

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

DISSERTATION

Kortikale Funktionsstörung bei Nichtrauchern und Rauchern,
gemessen durch die akustisch evozierte P300-Komponente in
Abhängigkeit von genetischen Varianten der $\alpha 4$ -Untereinheit
des nikotinischen Acetylcholinrezeptors

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Conrad Drescher

aus Frankfurt (Oder)

Datum der Promotion: 25.10.2013

Inhaltsverzeichnis

I. Abstrakt	5
II. Einleitung.....	8
II.1 Nikotinabhängigkeit	8
II.1.1 Epidemiologie.....	8
II.1.2 Klinik und Pathomechanismen der Nikotinabhängigkeit.....	10
II.1.2.1 Mechanismen der Nikotinabhängigkeit	10
II.1.2.2 Einfluss des Nikotins auf das Belohnungssystem	12
II.1.2.3 Einfluss des Nikotins auf Kognition und Aufmerksamkeit	13
II.1.2.4 Die Rolle der α 4-Untereinheit.....	14
II.1.3 Therapeutische Konzepte	14
II.1.3.1 Medikamentöse Therapieansätze	15
II.2 Elektrophysiologie	16
II.2.1 Grundlagen des Elektroenzephalogramms (EEG)	16
II.2.2 Grundlagen ereigniskorrelierter Potentiale	17
II.2.2.1 Akustisch evozierte Potentiale	18
II.2.3 Das ereigniskorrelierte Potential P300	19
II.2.3.1 Physiologische Einflussfaktoren der P300	21
II.2.3.2 Genetik der P300	21
II.2.3.3 P300 und Nikotinabhängigkeit	22
II.2.3.4 P300 und weitere psychiatrische Krankheitsbilder	22
II.3 Genetik	23
II.3.1 Genetische Grundlagen der Nikotinabhängigkeit	23
II.3.2. Der CHRNA4-Genpolymorphismus rs1044396 und seine Bedeutung	23
II.4 Abgeleitete Hypothesen und Fragestellungen	28
II.4.1 Hypothesen	28
II.4.2 Abgeleitete Fragestellungen	28

III. Methodik	30
III.1 Probandenrekrutierung und Beschreibung der Stichprobe	30
III.1.1 Probandenrekrutierung	30
III.1.2 Beschreibung der Stichprobe	31
III.2 Durchführung der Untersuchung und EEG-Messung	32
III.2.1 Untersuchungsablauf	32
III.2.2 Durchführung des EEG	33
III.2.3 Auswertung der EEG-Daten und Ermittlung der P300-Amplituden	34
III.3 Gewinnung und Auswertung des genetischen Materials	35
III.4 Statistische Auswertung.....	36
IV. Ergebnisse	37
IV.1 Amplitudenvergleich der P300 bei Nichtrauchern und Rauchern	37
IV.1.1 Überprüfung auf Normalverteilung und Varianzenhomogenität	37
IV.1.2 Amplitudenvergleich der P300 an den jeweiligen Elektroden	37
IV.2 Einfluss der Kovariaten auf die Amplitude der P300	39
IV.2.1 Geschlecht.....	39
IV.2.2 Alter	40
IV.3 Einfluss von Parametern des Rauchverhaltens auf die P300-Amplitude 40	
IV.3.1 Einfluss der Zigarettenanzahl pro Tag auf die P300-Amplitude	41
IV.3.2 Einfluss der Summe der Packungsjahre auf die P300-Amplitude.....	42
IV.4 Einfluss des Genotyps auf die Gruppenzugehörigkeit sowie auf	
Parameter des Rauchverhaltens.....	42
IV.4.1 Einfluss des Genotyps auf die Gruppenzugehörigkeit	43
IV.4.2 Einfluss des Genotyps bei Rauchern auf die Zigarettenanzahl pro Tag ..	43
IV.4.3 Einfluss des Genotyps bei Rauchern auf die Summe der Packungsjahre	44
IV.5 Amplitudenvergleich der P300 in Abhängigkeit vom Genotyp	45
IV.5.1 Amplitudenvergleich der P300 an den jeweiligen Elektroden in	
Abhängigkeit vom Genotyp	45

