

Aus der Klinik und Hochschulambulanz für Psychiatrie und Psychotherapie
Campus Benjamin Franklin
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Der Einfluss des Val^{158/108}Met Polymorphismus der Catechol-O-Methyl-Transferase auf
behaviorale Inhibition bei Schizophrenie

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von
Eric Hahn
aus Dresden

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. M. Dettling
2. Prof. Dr. med. P. Falkai
3. Prof. Dr. med. F. Reischies

Tag der Disputation: 12.04.2011

Datum der Promotion: 09.09.2011

1	Einleitung	7
2	Theoretischer Hintergrund	10
2.1	Die Schizophrenie als genetisch komplexe Erkrankung	10
2.1.1	Die Kandidatengene der Schizophrenie	12
2.1.2	Das Konzept der Endophänotypen	14
2.2	Die Schizophrenie als neurokognitive Störung	16
2.2.1	Neuropsychologische Endophänotypen der Schizophrenie	16
2.2.2	Aufmerksamkeitsstörungen und der Attention Network Test	17
2.3	Das dopaminerge System	20
2.3.1	Die Dopamin-Hypothese der Schizophrenie	21
2.3.2	Dopamin und präfrontale Kognition	21
2.3.3	Der Einfluss der Catechol-O-Methyl-Transferase	22
2.3.3.1	Der Val ^{158/108} Met Polymorphismus im <i>COMT</i> -Gen	23
2.3.3.2	Der Einfluss der Dopaminverfügbarkeit auf präfrontale Funktionen	24
2.3.3.3	Tonische und phasische Freisetzung von Dopamin	25
3	Zielstellung und Hypothesen	28
3.1	Zielstellung der Arbeit	28
3.2	Formulierung der Hypothesen	30
4	Methoden	31
4.1	Das Studiendesign	31
4.2	Beschreibung der Untersuchungsstichproben	31
4.2.1	Patienten	31
4.2.2	Gesunde Kontrollpersonen	32
4.3	Der Attention Network Test	33
4.3.1	Das ANT Computer-Testsystem	34
4.3.2	Die Zielvariablen des ANT	35
4.4	Genotypisierung und DNA-Extraktion	35
4.4.1	TaqMan®-Polymerase-Kettenreaktion	36
4.5	Statistische Auswertung	37

5	Ergebnisse	40
5.1	Demographische und klinische Charakterisierung	40
5.1.1	Patienten	40
5.1.2	Gesunde Kontrollpersonen	42
5.2	Behaviorale Ergebnisse	43
5.3	Allelfrequenzen und Genotypverteilungen	46
5.4	Der Einfluss des <i>COMT</i> Val ^{158/108} Met Polymorphismus auf die mittlere Reaktionszeit	47
5.5	Der Einfluss des <i>COMT</i> Val ^{158/108} Met Polymorphismus auf Inhibition	47
6	Diskussion	50
6.1	Zusammenfassung der zentralen Ergebnisse	50
6.2	Diskussion der Ergebnisse	50
6.2.1	Reaktionszeit	50
6.2.2	Effekte im inhibitorischen Netzwerk	51
6.2.3	Allelfrequenzen und Genotypverteilungen	53
6.2.4	Assoziation der Allele mit dem behavioralen Konflikteffekt	54
6.3	Invertierte U-Funktion des präfrontalen Dopamins	55
6.4	<i>COMT</i> , präfrontales Dopamin und Schizophrenie	57
6.5	Einschränkungen	58
6.6	Schlussfolgerung	59
7	Zusammenfassung	61
8	Literaturverzeichnis	63
9	Danksagung	77
10	Lebenslauf	78
11	Publikationen	80
12	Selbstständigkeitserklärung	82

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Hypothetische Effekte des <i>COMT</i> Val ^{158/108} Met Polymorphismus in Abhängigkeit von tonisch-phasischer Dopamintransmission	27
Tabelle 2	Medikation der schizophrenen Patienten	41
Tabelle 3	Klinische Charakterisierung von schizophrenen Patienten und gesunden Kontrollpersonen	42
Tabelle 4	Mittlere Reaktionszeiten und Alerting-, Orientierungs- und Konflikteffekte im ANT in Abhängigkeit von Gruppe und Geschlecht	43
Tabelle 5	Allelfrequenzen für den <i>COMT</i> Val ^{158/108} Met Polymorphismus bei schizophrenen Patienten und gesunden Kontrollpersonen	46
Tabelle 6	Genotypverteilung für den <i>COMT</i> Val ^{158/108} Met Polymorphismus bei schizophrenen Patienten und gesunden Kontrollpersonen	46
Tabelle 7	Mittlere Konflikteffekte in Abhängigkeit vom <i>COMT</i> Val ^{108/158} Met Genotyp, Gruppe und Geschlecht	47

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	Effekte von Kandidatengeneten der Schizophrenie auf die Neuroplastizität und Funktion von Synapsen	13
Abbildung 2	Endophänotypen als Brücke zwischen Genotyp und klinischem Phänotyp	15
Abbildung 3	Drei unabhängige Netzwerke der Aufmerksamkeit	19
Abbildung 4	Schematische Darstellung des <i>COMT</i> Val ^{158/108} Met Polymorphismus	24
Abbildung 5	ANT: Versuchsaufbau und zeitlicher Ablauf	34
Abbildung 6	Reaktionszeitverlauf der Kontrollpersonen als Funktion von Hinweis- und Zielreizen	44
Abbildung 7	Reaktionszeitverlauf der Patienten als Funktion von Hinweis- und Zielreizen	44
Abbildung 8	Mittlerer Reaktionszeitverlauf der Kontrollpersonen und Patienten als Funktion der Zielreize	45
Abbildung 9	Gesamtfehlerrate der Kontrollpersonen und Patienten in Abhängigkeit vom Zielreiz	45
Abbildung 10	Einfluss des <i>COMT</i> Val ^{108/158} Met Genotyps auf die Höhe des Konflikteffektes bei schizophrenen Patienten, gesunden Kontrollpersonen und im Gesamtkollektiv.	48
Abbildung 11	Einfluß des <i>COMT</i> Val ^{108/158} Met Genotyps auf den Konflikteffekt bei männlichen und weiblichen Patienten sowie bei männlichen und weiblichen Kontrollpersonen.	49
Abbildung 12	Einfluss des <i>COMT</i> Val ^{108/158} Met Genotyps auf den Konflikteffekt bei Kontrollpersonen.	56

1 EINLEITUNG

Mit dem Begriff Schizophrenie wird eine der komplexesten und tiefgreifendsten psychischen Störungen beschrieben, bei der wesentliche Domänen menschlichen Verhaltens und menschlicher Erlebenswelten stark beeinträchtigt sind. Die Schizophrenie hat weltweit eine Lebenszeitprävalenz von ca. 0.5 - 1% und aufgrund ihrer direkten und indirekten Kosten weltweit und auch in Deutschland eine hohe gesundheitsökonomische Relevanz (Konnopka et al., 2009). Das Ersterkrankungsalter liegt häufig im jungen Erwachsenenalter, wobei Männer erstmalig zumeist zwischen dem 15. - 25. Lebensjahr, und damit etwas frühzeitiger als Frauen erkranken. Der klinische Verlauf der Schizophrenie ist sehr variabel und reicht von einer vollständigen klinischen Remission nach einer einmaligen psychotischen Episode bis hin zu chronischen Zuständen mit Residualsymptomatik (Saß et al., 2003).

Vor der Manifestation schizophreientypischer - psychopathologischer Symptome besteht oft eine prodromale Phase (Frühphase), die einer „aktiven Phase“ mit Auftreten psychotischer Symptome durchschnittlich 5 Jahre vorausgeht (Helgason, 1990). Zu den eher unspezifischen Frühsymptomen dieser Prodromalphase gehören Verhaltensveränderungen wie sozialer Rückzug, Schlafstörungen, depressive Symptome, ein beeinträchtigtes Leistungsvermögen und kurzzeitig andauernde psychosenahe Episoden (Riecher-Rössler et al., 2006). Symptome der Schizophrenie werden anhand klinischer Gesichtspunkte in zwei Hauptkategorien, die „Positivsymptome“ und die „Negativsymptome“ eingeteilt. Charakteristische Positivsymptome sind beispielsweise inhaltliche Denkstörungen mit paranoiden Gedanken und Wahnsymptomatik, Wahrnehmungsstörungen in Form akustischer Halluzinationen, motorische Erregung und Ich-Störungen. Zu den Negativsymptomen gehören ein Mangel an Emotionen, Verlust von Energie, ein verflachter Affekt, Störungen des abstrakten Denkens und Verarmung des Sprachausdrucks einhergehend mit sozialem Rückzug. Negativsymptome beginnen oft schleichend über mehrere Monate und nehmen mit der Krankheitsdauer zu. Anhand der Kriterien des Diagnostischen und Statistischen Manuals Psychischer Störungen – (DSM-IV), erfolgt die Diagnostik operationalisiert, wobei zur Stellung der Diagnose mehrere klar definierte psychopathologische Symptome erfüllt sein müssen wie z.B. kulturell unangemessener Wahn, Halluzinationen, desorganisierte Sprache, grob desorganisiertes oder katatonisches Verhalten und Negativsymptome. Bezüglich der Zeitkriterien gilt nach DSM-IV, dass die schizophreientypischen Symptome mindestens sechs Monate bestehen müssen. (Saß et al. 2003).

Kognitive Symptome der Schizophrenie, wie beispielsweise Störungen der Aufmerksamkeit, des Gedächtnisses und exekutiver Funktionen (Problemlösen, kognitive Flexibilität, Inhibitionsleistungen) wurden in der Vergangenheit eher den Negativsymptomen zugeordnet, werden jedoch mittlerweile als eine eigenständige Kernsymptomatik schizophrener Erkrankungen verstanden, die eine herausragende Bedeutung für das spätere Funktionsniveau der Erkrankten und damit deren Prognose haben (Green und Nuechterlein 1999, Green et al., 2000).

Ätiologisch handelt es sich bei der Schizophrenie um eine genetisch komplexe Erkrankung mit einer hohen Heritabilität, bei der biologische, genetisch determinierte Grundlagen mit krankheitsfördernden Umweltfaktoren interagieren. Biologisch liegt eine Störung von Hirnfunktionen zugrunde, welche nach der Hirnentwicklungshypothese der Schizophrenie wiederum auf einer Störung der Gehirnentwicklung basieren soll, wodurch es zu verändertem neuronalen Wachstum, verminderter synaptischer Konnektivität und insgesamt zu veränderter Neurotransmission kommt (Moises et al., 2002). Die Ausprägung einer Erkrankung innerhalb des schizophrenen Spektrums kann dabei zwischen dem klinischen Vollbild der Schizophrenie und einer inkompletten Expression im Sinne einer schizotypen Störung liegen (Cornblatt und Malhotra, 2001).

Pathophysiologisch sind bei schizophrenen Erkrankungen die Konzentrationen unterschiedlicher Neurotransmittersysteme, wie Glutamat, γ -Aminobuttersäure (GABA), Dopamin (DA) und Serotonin sowie verschiedene neuronale Netzwerke verändert bzw. betroffen (Konradi und Heckers, 2003).

Im Rahmen des Vulnerabilitäts-Stress-Modells wird davon ausgegangen, dass zusätzlich zu einer genetischen Disposition auch Umweltfaktoren vorliegen müssen, um die Erkrankung manifest werden zu lassen (Nuechterlein et al., 1992; Zubin et al., 1985). Dabei interagieren genetische Faktoren mit individuumspezifischen Umgebungsvariablen. Beispielsweise wurden sowohl eine Infektion der Mutter während der Schwangerschaft, insbesondere während des zweiten Trimenons, als auch das Auftreten von perinatalen oder postnatalen Komplikationen mit der späteren Entwicklung einer schizophrenen Erkrankung des Kindes ätiologisch in Verbindung gebracht. Dabei sind ZNS-Infektionen in der frühen Kindheit und hypoxische Zustände während der Geburt mit einem etwa fünffach erhöhten Risiko für das spätere Auftreten Schizophrenie-spezifischer Symptome assoziiert (Schmidt-Kastner et al., 2006).

Isoliert erhöhen einzelne Umweltfaktoren das Erkrankungsrisiko um jeweils ein bis zwei Prozent, gemeinsam können die Risikofaktoren jedoch einen additiven Effekt haben.

Mittels Familien-basierter Kopplungsanalysen wurden in den letzten Jahren Kandidatenregionen im menschlichen Genom identifiziert, in denen mögliche Suszeptibilitätsgene für die Schizophrenie liegen. Gene wirken sich primär durch veränderte Genprodukte, Genexpression und Alteration von Signalkaskaden auf die Entwicklung der Hirnstruktur und die verschiedenen Hirnfunktionen aus und können daher nur in einem indirekten Zusammenhang zu komplexen, phänomenologisch definierten psychiatrischen Krankheiten stehen. In einem neueren Ansatz, der auch in der vorliegenden Studie Verwendung findet, wird deshalb der genetische Einfluss auf enger definierte und gut messbare funktionelle Merkmale untersucht, welche im Rahmen schizophrener Erkrankungen nachweislich verändert sind (Harrison und Weinberger, 2005).

2 THEORETISCHER HINTERGRUND

2.1 Die Schizophrenie als genetisch komplexe Erkrankung

Für die Schizophrenie gibt es bis heute keine Hinweise einer Existenz sogenannter monogener Unterformen, wie sie beispielsweise für die Unterform der früh beginnenden Alzheimererkrankung bekannt ist. Die Schizophrenie wird demnach nicht durch den Einfluss einiger weniger kausaler krankheitsassoziiertes Gene definiert, sondern ist vielmehr durch die Addition oder Potenzierung der Effekte eines spezifischen Clusters von Genvarianten bestimmt. Diese risikomodulierenden Genvarianten bilden zusammen die spezifische genetische Vulnerabilität, die das Erkrankungsrisiko eines jeden Individuums determiniert (Gottesman und Shields, 1967).

Eine große Anzahl von Zwillingsstudien und Familienstudien belegt eindrücklich die Wichtigkeit genetischer Faktoren für das Auftreten einer Schizophrenie, wobei das Erkrankungsrisiko mit dem Grad der genetischen Verwandtschaft steigt. Frühere Studien legen für die Schizophrenie zunächst eine Heritabilität von etwa 50 % nahe (Shields und Gottesman, 1972). In jüngerer Zeit wurde die durch genetische Faktoren erklärbare Heritabilität, berechnet aus dem Verhältnis der Konkordanzraten schizophrener Erkrankungen monozygoter und dizygoter Zwillinge, mit etwa 80 % angegeben (Sullivan et al., 2003).

Das menschliche Genom beinhaltet ungefähr 20.000-30.000 Protein-kodierende Gene (International Human Genome Sequencing Consortium, 2004). Dabei werden etwa 40 % aller Gene im Gehirn exprimiert (de Geus et al., 2001), aber nur 2 % der Desoxyribonukleinsäure-Sequenz (DNA-Sequenz) des menschlichen Genoms in eine Polypeptidsequenz übersetzt (Venter et al., 2001). Da aber 99,9 % der genomischen DNA bei allen Menschen identisch sind, führen nur 0,1 % zu der Gesamtheit der Vererbungsunterschiede (Plomin und Kosslyn, 2001). Etwa eine von 250 - 1.000 Basen tritt in der Bevölkerung als differentes Allel, am häufigsten als *Single Nucleotid Polymorphism* (SNP) auf (Wang et al., 1998). Diese Veränderung kann sowohl in regulatorischen Regionen (z.B. der Promotorregion eines Genabschnittes) als auch in Protein-kodierenden (Exons) und in nicht-kodierenden DNA-Abschnitten (Introns) lokalisiert sein.

Nur ein kleiner Teil dieser Polymorphismen, die sogenannten funktionellen SNPs, führen zu einem Aminosäureaustausch, dann nämlich wenn sie in Exons auftreten und zu Proteinen translatiert werden. Durch die Veränderung in der DNA-Sequenz kann es zu funktionellen Veränderungen der synthetisierten Proteine und so beispielsweise zu einer veränderten

Affinität eines Neurotransmitter-Rezeptors kommen. Ebenso können Polymorphismen generell aber auch völlig ohne funktionelle Folgen bleiben (Read und Strachan, 2003).

Bisher wurden zwei sich ergänzende Strategien genutzt, um die Grundlagen genetisch komplexer Störungen aufzuklären:

Bei *Kopplungsstudien* dienen DNA-Marker (Sequenzvariationen der genomischen DNA) als Wegweiser auf den Chromosomen. Kopplungsstudien werden innerhalb von Familienstammbäumen durchgeführt (Vink und Boomsma, 2002). Liegt ein DNA-Marker in der gleichen chromosomalen Region wie das Gen, welches eine Verhaltensstörung beeinflusst, dann treten dieser Marker und die Verhaltensstörung nicht unabhängig voneinander auf, sondern man spricht von Kopplung.

Im Rahmen hypothesengeleiteter *Assoziationsstudien* ist dagegen die Detektion von Suszeptibilitätsgenen mit geringen Geneffekten möglich. Statistisch nachgewiesen wird der Zusammenhang zwischen Allelen ausgewählter Kandidatengene und meist komplexer oder quantitativ messbarer Phänotypen. Dazu bedient man sich der genetischen Variabilität, die beispielsweise in Form einzelner SNPs vorliegen kann, wobei ein Allel statistisch mit der Variation eines solchen quantitativen Phänotyps assoziiert wird (Goldberg und Weinberger, 2004).

2.1.1 Die Kandidatengene der Schizophrenie

Bei der Suche nach den genetischen Grundlagen der Schizophrenie konnten erste Kandidatengene anhand von Kopplungsstudien identifiziert werden. Die Entdeckung dieser assoziierten Risikovarianten in mutmaßlichen Dispositionsgenen führte zu neuen Hypothesen hinsichtlich der Pathophysiologie der Schizophrenie. Die meisten der identifizierten Kandidatengene üben Funktionen in der Hirnentwicklung und Aufrechterhaltung wichtiger Prozesse im ausgereiften Gehirn aus. Ein weiteres gemeinsames Merkmal vieler Kandidatengene der Schizophrenie ist die Modulation erregender glutamaterger Transmission (Harrison und Owen, 2003).

Nach der *Glutamathypothese* der Schizophrenie wird eine primär genetisch determinierte Instabilität und Hypofunktion des glutamatergen Systems als ursächlich für die Entwicklung schizophrener Erkrankungen angesehen (Tsai und Coyle, 2002). Die verminderte Funktion glutamaterger Neurone führt nach dieser Theorie über eine Destabilisierung der Synapsenformation zu einer abnormen neuronalen Entwicklung, in deren Folge eine frontotemporale Diskonnektion die Grundlage der häufig auftretenden kognitiven Defizite darstellt. Letztlich führt eine verminderte glutamaterge Stimulation hemmender GABAerger Neurone zu einem verminderten inhibierenden GABAergen Tonus. Durch diese reduzierte Inhibition kommt es einerseits zu einer vermehrten Ausschüttung von Glutamat, das durch Überstimulation zu neurotoxischen Prozessen führen kann, und andererseits zu einem hyperdopaminergen Syndrom mesolimbischer Netzwerke (Konradi und Heckers, 2003). Kandidatengene der Schizophrenie wie Dysbindin (*DTNBP1*) und Neuregulin-1 (*NRG1*) untermauern die Hypothese, dass zentrale Bestandteile des glutamatergen Systems, wie der NMDA-Rezeptor, funktionell beeinträchtigt sind. *NRG1* ist beispielsweise an der neuronalen Migration, der Aufrechterhaltung der Integrität der Myelinscheiden sowie der Aufrechterhaltung synaptischer Prozesse im Bereich des glutamatergen Systems beteiligt, während Dysbindin eine entscheidende Rolle bei der synaptischen Plastizität spielt (Harrison und Weinberger, 2005). Auch das für D-Aminosäure Oxidase Aktivator kodierende Gen (*DAOA*), ist über seine Interaktion mit dem D-Serin Stoffwechsel über das katabole Enzym *DAO* an der Regulation glutamaterger Aktivität beteiligt. Ein weiteres Risikogen, das auf die herausragende Rolle der Glutamatfunktion bei der Entwicklung schizophrener Erkrankungen hindeutet, ist das den metabotropen Glutamat Rezeptor 3 kodierende Gen (*GRM3*).

Zu den *weiteren Kandidatengen* der Schizophrenie zählen Gene, die eine wichtige Rolle in der Hirnentwicklung haben und die Hypothese einer ursächlichen Hirnentwicklungsstörung untermauern (Harrison und Weinberger, 2005).

Abbildung 1 stellt zusammenfassend einige der bislang identifizierten Gene dar, die als Kandidatengene für die Schizophrenie bzw. für psychotische Störungen betrachtet werden.

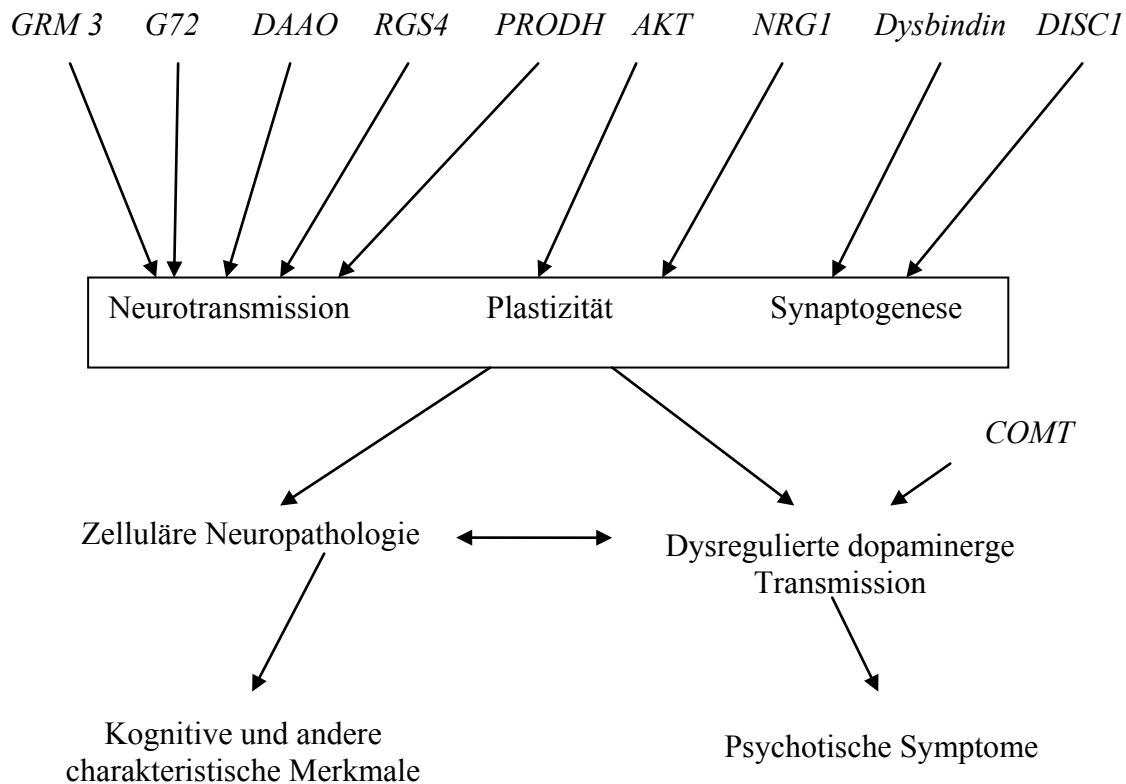


Abbildung 1: Effekte von Kandidatengen der Schizophrenie auf die Neuroplastizität und Funktion der Synapsen (modifiziert nach Harrison und Weinberger, 2005)

2.1.2 Das Konzept der Endophänotypen

Ein neuerer Forschungsansatz bei der Identifikation von Kandidatengenen ist das Konzept der sogenannten Endophänotypen (auch intermediäre Phänotypen genannt), die deutlich weniger polygen und komplex-genetisch determiniert sind als das psychopathologische Erscheinungsbild bzw. der klinische Phänotyp der Schizophrenie (Gottesman und Gould, 2003). Endophänotypen sind möglicherweise unmittelbarer mit den genetisch ursächlichen Faktoren verbunden und sind auch bei Verwandten von Patienten nachweisbar, die keine manifeste Erkrankung entwickelten (Zobel und Maier, 2004).

