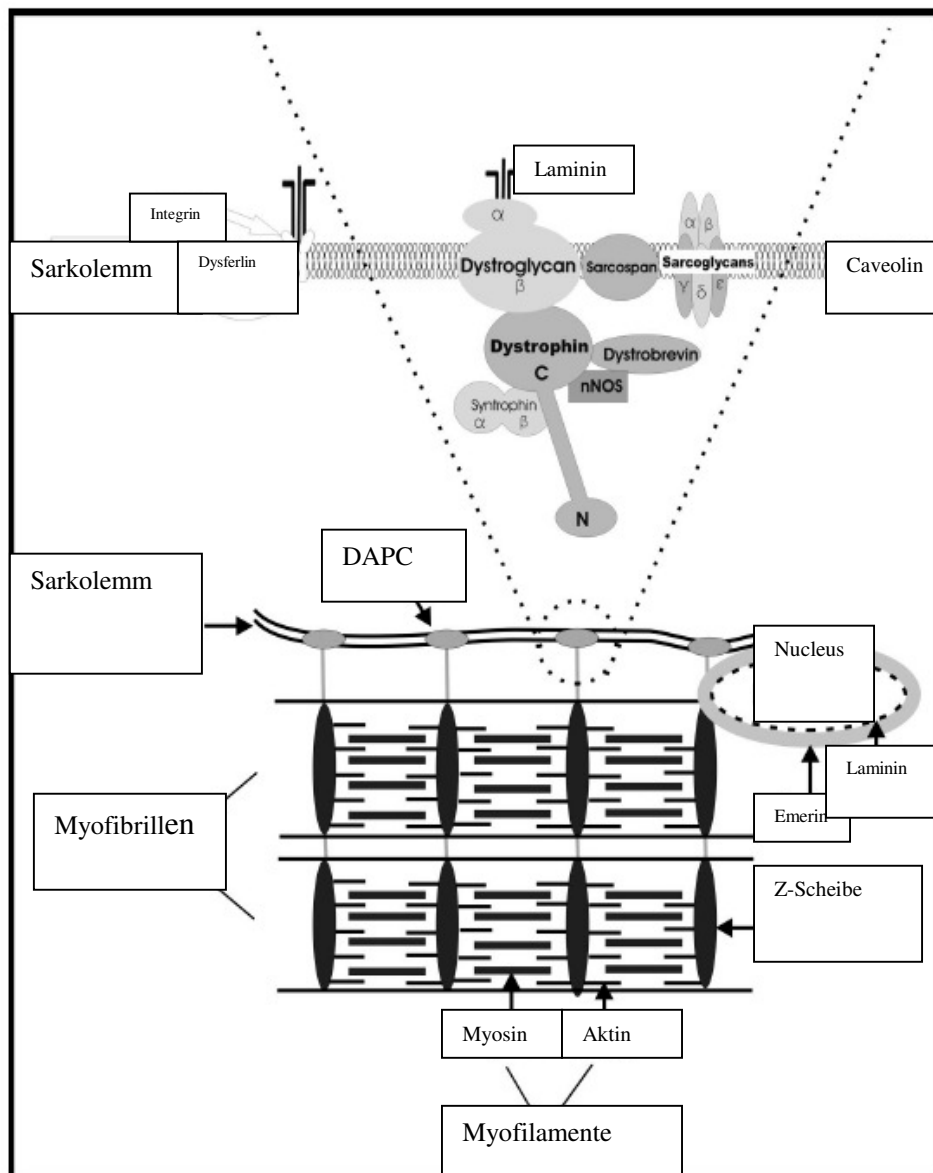
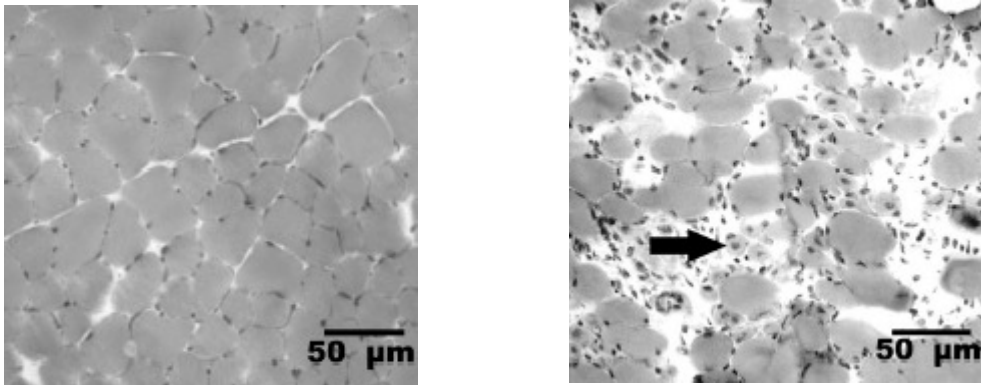


Abbildung 2: Schema, welches die molekularen Verbindungen des Sarkolemm mit dem kontraktilen Apparat via DAPC darstellt [71].

Schädigungen des Dysbindin-Gens führen zur Duchenne Muskeldystrophie, eine Erkrankung, die X-chromosomal vererbt wird. Betroffene dieser Erkrankung haben kein oder wenig Dysbindin in ihren Muskelfasern. Die Muskelkontraktion zerreißt die Zellmembranen, so dass zuviel Kalzium in die Zellen eindringen kann, was eine Fibrose und Muskeldegeneration zur Folge hat (Abbildung 3).



A

B

Abbildung 3: Haematoxylin und Eosin Färbung eines gesunden Muskels (A) und eines dystrophen Muskels (B) der mdx-Maus. Abbildung B zeigt im Vergleich zu Abbildung A eine abnorme Veränderung der Fibrillengröße, Fibrose, inflammatorische Zellinfiltration und degenerierte, sowie regenerierte Muskelfasern, die typischerweise von abnormer Größe sind und einen zentral lokalisierten Zellkern (siehe Pfeil in Abbildung B) aufweisen [71].

Ein Drittel der Patienten leidet unter kognitiven Defiziten, da Dysbindin-1 auch an der postsynaptischen Membran kortikaler Neuronen und Purkinjezellen lokalisiert und Teil der postsynaptischen Verdichtung ist [72]. Diese Tatsachen lassen vermuten, dass Dysbindin auch im Gehirn eine Rolle spielt und das Genprodukt in Synapsenfunktionen involviert ist.

2.3.3. Dysbindin-1 im Gehirn

Im Gehirn befindet sich β -Dystrobrevin vor allem in Neuronen des Kortex, Hippocampus und Kleinhirns, wo es mit neuronalen Zellkörpern, Dendriten und Zellkernen assoziiert ist. Diese Lokalisation ähnelt der des Dysbindin-1, so dass auch dem β -Dystrobrevin eine Interaktion mit dem DAPC zugeschrieben wird, wobei dieser in Neuronen aus Dysbindin-1, Syntrophin und β -Dystrobrevin besteht (Abbildung 4). Im ZNS soll der DAPC in der Signaltransduktion eine Rolle spielen, sowie Einfluss auf einige Neurotransmittersysteme (glutamerge, nicotinerge, GABAerge) nehmen. Erniedrigungen von präsynaptischen Dysbindin-1 Konzentrationen korrelieren invers mit einer Erhöhung des vesikulären Glutamattransporters (Vglut-1).

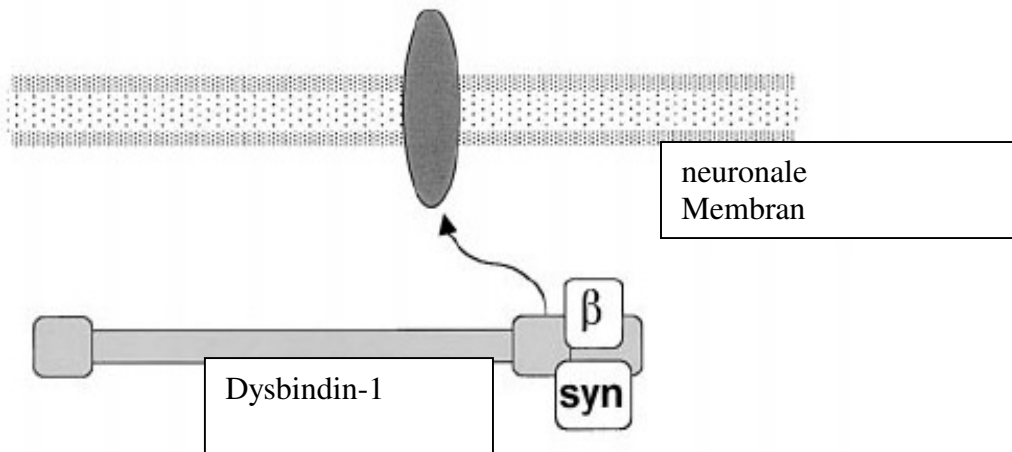


Abbildung 4: Der Dystrobrevin enthaltene Komplex (DAPC) in Neuronen

Hypothetisches Modell, welches den DAPC in Neuronen darstellt. β -Dystrobrevin (β) ist mit Dysbindin-1 und Syntrophin (syn) assoziiert. Analog zum Vorkommen im Muskel, könnte dieser Komplex mit verantwortlich für kognitive Defizite bei der Duchenne Muskeldystrophie und Negativsymptomatik bei Schizophrenie sein [70].

Dysbindin-1 bindet außerdem Snapin im Gehirn, ist präsynaptisch mit synaptischen Vesikeln assoziiert und Teil der postsynaptischen Verdichtung (PSD) glutamerger Endigungen. Die Dysbindin-1/Snapin Verbindung ist Komponente des BLOC-1 Komplexes, welcher für Vesikelfusion und Vesikelandockung verantwortlich ist [73].

2.3.4. Dysbindin-1-Einfluss auf Schizophrenie und Negativsymptomatik

Ein Zusammenhang zwischen Schizophrenie und DTNBP-1 wurde erstmals von Straub et al. beschrieben, die eine Assoziation mehrerer Einzelbasen-Varianten (SNPs) und mehrerer Haplotypen (spezielle Kombination von Allelen auf einem Chromosom) innerhalb des Dysbindin-1-Gens mit Schizophrenie zeigen konnten [30].

Eine signifikante Assoziation zwischen Schizophrenie und unterschiedlichen Haplotypen des Dysbindin-Gens konnte in englischen [74], irischen [30], walisischen [74], niederländischen [75], deutschen/ungarischen/israelischen [76, 77], schwedischen [78], chinesischen [79] und japanischen [80, 81] Studien gezeigt werden. Drei Studien konnten eine derartige Assoziation nicht bestätigen [82, 83, 84]. Insgesamt konnten mehrere SNPs identifiziert werden, die vorwiegend im Bereich von Introns lokalisiert sind.

Die spezifischen DTNBP-1 Varianten, die das Risiko an Schizophrenie zu erkranken, erhöhen, sind noch nicht bekannt, jedoch zeigte sich bei diesen Patienten eine Reduzierung

von Dysbindin-1 auf Gen- und Proteinebene im präfrontalen Kortex und im Hippocampus (Abbildung 5).

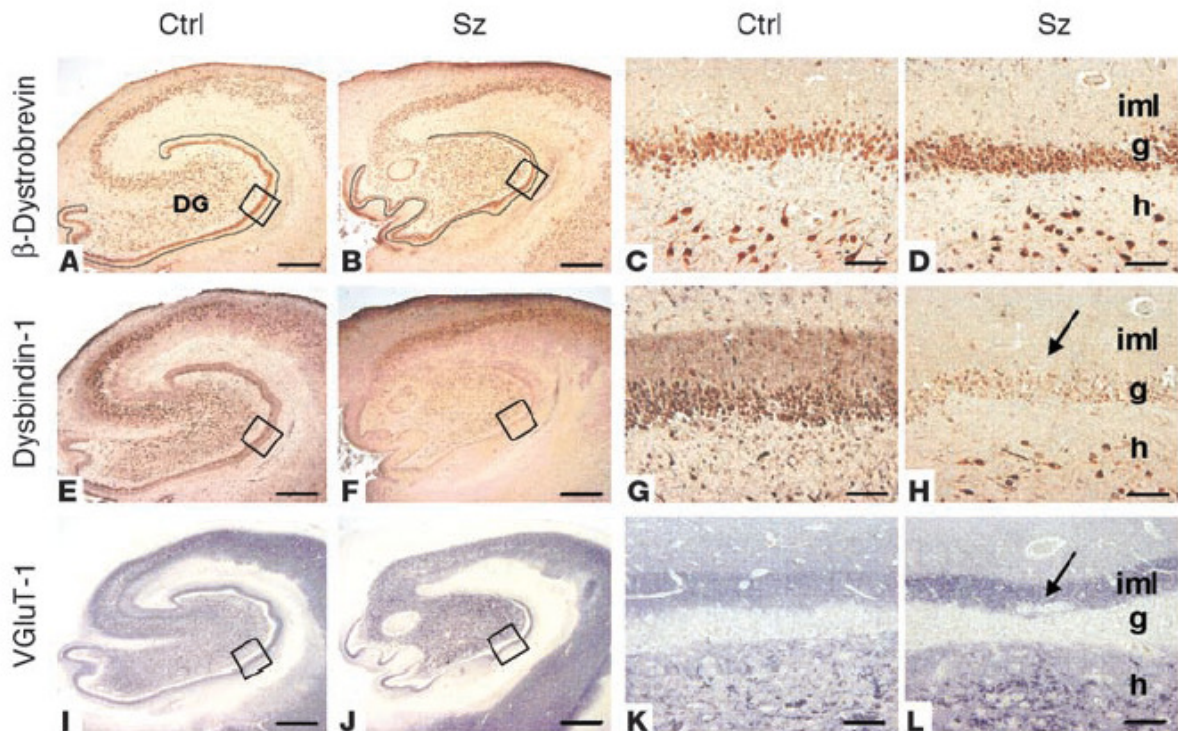


Abbildung 5: Vergleich des β -Dystrobrevin (A-D), Dysbindin-1 (E-H) und VgluT-1 (I-L) Gehaltes im Hippocampus gesunder Probanden (Ctrl) und schizophrener Patienten (Sz)

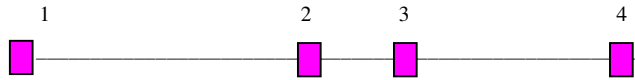
Die blau-graue Farbe in der Abbildung von VgluT-1 entsteht durch NiSO_4 Anreicherung des immunhistochemischen Reaktionsproduktes. In Abbildung F wird eine ausgeprägte Reduktion von Dysbindin-1 deutlich. Abbildung H verdeutlicht einen Verlust von Dysbindin-1 und Abbildung L zeigt eine Erhöhung des Vglut-1.

(**Dg**-Gyrus dentatus; **iml**- innere molekulare Schicht des Gyrus dentatus; **g**-granuläre Schicht des Gyrus dentatus; **h**-Hilus des Gyrus dentatus) [85].

Die veränderte Dysbindin-1 Expression führt möglicherweise zu kognitiven Defiziten im Bereich Aufmerksamkeit, Gedächtnis und exekutiven Funktionen bei Schizophrenie. Ein DTNBP-1 Haplotyp, der in irischen schizophrenen Familien gefunden werden konnte, ist vermehrt mit kognitiven Verschlechterungen während der Erkrankung verbunden [86]. Schizophrenien, die in der Kindheit beginnen, sind mit wenigstens einem SNP im DTNBP-1 Gen assoziiert [87] und in einer amerikanischen Studie konnte gezeigt werden, dass verschiedene SNPs mit geringeren Punktwerten im Wechsler Intelligenztest für Erwachsene korrelieren und dies auf alle Probanden, die diesen SNP tragen zutrifft, und nicht nur auf diejenigen, die an Schizophrenie erkrankt sind. Vermutet wird, dass DTNBP-1 Variationen kognitive Leistungen nicht nur in Verbindung mit Schizophrenie beeinflussen [88, 89, 90].

Bezüglich der Negativsymptomatik ist besonders der Haplotyp CT-CT-AC (Tabelle 2) interessant. Funke et al. [91] beschreiben in ihrer Studie eine signifikante Assoziation zwischen der Schizophrenie sowie der Ausprägung der Negativsymptomatik und dem Vorhandensein dieses Haplotyps.

140kB -----



	rs 909706	rs1018381	rs2619522	rs760761	rs2619528	rs1011313	
Allel 1	C	C	A	C	G	C	
Allel 2	T	T	C	T	A	T	
	—	—	C	T	A	T	Straub et al. [30]
	—	—	—	T	A	—	van den Oord et al. [86]
	—	<i>C</i>	<i>C</i>	<i>T</i>	<i>A</i>	<i>C</i>	
		<i>T</i>		<i>T</i>		<i>C</i>	van den Bogaert et al. [78]
		—	A	C	G	C	Schwab et al. [76]
	<i>C</i>	<i>A</i>	<i>C</i>		<i>G</i>	<i>C</i>	
						—	Kirov et al. [92]
						—	Williams et al. [93]
	<i>T</i>	<i>C</i>	<i>A</i>				Tang et al. [79]
	—	T	C	T	A	—	Funke et al. [91]
	—	T	C		A	—	
	<i>C</i>	<i>T</i>	<i>C</i>	<i>T</i>	<i>A</i>	<i>C</i>	

Tabelle 2: Vergleich verschiedener DTNBP-1 Assoziationen

Ein Ausschnitt des DTNBP-1 Gen wird im oberen Teil der Tabelle dargestellt (GenBank association number NM_183041; variant 3). Die Exons 1-4 sind als Kästchen dargestellt (DTNBP-1 besteht insgesamt aus 10 Exons). 6 SNPs, die durch Straub et al. [30] beschrieben wurden, befinden sich an erster Stelle der Tabelle. Haplotypen, für die eine Assoziation mit der Schizophrenie gezeigt werden konnte, sind in „kursiv und farbig“ dargestellt [91]. — = SNP wurde genotypisiert, jedoch konnte keine signifikante Assoziation zur Schizophrenie gezeigt werden.

III. Fragestellung

Es gilt heute als gesichert, dass eine starke genetische Komponente in der Ätiologie der Schizophrenie vorliegt. Die Entstehung schizophrener Erkrankungen ist jedoch noch nicht geklärt. Fall-Kontroll-Assoziationsstudien sind eine empfindliche Methode, um auf molekulargenetischer Ebene nach Suszeptibilitätsgenen mit kleinen Effekten bei komplexen Krankheiten wie der Schizophrenie zu suchen.

DTNBP-1 wurde im Literaturüberblick als interessantes Kandidatengen der Schizophrenie ausgewiesen. Es liegt auf Chromosom 6p22.3 in der Region, die in genomweiten Assoziationsstudien starke Assoziation mit Schizophrenie zeigt. In Studien wurde einerseits eine signifikante Reduzierung von DTNBP-1 auf Gen- und Proteinebene im präfrontalen Kortex und Hippocampus bei schizophrenen Patienten und andererseits eine signifikante Assoziation mit Schizophrenie für die in diesen Arbeiten untersuchten Einzel-Nukleotid-Polymorphismen beschrieben. Belegt ist außerdem eine Assoziation zwischen verschiedenen SNPs und Haplotypen dieses Gens und der Ausprägung der Negativsymptomatik, die als schwerwiegendster Symptomenkomplex der Schizophrenie angesehen wird und häufig die Krankheitsentwicklung entscheidend beeinflusst.

Ziel der vorliegenden Studie war es, Zusammenhänge zwischen den untersuchten Polymorphismen des DTNBP-1 Gens mit Schizophrenie innerhalb einer kaukasischen Population zu erfassen. Dazu wurden in einer Analyse Genotypfrequenzen, sowie Haplotypfrequenzen von schizophrenen Patienten mit einer gesunden Kontrollpopulation verglichen, wobei bereits untersuchte Polymorphismen aus der Literatur ausgewählt wurden. Mittels einer explorativen Analyse sollte zudem ein möglicher Zusammenhang zwischen der Ausprägung und Entwicklung der Negativsymptomatik und einzelnen Polymorphismen und Haplotypen untersucht werden. Hierzu wurde die Ausprägung der negativen Symptome und des Gesamtbefindens, sowie deren Entwicklung über einen Zeitraum von 42 Tagen mittels psychometrischer Fragebögen (Negativskala der PANSS, NSA-16, CGI und GAF) erfasst.

IV. Methoden

4.1. Klinischer Teil

4.1.1. Kontrollgruppe

Die Kontrollgruppe bestand aus 130 Probanden, die dem CEPH-Sample (Centre d'Etude du Polymorphisme Humain) entnommen wurden. Dieses Sample besteht aus gesunden Kontrollprobanden kaukasischer Herkunft.

4.1.2. Patientengruppe

Die Patientengruppe bestand aus 129 Patienten (n=129) kaukasischer Herkunft. Tabelle 3 gibt die Geschlechterverteilung an, die Altersmittelwerte zeigt Tabelle 4.

Geschlechterverteilung

Geschlecht	Häufigkeit	Prozent
männlich	79	61,2%
weiblich	50	38,8%
Gesamt	129	100,0%

Tabelle 3: Geschlechterverteilung der Patientengruppe (n=129)

Alter

Geschlecht	Mittelwert	n
männlich	34,41	79
weiblich	41,62	50
Gesamt	37,20	129

Tabelle 4: Altersmittelwerte der Patientengruppe (n=129), Altersdurchschnitt: 37,20 Jahre (18-65 Jahre)

Die Patienten wurden direkt nach stationärer Aufnahme in eine psychiatrische Klinik (Charité Campus Mitte, St.Hedwig-Krankenhaus, Berlin) rekrutiert. An Tag 0 waren die Patienten entweder unmediziert oder erhielten ein typisches bzw. atypisches Neuroleptikum, Anxiolytikum und/oder Sedativum. Im weiteren erfolgte die Umstellung auf ein anderes Neuroleptikum. An Tag 7 erhielten alle Patienten eine Monotherapie eines gängigen typischen oder atypischen Neuroleptikums (siehe Diagramm 1).

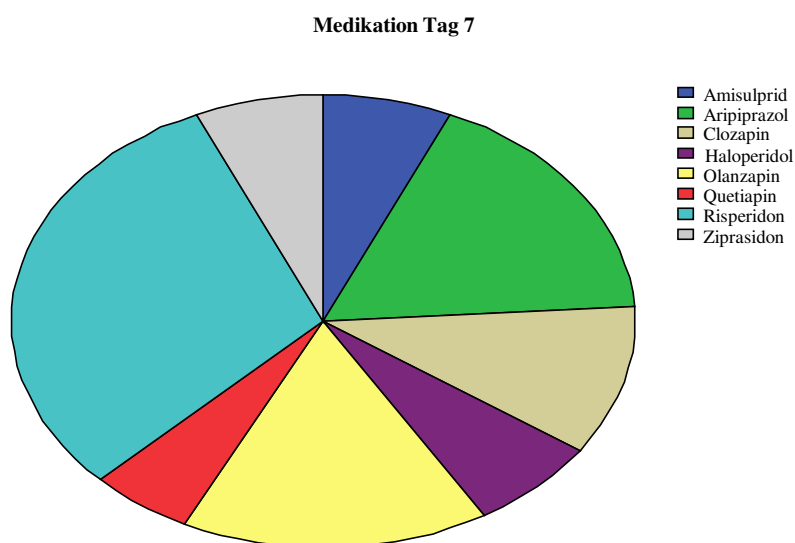


Diagramm 1: Darstellung der Medikation der Studiengruppe an Tag 7, bestehend aus 75 Patienten mit der Diagnose Schizophrenie: Amisulprid (Amisulprid Hexal ®)-6,7%; Aripiprazol (Abilify ®)-17,3%; Clozapin (Leponex®)-10,7%; Haloperidol (Haldol)-6,7%; Olanzapin (Zyprexa ®)-16%; Quetiapin (Seroquel ®)-5,3%; Risperidon (Risperdal ®)-30,7%; Ziprasidon (Zeldox ®)-6,7%

75 dieser Patienten mit der Diagnose Schizophrenie konnten über einen Zeitraum von 42 Tagen alle 7 Tage mittels psychometrischer Messinstrumente befragt bzw. eingeschätzt werden. Diese Patientengruppe bestand aus 43 Männern (57,3%) und 32 Frauen (42,7%), die einen Altersdurchschnitt von 35,05 Jahren (18-65 Jahre) aufwiesen.