V. Diskussion	47
V.1 Amplitudenvergleich der P300 bei Nichtrauchern und Rauchern	47
V.1.1 Einfluss des Geschlechts auf die Amplitude der P300.....	48
V.1.2 Einfluss des Alters auf die Amplitude der P300	48
V.1.3 Einfluss von Parametern des Rauchverhaltens auf die P300-Amplitude..	49
V.2 Einfluss des Genotyps auf die Gruppenzugehörigkeit sowie auf Parameter des Rauchverhaltens.....	50
V.3 Amplitudenvergleich der P300 in Abhängigkeit vom Genotyp.....	52
V.4 Diskussion der verwendeten Methoden.....	54
VI. Abkürzungsverzeichnis.....	56
VI.1 Allgemeine Abkürzungen	56
VI.2 Einheiten.....	57
VII. Literaturverzeichnis.....	58
VIII. Anhang	72
VIII.1 Eidesstattliche Versicherung.....	72
VIII.2 Lebenslauf	73
VIII.3 Danksagung	74

I. Abstrakt

Einleitung: Tabakrauchen ist weltweit die häufigste vermeidbare Todesursache und bedingt aktuell jährlich etwa 5 Millionen Todesfälle mit steigender Tendenz. Nikotin ist der hauptsächliche psychoaktive Bestandteil des Tabakrauchs und entfaltet seine Wirkung über den nikotinischen Acetylcholinrezeptor. Von besonderer Bedeutung ist hierbei der $\alpha 4\beta 2$ -Rezeptor, über den eine vermehrte Dopaminausschüttung im Nucleus accumbens nach Nikotinzufuhr mit daraus resultierendem Belohnungsgefühl ausgelöst wird. In mehreren Arbeiten konnte gezeigt werden, dass die Nikotinabhängigkeit genetisch determiniert ist und dass genetische Varianten des nAChR, u.a. auch der $\alpha 4$ -Untereinheit (wie der SNP rs1044396 im CHRNA4-Gen), mit der Nikotinabhängigkeit assoziiert sind.

Das ereigniskorrelierte Potential P300 ist ein Marker für die kortikale Funktion und es konnte eine Amplitudenreduktion bei Rauchern sowie bei Patienten mit anderen psychiatrischen Erkrankungen im Vergleich zu Gesunden nachgewiesen werden. Die P300 ist ebenfalls genetisch determiniert.

In der vorliegende Arbeit sollte zum einen die bereits mehrfach gezeigte Amplitudenreduktion der P300 bei Rauchern gegenüber Nichtrauchern repliziert sowie eine mögliche Abhängigkeit von genetischen Varianten des SNP rs1044396 der $\alpha 4$ -Untereinheit des nAChR untersucht werden.

Methodik: Bei 277 gesunden Probanden, davon 156 Nichtraucher und 121 Raucher, wurden hierfür die akustisch evozierte P300-Komponente gemessen sowie genetisches Material zur Untersuchung der Genotypverteilung des SNP rs1044396 gewonnen und ausgewertet.

Ergebnisse: Es konnte eine signifikante Amplitudenreduktion der P300 bei Rauchern gegenüber Nichtrauchern unabhängig von den Kofaktoren Geschlecht und Alter gezeigt werden (Fz: $p=0,040$; Pz: $p<0,001$). Ebenfalls zeigte sich im Kollektiv der Raucher mit steigender Konsummene (Zigaretten/d) und Summe der Packungsjahre an der Pz-Elektrode eine Zunahme der Amplitudenreduktion ($p=0,019$ und $p=0,001$), jedoch war dieser Effekt nach Korrektur der Faktoren Geschlecht und Alter nicht mehr signifikant. Der untersuchte Einfluss des Genotyps des SNP rs1044396 im CHRNA4-Gen auf den Raucherstatus zeigte sich als nicht signifikant ($p=0,208$). Abschließend konnte auch kein signifikanter Einfluss des

Genotyps des SNP rs1044396 auf die P300-Amplitude nachgewiesen werden ($p=0,199$), auch nicht in Interaktion mit dem Raucherstatus ($p=0,725$).