Gottesman und Gould (2003) haben die Entwicklung des Endophänotypenbegriffs in einer Übersichtsarbeit dargestellt und dabei folgende Definition für Endophänotypen (=Merkmale) vorgeschlagen:

1. Das Merkmal muss mit der Erkrankung assoziiert sein.
2. Das Merkmal ist vererbbar.
3. Es besteht eine weitgehende Unabhängigkeit des zu testenden Merkmals vom Krankheitsstadium, d. h., das Merkmal sollte auch in der Prodromalphase oder bei Remission der Symptome nachweisbar sein.
4. Das Merkmal und die Erkrankung werden in Familien gemeinsam weitergegeben.
5. Das bei Erkrankten gefundene Merkmal tritt bei nicht erkrankten Familienangehörigen häufiger auf als in der Allgemeinbevölkerung.

Die Genvarianten beeinflussen dabei sowohl die Disposition zur Erkrankung als auch die hirnstrukturellen und -funktionellen Normabweichungen. Dabei wird angenommen, dass eine nur geringe Anzahl genetischer Faktoren an der Ausbildung eines spezifischen Endophänotyps beteiligt ist, was das Erkennen von Suszeptibilitätsgenen erleichtern könnte (Zobel und Maier, 2004).

Einen Überblick über das Konzept der Endophänotypen stellt die Abbildung 2 dar.

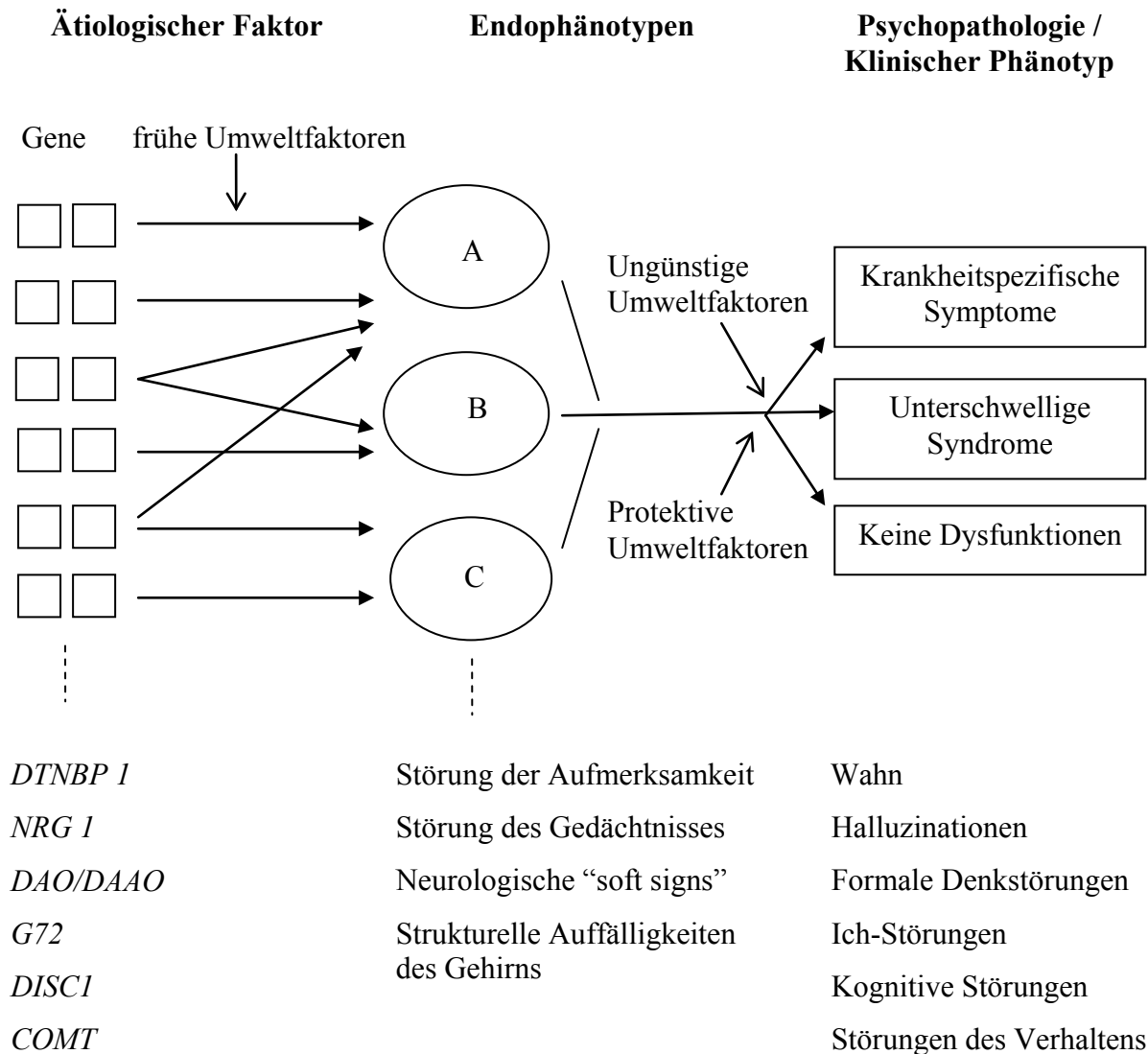


Abbildung 2: Endophänotypen als Brücke zwischen Genotyp und klinischem Phänotyp (modifiziert nach Zobel und Maier, 2004).

Abkürzungen: *DTNBP 1* (Dysbindin) - 6p22, *NRG 1* (Neuregulin 1) – 8p22, *DAO/DAAO* (D-Amino-acid oxidase) – 12q24, *G72 (DAOAVG30)* – 13q34, *DISC1* (disrupted in schizophrenia 1) – 1q42, *COMT* (catechol-O-methyltransferase) – 22q11

Mittels der Endophänotypenstrategie wurden bereits neurophysiologische Veränderungen, Veränderungen des Arbeitsgedächtnisses oder ein schizotypischer Persönlichkeitsstil mit der Schizophrenie in Verbindung gebracht (Fanous et al., 2007; Glahn et al., 2003; Winterer et al., 2003). Aufgrund ihrer klaren Definitionskriterien und ihrer guten Messbarkeit bieten sich insbesondere neuropsychologisch definierte Leistungsmerkmale, wie beispielsweise Netzwerke der Aufmerksamkeit als Endophänotyp an.

2.2 Die Schizophrenie als neurokognitive Störung

2.2.1 Neuropsychologische Endophänotypen der Schizophrenie

Bei etwa 75 % aller schizophrenen Patienten sind kognitive Beeinträchtigungen feststellbar (Heinrichs und Zakzanis, 1998). Kognitive Beeinträchtigungen bestehen mit dem Beginn einer schizophrenen Erkrankung, sind meisten unabhängig vom Vorliegen anderer psychotischer Symptome, treten auch bei Verwandten schizophrener Erkrankter auf und sind zeitlich stabil (Heydebrand, 2006; Green et al., 2004). Da solche neuropsychologisch messbaren Funktionsstörungen in einem weit größeren Maße als die Positiv- und Negativsymptomatik zu sozialer Behinderung und Arbeitsunfähigkeit beitragen, kommt dem besseren Verständnis der biologischen und genetischen Ursachen dieser Störungen eine besondere Bedeutung zu (Green et al., 2000). Ihre Verwendbarkeit als ein diagnostisches Kriterium der Schizophrenie wird diskutiert (Lewis, 2004; Green und Nuechterlein, 1999). Neuropsychologische Untersuchungsmethoden können dabei als sensitive Werkzeuge zur Prüfung der funktionellen Bedeutung bereits identifizierter Dispositionsgene angesehen werden (Meyer-Lindenberg und Weinberger, 2006).

Beeinträchtigungen der Aufmerksamkeit betreffen Funktionen wie die Orientierung auf neue Reize, die selektive Filterung relevanter Information, die gezielte Aufmerksamkeitsverlagerung sowie die Aufrechterhaltung einer Daueraufmerksamkeit.

Aufmerksamkeitsdefizite bei schizophrenen Erkrankten sind insbesondere durch Reiz-Reaktions-Aufgaben, z.B. im Continuous Performance Test (CPT) oder im Span of Apprehension Test (SPAN) gezeigt worden (Finkelstein et al., 1997). Auch für andere Maße der Aufmerksamkeit wurden im Stroop Test, im Trail Making Test, im Zahlen-Symbol-Test oder für die Zahlenspanne ausgeprägte Defizite bei schizophrenen Patienten beschrieben (Mohamed et al., 1999).

Hinsichtlich exekutiver Funktionen zeigen schizophrene Patienten insbesondere Beeinträchtigungen bei der Konzeptbildung, der Abstraktionsfähigkeit, der kognitiven Flexibilität, der Kontrolle von Aufmerksamkeitsressourcen sowie beim strategischen Vorgehen, Planen und Problemlösen (Zalla et al., 2004). Defizite exekutiver Funktionen bei schizophrenen Erkrankten sind vor allem im Wisconsin Card Sorting Test (WCST) gezeigt worden; dabei erreichen Patienten im Allgemeinen weniger Kategorien und haben mehr perseverative Fehler als gesunde Kontrollprobanden. Diese Defizite im WCST haben sich bei

der Schizophrenie als robust erwiesen; selbst intensives Training führte zu keiner anhaltenden Verbesserung der Leistung (Goldberg et al., 1987).

Störungen des Gedächtnisses umfassen den Prozess der Enkodierung, der Konsolidierung, des Erinnerns und des Wiedererkennens. Gedächtnisdefizite bei schizophren Erkrankten sind vor allem beim erinnern von Wortlisten, Geschichten und geometrischen Figuren gezeigt worden (Tracy et al., 2001). Defizite im Bereich der Arbeitsgedächtnisleistungen werden hierbei als ursächlich für gestörte Verhaltensmerkmale schizophrener Patienten (gestörtes zielgerichtetes Verhalten, desorganisiertes Denken, Sprachstörungen) angesehen (Silver et al., 2003). Auch bei nichtmedizierten, ersterkrankten und prodromalen schizophrenen Patienten wurden Normabweichungen bei kognitiven Tests nachgewiesen (Hill et al., 2004).

2.2.2 Aufmerksamkeitsstörungen und der Attention Network Test

Cohen und Mitarbeiter (2004) definieren Aufmerksamkeit als die Fähigkeit, die Verarbeitung bestimmter Informationen zu erleichtern. Dabei wird die Verarbeitung anderer Informationen inhibiert, um bestimmte Ziele der Aufmerksamkeit gegenüber anderen zu bevorzugen.

Posner und Peterson (1990) konstatieren, dass Aufmerksamkeit weder auf eine einzelne Funktion reduziert-, noch einer isolierten Hirnregion zugeordnet werden kann. Die Autoren gehen davon aus, dass (1) die Reizverarbeitung neurofunktionell getrennt von Aufmerksamkeitsprozessen abläuft, dass (2) die Aufmerksamkeit von einem Netzwerk mehrerer Hirnstrukturen gesteuert wird und dass (3) diese Hirnstrukturen jeweils bestimmte Funktionen erfüllen, die in kognitiven Begriffen beschreibbar sind. Gemäß dem Modell von Posner und Petersen (1990) liegen der Aufmerksamkeit drei unterscheidbare Subsysteme zugrunde, die mit unterschiedlichen zerebralen Netzwerken und Neurotransmittersystemen assoziiert werden können: Alerting, visuelle Orientierung und Konflikthinhibition.

Alerting bezieht sich auf die Fähigkeit, die gerichtete Aufmerksamkeit aufrecht zu erhalten. Hierbei sind vermutlich rechts-frontale und parietale Strukturen sowie das vom Locus Coeruleus ausgehende aktivierende Noradrenalin-System beteiligt. Oft wird Alerting in Reaktionszeitaufgaben gemessen, in denen die Probanden auf einen neutralen Reiz hin eine Taste drücken sollen. Die Geschwindigkeit solcher einfachen Reaktionen wird dabei als Indikator für den aktuell gegebenen Wachheitszustand angesehen. In einer Variante dieses Aufgabentyps wird die Reaktionszeit gemessen, wenn kurz vorher ein Warnreiz präsentiert wurde. Dabei zeigen gesunde Probanden kürzere Reaktionszeiten als in Bedingungen ohne

Warnreiz, was als Steigerung des Aufmerksamkeitsniveaus (*Alerting*) in Erwartung eines Reizes hoher Priorität interpretiert wird (Posner und Petersen, 1990).

Der Prozess der *visuellen Orientierung* erfordert die Loslösung von bisher fokussierten Objekten, die Verschiebung des Aufmerksamkeitsfokus und das Ausblenden unwichtiger Reize. Als mögliche beteiligte Hirnstrukturen gelten neben parietalen Strukturen, der Colliculus superior, das Pulvinar als kaudaler Anteil des Thalamus und das frontale Augenfeld (Fan et al., 2002).

Die *Inhibition* bezieht sich auf die Detektion der für zielgerichtetes Handeln relevanten Information und Unterdrückung irrelevanter Reize. Die Repräsentationen der Informationen sollen dabei im dorsolateralen frontalen Kortex gespeichert sein, während die Kontrolle der korrekten Ausführung einer Handlung dem anterioren Gyrus cinguli (ACC) zugeschrieben wird. Beide Strukturen stehen in intensiver Beziehung zu den Basalganglien (z.B. Striatum) und parietalen Strukturen (Posner und Raichle, 1998). Störungen exekutiver Funktionen bei Schizophrenen stehen in Übereinstimmung mit neurobiologischen Befunden zum präfrontalen Kortex (PFK) schizophrener Patienten. So fanden etwa Weinberger und Mitarbeiter (1986) bei schizophrenen Patienten einen verminderten zerebralen Blutfluss im dorsolateralen PFK während der Durchführung des WCST, ein Effekt, der sich als aufgabenspezifisch und unabhängig von der Medikation erwies. Auch unter Ruhebedingungen wurde wiederholt eine reduzierte präfrontale dopaminerg vermittelte Aktivität (sog. „Hypofrontalität“) bei Schizophrenen gefunden (Weiss und Heckers, 2001).

Bei dem *Attention Network Test* (ANT) handelt es sich um einen Aufmerksamkeitstest, mit dem die Funktion dieser hypothetischen Aufmerksamkeitssysteme untersucht wird (Fan et al., 2002). Abbildung 3 zeigt schematisch die neuroanatomische Repräsentation der beschriebenen subkortikal und kortikal lokalisierten Aufmerksamkeitsnetzwerke für *Alerting* (rot) und *Orientierung* (grün) sowie für die eher kortikal repräsentierte *Inhibition* (blau), die auch in einer funktionellen Bildgebungsstudie an gesunden Probanden nachgewiesen werden konnten (Fan et al., 2005).

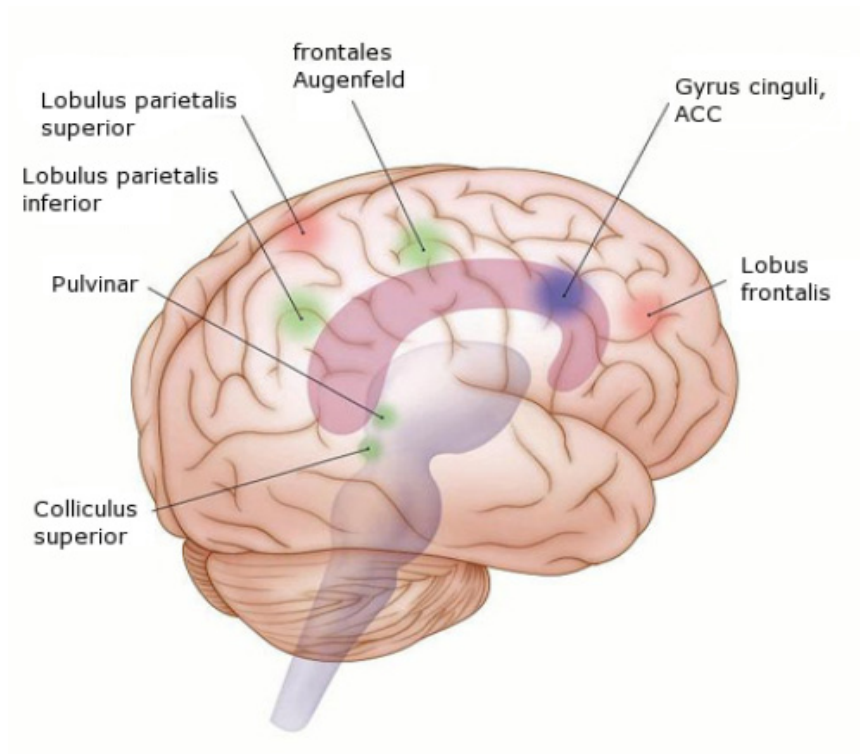


Abbildung 3: Drei unabhängige Netzwerke der Aufmerksamkeit (modifiziert nach Fan, 2004)

In einer Zwillingsstudie konnte bereits die Vererblichkeit von mit dem ANT messbaren Effekten nachgewiesen werden (Fan et al., 2001). Weiterhin wurden in ersten Untersuchungen der möglichen genetischen Grundlagen des ANT verschiedene genetische Polymorphismen identifiziert, die statistisch signifikante Assoziationen sowohl auf neuropsychologischer (Fossella et al., 2002a) als auch auf funktionell bildgebender Ebene (Fan et al., 2003) aufwiesen. Insbesondere der Reaktionszeiteffekt durch die behaviorale Inhibition (Konflikteffekt) zeigte sich als robustes neuropsychologisches Maß (Fan et al., 2002).

Im Rahmen einer neurophysiologischen Untersuchung zum ANT wurden visuelle Ereignis-korrelierte Potentiale genutzt, um die Lokalisation neuronaler Generatoren der Konfliktverarbeitung während der Durchführung des ANT darzustellen (Neuhaus et al., 2007). Schizophrene Patienten zeigten eine reduzierte Modulation der Amplitude und Verzögerung der P300 und eine reduzierte ACC-Aktivierung während der Konfliktverarbeitung. Diese Befunde stimmen mit bisherigen Studien einer dysfunktionalen ACC-Aktivierung überein (Heckers et al., 2004).

2.3 Das dopaminerge System

Dopamin (DA) fungiert im zentralen Nervensystem (ZNS) als ein Neurotransmitter, d. h., DA gibt die elektrischen Signale eines Neurons an ein nachfolgendes Neuron weiter. Es gehört, ebenso wie Noradrenalin und Adrenalin, zur Gruppe der Katecholamine. Obwohl die Katecholamine nur ca. 1 - 2% der Neurotransmitter im ZNS ausmachen, sind sie von großer Relevanz für Verhaltensweisen in den Bereichen Motorik, Emotion und Kognition (Birbaumer und Schmidt, 2003). Das in Vesikeln gespeicherte DA wird als Reaktion auf ein eintreffendes Aktionspotential in den synaptischen Spalt ausgeschüttet, diffundiert in Richtung der postsynaptischen Rezeptoren und aktiviert sie. Dopaminrezeptoren (DR) sind sogenannte metabotrope Rezeptoren, die ihre Wirkung indirekt entfalten. Im Vergleich zur schnellen ionotropen Weiterleitung eines Signals, erfordert die metabotrope Weiterleitung mehr Zeit, erzielt aber eine länger anhaltende Wirkung (Carlson, 2004).

Es wird dabei nicht, wie bei ionotropen Rezeptoren, direkt ein Ionenkanal geöffnet, sondern durch Stimulation eines erregenden DR ein G-Protein aktiviert, das sich an der Innenseite der Zellmembran in der Nähe des Rezeptors befindet. In einer Kaskade aktiviert das G-Protein, ein Enzym, das daraufhin den sekundären Botenstoff (second messenger) zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP) produziert. Dieser second messenger diffundiert zu nahegelegenen Ionenkanälen, heftet sich dort an und öffnet diese. Die Stimulation eines inhibitorischen Rezeptors aktiviert dagegen hemmende G-Proteine, die ihrerseits die second-messenger-Produktion vermindern (Carlson, 2004).

Aufgrund ihrer unterschiedlichen Wirkung werden DR in die exzitatorische Dopaminrezeptorfamilie-Typ 1, deren Hauptvertreter der Dopamin Rezeptor-Typ D1 und D5 (DRD1, DRD5) sind, und die inhibitorische Dopaminrezeptorfamilie Typ 2 eingeteilt, deren Hauptvertreter der Dopamin Rezeptor-Typ D2 und D3 (DRD2, DRD3) sind. Auf Grundlage ihrer Ursprungs- und Zielgebiete im Gehirn werden ein nigrostriatales, ein mesolimbisches, ein tuberoinfundibuläres und ein mesokortikales Dopaminsystem unterschieden. Das mesolimbische und das mesokortikale Dopamin-System spielen eine wichtige Rolle bei der Verarbeitung von Belohnungsreizen, beim Lernen und hinsichtlich der kognitiven Handlungssteuerung (Seamans und Yang, 2004).

2.3.1 Die Dopamin-Hypothese der Schizophrenie

Die Dopaminhypothese der Schizophrenie postuliert, dass die Grundlage der Pathophysiologie der Schizophrenie in einer erhöhten dopaminergen Neurotransmission, insbesondere in den mesolimbischen und striatalen Gehirnregionen besteht (Carlsson, 1978).

Eine später eingeführte überarbeitete Dopaminhypothese sieht die mesolimbische Dopaminüberfunktion als ein sekundäres Merkmal einer primären Dopaminunterfunktion im PFK bei schizophrenen Patienten. Diese dopaminergen Defizite in frontalen Gehirnregionen, die teilweise durch DRD1 vermittelt werden, sind mit der Ausprägung von Negativsymptomen, einer Affektverflachung und kognitiven Störungen in Zusammenhang gebracht (Goldman-Rakic et al., 2000; Davis, 1991).

Unterstützung erfährt die Dopaminhypothese der Schizophrenie durch die Tatsache, dass alle bisher eingesetzten Antipsychotika Antagonisten oder partielle Agonisten insbesondere des DRD2 und zum Teil des DRD3 sind (Van Rossum, 1966; Sokoloff et al., 2006). Neben der zentralen Rolle der DRD2 in der antipsychotischen Behandlung gibt es auch deutliche Hinweise, dass DRD2-Gene die Suszeptibilität, an einer Schizophrenie zu erkranken, beeinflussen (Glatt et al., 2003). Dies wird gestützt durch Studien, die mittels bildgebender Verfahren zeigen konnten, dass es bei einer Schizophrenie zu einer erhöhten Signalübertragungsrate an DRD2 kommt (Seeman und Kapur, 2000).

DRD3 sind insbesondere in den limbischen Gehirnteilen zu finden und wurden ebenfalls mit Symptomen schizophrener Erkrankungen in Verbindung gebracht. Insbesondere spielen sie bei gestörten emotionalen Funktionen und bei einer effektiven Behandlung der Schizophrenie eine Rolle (Sokoloff et al., 2006).

2.3.2 Dopamin und präfrontale Kognition

Dopamin beeinflusst die elektrische Aktivität der Neurone im PFK (Williams und Goldman-Rakic, 1995; Yang und Seamans, 1996). Eine Verminderung des Dopamingehalts oder die Blockade der Dopaminrezeptoren im dorsolateralen PFK ruft funktionelle Defizite bei den von dieser Region abhängigen Funktionen hervor (Diamond und Goldman-Rakic, 1989). Eine lokale Injektion von selektiven Dopamin-Antagonisten in den dorsolateralen PFK verschlechtert dosisabhängig die Leistung bei Arbeitsgedächtnisaufgaben (Sawaguchi und Goldman-Rakic, 1991). Besonders im dorsolateralen PFK steigt die Konzentration

extrazellulären DAs bei der Bearbeitung von Arbeitsgedächtnisaufgaben an (Watanabe et al., 1997).

Die Gene Catechol-O-Methyl-Transferase (*COMT*), Dopamin Rezeptor Typ 4 (*DRD4*), Dopamin Transporter (*DAT*) und Monoamino-Oxidase A (*MAOA*) sind in diverse Funktionen des aminergen Stoffwechsels involviert. Bei Fossella und Mitarbeitern zeigten Träger von Polymorphismen, die mit einem höheren Dopamingehalt assoziiert sind (*COMT methionine*, *DRD4-4 repeat*, *DAT1-10 repeat*, *MAOA-LPR 3 repeat*) schlechtere Werte bei der Aufmerksamkeitstestung mit dem ANT (Fossella et al., 2002b).