Folgender Studienplan fand Anwendung:

Tag	Universal-Rating	PANSS	GAF	NSA-16	CGI	Blutentnahme (EDTA)
Tag 0	X	X	X	X	X	X
Tag 7		X	X		X	
Tag 14		X	X	X	X	
Tag 21		X	X		X	
Tag 28		X	X		X	
Tag 42		X	X	X	X	

Tabelle 5: Studienplan von Tag 0 bis Tag 42 (X=durchgeführt)

4.1.3. Einschlusskriterien

- Männliche oder weibliche Patienten im Alter von 18-65 Jahren.
- Schizophrenie nach ICD-10 als Diagnose
- Patienten nordwesteuropäischer Herkunft
- Eine stationäre Aufnahme im Rahmen einer Erstmanifestation oder einer akuten Exazerbation bzw. klinisch signifikanter Verschlechterung (z.B. Auftreten von positiven Symptomen oder deutlicher Funktionsabfall in beruflicher oder sozialer Hinsicht)

- Erreichen einer Summe von mindestens 60 in der PANSS
- Cannabis- oder Alkoholmissbrauch sind im Sinne einer Komorbidität gestattet
- Der Patient soll mit einer Monotherapie eines gängigen Neuroleptikums behandelt werden, folgende Beimedikation ist gestattet: Tavor (Anxiolyse), Diazepam (Anxiolyse und Sedierung), Eunerpan (Sedierung), Zopiclon (Schlafstörungen) und Paracetamol (Schmerzen)

4.1.4. Ausschlusskriterien

- Schwangere Patientinnen, sowie Stillende durften nicht in die Studie aufgenommen werden
- Das Vorliegen hirnerkranklicher Erkrankungen oder klinisch relevanter neurologischer Störungen (z.B. mentale Retardierung, M. Parkinson, Multiple Sklerose, Z.n. schwerem Schädel-Hirn-Trauma)
- Cannabis- oder Alkoholabhängigkeit, Polytoxikomanie
- Schwere Persönlichkeitsstörungen
- Schwere internistische Erkrankungen (z.B. Hepatitis C, HIV)
- Depot-Medikation in den letzten 4 Wochen

4.1.5. Psychometrische Messinstrumente

4.1.5.1. Universal-Rating

Zunächst wurde nach Aufklärung des Patienten und schriftlicher Einverständniserklärung eine allgemeine und psychiatrische Anamnese erhoben:

Name, Vorname, Geburtsdatum, Geburtsort, genetische Herkunft der Mutter und des Vaters, die Zahl leiblicher Geschwister, die Zahl schizophrener bzw. schizoaffektiver 1. oder 2. gradiger Verwandter, der höchste Schulabschluss, der weitere Bildungsweg, momentane finanzielle Bezüge, die Dauer der jetzigen stationären Behandlung, Alter bei Erstmanifestation, Alter bei erster stationärer Behandlung, bisherige Episodenzahl, sowie die Zahl stationärer Behandlungen und die kumulative Behandlung mit Neuroleptika, Suizidalität, Alkohol-, Cannabis-, Nikotinkonsum, des weiteren eventuelle Komplikationen bei der Geburt oder während der Schwangerschaft, Alter des Vaters und der Mutter bei der Geburt und Erkrankungen, wie beispielsweise Meningitis, Epilepsie, Migräne, Minderbegabung etc.

4.1.5.2. PANSS (Positive and Negative Syndrome Scale) [94]

Die PANSS gehört seit ihrer Entwicklung zu den wichtigsten Skalen zur Erfassung der Psychopathologie in der Schizophrenie. Sie besteht aus einem 30-40 minütigen formalisierten psychiatrischen Interview, in dem 30 Symptome anhand einer siebenstufigen Skala von 1 (nicht vorhanden) bis 7 (extrem ausgeprägt) bewertet werden. Die Symptome sind drei Skalen zugeordnet: der *Positivskala*, zu der Delusionen, formale Denkstörungen, Halluzinationen, Erregung, Größenwahn, Feindseeligkeit und Misstrauen/Verfolgungswahn gehören; der *Negativskala*, die Affektverarmung, emotionale Isolation, mangelnde Beziehungsfähigkeit, passiv-apathische soziale Isolation, erschwertes abstraktes Denkvermögen, mangelnde Spontaneität und Gesprächsfähigkeit, sowie stereotypes Denken umfasst und der *psychopathologischen Globalskala*, welche Angst, Schuldgefühle, Gespanntheit, Manieriertheit und Posieren, Depression, verlangsamte Motorik, Unkooperativität, ungewöhnliche Denkinhalte, Desorientiertheit, Aufmerksamkeitsschwäche, mangelnde Urteils- und Einsichtsfähigkeit, Störung der Willensbildung, mangelnde Impulskontrolle, Selbstbezogenheit, aktive soziale Meidung und leibliche Befindlichkeitsstörungen enthält. Die PANSS-Beurteilung basiert auf der Befindlichkeit des Patienten in den letzten sieben Tagen.

Das Ergebnis lässt sich nach getrennten Scores auswerten. Die Scores der drei Subskalen erhält man durch Addition der Punktzahlen der Items der jeweiligen Skala. Die möglichen Skalengesamtwerte betragen somit 7 bis 49 für die Positiv- und Negativskalen und 16 bis 112 für die Globale Psychopathologieskala. Durch Addition der Punktwerte aller Subskalen erhält man den PANSS Gesamtscore. Zusätzlich ermittelt man den Positiv-Negativ-Score, indem man den Negativscore vom Positivscore subtrahiert. Man erhält so einen zweiseitigen Index mit einer Spannbreite von -42 bis +42 („Differenzwert“), der angibt, wie stark ein Syndrom gegenüber dem anderen vorherrscht.

4.1.5.3. NSA-16 (Negative Symptom Assessment) [95]

Hierbei handelt es sich um eine Skala, die in ihrer Kurzform (16 Items) die Möglichkeit bietet, Negativsymptomatik bei Schizophrenie multidimensional zu konzeptionalisieren. Sie wurde 1989 von Larry D. Alphas, Summerfelt, Lann und Muller entwickelt. Die Skala zeichnet sich durch eine hohe test-retest Zuverlässigkeit (.93) und Interraterreliabilität (.85) aus.

Bewertet werden folgende 16 Punkte:

A	verlängerte Reaktionszeit	H	Sexuelles Interesse
B	eingeschränkte Sprachmenge	I	Vernachlässigung der Hygiene
C	verarmter Sprachinhalt	J	Reduziertes Zielbewusstsein
D	unartikulierte Sprache	K	Reduzierte tägliche Aktivität
E	Emotion (Spektrum reduziert)	L	Reduzierter gestischer Ausdruck
F	Affekt: Reduzierte Modulation der Intensität	M	Verlangsamte Bewegungen
G	Reduzierter sozialer Antrieb	N	mangelnder Beziehungsaufbau mit Rater

Auch hier soll die Bewertung unter Berücksichtigung des Zeitraums der letzten sieben Tage erfolgen. Die Skala der Bewertung reicht von 1 (normal) bis 6 (extrem). Die Zahl 9 kann gegeben werden, wenn die Bewertung eines Punktes nicht möglich ist. Außerdem wird vom Interviewer am Ende eine Gesamtbewertung der negativen Symptome durchgeführt, die folgendermaßen ausfallen kann:

- 1 keine Anzeichen dieses Symptoms
- 2 minimale Anzeichen dieses Symptoms
- 3 leichte Anzeichen dieses Symptoms
- 4 mäßige Anzeichen dieses Symptoms, sichtbar für den zufälligen Beobachter
- 5 ausgeprägte Anzeichen dieses Symptoms, sichtbar für den zufälligen Beobachter
- 6 schwerwiegend, nicht nur offensichtlich, sondern mit deutlicher Beeinträchtigung der Funktionsfähigkeit
- 7 äußerst schwerwiegendes Symptom, macht Patient (in) funktionsunfähig.

4.1.5.4. CGI (Clinical Global Impression) [96]

Die CGI-Skala wurde vom National Institute of Mental Health (1976) entwickelt und dient der Erfassung des Schweregrades der Erkrankung anhand des klinischen Eindrucks. Die CGI wurde an den Tagen 0, 7, 14, 21, 28 und 42 angewandt.

Die Beurteilung des klinischen Gesamteindrucks erfolgt auf einer siebenstufigen Skala.

- 1 Patient ist nicht krank
- 2 Patient ist ein Grenzfall psychiatrischer Erkrankung
- 3 Patient ist nur leicht krank
- 4 Patient ist nur mäßig krank
- 5 Patient ist deutlich krank
- 6 Patient ist schwer krank
- 7 Patient ist extrem schwer krank

4.1.5.5. GAF (Global Assessment Functioning) [97]

Dieses Rating ermöglicht die Beurteilung der derzeitigen psychischen, sozialen und beruflichen Leistungsfähigkeit des Patienten auf einem hypothetischen Kontinuum

zwischen seelischer Gesundheit und Krankheit. Beeinträchtigungen aufgrund körperlicher oder durch das soziale Umfeld bedingter Einschränkungen sollen nicht mit einbezogen werden. Notiert werden sollte die entsprechende Kodierung mit der niedrigsten Leistungsfähigkeit in der vergangenen Woche. Kodiert werden konnte auch ein Zwischenwert, wenn nötig, z.B. 68 (1 bis 100 möglich).

- 90 gute Leistungsfähigkeit auf allen Gebieten, interessiert und eingebunden in ein breites Spektrum von Aktivitäten, sozial integriert, im Allgemeinen zufrieden mit dem Leben, übliche Alltagsprobleme oder Sorgen, keine oder minimale Symptome (z.B. leichte Angst vor Prüfungen, gelegentlicher Streit mit einem Familienmitglied)
- 80 höchstens leichte Beeinträchtigung der sozialen, beruflichen oder schulischen Leistungsfähigkeit (z.B. zeitweiliges Zurückfallen in der Schule). Wenn Symptome vorhanden, sind diese vorübergehende oder normale Reaktion auf psychosoziale Stressoren (z.B. Konzentrationsschwierigkeiten nach einem Familienstreit)
- 70 leichte Beeinträchtigung der sozialen, beruflichen oder schulischen Leistungsfähigkeit oder leichte Symptomatik (z.B. leichte depressive Verstimmungen und leichte Schlaflosigkeit), jedoch im Allgemeinen recht gute Leistungsfähigkeit. Es bestehen einige wichtige zwischenmenschliche Beziehungen.
- 60 mäßig ausgeprägte Störung hinsichtlich der sozialen, beruflichen oder schulischen Leistungsfähigkeit oder mäßig ausgeprägte Symptome (z.B. wenig Freunde, Konflikte mit Altersgenossen, flacher Affekt, weitschweifige Sprache, gelegentliche Panikattacken)
- 50 ernsthafte Beeinträchtigungen der sozialen, beruflichen oder schulischen Leistungsfähigkeit oder ernstzunehmende Symptome (z.B. keine Freunde, unfähig eine Stelle zu behalten, Selbstmordgedanken, schwere zwanghafte Rituale, häufiger Ladendiebstahl)
- 40 starke Beeinträchtigung in mehreren Bereichen (z.B. Arbeit, Schule, familiäre Beziehungen, Beurteilungsvermögen, Denken oder Stimmung oder Beeinträchtigung der Realitätswahrnehmung oder der Kommunikation)
- 30 Leistungsunfähigkeit in fast allen Bereichen (bleibt den ganzen Tag im Bett, keine Arbeit, kein Zuhause oder keine Freunde) oder das Verhalten ist beträchtlich beeinflusst durch Wahnideen oder Halluzinationen oder ernsthafte Beeinträchtigung der Kommunikation oder des Urteilsvermögens (manchmal z.B. inkohärent, handelt weitgehend inadäquat, starke Beschäftigung mit Selbstmordgedanken)
- 20 Selbst- oder Fremdgefährdung (z.B. Selbstmordversuche ohne eindeutige Todesabsicht, häufig gewalttätig, manische Erregung) oder ist manchmal nicht in der Lage minimale körperliche Hygiene aufrecht zu erhalten oder weitgehende Beeinträchtigung der Kommunikation
- 10 ständige Gefahr, sich oder andere schwer zu schädigen (z.B. wiederholte Gewaltanwendung oder anhaltende Unfähigkeit, die minimale persönliche Hygiene aufrecht zu erhalten oder ernsthafter Selbstmordversuch mit eindeutiger Todesabsicht).

4.2. Experimenteller Teil

4.2.1. Allgemeine Erklärungen

4.2.1.1. Einzelnukleotidpolymorphismen/single nucleotide polymorphisms (SNPs)

99,9% des Erbgutes sind bei allen Menschen identisch, durchschnittlich an jeder 500.-1000. Stelle ist jedoch ein bestimmter Baustein des Genoms gegen einen anderen ausgetauscht. Insgesamt etwa drei bis sechs Millionen solcher Variationen kommen vermutlich im Erbgut vor. Ein solcher Einzelnukleotidpolymorphismus (single nucleotide polymorphism-SNP) liegt dann vor, wenn der durch die Basen Adenin, Guanin, Cytosin und Thymin charakterisierte, genetische Code einen Austausch besitzt und dies innerhalb einer Population häufiger als 1% auftritt. SNPs gehen auf Mutationen zurück, die sich im Laufe der menschlichen Evolution ereignet haben. Eine Reihung von Allelen in einem Chromosomen-Abschnitt bezeichnet man als Haplotyp. Rekombinationen innerhalb eines Haplotyp-Blocks sind relativ selten. Dort sind die Reihungen vieler SNP-Allele konstant geblieben. Man spricht von Kopplungsungleichgewicht oder Linkage Disequilibrium (LD). LD gibt an, ob in einer Population Allele an zwei oder mehr Stellen einer Sequenz häufiger gekoppelt vorkommen, als man statistisch erwarten würde (50%). Die Existenz eines Kopplungsungleichgewichtes bedeutet, dass man aus der Konstellation eines SNPs mit einer bestimmten Wahrscheinlichkeit auf die zweite Variante schließen kann. Durch ein weit ausgedehntes Kopplungsungleichgewicht gekennzeichnete Blöcke treten im Wechsel mit solchen Regionen auf, in denen fast kein Kopplungsungleichgewicht nachweisbar ist. Zur möglichst vollständigen Aufklärung der Haplotyp-Blockstruktur des menschlichen Genoms haben sich Forschungszentren zusammengeschlossen, um eine entsprechende Karte, die „HapMap“ zu erzeugen.

4.2.1.2. PCR

Die Polymerase-Kettenreaktion (Polymerase Chain Reaction, PCR) dient der Vervielfältigung der DNA. Sie beruht auf einem immer wiederkehrenden Zyklus aus drei Schritten:

1. *Denaturierung*: Die Reaktionslösung mit der DNA (welche kopiert werden soll), den Primern (welche als Start-DNA dienen) und den Nukleotiden (welche an Primer angehängt werden) sowie der Taq-Polymerase (welches die DNA-Synthese katalysiert) wird auf 95°C erhitzt. Dadurch trennen sich die beiden komplementären Stränge, die DNA „denaturiert“.

2. *Hybridisierung*: Durch das Herabsetzen der Temperatur auf 55°C-65°C verbinden sich die Primer mit der DNA. An diesen Stellen beginnt die Polymerase damit, weitere komplementäre Nucleotide anzubauen und damit die Verbindung zwischen Primern und DNA zu verlängern.
3. *Verlängerung*: Die Temperatur wird nun wieder erhöht, diesmal auf 72°C. Das ist die ideale Arbeitstemperatur für die verwendeten Polymerasen, welche weitere Nucleotide an die entstehenden DNA-Stränge anbauen.

Durch ständige Wiederholung dieser drei Schritte verdoppelt sich jedes Mal die Anzahl kopierter DNA-Moleküle, die Anzahl der Moleküle wächst exponentiell. Nach 25-35 Zyklen entstehen auf diese Weise aus einem einzigen DNA-Doppelstrang mehrere Millionen Moleküle.

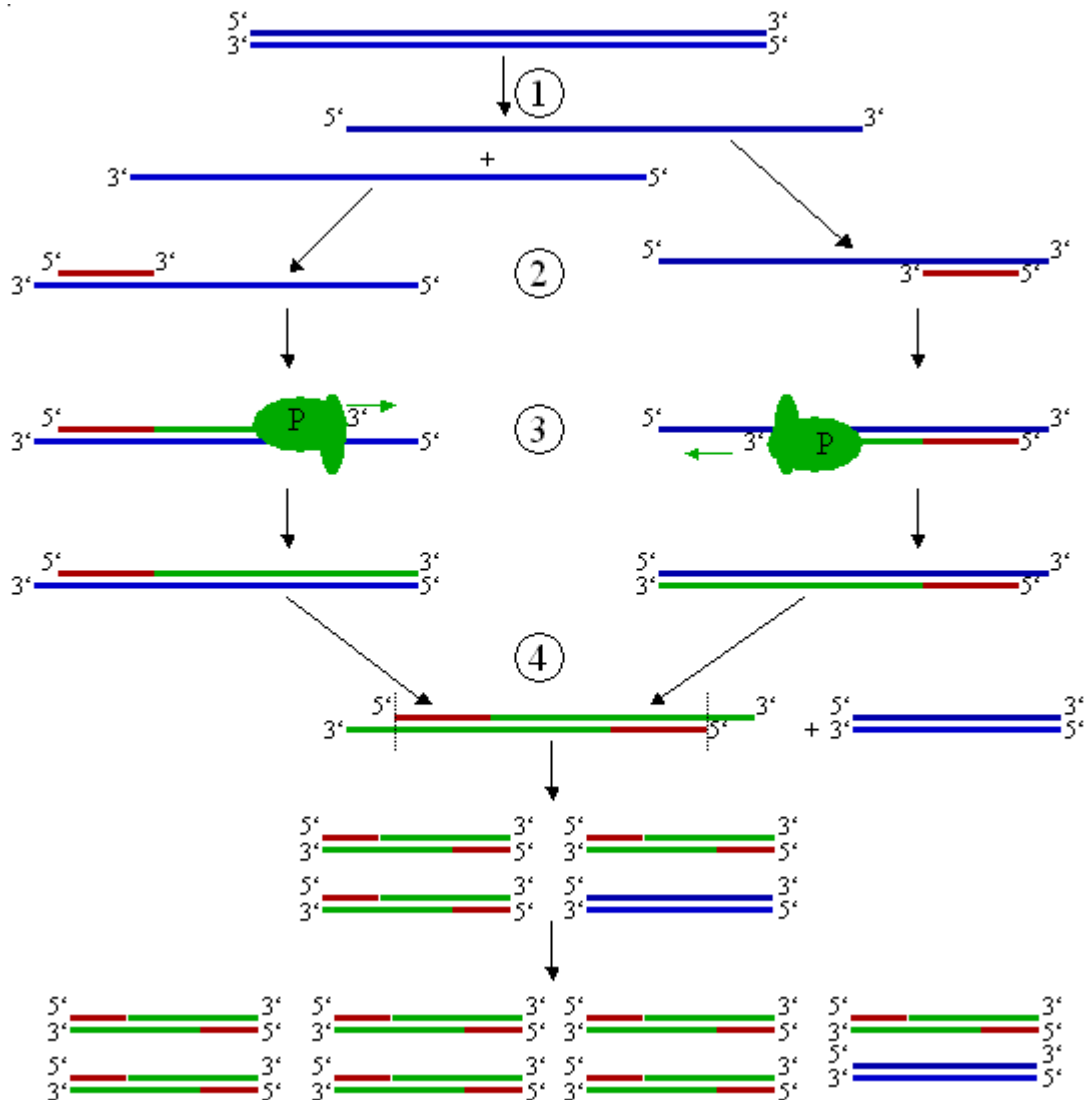


Abbildung 6: Schematische Darstellung des PCR-Zyklus

- (1) Denaturierung bei ca. 96°C
- (2) Primerhybridisierung bei ca. 55-65°C
- (3) Elongation bei ca. 72°C (P=Polymerase)
- (4) Der erste Zyklus ist beendet

4.2.1.3. Agarose-Elektrophorese

Die Agarose-Elektrophorese wurde durchgeführt, um zu überprüfen, ob bei der PCR ausreichende und spezifische Produkte hergestellt wurden. 10 µl der PCR-Produkte wurden mit 10 µl Loading Buffer auf eine Mikrotiterplatte aufgetragen und danach für 1 min zentrifugiert. Auf ein 2%iges Agarosegel (3 g SERVA Agarose, 200 ml TBE) wurden 10 µl des Ansatzes aufgetragen. Die Elektrophorese erfolgte in einer mit 1xTBE gefüllten Gelkammer bei 120 V, 170 mA für 30-60 min. Dabei trennten sich die PCR-Produkte entsprechend ihrer Länge auf. Dem schloss sich ein Färbebad (5 µl SYBR-Gold + 600 ml 1xTBE) für ca. 60 min an. Die so angefärbte DNA stellte sich unter UV-Licht in Banden dar, die mit dem Gelbetrachtungssystem abfotografiert wurden. Als Längenmarker wurden 3µl einer 50 bp Leiter aufgetragen.

4.2.1.4. RFLP (Restriktionslängenpolymorphismus)

Restriktionsenzyme erkennen und schneiden DNA an spezifischen Schnittstellen. Anhand der Sequenz der DNA, die mit einem Restriktionsenzym verdaut wird, kann die Länge und die Anzahl der aus dem Template entstehenden Fragmente vorhergesagt werden und damit auf das zugrundeliegende Allel rückgeschlossen werden. Die entsprechenden spezifischen Enzyme für jeweils ein Allel des SNPs werden mittels NEBcutter (<http://tools.neb.com/NEBcutter2/index.php>) bestimmt.

Das Vorliegen unterschiedlicher DNA-Fragmente nach Verdau durch Restriktionsenzyme wird als Restriktionslängenpolymorphismus (RFLP) bezeichnet. Die vervielfältigte und geschnittene DNA kann im nächsten Schritt durch eine Agaroseelektrophorese untersucht werden. Die Fragmente wandern abhängig von ihrer Größe unterschiedlich schnell durch die netzähnlichen Polysaccharidstrukturen des Agarosegels und werden anschließend im Färbebad sichtbar gemacht.

4.2.2. DNA-Extraktion

Von allen Studienteilnehmern wurde 30ml venöses Blut entnommen. Die Proben wurden kodiert, um Anonymität zu gewährleisten und bei -20°C konserviert. Zur Extraktion der

genomischen DNA wurde ein Kit der Firma Qiagen gemäß der gegebenen Anleitung verwendet:

Nach Auftauen des tiefgefrorenen EDTA-Blutes bei Raumtemperatur wurden 8 ml Blut in ein 50 ml Zentrifugenröhrchen, in dem sich 15 ml Lyse-Puffer (FG1) befanden, gegeben. Die gesamte Mischung wurde 5 mal geschwenkt und anschließend mit der „Hettich-Zentrifuge“ für 8 min bei 5000 Umdrehungen zentrifugiert. Anschließend wurde der rote Überstand abgetrennt und verworfen und der Lyseschritt mit 5ml Lyse Puffer (FG1) und einer Zentrifugation (5 min bei 5000 Umdrehungen) wiederholt. Der Überstand wurde abgetrennt und verworfen. Dem schloss sich eine erneute Wiederholung des Lyseschrittes (3 ml Lyse Puffer und Zentrifugation für 3 min bei 5000 Umdrehungen) an. Noch einmal wurde der Überstand abgetrennt und verworfen.

Nun erfolgte die Zugabe von 4 ml Puffer FG2, welcher 4 µl Qiagen-Protease enthielt. Durch Mischen wurde ein homogenes Pellet erzeugt. Dieses wurde in ein neues Röhrchen überführt und für 15 min bei 65°C inkubiert.

Danach wurden 4 ml Isopropanol zugegeben und gemischt, bis die DNA-Stränge sichtbar wurden. Anschließend wurde bei 4000 Umdrehungen für 3 min zentrifugiert. Es schloss sich ein vorsichtiges Abtrennen des Überstandes an, eine Zugabe von 4 ml Ethanol (70%) und eine Zentrifugation für 3 min bei 4000 Umdrehungen erfolgte.

Ethanol wurde nun sorgfältig abgetrennt und es erfolgte eine Trocknung bei Zimmertemperatur für 40-50 min. Abschließend wurde 1 ml Puffer (FG3) hinzugegeben und eine Inkubation für 60 min bei 65°C durchgeführt.