Schlussfolgerungen: In Zusammenschau mit den Resultaten anderer Arbeiten weisen die Ergebnisse auf einen existierenden Zusammenhang zwischen Grad des Nikotinkonsums und Ausmaß der Amplitudenreduktion der P300 hin. Ein Einfluss des Genotyps des SNP rs1044396 im CHRNA4-Gen lässt sich weder auf den Raucherstatus noch auf die Amplitudenreduktion der P300 bei Rauchern beobachten. Es benötigt daher die Durchführung weiterer Studien, um festzustellen, ob sich eine genetische Ursache für diese Effekte finden lässt und welche Gene bzw. Varianten daran beteiligt sind.

Introduction: Tobacco smoking is the main cause of preventable death worldwide with about 5 million deaths each year. Nicotine is the principal addictive component of tobacco smoke and works in the brain by interaction with the nicotinic acetylcholine receptors. The $\alpha 4\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptor has a special relevance because it triggers an increased dopamine release in the nucleus accumbens after nicotine intake, thereby modulating the reward system. Many studies have shown a genetic determination of nicotine dependence and an association between genetic variants of certain nicotinic acetylcholine receptors (e.g. the CHRNA4 SNP rs1044396) and nicotine dependence.

The event-related EEG-potential P300 is a marker for cortical function. A reduction of the P300 amplitude was shown for smokers and for people with other psychiatric disorders.

In this study, we aimed to reproduce the P300 amplitude reduction as it was demonstrated in previous studies and we also wanted to investigate a possible role of the genetic variants of the CHRNA4 SNP rs1044396.

Methods: 277 healthy subjects, 156 non-smokers and 121 smokers, were investigated by measuring the P300 and by analyzing the genotype of SNP rs1044396.

Results: A significant P300 amplitude reduction was found in smokers compared to non-smokers independently of cofactors age and gender (Fz: $p=0,040$; Pz: $p<0,001$). We also found an increased P300 amplitude reduction when subjects were compared regarding the number of cigarettes smoked per day and the pack years ($p=0,019$ und $p=0,001$), but this effects was no longer significant after correction for age and gender. The investigated influence of the genotype of CHRNA4 SNP rs1044396 on the smoking status did not shown a significant effect ($p=0,208$). Finally, there was no significant association between the SNP rs1044396 genotype and the P300 amplitude, and this did not change when data regarding smoking status was included.

Conclusion: The results of this study reaffirm previous findings that the P300 amplitude and the level of nicotine consumption are inversely correlated. The expected association between the SNP rs1044396 genotype and smoking status or P300 amplitude reduction was not found, however. Therefore, further studies are required to find out if there is a genetic source for the effects of nicotine on the P300 amplitude and which genes or variants are involved.

II. Einleitung

II.1 Nikotinabhängigkeit

II.1.1 Epidemiologie

Weltweit rauchen laut Angaben der Weltgesundheitsorganisation (WHO) mehr als 1,2 Milliarden Menschen. Diese Zahl wird sich bei unveränderter Entwicklung des Rauchverhaltens bis zum Jahr 2050 etwa verdoppeln, was vor allem durch den steigenden Anteil von Rauchern in Ländern mit mäßig bis geringem Einkommen bedingt ist (The Tobacco Atlas 2002).

In Deutschland rauchten im Jahr 2009 etwa 26% der Bevölkerung im Alter von über 15 Jahren, was einer Zahl von rund 19 Millionen Menschen entspricht. Der Großteil davon (85%) rauchte regelmäßig. Die durchschnittliche Raucherquote der Männer lag bei 31% und die der Frauen bei 21%. Bei den Männern gab es die höchsten Werte in der Altersgruppe der 25- bis 30-Jährigen mit 38% Raucheranteil und bei den Frauen bei den 20- bis 24-Jährigen und 45- bis 49-Jährigen mit jeweils 27%. Der Hauptanteil der Raucher (96%) konsumiert Tabak in Form von Zigaretten. Die anderen vier Prozent verwenden Zigarren, Zigarillos oder Pfeifentabak. Bezogen auf die durchschnittliche Konsummenge gaben mehr als drei Viertel der regelmäßigen Zigarettenraucher (80%) an, täglich 5 bis 20 Zigaretten zu rauchen. Der Anteil der laut WHO als starke Raucher zu bezeichnenden Gruppe mit einem Konsum von mehr als 20 Zigaretten pro Tag betrug etwa 13%. Weniger als 5 Zigaretten pro Tag rauchten lediglich 7% der regelmäßigen Raucher (Mikrozensus 2009).