2.3.3 Der Einfluss der Catechol-O-Methyl-Transferase

Wie bereits dargestellt, gibt es bei schizophrenen Patienten zahlreiche Hinweise für eine verminderte dopaminerge Signalübertragung in präfrontalen Regionen bei gleichzeitig gesteigerter dopaminerger Aktivität in mesolimbischen Arealen. Ein präfrontaler Dopaminmangel kann nicht nur durch eine verminderte Bereitstellung, sondern auch durch einen beschleunigten Abbau von DA verursacht werden. Die Regulation der endogenen Dopaminverfügbarkeit und bevorzugte Aktivierung von DRD1- bzw. DRD2-abhängigen Prozessen hängen, aufgrund der verminderten Verfügbarkeit anderer Dopamin-degradierenden Systeme, im PFK spezifisch und wesentlich von der Aktivität des COMT-Enzyms ab (Axelrod und Tomchick, 1958; Matsumoto et al., 2003b; Tunbridge et al., 2004). Das *COMT*-Gen befindet sich auf dem menschlichen Chromosom 22q11 (Grossman et al., 1992) und kodiert das COMT-Enzym, das ein wichtiges postsynaptisch-inaktivierendes Enzym der katecholaminergen Neurotransmitter DA, Adrenalin und Noradrenalin ist (Napolitano et al., 1995; Weinshilboum et al., 1999). Das Gen enthält sechs Exons, von denen Exon 1 und 2 nicht kodierend sind. Es existieren zwei Promotorregionen, die die Transkription kontrollieren. Eine längere mRNA, kontrolliert durch den P2 Promoter, kodiert für eine membrangebundene Form (MB-COMT), eine kürzere mRNA (P1 Promoter) kodiert für eine lösliche Form (S-COMT). MB-COMT besitzt eine etwa zehnfach höhere Substrataffinität für DA und Noradrenalin, sodass es besser für den Dopaminmetabolismus der physiologisch vorhandenen Dopaminkonzentrationen im Gehirn geeignet ist (Roth, 1992). MB-COMT ist tatsächlich hauptsächlich an der präfrontal-kortikalen Dopamininaktivierung beteiligt (Karoum et al., 1994). Beim Menschen spielt der DAT, der entscheidend für die Wiederaufnahme von DA ist, zwar im Striatum eine entscheidende Rolle, nicht aber im präfrontalen Dopaminstoffwechsel (Chen et al., 2004a). Analog zeigten Mäuse mit einem

Knockout des *COMT*-Gens einen Anstieg des Dopamingehalts im präfrontalen Kortex, jedoch nicht im Striatum (Gogos et al., 1998). Tierexperimentell konnte bei Affen und Ratten eine geringere Dichte des DAT im PFK nachgewiesen werden (Lewis et al., 2001). Durch die mit der geringeren DAT Dichte einhergehende geringere Dopaminwiederaufnahme ist der PFK von sekundären Mechanismen, wie beispielsweise vom Dopaminkatabolismus durch MB-COMT abhängiger, um das extrazelluläre DA zu inaktivieren (Diamond et al. 2004; Tunbridge et al., 2006). MB-COMT wird dementsprechend auch vorwiegend neuronal exprimiert (Matsumoto et al., 2003a); während S-COMT hauptsächlich in anderen Organsystemen außerhalb des ZNS nachweisbar ist (Lundstrom et al., 1995).

2.3.3.1 Der Val^{158/108}Met Polymorphismus im *COMT*-Gen

Der Polymorphismus rs4680 in Exon 4 des *COMT*-Gens mit den Allelen Guanin (G) und Adenin (A) hat eine funktionell wirksame Aminosäuresubstitution von Valin (Val) zu Methionin (Met) bei Codon 108/158 zur Folge. Das thermostabile Val-Allel ist mit einer drei- bis vierfach höheren Enzymaktivität und deshalb mit einem schnelleren Dopaminabbau als das thermolabile Met-Allel assoziiert (Lachman et al., 1996; Weinshilboum et al., 1999). Met-Homozygote weisen mit ihrer verminderten *COMT*-Aktivität mehr präfrontales synaptisches DA und über einen negativen Regulationsmechanismus eine verminderte Dopaminaufnahme und Dopaminsynthese im Mittelhirn auf (Meyer-Lindenberg et al., 2005). Das Val-Allel und das Met-Allel sind kodominant, wobei die Individuen mit einem Val/Met Genotyp eine mittlere *COMT*-Aktivität zwischen den homozygoten Individuen haben (Lotta et al., 1995).

Insbesondere die genetische Variante des *COMT* Val^{158/108}Met Polymorphismus wurde in der Vergangenheit aufgrund ihrer funktionellen Rolle in der Modulation präfrontaler dopaminerger Systeme als Kandidatengen der Schizophrenie angesehen, für die hochaktive Variante konnte eine Assoziation in Hochrisikofamilien gefunden werden (Chen et al., 2004b). Diese hochaktive, mit dem Val-Allel assoziierte, Form von *COMT* könnte aufbauend auf der Dopaminhypothese der Schizophrenie zu einem relativen kortikalen Dopaminmangel führen und daher das Risiko, an einer Schizophrenie zu erkranken, erhöhen (Egan et al, 2001).

Interessanterweise existiert ein weiterer funktioneller Polymorphismus im *COMT*-Gen (rs6267), der bisher nur in koreanischen und japanischen, jedoch nicht in kaukasischen Populationen nachgewiesen werden konnte. Während Kaukasier das niedrigaktive Alanin-Allel tragen, findet sich in Teilen der genannten asiatischen Populationen ein

Polymorphismus mit einem hochaktiven Serin-Allel, dessen Funktion sich analog zum Valin-Allel im SNP rs4680 verhält (Lee et al., 2005).

Abbildung 4 stellt schematisch in einer Übersicht den funktionellen Val^{158/108}Met Polymorphismus im COMT-Gen dar.

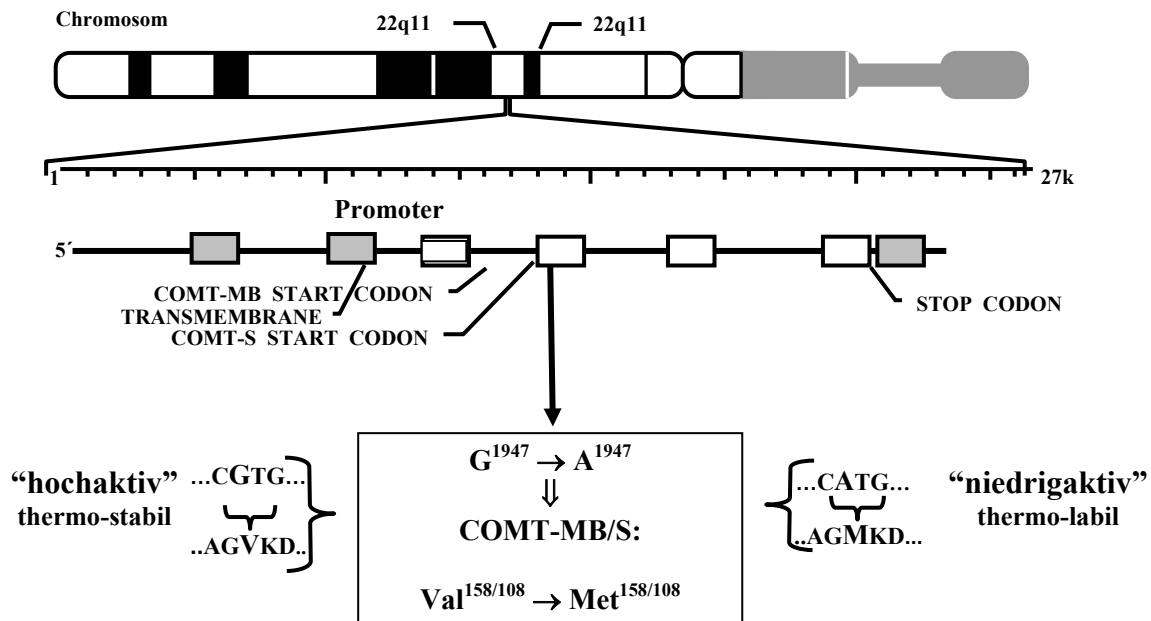


Abbildung 4: Schematische Darstellung des *COMT* Val^{158/108}Met Polymorphismus (modifiziert nach NCBI, GEN-BANK, ACCESSION # Z26491)

2.3.3.2 Der Einfluss der Dopaminverfügbarkeit auf präfrontale Funktionen

Dopamin scheint die präfrontale kortikale Funktion in einer komplexen umgekehrt U-förmigen Dosis-Antwort-Kurve zu beeinflussen, wobei ein optimales Funktionsspektrum nur in einem relativ geringen Bereich der Dopaminaktivität erreicht wird. Nach diesem Modell, zuerst tierexperimentell am DRD1 beschrieben, können zu viel aber auch zu wenig Dopamin jeweils negative Effekte auf die kognitive Leistungsfähigkeit ausüben. (Goldman-Rakic et al., 2000, Mattay et al., 2003)

Der Effekt, den der *COMT* Val^{158/108}Met Polymorphismus auf die präfrontale Kognition ausübt, hängt dabei von der Summe der nicht von COMT abhängigen Einflüsse auf die präfrontale Dopaminverfügbarkeit ab und ist bei jedem Individuum unterschiedlich. Für diejenigen Individuen, die sich hinsichtlich ihrer Dopaminaktivität auf der „linken Seite“ des Optimums der umgekehrt U-förmigen Dosis-Antwort-Kurve befinden, wäre nach diesem Modell das niedrigaktive Met-Allel von Vorteil, da es zu einer verstärkten Dopaminaktivität führen würde. Analog wäre für solche Individuen die sich bereits auf der „rechten Seite“ des

Optimums befinden, also schon über eine erhöhte und damit nicht mehr optimale Dopaminaktivität verfügen, das hochaktive Val-Allel vorteilhaft. (Tunbridge et al., 2006)

Diesem Modell entsprechend steigert die Amphetamingabe die physiologische Effizienz bei Val-Homozygoten und verschlechtert die Leistung bei Met-homozygoten Individuen (Mattay et al., 2003). Auch der COMT-Inhibitor Tolcapone führte bei homozygoten Trägern des Val-Allels zu verbesserten und bei homozygoten Trägern des Met-Allels zu verschlechterten kognitiven Leistungen, was sich ebenfalls mit der Annahme eines umgekehrt U-förmigen Zusammenhangs präfrontaler Dopaminkonzentration mit kognitiver Leistungsfähigkeit erklären lässt (Meyer-Lindenberg und Weinberger, 2006).

Elektrophysiologische Untersuchungen und Tierversuche haben gezeigt, dass Dopaminerhöhungen die Funktion des PFK steigern können (Braver et al., 1999). Je geringer die Inaktivierung des präfrontalen Dopamins durch COMT ausfällt, umso effizienter scheinen dessen Funktionen zu sein. Pharmakologische Reduktionen der COMT-Funktion (Gasparini et al., 1997), gezielte Ausschaltung des Gens (Kneavel et al., 2000) oder homozygotes Vorliegen des Met-Allels steigern die kognitive Leistung. Egan und Mitarbeiter (2001) fanden in einer bedeutenden Studie mit 175 schizophrenen Patienten, 219 nicht an einer psychotischen Störung erkrankten Geschwistern dieser Patienten sowie 55 gesunden Kontrollprobanden eine dosisabhängige Assoziation des Val-Allels mit der Zahl perseverativer Fehler im Wisconsin Card Sorting Test, der Arbeitsgedächtnis, Konzeptbildung und kognitive Flexibilität prüft.

2.3.3.3 Tonische und phasische Freisetzung von Dopamin

Eine für kognitive Funktionen wesentliche Unterscheidung wird zwischen der phasischen und tonischen Freisetzung von DA vorgenommen. (Grace, 1991) Unter phasischer Freisetzung wird die synaptische Ausschüttung von DA, infolge kurzer Salven, die weniger als 200 ms andauern und als Dopaminburst bezeichnet werden, verstanden. Dieser Dopaminburst ist eine Antwort auf eine Reizung dopaminerger Neurone im Mittelhirn, z.B. in Reaktion auf Belohnungssignale (Grace, 2000). Neben dieser stimulusabhängigen Dopaminaktivität existiert eine regelmäßige, spontane Aktivität dopaminerger Neurone in einem niederfrequenten Bereich von etwa ein bis zwei Entladungen pro Sekunde, wobei das DA hier vorrangig extrasynaptisch, also in den Extrazellulärraum freigesetzt wird (Floresco et al., 2003). Diese Art der Ausschüttung wird als tonische Freisetzung von DA bezeichnet, wobei in den Extrazellulärraum freigesetztes DA im ZNS hauptsächlich durch MB-COMT abgebaut wird.

Je nach Hirnregion können sich tonische und phasische Dopaminfreisetzung in unterschiedlicher Weise gegenseitig beeinflussen (Grace, 2000). In mesolimbischen dopaminergen Afferenzen des Nucleus accumbens erfolgt eine Hemmung der phasischen Dopaminfreisetzung durch vorrangig extrazellulär tonisch ausgeschüttetes DA (Bilder et al., 2004). Die Hemmung erfolgt hierbei über eine Aktivierung von hemmenden DRD2-Autorezeptoren. Das die Autorezeptoren aktivierende DA wird einerseits infolge einer Stimulation von Glutamatrezeptoren in der Nähe der Autorezeptoren in den Extrazellulärraum ausgeschüttet, andererseits werden die Autorezeptoren durch phasisch freigesetztes DA aktiviert, das aus dem synaptischen Spalt diffundiert (Grace, 2000). In Form einer sich selbst hemmenden Feedbackschleife erhöht eine phasische Dopaminfreisetzung die Konzentration des extrazellulären DA. Im PFK dagegen ist eine davon abweichende Wechselwirkung zu beobachten: Hier wird die phasische Dopaminausschüttung von einer hohen Konzentration extrazellulären DA in der Form unterstützt, sodass die resultierende dopaminerge Aktivierung erhöht wird und länger andauert (Seaman und Yang, 2004; Floresco und Magyar, 2006).

Nach Bilder und Kollegen (2004) sind die funktionellen Effekte des COMT Val^{158/108}Met Polymorphismus auf die dopaminerge Neurotransmission leichter zu erklären, wenn die zuvor skizzierte Theorie der phasischen und tonischen Freisetzung von Dopamin zugrunde gelegt wird (Grace, 1991). In Kurzform postuliert die Hypothese der tonisch-phasischen Dopaminfreisetzung in Bezug auf den COMT Val^{158/108}Met Polymorphismus, dass das niedrigaktive Met-Allel mit einer a) subkortikal verminderten phasischen und erhöhten tonischen Dopamintransmission und b) mit einer kortikal erhöhten Dopaminkonzentration assoziiert ist (Grace, 1993). Vor diesem Hintergrund wird weiter postuliert, dass bei Met-Allelträgern aufgrund einer erhöhten tonischen DRD1-abhängigen Dopamintransmission die Leistung bei Aufgaben, die Stabilität (Daueraufmerksamkeit) erfordern, im Vergleich zu Val-Allelträgern erhöht ist. Bei Aufgaben, die eher kognitive Flexibilität oder Inhibition in einer Konfliktaufgabe bei kortikaler phasischer DRD2-Aktivierung erfordern, wäre dagegen die postulierte Leistung der Met-Allelträger in Vergleich zu den Val-Allelträgern reduziert. (Bilder et al., 2004)

Einen Überblick über die hypothetischen Effekte des COMT Val^{158/108}Met Polymorphismus auf Grundlage der tonisch-phasischen Dopaminaktivität gibt Tabelle 1.

Tabelle 1: Hypothetische Effekte des *COMT* Val^{158/108}Met Polymorphismus in Abhängigkeit von tonisch-phasischer Dopamintransmission (modifiziert nach Bilder et al., 2004)

Effekt auf	Allele des <i>COMT</i> Val ^{158/108} Met Polymorphismus	
	Met-Allel	Val-Allel
COMT (Enzymaktivität)	Niedrige Aktivität	Hohe Aktivität
Tonisches Dopamin	↑ Tonisches DA (extraneu.)	↓ Tonisches DA (extraneuronal)
Phasisches Dopamin (subkortikal)	↓ Phasisches DA (synap.)	↑ Phasisches DA (synaptisch)
Kortikale DA Konzentration	Erhöhtes kortikales DA	Erniedrigtes kortikales DA
Dopaminrezeptor	↑ DRD1 Transmission;	↑ DRD2 Transmission;
Arbeitsgedächtnisfunktion	↑ Aufrechterhaltung des Arbeitsgedächtnisses	↑ „Reset“ und „Update“ des Arbeitsgedächtnisses
Vorteilhafter kognitiver Effekt	↑ Leistungen bei Aufgaben, die Stabilität erfordern (Daueraufmerksamkeit, einfache inhibitorische Aufmerksamkeit)	↑ Leistungen bei Aufgaben, die Flexibilität bzw. „Umschalten“ erfordern (Aktualisierung, „set shifting“ Wechsel inhibitorischer „Sets“)
Nachteiliger kognitiver Effekt	Übermäßige kognitive Rigidität (Schwierigkeiten bei Aufgaben die Flexibilität erfordern)	Reduzierte kognitive Stabilität (erhöhte Distraktibilität, Verlust kognitiver Sets, verminderte Daueraufmerksamkeit)

Abkürzungen: DA = Dopamin, DR = Dopaminrezeptor

3 ZIELSTELLUNG UND HYPOTHESEN

3.1 Zielstellung der Arbeit

Da kognitive Leistungen-, als Kernsymptome der Schizophrenie-, valide messbar sind, wurden sie als Endophänotypen im Rahmen von Assoziationsstudien zur Identifizierung der Funktion von Kandidatengeneten vorgeschlagen. Bei den bisher verwendeten kognitiven Tests, deren Testleistungen als mögliche Endophänotypen diskutiert wurden, bestand ein wichtiger Kritikpunkt darin, dass diese oft Leistungen aus verschiedenen Kognitionsdömanen abfragten, so dass die genaue Zuordnung der gestörten Funktion-, und deren kausale Verknüpfung mit Kandidatengeneten erschwert war (Bilder et al., 2004).

Angesichts des Mangels an einfachen und wenig zeitintensiven Tests zur Erfassung distinkt messbarer kognitiver Leistungen, die eng mit den zugrundeliegenden neuronalen Funktionsstrukturen verknüpft sein könnten, wurde weiterhin diskutiert, ob behaviorale Konfliktaufgaben besser geeignete Messinstrumente zur Erfassung präfrontaler dopaminabhängiger kognitiver Funktionen darstellen könnten.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist das Endophänotypkonzeptes bei Schizophrenie anhand eines neuropsychologischen Paradigmas zur Testung der Effizienz des PFK, der bei schizophrenen Patienten wiederholt als funktionell beeinträchtigt beschrieben wurde, zu überprüfen. Ein Versuchsdesign, welches eine differenziertere Untersuchung einer bei schizophrenen Erkrankten gestörten kognitiven Domäne, in diesem Fall die Aufmerksamkeit, ermöglicht, wurde von der Arbeitsgruppe um Posner mittels des ANT (Fan et al., 2001, 2002) präsentiert und auch hinsichtlich seiner Eignung geprüft (Fan et al., 2003, Fossella et al., 2002b). Insbesondere die inhibitorische (präfrontale) Komponente des ANT wurde als ein geeignetes Werkzeug zur Erfassung relevanter Aufmerksamkeitsfunktionen im Sinne des Endophänotypkonzeptes vorgeschlagen (Nolan et al., 2004).

In einem ersten experimentellen Schritt sollen die behavioralen Leistungen im ANT von schizophrenen Patienten und gesunden Kontrollen hinsichtlich der Reaktionszeiten und insbesondere hinsichtlich der Inhibition untersucht werden.

Es wird erwartet, dass die Gesamtreaktionszeit bei schizophrenen Patienten (SZP) gegenüber gesunden Kontrollprobanden (GP) signifikant erhöht ist. Die Gesamtreaktionszeit wird daher auch als ein Marker der Testreliabilität im Rahmen dieser Untersuchungen ausgewertet (Hypothese I).

Gleichzeitig wird postuliert, dass schizophrene Patienten gegenüber gesunden Kontrollen einen erhöhten Konflikteffekt aufweisen (Heinrichs und Zakzanis, 1998). Hintergrund dieser Überlegung ist die bereits ausgeführte reduzierte präfrontale dopaminerg vermittelte Aktivität bei schizophren Erkrankten, die zu einer ineffizienteren kortikalen kognitiven Inhibitionsleistung führen sollte (Weiss und Heckers, 2001). Unter der Annahme eines umgekehrt U-förmigen Zusammenhangs präfrontaler Dopaminkonzentration mit kognitiver Leistung, sollten sich schizophrene Erkrankte hinsichtlich der inhibitorischen Leistung auf der „linken Seite“ des Optimums der umgekehrt U-förmigen Dosis-Antwort-Kurve befinden (Meyer-Lindenberg und Weinberger, 2006). Da laut dieser Annahme bei schizophren Erkrankten von einer gestörten behavioralen Inhibition aufgrund eines relativen kortikalen Dopaminmangels innerhalb des Aufmerksamkeitsnetzwerks für Konflikt ausgegangen wird, sollte theoretisch der kalkulierte Konflikteffekt im ANT bei schizophren Erkrankten im Vergleich zu gesunden Kontrollen erhöht sein (Hypothese II).

In mehreren Arbeiten wurde gezeigt, dass der *COMT* Val^{108/158}Met Polymorphismus über seinen Einfluss auf den präfrontalen Dopaminmetabolismus spezifische und von der aktuellen Aufgabenstellung abhängige Effekte auf die jeweilige Leistung zeigt (Tunbridge et al., 2006). Daher wird in einem zweiten Schritt der Einfluss des genetischen *COMT* Val^{108/158}Met Polymorphismus auf die dopaminerge präfrontal-kortikale Funktion im Attention Network Test untersucht werden. Um multiples Testen zu vermeiden, ist das spezifische Ziel der vorliegenden Arbeit die Charakterisierung des Einflusses des *COMT* Val^{108/158}Met Polymorphismus auf das inhibitorische (exekutive) Aufmerksamkeitsnetzwerk schizophrener Patienten und gesunder Kontrollen. Insbesondere für die inhibitorische Bedingung (Konflikteffekt) des ANT konnte gezeigt werden, dass sie auf behavioraler Ebene robuste, gruppendifferente Effekte hervorruft (Fan et al., 2002; Neuhaus et al., 2007). Auf der Grundlage der zuvor skizzierten Theorie der tonisch-phasischen Freisetzung von Dopamin (Bilder et al., 2004) wird angenommen, dass homozygote Met-Allelträger einen signifikant erhöhten Konflikteffekt ausweisen, da sie bei behavioralen Aufgaben, die Flexibilität im Rahmen einer Konfliktaufgabe erfordern, im Vergleich zu homozygoten Val-Allelträgern benachteiligt wären (Hypothese III).

Vor dem Hintergrund des postulierten Gen-Dosis-Effektes wäre weiterhin zu erwarten, dass heterozygote Allelträger bezüglich ihrer behavioralen Inhibitionsleistung eine intermediäre Leistung zeigen.

3.2 Formulierung der Hypothesen

Auf der Grundlage der bisherigen Überlegungen werden drei zu überprüfende Hypothesen formuliert:

Hypothese I

Schizophrene Patienten unterscheiden sich von gesunden Kontrollen durch eine erhöhte Gesamtreaktionszeit. Daraus folgt

H0₁: Es gibt keine Unterschiede der Gesamtreaktionszeit zwischen gesunden Kontrollen und schizophrenen Patienten.

Hypothese II

Schizophrene Patienten unterscheiden sich von gesunden Kontrollen durch einen erhöhten behavioralen Konflikteffekt. Daraus folgt

H0₂: Es gibt keine Unterschiede der behavioralen Inhibition zwischen gesunden Kontrollen und schizophrenen Patienten.

Hypothese III

Homozygote $COMT^{Met}$ Individuen unterscheiden sich von homozygoten $COMT^{Val}$ Individuen durch einen erhöhten Konflikteffekt. Daraus folgt

H0₃: Es gibt hinsichtlich des Konflikteffektes keine Unterschiede zwischen homozygoten $COMT^{Met}$ Individuen und homozygoten $COMT^{Val}$ Individuen.

4 METHODEN

4.1 Das Studiendesign

Im Rahmen einer hypothesengeleiteten Untersuchung der Assoziationen zwischen spezifischen behavioralen Variablen des ANT und einem gut charakterisierten genetischen Polymorphismus des Dopaminstoffwechsels wurden 63 klinisch stabile SZP und 40 GP mit einer neuropsychologischen Testbatterie untersucht.