4.2.3. Genotypisierung

Die Genotypisierung wurde an sechs, aus der Arbeit von Funke et al. 2004 [91] übernommenen SNPs durchgeführt (rs9097906, rs1018381 rs2619522, rs760761, rs2619528, rs1011313; dbSNP, National Center for Biotechnology Information, NCBI). Die Spezifität der Primer wurden mittels „BLAST“ (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov:80/BLAST/>) überprüft. Die Primer wurden „per Hand“ entwickelt, folgende Richtlinien wurden dabei eingehalten:

- A 18-22bp lange Primer
- B Differenz der Schmelztemperatur zwischen forward und reverse Primer maximal 4°C
- C Keine inter- oder intramolekulare Komplementärstrukturen am 3`-Ende, um die Bildung von Primer-Dimern zu verhindern
- D Fragmentgröße zwischen 100 bp und 400 bp

ID	Contig Position	Chromosom 6 Position	Position im/zum Gen	Heterozygoten- Index
rs909706	6519122	15768850	Intron 1	0.50
rs1018381	6508080	15757808	Intron 3	0.315
rs2619522	6511900	15761628	Intron 3	0.254
rs760761	6509383	15759111	Intron 3	0.314
rs2619528	6508080	15757808	Intron 3	0.315
rs1011313	6491683	15741411	Intron 4	0.195

Tabelle 6: ausgewählte SNPs, ihre contig position , Lokalisation auf Chromosom 6, Position im Gen und der Heterozygotenindex (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez_db_snp)

ID	Primer forward	Primer reward	Fragmentlänge	Annealing- temperatur
rs909706	5'-CGGAATGAG ATTCTGGAGT-3'	5'-CTCTCAGGA TGTCTAGCTC-3'	195bp	58°C
rs1018381	5'-GTCCTCACCT TTCCTAATAGC-3'	5'-CAGGAGGTTGA GGCTGCAG-3'	250bp	54°C
rs2619522	5'-CTGTAACAGAGT CCACAG-3'	5'-CCTGATACTTC TGAGCTAG-3'	363bp	56°C
rs760761	5'-GATATAACATCAT CAAAAGCACAAT-3'	5'-CCACTATCTTG ATGGTGTTC-3'	103bp	54°C
rs2619528	5'-GGAAGTAAAATTG AATGT-3'	5'-GCACCTATATG ATGTTCTAG-3'	306bp	58°C
rs1011313	5'-CAGGCTACAGAAT GGATGTTAC-3'	5'-GGCTGTATGAA CAGAGTATCG-3'	140bp	56°C

Tabelle 7: Primer, Fragmentlänge des PCR-Produktes und Annealingtemperatur während der PCR

4.2.4. PCR-Ansätze/Restriktionsenzymverdau

Um die optimalen Bedingungen für die verschiedenen Primer bestimmen zu können, wurde zunächst ein Gradient durchgeführt. Hierbei wurden verschiedene Annealingtemperaturen (53°C, 53,3°C, 54,5°C, 56,3°C, 58,6°C, 61,1°C, 63,9°C, 66,5°C, 69,0°C, 71,1°C, 72,6°C, 73,4°C) und Magnesiumchloridkonzentrationen (MgCl₂) (0,6µl, 0,8µl, 1,0µl, 1,2µl) ausgetestet. Nach Auswertung der entstanden PCR-Produkte wurden folgende Bedingungen für die PCR festgelegt (Tabelle 8):

	rs909706	rs10108381	rs2619522	rs760761	rs2619528	rs1011313
Wasser	14,0µl	14,0µl	14,0µl	13,6µl	14,0µl	14,2µl
Puffer(10xBuffer von Gene Craft)	2,0µl	2,0µl	2,0µl	2,0µl	2,0µl	2,0µl
dNTP`s (2mM)	1,0µl	1,0µl	1,0µl	1,0µl	1,0µl	1,0µl
MgCl ₂ (50mM)	0,8µl	0,8µl	0,8µl	1,2µl	0,8µl	0,6µl
Primer F (10µM)	0,5µl	0,5µl	0,5µl	0,5µl	0,5µl	0,5µl
Primer R (10µM)	0,5µl	0,5µl	0,5µl	0,5µl	0,5µl	0,5µl
Taq Polymerase (5U/µl)	0,2µl	0,2µl	0,2µl	0,2µl	0,2µl	0,2µl

Tabelle 8: Zusammensetzung des Master-Mix für die PCR. Das Gesamtvolumen für eine Probe betrug 19µl Master Mix+ 1µl DNA

Es erfolgte die PCR im Thermocycler , die folgende Schritte beinhaltet:

1. Denaturierung bei 94°C für 5 Minuten
2. Denaturierung bei 94°C für 1 Minute
3. Annealing für 1 Minute (Temperatur primerabhängig, siehe Tabelle 7)
4. Extension bei 72°C für 1 Minute
5. Final Extension bei 72°C für 7 Minuten

Die Schritte 2-4 wurden 35 Mal durchlaufen, dem schloss sich die Kühlung bei 4°C an.

Die verwendeten Restriktionsenzyme zeigt Tabelle 9.

SNP	Enzym	Inkubations-temperatur	Hersteller	Menge	Puffer
rs909706	BfaI	37°C	New England Biolabs	5000U/ml	NEB Buffer 4
rs1018381	NspI	37°C	New England Biolabs	10000U/ml	NEB Buffer 2
rs2619522	BseGI	55°C	MBI Fermentas	10U/µl	Buffer Tango
rs760761	MseI	37°C	New England Biolabs	10000U/ml	NEB Buffer 2
rs2619528/ rs1011313	HpyCHIV	37°C	New England Biolabs	10000U/ml	NEB Buffer 1

Tabelle 9: Restriktionsenzyme für den Verdau

Der Master-Mix für den Verdau (Angabe bezieht sich auf 1 Probe) hatte folgende Zusammensetzung:

- Wasser 3,5µl
- Puffer 1,0µl
- Enzym 0,5µl
- PCR-Produkt 8,0µl

Es erfolgt die Inkubation bei der angegebenen Inkubationstemperatur des Herstellers für 16 Stunden.

Nach Zugabe von 10µl Laufpuffer zu 10µl des Verdau erfolgte die Elektrophorese auf einem 3%igem Agarose-Gels (9g SERVA Agarose und 300ml 1xTBE) für 60-80 min bei 100-130 V und die einstündige Lagerung im Färbebad.

Mit dem Gelbetrachtungssystem erfolgte die Auswertung der entstandenen DNA-Banden.

SNP/Restriktionsenzym	homozygot I	heterozygot	homozygot II
rs909706/BfaI <i>Genotyp</i>	187bp <i>C/C</i>	67bp/120bp/187bp <i>C/T</i>	67bp/120bp <i>T/T</i>
rs1018381/NspI <i>Genotyp</i>	250bp <i>C/C</i>	84p/166bp/250bp <i>C/T</i>	84bp/166bp <i>T/T</i>
rs2619522/BseGI <i>Genotyp</i>	363bp <i>A/A</i>	132bp/231bp/363bp <i>A/C</i>	132bp/231bp <i>C/C</i>
rs760761/MseI <i>Genotyp</i>	103bp <i>C/C</i>	22bp/81bp/103bp <i>C/T</i>	22bp/81bp <i>T/T</i>
rs2619528/HpyCHIV <i>Genotyp</i>	306bp <i>A/A</i>	132bp/174bp/306bp <i>A/G</i>	132bp/174bp <i>G/G</i>
rs1011313/HpyCHIV <i>Genotyp</i>	140bp <i>C/C</i>	21bp/119bp/140bp <i>C/T</i>	21bp/119bp <i>T/T</i>

Tabelle 10: Bandenmuster nach Restriktionsenzymverdau und Aufteilung der Genotypen

4.2.5. Software

Software	Typ	Hersteller
Statistiksoftware	SPSS 14.0	Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, 2007

Tabelle 11: Software zur statistischen Auswertung

4.2.6. Geräte und Chemikalien

Gerät	Typ	Hersteller
Inkubator	Thermocenter Salvis Lab	Salvis Lab, Schweiz
Waage	OWA Labor	OWA Labor, Deutschland
Zentrifuge	Laboratorian Medical Centrifuge	Lab 4 you, Geesthacht
Mikrozentrifuge	Centrifuge 5415 C	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Hamburg
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
Pipettenspitzen		Sarstedt, Nürnberg, Deutschland
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
Wippschüttler	Unitwist RT	G-Kisker, Steinfurth Deutschland

Tabelle 12: Verwendete Geräte

Chemikalie	Hersteller
Ethanol absolut	Carl Roth, GmbH, Karlsruhe, Deutschland
QIAamp DNA Blood Maxi Kit	QIAGEN GmbH, Hilden, Deutschland
H ₂ O	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 4	New England Biolabs, 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

Tabelle 13: Verwendete Chemikalien

4.3. Statistische Auswertung

Bei der Auswertung der klinischen Variablen kamen zur Anwendung:

- Deskriptive Statistiken (Mittelwert = MW, Median, Minimum, Maximum)
- Varianzanalyse (einfaktorielle ANOVA)
- Häufigkeitsvergleich mit nichtparametrischem Chi-Quadrat-Test
- Nichtparametrische Korrelation (Spearman) mit $\alpha=0,05$ (2-seitig)
- Mittelwertsvergleiche normalverteilter abhängiger Variablen durch den parametrischen t-Test (Student) für gepaarte Stichproben

Das Signifikanzniveau wurde für alle Untersuchungen auf $\alpha=0,05$ (2-seitig) festgelegt. Trends wurden für $\alpha=0,10$ definiert ($p<0,10$). Das Multiple Testen wurde mittels Bonferroni-Korrektur für die Einzelmarker SNP rs2619522 ($p<0,042$), SNP rs760761 ($p<0,029$) und SNP rs2619528 ($p<0,035$) und deren Assoziation zur Schizophrenie korrigiert. Der Test auf Hardy-Weinberg Gleichverteilung wurde mit dem exakten Test nach Weir durchgeführt. Zur Auswertung der Allel- und Genotypenverteilung wurden der exakte Test nach Fisher benutzt, um die Verteilung zwischen Erkrankten und Kontrollen zu vergleichen. Die Berechnung der Haplotypen erfolgte mittels Hap [98] (<http://research.calit2.net/hap/Credits.htm>). Das Kopplungsungleichgewicht (linkage disequilibrium, LD) wurde mittels GENEPOP (www.genepop.curtin.edu.au) berechnet. Die graphische Darstellung erfolgte durch die Software „Graphical Overview of Linkage Disequilibrium“ (GOLD) (www.sph.umich.edu/csg/abecasis/GOLD).

V. Ergebnisse

Die untersuchten SNPs des DTNBP-1 Gens sind auf Chromosom 6p22.3 in einer Region lokalisiert, zu der in der aktuellen Literatur signifikante Kopplungs- beziehungsweise Assoziationsbefunde beschrieben sind. Um die Ergebnisse in einem deutschen Kollektiv zu replizieren, wurden 129 schizophrene Patienten und 130 kaukasische gesunde Kontrollen mittels RFLP bezüglich der Marker rs909706, rs1018381, rs2619522, rs760761, rs2619528 und rs1011313 genotypisiert und deren Assoziation wie auch der Haplotypen mit der Diagnose Schizophrenie untersucht. Der Krankheitsverlauf, speziell die Entwicklung der Negativsymptomatik von 75 schizophrenen Patienten konnte über einen Zeitraum von 42 Tagen mittels psychometrischer Messinstrumente (Negativskala der PANSS, NSA-16 und GAF) verfolgt werden, um eine mögliche Assoziation mit den SNP- und Haplotypvarianten zu untersuchen. Für die SNPs rs2619522, rs760761, rs2619528 und die Haplotypen CC-AC-AT, CC-AC-GT und TC-CC-AT konnte eine Assoziation zur Schizophrenie und Negativsymptomatik gezeigt werden. Die Ergebnisdarstellung lässt sich dem folgenden Abschnitt entnehmen.

5.1. Linkage Disequilibrium

Die untersuchten SNPs befinden sich zueinander im Verteilungsungleichgewicht. Die LD (linkage disequilibrium=Kopplungsungleichgewicht) gibt an, inwieweit die Marker zusammen transmittiert werden. Folgende LD-Werte ergaben sich für das gesamte Kollektiv:

	LD-Werte
LD SNP rs909706-SNP rs1018381	LD= 0,88
LD SNP rs2619522-SNP rs760761	LD= 0,72
LD SNP rs2619528-SNP rs1011313	LD= 0,79

Tabelle 14: Darstellung der LD-Werte für das gesamte Kollektiv

Abbildung 7 gibt einen graphischen Überblick des LD für die untersuchten SNPs. Einem bestimmtem LD-Wert zwischen zwei SNPs ist jeweils eine farbkodierte Fläche zugeordnet.

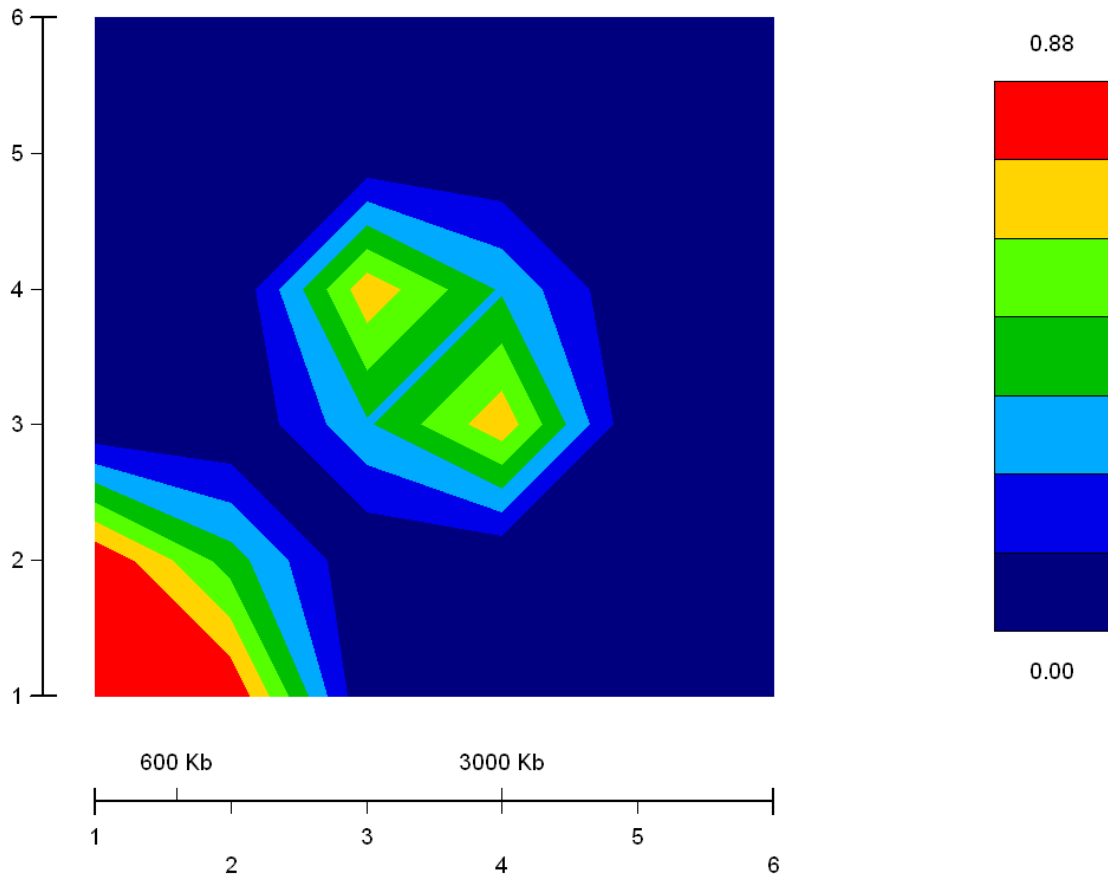


Abbildung 7: Graphische Darstellung des Kopplungsungleichgewichts für die untersuchten SNPs. Rot zeigt eine hohe ($D' = 0,90$), blau eine niedrige ($D' = 0,00$) LD an. (1-SNP rs909707; 2-SNP rs1018381; 3-SNP rs2619522; 4-SNP rs760761; 5-SNP rs2619528; 6-SNP rs1011313)

5.2. Auswertung der Genotypisierungen

Für jeden SNP wurde die Allelverteilung und die Aufteilung der Genotypen dargestellt und auf signifikante Unterschiede zwischen Patienten- und Kontrollgruppe überprüft. Sämtliche SNPs befanden sich im Hardy-Weinberg-Equilibrium. Die Genotypverteilung aller SNPs (siehe Heterozygotenindex Tabelle 6) entsprachen den bei NCBI db SNP veröffentlichten Frequenzen. Zusätzlich wurde mit Hilfe des dominanten Modells berechnet, ob ein bestimmter Genotyp mit der Diagnose Schizophrenie assoziiert war und überprüft, ob eines der Allele einen dominanten Effekt hat.

5.2.1. Analyse SNP rs909706

Allelverteilung

Gruppe	C-Allel n (%)	T-Allel n (%)	Gesamt n
Kontrollen	150 (58,1%)	108 (42,18%)	258
Patienten	163 (63,7%)	93 (36,3%)	256
Gesamt	313 (60,9%)	201 (39,1%)	514

Tabelle 15: Darstellung der Allelverteilung des rs909706 Polymorphismus

Es fand sich kein signifikanter Unterschied in der Allelverteilung zwischen Patienten- und Kontrollgruppe ($\chi^2=1,089$; $df=1$, $p=,37$).

Genotypverteilung

Gruppe	Genotyp1 (C/C) n (%)	Genotyp2 (C/T) n (%)	Genotyp3 (T/T) n (%)	Gesamt n
Kontrollen	46 (35,7%)	68 (52,7%)	15 (11,6%)	129
Patienten	46 (13,3%)	71 (20,6%)	11(3,2%)	128
Gesamt	92 (35,8%)	139 (54,1%)	26 (10,1%)	257

Tabelle 16: Darstellung der Genotypverteilungen des rs909706 Polymorphismus

Die Frequenzen der Genotypen zeigten keinen signifikanten Unterschied zwischen Kontroll- und Patientengruppe ($\chi^2=,672$; $df= 2$; $p=,713$).

dominantes Modell

In Tabelle 17 wurden die T-Allelträger den Homozygoten für das C-Allel gegenübergestellt.

Gruppe	Genotyp C/C n (%)	Genotyp T/T und C/T n (%)	Gesamt n
Kontrollen	46 (33,7%)	83 (64,3%)	129
Patienten	46 (13,3%)	82 (63,3%)	128
Gesamt	129 (52,2%)	165 (64,2%)	257

Tabelle 17: Darstellung der Häufigkeit der homozygoten C-Träger (Genotyp 1) im Vergleich mit den Trägern für das T-Allel (Genotyp 2 und Genotyp 3) des SNP rs909706

Wiederum ergab sich kein signifikanter Unterschied in den Genotypfrequenzen zwischen den beiden Gruppen ($\chi^2=0,408$; $df= 1$; $p=,466$).

In Tabelle 18 sind die Träger des C-Allels (Genotyp 1 und Genotyp 2) den Homozygoten für das T-Allel gegenübergestellt. Ein signifikanter Unterschied zwischen Patienten- und Kontrollgruppe konnte nicht berechnet werden ($\chi^2=1,063$; $df= 1$; $p=,32$).

Gruppe	Genotyp C/T und C/C n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt n
Kontrollen	114 (88,4%)	15 (11,6%)	129
Patienten	117 (91,4%)	11 (3,2%)	128
Gesamt	231 (89,9%)	26 (10,1%)	257

Tabelle 18: Darstellung der Häufigkeit der homozygoten T-Träger (Genotyp 3) im Vergleich zu den Trägern für das C-Allel (Genotyp 1 und Genotyp 2) des rs909706 Polymorphismus

5.2.2. Analyse SNP rs1018381

Allelverteilung

Aus Tabelle 19 ergibt sich die Allelverteilung innerhalb der Patienten- und Kontrollgruppe.

Gruppe	C-Allel n (%)	T-Allel n (%)	Gesamt n
Kontrollen	231 (89,5%)	27 (10,5%)	258
Patienten	234 (90,7%)	24 (9,3%)	258
Gesamt	465 (90,1%)	51 (9,9%)	516

Tabelle 19: Darstellung der Allelverteilung des rs1018381 Polymorphismus

Es bestand kein signifikanter Unterschied in der Allelverteilung zwischen Patienten- und Kontrollgruppe ($\chi^2=6,222$; $df= 1$; $p=,123$).

Genotypverteilung

Die Genotypverteilung in den beiden Gruppen zeigt Tabelle 20:

Gruppe	Genotyp1 (C/C) n (%)	Genotyp2 (C/T) n (%)	Genotyp3 (T/T) n (%)	Gesamt n
Kontrollen	104 (80,7%)	23 (17,8%)	2 (1,5%)	129
Patienten	117 (90,7%)	12 (9,3%)	0 (0%)	129
Gesamt	221 (85,7%)	35 (13,6%)	2 (0,8%)	258

Tabelle 20: Darstellung der Genotypverteilungen des rs1018381 Polymorphismus

Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Schizophrenie ($\chi^2=2,016$; $df= 1$; $p=,156$).

dominantes Modell

Tabelle 21 ist eine Zusammenstellung der Träger des homozygoten C-Allels (Genotyp 1) gegenüber den Trägern des T-Allels (Genotypen 2 und 3).

Gruppe	Genotyp C/C n (%)	Genotyp T/T und C/T n (%)	Gesamt n
Kontrollen	104 (80,7%)	25 (19,3%)	129
Patienten	117 (90,7%)	12 (9,3%)	129
Gesamt	221 (85,7%)	37 (14,3%)	258

Tabelle 21: Darstellung der Häufigkeit der homozygoten C-Träger (Genotyp 1) im Vergleich mit den Trägern für das T-Allel (Genotyp 2 und Genotyp 3) des SNP rs1018381

Die Genotypfrequenzen wiesen keinen signifikanten Unterschied zwischen Kontroll- und Patientengruppe auf ($\chi^2=5,332$; $df= 1$; $p=,182$).

Eine Gegenüberstellung der homozygoten T-Allelträger (Genotyp 3) versus C-Allelträger (Genotypen 1 und 2) zeigt Tabelle 22.

Gruppe	Genotyp C/T und C/C n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt n
Kontrollen	127 (98,4%)	2 (1,6%)	129
Patienten	129 (100%)	0 (0%)	129
Gesamt	256 (99,2%)	2 (0,8%)	258

Tabelle 22: Darstellung der Häufigkeit der homozygoten T-Träger (Genotyp 3) im Vergleich zu den Trägern für das C-Allel (Genotyp 1 und Genotyp 2) des rs1018381 Polymorphismus

5.2.3. Analyse SNP rs2619522

Allelverteilung

Gruppe	A-Allel n (%)	C-Allel n (%)	Gesamt n
Kontrollen	52 (21%)	196 (79%)	248
Patienten	82 (31,8%)	176 (68,2%)	258
Gesamt	134 (26,5%)	372 (73,5%)	506

Tabelle 23: Darstellung der Allelverteilung des rs2619522 Polymorphismus

Es fand sich ein signifikanter Unterschied in der Allelverteilung zwischen der Kontroll- und Patientengruppe dahingehend, dass das A-Allel deutlich häufiger in der Patientengruppe genotypisiert wurde ($\chi^2=1,106$; $df= 1$; **p=,04.**)

Genotypverteilungen

Die Genotypverteilungen in den beiden Gruppen werden aus Tabelle 24 ersichtlich.

Gruppe	Genotyp 1 A/A n (%)	Genotyp 2 A/C N (%)	Genotyp 3 C/C n (%)	Gesamt
Kontrollen	3 (2,4%)	46 (37,1%)	75 (60,5%)	124
Patienten	11 (8,52%)	60 (46,5%)	58 (44,9%)	129
Gesamt	14 (5,5%)	106 (41,9%)	133 (52,6%)	253

Tabelle 24: Darstellung der Genotypverteilungen des Polymorphismus rs2619522

Die Genotypverteilungen zeigten einen signifikanten Unterschied zwischen Patienten- und Kontrollgruppe dahingehend, dass Genotyp A/C signifikant häufiger in der Patientengruppe und Genotyp C/C signifikant geringer in der Patientengruppe vorkam ($\chi^2= 8,498$; $df= 2$; **p=,014.**)

dominantes Modell

Tabelle 25 ist eine Zusammenstellung der Träger des C-Allels (Genotyp A/C und Genotyp C/C) gegenüber den Homozygoten für das A-Allel.

Gruppe	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/C und C/C n (%)	Gesamt n
Kontrollen	3 (2,4%)	121 (97,6%)	124
Patienten	11 (8,52%)	118 (91,5%)	129
Gesamt	14 (5,5%)	239 (94,5%)	253

Tabelle 25 : Darstellung der Häufigkeit der C-Träger (Genotypen 2 und 3) im Vergleich mit dem homozygoten Trägern für das A-Allel (Genotyp 1) des Polymorphismus rs2619522

Die Genotypfrequenzen des Genotyps A/A wiesen zwischen den beiden Gruppen einen signifikanten Unterschied auf, in der Patientengruppe kam dieser Genotyp signifikant häufiger vor ($\chi^2 = 6,808$; $df = 1$; **$p = ,009$**).

Die Genotypen A/A und A/C kamen in der Patientengruppe signifikant häufiger vor ($\chi^2 = 4,521$; $df = 1$; **$p = ,034$**).

Gruppe	Genotyp A/A und A/C n (%)	Genotyp C/C n (%)	Gesamt n
Kontrollen	49 (39,5%)	75 (60,5%)	124
Patienten	70 (54,3%)	59 (45,7%)	129
Gesamt	119 (47,0%)	134 (53,0%),	253

Tabelle 26: Darstellung der Häufigkeit der A-Träger (Genotypen 1 und 2) im Vergleich mit den homozygoten Trägern für das C-Allel (Genotyp 3) des Markers rs2619522

5.2.4. Analyse SNP rs760761

Allelverteilung

Die Datenauswertung ergab die in Tabelle 27 veranschaulichte Allelverteilung innerhalb der Patienten- und Kontrollgruppe.

Gruppe	C-Allel n (%)	T-Allel n (%)	Gesamt n
Kontrollen	258 (100%)	0 (0%)	258
Patienten	235 (91,8%)	21 (8,2%)	256
Gesamt	511 (99,4%)	21 (4,1%)	514

Tabelle 27: Auflistung der Allelverteilung des Polymorphismus rs760761

Das T-Allel war in der Patienten- und Kontrollgruppe deutlich unterrepräsentiert, kam jedoch in der Patientengruppe häufiger als in der Kontrollgruppe vor ($\chi^2 = 2,000$; $df = 1$; **$p = ,039$**).