Tabakkonsum ist die häufigste Ursache für vermeidbare Todesfälle und tötet jedes Jahr schätzungsweise etwa 5 Millionen Menschen weltweit. Für das Jahr 2030 wird ein Anstieg der durch Tabakrauchen bedingten Todesfälle auf jährlich 8 Millionen Menschen erwartet. Dies beruht ebenfalls vor allem auf einer Zunahme der Raucher in Ländern mit mittlerem bis geringem Einkommen (WHO Report of the Global Tobacco Epidemic 2009).

Tabakrauch beinhaltet über 4800 chemische Verbindungen, von denen die meisten toxisch sind und bisher etwa 90 davon auch als karzinogen eingestuft wurden (Hoffmann et al. 2001, Tabakatlas 2009). Hierzu zählen vor allem die polyzyklischen

aromatischen Kohlenwasserstoffe, die aromatischen Amine und die tabakspezifischen Nitrosamine (Deutsches Krebsforschungszentrum 2005).

In Deutschland sterben jährlich zwischen 110.000 - 140.000 Menschen an den Folgen des Tabakkonsums (Deutsches Krebsforschungszentrum 2008). Mehr als die Hälfte der regelmäßigen Raucher verstirbt vorzeitig an tabakassoziierten Erkrankungen wie dem Bronchialkarzinom, kardiovaskulären Erkrankungen und Atemwegserkrankungen (COPD, Lungenemphysem). Zudem sind noch andere Malignome (z.B. bösartige Tumoren des Kehlkopfs, der Mundhöhle oder der Speiseröhre) mit dem Rauchen assoziiert. Laut einer Studie von Doll et al. (2004) ist die durchschnittliche Lebenserwartung von Rauchern um 10 Jahre gegenüber der von Nichtrauchern reduziert, was graphisch anhand von Überlebensraten in Abbildung 1 dargestellt ist.

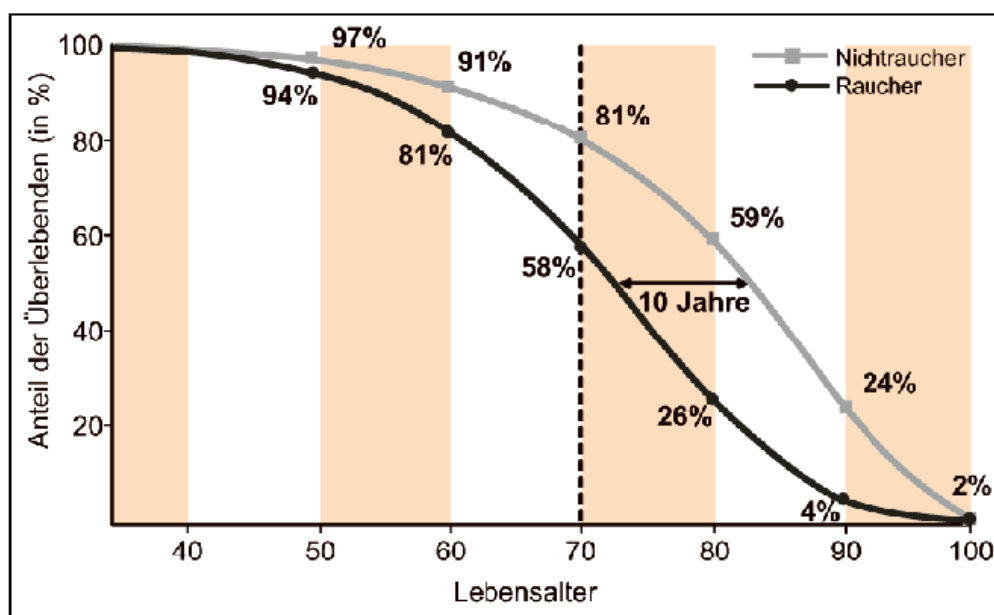


Abbildung 1: Überlebensraten von Rauchern und Nichtrauchern (Quelle: Doll et al. 2004, bearbeitet, aus Tabakatlas Deutschland 2009)