4.2 Beschreibung der Untersuchungsstichproben

4.2.1 Patienten

Als Einschlusskriterien für die Teilnahme an der Studie wurden für die Patienten folgende Voraussetzungen zugrunde gelegt:

1. Diagnose einer Schizophrenie nach den operationalisierten Kriterien des DSM-IV
2. Fehlende Anamnese für schwerwiegende somatische Erkrankungen oder für ein Schädel-Hirn-Trauma mit Verlust des Bewusstseins
3. Keine Alkohol- oder Drogenabhängigkeit und kein Alkohol- oder Drogenmissbrauch in den letzten 6 Monaten
4. Ein präorbider Intelligenzquotient (IQ) größer als 85
5. Zumutbarkeit einer etwa einstündigen neuropsychologischen Untersuchung
6. Alter zwischen 18 und 65 Jahren

Die Patienten wurden in der Universitätsklinik und Hochschulambulanz für Psychiatrie und Psychotherapie der Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin, aus dem stationären, tagesklinischen und ambulanten Bereich rekrutiert, die Diagnose einer Schizophrenie wurde vor Teilnahme an der Untersuchung von psychiatrisch erfahrenen Ärzten nach den operationalisierten Kriterien des DSM-IV bestätigt. Der klinische Zustand der Patienten war zum Zeitpunkt der Untersuchung stabil. Dabei wurden sowohl Patienten, bei denen vor der Studienteilnahme eine akute Episode einer schizophrenen Erkrankung behandelt worden ist, als auch seit langem klinisch stabile Patienten eingeschlossen. Das Kriterium der psychopathologischen Stabilität wurde anhand der erreichten Werte auf der Positive and Negative Syndroms Scale (PANSS; Kay et al., 1987), in diesem Fall <75 Punkte, überprüft. Von der Studie ausgeschlossen wurden Patienten, die einen PANSS-Wert von über

75 Punkten aufwiesen, korrespondierend mit dem Status „mäßig krank“ (Leucht et al., 2005) auf der Clinical Global Impression Skala (CGI; Guy, 1976). Zum Zeitpunkt der kognitiven Testung waren alle Patienten klinisch frei von extrapyramidalmotorischen Nebenwirkungen. Zur Erfassung der non-verbalen fluiden Intelligenz wurde der Untertest 3 des Leistungsprüfsystems (LPS-3; Horn, 1983) verwendet. Zur Erfassung des prämorbidem, verbalen Intelligenzniveaus wurde der Mehrfachwortschatztest (MWT-B; Lehrl et al., 1995) verwendet. Der MWT-B erfasst die kristalline Intelligenz und ermöglicht eine Abschätzung des prämorbidem oder auch präexpositionellen allgemeinen Intelligenzniveaus einer Person, wobei er weitgehend störungsunabhängig ist.

Alle Patienten wurden vor der Teilnahme an der Studie ausführlich über die Durchführung und Zielsetzung der Untersuchung aufgeklärt und gaben ihr schriftliches Einverständnis. Die Untersuchung wurde von der Ethikkommission der Charité Universitätsmedizin Berlin genehmigt und erfüllt die ethischen Normen der Deklaration von Helsinki (World Medical Association, 2008)

4.2.2 Gesunde Kontrollpersonen

Die gesunden Kontrollpersonen wurden über Anzeigen in lokalen Zeitungen rekrutiert. Die Ein- und Ausschlusskriterien für die gesunden Probanden waren:

1. Keine positive Anamnese für schwerwiegende somatische Erkrankungen oder für ein Schädel-Hirntrauma mit Verlust des Bewusstseins
2. Keine Alkohol- oder Drogenabhängigkeit (lifetime), kein Alkohol- oder Drogenmissbrauch in den letzten 6 Monaten
3. Anamnestisch unauffällige Familienanamnese hinsichtlich psychiatrischer Erkrankungen
4. Einen Intelligenzquotienten (IQ) größer als 85
5. Alter zwischen 18 und 65 Jahren

Zum Ausschluss bestehender relevanter psychischer und neurologischer Erkrankungen wurden die Kontrollpersonen vor Studieneinschluss mit Hilfe eines standardisierten Fragebogens (Mini-Neuropsychiatric Interview, M.I.N.I.; Sheehan et al., 1998) von klinisch erfahrenen ärztlichen Mitarbeitern untersucht. Relevante psychiatrische Störungen der Achse I oder Achse II nach DSM-IV waren dabei ein Ausschlusskriterium für die Studienteilnahme. Die gesunden Kontrollpersonen erhielten eine finanzielle Aufwandsentschädigung für ihre freiwillige Teilnahme an der Untersuchung.

4.3 Der Attention Network Test

Um die drei von Posner und Petersen (1990) beschriebenen Aufmerksamkeitsnetzwerke zu untersuchen, wurde ein spezielles Paradigma entwickelt, welches die drei Aufmerksamkeitsnetzwerke durch einfache Aufgabenvariationen spezifisch testet.

Der Attention Network Test (ANT) ist eine Kombination aus einem Paradigma mit Distraktorreizen (Flanker-Paradigma, Erikson und Erikson, 1974) und einer Reaktionszeitaufgabe mit Hinweisreizen (cued detection-Paradigma; Posner et al., 1982). Der Ablauf des ANT entspricht dem Versuchsaufbau von Fan und Mitarbeitern (2002).

In dieser Versuchsanordnung nach Fan et al. (2002) werden nach rechts oder links weisende Pfeile über oder unter einem Fixationskreuz dargeboten. Der Augenabstand der Versuchspersonen zum Monitor beträgt 65 cm, der linke Zeigefinger ruht auf der Antworttaste für „links“, der rechte Zeigefinger auf der Antworttaste für „rechts“. Die Aufgabe der Versuchsperson ist es, per Tastendruck anzugeben, ob der Pfeil nach rechts oder links weist. Ein einzelner Pfeil hat einen Winkel von ca. $0,6^\circ$ des Gesichtsfeldes, der Abstand zweier angrenzender Pfeile bzw. Linien beträgt jeweils etwa $0,1^\circ$. Insgesamt befinden sich die Reize (ein zentraler Zielreiz und vier flankierende) in einem Winkel von ca. $3,1^\circ$ des retinalen Gesichtsfeldes.

Diese Zielreize (Targets) werden durch Distraktoren flankiert, die entweder aus neutralen Reizen (Linien), konsistenten oder inkonsistenten Reizen (richtungskongruente bzw. – inkongruente Pfeile) bestehen. Zusätzlich werden diese Stimuli durch einen vorangehenden Hinweisreiz (Cue) antezediert. Diese Cues erscheinen entweder nicht (no cue-Bedingung), zentral (center cue), räumlich, d. h. in der oberen oder unteren Bildschirmhälfte (spatial cue) oder doppelt räumlich, d. h. in der oberen und unteren Bildschirmhälfte (double cue).

Die Hinweisreize sind immer valide und erscheinen in einem Zeitfenster zwischen 100 - 400 ms vor Präsentation der Zielreize, die pseudorandomisiert mit einer zeitlichen Verzögerung zwischen 500 ms und 1700 ms nach Präsentation der Hinweisreize dargestellt werden. Alle Testungen fanden in einem einzigen reizabgeschirmten Testraum statt und erfolgten nach einer standardisierten manualbasierten Anleitung durch den Leiter der Untersuchung, der während der gesamten Untersuchung anwesend war und auf eine korrekte Durchführung der Testung achtete. Um Einflüsse der Tageszeit auszuschliessen, erfolgte die Testung von Patienten und Kontrollpersonen immer zur gleichen Uhrzeit.

Der Ablauf des ANT mit Präsentation der Hinweis- und Zielreize wird schematisch in Abbildung 5 dargestellt:

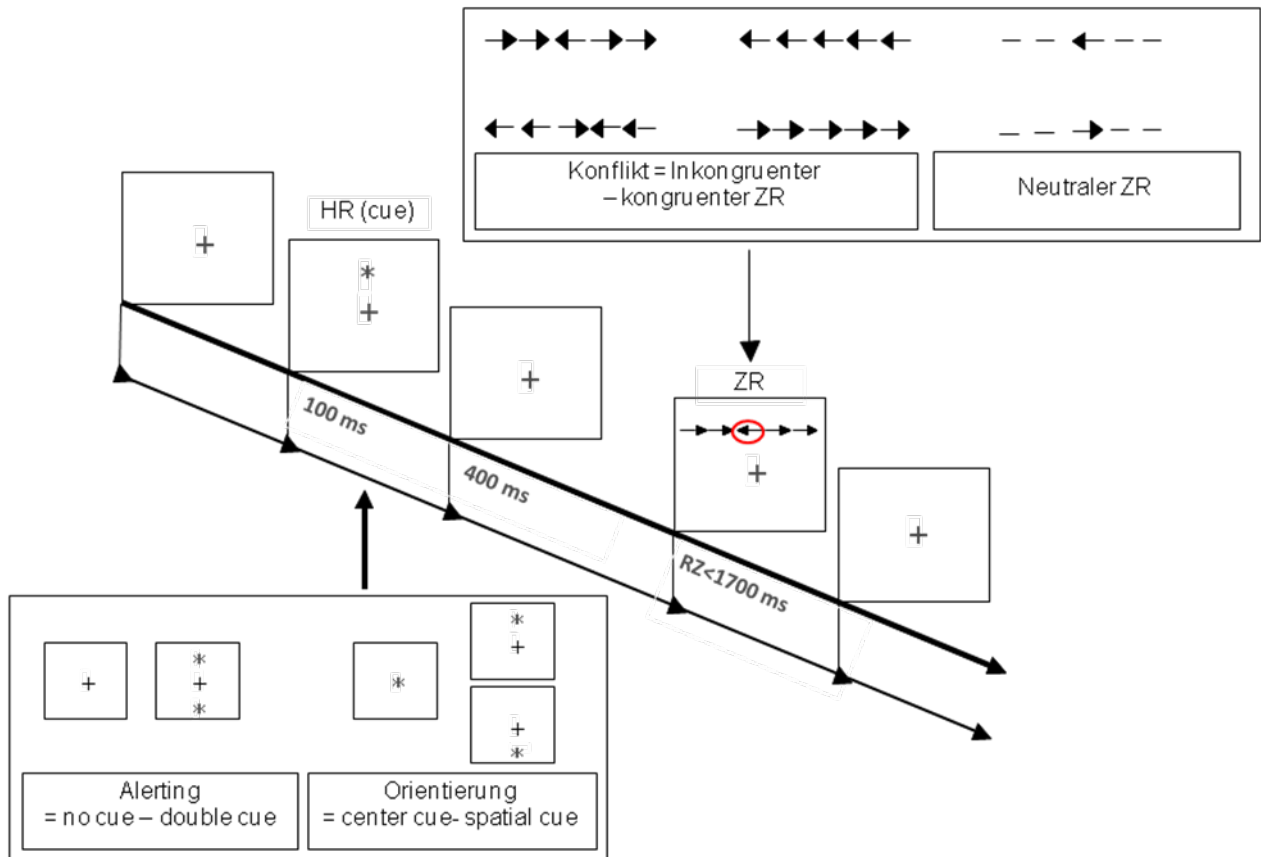


Abbildung 5: ANT: Versuchsaufbau und zeitlicher Ablauf. Dargestellt werden der zeitliche Ablauf des Tests, und die Konfliktzielbedingungen (im Beispiel wird die inkongruente Konfliktbedingung als Zielreiz präsentiert) (modifiziert nach Fan et al., 2005).
Abkürzungen: HR = Hinweisreiz, ZR = Zielreiz, RZ = Reaktionszeit

4.3.1 Das ANT Computer-Testsystem

Die verwendete Hardware bestand aus einem IBM-kompatiblen PC mit einem Intel Pentium-I-Prozessor und einer Taktfrequenz von 200 MHz. Daran angeschlossen waren ein 17" Kathodenstrahl-Röhrenbildschirm, der mit einer Bildwiederholfrequenz von 60 Hz betrieben wurde, sowie eine PS/2-Tastatur. Die eingesetzte Software enthielt ein MS-DOS 5 Betriebssystem (Microsoft Disk Operation System, Version 6.22).

Das ANT-Testprogramm wurde unter der ERTS-Programmumgebung (Experimental Run-Time System, Version 3.37c, hergestellt von BeriSoft Cooperation, Wildenbruchstr. 49, 60431 Frankfurt, Deutschland) gestartet.

4.3.2 Die Zielvariablen des ANT

Die Zielvariablen ergeben sich durch die Differenzberechnung der durchschnittlichen Reaktionszeiten von jeweils zwei verschiedenen Testbedingungen, bei denen in der Regel eine Testbedingung schneller, die andere etwas langsamer bewältigt wird. Die einzelnen Effekte werden folgendermaßen berechnet:

- Alerting-Effekt: Reaktionszeit nach no cue minus Reaktionszeit nach double cue
Orientierungseffekt: Reaktionszeit nach central cue minus Reaktionszeit nach spatial cue
Konflikteffekt: Reaktionszeit nach inkongruenter Bedingung minus Reaktionszeit nach kongruenter Bedingung.

4.4 Genotypisierung und DNA-Extraktion

Um den Einfluss des *COMT* Val^{158/108}Met Polymorphismus auf die inhibitorische Komponente im ANT zu bestimmen, erfolgte eine Entnahme von 20 ml EDTA-Blut vor Beginn der Testung. Die DNA-Extraktion erfolgte durch Aussalzen. Zu je 6 ml des aufgetauten Vollblutes wurden jeweils 40 ml Puffer A (Succhrose, 1M MgCl, Triton-X, 1M Tris-HCl pH 8,0) hinzugefügt. Nach 15-minütiger Lyse bei 4 °C, Abzentrifugieren bei $5 \cdot 10^3$ Umin⁻¹ für 5 min und Verwerfen des Überstandes wurden zu dem Pellet 2 ml Puffer B (1M Tris-Hcl pH 8,0, 0,5M Na-EDTA, 1M NaCl) sowie nach Resuspension 500 µl 5M Natriumperchlorat und 2 ml Chloroform zur Lösung von Lipiden und hydrophoben Proteinen hinzugefügt. Nach erneutem Zentrifugieren über 10 min bei $13 \cdot 10^3$ Umin⁻¹ wurde 1 ml des Überstandes in ein neues Röhrchen überführt und mit 2 ml Isopropanol vorsichtig geschwenkt, um die DNA auszufällen. Das entstandene DNA-Pellet wurde erneut in ein neues Röhrchen überführt und mit 1 ml 80% Ethanol ausgewaschen. Nach kurzem Zentrifugieren wurde der Überstand verworfen und das Pellet getrocknet. Anschließend wurde die DNA vorsichtig in 300 µl Aqua dest. gelöst. Vor Durchführung der Taqman-PCR wurde die DNA-Konzentration in allen Proben photometrisch bestimmt.

4.4.1 TaqMan®-Polymerase-Kettenreaktion

Die Untersuchungen zur Genotypisierung des SNP rs4680 (COMT c.675 G>A, p.Val158Met) wurde im Rahmen einer Kooperation in den Laboren des Max-Delbrück-Zentrums (Gene Mapping Center) in Berlin-Buch in der Arbeitsgruppe von Priv.-Doz. Dr. Thomas Sander durchgeführt. Die Genotypisierung erfolgte mit Hilfe eines TaqMan® 5'-Exonuklease Assays von Applied Biosystems, Roster City, CA, USA (Livak, 1999).

Mit dieser Methode ist es möglich, bekannte Mutationen oder Polymorphismen in wenigen und automatisierten Abläufen zu untersuchen, da in einem einzelnen Arbeitsschritt Amplifikation und Detektion in der Polymerase-Kettenreaktion (PCR), einer sogenannten „Real-time“-PCR, erfolgen können.

Um die spezifischen SNPs zu detektieren, werden zwei allelspezifische Sonden verwendet (bi-allelisches System), die die Untersuchung beider Allele in derselben Probe ermöglichen. Die Sonden bestehen aus Oligonukleotiden, die zur Zielsequenz des zu untersuchenden DNA-Abschnittes komplementär sind. Sie sind jeweils mit einem Reporter-Fluoreszenzfarbstoff (Fluoreszein-Derivat) markiert, dessen Emission durch einen Quencher-Farbstoff (Rhodamin-Derivat) unterdrückt wird, solange Reporter und Quencher an die Sonde binden. Dabei wird der sogenannte „Förster resonance energy transfer“ (FRET) ausgenutzt, indem das Donor-Fluorochrom (Reporter) durch die räumliche Nähe einen Teil seiner Energie an das Akzeptor-Fluorochrom (Quencher) abgibt und somit zunächst nicht fluoresziert. Das 3'-Ende der Sonde wird durch den Quencher blockiert, so dass dieses nicht als Primer während der PCR-Amplifikation dienen kann. Während der PCR hybridisieren zunächst die spezifischen Primer sowie die Fluoreszenz-markierte Sonde an den Matrizenstrang. Bei der folgenden Extension des Gegenstrangs durch die Taq-Polymerase wird die Sonde am 5'-Ende verdrängt. Schließlich wird das Reportermolekül durch die Taq-Polymerase mittels 5'→3'-Exonukleaseaktivität durch Hydrolyse abgespalten. Durch die größere räumliche Trennung vom Quencher, der an die Sonde gebunden bleibt, und somit abnehmenden FRET wird die charakteristische Fluoreszenz des Reporter-Farbstoffes emittiert, deren Menge proportional zur gebildeten PCR-Produktmenge ist.

Die Messung der Fluoreszenz erfolgt am Ende eines jeden Zyklus mit Hilfe eines Lasers, wobei das Messergebnis als ein Streudiagramm ausgegeben wird. Sind Fluoreszenzsignale beider in der Probe enthaltener Farbstoffe messbar, liegt Heterozygotie vor. Ist dagegen nur einer der beiden zugesetzten Farbstoffe erhöht messbar, lässt das den Schluss auf Homozygotie zu. Die Detektion der Fluoreszenz nach jedem PCR-Zyklus ermöglicht die

Quantifizierung der Ausgangsmenge an DNA, indem das Fluoreszenzniveau, das proportional zur Amplifikationsmenge ist, in einer logarithmischen Funktion gegen die benötigte Zyklenzahl dargestellt wird. Dabei wird als Maß der CT-Wert definiert, der für jede cDNA-Probe angibt, bei welcher Zykluszahl in der exponentiellen Phase ein Fluoreszenzniveau erreicht wird, das die Hintergrundfluoreszenz zum ersten Mal messbar übersteigt (Baseline). Zum Vergleich der Expression eines Gens in verschiedenen DNA-Proben kann die relative Expression im Verhältnis zu einem ubiquitär exprimierten Gen, einem sogenannten „Housekeeping-Gen“ wie β -Actin bestimmt werden. Da die Quantifizierung während der Amplifikation erfolgt, ist im Anschluss keine Gelelektrophorese nötig.

Für die vorliegende Untersuchung wurden Sonden und Primer aus vorgefertigten TaqMan® SNP Genotypisierungs-Assays (Assays on Demand) bezogen. Jeder Assay enthielt zwei nicht-gelabelte forward und reverse Primer sowie je eine VIC®-gelabelte Sonde zur Detektion von Allel 1 und eine FAM™-gelabelte Sonde für Allel 2. In einer 384 Well-Titerplatte werden pro Well jeweils 5 ng DNA in einem Gesamtvolumen von 4 μ l amplifiziert, das 2 μ l TaqMan Universal PCR-Mastermix mit AmpliTaq® Gold DNA Polymerase, 0,15 μ l des jeweiligen Assays mit den jeweiligen Primern und Sonden für beide Allele mit VIC- und FAM-Fluoreszenzfarbstoff und 1,85 μ l Aqua dest. enthielt. Nach Abdecken der Platten mit einer Deckmatte findet die Amplifikation in einem vorgeheizten Cycler statt. Im Anschluss an die Amplifikation wurden die Platten kurz zentrifugiert, nach Abziehen der Deckmatte mit TaqMan-Folie beklebt und für 2 Minuten bei $2,4 \cdot 10^3 \text{ Umin}^{-1}$ erneut zentrifugiert. Die Messung der Fluoreszenz zur Ermittlung der vorliegenden Genotypen erfolgte mit dem Prism 7900HT Fast Real-Time PCR System mit der Software SDS 2.1 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

4.5 Statistische Auswertung

Zur Berechnung statistisch signifikanter Unterschiede demographischer Variablen wurden Gruppenvergleiche mit t-Tests für unabhängige Stichproben durchgeführt. Anhand des Pearson Chi-Quadrat (χ^2) Tests wurden nominalverteilte Variablen, wie die Geschlechterverteilung in den beiden Gruppen, auf signifikante Unterschiede untersucht. Die gesunden Probanden des Studienkollektivs wurden den schizophrenen Patienten nicht anhand demographischer Daten wie Geschlecht, Alter, oder Anzahl der Bildungsjahre zugeordnet (sog. *Matching*), so dass diese Faktoren in der statistischen Analyse berücksichtigt wurden.

Für die Berechnung der behavioralen Netzwerkeffekte der Konfliktbedingung, des Alerting und der Orientierung wurde ein univariates Modell (ANOVA bzw. ANCOVA) mit der jeweiligen abhängigen Variable sowie der Gruppenzugehörigkeit und dem Geschlecht als Faktor sowie den Bildungsjahren als Kovariate eingesetzt. Ebenso wurde ein entsprechendes univariates Modell mit der mittleren Reaktionszeit als abhängiger Variable, Gruppenzugehörigkeit und Geschlecht als Faktoren sowie Bildungsjahren als Kovariate berechnet.

Hinsichtlich der Allelfrequenzen wurden Abweichungen vom Hardy-Weinberg Gleichgewicht mittels eines Pearson χ^2 Tests überprüft. Die Assoziation der Allelfrequenzen mit der Erkrankung Schizophrenie wurde im Vergleich zwischen den Gruppen der gesunden Kontrollen und schizophrenen Patienten anhand eines konservativen, Allel-basierten, Cochran-Armitage Trend Test mit einem Freiheitsgrad (1 df) berechnet. Der Cochran-Armitage Trend Test prüft einen Trend für eine binomial verteilte Variable über die Levels einer zweiten kategorialen Variable und eignet sich besonders für die Annahme eines additiven Effekts eines Polymorphismus, wie es für den COMT Val^{108/158}Met Polymorphismus der Fall ist. Die Assoziation der Frequenz der Genotypen (Met/Met Genotyp im Vergleich mit dem Val/Val Genotyp) wurde mit Hilfe eines Pearson χ^2 Tests mit 2 Freiheitsgraden (2 df) berechnet. Aufgrund der geringen Fallzahl wurde für die Berechnungen nicht nach Geschlechtern getrennt. Die Assoziation des Genotyps mit der Erkrankung war nicht Fokus der vorliegenden Untersuchung, da für einen solchen Ansatz die vorliegende Stichprobe nicht genügend statistische Aussagekraft besitzen würde. Hierfür werden Fallzahlen benötigt, die um den Faktor 10 größer als die vorliegenden wären.

Der Effekt des Genotyps auf den Konflikteffekt wurde in mehreren Schritten analysiert. Um Probleme des multiplen Testens zu vermeiden, das die versuchsbezogene Irrtumswahrscheinlichkeit erhöhen und die statistische Aussagekraft der Untersuchung einschränken könnte, beschränkten wir die statistischen Analysen des Einflusses des COMT Val^{108/158}Met Genotyps auf Unterschiede des Konflikteffekts.

Zur Erfassung der Unterschiede des Konflikteffektes zwischen den Gruppen und den unterschiedlichen Genotypen (Val/Val, Val/Met, und Met/Met) führten wir eine univariate Ko-Varianzanalyse (ANCOVA) durch. Dabei können mehrere qualitative Faktoren in ein Modell eingehen, und es kann eine Signifikanzprüfung der Wechselwirkungen der jeweiligen Faktoren erfolgen (Backhaus et al., 2003). Darüber hinaus ist es möglich, zusätzliche quantitative Kovariaten in das Modell zu integrieren, wobei angenommen wird, dass das Merkmal Y linear von den Kovariaten abhängt. Bei der Untersuchung zweier abhängiger

Variablen, wie in der vorliegenden Untersuchung, verwendeten wir multivariate Mittelwertvergleiche. Als Faktoren wurden Genotyp, Gruppenzugehörigkeit und Geschlecht und als Kovariate Bildungsjahre in die Analyse eingefügt. Hinsichtlich von Unterschieden zwischen den Genotypen wurden Kontraste berechnet. Da bezüglich des Alters keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen bestanden, wurde Alter als potentielle Kovariate nicht in die ANCOVA eingefügt.