Genotypverteilung

Deren Verteilung wird aus Tabelle 28 ersichtlich:

Gruppe	Genotyp 1 C/C n (%)	Genotyp C/T n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt
Kontrollen	127 (98,4%)	3 (1,6%)	0 (0%)	129
Patienten	110 (85,9%)	15 (11,7%)	3 (2,3%)	128
Gesamt	237 (92,2%)	18 (7%)	3 (1,1%)	257

Tabelle 28: Genotypverteilung des Polymorphismus rs760761

Die Genotypfrequenzen zeigten einen signifikanten Unterschied zwischen Kontroll- und Patientengruppe ($\chi^2 = 12,205$; $df = 2$; **p=,002**)

dominantes Modell

Tabelle 29 ist eine Zusammenstellung der Träger des T-Allels (Genotypen 2 und 3) gegenüber den Homozygoten für das C-Allel (Genotyp 1).

Gruppe	Genotyp C/C n (%)	Genotyp C/T und T/T n (%)	Gesamt
Kontrollen	127 (98,4%)	3 (1,6)	129
Patienten	110 (85,9%)	18 (14,0%)	128
Gesamt	237 (92,2%)	21 (8,2%)	257

Tabelle 29: Vergleich der Häufigkeiten des T-Allels gegenüber den homozygoten C-Allelträgern für SNP rs760761

Es konnte eine signifikante Assoziation zur Schizophrenie festgestellt werden, dahingehend, dass Genotyp C/T signifikant häufiger in der Patientengruppe vorkam, als in der Kontrollgruppe ($\chi^2 = 3,083$; $df = 1$; **p=,049**).

Gruppe	Genotyp T/T n (%)	Genotyp C/T und C/C n (%)	Gesamt
Kontrollen	0 (0%)	129 (100%)	129
Patienten	3 (2,3%)	125 (97,7%)	128
Gesamt	3 (0,9%)	254 (98,8%)	257

Tabelle 30: Darstellung der homozygoten T-Allelträger (Genotyp 3) gegenüber den C-Trägern (Genotyp 1 und 2) für

Basenaustauschpolymorphismus rs760761

5.2.5. Analyse SNP rs2619528

Allelverteilung

Nach PCR und Restriktionsenzymverdau ergab sich folgende Allelverteilung:

Gruppe	A-Allel n (%)	G-Allel n (%)	Gesamt n
Kontrollen	51 (20,4%)	199 (79,6%)	250
Patienten	77 (30,5%)	175 (69,5%)	252
Gesamt	128 (25,5%)	374 (74,5%)	502

Tabelle 31: Darstellung der Allelverteilung für SNP rs2619528

Es fand sich ein signifikanter Unterschied in der Allelverteilung zwischen Patienten- und Kontrollgruppe dahingehend, dass das A-Allel signifikant häufiger in der Patienten-, als in der Kontrollgruppe vorkam ($\chi^2=9,449$; df= 1; **p=,002**)

Genotypverteilung

Die Aufteilung der Genotypen lässt sich aus Tabelle 32 entnehmen.

Gruppe	Genotyp (A/A) n (%)	Genotyp (A/G) n (%)	Genotyp (G/G) n (%)	Gesamt
Kontrollen	3 (2,4%)	45 (36%)	77 (61,6%)	125
Patienten	14 (11,1%)	49 (38,9%)	63 (50%)	126
Gesamt	17 (6,8%)	94 (37,5%)	140 (55,8%)	251

Tabelle 32 : Darstellung der Genotypverteilung des rs2619528 Polymorphismus

Die Frequenzen der Genotypen zeigten einen signifikanten Unterschied zwischen Patienten- und Kontrollgruppe ($\chi^2= 11,108$; df=2; **p=,004**).

dominantes Modell

Die nächste Tabelle soll eine Zusammenstellung der homozygoten A-Allelträger gegenüber den Trägern des G-Allels (Genotyp 2 und 3) bieten.

Gruppe	Genotyp A/A n (%)	Genotyp A/G und G/G n (%)	Gesamt
Kontrollen	3 (2,4%)	122 (97,6%)	125
Patienten	14 (11,1%)	112 (88,9%)	126
Gesamt	17 (6,8%)	234 (93,2%)	251

Tabelle 33: Darstellung der Häufigkeit der homozygoten A-Träger (Genotyp 1) gegenüber den G-Allelträgern (Genotypen 2 und 3) für Basenaustauschpolymorphismus rs2619528

Genotyp A/A kam in beiden Studiengruppen deutlich unterrepräsentiert vor, jedoch in der Patientengruppe signifikant häufiger als in der Kontrollgruppe ($\chi^2= 3,423$; df= 1; **p=,044**).

Gruppe	Genotyp G/G n (%)	Genotyp A/G und A/A n (%)	Gesamt
Kontrollen	77 (61,6%)	48 (38,4%)	125
Patienten	63 (50%)	63 (50%)	126
Gesamt	140 (55,8%)	111 (44,2%)	251

Tabelle 34: Gegenüberstellung der homozygoten G-Allelträger versus der A-Allelträger (Genotypen 1 und 2) für SNP rs2619528

Somit ergab sich ein signifikanter Unterschied in den Genotypfrequenzen beider Gruppen, das A-Allel (Genotyp A/A und A/G) kam signifikant häufiger in der Patientengruppe vor ($\chi^2=9,449$; df= 1; **p=,002**).

5.2.6. Analyse SNP rs1011313

Allelverteilung

Nach Berechnung der Allelfrequenzen ergab sich folgende Verteilung für SNP rs1011313:

Gruppe	C-Allel n (%)	T-Allel n (%)	Gesamt
Kontrollen	14 (5,4%)	246 (94,6%)	260
Patienten	18 (7%)	240 (93%)	258
Gesamt	32 (6,2%)	486 (93,8%)	518

Tabelle 35: Darstellung der Allelverteilung des Polymorphismus rs1011313

Es bestand kein signifikanter Unterschied in der Allelverteilung zwischen Patienten- und Kontrollgruppe. Das T-Allel war in der Patienten- und Kontrollgruppe deutlich überrepräsentiert ($\chi^2 = 0,56$; $df = 1$; $p = ,813$).

Genotypverteilung

Gruppe	Genotyp C/C n (%)	Genotyp C/T n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt
Kontrollen	0 (0%)	14 (10,8%)	116 (89,2%)	130
Patienten	0 (0%)	18 (14,0%)	111 (86,0%)	129
Gesamt	0 (0%)	32 (12,4%)	227 (87,6%)	259

Tabelle 36: Verteilung der Genotypen für SNP rs1011313

Die Genotypen 2 und 3 ergaben keine Assoziation mit Schizophrenie ($\chi^2 = 17,686$; $df = 1$; $p = ,613$).

dominantes Modell

Gruppe	Genotyp C/C und C/T n (%)	Genotyp T/T n (%)	Gesamt
Kontrollen	14 (10,8%)	116 (89,2%)	130
Patienten	18 (14,0%)	111 (86,0%)	129
Gesamt	32 (12,4%)	227 (87,2%)	259

Tabelle 37: Darstellung der Häufigkeit der C-Träger gegenüber den homozygoten Trägern für das T-Allel für Polymorphismus rs1011313

Wiederum ergab sich kein signifikanter Genotypfrequenzenunterschied zwischen den Gruppen ($\chi^2 = 0,56$; $df = 1$; $p = ,813$).

Gruppe	Genotyp C/C n (%)	Genotyp C/T und T/T n (%)	Gesamt
Kontrollen	0 (0%)	130 (100%)	130
Patienten	0 (%)	129 (100%)	129
Gesamt	0 (0%)	259 (100%)	259

Tabelle 38: Gegenüberstellung der homozygoten C-Allelträger gegenüber den Trägern des T-Allels für SNP rs1011313

5.3. Auswertung der psychometrischen Fremdbeurteilungsfragebögen und deren Assoziation mit den Genotypisierungsbefunden

5.3.1. PANSS

Im Diagramm 2 ist der Verlauf der Negativsymptomatik durch die Negativskala der PANSS über 42 Tagen dargestellt. Diagramm 3 zeigt den Verlauf mittels der Positivskala der PANSS von Tag 0 bis Tag 42. Die Boxplots zeigen, dass sowohl die Positiv- als auch die Negativsymptomatik im Verlauf von sechs Wochen unter Behandlung mit atypischen Neuroleptika deutlich rückläufig war. Der Mittelwert der Negativskala (MW = 21,61) an Tag 0 unterschied sich signifikant vom Mittelwert der Negativskala (MW = 18,72) an Tag 42 ($t=11,234$; $df=53$; $p=0,04$). Ein signifikanter Unterschied bestand auch zwischen dem Mittelwert (MW=17,56) der Positivskala an Tag 0 und dem Mittelwert (MW=11,65) der Positivskala an Tag 42 ($t=11,305$; $df=53$; $p=0,02$). Deutlich wurde, dass der Differenzwert Positivskala-Negativskala von Tag 0 bis Tag 42 im negativen Bereich liegt und somit die Negativsymptomatik gegenüber der Positivsymptomatik über den gesamten Zeitraum stärker ausgeprägt ist (Diagramm 4).

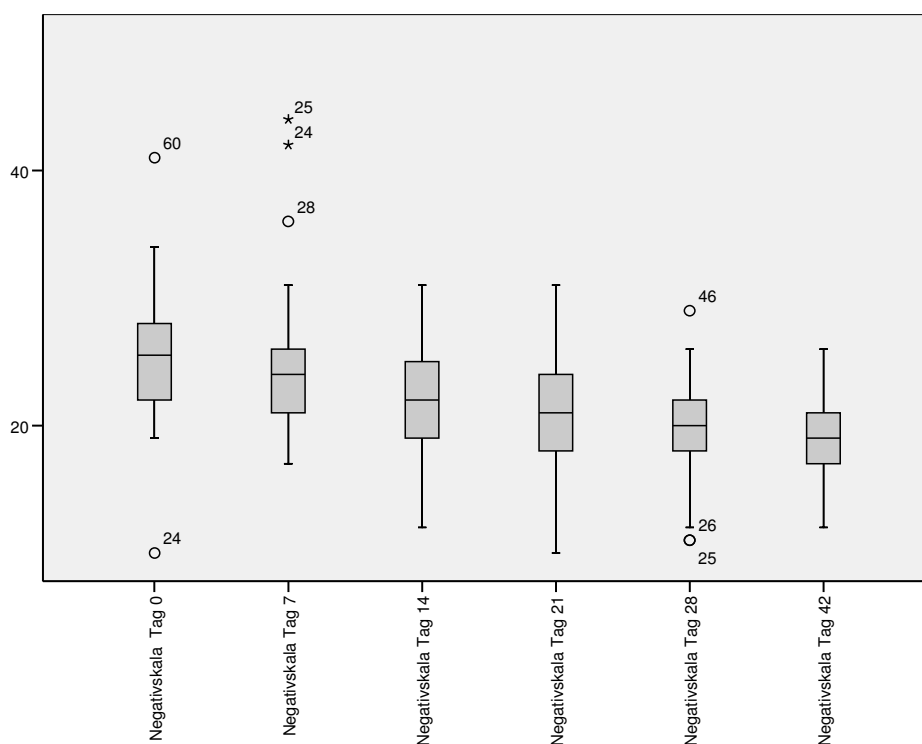


Diagramm 2: Darstellung des Verlaufes der erreichten Medianwerte der Negativskala der PANSS von Tag 0 bis Tag 42.
 °milde Ausreißer, * extreme Ausreißer

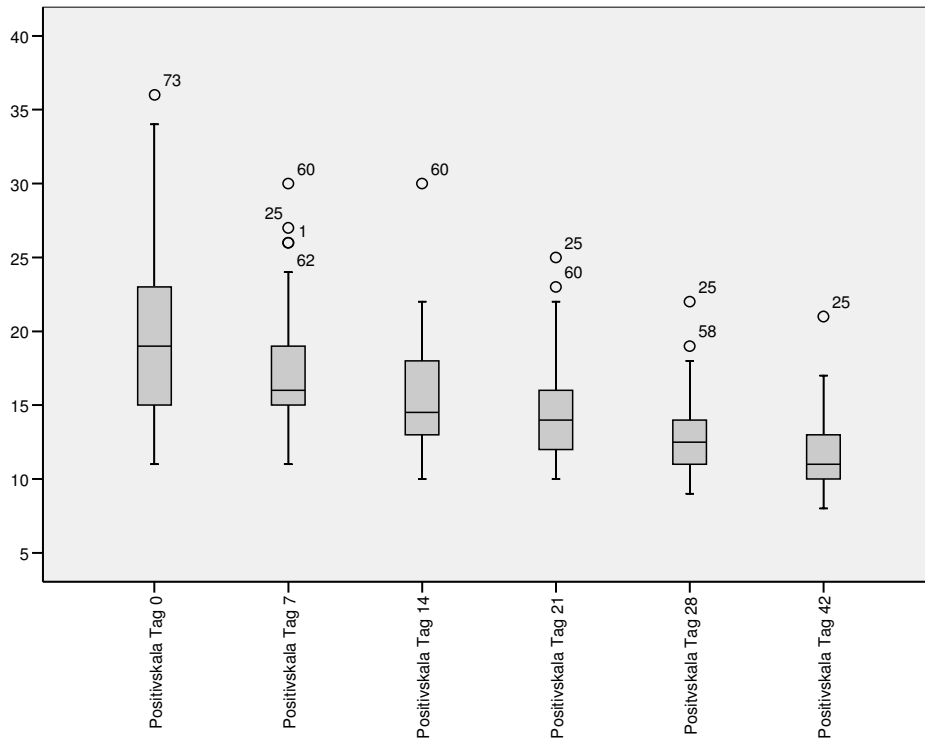


Diagramm 3: Darstellung der Verlaufes der erreichten Medianwerte der Positivskala der PANSS von Tag 0 bis Tag 42.
 °milde Ausreißer, * extreme Ausreißer

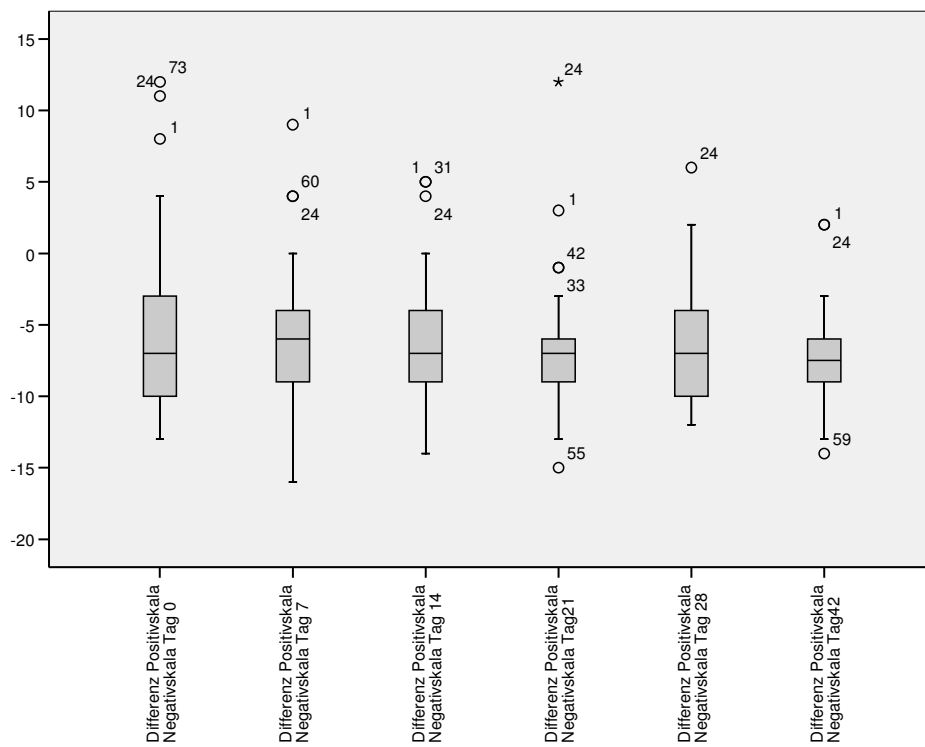


Diagramm 4: Darstellung des Verlaufs der erreichten Medianwerte der Differenzen Positivskala-Negativskala von Tag 0 bis Tag 42.
 °milde Ausreißer, * extreme Ausreißer

5.3.2. NSA-16

Eine Einschätzung der Negativsymptomatik mittels NSA-16 erfolgte an den Tagen 0, 14 und 42. Diagramm 5 zeigt ein kontinuierliches Abfallen der Medianwerte der Summe NSA-16 von Tag 0 bis Tag 42 (MW Tag 0: 65,56; MW Tag 42: 61,55). Zwischen den Mittelwerten an Tag 0 und Tag 42 bestand ein signifikanter Unterschied ($t=4,01$; $df=55$; **$p=0,01$**).

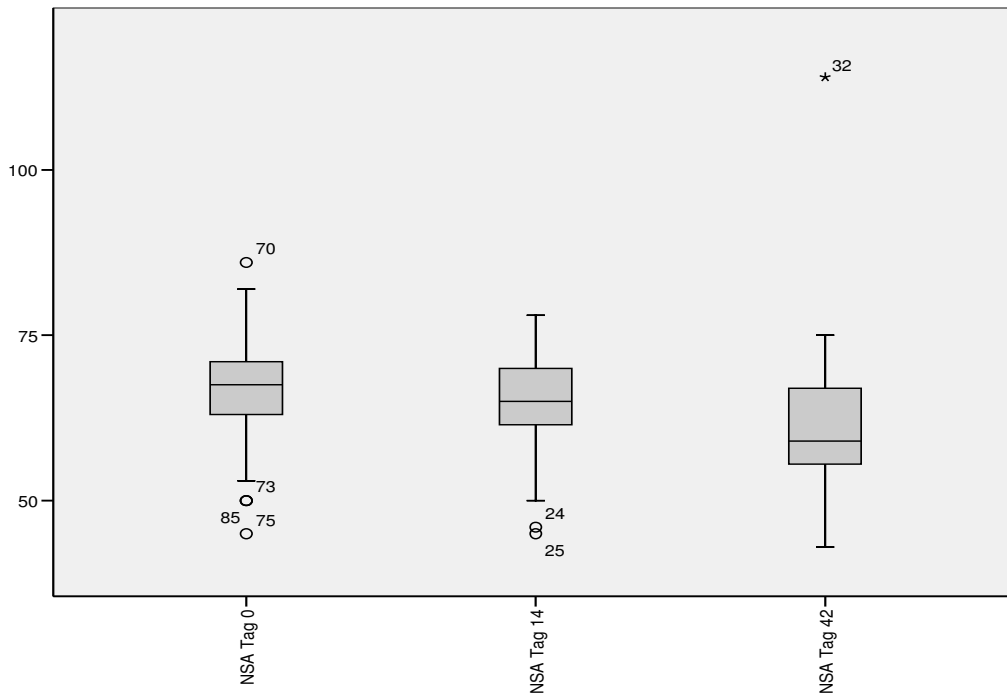


Diagramm 5: Erreichte Medianwerte der Patientengruppe für die Einschätzung der Negativsymptomatik mittels NSA-16 von Tag 0 bis Tag 42. °milde Ausreißer, *extreme Ausreißer

Der Mittelwert der Negativskala an Tag 0 und der der NSA-16-Summe an Tag 0 korrelierten nicht signifikant (Spearman-Rho Korrelationskoeffizient: 0,079; $p=,262$), ebenso nicht an Tag 14 (Spearman-Rho Korrelationskoeffizient: 0,149; $p=,272$). An Tag 42 ergab sich eine zweiseitig signifikante Korrelation auf dem $p<0,05$ Niveau (Spearman-Rho Korrelationskoeffizient: 0,299; **$p=0,029$**).

5.3.3. CGI

Diagramm 6 zeigt Medianwerte an den Tagen 0, 7, 14, 21, 28 und 42 für die Einschätzung des Schweregrades der Erkrankung mittels CGI. Die Berechnungen zeigten, dass der Mittelwert von Tag 0 bis Tag 42 absinkt. Mittelwert der CGI an Tag 0 und Tag 42 unterschieden sich signifikant ($t= 10,21$; $df=53$; **$p=0,02$**).

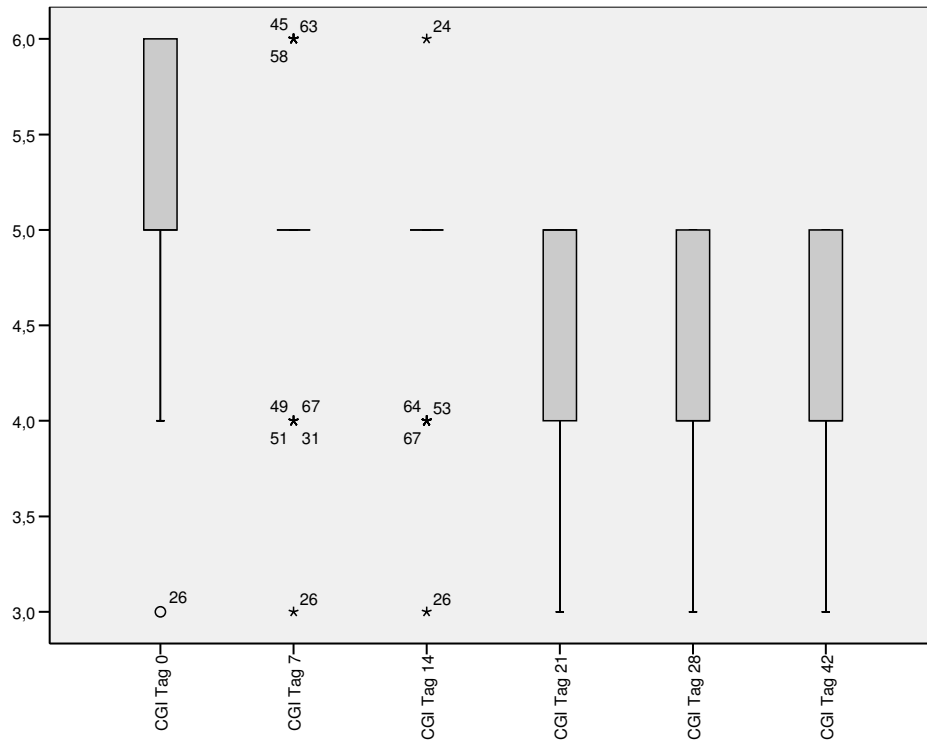


Diagramm 6: Erreichte Mediane für die Einschätzung des klinischen Eindrucks mittels CGI der Patientengruppe von Tag 0 bis Tag 42. °milde Ausreißer, *extreme Ausreißer

5.3.4. GAF

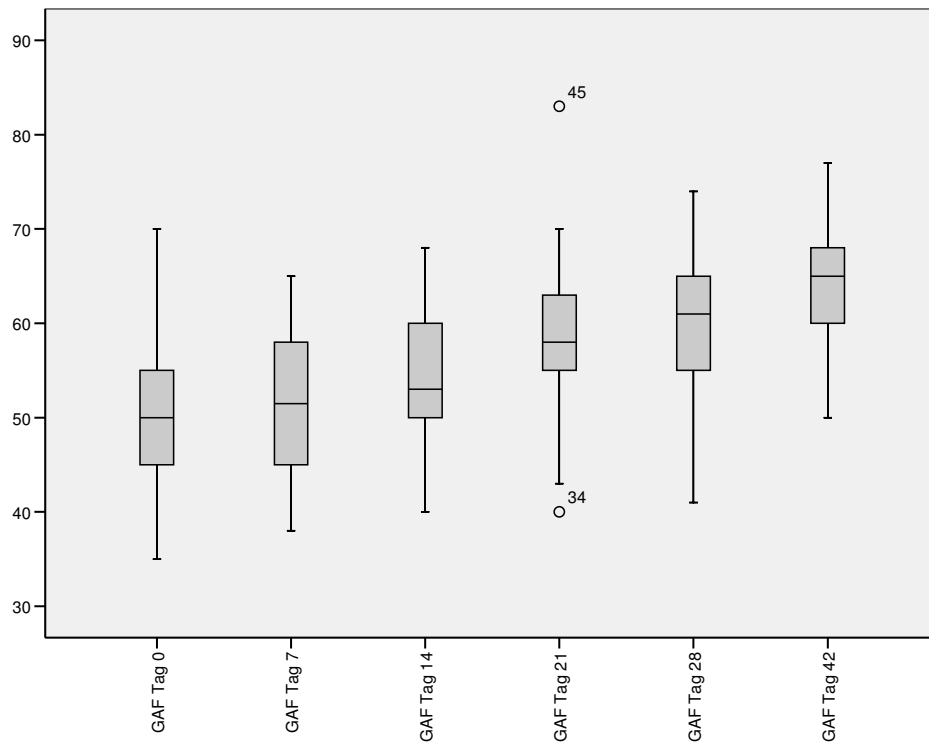


Diagramm 7: Erreichte Medianwerte der Patientengruppe bei der Einschätzung der globalen Leistungsfähigkeit mittels GAF von Tag 0 bis Tag 42. °milde Ausreißer

Diagramm 7 zeigt erreichte Medianwerte der Patientengruppe bei der Fremdbeurteilung der globalen Leistungsfähigkeit mittels GAF. Es verdeutlicht, dass eine kontinuierliche Verbesserung der psychischen, sozialen und beruflichen Leistungsfähigkeit erreicht wurde (MW Tag 0: 51,22; MW Tag 42: 63,12). Der Mittelwert an Tag 0 unterschied sich signifikant vom Mittelwert an Tag 42 ($t=11,9$; $df=53$; **$p=0,019$**).

5.3.5. Einfluss der Genotypen auf den Verlauf der Negativsymptomatik

Um einen Einfluss der unterschiedlichen Allelvariationen auf die Entwicklung der Negativsymptomatik zu untersuchen, wurden Mittelwerte mit Hilfe der einfaktoriellen ANOVA verglichen. Zunächst wurde die Differenz der Mittelwerte Negativskala Tag 42-Tag 0, NSA-16 Tag 42-Tag 0 und GAF Tag 42-Tag 0 berechnet, um eine Beurteilung hinsichtlich der Entwicklung der Negativsymptomatik zu ermöglichen (siehe Diagramm 8, 9 und 10). Für die Polymorphismen rs909706, rs1018381 und rs1011313 ergaben sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Entwicklung der Negativsymptomatik. In den Diagrammen 8, 9 und 10 sind berechnete Ergebnisse für die SNPs rs2619522, rs760761 und rs2619528 dargestellt, da diese eine Assoziation zur Schizophrenie zeigten. Homozygote A-Allelträger des SNP rs2619522 erreichten signifikant (**$p=,021$**) niedrigere Differenzwerte Negativskala Tag 42- Tag 0, sowie einen Trend ($p=,089$) zu niedrigeren Differenzwerten NSA- 16 Tag 42- Tag 0 gegenüber Trägern des C-Allels für SNP rs2619522. Für SNP rs760761 konnten keinerlei signifikante Unterschiede und Trends bezüglich der Einschätzung mit der Negativskala der PANSS ($p=0,985$), der NSA-16 ($p=0,234$) und der GAF ($p=0,480$) berechnet werden. C-Allelträger zeigten gegenüber den T-Allelträgern jedoch im Verlauf von 42 Tagen eine geringere Differenz der Skalenwerte Tag 42- Tag 0. Signifikante Unterschiede und Trends konnten auch für SNP rs2619528 nicht berechnet werden. Homozygote A-Allelträger erzielten sowohl bei der Einschätzung der Negativsymptomatik mittels Negativskala der PANSS ($p=0,123$), NSA-16 ($p=0,359$) und GAF ($p=0,687$) eine größere Differenz Tag 42- Tag 0 als Träger des G-Allels.

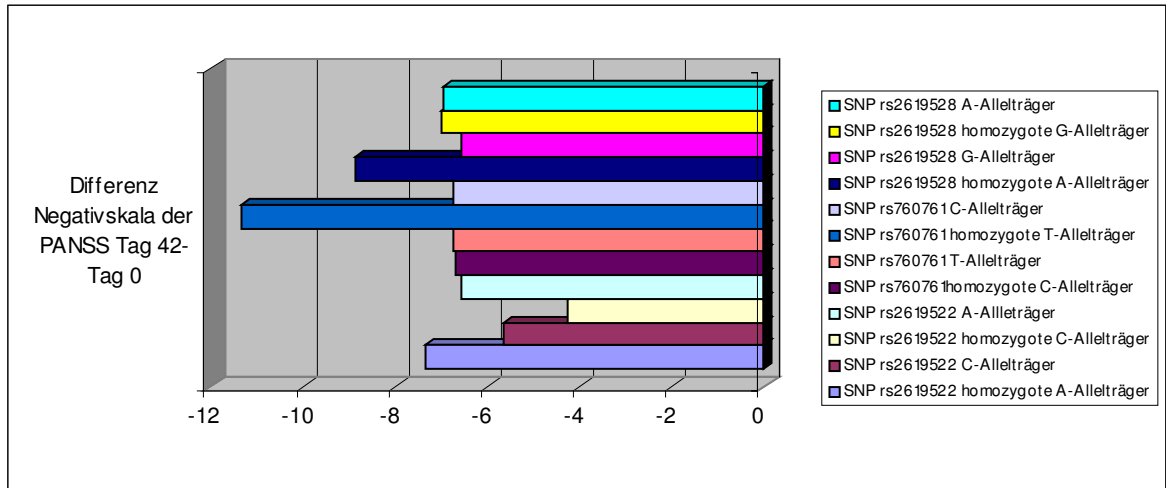


Diagramm 8: Graphische Darstellung der Mittelwerte der Differenz Negativskala der PANSS Tag 42-Tag 0 für Allelvariationen der SNPs rs2619522, rs760761 und rs2619528

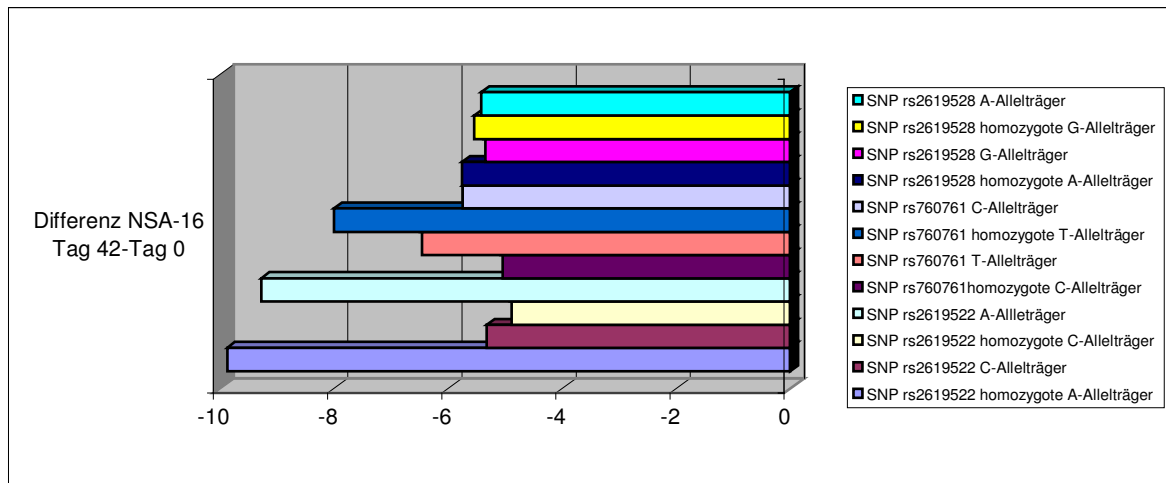


Diagramm 9: Graphische Darstellung der Mittelwerte der Differenz NSA-16 Tag 42-Tag 0 für Allelvariationen der SNPs rs2619522, rs760761 und rs2619528

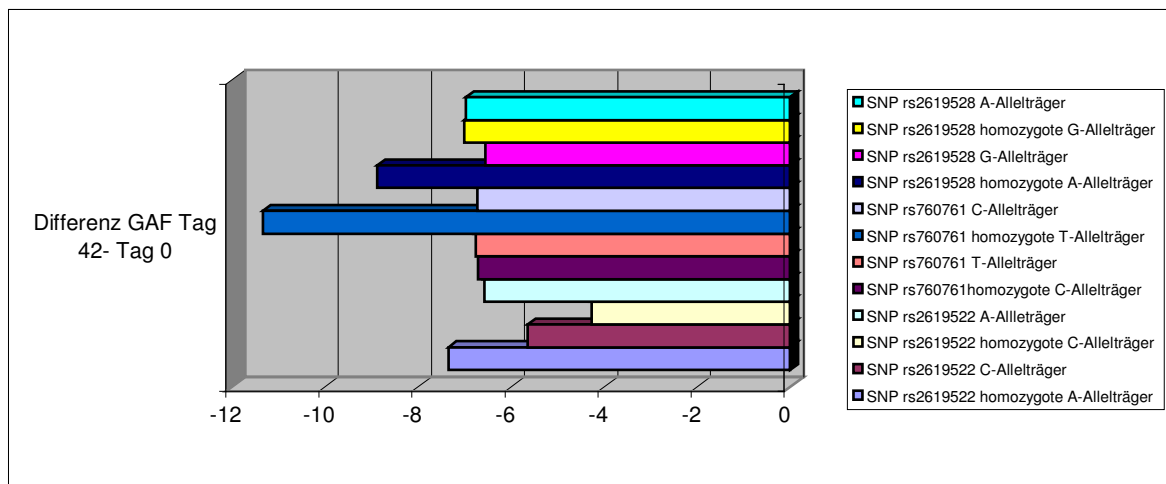


Diagramm 10: Graphische Darstellung der Mittelwerte der Differenz GAF Tag 42-Tag 0 für Allelvariationen der SNPs rs2619522, rs760761 und rs2619528

5.4. Haplotypenberechnung und Einfluss auf Schizophrenie und Negativsymptomatik

In einer Haplotypenanalyse wurde mittels Hap [98] die wahrscheinlichste Allelkombination auf den beiden Chromosomen für jeden Probanden dargestellt. Hierbei ergaben sich für die sechs SNPs rs909706, rs1018381, rs2619522, rs760761, rs2619528 und rs1011313 drei Haplotypblöcke.

5.4.1. Haplotypenberechnung/Blöcke für das gesamte Kollektiv

Blocknummer	Start-position	End-position	tag SNPs
Block 1	rs909706	rs1018381	1
Block 2	rs2619522	rs760761	1
Block 3	rs2619528	rs1011313	1

Tabelle 39: Berechnung der Haplotypen mittels Hap: Für die 6 SNPs konnten 3 Blöcke berechnet werden. rs909706 (1)-rs1018381(2), rs2619522 (3)- rs760761 (4) und rs2619528 (5) -rs1011313 (6) bilden jeweils einen Haplotypblock. tag SNPs = Anzahl der SNPs in dem jeweiligen Block, die mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit eine Aussage über die Allele der ebenfalls in dem Block lokalisierten SNPs machen können.

	Patientengruppe	Kontrollgruppe
CC-CC-GT	25 (19,4%)	53 (40,8%)
TC-CC-GT	27 (12,5%)	56 (43,1%)
CC-AC-AT	32 (14,8%)	10 (7,7%)
CC-AC-GT	19 (14,7%)	0 (0%)
TC-CC-AT	13 (6,0%)	0 (0%)
TC-CC-GC	2 (0,9%)	7 (5,4%)
CT-AT-AT	0 (0%)	3 (2,3%)
CC-CC-AT	3 (2,3%)	0 (0%)
TC-AC-GT	2 (1,6%)	1 (0,8%)
CC-CC-AC	2 (1,6%)	0 (0%)
CC-CT-AT	2 (1,6%)	0 (0%)
TC-AC-AT	1 (0,8%)	0 (0%)
TC-AC-GC	1 (0,8%)	0 (0%)
Gesamt	129 (100%)	130 (100%)

Tabelle 40: Darstellung der vorkommenden Haplotypenkombinationen aus Block 1 (SNP rs909706- SNP rs1018381), Block 2 (SNP rs2619522- SNP rs760761) und Block 3 (SNP rs2619528- SNP rs1011313) für das Gesamtkollektiv.

5.4.2. Einfluss der Haplotypen auf die Schizophrenie

Es zeigte sich, dass ein signifikanter Unterschied in der Haplotypenverteilung zwischen Patienten- und Kontrollgruppe bestand. Die Haplotypenkombinationen CC-CC-GT und TC-CC-GT kamen signifikant häufiger in der Kontrollgruppe vor. CC-AC-AT, CC-AC-GT und TC-CC-AT hingegen kamen signifikant häufiger in der Patientengruppe vor ($\chi^2=80,687$, $df=13$, **$p=0,01$**) und waren somit signifikant mit der Schizophrenie assoziiert. Die anderen Haplotypenkombinationen wurden aufgrund des geringen Vorkommens keiner Berechnung auf signifikante Unterschiede unterzogen.

5.4.3. Einfluss der Haplotypen auf die Negativsymptomatik

Mittels einfaktorieller ANOVA erfolgte die Berechnung eines möglichen signifikanten Unterschiedes der Negativsymptomatik zwischen den einzelnen Haplotypträgern. Die Diagramme 11, 12 und 13 zeigen die erreichten Mittelwerte der Differenz der Negativskala der PANSS Tag 42- Tag 0, NSA-16 Tag 42- Tag 0 und GAF Tag 42-Tag 0 für die Haplotypenkombinationen aus Block 1, Block 2 und Block 3.

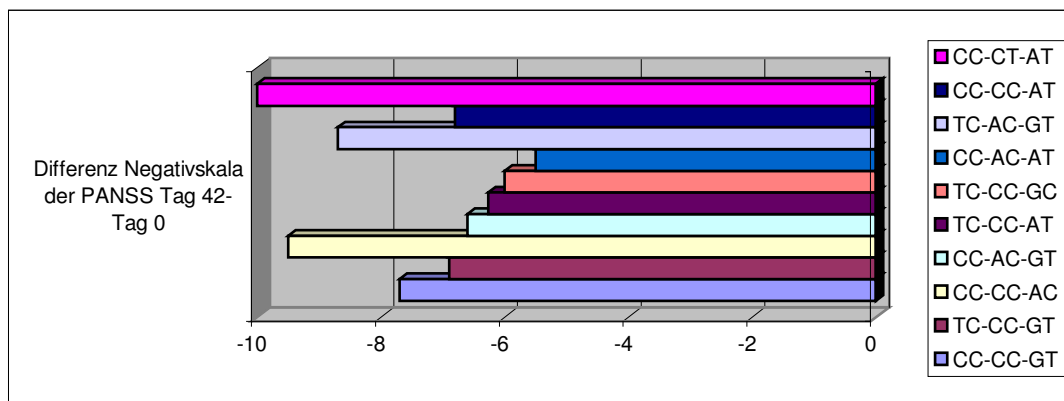


Diagramm 11: Graphische Darstellung der Mittelwerte der Differenz Negativskala der PANSS Tag 42- Tag 0 für die Haplotypenkombinationen aus Block 1 (rs909706-rs2619522), Block 2 (rs2619522-rs760761) und Block 3 (rs2619528-rs1011313).

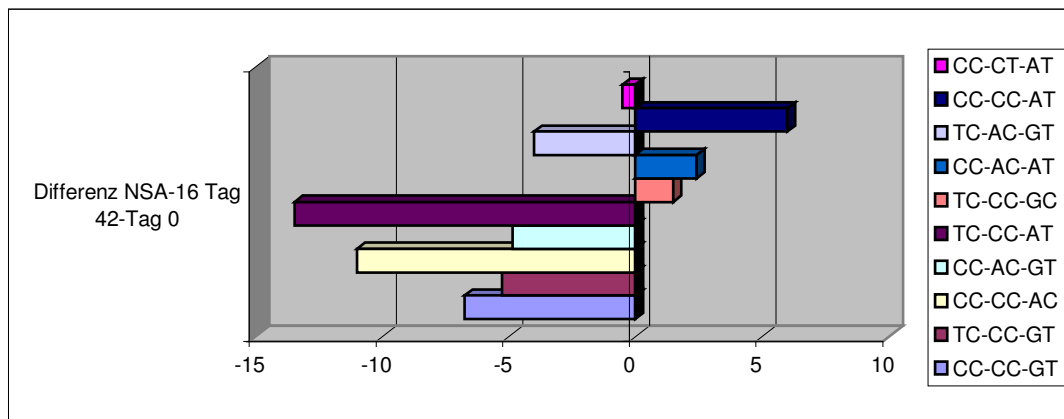


Diagramm 12: Graphische Darstellung der Mittelwerte der Differenz NSA-16 Tag 42- Tag 0 für die Haplotypenkombinationen aus Block 1 (rs909706-rs2619522), Block 2 (rs2619522-rs760761) und Block 3 (rs2619528-rs1011313).

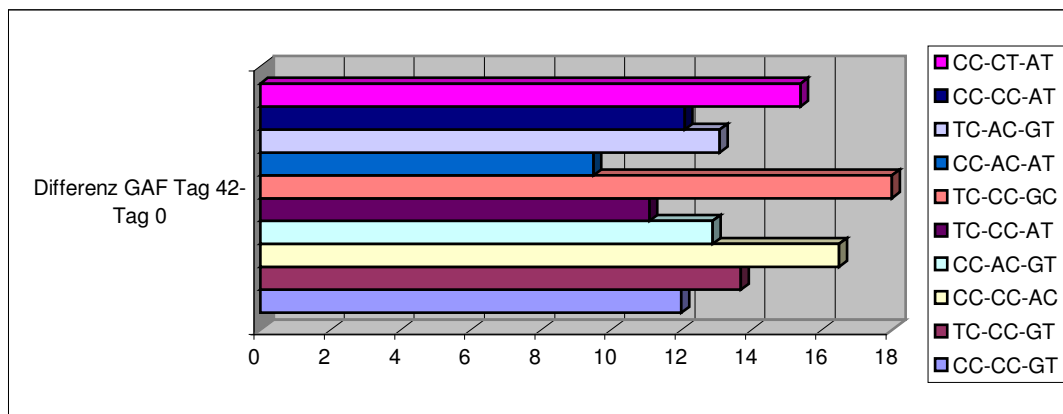


Diagramm 13: Graphische Darstellung der Mittelwerte der Differenz GAF Tag 42- Tag 0 für die Haplotypkombinationen aus Block 1 (rs909706-rs2619522), Block 2 (rs2619522-rs760761) und Block 3 (rs2619528-rs1011313).

Träger der Haplotypkombinationen CC-CC-AC, CC-AC-GT und TC-CC-AT, die signifikant mit der Diagnose assoziiert waren, zeigten gegenüber anderen Haplotypträgern geringere Differenzwerte der Negativskala Tag 42- Tag 0 der PANSS, NSA-16 Tag 42- Tag 0 und GAF Tag 42- Tag 0.

Die Negativsymptomatik der Patienten, die diese Haplotypen tragen, ist stärker ausgeprägt, bereits zu Beginn der Erkrankung ($\chi^2=2169,3$ df= 8, **$p=0,003$**) und über den Studienzeitraum von 42 Tagen weniger rückläufig als die Negativsymptomatik anderer Haplotypträger. Diese Berechnung ergab zwar keinen signifikanten Unterschied der Entwicklung der Negativsymptomatik, jedoch einen Trend zu niedrigeren Differenzwerten Negativskala Tag 42- Tag 0 ($\chi^2=234,084$, df=5, $p=,078$), NSA-16 Tag 42- Tag 0 ($\chi^2=550,860$, df=9, $p=,075$) und der GAF Tag 42- Tag 0 ($\chi^2=2423,979$, df=8, $p=,097$).

VI. Diskussion

In dieser Arbeit wurde untersucht, ob Polymorphismen und Haplotypen des DTNBP-1 Gens mit Schizophrenie sowie der Ausprägung der Negativsymptomatik bei diesen Patienten assoziiert sind. Dazu lassen sich aufgrund der Untersuchungsergebnisse folgende Aussagen treffen:

Es konnte eine Assoziation zwischen den untersuchten Markern rs2619522 (A-Allel), rs760761 (T-Allel) und rs2619528 (A-Allel) und der Erkrankung festgestellt werden. Zwischen den Allelträgern einzelner SNPs liess sich ein Unterschied bezüglich der Entwicklung der Negativsymptomatik berechnen. Einen signifikant schlechteren Verlauf der Negativsymptomatik zeigten A-Allelträger des SNP rs2619522. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass Träger der Haplotypen CC-AC-AT, CC-AC-GT und TC-CC-AT signifikant häufiger in der Patientengruppe vorkamen und im Verlauf von sechs Wochen eine weniger rückläufige Negativsymptomatik aufweisen, sowie bereits zu Beginn des Studienzeitraumes eine signifikant stärker ausgeprägte Negativsymptomatik als schizophrene Patienten, die einen dieser Haplotypen nicht tragen.

6.1. Überblick zu Design und Resultaten von Referenzstudien

Studie von Straub et. al. an einer irischen Population (2002) [30]

In ihrer Assoziations- und Kopplungsstudie untersuchten Straub et. al. 17 Polymorphismen (u.a. SNP rs909706, rs1018381, rs2619522, rs760761, rs2619528 und rs1011313, die auch in unserer Studie genotypisiert wurden) des DTNBP-1 Gens in einem irischen Studienkollektiv.

Die Diagnose der Schizophrenie wurde nach DSM-III Kriterien gestellt. Aus dem Studienkollektiv wurden folgende Gruppen gebildet:

- D1-D2 625 schizophrene oder schizoaffektive Patienten (565 wurden genotypisiert)
- D1-D5 804 schizophrene Patienten mit positiver Familienanamnese in Bezug auf psychiatrische Erkrankungen (691 wurden genotypisiert)
- D1-D8 888 schizophrene Patienten mit positiver Familienanamnese bezüglich Schizophrenie (744 wurden genotypisiert)
- D1-D9 1172 Patienten mit psychischen Erkrankungen (952 wurden genotypisiert)

SNP rs909706, rs1018381, sowie rs2619522 zeigten keine signifikante Assoziation mit der Diagnose Schizophrenie. Das T-Allel des SNP rs760761 war in der Studie von Straub et al. in der Gruppe D1-D2 und D1-D5 signifikant mit Schizophrenie assoziiert, wie auch in der vorliegenden Studie. A-Allelträger des SNP rs2619528 zeigten eine signifikante Assoziation mit Schizophrenie in der Gruppe D1-D5, dies stimmt mit den Ergebnissen unserer Arbeit überein. In den Gruppen D1-D2, D1-D8 und D1-D9 konnten Straub und seine Arbeitsgruppe eine signifikante Assoziation für SNP rs1011313 mit Schizophrenie zeigen, was in unserer Studie nicht gelang.

Studie von Funke et al. in einer US („Weiße“, „Hispanics“, „Afroamerikanisch“) Population (2004) [91]

In dieser Fall-Kontrollstudie wurden 524 schizophrene bzw. schizoaffektive Patienten und 573 Kontrollen untersucht. Die Diagnosestellung erfolgte gemäß DSM-IV-Kriterien. Die Auswertung erfolgte nach der ethnischen Zugehörigkeit „Weiße“, „Hispanic“ und „Afroamerikanisch“. Insgesamt wurden sechs SNPs (rs909706, rs1018381, rs2619522, rs760761, rs2619528 und rs1011313) genotypisiert.

Signifikante Assoziationen zur Schizophrenie in der „weißen“ Gruppe konnten für die SNPs rs1018381 (T-Allel), rs2619522 (A-Allel) und rs2619528 (A-Allel) gezeigt werden, in der hispanischen Studiengruppe zusätzlich für SNP rs760761. Diese Ergebnisse unterscheiden sich von denen der Arbeitsgruppe Straub et al., die für SNP rs1018381 und rs2619522 keine signifikanten Assoziationen nachweisen konnten.

Mittels des Programms HaploStats wurden Haplotypen berechnet. Haplotyp CT-CT-AC war in der Gruppe der „Weißen“ und „Hispanics“ deutlich überrepräsentiert, ein signifikanter Unterschied bezüglich des Vorkommen in Patienten- und Kontrollgruppe konnte nicht gezeigt werden.

Studie von DeRosse et al. in einer kaukasischen Population (2006) [99]

Die Arbeitsgruppe von DeRosse et al. untersuchte die sechs SNPs rs909706, rs1018381, rs2619522, rs760761, rs2619528 und rs1011313 an 181 kaukasischen schizophrenen Patienten, die gleichen SNPs wurden auch in unserer Studie untersucht. Die Diagnosestellung erfolgte nach DSM-IV Kriterien. Eine Einschätzung der Negativsymptomatik erfolgte mittels SCID (structured clinical interview for DSM-IV), wobei insbesondere drei Items (Alogie, Affektverflachung und sozialer Rückzug) zur

Einschätzung der Negativsymptomatik genutzt wurden. Die Haplotypenberechnung erfolgte mittels des Programm SNP-HAP. Bestätigt werden konnte der Haplotyp CT-CT-AC, der bereits in der Studie von Funke et al. [91] gefunden werden konnte, jedoch nicht in unserer Arbeit repliziert werden konnte. Insgesamt konnten 26 Träger des Haplotypen CT-CT-AC identifiziert werden.

Träger des Haplotypen zeigten eine signifikant höhere Ausprägung des sozialen Rückzuges ($p=0,04$), der Alogie ($p=0,02$) und der Affektverflachung ($p=0,02$).

Studie von Numakawa et al. in einer japanischen Population (2004) [81]

Numakawa et al. untersuchten die sechs SNPs (rs2619539, rs3213207, rs1011313, rs760761, rs2619522 und rs261953) in einer japanische Population, bestehend aus 670 schizophrenen Patienten und 588 Kontrollen. Eine signifikante Assoziation zur Schizophrenie konnte für die SNPs rs3213207 ($p=0,0013$), rs760761 ($p=0,027$), rs2619522 ($p=0,022$) und rs2619538 ($p=0,040$) gezeigt werden. Für die SNPs rs2619539 ($p=0,748$) und rs1011313 ($p=0,372$) gelang dies nicht. Die Haplotypenberechnung ermöglichte das Programm SNP-Analyse.