Die statistische Analyse der Daten erfolgte mit dem Programmsystem *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), Version 15.0 für Microsoft Windows XP®. Die Analysen wurden (trotz teilweise gerichteter Hypothesen) im Sinne einer einheitlichen Auswertung und damit besserer Vergleichbarkeit bis auf den Cochran-Armitage Trend Test zweiseitig durchgeführt. Als Signifikanzniveau wurde ein Wert von $\alpha = 0,05$ festgelegt.

5 ERGEBNISSE

5.1 Demographische und klinische Charakterisierung

5.1.1 Patienten

Es wurden 63 westeuropäische Patienten mit der Diagnose einer paranoiden Schizophrenie gemäß den Kriterien von DSM-IV in die Studie eingeschlossen. Die Patienten-Stichprobe bestand aus 41 Männern und 22 Frauen, das mittlere Alter lag bei 37,5 Jahren ($\pm 10,4$ SD), die mittleren Bildungsjahre bei 12,7 Jahren ($\pm 2,5$ SD). Der prämorbid Intelligenzquotient (IQ), erfasst mit dem MWT-B, betrug im Mittel 104,2 ($\pm 14,93$ SD). Die mittleren Werte der PANSS betragen 14.1 (± 5.9 SD) für die Subskala Positivsymptome, 18.1 (± 7.3 SD) für die Subskala Negativsymptome und 32.5 (± 13.3 SD) für die Subskala Allgemeinsymptome.

Zum Zeitpunkt der Untersuchung erhielten alle Patienten eine antipsychotische Behandlung mit mindestens einem Antipsychotikum. 57 der 63 Patienten wurden mit einem Antipsychotika der zweiten Generation bzw. atypischen Antipsychotikum in üblicher Dosierung behandelt. Die durchschnittlich verabreichte Chlorpromazin-Äquivalenzdosis betrug 224,7 mg CPZ Äquivalente ($\pm 367,9$ SD) und befand sich damit in einem dosisüblichen Bereich (berechnet nach Woods, 2003).

Zusätzlich zu einer antipsychotischen Medikation erhielten acht von 63 Patienten eine psychopharmakologische Behandlung mit einem Antidepressivum in üblicher Dosierung. Tabelle 2 gibt einen detaillierten Überblick über die Medikation der untersuchten Patienten unterteilt nach typischen und atypischen Antipsychotika, Kombinationstherapien, Antidepressiva und stimmungstabilisierenden Medikamenten.

Tabelle 2: Medikation der schizophrenen Patienten

Wirkstoff	Handelsname	Anzahl Patientenverordnungen
Atypische Antipsychotika		
Amisulprid	Solian®	8
Aripiprazol	Abilify®	3
Olanzapin	Zyprexa®	15
Clozapin	Leponex®	18
Risperidon	Risperdal®	15
Quetiapin	Seroquel®	3
Ziprasidon	Zeldox®	1
Typische Antipsychotika		
Fluphenazin	Lyogen®	2
Haloperidol	Haldol®	1
Flupentixol	Fluanxol®	3 (davon 2 x Depotmedikation)
Kombinationstherapie mit Atypikum		
mit Amisulprid	Solian®	3
mit Aripiprazol	Abilify®	1
mit Clozapin	Leponex®	4
mit Quetiapin	Seroquel®	1
mit Risperidon	Risperdal®	3
Antidepressiva		
Citalopram	Cipramil®	1
Escitalopram	Cipralex®	2
Paroxetin	Paroxat®	5
Stimmungsstabilisatoren		
Carbamazepin	Tegretal®	1
Lithiumsalze	Quilonum®	1
Valproat	Ergenyl®	1

5.1.2 Gesunde Kontrollpersonen

Als Vergleichsgruppe wurden 40 gesunde Kontrollpersonen gemäß den Einschlusskriterien in die Studie aufgenommen. Die Kontrollgruppe bestand aus 27 Männern und 13 Frauen, das mittlere Alter lag bei 34,6 Jahren ($\pm 9,8$ Jahre), die mittleren Bildungsjahre betragen 14,3 Jahre ($\pm 2,3$ Jahre). Der bildungsabhängige IQ (MWT-B) betrug im Mittel 114,4 ($\pm 16,6$). Einen Überblick der Charakterisierung gibt die Tabelle 3.

Tabelle 3: Klinische Charakterisierung von schizophrenen Patienten und gesunden Kontrollpersonen

	SZP	GP	Signifikanz
N Gesamt	63	40	-
weiblich/männlich	22 / 41	13 / 27	n.s. ^a
links-/rechtshändig/ ambidexter	6 / 55 / 2	3 / 35 / 2	n.s. ^a
Alter [Jahre]	37.5 (± 10.4)	34.6 (± 9.8)	n.s. ^b
Bildung [Jahre]	12.7 (± 2.5)	14.3 (± 2.3)	.002 ^b
MWT-IQ	104.2 (± 14.9)	114.4 (± 16.6)	.002 ^b
LPS-3	21.7 (± 6.2)	27.4 (± 5.5)	<.001 ^b
CPZ-Äquivalentdosis im mg	224,7 ($\pm 367,9$)	-	-
DOI [Monate]	85.8 (± 91.2)	-	-
PANSS pos.	14.1 (± 5.9)	-	-
PANSS neg.	18.1 (± 7.3)	-	-
PANSS gen.	32.5 (± 13.3)	-	-

Abkürzungen: SZP = schizophrene Patienten; GP = gesunde Probanden; MWT-IQ = Prämorbiditer verbaler Intelligenzquotient gemessen mit dem Mehrfachwortschatztest-B3; DOI = duration of illness gemessen als Summe der Krankheitsmonate seit Krankheitsbeginn, PANSS pos. = PANSS Positiv-Syndrom-Subskala, PANSS neg. = PANSS Negativ-Syndrom-Subskala, PANSS gen.= PANSS Allgemein-Syndrom-Subskala; n.s. = nicht signifikant; ^a = χ^2 -Test; ^b = t-Test.

Der t-Test, der zunächst auf die demographischen Daten der zwei Untersuchungsgruppen angewendet wurde, zeigte signifikante Unterschiede bezüglich des verbalen, fluiden Intelligenzniveaus und bezüglich der Anzahl der Bildungsjahre zwischen den Gruppen. Im Gegensatz hierzu bestanden keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich des Alters und der Händigkeit. Die Analyse der nominalverteilten Variable Geschlecht mit dem χ^2 -Test ergab keine signifikanten Unterschiede in der Geschlechtsverteilung zwischen den Gruppen.

5.2 Behaviorale Ergebnisse

Die mittlere Reaktionszeit der SZP war mit 644.8 ms (± 130.3 ms) signifikant länger als bei den GP, die lediglich eine mittlere Reaktionszeit von 561.3 ms (± 84.6 ms) aufwiesen ($T(101) = -3,956$; $p = 0,001$). Die Ergebnisse der beiden Gruppen hinsichtlich der Netzwerkeffekte sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

Tabelle 4: Mittlere Reaktionszeiten und Alerting-, Orientierungs- und Konflikteffekte im ANT in Abhängigkeit von Gruppe und Geschlecht

	SZP (N = 63)			GP (N = 40)			Signifikanz
	Männer MW (SD)	Frauen MW (SD)	gesamt MW (SD)	Männer MW (SD)	Frauen MW (SD)	gesamt MW (SD)	
RZ [ms]	613.4 ($\pm 104.$)	703.4 (± 154.9)	644.8 (± 130.3)	539.5 (± 78.8)	606.6 (± 80.7)	561.3 (± 84.6)	0.001
Alerting	33.9 (± 40.7)	40.2 (± 49.8)	36.1 (± 43.8)	33.9 (± 24.0)	39.2 (± 22.2)	35.7 (± 23.3)	n.s.
Orientierung	56.6 (± 37.1)	57.1 (± 32.3)	56.8 (± 35.2)	52.9 (± 25.5)	37.7 (± 26.5)	47.9 (± 26.5)	n.s.
Konflikt	81.4** (± 37.1)	112.0 (± 63.2)	92.1 (± 49.5)	104.1 (± 69.4)	110.1 (± 34.4)	106.1 (± 59.9)	n.s.

Abkürzungen: SZP = Schizophrene Patienten, GP = Gesunde Probanden, RZ = Reaktionszeit, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, Alerting = Alerting-Effekte, Orientierung = Orientierungseffekte, Konflikt = Konflikteffekte, n.s. = nicht signifikant. ** signifikant reduzierter Konflikteffekt bei männlichen im Vergleich zu weiblichen schizophrenen Patienten ($T(61) = 2,427$; $p = 0,018$).

Schizophrene Patienten zeigten zudem mit 92.1 ms (± 49.5 ms) einen geringeren Konflikteffekt als die gesunden Kontrollpersonen mit 106.1 ms (± 59.9 ms), der jedoch statistisch nicht signifikant war. Die Patienten zeigten dabei den niedrigsten Konflikteffekt, die Patientinnen den höchsten. Die Netzwerkeffekte Alerting und Orientierung und die Gesamtfehlerrate zwischen den Gruppen zeigten ebenfalls keine statistische Signifikanz. Die nachfolgenden Abbildungen 6 und 7 stellen den Reaktionszeitverlauf der gesunden Kontrollpersonen (Abb. 6) und Patienten (Abb. 7) als Funktion von Hinweis- und Zielreizen dar. In Abbildung 8 wird der signifikant unterschiedliche Reaktionszeitverlauf der gesunden Kontrollpersonen und Patienten als Funktion der Zielreize dargestellt. Abbildung 9 stellt darüber hinaus Gesamtfehlerrate der gesunden Kontrollpersonen und Patienten in Abhängigkeit vom Zielreiz dar. In allen Abbildungen entspricht der Fehlerbalken dem *standard error of the mean*.

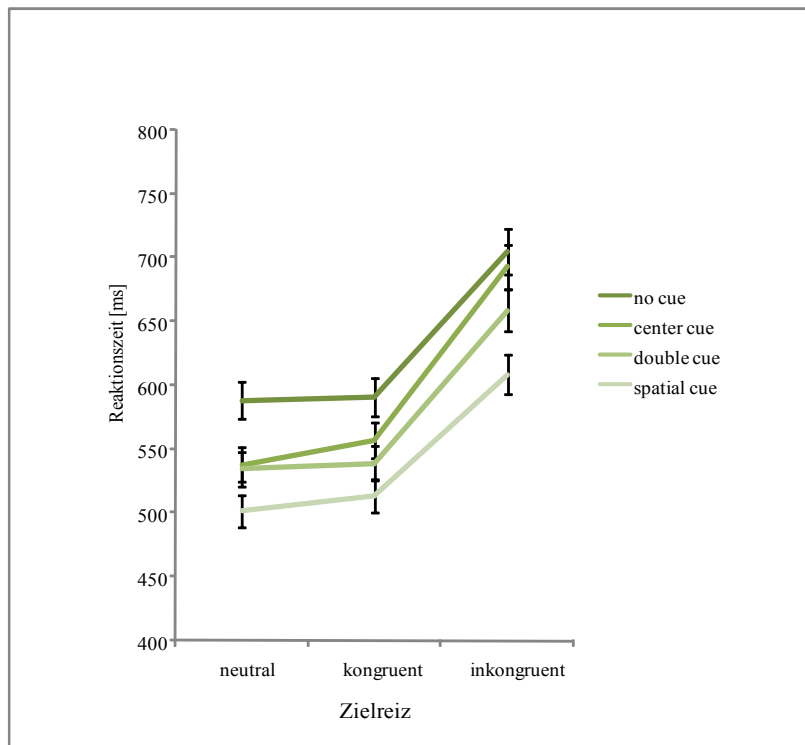


Abbildung 6: Reaktionszeitverlauf der Kontrollpersonen als Funktion von Hinweis- und Zielreizen

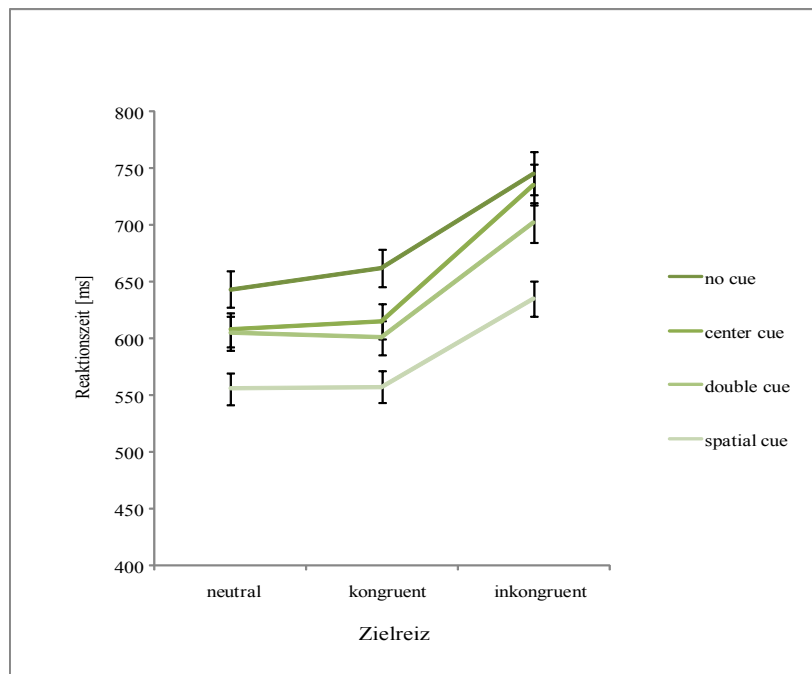


Abbildung 7: Reaktionszeitverlauf der Patienten als Funktion von Hinweis- und Zielreizen

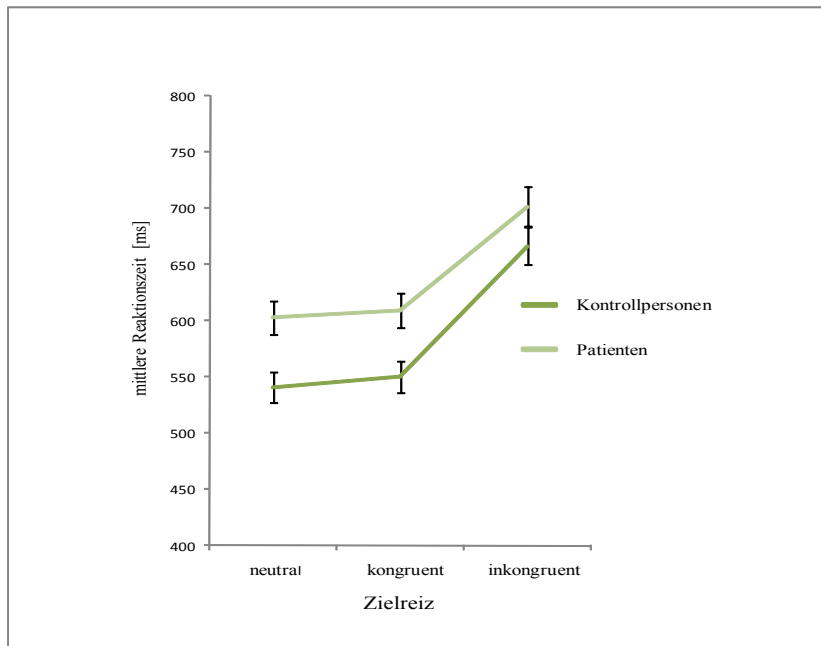


Abbildung 8: Mittlerer Reaktionszeitverlauf der Kontrollpersonen und Patienten als Funktion der Zielreize. (Die gemittelte Reaktionszeit aller Zielreize ist signifikant unterschiedlich zwischen den Gruppen (siehe Tabelle 4))

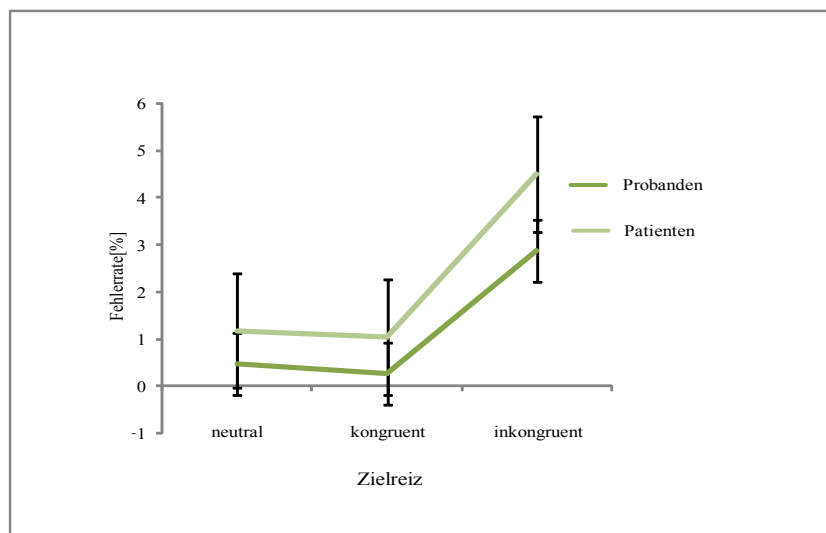


Abbildung 9: Gesamtfehlerrate der Kontrollpersonen und Patienten in Abhängigkeit vom Zielreiz

5.3 Allelfrequenzen und Genotypverteilungen

Die Val^{108/158}Met Allelfrequenzen zeigten weder in der Kontrollgruppe (Pearson χ^2 , $p = 0,599$) noch in der Gruppe der schizophrenen Patienten (Pearson χ^2 , $p = 0,461$) Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht, sodass Fehlbestimmungen im Rahmen der Genotypisierung als unwahrscheinlich anzunehmen sind. Die Analyse der Assoziation der Allelfrequenzen mit dem Merkmal Schizophrenie zeigte für das Met-Allel nach Berechnung mit dem Allel-basierten Cochran-Armitage Trend Test eine signifikant erhöhte Frequenz in der Gruppe der schizophrenen Patienten ($p = 0,038$); dies wird in Tabelle 5 dargestellt. Der Met/Met Genotyp zeigte im Vergleich mit Val/Val Genotypen nach Berechnung mit dem Pearson χ^2 Test eine signifikant erhöhte Frequenz in der Gruppe der schizophrenen Patienten ($p = 0,012$), wie bezüglich der Genotypfrequenzen in Tabelle 6 dargestellt wird.

Tabelle 5: Allelfrequenzen für den *COMT* Val^{158/108}Met Polymorphismus bei schizophrenen Patienten und gesunden Kontrollpersonen.

Gruppe	Val-Allel	Met-Allel	Signifikanz
SZP (%)	56 (44.4)	70 (55.6)	p = 0,038
Männlich (%)	36 (28.6)	46 (36.5)	
Weiblich (%)	20 (15.8)	24 (19.1)	
GP (%)	47 (58.7)	33 (41.3)	
Männlich (%)	30 (37.4)	24 (30,0)	
Weiblich (%)	17 (21.3)	9 (11.3)	

Abkürzungen: SZP = Schizophrene Patienten; GP = Gesunde Kontrollpersonen.

Tabelle 6: Genotypverteilung für den *COMT* Val^{158/108}Met Polymorphismus bei schizophrenen Patienten und gesunden Kontrollpersonen.

Gruppe	Val/Val	Val/Met	Met/Met	Signifikanz
SZP (%)	11 (17.5)	34 (54)	18 (28.5)	p = 0,012
Männlich (%)	6 (14.6)	24 (58.5)	11 (26.8)	
Weiblich (%)	5 (22.7)	10 (45.5)	7 (31.8)	
GP (%)	13 (32.5)	21 (52.5)	6 (15)	
Männlich (%)	8 (29.6)	14 (51.9)	5 (18.5)	
Weiblich (%)	5 (38.5)	7 (53.8)	1 (7.7)	

Abkürzungen: SZP = Schizophrene Patienten, GP = Gesunde Kontrollpersonen.

5.4 Einfluss des *COMT* Val^{158/108}Met Polymorphismus auf die mittlere Reaktionszeit

Die univariate Ko-Varianzanalyse erbrachte signifikante Haupteffekte für die Faktoren Gruppe ($p = 0,003$) und Geschlecht ($p = 0,004$), jedoch nicht für den Faktor Genotyp oder die Kovariate Bildungsjahre. Die Interaktionen zwischen den einzelnen Faktoren erbrachten keinen signifikanten Effekt auf die mittlere Reaktionszeit. Ein Einfluss des *COMT* Val^{108/158}Met Genotyps auf die mittlere Reaktionszeit war demnach nicht nachweisbar.

5.5 Einfluss des *COMT* Val^{158/108}Met Polymorphismus auf Inhibition

Der Konflikteffekt wies signifikante Unterschiede hinsichtlich der Faktoren Gruppe ($p = 0,015$) und Genotyp ($p = 0,028$) auf, nicht jedoch bezüglich deren Interaktionen; ebenso war der Einfluss der Bildungsjahre nicht signifikant. Der Faktor Geschlecht zeigte einen Trend in Richtung eines signifikanten Unterschiedes ($p = 0,077$); Frauen wiesen dabei einen höheren Konflikteffekt als Männer auf. In der Betrachtung der Abhängigkeit vom *COMT* Val^{108/158}Met Genotyp war der Einfluss des Geschlechts auf den Konflikteffekt vor allem bei gesunden weiblichen und männlichen Kontrollpersonen nachweisbar, wobei gesunde homozygote *COMT*^{Met} Individuen jeweils den größten Konflikteffekt aufwiesen (siehe Tabelle 7).

Tabelle 7: Mittlere Konflikteffekte in Abhängigkeit vom *COMT* Val^{108/158}Met Genotyp, Gruppe und Geschlecht.

	Val/Val		Val/Met		Met/Met	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD
GP weiblich	99.8	(±17.2)	107.1	(±34.7)	182.2	(*)
GP männlich	90.0	(±20.1)	91.8	(±25.0)	161.0	(±153.6)
SZP weiblich	104.7	(±55.4)	101.7	(±41.8)	132.1	(±92.8)
SZP männlich	56.7	(±32.9)	91.5	(±38.3)	73.1	(±29.9)

Abkürzungen: GP = Gesunde Kontrollpersonen, SZP = Schizophrene Patienten, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung * nicht anwendbar (N = 1).

Der *COMT* Val^{108/158}Met Genotyp zeigte in den Kontrastberechnungen, dass *COMT*^{Met/Met} homozygote Individuen signifikant unterschiedliche Konfliktwerte im Vergleich zu *COMT*^{Val/Val} homozygoten Individuen ($p = 0,008$) und zu heterozygoten Individuen ($p = 0,031$). Dieser Einfluss wird in Abbildung 10 dargestellt:

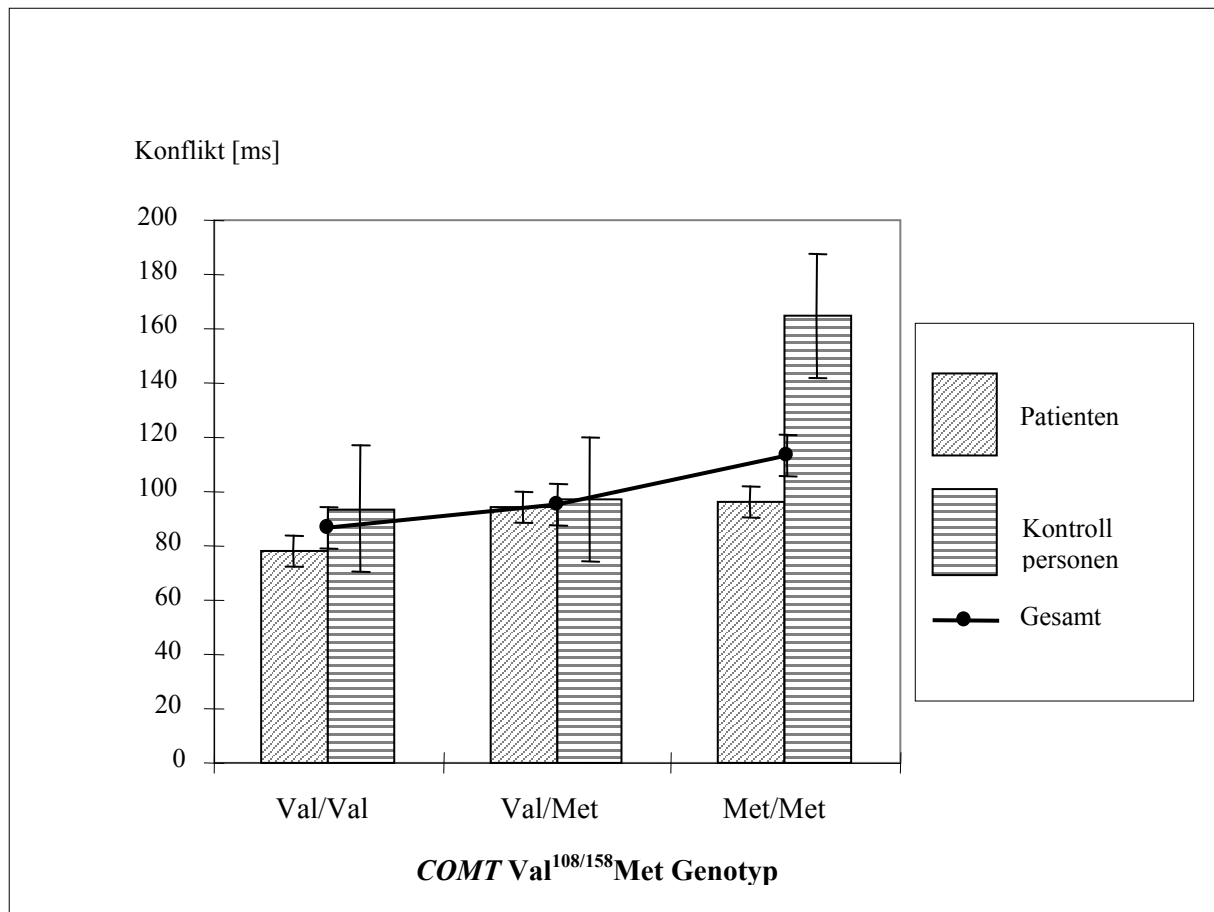


Abbildung 10: Einfluss des *COMT* Val^{108/158}Met Genotyps auf die Höhe des Konflikteffektes bei schizophrenen Patienten, Kontrollpersonen und im Gesamtkollektiv.