Studie von van den Bogaert et al. in einer deutschen, polnischen und schwedischen Population (2003) [78]

In dieser Studie wurden deutsche (418 schizophrene Patienten, 285 Kontrollen), polnische (294 schizophrene Patienten, 113 Kontrollen) und schwedische (142 schizophrene Patienten, 272 Kontrollen) Populationen auf eine Assoziation der SNPs rs3213207, rs1011313, rs2005976, rs760761 und rs1018381 zur Schizophrenie untersucht. Die Diagnosestellung erfolgte nach DSM-IV Kriterien. Signifikante Assoziationsergebnisse konnten lediglich für SNP rs1011313 ($p=0,032$) in der schwedischen Population nachgewiesen werden, in unserer Studie jedoch zeigte dieser SNP keine signifikante Assoziation zur Schizophrenie.

Studie von Schwab et al. in einer israelischen, ungarischen und deutschen Population (2003) [76]

Die sechs SNPs rs3213207, rs1011313, rs2619528, rs760761, rs2619522, rs1018381 wurden für drei verschiedene Studienkollektive in einer Kopplungsstudie untersucht. Die erste Studiengruppe bestand aus 78 Familien (sechs israelische Familien, eine ungarische

Familie, 71 süddeutsche Familien), in denen ein Geschwisterpaar an Schizophrenie erkrankt war. Die zweite Studiengruppe bestand aus 125 Familien (neun ungarische Familien, 116 deutsche Familien) mit schizophrenen Patienten, deren Eltern auch an Schizophrenie erkrankt waren. Eine dritte Gruppe wurde durch Studiengruppe 1 und 2 gebildet. Die Diagnose der Schizophrenie wurde gemäß DSM-IV-Kriterien gestellt. Für SNP rs760761 konnte eine signifikante Assoziation zur Schizophrenie für Gruppe 1 ($p=0,026$), Gruppe 2 ($p=0,0210$) und Gruppe 3 ($p=0,0007$) berechnet werden. In Gruppe 3 gelang dies zusätzlich für SNP rs2619522 ($p=0,0415$), rs2619528 ($p=0,0140$) und rs1011313 ($p=0,0163$). Der sechs Marker-Haplotyp A-C-C-C-A-C (rs3213207-rs1011313-rs2619528-rs760761-rs2619522-rs1018381) kam mit einer Frequenz von 73,4% bei denjenigen schizophrenen Patienten vor, deren Eltern ebenfalls diesen Haplotyp aufwiesen und mit einer Frequenz von 57,6% bei schizophrenen Patienten, deren Eltern diesen Haplotyp nicht aufwiesen.

Studie von van den Oord et al. in einer irischen Population (2003) [86]

Die Arbeitsgruppe van den Oord et al. untersuchte eine Gruppe von 268 irischen Familien (insgesamt 2368 Studienteilnehmer) mit schizophrener Familienanamnese nach DSM-III-Kriterien. Genotypisiert wurden 14 SNPs (u.a. SNP rs909706, rs1018381, rs2619522, rs760761, rs2619528 und rs1011313). Eine signifikante Assoziation zur Schizophrenie ($p<0,05$) wurde für die intronischen SNPs rs760761, rs2005976, rs2619528 und rs32113207 gezeigt. Haplotyp GT-AA-CC-CA (SNP rs32113207, rs1011313, rs2619528, rs2005976, rs760761, rs2619522, rs1018381, rs1474605) zeigte eine signifikante Assoziation ($p=0,009$) mit der Diagnose Schizophrenie.

Studie von Fanous et al. in einer irischen Population (2005) [89]

Fanous et al. verstehen ihre Studie als Fortsetzung der Studie von van den Oord et al [86]. Bei der Studienpopulation handelt es sich um die gleichen Patienten, die bereits in der vorhergehenden Studie genotypisiert wurden. Weiterführend wählte diese Arbeitsgruppe die operationalisierte Checkliste für psychotische Erkrankungen (OPCRIT), wählten 60 der 75 Items (u.a. Negativsymptomatik, Wahnvorstellungen, manische und depressive Symptome und Halluzinationen) aus und zeigten damit auf, dass Patienten, die eine deutlich verstärkte Negativsymptomatik hatten, den von van den Oord beschriebenen Acht-Marker-Haplotypen GT-AA-CC-CA häufiger ($p=0,078$) aufwiesen. Auch in unserer

hier vorliegenden Studie konnte ein Beleg für eine Assoziation zwischen verschiedenen Haplotypen und der Einschätzung der Ausprägung der Negativsymptomatik mittels psychometrischer Fragebögen erbracht werden.

Studie von Burdick et al. in einer kaukasischen Population (2007) [90]

Ausgehend von Studien, die belegen, dass 40-50% der schizophrenen Patienten eine Abweichung des IQ > 10% vom Normalwert zeigen, 50% hingegen keine derartigen kognitiven Defizite, genotypisierten Burdick et al. die SNPs rs909706, rs1018381, rs2619522, rs760761, rs2619528 und rs1011313 für 183 kaukasische Patienten mit Schizophrenie oder schizoaffektiver Erkrankung und führten mit diesen kognitive Testungen mittels Wechsel-Intelligenztest für Erwachsene (WAIS-R), Continuous Performance Test-Identical Pairs Vision (CPT-I/P), California Verbal Learning Test (CVLT), Controlled Oral Word Association Test (COWAT) und Trail Marking Tests A&B durch. Hauptaussage dieser Studie ist, dass Träger des Haplotypen CT-CT-AC (n=35) eine signifikant größere Abweichung (p=0,05) vom Normwert des IQ aufwiesen, als Patienten (n=148), die diesen Haplotypen nicht trugen. Als große Einschränkung ist zu erwähnen, dass die Studie nicht im Längsschnitt, wie die hier vorliegende Arbeit, erfolgte, sondern die kognitiven Fähigkeiten als Momentaufnahme im Querschnitt eingeschätzt wurden.

Studie von Duan et al. in einer europäischen Population (2006) [77]

Bei 646 Studienteilnehmer (136 Familien) europäischer Herkunft, in deren Familien eine Schizophrenie bekannt war, wurden 26 SNPs (u.a. rs909706, rs1018381, rs2619522, rs760761, rs2619528 und rs1011313) genotypisiert. Der Hauptbefund dieser Studie ist, dass der drei Marker-Haplotyp, bestehend aus den SNPs rs7758659, rs875462, rs7758659 in der 3`Region von DTNBP-1 signifikant häufiger bei den schizophrenen Patienten vorkam.

Studie von Kirov et al. in einer bulgarischen Population (2004) [92]

Nach Diagnosestellung mittels DSM-IV-Kriterien konnten 441 schizophrene Patienten und 47 Patienten mit schizoaffektiver Erkrankung in die Studie eingeschlossen werden. Ausgewählt wurden in Anlehnung an die Studie von Straub et al. acht SNPs (u.a. SNP

rs1011313), dieser erreichte in der Einzelmarkeranalyse keine statistische Signifikanz, dies stimmt mit unseren Ergebnissen überein.

Studie von Joo et al. in einer koreanischen Population (2006) [84]

Joo et al. untersuchten 194 schizophrene Patienten (gemäß DSM-IV-Kriterien diagnostiziert) und 351 gesunde Kontrollen koreanischer Herkunft. Die Genotypisierung erfolgte an fünf SNPs (u.a. rs2619522 und rs760761). Für keinen der SNPs oder Haplotypen zeigte sich eine Assoziation mit der Diagnose Schizophrenie. Limitationen der Studie waren einerseits die geringe Auswahl der genotypisierten Polymorphismen, andererseits das junge Alter der Patienten in der Kontrollgruppe (weiblich: 26,82 Jahre; männlich: 24,97 Jahre), so dass nicht abzusehen ist, ob nicht auch Studienteilnehmer der Kontrollgruppe im Laufe des Lebens an einer Schizophrenie erkranken.

Studie von Turunen et al. in einer finnischen Population (2007) [82]

Turunen et al. untersuchten 15 Polymorphismen (u.a. SNP rs909706, rs2619522, rs2619528 und rs1011313) des DTNBP-1-Gens in 441 finnischen Familien (insgesamt 865 schizophrene Studienteilnehmer und 999 Kontrollen). Es erfolgte eine Unterteilung der schizophrenen Studienteilnehmer in die vier Gruppen LC 1 (Diagnose Schizophrenie), LC 2 (Diagnose schizoaffektive Erkrankung), LC 3 (Diagnose schizoide, paranoide Persönlichkeitsstörung, sowie psychische Erkrankungen, nicht näher benannt) und LC 4 (Diagnose affektive Störung, nicht näher benannt). Ein Nachweis eines Zusammenhanges zwischen Polymorphismen des DTNBP-1 Gens und der Diagnose Schizophrenie gelang im Gegensatz zu der hier vorliegenden Arbeit in der finnischen Population nicht.

Studie von Datta et al. in einer britischen Population (2007) [83]

450 schizophrene britische Patienten wurden mit einer Kontrollgruppe von 450 Kontrollpatienten bezüglich der Genotypisierungsergebnisse von acht SNPs (u.a. rs2619522, rs760761 und rs1011313) verglichen. Für keinen der ausgewählten SNPs und berechneten Haplotypen konnten signifikante Assoziationsergebnisse gefunden werden. Die Arbeitsgruppe erklärt dies mit einer fehlenden strengen Trennung zwischen verschiedenen Subtypen der Schizophrenie und unbekannter Familienanamnese der Studienpopulation.

6.2. Vergleich der in unserer Studie untersuchten Einzelmarker und Haplotypen mit Referenzstudien

Einzelmarker SNP rs909706

Studie	Assoziation: ja (↑), nein (↓)	weitere Informationen
Straub et al. [30]	↓	→ befindet sich in geringem Kopplungsungleichgewicht (LD=0,07) mit SNP rs1018381 → Teil des Haplotypen C-C-A (rs909706, rs1018381, rs2619522), dieser zeigt eine Frequenz von 0,086 in der schizophrenen Patientengruppe (p=0,008)
Funke et al. [91]	↓	→ Teil des Haplotypen CT-CT-AC (SNP rs909706, rs1018381, rs2619522, rs760761, rs2619528, rs1011313), der in der „weißen“ Studiengruppe signifikant häufiger (p=0,005) in der Patientengruppe vorkam
DeRosse et al. [99]	keine Angabe zu Ergebnissen der Einzelmarkeranalyse	→ der in der Studie von Funke et al. beschriebene Haplotyp konnte erneut identifiziert werden, Träger dieses Haplotypen zeigen signifikant höhere Affektverflachung (p=0,02), Alogie (p=0,02) und sozialen Rückzug (p=0,04)
Numakawa et al. [81]	nicht genotypisiert	
van den Bogaert et al. [78]	nicht genotypisiert	
Schwab et al. [76]	nicht genotypisiert	
van den Oord et al. [86]	↓	
Fanouus et al. [89]	nicht genotypisiert	
Burdick et al. [90]	keine Angaben zu Ergebnissen der Einzelmarkeranalyse	→ Teil des Haplotypen CT-CT-AC (SNP rs909706, rs1018381, rs2619522, rs760761, rs2619528, rs1011313), Träger dieses Haplotypen erreichen signifikante niedrigere IQ-Werte
Duan et al. [77]	↓	
Kirov et al. [92]	nicht genotypisiert	
Joo et al. [84]	nicht genotypisiert	
Turunen et al. [82]	↓	
Datta et al. [74]	nicht genotypisiert	

Tabelle 41: Überblick zu Studien mit Ergebnissen zur Genotypisierung des Polymorphismus rs909706 für das Gen DTNBP-1

SNP rs909706 wurde in fünf Studien genotypisiert, wobei keine eine signifikante Assoziation zur Schizophrenie in der Einzelmarkeranalyse zeigen konnte. Dies stimmt mit der vorliegenden Arbeit überein. Weder die Berechnung der Allelfrequenzen (Tabelle 15) noch der Genotypen (Tabelle 16) ergab einen signifikanten Unterschied zwischen der Patienten- und Kontrollgruppe. Es zeigten sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede für die Entwicklung der Negativsymptomatik für SNP rs909706 (Diagramm 8, 9 und 10). Der SNP ist jedoch Teil des Haplotypen CT-CT-AC, der in den oben dargestellten Studien [89, 90,91] wiederholt mit einer stärker ausgeprägten Negativsymptomatik in Verbindung gebracht wurde und ebenfalls in unserer Studie genotypisiert worden ist.

Einzelmarker SNP rs1018381

Studie	Assoziation: ja (↑), nein (↓)	weitere Informationen
Straub et al. [30]	↓	→ befindet sich in geringem Kopplungsungleichgewicht (LD=0,07) mit SNP rs1018381 → Teil des Haplotypen C-C-A (rs909706, rs1018381, rs2619522), dieser zeigt eine Frequenz von 0,086 in der schizophrenen Patientengruppe (p=0,008)
Funke et al. [91]	↑	→ für das T-Allel konnte eine signifikante Assoziation zur Schizophrenie für die „weiße“ Studiengruppe (p=0,0026) und „hispanische“ Studiengruppe (p=0,0596) gezeigt werden → hohes Kopplungsungleichgewicht (LD=0,93) mit SNP rs1018381 → Teil des Haplotypen CT-CT-AC (SNP rs909706, rs1018381, rs2619522, rs760761, rs2619528, rs1011313), der in der „weißen“ Studiengruppe signifikant häufiger (p=0,005) in der Patientengruppe vorkam
DeRosse et al. [99]	keine Angabe zu Ergebnissen der Einzelmarkeranalyse	→ der in der Studie von Funke et al. beschriebene Haplotyp konnte erneut identifiziert werden, Träger dieses Haplotypen zeigen signifikant höhere Affektverflachung (p=0,02), Alogie (p=0,02) und sozialem Rückzug (p=0,04)
Numakawa et al. [81]	nicht genotypisiert	
van den Bogaert et al. [78]	↓	
Schwab et al. [76]	↓	
van den Oord et al. [86]	↓	→ geringes Kopplungsungleichgewicht (LD=0,02) mit SNP rs909706 → Teil des 8-Marker-Haplotyp (SNP rs32113207, rs1011313, rs2619528, rs2005976, rs760761, rs2619522, rs1018381, rs1474605); dieser zeigte eine signifikante Assoziation (p=0,009) zur Schizophrenie
Fanouf et al. [89]	keine Angabe zu Ergebnissen der Einzelmarkeranalyse	→ der 8-Marker-Haplotyp GT-AA-CC-CA wurde bei schizophrenen Patienten signifikant häufiger (p=0,078) nachgewiesen, Patienten, die diesen Haplotyp tragen, zeigen bei der Beurteilung mittels psychometrischer Fragebögen eine 40% höhere Negativsymptomatik
Burdick et al. [90]	keine Angabe zu Ergebnissen der Einzelmarkeranalyse	→ Teil des Haplotypen CT-CT-AC (SNP rs909706, rs1018381, rs2619522, rs760761, rs2619528, rs1011313), Träger dieses Haplotypen erreichen signifikante niedrigere IQ-Werte
Duan et al. [77]	↓	
Kirov et al. [92]	↓	
Joo et al. [84]	nicht genotypisiert	
Turunen et al. [82]	↓	
Datta et al. [74]	nicht genotypisiert	

Tabelle 42: Überblick zu Studien mit Ergebnissen zur Genotypisierung des Polymorphismus rs1018381 für das Gen DTNBP-1

Acht Studien führten eine Einzelmarkeranalyse für SNP rs1018381 durch, lediglich die Studie von Funke et al. [91] belegt eine signifikante Assoziation des T-Allel mit der Schizophrenie. In der vorliegenden Arbeit fand sich das T-Allel mit einer Frequenz von 0,151 in der Patientengruppe und von 0,093 in der Kontrollgruppe (siehe Tabelle 19). Ein signifikanter Unterschied bzw. eine Assoziation zur Schizophrenie zeigte sich somit nicht (p=0,123). Für die Entwicklung der Negativsymptomatik ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den C- und A-Allelträgern. Auch SNP rs1018381 ist Teil des Haplotypen CT-CT-AC, der signifikant mit Negativsymptomatik bei Schizophrenie [89, 91] und niedrigeren IQ-Werten [90] assoziiert war. In unserer Studie ist er jeweils ein

Einzelmarker der Haplotypen CC-AC-AT, CC-AC-GT und TC-CC-AT, die eine signifikante Assoziation zur Diagnose Schizophrenie und der Entwicklung der Negativsymptomatik zeigten (Diagramm 11, 12 und 13)

Einzelmarker SNP rs2619522

Studie	Assoziation: ja (↑), nein (↓)	weitere Informationen
Straub et al. [30]	↓	→befindet sich in hohem Kopplungsungleichgewicht (LD= 0,90) mit SNP rs760761
Funke et al. [91]	↑	→A-Allel zeigt signifikante Assoziation zur Schizophrenie in der „weißen“ Studienpopulation (p=0,0169) und der „hispanischen“ Studienpopulation (p=0,0243) →Teil des Haplotypen CT-CT-AC (SNP rs909706, rs1018381, rs2619522, rs760761, rs2619528, rs1011313), der in der „weißen“ Studiengruppe signifikant häufiger (p=0,005) in der Patientengruppe vorkam →zeigt hohes Kopplungsungleichgewicht (LD=0,97) mit SNP rs760761
DeRosse et al. [99]	keine Angabe zu Ergebnissen der Einzelmarkeranalyse	→der in der Studie von Funke et al. beschriebene Haplotyp konnte erneut identifiziert werden, Träger dieses Haplotypen zeigen signifikant höhere Affektverflachung (p=0,02), Alogie (p=0,02) und sozialen Rückzug (p=0,04)
Numakawa et al. [81]	↑	→A-Allel zeigt signifikante Assoziation (p=0,022) zur Schizophrenie
van den Bogaert et al. [78]	↑	→A-Allel in Gruppe 1 (p=0,0415) und Gruppe 2 (p=0,0300) signifikant mit Schizophrenie assoziiert
Schwab et al. [76]	↑	→A-Allel in Gruppe 1 (p=0,0415) und Gruppe 2 (p=0,0300) signifikant mit Schizophrenie assoziiert (Berechnung mittels Transmission Disequilibrium Test)
van den Oord et al. [86]	↓	→Teil des 8-Marker-Haplotyp (SNP rs32113207, rs1011313, rs2619528, rs2005976, rs760761, rs2619522, rs1018381, rs1474605); Haplotyp GT-AA-CC-CA zeigte eine signifikante Assoziation (p=0,009) zur Schizophrenie →befindet sich in hohem Kopplungsungleichgewicht (LD=0,63) mit SNP rs760761
Fanouus et al. [89]	keine Angabe zu Ergebnissen der Einzelmarkeranalyse	→GT-AA-CC-CA wurde bei schizophrenen Patienten signifikant häufiger (p=0,078) nachgewiesen, Patienten, die diesen Haplotyp tragen, zeigen bei der Beurteilung mittels psychometrischer Fragebögen eine 40% höhere Negativsymptomatik
Burdick et al. [90]	keine Angabe zu Ergebnissen der Einzelmarkeranalyse	→Teil des Haplotypen CT-CT-AC (SNP rs909706, rs1018381, rs2619522, rs760761, rs2619528, rs1011313), Träger dieses Haplotypen erreichen signifikante niedrigere IQ-Werte
Duan et al. [77]	↓	
Kirov et al. [92]	↓	
Joo et al. [84]	↓	→befindet sich in hohem Kopplungsungleichgewicht (LD=0,97) mit SNP rs760761
Turunen et al. [82]	↓	
Datta et al. [74]	↓	

Tabelle 43: Überblick zu Studien mit Ergebnissen zur Genotypisierung des Polymorphismus rs2619522 für das Gen DTNBP-1

Genotypisierungsergebnisse für den Einzelmarker SNP rs2619522 konnten in zehn Studien gefunden werden. Drei dieser Arbeiten zeigten eine signifikante Assoziation des A-Allels zur Schizophrenie in einer kaukasischen US-Population [91] und einer japanischen Population [81]. In der von Schwab et al. [76] durchgeführten Untersuchung mittels

Transmission Disequilibrium-Test konnte ebenfalls eine signifikante Assoziation des A-Allels mit Schizophrenie berechnet werden. In der vorliegenden Arbeit zeigte das A-Allel des SNP rs2619522 eine Frequenz von 0,318 in der Patientengruppe, sowie von 0,189 in der Kontrollgruppe und damit einen signifikanten Unterschied (siehe Tabelle 23). Es ergab sich in der Patientengruppe für SNP rs2619522 und rs760761 eine hohes Kopplungsungleichgewicht (Tabelle 14). Dies stimmt mit den Referenzstudien von Straub et al. [30], Funke et al. [91], van den Oord [86] und Joo et al. [84] überein.

In den vorhergehenden Studien erfolgte keine Untersuchung, inwiefern sich A- und C-Allelträger für SNP rs2619522 bezüglich der Negativsymptomatik unterschieden. In der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass A-Allelträger im Verlauf von 42 Tagen unter Behandlung mit atypischen Neuroleptika einen weniger starken Rückgang der Negativsymptomatik aufweisen als Patienten, die das C-Allel tragen (Diagramm 8, 9 und 10).

Einzelmarker SNP rs760761

Studie	Assoziation: ja (↑), nein (↓)	weitere Informationen
Straub et al. [30]	↑	→T-Allel zeigt signifikante Assoziation zur Schizophrenie (p=0,020) →Teil des Haplotypen A-T-G (rs2619522, rs760761, rs2619528), dieser zeigte eine Assoziation zur Schizophrenie (p=0,08) →befindet sich in hohem Kopplungsungleichgewicht (LD= 0,90) mit SNP rs2619522
Funke et al. [91]	↑	→T-Allel: eine signifikante Assoziation (p=0,0351) zur Schizophrenie konnte in der hispanischen Studiengruppe gezeigt werden →Teil des Haplotypen CT-CT-AC (SNP rs909706, rs1018381, rs2619522, rs760761, rs2619528, rs1011313), der in der „weißen“ Studiengruppe signifikant häufiger (p=0,005) in der Patientengruppe vorkam →zeigt hohes Kopplungsungleichgewicht (LD=0,097) mit SNP rs2619522
DeRosse et al. [99]	keine Angabe zu Ergebnissen der Einzelmarkeranalyse	→Haplotyp CT-CT-AC konnte erneut identifiziert werden, Träger dieses Haplotypen zeigen signifikant höhere Affektverflachung (p=0,02), Alogie (p=0,02) und sozialen Rückzug (p=0,04)
Numakawa et al. [81]	↑	→T-Allel zeigt signifikante Assoziation (p=0,027) zur Schizophrenie
van den Bogaert et al. [78]	↓	
Schwab et al. [76]	↑	→T-Allel in Gruppe 1 (p=0,0260), Gruppe 2 (p=0,0219) und Gruppe 3 (0,0007) signifikant mit Schizophrenie assoziiert
van den Oord et al. [86]	↑	→T-Allel: signifikante Assoziation zur Schizophrenie (p=0,0005) →befindet sich in hohem Kopplungsungleichgewicht (LD=0,63) mit SNP rs2619522 →Teil des 8-Marker-Haplotyp (SNP rs32113207, rs1011313, rs2619528, rs2005976, rs760761, rs2619522, rs1018381, rs1474605); dieser zeigte eine signifikante Assoziation (p=0,009) zur Schizophrenie
Fanouf et al. [89]	keine Angabe zu Ergebnissen der Einzelmarkeranalyse	→GT-AA-CC-CA wurde bei schizophrenen Patienten signifikant häufiger (p=0,078) nachgewiesen, Haplotypträger zeigen bei der Beurteilung mittels psychometrischer Fragebögen eine 40% höhere Negativsymptomatik
Burdick et al. [90]	keine Angabe zu Ergebnissen der Einzelmarkeranalyse	→Teil des Haplotypen CT-CT-AC (SNP rs909706, rs1018381, rs2619522, rs760761, rs2619528, rs1011313), Träger dieses Haplotypen erreichen signifikante niedrigere IQ-Werte
Duan et al. [77]	↓	
Kirov et al. [92]	↓	
Joo et al. [84]	↓	→befindet sich in hohem Kopplungsungleichgewicht (LD=0,97) mit SNP rs2619522
Turunen et al. [82]	↓	
Datta et al. [74]	↓	

Tabelle 44: Überblick zu Studien mit Ergebnissen zur Genotypisierung des Polymorphismus rs760761 für das Gen DTNBP-1

11 Studien lieferten bisher Genotypisierungsergebnisse für SNP rs760761, für das T-Allel zeigten insgesamt fünf Studien eine signifikante Assoziation zur Schizophrenie in zwei irischen- [30, 87], US- [91], japanischen- [81], israelischen/ungarischen [76] Populationen. In der vorliegenden Arbeit konnte im Einklang zu den Referenzstudien eine signifikante Assoziation des T-Allels zur Schizophrenie berechnet werden. Signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Genotypen bei der Fremdbeurteilung der Negativsymptomatik mit den psychometrischen Messinstrumenten Negativskala der PANSS, NSA-16 und GAF konnte nicht gezeigt werden (Diagramm 8, 9 und 10).

Einzelmarker SNP rs2619528

Studie	Assoziation: ja (↑), nein (↓)	weitere Informationen
Straub et al. [30]	↑	→A-Allel zeigt eine signifikante Assoziation zur Schizophrenie in der Gruppe D1-D5 (p=0,036) →befindet sich in niedrigem Kopplungsungleichgewicht (LD=0,30) mit SNP rs1011313
Funke et al. [91]	↑	→A-Allel zeigt eine signifikante Assoziation zur Schizophrenie für die „weiße“ Patientengruppe (p=0,0171) und „hispanische“ Patientengruppe (p=0,0239) →Teil des Haplotypen CT-CT-AC (SNP rs909706, rs1018381, rs2619522, rs760761, rs2619528, rs1011313), der in der „weißen“ Studiengruppe signifikant häufiger (p=0,005) in der Patientengruppe vorkam →befindet sich in hohem Kopplungsungleichgewicht (LD=0,94) mit SNP rs1011313
DeRosse et al. [99]	keine Angabe zu Ergebnissen der Einzelmarkeranalyse	→Haplotyp CT-CT-AC konnte erneut identifiziert werden, Träger dieses Haplotypen zeigen signifikant höhere Affektverflachung (p=0,02), Alogie (p=0,02) und sozialen Rückzug (p=0,04)
Numakawa et al. [81]	nicht genotypisiert	
van den Bogaert et al. [78]	nicht genotypisiert	
Schwab et al. [76]	↑	→A-Allel in Gruppe 3 (p=0,0140) signifikant mit Schizophrenie assoziiert
van den Oord et al. [86]	↑	→A-Allel signifikant mit Schizophrenie assoziiert (p=0,015) →Teil des 8-Marker-Haplotyp (SNP rs32113207, rs1011313, rs2619528, rs2005976, rs760761, rs2619522, rs1018381, rs1474605); GT-AA-CC-CA zeigte eine signifikante Assoziation (p=0,009) zur Schizophrenie →zeigt niedriges Kopplungsungleichgewicht (LD=0,01) mit SNP rs1011313
Fanouf et al. [89]	keine Angabe zu Ergebnissen der Einzelmarkeranalyse	→GT-AA-CC-CA wurde bei schizophrenen Patienten signifikant häufiger (p=0,078) nachgewiesen, Patienten, die diesen Haplotyp tragen, zeigen bei der Beurteilung mittels psychometrischer Fragebögen eine 40% höhere Negativsymptomatik
Burdick et al. [90]	keine Angabe zu Ergebnissen der Einzelmarkeranalyse	→Teil des Haplotypen CT-CT-AC (SNP rs909706, rs1018381, rs2619522, rs760761, rs2619528, rs1011313), Träger dieses Haplotypen erreichen signifikante niedrigere IQ-Werte
Duan et al. [77]	↓	
Kirov et al. [92]	↓	
Joo et al. [84]	nicht genotypisiert	
Turunen et al. [82]	↓	
Datta et al. [74]	nicht genotypisiert	

Tabelle 45: Überblick zu Studien mit Ergebnissen zur Genotypisierung des Polymorphismus rs2619528 für das Gen DTNBP-1

Eine signifikante Assoziation zur Schizophrenie konnte für das A-Allel für SNP rs2619528 in vier Studien [30, 76, 86, 91] belegt werden. Drei Studien [86, 92, 95] belegen dies nicht. In unserer Arbeit zeigte sich eine signifikante Assoziation für das A-Allel (Frequenz Patientengruppe: 0,305, Frequenz Kontrollgruppe: 0,185; siehe Tabelle 31) zur Schizophrenie. Der heterozygote Genotyp A/G (Tabelle 32) und der homozygote Genotyp A/A (Tabelle 33) kamen in der Patientengruppe signifikant häufiger vor. Außerdem zeigt Tabelle 14 ein hohes Kopplungsungleichgewicht SNP rs2619528-SNP rs1011313. Dies stimmt mit der Referenzstudie von Funke et al. [91] überein, nicht jedoch mit den

Ergebnissen der Studie von Straub et al. [30] und van den Oord [86], die ein niedriges Kopplungsungleichgewicht berechneten.

Auch für SNP rs2619528 erfolgte bisher keine Überprüfung dahingehend, inwiefern Unterschiede bezüglich der Ausprägung und Entwicklung der Negativsymptomatik bestehen. Der vorliegenden Arbeit lässt sich entnehmen, dass diesbezüglich kein signifikanter Unterschied für rs2619528 und die verschiedenen Allelvariationen bzw. Genotypen berechnet werden konnte (Diagramm 8, 9 und 10). SNP rs2619528 ist Teil der 6-Marker-Haplotypen CC-AC-AT, CC-AC-GT und TC-CC-AT, die in dieser Studie als signifikant zur Schizophrenie assoziiert ermittelt wurden.

Einzelmarker SNP rs1011313

Studie	Assoziation: ja (↑), nein (↓)	weitere Informationen
Straub et al. [30]	↑	→C-Allel zeigt eine signifikante Assoziation zur Schizophrenie in den Gruppen D1-D5 (p=0,0377), D1-D8 (p=0,0104) und D1-D9 (p=0,0027) →befindet sich in niedrigem Kopplungsungleichgewicht (LD=0,30) mit SNP rs2619528
Funke et al. [91]	↓	→Teil des Haplotypen CT-CT-AC (SNP rs909706, rs1018381, rs2619522, rs760761, rs2619528, rs1011313), der in der „weißen“ Studiengruppe signifikant häufiger (p=0,005) in der Patientengruppe vorkam →befindet sich in hohem Kopplungsungleichgewicht (LD=0,94) mit SNP rs2619528
DeRosse et al. [99]	keine Angabe zu Ergebnissen der Einzelmarkeranalyse	→der in der Studie von Funke et al. beschriebene Haplotyp konnte erneut identifiziert werden, Träger dieses Haplotypen zeigen signifikant höhere Affektverflachung (p=0,02), Alogie (p=0,02) und sozialen Rückzug (p=0,04)
Numakawa et al. [81]	↓	
van den Bogaert et al. [78]	↑	→T-Allel zeigt eine signifikante Assoziation zur Schizophrenie (p=0,032) in der schwedischen Studienpopulation
Schwab et al. [76]	↑	→T-Allel zeigt signifikante Assoziation zur Schizophrenie in Gruppe 1 (p=0,0163) und Gruppe 3 (p=0,0092)
van den Oord et al. [86]	↓	→Teil des 8-Marker-Haplotyp (SNP rs32113207, rs1011313, rs2619528, rs2005976, rs760761, rs2619522, rs1018381, rs1474605); GT-AA-CC-CA zeigte eine signifikante Assoziation (p=0,009) zur Schizophrenie →zeigt niedriges Kopplungsungleichgewicht (LD=0,01) mit SNP rs2619528
Fanouos et al. [89]	keine Angabe zu Ergebnissen der Einzelmarkeranalyse	→GT-AA-CC-CA wurde bei schizophrenen Patienten signifikant häufiger (p=0,078) nachgewiesen, Patienten, die diesen Haplotyp tragen, zeigen bei der Beurteilung mittels psychometrischer Fragebögen eine 40% höhere Negativsymptomatik
Burdick et al. [90]	keine Angabe zu Ergebnissen der Einzelmarkeranalyse	→Teil des Haplotypen CT-CT-AC (SNP rs909706, rs1018381, rs2619522, rs760761, rs2619528, rs1011313), Träger dieses Haplotypen erreichen signifikante niedrigere IQ-Werte
Duan et al. [77]	↓	
Kirov et al. [92]	↓	
Joo et al. [84]	nicht genotypisiert	
Turunen et al. [82]	↓	
Datta et al. [74]	↓	

Tabelle 46: Überblick zu Studien mit Ergebnissen zur Genotypisierung des Polymorphismus rs1011313 für das Gen DTNBP-1

Für SNP rs1011313 konnten in zehn Studien Assoziationsberechnungen gefunden werden. Das T-Allel [30, 76, 78] zeigt in drei Studien eine statistisch signifikante Assoziation zur Schizophrenie, sieben Studien widersprachen diesem Ergebnis. Das Vorkommen des C- und T-Allels sowie der verschiedenen Genotypen zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten- und Kontrollgruppe in der vorliegenden Arbeit (Tabelle 36, 37 und 38). Dementsprechend ließen sich auch keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Negativsymptomatik zwischen den Genotypen C/T und T/T berechnen (Diagramm 8, 9 und 10).

In den 16 beschriebenen Studien wurde in 13 eine Assoziation zwischen Polymorphismen des DTNBP-1 Gens und der Schizophrenie identifiziert, wobei die assoziierten SNPs und Haplotypen differieren (Tabelle 41-46). Auch in unserer Studie wurde für die SNPs rs2619522, rs760761 und rs2619528 eine Assoziation mit der Diagnose Schizophrenie gefunden. Während diese Arbeiten insgesamt Hinweise für die Assoziation von DTNBP-1 mit der Schizophrenie und der damit häufig verbundenen Negativsymptomatik liefern, ist das Muster der Assoziation bezüglich der Allele und Haplotypen unterschiedlich, so dass weitere Studien an großen Kollektiven erforderlich sind.

Jedes Gen und jeder Polymorphismus besitzen eine geringe a priori Wahrscheinlichkeit für eine wirkliche Assoziation. Eine zufällige Assoziation kann nur durch wiederholte Replikationsstudien mit einer ausreichend hohen Zahl an Studienteilnehmern ausgeschlossen werden.

6.3. Haplotypen des DTNBP-1-Gens und Einfluss auf die Negativsymptomatik

Ziel der vorliegenden Arbeit war es einen möglichen Einfluss der genotypisierten Polymorphismen und Haplotypen des DTNBP-1 Gens auf die Negativsymptomatik aufzuzeigen. Nach wie vor geht es bei der Phänomenologie der Negativsymptomatik bei Schizophrenie um einen noch nicht vollständig erforschten Symptomenkomplex, obwohl es sich um einen sehr schwerwiegenden Symptomenkomplex handelt [58]. Die vorliegende Arbeit bietet aufgrund des Studiendesigns, nämlich der „Beobachtung“ im Längsschnitt und der Anwendung der PANSS zur Einschätzung von Positiv- und Negativsymptomatik und des NSA-16 die Möglichkeit, den Verlauf der Negativsymptomatik und den Einfluss von DTNBP-1-Varianten zu untersuchen. Für DTNBP-1 lassen sich drei Studien [86, 89, 99] finden, die eine Korrelation zwischen psychometrischen Messinstrumenten und

Polymorphismen, bzw. Haplotypen aufzeigen. DeRosse et al. [99] publizierten, dass Träger des Haplotypen CT-CT-AC (SNP rs909706, rs1018381, rs2619522, rs760761, rs2619528 und rs1011313) bei der Einschätzung der Symptome der Schizophrenie mittels SCID eine signifikant höhere Negativsymptomatik bei der Berteilung der Items Affektverflachung, Alogie und sozialer Rückzug zeigen. Diese Haplotypenkombination konnte in der vorliegenden Studie weder in der Patienten-, noch in der Kontrollgruppe gefunden werden (Tabelle 40). Auch fand zur Einschätzung der Psychopathologie nicht die SCID Anwendung, sondern drei Fremdbeurteilungsbögen (PANSS, NSA-16 und GAF). Jedoch konnten in dieser Arbeit Assoziationen zwischen Fremdbeurteilung der Negativsymptomatik und den Haplotypen CC-AC-AT, CC-AC-GT und TC-CC-AT (Diagramm 11, 12 und 13) gezeigt werden. Im Vergleich zu der Studie von DeRosse [99] et al. erfolgte keine Überprüfung dahingehend, ob einzelne negative Symptome mit Haplotypenkombinationen assoziiert sind. Das multiple Testen hätte eine Korrektur des Signifikanzniveaus mit sich gebracht, welches aufgrund der begrenzten Teilnehmerzahl, nicht erreicht worden wäre.

Auch Burdick [86] et al. gelang es Haployp CT-CT-AC zu replizieren und eine Assoziation zwischen dem Vorhandensein dieses Haplotypen und signifikant niedrigeren IQ-Werten aufzuzeigen. Eine Einbeziehung von Kontrollen, die nicht an Schizophrenie erkrankt sind und deren kognitive Leistung eingeschätzt wird, erfolgte in der vorliegenden Arbeit nicht. Fanous [89] et al. gelang es den von van den Oord und seiner Arbeitsgruppe entdeckten 8-Marker-Haplotypen zu replizieren und eine Assoziation zur Negativsymptomatik (erhoben mit operationalisierten psychiatrischen Interview) aufzuzeigen. Träger der Kombination GT-AA-CC-CA (SNP rs32113207, rs1011313, rs2619528, rs2005976, rs760761, rs2619522, rs1018381, rs1474605) zeigten eine signifikante höhere Negativsymptomatik, jedoch handelt es sich auch hier um eine Querschnittsstudie. Ein direkter Vergleich mit der vorliegenden Studie ist nicht möglich, da nicht genau die gleichen SNPs genotypisiert wurden. Keine bisherige Studie nutzte identische psychometrische Fremdbeurteilungsbögen, eine direkte Referenzstudie gibt es somit nicht.

Auf DTNBP-1 als Suszeptibilitäts-gen für Schizophrenie und Negativsymptomatik deutet desweiteren hin:

1. seine Funktion: DTNBP-1 ist in die Signaltransduktion im ZNS involviert und Teil der postsynaptischen Verdichtung [70]

2. seine signifikant verringerte Expression auf Gen- und Proteinebene im präfrontalen Kortex und Hippocampus bei schizophrenen Patienten [85]
3. seine Assoziation zu kognitiven Defiziten bei Patienten, die an Duchenne-Muskeldystrophie erkrankt sind [71]
4. seine Assoziation zu kognitiven Defiziten und niedrigeren IQ-Werten auch bei Patienten, die nicht an Schizophrenie erkrankt sind [87]

Die bis jetzt erhobenen Daten werfen wichtige Fragen für weitere Studien auf:

1. Beruhen die inkonsistenten Ergebnisse bezüglich SNPs auf noch unbekanntem genetischen Ursachen?
2. Was sind die molekularen Mechanismen, die zu Veränderungen im Gehirn führen?
3. Wie lässt sich die Negativsymptomatik genauer definieren und wie erreicht man eine Operationalisierung bezüglich der Einschätzung?
4. Lassen sich DTNBP-1 Varianten auch bei Patienten finden, die im Rahmen anderer Erkrankungen (z.B. Demenz, Alzheimer, Duchenne Muskeldystrophie) kognitive Defizite aufweisen?

6.4. Limitationen der vorliegenden Arbeit und Referenzstudien

Der Entdeckung von DTNBP-1 [67] und seiner Verifizierung als Kandidatengen der Schizophrenie lagen eine Reihe von Kopplungs- und Assoziationsstudien zugrunde. Durch verschiedene Einzel-Nukleotid-Polymorphismen auf dem DTNBP-1-Gen und der Bildung von Haplotypen, die signifikante Assoziation zur Schizophrenie zeigen, wurde DTNBP-1 als interessantes Kandidatengen [30] ausgewiesen.

Nicht alle durchgeführten Arbeiten belegen eine Assoziation zur Schizophrenie, jedoch bieten 13 Studien und die hier vorliegende Arbeit Anhaltspunkte dafür, dass das DTNBP-1-Gen als Faktor für die Prädisposition eines Individuums für Schizophrenie und Entwicklung von Negativsymptomatik in Frage kommt. Für die Differenzen der Resultate kommen vielfältige Erklärungsmöglichkeiten in Betracht.

Der auffälligste Unterschied ist die Zusammensetzung der untersuchten Populationen. Fast alle Studien wählten verschiedene Populationen aus, dies erklärt möglicherweise differierende Genotypisierungsergebnisse. Ein direkter Vergleich der vorliegenden Arbeit ist diesbezüglich zur Studie von DeRosse et al. [99] möglich, da auch hier ausschließlich Patienten kaukasischer Herkunft eingeschlossen wurden.

Diese Arbeit rekrutierte 129 schizophrenen Patienten, von denen 75 im Verlauf von 42 Tagen bezüglich der Negativsymptomatik beurteilt werden konnten, sowie 130 Kontrollen. Alle Referenzstudien weisen eine viel größere Teilnehmerzahl auf, dies ist unerlässlich für konkrete Aussagen bezüglich einer Assoziation zwischen der Diagnose Schizophrenie und Einzelnukleotidpolymorphismen.

Soweit in Referenzstudien angegeben, wurde ebenso wie in dieser Arbeit zur Diagnosestellung die DSM-III bzw. DSM-IV Klassifikation angewandt. Einige Studien wählten auch Patienten mit der Diagnose „schizoaffektive Störung“ aus. In unserer Studie nahmen lediglich Patienten mit der Diagnose „Schizophrenie“ teil. Eine nicht „strenge“ Diagnosestellung kann somit ausgeschlossen werden. Jedoch lassen sich keine Angaben über die medikamentöse Behandlung der schizophrenen Studienteilnehmer finden. Dies wäre insbesondere interessant für die drei Studien [86, 89, 99] gewesen, die eine Assoziation von Haplotypen des DTNBP-1-Gens und der Negativsymptomatik bei Schizophrenie belegen. In dieser Arbeit erhielten nicht alle Studienteilnehmer das gleiche Präparat bzw. die gleiche Dosis eines atypischen Neuroleptikums, dies wäre jedoch interessant im Hinblick auf mögliche Unterschiede in der Wirkung verschiedener atypischer Neuroleptika gewesen. Denkbar ist, dass einige atypische Neuroleptika schneller ihre Wirkung entfalten als andere und dies somit einen Einfluss auf die Entwicklung der Negativsymptomatik hat, in unserer Studie jedoch nicht erfasst wurde. Auch wenn die medikamentöse Therapie besonders auf die hervorstechende Positivsymptomatik wirkt, haben insbesondere atypische Neuroleptika eine positive Wirkung auch auf die Negativsymptomatik gezeigt [60].

Auch die Wahl der Kontroll-Probanden stellt eine mögliche Ursache für divergierende Ergebnisse dar. So könnte es bei den Kontroll-Probanden zwischen den einzelnen Studien Unterschiede in Alters- und Geschlechterverteilung, Familienanamnese, Verwandtschaftsgrad, ethnischer Zugehörigkeit usw. geben. Gerade Frauen zeigen einen zweiten Erkrankungsgipfel im Alter von 45 Jahren, sodass unter recht jungen Kontrollstudienteilnehmern möglicherweise auch Probanden sind, die im Verlauf des Lebens eine Schizophrenie entwickeln [7]. Zu der in dieser Arbeit gewählten Kontrollgruppe gibt es keine Angaben bezüglich Alter, Geschlecht. Es ist lediglich bekannt, dass es sich um gesunde kaukasische Probanden handelt. Somit entfällt die Möglichkeit auf Prüfung eines signifikanten Unterschiedes bezüglich Alter, Geschlecht

etc. zwischen Patienten- und Kontrollgruppe, was als Limitation unserer Arbeit anzusehen ist.

Eine weitere Erklärung für die Diskrepanz, dass nicht alle Studien eine Assoziation zu Schizophrenie erbrachten, könnte die Heterogenität erstens der Krankheit und zweitens der für sie verantwortlichen Gene sein. Das Krankheitsbild der Schizophrenie ist, wie in der Einleitung beschrieben, nicht homogen. Ebenso die Negativsymptomatik, die nicht durch Klassifikationssysteme, wie beispielsweise ICD-10 oder DSM-IV operationalisiert ist. Dies macht es problematisch, einen bestimmten Phänotyp eindeutig zu beschreiben. Bei der Schizophrenie ist davon auszugehen, dass viele Gene mit jeweils kleinen Effekten zur Krankheitsentstehung beitragen. Bei einigen Patienten können somit die einen, bei anderen Patienten andere Gene Ursache für dieselbe Symptomatik sein, da es sich wahrscheinlich um eine nicht nur multifaktorielle, sondern auch polygenetische Krankheit handelt. Genauso kann es nicht nur Unterschiede bezüglich der Beteiligung einzelner Gene geben, sondern auch innerhalb eines Gens können mehrere Loci krankheitsverursachend sein. Die Polymorphismen können zudem in bisher wenig untersuchten Introns oder intergenischen Sequenzen liegen.

Eine Assoziation zwischen einzelnen Symptomen, die mit Hilfe der Negativskala der PANSS, NSA-16 und GAF erfasst wurden und DTNBP-1 Variante erfolgte nicht, da davon auszugehen ist, dass das Multiple Testen aufgrund des explorativen Ansatzes unserer Studie eine Korrektur des Signifikanzniveaus mit sich gebracht hätte, welches nicht erreicht worden wäre. Problem des Multiplen Testen ist, dass mehrere Tests zu jeweils einem Signifikanzniveau von 5% durchgeführt werden, Lösung hierfür ist die Adjustierung des nominalen Signifikanzniveaus, welches in unserer Studie lediglich für die SNPs rs2619522, rs760761 und rs2619528 mittels Bonferroni-Korrektur durchgeführt wurde.

Es muss auch angemerkt werden, dass es für die Auswertung der Skalen zur Erfassung der Negativsymptomatik zwar standardisierte Auswertungsbögen gibt, jedoch der Einfluss eines gewissen subjektiven Eindrucks nicht völlig vernachlässigt werden darf und eine scharfe Treffung zwischen primärer Negativsymptomatik und der sekundären Negativsymptomatik, die durch die medikamentöse Behandlung verursacht wurde, nicht möglich ist.

Außerdem unterscheiden sich die genannten Referenzstudien und unsere Arbeit bezüglich der Berechnung der Haplotypenkombinationen, da verschiedene Programme hierfür verwendet wurden. Somit ist auch hierfür kein direkter Vergleich möglich. In der

vorliegenden Arbeit wurde das Programm Hap gewählt, welches nur die wahrscheinlichste Verteilung für die Probanden angibt, nicht aber die weniger wahrscheinlichen Varianten, die möglicherweise eine Assoziation zur Schizophrenie und Negativsymptomatik gezeigt hätten.

6.4. Ausblick auf zukünftige Untersuchungen

Die vorliegende Arbeit konnte die Ergebnisse der Studien, die eine Assoziation des DTNBP-1 Gens zur Schizophrenie und zur Ausprägung der Negativsymptomatik belegen, bestätigen. Jedoch sind die Ergebnisse der Studien, die die Assoziation von DTNBP-1 und Schizophrenie untersucht haben bezüglich der Einzel-Nukleotid-Polymorphismen und verschiedenen Haplotypen inkonsistent. Um zu beweisen, dass erstens DTNBP-1 zur Suszeptibilität der Schizophrenie beiträgt, zweitens einen Einfluss auf die Negativsymptomatik besteht und drittens, wie es pathophysiologisch wirkt, sind weitere Untersuchungen nötig.

Replikationsstudien sind in weitaus größeren Stichproben durchzuführen, die möglichst viele Polymorphismen genotypisieren, um hierdurch eine größere Einheitlichkeit der Ergebnisse zu erreichen, insbesondere dahingehend, welche SNPs mit der Schizophrenie assoziiert sind. Dabei ist die Auswertung der Daten mittels neuerer statistischer Verfahren wünschenswert, die mit der Einschränkung des Multiplen Testens besser umgehen können als konventionelle statistische Verfahren.

Zudem sollte auf eine exakte und sichere Diagnose der Patienten geachtet werden, auch wenn eine Heterogenität des klinischen Bildes der Schizophrenie vorliegt. Ferner sollten die Studien in verschiedenen ethnischen Populationen kontrolliert werden.

Gehört die Negativsymptomatik auch zu dem Symptomenkomplex, der großen Einfluss auf den Krankheitsverlauf zeigt, bleibt die Unterscheidung zwischen primärer und sekundärer Negativsymptomatik schwer. PANSS und NSA-16 zeichnen sich jedoch durch eine hohe Validität und Interraterreliabilität aus, so dass eine Einschätzung der negativen Symptome möglich ist. Sinnvoll wäre die Erweiterung der Diagnostik hinsichtlich einer kognitiven Testbatterie, um die mit der Negativsymptomatik häufig verbundenen kognitiven Einschränkungen ebenfalls abbilden zu können. Ziel sollte es sein, die Patienten nicht nur über einen Zeitraum von sechs Wochen diesbezüglich einzuschätzen, sondern eine längere Zeitspanne zu wählen. Wichtig ist der Längsschnitt als Studiendesign, da es in

Querschnittsstudien nicht gelingen kann, den Gesamtumfang der Negativsymptomatik einzuschätzen. Auch wenn atypische Neuroleptika einen günstigen Einfluss auf die Negativsymptomatik nehmen, ist deren Wirksamkeit diesbezüglich nicht optimal und das Outcome der schizophrenen Patienten durch vorherrschende Negativsymptomatik stark limitiert.

Im Bemühen um das Verständnis, wie Gene die Schizophrenie und Negativsymptomatik beeinflussen, ist die Untersuchung von Genen bezüglich ihrer Assoziation mit der Erkrankung nur der erste Schritt. So sind sorgfältige Untersuchungen der Effekte der assoziierten Einzel-Nukleotid-Polymorphismen und Haplotypen auf Expression und Funktion des Genproduktes erforderlich. Es muss verstärkt nach der funktionalen und pathogenetischen Variante im DTNBP-1-Gen oder seiner Nachbargene gesucht werden, um dann mit Hilfe molekularbiologischer Methoden pathophysiologische und kausale Zusammenhänge zu identifizieren. Somit bestünde die Möglichkeit, neue Medikamente zu entwickeln, die kausal die Schizophrenie therapieren könnten. Im Bereich der Pharmakogenetik würde dies auch bedeuten, dass Art und Dosierung der Medikation in Abhängigkeit vom Genotyp der Patienten und dessen Auswirkung (beispielsweise vorherrschende Negativsymptomatik) individuell angepasst werden könnten. Hinsichtlich der genetischen Forschung werden zudem neuere Techniken wie die „Whole Genome Association Studies“ immer mehr an Bedeutung gewinnen, um den Fokus einer solchen Untersuchung nicht nur auf einige wenige Kandidatengene zu legen.