Abkürzungen: Gesamt = Konflikteffekt der Individuen nach Genotyp, Konflikt = mittlerer Konflikteffekt in ms

Eine nach diagnostischen Gruppen getrennte univariate Ko-Varianzanalyse mit den Faktoren Geschlecht und Genotyp sowie der Kovariate Bildungsjahre zeigte bei gesunden Kontrollpersonen für den Genotyp signifikante Effekte in den Kontrastberechnungen Val/Val vs. Met/Met ($p = 0,024$) und Val/Met vs. Met/Met ($p = 0,047$). Dasselbe statistische Modell zeigte für schizophrene Patienten keine signifikanten Kontraste für Genotypeneffekte Val/Val vs. Met/Met ($p = 0,234$) und Val/Met vs. Met/Met ($p = 0,699$).

Der Einfluss des *COMT* Val^{108/158}Met Genotyps war bei weiblichen Schizophrenen Teilnehmern vergleichbar gegenüber gesunden Kontrollpersonen und unabhängig vom Geschlecht ausgeprägt. Bei männlichen Schizophrenen war dieser Einfluß vorhanden, (siehe Abbildung 11). Die Interaktion zwischen den Faktoren Geschlecht und Gruppe wurde nicht signifikant.

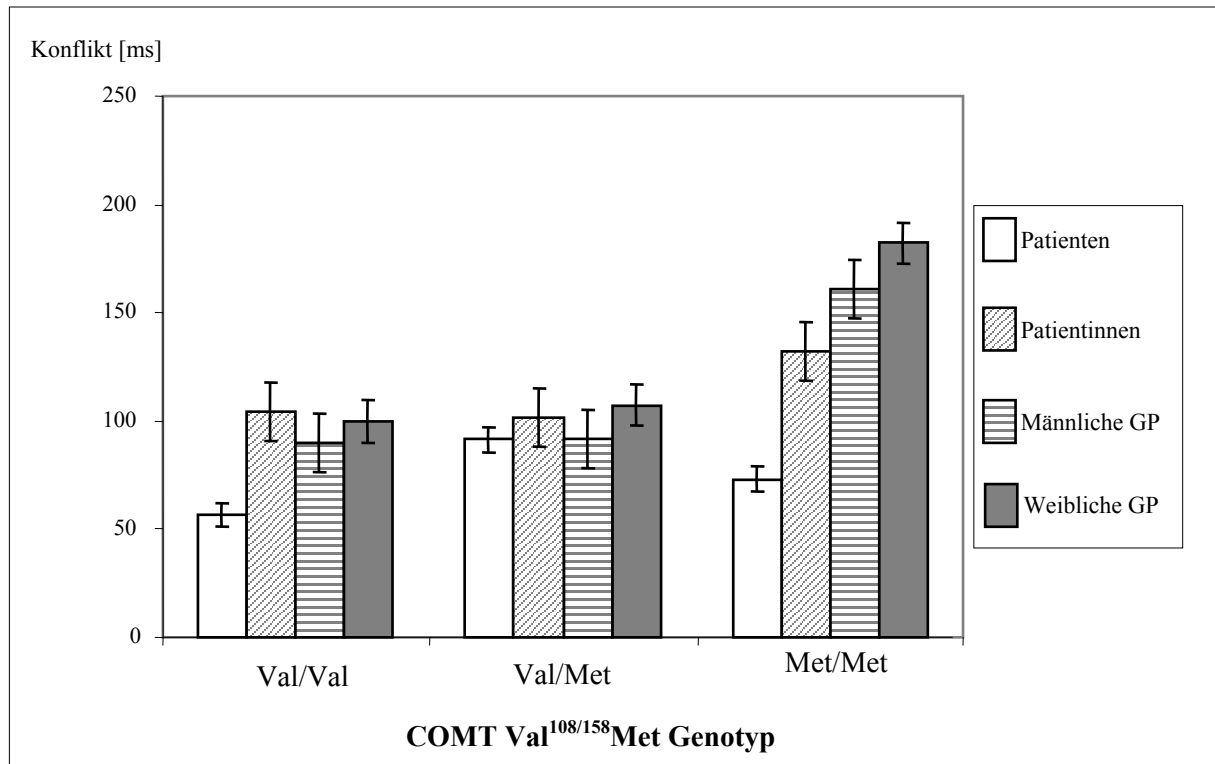


Abbildung 11: Einfluss des *COMT* Val^{108/158}Met Genotyps auf den Konflikteffekt bei männlichen und weiblichen Patienten sowie bei männlichen und weiblichen Kontrollpersonen (GP).

6 DISKUSSION

6.1 Zusammenfassung der zentralen Ergebnisse

Die vorliegende Promotionsschrift untersuchte den Zusammenhang zwischen Reaktionszeit, behavioralem Konflikteffekt im Attention Network Test und dem genetischen Polymorphismus Val 158 Met des *COMT*-Gens bei schizophrenen Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen. Die zentralen Ergebnisse dieser Untersuchung sind:

- 1) eine signifikant verlängerte Gesamtreaktionszeit bei schizophrenen Patienten;
- 2) ein signifikant verringerter Konflikteffekt bei männlichen schizophrenen Patienten;
- 3) eine signifikant erhöhte Met-Allelfrequenz bei schizophrenen Patienten;
- 4) eine signifikant erhöhte Met/Met-Genotypfrequenz bei schizophrenen Patienten;
- 5) signifikante Effekte für die Variablen Gruppe und Geschlecht auf die Reaktionszeit;
- 6) ein signifikant erhöhter behavioraler Konflikteffekt für homozygote $COMT^{Met}$ -Träger;
- 7) ein signifikanter Gen-Dosis-Effekt von *COMT* auf den Konflikteffekt bei gesunden Kontrollpersonen

6.2 Diskussion der Ergebnisse

6.2.1 Reaktionszeit

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen einen hoch signifikanten Unterschied bezüglich der Gesamtreaktionszeit beim ANT zwischen schizophren Erkrankten und gesunden Kontrollpersonen. Daher kann die Hypothese H_{01} , die von nicht nachweisbaren Unterschieden in der Gesamtreaktionszeit zwischen gesunden Kontrollen und schizophrenen Patienten ausging, verworfen und die Hypothese I angenommen werden.

Die erhöhte Gesamtreaktionszeit schizophrener Erkrankter spiegelt eine globale Einschränkung von Aufmerksamkeit wider, und wurde mehrfach in früheren anderen Untersuchungen kognitiver Paradigmen (Erlenmeyer-Kimling und Cornblatt, 1992) und für den ANT im Besonderen vorbeschrieben (Wang et al., 2005).

6.2.2 Effekte im inhibitorischen Netzwerk

Auf behavioraler Ebene zeigten schizophrene Patienten zwar mit 92.1 ms einen niedrigeren Konflikteffekt als die gesunden Probanden (106.1 ms), jedoch war dieser Unterschied statistisch nicht signifikant. Daher kann die Hypothese H0₂, die keine Unterschiede der behavioralen Inhibition zwischen gesunden Kontrollen und schizophrenen Patienten postulierte, nicht verworfen werden. Die Hypothese II, die aufgrund theoretischer Überlegungen von einer erhöhten behavioralen Inhibition innerhalb des Aufmerksamkeitsnetzwerks für Konflikt bei schizophrenen Patienten ausging, kann nicht bestätigt werden.

Interessanterweise zeigten männliche schizophrene Patienten den niedrigsten Konflikteffekt; der sich im t-Test signifikant von dem Konflikteffekt schizophrener Patientinnen unterschied. Das Ausmaß des Konflikteffektes bei den männlichen Schizophrenen zeigte hierbei keine Korrelation mit den gemessenen Fehlern während der Bearbeitung des ANT. Die Reduktion des Konflikteffekts bei den männlichen schizophrenen Patienten lässt sich daher auch nicht auf das Prinzip eines „*speed-accuracy-trade-off*“, das im Allgemeinen eine verbesserte Schnelligkeit auf Kosten der Korrektheit von Antworten beschreibt, zurückführen.

Der in dieser Untersuchung festgestellte reduzierte Konflikteffekt bei den schizophrenen Patienten kontrastiert zunächst die Untersuchungen über die inhibitorischen Leistungen schizophrener Patienten im ANT von Wang und Mitarbeitern (2005). Diese Studie zeigte höhere Konflikteffekte bei Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen auf. Eine mögliche Erklärung für diese Inkonsistenz könnte in der Geschlechterverteilung der beiden untersuchten Patientenkollektive liegen. Während Wang und Mitarbeiter mit 46 Frauen und 31 Männern deutlich mehr weibliche als männliche schizophrene Patienten untersucht hatten, findet sich in unserem Kollektiv eine gleichrangige Geschlechtsverteilung sowohl bei den Patienten als auch bei den gesunden Kontrollpersonen. Wang und Mitarbeiter untersuchten die Leistungen der Kollektive nicht nach Geschlechtern getrennt.

Der in der vorliegenden Promotionsschrift beschriebene generell reduzierte Konflikteffekt Schizophrener lässt sich vorwiegend auf den reduzierten Konflikteffekt bei den männlichen schizophrenen Patienten zurückführen. Passend hierzu wurde ein reduzierter Konflikteffekt bei schizophren Erkrankten von Nestor und Mitarbeitern (2006) beschrieben; interessanterweise wurden in dieser Untersuchung ausschließlich männliche Schizophrene untersucht und mit männlichen gesunden Probanden verglichen.

Geschlechtseffekte bei Abfrage des exekutiven Netzwerkes im ANT wurden von unserer Arbeitsgruppe vor kurzem auch in einem weiteren, kleinen, sorgfältig gematchten Kollektiv beschrieben (Urbanek et al., 2009). Hierbei zeigten sich, ähnlich wie in der vorliegenden Promotionsschrift, ein reduzierter Konflikteffekt bei schizophrenen Patienten sowie ein erhöhter Konflikteffekt bei schizophrenen Patientinnen. Hinsichtlich des hypostasierten behavioralen Konflikteffektes könnte daher eine geschlechtsspezifische Dissoziation vorliegen.

Der zunächst kontraintuitive Befund eines verringerten Konflikteffektes bei männlichen schizophrenen Patienten wirft dennoch die Frage nach anderen Untersuchungen auf, die auf spezifische Effekte von Reizinkongruenz auf die gemessene Reaktionszeit fokussierten und erforschten ob Funktionen der Konfliktverarbeitung inkongruenter Reize bei schizophrenen Patienten möglicherweise erhalten sein könnten. Tatsächlich gibt es Untersuchungen, die bei schizophrenen Patienten keine erhöhten Interferenzeffekte im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen gemessen haben (Barch et al., 1999; Salo et al., 1996). Ähnlich wie in der Arbeit konnten diese Befunde in den sich anschließenden Untersuchungen ebenso wenig durch erhöhte Fehlerraten im Sinne eines „*speed-accuracy-trade-off*“ erklärt werden (Barch et al., 2004). Eine weitere Studie, die semantische anstelle visueller Reize verwendete, demonstrierte, dass schizophrene Patienten inkongruente Reizinformation in vergleichbarer Weise wie gesunde Kontrollpersonen durch kognitive Kontrolle verarbeiten können (Cohen et al., 2005). In einer Studie, die Paradigmen selektiver Aufmerksamkeit und erlernter Unaufmerksamkeit untersuchte, wurde gezeigt, dass schizophrene Patienten eine niedrigere relative Reaktionszeiterhöhung aufwiesen, wenn sie mit widersprüchlichen Information bezüglich eines Reizes über seine Relevanz oder Irrelevanz in der gegebenen Aufgabe konfrontiert wurden. Die „Ablenkbarkeit“ der schizophrenen Patienten, die durch die Unfähigkeit reflektiert wird, einen wiederholt als irrelevant präsentierten Reiz zu ignorieren, zeigte sich dann als vorteilhaft, wenn es in der Aufgabe darum ging, eine Konfliktbedingung, die durch widersprüchliche Reizinformation entsteht, zu ignorieren. Das heißt, schizophrene Patienten zeigten bei solchen Aufgaben aufgrund einer möglicherweise krankheitsassoziierten Unaufmerksamkeit niedrigere Inhibitionseffekte bezüglich des Reizes und im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen keine erhöhten Reaktionszeiten nach Reizpräsentationen die eine Konfliktbedingung enthielten (Bender et al., 2006).

Hinsichtlich der Konfliktverarbeitungsstrategien im ANT wurde auch diskutiert, dass der bei schizophrenen Patienten gemessene reduzierte Konflikteffekt eine mangelnde Tiefe der perzeptionellen Encodierung von Reizen und deren Verarbeitung reflektiert. Diese sei somit

unabhängig vom Distraktoren- oder Zielreiz-Status, und auch unabhängig von Interferenzeffekten des jeweiligen Reizes (Kubicki et al., 2003).

Zusammenfassend müssen an dieser Stelle der Geschlechtsdimorphismus schizophrener Patientinnen und Patienten hinsichtlich des Konflikteffektes herausgehoben, sowie die Notwendigkeit weiterer Untersuchungen hinsichtlich dieses Geschlechtseffektes unterstrichen werden.

6.2.3 Allelfrequenzen und Genotypverteilungen

Die Allelfrequenzen *COMT* Val^{158/108}Met Polymorphismus zeigten in beiden Gruppen keine signifikanten Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht. Die Analyse der Allelfrequenzen zeigte für das Met-Allel eine signifikant erhöhte Frequenz in der Gruppe der schizophrenen Patienten. Auch die Analyse des Genotyps zeigte für den Met/Met Genotyp im Vergleich zum Val/Val Genotypen eine signifikant erhöhte Frequenz in der Gruppe der schizophrenen Patienten. Die Assoziation des Genotyps mit der Erkrankung war zwar nicht Gegenstand der vorliegenden Untersuchung, soll jedoch hier aufgrund dieses signifikanten Ergebnisses kurz diskutiert werden.

Da *COMT* eine wichtige funktionale Rolle in der Modulation präfrontaler Dopaminsysteme besitzt und da das hochaktive Val-Allel im *COMT* Val^{158/108}Met Polymorphismus theoretisch zu einem relativen kortikalen Dopaminmangel führen könnte, wurde dieses Allel in einer älteren Untersuchung als Risikogen für eine schizophrene Erkrankung angesehen (Egan et al., 2001). In Linkagestudien, die das gesamte Genom umfassten, wurde die Region des *COMT*-Gens auf Chromosom 22q11 ebenfalls mit einem erhöhten Risiko, an einer Schizophrenie zu erkranken, in Verbindung gebracht (Badner et al., 2002; Lewis et al., 2003). Neuere Metaanalysen konnten jedoch keine direkte Assoziation zwischen genetischen Varianten im *COMT* Val^{158/108}Met Polymorphismus und einer diagnostizierten Schizophrenie nachweisen (Tomo et al., 2009).

Anzumerken ist, dass sich in dieser mittels Linkagestudien identifizierten chromosomalen Kandidatenregion neben *COMT* verschiedene andere potentielle Kandidatengene wie beispielsweise *Prolin-Dehydrogenase (PRODH)* oder *zinc finger and Asp-His-His-Cys domain-containing protein 8 (ZDHHC8)* befinden, wobei es keine sicheren Hinweise dafür gibt, dass *COMT* den stärksten Einfluss ausübt (Owen et al., 2005).

6.2.4 Assoziation der Allele mit dem behavioralen Konflikteffekt

Bei der Analyse des Einflusses der Allele des *COMT* Val^{108/158}Met Genotyps auf den behavioralen Konflikteffekt zeigten Kontrastberechnungen, dass Individuen, die für *COMT*^{Met} homozygot waren, unabhängig von ihrer diagnostischen Zuordnung signifikant unterschiedliche Konfliktwerte im Vergleich zu *COMT*^{Val} homozygoten Individuen und zu heterozygoten Individuen aufwiesen, wobei die Gruppe der homozygoten *COMT*^{Met} Individuen den höchsten Konflikteffekt zeigten. Die Hypothese H0₃, die hinsichtlich des Konflikteffektes keine Unterschiede zwischen homozygoten *COMT*^{Met} Individuen und homozygoten *COMT*^{Val} Individuen postulierte, kann deshalb verworfen und die Hypothese III, die aufgrund der theoretischen Vorüberlegungen von einem erhöhten Konflikteffekt von homozygoten *COMT*^{Met} Individuen gegenüber homozygoten *COMT*^{Val} Individuen ausging, angenommen werden.

Zur Unterscheidung einer etwaigen Abhängigkeit des Gen-Dosis-Effektes der behavioralen Inhibition zwischen den diagnostischen Gruppen wurden univariate Ko-Varianzanalysen für die beiden Gruppen getrennt durchgeführt. Nur bei den gesunden Kontrollpersonen waren hinsichtlich des Genotyps signifikante Effekte in den Kontrastberechnungen (Val/Val vs. Met/Met sowie Val/Met vs. Met/Met) nachzuweisen. Die Anwendung desselben statistischen Modells zeigte dagegen für schizophrene Patienten keine signifikanten Gen-Dosis-Effekte. Der in dieser Arbeit gemessene, signifikant erhöhte Konflikteffekt homozygoter Met-Allelträger ist daher nicht als diagnoseunabhängig einzustufen und beruht statistisch signifikant auf dem deutlichen Effekt der inkludierten gesunden Kontrollpersonen.

In einer weiteren post hoc-Analyse wurde der differentielle Einfluss von Geschlechtseffekten auf die behaviorale Inhibitionsleistung untersucht (Opgen-Rhein et al., 2008). Hier war der Einfluss des *COMT* Val^{108/158}Met Genotyps bei schizophrenen Patientinnen und gesunden Kontrollpersonen unabhängig vom Geschlecht vergleichbar stark ausgeprägt, jedoch bei schizophrenen männlichen Teilnehmern nicht nachweisbar. In der vorliegenden Promotionsschrift zeigte sich jedoch die Interaktion zwischen den Faktoren Geschlecht und Gruppe statistisch nicht signifikant. Auf weitere post hoc-Analysen zu einer nach Geschlechtern getrennten Berechnung des Einflusses des Genotyps auf den Konflikteffekt wurde angesichts der teils sehr geringen Zellengröße (siehe Tabelle 6) verzichtet.

6.3 Invertierte U-Funktion des präfrontalen Dopamins

Basierend auf elektrophysiologisch erhobenen Daten bei gesunden Kontrollpersonen schlugen Durstewitz und Seamans (2008) in einer integrativen Weiterentwicklung des Modells der tonisch-phasischen Dopaminfreisetzung (Bilder et al., 2004) und der „Dual-State Theorie“ der dopaminergen Modulation am DRD1 von Williams und Goldman-Rakic (1995) vor, die Funktionsmodi der präfrontalen Netzwerke mit ihren jeweiligen Vor- und Nachteilen durch ein Kontinuum ihrer jeweils vorherrschenden DRD1- bzw. DRD2-Aktivierung bzw. der DRD1/DRD2 Ratio zu erklären. Nach diesem Modell folge die jeweilige DR-Aktivierung abhängig von der vorhandenen DA-Konzentration einem umgekehrt U-förmigen Zusammenhang, ähnlich des bereits durch Meyer-Lindenberg und Weinberger (2006) postulierten umgekehrt U-förmig verlaufenden Zusammenhangs zwischen präfrontaler Dopaminkonzentration und kognitiver Leistungsfähigkeit. Bei sehr hohen oder sehr niedrigen DA-Konzentrationen liegt demnach eher ein „D2-State“ vor, der eine erhöhte kognitive Flexibilität und damit bessere Inhibitionsleistung (geringerer Konflikteffekt) ermöglichen soll während bei mittlerer DA-Konzentration vorrangig die DRD1 aktiviert sind, die hinsichtlich einer Inhibitionsaufgabe eher eine verminderte Leistung (erhöhter Konflikteffekt) erwarten lassen. In einer kürzlich erschienen Arbeit konnte dieses theoretische Modell in präfrontalen D1-Neuronen bei Primaten in vivo gemessen und in verschiedenen Folgeuntersuchungen unter Verwendung dopaminergener Agonisten und Antagonisten elektrophysiologisch verifiziert werden (Vijayraghavan et al., 2007).

Überträgt man die erhobenen Befunde des *COMT* Val^{158/108}Met Polymorphismus auf dieses Modell herrscht bei Val-Allelträgern aufgrund einer niedrigeren DA-Konzentration im präfrontalen Kortex ein *D2-State* vor (linke Seite der umgekehrten U-Kurve), während die niedrigaktiveren Met-Allelträger aufgrund einer moderaten DA-Konzentration näher an einem *D1-State* (mittlerer Bereich der umgekehrten U-Kurve) liegen. Durch Anwendung dieses Modells lassen sich die Ergebnisse der vorliegenden Promotionsschrift erklären: durch eine niedrigere kognitive Flexibilität im Rahmen eines putativen *D1-state* (Met-Allelträger) ist auf behavioraler Ebene die Reaktionszeit bei Inhibitionleistungen durch Konfliktreizpräsentation gegenüber einem *D2-state* (Val-Allelträger) verlängert. Der hier gefunden signifikante Gen-Dosis-Effekt des *COMT* Val^{158/108}Met Polymorphismus auf den Konflikteffekt bei gesunden Kontrollpersonen ist somit durch die „Dual-State Theorie“ gut erklärbar.

Abbildung 12 zeigt mittels einer schematischen Illustration den Gen-Dosis-Effekt auf den behavioralen Konflikt bei gesunden Kontrollpersonen.

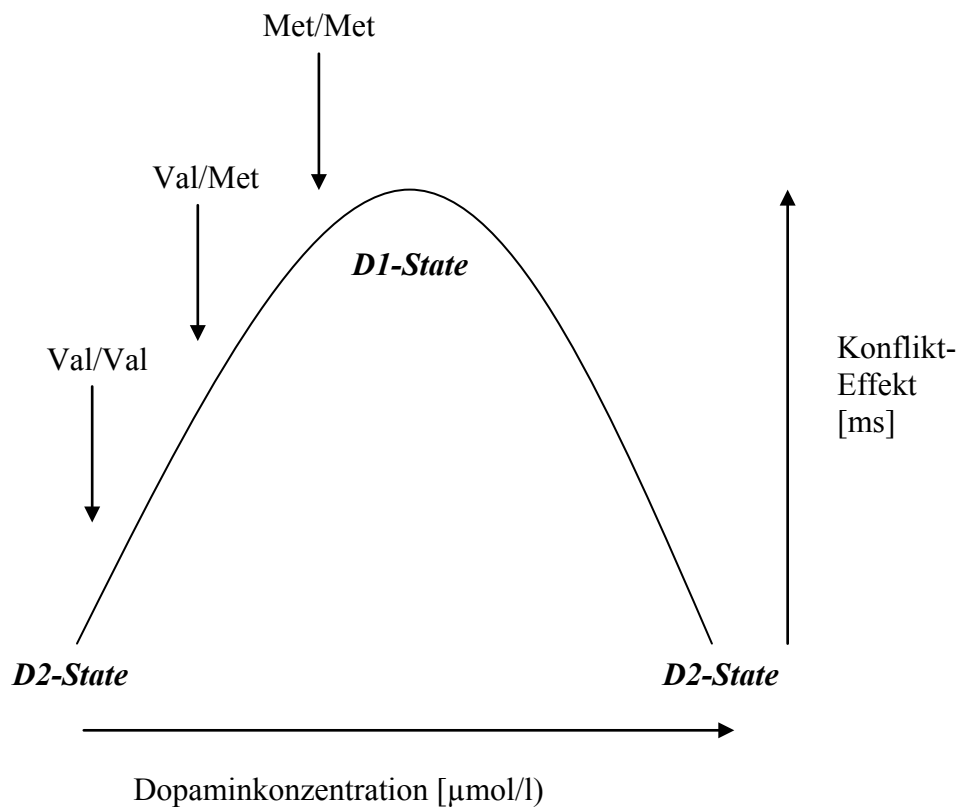


Abbildung 12: Einfluss des *COMT* Val^{108/158}Met Genotyps auf den Konflikteffekt bei Kontrollpersonen.

Der auf diese Weise integrierte Befund ist mit einer Vielzahl von Ergebnissen aus behavioralen Untersuchungen und aus Neuroimaging-Studien vereinbar. Auf behavioraler Ebene wurden konsistente Befunde zur Stabilität und Flexibilität kognitiver Leistung in Abhängigkeit vom *COMT* Val^{108/158}Met Genotyp berichtet (Nolan et al., 2004; Stefanis et al., 2005). Bei einer häufig verwandten Arbeitsgedächtnisaufgabe, bei dem die Versuchsperson die Aufgabe hat, sofort zu reagieren wenn in einer Reihe von Buchstaben ein Buchstabe auftaucht, der identisch mit dem ist, der n Präsentationen zurückliegt, wurde bei gesunden Probanden mit einem *COMT* Met/Met-Genotyp (Baseline) und Individuen mit *COMT* Val/Val-Genotyp nach Gabe des DRD1-Antagonisten Tolcapone in mehreren Studien ein relativer Abfall der präfrontalen Rekrutierungsareale gefunden. Im Gegensatz dazu war ein *COMT* Val/Val-Genotyp (Baseline) oder ein *COMT* Met/Met-Genotyp nach Gabe von Tolcapone mit einem größeren präfrontalen Rekrutierungsareal assoziiert (Mattay et al., 2003; Winterer et al., 2006; Apud et al., 2007). Auch EEG-Studien fanden Assoziationen mit dem *COMT*-Genotyp: hier zeigten Individuen mit einem putativen *D1-state* ein besseres präfrontales Signal/Rausch-Verhältnis als Individuen in einem putativen *D2-state* (Winterer et al., 1999; Gallinat et al., 2003).

Zusammenfassend besteht bei gesunden Kontrollpersonen, basierend auf dem Modellen der „*Dual-State* Theorie“ nach Durstewitz und Seamans (2008) und dem Modell einer invertierten U-Funktion des präfrontalen Dopaminhaushaltes nach Meyer-Lindenberg und Weinberger (2006), ein überzeugender Zusammenhang zwischen dem in dieser Arbeit untersuchten *COMT* Val^{108/158}Met Polymorphismus und der behavioralen Inhibitionsleistung im ANT. Die in dieser Promotionsschrift dargestellten Befunde, insbesondere für die Gruppe der Probanden lassen sich konsistent in die bestehende Literatur integrieren.

6.4 *COMT*, präfrontales Dopamin und Schizophrenie

Der präfrontale Kortex ist neben dem mesokortikalen Dopaminsystem als neuronales Substrat der beschriebenen kognitiven Defizite der Schizophrenie identifiziert worden (Goldman-Rakic et al., 2000; Winterer und Weinberger, 2004). Das hier applizierte Paradigma scheint aufgrund der Anforderungen an das präfrontale Exekutivsystem (Fan et al., 2005; Neuhaus et al., 2007) gut geeignet zu sein, die vermuteten Effekte des *COMT* Val^{108/158}Met - Polymorphismus auf behavioraler Ebene bei schizophrenen Patienten zu charakterisieren.

In Analogie zu den bisher ausgeführten Überlegungen wäre zu postulieren, dass schizophrene Patienten aufgrund eines relativen präfrontalen Dopaminmangels („Hypofrontalität“) auf der invertierten U-Kurve des präfrontalen Dopaminhaushaltes nach links verschoben sein müssten. In den hier erhobenen Daten fand sich in den Genotyp-Kontrastrechnungen kein signifikanter Unterschied. Dies könnte als Hinweis auf eine massive Linksverschiebung zu werten sein, die eine signifikante Unterscheidung zwischen den Genotypen innerhalb der Population der schizophrenen Patienten aufgrund eines Bodeneffektes schwer möglich macht. Die Tatsache, dass alle Patienten antipsychotisch behandelt waren und somit auch einer pharmakologischen DRD2-Blockade unterlagen, erhöht die potentielle Relevanz dieser Hypothese.

Nach dem erläuterten Modell der *Dual-State*-Hypothese nach Durstewitz und Seamans (2008) könnte auch ein vorherrschender *D2-State* bei schizophrenen Patienten zu instabilen neuronalen Repräsentationen führen, welche eine exakte Bestimmung von dopaminabhängigen behavioralen Variablen aufgrund eines hohen-Signal-Rausch-Verhältnisses behindern würde. Eine alternative Erklärung für die bei den schizophrenen Patienten gemessenen Befunde könnte darin bestehen, dass adaptive Prozesse wie beispielsweise eine dynamische präfrontale Balance der Dopaminhomöostase generell gestört sind. Auf der Ebene von funktionell interagierenden Neuronenverbänden wird in der neueren

Literatur hinsichtlich kognitiver Störungen bei Schizophrenie ein Dyskonnektionssyndrom als mitursächlich diskutiert (Stephan et al., 2006). Eine solche Dyskonnektion könnte dazu führen, dass adaptive subkortikale und kortikale Regelkreise, welche die Dopaminhomöostase regulieren und die bei gesunden Probanden den Einfluss des *COMT* Val^{108/158}Met Genotyps auf den Konflikteffekt im ANT mit einer invertierten U-Funktion der Dopaminfunktion beschreibbar machen, insbesondere bei männlichen schizophrenen Patienten in einem solchem Ausmaß gestört sind, dass sich ein Einfluss des *COMT* Val^{108/158}Met Genotyps in der Gruppe der Schizophrenen nicht mehr ausreichend anhand dieser Funktion darstellen lässt.

6.5 Einschränkungen

Die vorliegende Promotionsschrift weist eine Reihe von Limitationen auf. Zunächst ist die untersuchte Stichprobe insbesondere in Hinsicht auf den Einfluss des *COMT* Val^{158/108}Met Polymorphismus relativ gering, sodass die resultierenden Zellengrößen als zu klein angesehen werden müssen, um mit statistisch ausreichender Power genetische Effekte zu identifizieren.

Eine weitere Einschränkung ergibt sich aus der notwendigen antipsychotischen Medikation der schizophrenen Patienten, die zumindest zu einer teilweisen DRD2-Blockade führt, welche auch Auswirkungen auf die präfrontalen Zielvariablen haben könnte. Nach der *Dual-State*-Theorie (Durstewitz und Seamans, 2008) wäre bei Patienten daher ein niedriger *D2-State* zu postulieren, der aufgrund eines Bodeneffektes die Differenzierung behavioraler Maße als Funktion des *COMT* Val^{108/158}Met-Genotyps innerhalb der Gruppe der schizophrenen Patienten erschweren könnte.

Auch die klinische Heterogenität der untersuchten Population ist als eine potentielle Störvariable zu nennen. Die vordefinierten Kriterien, wie beispielsweise eine ausreichende klinische Stabilität der Patienten gemessen anhand der PANNS-Gesamtpunktzahl könnte allein nicht hinreichend sein und andere potentiell relevante Einflussfaktoren vernachlässigen, die sich beispielsweise aus dem Einfluss der Krankheitsdauer, der Episodenanzahl zum Zeitpunkt der Testung, einer positiven Familienanamnese oder auch aus dem Einfluss von Nikotinabhängigkeit auf das kognitive Funktionsniveau ergeben könnten. Weiterhin waren Daten zu anderen potentiell interagierenden Genotypen des *COMT*-Gens oder epigenetischer Faktoren für unser Sample nicht erhältlich.

6.6 Schlussfolgerung

Die vorliegende Promotionsschrift untersuchte den Attention Network Test als potentiellen Endophänotypenkandidaten, sowie innerhalb dieses Modells den Einfluss des *COMT*-Polymorphismus rs4680 auf den behavioralen Inhibitionseffekt. Frühere Befunde zu einer erhöhten Reaktionszeit bei schizophrenen Patienten konnten anhand des verwendeten Paradigmas repliziert werden. Es konnte hingegen nicht gezeigt werden, dass auf behavioraler Ebene eine Unterscheidung der untersuchten diagnostischen Gruppen hinsichtlich des Inhibitionseffektes möglich ist. Auf genetischer Ebene konnte eine deutliche Dosis-Wirkungs-Beziehung des *COMT* Val^{108/158}Met-Genotyps mit dem behavioralen Konflikteffekt im ANT zumindest bei gesunden Kontrollpersonen nachgewiesen werden.

Der wissenschaftliche Wert der vorliegenden Promotionsschrift ergibt sich aus ihrem Beitrag zum kontinuierlich expandierenden Forschungsfeld des Einflusses des *COMT* Val^{158/108}Met Polymorphismus auf Funktionen des PFK, sowie aus dem wachsenden Verständnis um die Funktion dieses Gens für bestimmte Aspekte humaner Kognition einerseits und aus der potentiellen Nutzbarkeit des ANT als möglichen Endophänotyp der Schizophrenie andererseits. Die Charakterisierung kognitiver Tests im Hinblick auf etwaige Assoziationen zum untersuchten *COMT* Val^{158/108}Met Polymorphismus vertieft den Einblick in den möglicherweise zugrunde liegenden neurobiologischen Mechanismus der präfrontalen Dopaminhomöostase und ihre Beziehung zu kognitiven Prozessen. Insofern liefert diese Promotionsschrift durch die gefundene Assoziation mit dem präfrontalen Dopaminhaushalt eine wichtige Information zur biologischen Psychologie generell und der behavioralen Inhibitionsleistung im Besonderen.

Die Resultate dieser Arbeit bleiben auch bei, im Gegensatz zu den gesunden Kontrollpersonen nicht vorhandener Signifikanz einer Dosis-Wirkungs-Beziehung des *COMT* Val^{158/108}Met Polymorphismus in Bezug auf den behavioralen Konflikteffekt, weiterhin ein attraktiver Forschungsgegenstand für die Zukunft. Die vielfach validierten Befunde zu kognitiven Defiziten bei Schizophrenie, zur Dopaminhypothese der Schizophrenie, zum Zusammenhang zwischen präfrontaler Kognition und Dopaminhaushalt, zur Determination des Dopaminhaushaltes durch genetische Faktoren sowie zum Zusammenhang zwischen präfrontaler Inhibitionsleitung, Dopamin und funktionellen Polymorphismen werden auch anhand der vorliegenden Untersuchung trotz nicht detektierten behavioralen Ergebnissen nicht widerlegt. Nach der Endophänotypenhypothese sind genetische Polymorphismen mit diskreten Defiziten, beispielsweise auf neuropsychologischer oder neuropsychologischer

Ebene assoziiert. Diese Defizite müssen, da sie auf klinischer Ebene nicht nachweisbar sind mit spezifischen Untersuchungsverfahren erfasst werden. In Analogie muss auf der Basis der vorliegenden Daten argumentiert werden, dass bei der an gesunden Kontrollpersonen nachgewiesenen Assoziation von Genetik (hier: *COMT* Val^{158/108}Met Polymorphismus) mit Verhalten (hier: behaviorale Inhibition) bei schizophrenen Patienten sensitivere Untersuchungsverfahren eingesetzt werden müssen, um diese Assoziation auch bei dieser Subpopulationen sichtbar zu machen bzw. anhand der erhobenen Befunde die Erklärungsmodelle zu modifizieren. Da die Neuropsychologie auch Ausdruck einer ihr zu Grunde liegenden Hirnfunktion ist, sollten zusätzlich funktionelle und bildgebende Verfahren zur Provokation und Demaskierung von Defiziten eingesetzt werden, die auf neuropsychologischer Ebene allein nicht nachweisbar wären. Zu diesen Verfahren sind einerseits neurophysiologische Methoden mit einer hohen zeitlichen Auflösung wie Elektro- oder Magneto-Enzephalographie (MEG bzw. EEG) und andererseits funktionell bildgebende Verfahren mit einer hohen räumlichen Auflösung, wie die funktionelle Magnetresonanztomographie (fMRT), zu zählen. Zukünftige Untersuchungsdesigns sollten sich zusätzlich dieser Verfahren bedienen, um diskrete Unterschiede in der funktionellen Neuroanatomie und der daraus folgenden physiologischen Psychologie bei schizophrenen Patienten mit einer höheren Genauigkeit zu detektieren. Auf diese Weise könnten Einflüsse des *COMT* Val^{158/108}Met Polymorphismus bei Schizophrenie sicherer systematisch untersucht werden.

7 ZUSAMMENFASSUNG

Die Schizophrenie ist eine komplexe Erkrankung, deren genetische Grundlagen bislang nur unzureichend verstanden sind. Ein aktuelles Konzept zur Einbeziehung genetisch relevanter Polymorphismen umfasst die Charakterisierung intermediärer Phänotypen, wobei genetische Faktoren mit behavioralen Merkmalen wie neurokognitiven Funktionsbeeinträchtigungen assoziiert werden. Kognitive Defizite, vor allem in verschiedenen Aufmerksamkeitsbereichen, werden mittlerweile zu den Kernsymptomen der Schizophrenie gezählt. Kognitive Störungen bei Schizophrenie werden mit einer dysregulierten dopaminergen Neurotransmission in Verbindung gebracht, die als eine zentrale funktionelle Störung und Ursache der psychotischen Symptome der Schizophrenie erachtet wird. Der frontale Dopaminhaushalt wird wesentlich durch die katabole Aktivität des Enzyms *Catechol-O-Methyltransferase* (*COMT*) determiniert. Das für *COMT* kodierende Gen weist einen Polymorphismus in Exon 4 auf, der eine funktionell wirksame Aminosäuresubstitution von Valin (Val) zu Methionin (Met) bei Codon 108/158 bewirkt (rs4680). Das thermostabilere Val-Allel führt zu einer drei- bis vierfach höheren Enzymaktivität und deshalb zu einem schnelleren Dopaminabbau als das thermolabile Met-Allel.

Gegenstand der vorliegenden Untersuchung war die Prüfung einer Assoziation des *COMT* Val^{158/108}Met Polymorphismus mit Störungen bestimmter Aufmerksamkeitsleistungen bei Schizophrenie. Mit dem *Attention Network Test* (ANT) wurde ein valides Verfahren zur Untersuchung der Funktionen Alerting, Orientierung und Inhibition, die gemeinsam ein Netzwerk der selektiven Aufmerksamkeit konstituieren, ausgewählt.

Die Hypothesen umfassten (1) eine unspezifisch erhöhte Gesamtreaktionszeit, (2) einen in der Literatur postulierten erhöhten behavioralen Konflikteffekt als Maß der Inhibitionsleistung bei schizophrenen Patienten und (3) einen diagnoseübergreifenden Einfluss des Polymorphismus rs4680 auf die behaviorale Inhibitionsleistung.

Untersucht wurden 63 schizophrene Patienten sowie 40 gesunde Kontrollpersonen rekrutiert, die den ANT absolvierten und bei denen der *COMT*-Polymorphismus rs4680 bestimmt wurde.

Die Ergebnisse zeigten eine signifikant verlängerte Gesamtreaktionszeit der schizophrenen Patienten entsprechend der Hypothese I, einen signifikant verringerten Konflikteffekt bei männlichen schizophrenen Patienten gegensätzlich zu Hypothese II sowie einen signifikanten Haupteffekt des Genotypstatus mit signifikant erhöhtem Konflikteffekt bei homozygoten *COMT*^{Met} Individuen entsprechend Hypothese III. Darüber hinaus wurde ein signifikanter

Gen-Dosis-Effekt des *COMT* Val^{158/108}Met Polymorphismus auf den Konflikteffekt bei gesunden Kontrollpersonen gefunden.

Die beschriebene Verlängerung der Gesamtreaktionszeit stellt eine Replikation gut validierter früherer Befunde dar. Statt des erwarteten erhöhten behavioralen Konflikteffektes bei schizophrenen Patienten wurde ein reduzierter Konflikteffekt bei männlichen Patienten gefunden, was potentiell durch eine mangelnde Tiefe der perzeptuellen Encodierung von Reizen und deren Verarbeitung erklärt werden kann. Der in dieser Promotionsschrift gefundene funktionelle Geschlechtsdimorphismus ist bislang nicht beschrieben worden und stellt einen interessanten Untersuchungsgegenstand für weitergehende Untersuchungen dar. Hinsichtlich des Einflusses des *COMT*-Polymorphismus rs4680 konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Genotypen aufgezeigt werden, der diagnoseunabhängig zu sein scheint. Die erhobenen genetischen Assoziationsbefunde wurden im Rahmen eines integrativen Modells der „*Dual-State* Theorie“ der dopaminergen Modulation sowie der tonisch-phasischen Dopaminfreisetzung diskutiert. Der gefundene Gen-Dosis-Effekt des *COMT*-Gens auf die behaviorale Inhibition bei gesunden Kontrollpersonen stützt die Hypothese einer umgekehrt U-förmigen Funktion kognitiver Leistungen in Abhängigkeit von der frontalen Dopaminkonzentration. Es wurden ein *D2-State* für *COMT*^{Val} Individuen mit erhöhter kognitiver Flexibilität und ein *DI-State* für *COMT*^{Met} Individuen mit erhöhter Stabilität kognitiver Repräsentationen postuliert.

Folgt man dieser Argumentation, muss folgerichtig weiter postuliert werden, dass frontale, Dopamin-abhängige kognitive Leistungen antipsychotisch behandelter schizophrener Patienten auf einer angenommenen glockenförmigen Kurve entweder massiv nach links verschoben sind oder dieser Funktion nicht folgen. Es ist bekannt, dass adaptive Prozesse wie die dynamische frontale Balance der Dopaminhomöostase bei der Schizophrenie im Rahmen eines Dyskonnektionssyndroms gestört sind. Während adaptive Regelkreise der Dopaminhomöostase bei gesunden Kontrollpersonen zur Ausbildung einer invertierten U-Kurve führen, kann bei schizophrenen Patienten eine solche Dosis-Wirkungs-Beziehung des Dopamins nicht mehr mit der invertierten U-Funktion beschrieben werden.

Der wissenschaftliche Mehrwert der vorliegenden Promotionsschrift ergibt sich aus den Ergebnissen zum Einfluss des *COMT* Val^{158/108}Met Polymorphismus auf die Inhibitionsleistung humaner Kognition. Die vorliegende Promotionsschrift weist zudem auf die Notwendigkeit sensitiver zukünftiger Untersuchungsmethoden hin, um diskrete Unterschiede in der funktionellen Neuroanatomie und der daraus folgenden physiologischen Psychologie bei schizophrenen Patienten mit einer höheren Sicherheit zu detektieren.

8. LITERATURVERZEICHNIS

- Apud JA, Mattay V, Chen J et al. (2007): Tolcapone improves cognition and cortical information processing in normal human subjects. *Neuropsychopharmacology* 32:1011-1020.
- Axelrod J, Tomchick R (1958): Enzymatic O-methylation of epinephrine and other catechols. *J Biol Chem* 233:702-705.
- Backhaus K, Erichson B, Plinke W et al. (2003): *Multivariate Analysemethoden* (10. Auflage) Berlin: Springer.
- Badner JA, Gershon ES (2002): Meta-analysis of whole-genome linkage scans of bipolar disorder and schizophrenia. *Mol Psychiatry* 7:405-411.
- Barch DM, Carter CS, Cohen JD (2004): Factors influencing Stroop performance in schizophrenia. *Neuropsychology* 18:477-484.
- Barch DM, Carter CS, Hachten PC et al. (1999): The "benefits" of distractibility: mechanisms underlying increased Stroop effects in schizophrenia. *Schizophr Bull* 25:749-762.
- Bender S, Dittmann-Balcar A, Schall U et al. (2006): Influence of atypical neuroleptics on executive functioning in patients with schizophrenia: a randomized, double-blind comparison of olanzapine vs. clozapine. *Int J Neuropsychopharmacol* 2:135-145.
- Bilder RM, Volavka J, Lachmann HM et al. (2004): The catechol-o-methyltransferase polymorphism: relations to the tonic-phasic dopamine hypothesis and neuropsychiatric phenotypes. *Neuropsychopharmacology* 29:1943-1961.
- Birbaumer N, Schmidt R (2003): *Biologische Psychologie* (5. Auflage). Berlin: Springer.
- Braver TS, Barch DM, Cohen JD (1999): Cognition and control in schizophrenia: a computational model of dopamine and prefrontal function. *Biol Psychiat* 46:312-328.

- Carlsson A (1978): Mechanism of action of neuroleptic drugs. New York, NY: Raven Press.
- Carlson NR (2004): Physiologische Psychologie (8. Auflage). München: Pearson Studium.
- Chen J, Lipska BK, Halim N et al. (2004a): Functional analysis of genetic variation in catechol-O-methyltransferase (COMT): effects on mRNA, protein, and enzyme activity in postmortem human brain. *Am J Hum Genet* 75:807-821.
- Chen X, Wang X, O' Neill AF et al. (2004b): Variants in the catechol-o-methyltransferase (COMT) gene are associated with schizophrenia in Irish high-density families. *Mol Psychiatry* 9:962-967.
- Cohen JD, Aston-Jones G, Gilzenrat MS (2004): A systems-level perspective on attention and cognitive control: Guided activation, adaptive gating, conflict monitoring, and exploitation vs. exploration. In Posner M (Hrsg.) *Cognitive Neuroscience of Attention* (71-90), New York: Guilford Press.
- Cohen JR, Elvevag B, Goldberg TE (2005): Cognitive control and semantics in schizophrenia: an integrated approach. *Am J Psychiatry* 162:1969-1971.
- Cornblatt BA, Malhotra AK (2001): Impaired attention as an endophenotype for molecular genetic studies of schizophrenia. *Am J Med Gen* 105:11-15.
- Davis KL, Kahn RS, Ko G et al. (1991): Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *Am J Psychiatry* 148:1474-1486.
- De Geus EJC, Wright MJ, Martin DI et al. (2001): Genetics of brain function and cognition. *Behav Genet* 31:489-495.
- Diamond A, Goldman-Rakic PS (1989): Comparison of human infants and rhesus monkeys on Piaget's A-not-B task: evidence for dependence on dorsolateral prefrontal cortex. *Exp Brain Res* 74:24-40.

- Diamond A, Briand L, Fossella J et al. (2004): Genetic and neurochemical modulation of prefrontal cognitive functions in children. *Am J Psychiatry* 161:125-132.
- Durstewitz D, Seamans JK (2008): The dual-state theory of prefrontal cortex dopamine function with relevance to catechol-o-methyltransferase genotypes and schizophrenia. *Biol Psychiatry* 64:739-749.
- Egan MF, Goldberg TE, Kolachana BS et al. (2001): Effect of COMT Val108/158 Met genotype on frontal lobe function and risk for schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci* 98:6917-6922.
- Eriksen BA, Eriksen CW (1974): Effects of noise letters upon the identification of a target letter in a nonsearch task. *Percept Psychophys* 16:143-149.
- Erlenmeyer-Kimling L, Cornblatt BA (1992): A summary of attentional findings in the New York High-Risk Project. *J Psychiatr Res* 4: 405-426.
- Fan J (2004): A sketch of the three attentional networks. www.sacklerinstitute.org/jinfan.
- Fan J, Fossella J, Sommer T et al (2003): Mapping the genetic variation of executive attention onto brain activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:7406-7411.
- Fan J, McCandliss BD, Fossella J et al. (2005): The activation of attentional networks. *Neuroimage* 26:471-479.
- Fan J, McCandliss BD, Sommer T et al. (2002): Testing the efficiency and independence of attentional networks. *J Cogn Neurosci* 14:340-347.
- Fan J, Wu Y, Fossella JA et al. (2001): Assessing the heritability of attentional networks. *BMC Neurosci* 2:14.
- Fanous AH, Neale MC, Gardner CO et al. (2007): Significant correlation in linkage signals from genome-wide scans of schizophrenia and schizotypy. *Mol Psychiatry* 12:958-965.