Präventivmaßnahmen gegen den Ausbruch der Schizophrenie und einen ungünstigen Verlauf aufgrund vorherrschender Negativsymptomatik können ebenfalls nur mit einem besseren Verständnis der Pathogenese ergriffen werden.

Die Identifikation von weiteren Suszeptibilitätsgenen für die Schizophrenie und für eine vorherrschende Negativsymptomatik ist daher für verschiedene Bereiche der Schizophrenieforschung und –behandlung weiterhin entscheidend.

VII. Abkürzungen und Fachbegriffe

Abkürzung	Fachbegriff
A	Adenin/Adenosin
Bp	Basenpaare
C	Cytosin
C-Terminus	Carboxy-Ende
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
D'	Maß für das Disequilibrium (Kopplungsungleichgewicht)
DAAO	D-Aminosäure Oxidase
DNA	Desoxyribonuclease
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphat
DRD2	Dopamin 2-Rezeptor
DRD3	Dopamin 3-Rezeptor
DSM-III/IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (third/fourth) edition der American Psychiatric Association
DTNBP-1	Dystrobrevin binding protein (Dysbindin-1)
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ErbB	Virales Onkogen Homolog (v-Erb-B) als Form eines im Vogel (avian) Erythroblastose Virus gefundenen Gens
G	Guanin/Guanosin
GABA	Gamma Aminobuttersäure
GAF	Global Assessment Functioning, Skala zur Einschätzung der globalen Leistungsfähigkeit
G-q	Heterotrimäres G-Protein, das Phospholipase C aktiviert
H ₂ O	Wasser
5-HAT	5-Hydroxy-Tryptamin (Serotonin)
ICD-10	International Classification of Diseases, 10th edition(WHO)
ID	Identifikation bei Single Nukleotid Polymorphismen
Kb	Kilobasenpaare
KD	Kilo-Dalton, Maß für Molekulargewicht
LD	linkage disequilibrium, Kopplungsungleichgewicht
ml	Milliliter
mmol	Millimol
min	Minute
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
m-RNA	messenger (Boten-) Ribonukleinsäure
n	Probandenzahl
NCBI	National Center for Biotechnology Information

NRG	Neuregulin
NSA-16	Negative Symptom Assessment (16 Items)
Notch 4	Notch Homolog 4 (Drosophila)
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
N-Terminus	Amino-Ende
p(Chromosom)	petit, kurzer Arm eines Chromosoms
p	Signifikanz, p-Wert
PANSS	Positive and Negative Syndrome Scale
PCP	Phencyclidin
PCR	Polymerasekettenreaktion
PPP3C	Protein Phosphatase 3-Gen, welches die Calcineurin γ katalytische Untereinheit kodiert
Primer	DNA-Oligonukleotid
PRODH	Prolin Dehydrogenase
PSD	postsynaptische Verdichtung
q(Chromosom)	langer Arm eines Chromosoms
RFLP	Restriktionslängenpolymorphismus
RGS 4	Regulator of G-Protein signaling 4
RNA	Ribonukleinsäure
s	Sekunde
SKID	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-Achse
SNP	single nucleotide polymorphism, Einzelnukleotidpolymorphismus
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
T	Thymin
Taq	Thermostabile Polymerase
TBE-Puffer	Tris-Borat- Na_2EDTA -Puffer
U	Unit, Einheit der Enzymaktivität
V	Volt
ZNS	Zentrales Nervensystem
°C	Grad Celsius
μg	Mikrogramm, 10^{-6}g
μl	Mikroliter, 10^{-6}l

VIII. Literaturverzeichnis

- 1 **Kraepelin, E.:** Psychiatrie, 4. Auflage, Abel (Meixner), Leipzig, 1893
- 2 **Bleuler, E.:** Dementia praecox oder Gruppe der Schizophrenien, Deuticke, Leipzig Wien, 1911
- 3 **Schneider, K.:** Klinische Psychopathologie, 14. Auflage, Thieme Stuttgart-New York, 1992
- 4 **Hughlings-Jackson:** Selected Writings, Taylor J (Hrsg.) London: Hodder and Stoughton Ltd, 1931
- 5 **World Health Organization:** International classification of diseases (10th edition), WHO, Geneva, 1994
- 6 **American Psychiatric Association:** Diagnostical and statistical manual of mental disorders (4th edition), American Psychiatric Press, Washington DC, 1994
- 7 **Häfner H., Hambrecht M., Löffler W. et al.:** Is schizophrenia a disorder of all ages ? A comparison of first episodes and early course over the life-cycle, *Psychological Medicine* 1998; 28: 357-365
- 8 **Häfner H.:** Onset and early course of schizophrenia, In: Häfner et al.: Search for the courses of schizophrenia 1995; 3: 43-66
- 9 **Wolf K.:** Psychotische Störungen, *Notfall&Hausarztmedizin* 2006; 32: 217-220
- 10 **Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie, Psychotherapie und Nervenheilkunde DGPPN:** S3 Praxisleitlinien in Psychiatrie und Psychotherapie, Steinkopff-Verlag 2005
- 11 **Möller HJ.:** Course and long-term treatment of schizophrenic psychoses, *Pharmacology* 2004; 2: 126-135
- 12 **Nöthen M., Rietschel M., Propping P. et al.:** Psychiatrische Genetik: Fortschritte in der Ursachenforschung affektiver und schizophrener Störungen, *Deutsches Ärzteblatt* 2004; 101 (49): A-3343/B-2831/C-2680
- 13 **Carlson A.:** Antipsychotic drugs, neurotransmitters and schizophrenia, *American Journal of Psychiatry* 1978; 135: 164-173
- 14 **Grace A.:** The depolarization block hypothesis of neuroleptic action: Implication for the treatment of schizophrenia, *Journal of Neural Transmission* 1992; 36: 91-131
- 15 **Harrison PJ., Owen MJ.:** Genes for schizophrenia ? Recent findings and their pathophysiological implications, *Lancet* 2003; 361: 417-419

- 16 **Laruelle M., Abi-Dargham A., Casanova MF. et al.:** Selective abnormalities of prefrontal serotonergic receptors in schizophrenia, *Journal of Neural Transmission* 1992; 36: 91-131
- 17 **Kircher T., Liddle P., Brammer P. et al.:** Funktionelle Bildgebung am Beispiel der Schizophrenie, *Deutsches Ärzteblatt* 2005; 102 (4): A-214
- 18 **Schmitt A., Weber-Fahr W., Jatzko A. et al.:** Aktueller Überblick über strukturelle Magnetresonanztomographie bei Schizophrenie, *Fortschritt Neurologie Psychiatrie* 2001; 69: 105-115
- 19 **van Horn JD., Cannon M., Jonnes P. et al.:** Ventricular enlargement in schizophrenia, *Archives of General Psychiatry* 1986 43 : 34-42
- 20 **McGuire PK., Silbersweig DA., Wright I. et al.:** The neural correlates of inner speech and auditory verbal imagery in schizophrenia: relationship to auditory verbal hallucinations, *British Journal of Psychiatry* 1996; 169: 148-159
- 21 **Lawrie SM., Abukmeil SS.:** Brain abnormality in schizophrenia: a systematic and quantitative review of volumetric magnet resonance imaging studies, *British Journal of Psychiatry* 1998; 172: 110-120
- 22 **Scherk H., Vogely K., Falkai P.:** Die Bedeutung von Interneuronen bei affektiven und schizophrenen Erkrankungen, *Fortschritt Neurologie Psychiatrie* 2003; 71: 27-32
- 23 **Bebbington PE., Kuipers L.:** The clinical utility of expressed emotion in Schizophrenia, *Acta Psychiatrica Scandinavica* 1994; 89: 46-53
- 24 **Wiersma D., Nienhuis FJ., Sloof CJ. et al.:** Assessment of the need for care 15 years after onset of a Dutch cohort of patients with schizophrenia and an international comparison, *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology* 1996; 31: 114-121
- 25 **Kendler KS., Gardner CO., Lonnqvist J. et al.:** The risk for psychiatric disorders in relatives of schizophrenic and control probands: a comparison of three independent studies *Psychological Medicine* 1997; 27: 411-419
- 26 **Cannon TD., Kaprio J., Lonnqvist J. et al.:** The genetic epidemiology of schizophrenia in a Finnish twin cohort, *Archives of General Psychiatry* 1998; 55: 67-74
- 27 **Rosenthal D., Kety S.:** Schizophrenic offspring raised in adoptive homes, *Journal of Psychiatry Research* 1968; 6: 377-391
- 28 **Kendler KS., Gruenberg AM., Kinney D.:** Independent diagnoses of adoptees and relatives as defined by DSM-III in the provincial and national samples of the Danish adoption study of schizophrenia, *Archives of General Psychiatry* 1994; 151: 27-41

- 29 **Gottesmann II., Erlenmeyer-Kimling L.:** Family and twin strategies as a head start in defining prodromes and endophenotypes for hypothetical early-interventions in schizophrenia, *Schizophrenia Research* 2001; 51: 93-102
- 30 **Straub RE., Jiang Y., MacLean CJ. et al.:** Genetic variation in the 6p22.3 gene DTNBP-1, the human ortholog of the mouse dysbindin gene, is associated with schizophrenia, *American Journal of Human Genetics* 2002; 71: 337-348
- 31 **Schumacher J., Abou Jamra R., Freudenberg J. et al.:** Examination of G72 and D-amino-acid oxidase as genetic risk factors for schizophrenia and bipolar affective disorders *Molecular Psychiatry* 2004; 9: 203-207
- 32 **Stefansson H., Sigurdsson E., Steinthorsdottir V. et al.:** Neuregulin 1 and susceptibility gene for schizophrenia, *Biological Psychiatry* 2004; 55: 192-195
- 33 **Williams NM., Green EK., Macgregor SE. et al.:** Support for RGS4 as susceptibility gene for schizophrenia, *Biological Psychiatry* 2004; 55: 192-195
- 34 **Williams J., Spurlock G., Holmans P. et al.:** A meta-analysis and transmission disequilibrium study of association between the dopamine D3 receptor gene and schizophrenia, *Molecular Psychiatry* 1998; 3: 141-149
- 35 **Breen G., Brown J., Maude S. et al.:** 141C del/ins polymorphisms of the dopamine receptor 2 gene is associated with schizophrenia in a British population, *American Journal of Medical Genetics* 1999; 88: 407-410
- 36 **Shifman S., Bronstein M., Sternfeld M. et al.:** A highly significant association between COMT haplotype and schizophrenia, *American Journal of Human Genetics* 2002; 71: 1296-1302
- 37 **Inayama Y., Yoneda H., Sakai T. et al.:** Positive association between a DNA sequence variant in the serotonin 2A receptor gene and schizophrenia, *American Journal of Medical Genetics* 1996; 67: 103-105
- 38 **Stefansson H., Sarginson J., Kong A. et al.:** Association of neuregulin 1 with schizophrenia confirmed in a Scottish population, *American Journal of Human Genetics* 2003; 72: 83-87
- 39 **Chowdari KV, Mirnics K., Semwal P. et al.:** Association and linkage analysis of RGS4 polymorphisms in schizophrenia, *Human Molecular Genetics* 2002; 11: 1373-1380
- 40 **Gogos JA., Santha M., Takacs Z. et al.:** The gene encoding proline dehydrogenase modulates sensorimotor gating in mice, *Nature Genetics* 1999; 21: 434-439

- 41 **Chumakov I., Blumenfeld M., Guerassimenko O. et al.:** Genetic and physiological data implicating the new human gene G72 and the gene for D-amino-acid-oxidase in schizophrenia, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2002; 99: 13675-13680
- 42 **Wei J., Hemmings GP.:** NOTCH4 locus is associated with susceptibility to schizophrenia, *Nature Genetics* 2000; 25: 376-377
- 43 **Gerber DJ., Hall D., Miyakawa T. et al.:** Evidence for association of schizophrenia with genetic variation in the 8p21.3 gene, PPP3CC, encoding the calcineurin gamma subunit, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2003; 100: 8993-8998
- 44 **Claeysen S., Faye E., Sebben M. et al.:** Assignment of 5-hydroxytryptamine receptor (HTR4) to human chromosome bands q31->q33 by in situ hybridisation, *Cytogenetics and Cell Genetics* 1997; 78: 133-134
- 45 **Makino C., Fujii Y., Kikuta R. et al.:** Positive association of the AMPA receptor subunit GluR4 (GRIA4) haplotype with schizophrenia: linkage disequilibrium mapping using SNPs evenly distributed across the gene region, *American Journal of Medical Genetics* 2003; 116B: 17-22
- 46 **Staal SP., Huebner K., Croce CM. et al.:** The AKT1 proto-oncogene maps to human chromosome 14, band q32, *Genomics* 1988; 2: 96-98
- 47 **Mukai J., Liu H., Burt RA. et al.:** Evidence that the gene encoding ZDHH8C contributes to the risk of schizophrenia, *Nature Genetics* 2004; 36: 725-731
- 48 **Duan J., Martinez M., Sanders AR. et al.:** Polymorphisms in the trace amine receptor 4 (TRAR4) gene on chromosome 6q22.3 are associated with susceptibility to schizophrenia, *American Journal of Human Genetics* 2004; 75: 324-638
- 49 **Crow TJ.:** Positive and negative symptoms of schizophrenia and the role of dopamine *British Journal of Psychiatry* 1980b; 137: 383-386
- 50 **Carpenter Jr WT.:** Deficit and non-deficit forms of schizophrenia: the concept *American Journal of Psychiatry* 1988; 145: 578-582
- 51 **Liddle PF.:** The symptoms of chronic schizophrenia: a re-examination of the positive negative dichotomy, *British Journal of Psychiatry* 1987; 151: 145-151
- 52 **Andreasen NC.:** Negative symptoms in schizophrenia. Definition and reliability *Archives of General Psychiatry* 1982; 39: 784-788

- 53 **Arango C., Buchanan RW., Kirkpatrick B. et al.:** The deficit syndrome in schizophrenia: implications for the treatment of negative symptoms, *European Psychiatry* 2004; 19: 21-26
- 54 **Addington J., Addington D., Joyce J. et. al.:** Premorbid functioning, cognitive functioning, symptoms, *Journal of Psychiatry and Neuroscience* 1993; 18: 18-23
- 55 **Agerbo E., Byrne M., Eaton WW. et al.:** Marital and labor market status in the long run in schizophrenia, *Archives of General Psychiatry* 2004; 61: 28-33
- 56 **Marneros A., Andreasen NC., Tsuang MT.:** Negative versus positive schizophrenia *Springer Berlin* 1991
- 57 **Lewine RR., Walker EF., Shurett R. et al.:** Sex differences in schizophrenia: timing or subtypes?, *Psychology Bulletin* 1981; 90: 432-434
- 58 **Ring N., Tantam D., Montague L. et al.:** Gender differences in the incidence of definite schizophrenia and atypical psychosis-focus on negative symptoms of schizophrenia, *Acta Psychiatrica Scandinavica* 1991; 84: 489-496
- 59 **Carpenter Jr WT, Arango C., Buchanan RW. et al.:** Deficit psychopathology and a paradigm shift in schizophrenia research, *Biological Psychiatry* 1999; 46: 352-360
- 60 **Tamminga CA, Buchanan RW, Gold JM:** The role of negative symptoms and cognitive dysfunction in schizophrenia outcome, *International Clinical Psychopharmacology* 1998; 13 Supplement 3: 21-26
- 61 **Rao ML., Möller HJ.:** Biochemical findings of negative symptoms in schizophrenia and their putative relevance to pharmacological treatment: a review, *Neuropsychobiology* 1994; 30: 160-172
- 62 **Berman KF, Weinberger DR.:** Prefrontal dopamine and defect symptoms in schizophrenia, *In: Greden JF, Tandon R (Hrsg). Negative schizophrenic symptoms: Psychophysiology and clinical implications. Washington DC: American Psychiatric Press, 1991: 81-95*
- 63 **Goff DC., Coyle JT.:** The emerging role of glutamate in the pathophysiology and treatment of schizophrenia, *American Journal of Psychiatry* 2001; 158: 1367-1377
- 64 **Tandon R., Greden JF.:** Cholinergic hyperactivity and negative schizophrenic symptoms. A model of cholinergic/dopaminergic interactions in schizophrenia, *Archives of General Psychiatry* 1989; 46: 745-753
- 65 **Goff DC., Coyle TJ.:** Negative symptoms in schizophrenia: neurobiological models and treatment response, *Harvard Review of Psychiatry* 1998; 6: 59-77

- 66 **Kandel ER.:** Disorders of thought and volition: Schizophrenia, *In: Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM (Hrsg.). Principles of Neural Science, 4th International Edition. New York: McGraw Hill, 2000: 1188-1207*
- 67 **Benson MA., Newey SE., Martin-Rendon E. et al.:** Dysbindin, a novel coil-coiled protein that interacts with the dystrobrevins in muscle and brain, *Journal of Biological Chemistry* 2001; 24232-24241
- 68 **Owen MJ., O'Donovan MC.:** Dysbindin-1 and schizophrenia: from genetics to neuropathology, *Journal of Clinical Investigation* 2004; 113: 1255-1257
- 69 **Anderson J., Head S., Rae C. et al.:** Brain function in Duchenne muscular dystrophy *Brain* 2000; 125: 4-13
- 70 **Górecki D., Derry J., Barnard E.:** Dystroglycan: brain localisation and chromosome mapping in the mouse, *Oxford University Press* 1994; 3: 1589-1597
- 71 **Jones K., Compton A., Yang N. et al.:** Deficiency of the syntrophins and α dystrobrevin in patients with inherited myopathy, *Neuromuscular disorders* 2003; 13: 456-467
- 72 **Lovering RM., Kuang W., Xu H. et al.:** The muscular dystrophies: from genetics to therapies, *Physical Therapy* 2005; 395: 587-598
- 73 **Blake DJ., Derek J., Weir A. et al.:** Function and genetics of dystrophin and dystrophin-related proteins in muscle, *Physiological Review* 2002; 82: 291-329
- 74 **Datta SR.:** Tests of linkage disequilibrium between schizophrenia and genetic markers at the G72 and dysbindin loci, *Presentation at: XIth World Congress of Psychiatric Genetics* 2003, October 4-8, Quebec City, Canada
- 75 **Bakker SC.:** Association study of the neuregulin, dysbindin and G72 genes in a large sample of Dutch schizophrenic patients, *American Journal of Medical Genetics* 2003; 122B: 19 (Abstract)
- 76 **Schwab G., Knapp M., Mondabon S. et al.:** Support for association of schizophrenia with genetic variation in the 6p22.3 gene, dysbindin, in sib-pair families with linkage and in additional sample of triad families, *Journal of Human Genetics* 2003; 72: 185-190
- 77 **Duan J., Martinez M., Sanders AR. et al.:** DTNBP-1 (dystrobrevin-binding protein1) and schizophrenia : association evidence in the 3' end of the gene, *Human Heredity* 2007; 64: 97-206

- 78 **van den Bogaert A., Schumacher J., Thomas G. et al.:** The DTNBP-1 (dysbindin) gene contributes to schizophrenia, depending on family history disease, *American Journal of Human Genetics* 2003; 73: 1438-1443
- 79 **Tang JX., Zhou J., Fan JB. et al.:** Family based association study of DTNBP-1 in 6p22.3 and schizophrenia, *Molecular Psychiatry* 2003; 8: 717-718
- 80 **Shi YY.:** Non-family based association study of DTNBP-1 in 6p22.3 and schizophrenia in geographically and generically structured Chinese Han population, *American Journal of Medical Genetics* 2003; 122B: 102 (Abstract)
- 81 **Numakawa T., Yagasaki Y., Ishimoto T. et al.:** Evidence of novel neuronal functions of dysbindin, a susceptibility gene for schizophrenia, *Human Molecular Genetics* 2004; 13: 2699-2708
- 82 **Turunen JA., Peltonen JO., Pietiläinen OPH. et al.:** The role of DTNBP-1, NRG-1, AKT-1 in the genetics of schizophrenia in Finland, *Schizophrenia Research* 2007; 91: 27-36
- 83 **Datta SR., McQuillin A., Puri V. et al.:** Failure to confirm allelic and haplotypic association between markers at the chromosome 6p22.3 dystrobrevin-binding protein 1 (DTNBP-1) locus and schizophrenia, *Behavioral and Brain Functions* 2007; 3: 50
- 84 **Joo EJ., Lee KY., Jeong SH. et al.:** The dysbindin gene (DTNBP-1) and schizophrenia: no support for association in the Korean population, *Neuroscience Letters* 2006; 407: 101-106
- 85 **Talbot K., Eidem WL., Tinsley CL. et al.:** Dysbindin-1 is reduced in intrinsic, glutamergic terminals of the hippocampal formation in schizophrenia, *The Journal of Clinical Investigation* 2004; 113:1353-1363
- 86 **van den Oord EJ., Sullivan PF., Jiang Y., et al.:** Identification of a high-risk haplotype for the dystrobrevin binding protein (DTNBP1) gene in the Irish study of high-density schizophrenia families, *Molecular Psychiatry* 2003; 8: 499-510
- 87 **Gornick MC., Addington AM., Sporn A. et al.:** Dysbindin (DTNBP-1, 6p22.3) is associated with childhood-onset psychosis and endophenotypes measured by the Premorbid Adjustment Scale (PAS), *Journal of Autism and Developmental Disorders* 2005; 35: 831-838
- 88 **Straub RE.:** The schizophrenia susceptibility gene dysbindin (DTNBP-1, 6p22.3) : analysis of haplotypes, intermediate phenotypes and alternative transcripts, *Biological Psychiatry* 2003; 53 (supplement): 167S-168S

- 89 **Fanous AH., van den Oord EJ., Riley BP. et al.:** Relationship between a high-risk haplotype in the DTNBP-1 (Dysbindin) gene and clinical features of schizophrenia, *American Journal of Psychiatry* 2005; 162: 1824-1834
- 90 **Burdick KE., Goldberg TE., Funke B. et al.:** DTNBP-1 genotype influences cognitive decline in schizophrenia, *Schizophrenia Research* 2007; 89: 169-172
- 91 **Funke B., Finn CT., Plocik AM. et al.:** Association of the DTNBP-1 locus with schizophrenia in a U.S. population, *American Journal of Human Genetics* 2004; 75: 891-898
- 92 **Kirov G., Ivanov D., Williams NM. et al.:** Strong evidence for association between the dystrobrevin-binding protein 1 (DTNBP-1) and schizophrenia in 488 parent-off spring trios from Bulgaria, *Biological Psychiatry*, in press 2004
- 93 **Williams NM., Preece A., Morris DW. et al.:** Identification in 2 independent samples of a novel schizophrenia risk haplotype of the dystrobrevin-binding protein gene (DTNBP-1), *Archives of General Psychiatry* 2004; 61: 336-344
- 94 **Kay SR., Fiszbein A., Opler LA.:** The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia, *Schizophrenia Bulletin* 1987; 13: 261-276
- 95 **Alphs LD.:** NSA-16 (Negative symptom assessment), *Journal of Psychiatric Research* 1993; 27: 253-258
- 96 **National Institute of Mental Health 1976:** CGI (Clinical Global Impression)
In: Guy W., ECDEU, Assessment for psychopharmacology, Rockville, Maryland: 217-222
- 97 **Phelan M., Wykes T., Goldman H.:** Global function scales (GAF), *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology* 1994; 29: 205-211
- 98 **Halperin E., Hazan E.:** Haplotype reconstruction from genotype data using imperfect phylogeny, *Bioinformatics* 2004; 20 (12): 1842-1849
- 99 **DeRosse P., Funke B., Burdick KE. et al.:** Dysbindin genotype and negative symptoms in schizophrenia, *American Journal Psychiatry* 2006; 163: 532-534

IX. Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde in der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Charitè-Universitätsmedizin-Berlin durchgeführt.

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. med. Imke Puls und Dr. rer. nat. Werner Kitzrow für die Möglichkeit zur Durchführung der vorliegenden Arbeit in ihrer Forschungsgruppe und vor allem für ihre jederzeitige prompte Hilfe.

Ich danke Prof. Dr. med. Andreas Heinz, dass ich diese Arbeit in der von ihm geleiteten Psychiatrischen Klinik der Charitè-Universitätsmedizin-Berlin durchführen durfte, sowie insbesondere den Mitarbeitern der Stationen 153 und 155 für die Hilfe während der Erhebung der klinischen Daten und vor allem den Patienten, die ihr Einverständnis zu dieser Studie gegeben haben, ohne sie wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Von Herzen geht ein Dank an meine Familie für ihre Unterstützung, nicht nur zu Promotionszeiten und ihr offenes Ohr für meine kleinen und großen Sorgen.

X. Erklärung

„Ich, Susanne Büttner, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Dysbindin-1 (DTNBP-1) und Negativsymptomatik bei Patienten mit Schizophrenie“ 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.“

Berlin, den 1. März 2008

Susanne Büttner

XI. Lebenslauf

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