- Finkelstein JR, Cannon TD, Gur RE et al. (1997): Attentional dysfunctions in neuroleptic-naive and neuroleptic-withdrawn schizophrenic patients and their siblings. *J Abnorm Psychol* 106:203-212.
- Floresco SB, Magyar O (2006): Mesocortical dopamine modulation of executive functions: Beyond working memory. *Psychopharmacology (Berl)* 188:567-585.
- Floresco SB, West AR, Ash B et al. (2003): Afferent modulation of dopamine neuron firing differentially regulates tonic and phasic dopamine transmission. *Nat Neurosci* 6:968-973.
- Fossella J, Posner M, Fan K et al. (2002a): Attentional phenotypes for the analysis of higher mental function. *Scientific World Journal* 2:217-223.
- Fossella J, Sommer T, Fan J et al. (2002b): Assessing the molecular genetics of attention networks. *BMC Neurosci* 3:14.
- Gallinat J, Bajbouj M, Sander T et al. (2003): Association of the G1947A COMT (val(108/158)met) gene polymorphism with prefrontal P300 during information processing. *Biol Psychiatry* 54:40-48.
- Gasparini M, Fabrizio E, Bonifati V et al. (1997): Cognitive improvement during tolcapone treatment in Parkinson's disease. *J Neural Transm* 104:887-894.
- Glahn DC, Therman S, Manninen M et al., (2003): Spatial working memory as an endophenotype for schizophrenia. *Biol Psychiatry* 53:624-626.
- Glatt SJ, Faraone SV, Tsuang MT (2003): Association between a functional catechol O-methyltransferase gene polymorphism and schizophrenia: meta-analysis of case-control and family-based studies. *Am J Psychiatry* 160:469-476.
- Gogos JA, Morgan M, Luine V et al. (1998): Catechol-O-methyltransferase-deficient mice exhibit sexually dimorphic changes in catecholamine levels and behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:9991-9996.

- Goldberg TE, Weinberger DR (2004): Genes and the parsing of cognitive processes. *Trends Cogn Sci* 8: 325-335.
- Goldberg TE, Weinberger DR, Berman KF et al. (1987): Further evidence for dementia of the prefrontal type in schizophrenia? A controlled study of teaching the Wisconsin Card Sorting Test. *Arch Gen Psychiatry* 44:1008-1014.
- Goldman-Rakic PS, Muly EC 3rd, Williams GV (2000): D(1) receptors in prefrontal cells and circuits. *Brain Res Brain Res Rev* 31:295-301.
- Gottesman II, Gould TD (2003): The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *Am J Psychiatry* 160:636-645.
- Gottesman II, Shields J (1967): A polygenic theory of schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA* 58:199-205.
- Grace AA (1991): Phasic versus tonic dopamine release and the modulation of dopamine system responsivity: a hypothesis for the etiology of schizophrenia. *Neuroscience* 41:1-24.
- Grace AA (1993): Cortical regulation of subcortical dopamine systems and its possible relevance to schizophrenia. *J Neural Transm Gen Sect* 91:111-134.
- Grace AA (2000): The tonic/phasic model of dopamine system regulation and its implications for understanding alcohol and psychostimulant craving. *Addiction* 95:S119-S128.
- Green MF, Kern RS, Braff DL et al. (2000): Neurocognitive deficits and functional outcome in schizophrenia: are we measuring the "right stuff"? *Schizophr Bull* 26:119-136.
- Green MF, Kern RS, Heaton RK (2004): Longitudinal studies of cognition and functional outcome in schizophrenia: Implications for MATRICS. *Schizophr Res* 72:41-51.
- Green MF, Nuechterlein KH (1999): Should schizophrenia be treated as a neurocognitive disorder? *Schizophr Bull* 25:309-319.

- Grossman MH, Emanuel BS, Budaf ML (1992): Chromosomal mapping of the human catechol-O-methyltransferase gene to 22q11.1-q11.2. *Genomics* 12:822-825.
- Guy W (1976): ECDEU Assessment Manual for Psychopharmacology, Rockville, MD: U.S. Department of Health, Education, and Welfare.
- Harrison PJ, Owen MJ (2003): Genes for schizophrenia? Recent findings and their pathophysiological implications. *Lancet* 361:417-419.
- Harrison PJ, Weinberger DR (2005): Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Mol Psychiatry* 10:40-68.
- Heckers S, Weiss AP, Deckersbach T et al. (2004): Anterior cingulate cortex activation during cognitive interference in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 161:707-715.
- Heinrichs RW, Zakzanis KK (1998): Neurocognitive deficit in schizophrenia: a quantitative review of the evidence. *Neuropsychology* 12:426-444.
- Helgason L (1990): Twenty years of follow-up of first psychiatric presentation for schizophrenia: what would have been prevented. *Acta Psychiatr Scand* 81:231-235.
- Heydebrand G (2006): Cognitive deficits in the families of patients with schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry* 19:277-281.
- Hill SK, Schuepbach D, Herbener ES et al. (2004): Pretreatment and longitudinal studies of neuropsychological deficits in antipsychotic-naïve patients with schizophrenia. *Schizophr Res* 68:49-63.
- Horn W (1983): Leistungsprüfsystem. Göttingen: Hofgrefe.
- International Human Genome Sequencing Consortium (2004): Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature* 431:931-945.

- Karoum F, Chrapusta SJ, Egan MF (1994): 3-Methoxytyramine is the major metabolite of released dopamine in the rat frontal cortex: reassessment of the effects of antipsychotics on the dynamics of dopamine release and metabolism in the frontal cortex, nucleus accumbens, and striatum by a simple two pool model. *J Neurochem* 63:972-979.
- Kay SR, Opler LA, Lindenmayer JP (1987): The Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr Bull* 13:261-276.
- Kneavel M, Gogos JA, Karayiorgou K et al. (2000): Interaction of COMT gene deletion and environment on cognition. *Soc Neurosci Abstracts* 26:1-2.
- Konnopka A, Klingberg S, Wittorf A et al., (2009): The cost of schizophrenia in Germany: a systematic review of the literature. *Psychiatr Prax* 36:211-218.
- Konradi C, Heckers S (2003): Molecular aspects of glutamate dysregulation: implications for schizophrenia and its treatment. *Pharmacol Ther* 97:153-179.
- Kubicki M, Westin CF, Nestor PG et al. (2003): Cingulate fasciculus integrity disruption in schizophrenia: a magnetic resonance diffusion tensor imaging study. *Biol Psychiatry* 54:1171-1180.
- Lachman HM, Papolos DF, Saito T et al. (1996): Human catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics: description of a functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders. *Pharmacogenetics* 6:243-250.
- Lee SG, Joo Y, Kim B et al. (2005): Association of Ala72Ser polymorphism with COMT enzyme activity and the risk of schizophrenia in Koreans. *Hum Genet* 116:319-328.
- Lehrl S, Triebig G, Fischer B (1995): Multiple choice vocabulary test MWT as a valid and short test to estimate premorbid intelligence. *Acta Neurol Scand* 91:335-345.
- Leucht S, Kane JM, Kissling W et al. (2005): What does the PANSS mean? *Schizophr Res* 79:231-238.

- Lewis CM, Levinson DF, Wise LH et al. (2003): Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: schizophrenia. *Am J Hum Genet* 73:34-48.
- Lewis DA, Melchitzky DS, Sesack SR et al. (2001): Dopamin transporter immunoreactivity in monkey cerebral cortex. *J Comp Neurol* 432:119-136.
- Lewis R (2004): Should cognitive deficit be a diagnostic criterion for schizophrenia? *J Psychiatry Neurosci* 29:102-113.
- Livak KJ (1999): Allelic discrimination using fluorogenic probes and the 5' nuclease assay. *Genet Anal* 14:143-149.
- Lotta T, Vidgren J, Tilgmann C et al. (1995): Kinetics of human soluble and membrane bound catechol-O-methyltransferase: a revised mechanism and description of the thermolabile variant of the enzyme. *Biochemistry* 34:4202-4210.
- Lundstrom K, Tehunen J, Tilgmann C et al. (1995): Cloning, expression and structure of catechol-O-methyltransferase. *Biochim Biophys Acta* 1251:1-10.
- Matsumoto M, Weickert CS, Akil M et al. (2003a): Catechol O-methyltransferase mRNA expression in human and rat brain: Evidence for a role in cortical neuronal function. *Neuroscience* 116:127-137.
- Matsumoto M, Weickert CS, Beltaifa S et al. (2003b): Catechol-O-methyltransferase (COMT) mRNA expression in the dorsolateral prefrontal cortex of patients with schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 28:1521-1530.
- Mattay VS, Goldberg TE, Fera F et al. (2003): Catechol-O-methyltransferase val158-met genotype and individual variation in the brain response to amphetamine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:6186-6191.
- Meyer-Lindenberg A, Kohn PD, Kolachana B et al. (2005): Midbrain dopamine and prefrontal function in humans: interaction and modulation by COMT genotype. *Nat Neurosci* 8:594-596.

- Meyer-Lindenberg A, Nichols T, Callicott JH et al. (2006): Impact of complex genetic variation in COMT on human brain function. *Mol Psychiatry* 11:867-877.
- Meyer-Lindenberg A, Weinberger DR (2006): Intermediate phenotypes and genetic mechanisms of psychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci* 7:818-827.
- Mohamed S, Paulsen JS, O' Leary D et al. (1999): Generalized cognitive deficits in schizophrenia: a study of first-episode patients. *Arch Gen Psychiatry* 56:749-754.
- Moises HW, Zoeger T, Gottesman II (2002): Glial growth factors deficiency and synaptic destabilization hypothesis of schizophrenia. *BMC Psychiatry* 2:8.
- Napolitano A, Cesura AM, Da Prada M (1995): The role of monoamino oxidase and catechol-O-methyltransferase in dopaminergic neurotransmission. *J Neural Transm* 45:35-45.
- Nestor PG, Kubicki M, Spencer KM et al (2006): Attentional networks and cingulum bundle in chronic schizophrenia. *Schizophr Res* 90:308-315.
- Neuhaus AH, Koehler S, Opgen-Rhein C et al. (2007): Selective anterior cingulate cortex deficit during conflict solution in schizophrenia: an event-related potential study. *J Psychiatr Res* 41:635-644.
- Nolan KA, Bilder RM, Lachmann HM et al. (2004): Catechol O-methyltransferase Val158Met polymorphism in schizophrenia: differential effects of Val and Met alleles on cognitive stability and flexibility. *Am J Psychiatry* 161:359-361.
- Nuechterlein KH, Dawson ME, Gitlin M et al. (1992): Developmental processes in schizophrenic disorders: longitudinal studies of vulnerability and stress. *Schizophr Bull.* 18:387-425.
- Opgen-Rhein C, Neuhaus AH, Urbanek C et al. (2008): Executive attention in schizophrenic males and the impact of COMT Val108/158Met genotype on performance on the attention network test. *Schizophr Bull* 34:1231-1239.

- Owen MJ, Craddock N, O'Donovan MC (2005): Schizophrenia: genes at last? *Trends Genet* 21:518-525.
- Plomin R, Kosslyn SM (2001): Genes, brain and cognition. *Nat Neurosci* 4:1153-1154.
- Posner MI, Cohen Y, Rafal RD (1982): Neural systems control of spatial orienting. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 298:187-198.
- Posner MI, Petersen SE (1990): The attention system of the human brain. *Annu Rev Neurosci* 13:25-42.
- Posner MI, Raichle ME (1998): The neuroimaging of human brain function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:763-764.
- Read A, Strachan T (2003): *Human Molecular Genetics* (3. Auflage). Garland Pub, USA.
- Riecher-Rössler A, Gschwandtner U, Aston J et al. (2006): Early detection and treatment of schizophrenia – how early? *Acta Psychiatr Scand* 113:73-80.
- Roth JA (1992): Membrane-bound catechol-O-methyltransferase: a reevaluation of its role in the O-methylation of the catecholamine neurotransmitters. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 20:1-29.
- Salo R, Robertson LC, Nordahl TE (1996): Normal sustained effects of selective attention are absent in schizophrenic patients withdrawn from medication. *Psychiatry Res* 62:121-130.
- Saß H, Wittchen HU, Zaudig M (2003): *Diagnostisches und Statistisches Manual psychischer Störungen. DSM-IV-TR*. Hogrefe-Verlag.
- Sawaguchi T, Goldman-Rakic PS (1991): D1 dopamine receptors in prefrontal cortex: involvement in working memory. *Science* 251:947-950.

- Schmidt-Kastner R, van Os J, Steinbusch HWM et al. (2006): Gene regulation by hypoxia and the neurodevelopmental origin of schizophrenia. *Schizophr Res* 84:253-271.
- Seamans JK, Yang CR (2004): The principal features and mechanisms of dopamine modulation in the prefrontal cortex. *Progress Neurobiol* 74:1-57.
- Seeman P, Kapur S (2000): Schizophrenia: more dopamine, more D2 receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:7673-7675.
- Sheehan DV, Lecrubrier Y, Sheehan KH et al. (1998): The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.): the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. *J Clin Psychiatry* 59:22-33.
- Shields J, Gottesman I (1972): Schizophrenia and genetics: A twin study vantage point. New York: Academic Press.
- Silver H, Feldman P, Bilker W et al. (2003): Working memory deficit as a core neuropsychological dysfunction in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 160:1809-1816.
- Sokoloff P, Diaz J, Le Foll B et al. (2006): The dopamine D3 receptor: a therapeutic target for the treatment of neuropsychiatric disorders. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 5:25-43.
- Stefanis NC, van Os J, Avramopoulos D et al. (2005): Effect of COMT Val158Met polymorphism on the Continuous Performance Test, Identical Pairs Version: tuning rather than improving performance. *Am J Psychiatry* 162:1752-1754.
- Stephan KE, Baldeweg T, Friston KJ (2006): Synaptic plasticity and dysconnection in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 15:929-939
- Sullivan PF, Kendler KS, Neale MC (2003): Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. *Arch Gen Psychiatry* 60:1187-1192.
- Tomo O, Masashi I, Taro K et al. (2009): Meta-analysis of association between genetic variants in COMT and schizophrenia: An update. *Schizophr Res* 110:140-148.

- Tracy JI, Mattson R, King C et al. (2001): A comparison of memory for verbal and non-verbal material in schizophrenia. *Schizophr Res* 50:199-211.
- Tsai GC, Coyle JT (2002): Glutamatergic mechanisms in schizophrenia. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 42:165-179.
- Tunbridge EM, Bannerman DM, Sharp T et al. (2004): Catechol-o-methyltransferase inhibition improves set-shifting performance and elevates stimulated dopamine release in the rat prefrontal cortex. *J Neurosci* 24:5331-5335.
- Tunbridge EM, Harrison PJ, Weinberger DR (2006): Catechol-o-methyltransferase, cognition, and psychosis: Val158Met and beyond. *Biol Psychiatry* 60:141-151.
- Urbanek C, Neuhaus AH, Opgen-Rhein C et al. (2009): Attention network test (ANT) reveals gender-specific alterations of executive function in schizophrenia. *Psychiatry Res* 168:102-109.
- Van Rossum JM (1966): The significance of dopamine-receptor blockade for the mechanism of action of neuroleptic drugs. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 160:492-494.
- Venter JC, Adams MD, Myers EW et al. (2001): The sequence of the human genome. *Science* 291:1304-1351.
- Vijayraghavan S, Wang M, Birnbaum SG et al. (2007): Inverted-U dopamine D1 receptor actions on prefrontal neurons engaged in working memory. *Nat Neurosci* 10:376-384.
- Vink JM, Boomsma DI (2002): Gene finding strategies. *Biol Psychol* 61:53-71.
- Wang DG, Fan JB, Siao CJ et al. (1998): Large-scale identification, mapping and genotyping of single nucleotide polymorphisms in the human genome. *Science* 280:1077-1082.
- Wang K, Fan J, Dong Y et al. (2005): Selective impairment of attentional networks of orienting and executive control in schizophrenia. *Schizophr Res* 78:235-241.

- Watanabe M, Kodama T, Hikosaka K (1997): Increase of extracellular dopamine in primate prefrontal cortex during a working memory task. *J Neurophysiol* 78:2795-2798.
- Weinberger DR, Berman KF, Zec RF (1986): Physiologic dysfunction of dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia. I. Regional cerebral blood flow evidence. *Arch Gen Psychiatry* 43:114-124.
- Weinshilboum RM, Otterness DM, Szumlanski CL (1999): Methylation pharmacogenetics: catechol O-methyltransferase, thiopurine methyltransferase and histamine N-methyltransferase. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 39:19-52.
- Weiss AP, Heckers S (2001): Neuroimaging of declarative memory in schizophrenia. *Scand J Psychol* 42:239-250.
- Williams GV, Goldman-Rakic PS (1995): Modulation of memory fields by dopamine D1 receptors in prefrontal cortex. *Nature* 376:572-575.
- Winterer G, Egan MF, Raedler T et al. (2003): P300 and genetic risk for schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 60:1158-1167.
- Winterer G, Musso F, Vucurevic G et al. (2006): COMT genotype predicts BOLD signal and noise characteristics in prefrontal circuits. *Neuroimage* 32:1722-1732.
- Winterer G, Weinberger DR (2004): Genes, dopamine and cortical signal-to-noise ratio in schizophrenia. *Trends Neurosci* 27:683-690.
- Winterer G, Ziller M, Dorn H et al. (1999): Cortical activation, signal-to-noise ratio and stochastic resonance during information processing in man. *Clin Neurophysiol* 110:1193-1203.
- Woods SW (2003): Chlorpromazine equivalent doses for the newer atypical antipsychotics. *J Clin Psychiatry* 64:663-667.

- World Medical Association (2008): Declaration of Helsinki: Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 59th WMA General Assembly, Seoul, 10.22.2008. <http://www.wma.net/e/policy/b3.htm>, Ref Type: Internet Communication
- Yang CR, Seamans JK (1996): Dopamine D1 receptor actions in layers V-V1 rat prefrontal cortex neurons in vitro: modulation of dendritic-somatic signal integration. *J Neurosci* 16:1922-1935.
- Zalla T, Joyce C, Szoke A et al. (2004): Executive dysfunctions as potential markers of familial vulnerability to bipolar disorder and schizophrenia. *Psychiatry Res* 121:207-217.
- Zobel A, Maier W (2004): Endophenotype -a new concept for biological characterization of psychiatric disorders. *Nervenarzt* 75:205-214.
- Zubin J, Steinhauer SR, Day R et al. (1985): Schizophrenia at the cross-road: a blueprint for the 80's. *Compr Psychiatr* 26:216-240.

9. DANKSAGUNG

An erster Stelle möchte ich meinem Doktorvater Prof. Dr. med. Michael Dettling danken, der meine anhaltende Begeisterung für das Fach Psychiatrie entscheidend mitprägte und das hier dargestellte Projekt stets großzügig mit Ideen und Ermunterung unterstützte und mir durch seine immerwährende Motivation die abschliessende Durchführung dieses Projekts erst ermöglichte.

Weiterhin gehört mein herzlicher Dank den Mitgliedern des Moduls Schizophrenie der Klinik und Hochschulambulanz für Psychiatrie und Psychotherapie, Charité- Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin, die mich zunächst als Betreuer(Innen) und später als Kolleg(Innen) geduldig unterstützten, die Grundlagen klinisch psychiatrischer Forschung zu erlernen, und die mir über die Jahre zu wertvollen Freunden wurden. Insbesondere gilt dieser Dank: Dr. med. Andres Neuhaus, Dr. med. Carolin Opgen-Rhein und Dr. med. Carsten Urbanek.

Danken möchte ich weiterhin meiner Familie, insbesondere meinen Eltern Susanne und Dr. Friedbert Hahn, sowie meiner Schwester Dipl.-Psych. Constanze Hahn die durch ihre familiäre Unterstützung aber auch fachlich weiterführende Gespräche meine Motivation auch in schwierigen Phasen aufrechterhielten.

Zuletzt gilt mein besonderer Dank meiner Ehefrau, zuerst für die schöne und aufregende Zeit die wir seit sieben Jahren gemeinsam verbringen dürfen und ihr fortwährend vorhandenes Verständnis für die Zeitintensität wissenschaftlicher Arbeit.

10. LEBENSLAUF

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.

11. PUBLIKATIONEN

- Hahn C, Neuhaus AH, Pogun S, Dettling M, Kotz SA, **Hahn E**, Brüne M, Güntürkün O. Smoking reduces language lateralization: A dichotic listening study with control participants and schizophrenia patients. *Brain Cogn* 2011; [Epub ahead of print].
- Neuhaus AH, **Hahn E**, Hahn C, Ta TM, Opgen-Rhein C, Urbanek C, Dettling M. Visual P3 amplitude modulation deficit in schizophrenia is independent of duration of illness. *Schizophr Res* 2011; [Epub ahead of print].
- Neuhaus AH, Popescu FC, Grozea C, **Hahn E**, Hahn C, Opgen-Rhein C, Urbanek C, Dettling M. Single-subject classification of schizophrenia by event-related potentials during selective attention. *Neuroimage* 2011; 55:514-521.
- Neuhaus AH, Karl C, **Hahn E**, , Trempler NR, Opgen-Rhein C, Urbanek C, Hahn C, TA TM, Dettling M. Dissection of early bottom-up and top-down deficits during visual attention in schizophrenia, *Clin Neurophysiol* 2011; 122:90-98.
- Hahn E**, Ta TM, Neuhaus AH. Hyperprolaktinämie unter antipsychotischer Therapie. *Neurotransmitter* 2010; 12:41-43.
- Neuhaus AH, Trempler NR, **Hahn E**, Karl C, Koehler S, Hahn C, Opgen-Rhein C, Urbanek C, Schaub R, Dettling M. Evidence of specificity of visual P3 amplitude modulation deficits in schizophrenia, *Schizophr Res* 2010; 124:119-126.
- Neuhaus AH, Urbanek C, Opgen-Rhein C, **Hahn E**, Ta TM, Koehler S, Gross M, Dettling M. Event-related potentials associated with Attention Network Test. *Int J Psychophysiol*. 2010; 76:72-79.
- Urbanek C, Weinges-Evers N, Bellmann-Strobl J, Bock M, Dörr J, **Hahn E**, Neuhaus AH, Opgen-Rhein C, Ta TM, Herges K, Pfueller CF, Radbruch H, Wernecke KD, Ohlraun S, Zipp F, Dettling M, Paul F. Attention Network Test reveals alerting network dysfunction in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2010; 16:93-99.

- Neuhaus AH, Opgen-Rhein C, Urbanek C, **Hahn E**, Ta TM, Seidelsohn M, Strathmann S, Kley F, Wieseke N, Sander T, Dettling M. COMT Val 158 Met polymorphism is associated with cognitive flexibility in a signal discrimination task in schizophrenia. *Pharmacopsychiatry* 2009; 42:141-144.
- Urbanek C, Neuhaus AH, Opgen-Rhein C, Strathmann S, Wieseke N, Schaub R, **Hahn E**, Dettling M. Attention network test (ANT) reveals gender-specific alterations of executive function in schizophrenia. *Psychiatry Res* 2009; 168:102-109.
- Neuhaus AH, Opgen-Rhein C, Urbanek C, Gross M, **Hahn E**, Ta TM, Koehler S, Dettling M. Spatiotemporal mapping of sex differences during attentional processing. *Hum Brain Mapp* 2009; 30:2997-3008.
- Luborzewski A, **Hahn E**, Brandl EJ, Opgen-Rhein C, Neu P, Dettling M. Leitsymptom bizarrer Verhaltensweisen. *Neurotransmitter* 2008; 12:56-61.
- Opgen-Rhein C, Neuhaus AH, Urbanek C, **Hahn E**, Sander T, Dettling M. Executive attention in schizophrenic males and the impact of COMT Val108/158Met genotype on performance on the attention network test. *Schizophr Bull* 2008; 34:1231-1239.
- Neuhaus AH, Koehler S, Opgen-Rhein C, Urbanek C, **Hahn E**, Dettling M. Selective anterior cingulate cortex deficit during conflict solution in schizophrenia: an event-related potential study. *J Psychiatr Res* 2007; 41:635-644.

12. SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

„Ich, Eric Hahn, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema **„Der Einfluss des Val^{158/108}Met Polymorphismus der Catechol-O-Methyl-Transferase auf behaviorale Inhibition“** bei 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.“

Datum

Unterschrift