Auch gesundheitsökonomisch stellt der Tabakkonsum einen bedeutenden Kostenfaktor dar. So betragen in Deutschland im Jahr 2003 die auf das Rauchen zurückzuführenden jährlichen Kosten etwa 21 Milliarden Euro. Diese setzen sich zu einem Drittel aus direkten Kosten (z.B. für Krankenhausbehandlungen) und zu zwei Dritteln aus indirekten Kosten (z.B. durch vorzeitige Pensionierungen und Arbeitsausfälle) zusammen (Neubauer et al. 2006).

Nicht zuletzt aufgrund der weltweit steigenden Anzahl von Rauchern sowie der damit verbundenen Zunahme der tabakbedingten Morbidität und Mortalität ist es wichtig, die Ursachen und Pathomechanismen der Nikotinabhängigkeit weiter zu erforschen, um dadurch effektivere pharmakologische und nicht-pharmakologische Therapien dieser Abhängigkeit entwickeln zu können.

II.1.2 Klinik und Pathomechanismen der Nikotinabhängigkeit

Nikotinabhängigkeit bzw. Tabakabhängigkeit ist nach ICD-10 bzw. DSM IV als Suchterkrankung klassifiziert. Laut aktuellem ICD-10 wird die Diagnose Tabakabhängigkeit der Kategorie F1 »Psychische und Verhaltensstörungen durch psychotrope Substanzen« zugeordnet (ICD-10 F 17.2) und unterliegt somit den gleichen Kriterien zur Feststellung der Abhängigkeit wie Alkohol, Opioide, illegale Drogen oder Medikamente. Entscheidende Kriterien sind ein starker Konsumwunsch bis hin zum Konsumzwang, eine verminderte Kontrollfähigkeit über Konsummenge und -dauer, körperliche Entzugserscheinungen bei Reduktion oder Beendigung des Konsums, Toleranzentwicklung (mit konsekutiver Dosissteigerung) sowie die Fortführung des Konsums trotz des Nachweises schädlicher Folgen (z.B. Organschädigungen).

II.1.2.1 Mechanismen der Nikotinabhängigkeit

Nikotin ist ein Alkaloid der Tabakpflanze und der wesentliche psychoaktive Bestandteil des Tabaks. Es entfaltet seine Wirkung über die Stimulation des nikotinischen Acetylcholinrezeptors (nAChR).

Dabei handelt es sich um einen pentameren, ligandengesteuerten Ionenkanal, der sich aus fünf membrandurchziehenden Untereinheiten zusammensetzt. Diese Untereinheiten sind um eine zentrale Pore angeordnet, die einen Kationenkanal bildet (Gotti et al. 2006, Kalamida et al. 2007). Durch Bindung eines cholinergen Agonisten an der Rezeptoraußenseite kommt es zur Öffnung dieses Ionenkanals und zum Einstrom von Natrium, Kalium und Calcium ins Zellinnere. Dieser Kationeneinstrom führt je nach Position des nAChR präsynaptisch zur Aktivierung von spannungsgesteuerten Calciumkanälen und damit zur vermehrten Ausschüttung von Neurotransmittern oder postsynaptisch zu einer Depolarisation und damit zu einer erhöhten Erregbarkeit und Feuerrate des Neurons (Dajas-Bailador und Wonnacott 2004, Wonnacott et al. 2005).

Im Gegensatz zu den nAChR an neuromuskulären Übergängen, die sich aus α 1-, β 1-, γ -, δ - und ϵ -Untereinheiten zusammensetzen, enthalten die neuronalen nAChR nur α - und β -Untereinheiten (Greenbaum et al. 2009). Es sind entweder Homo- oder Heteropentamere, bestehend aus verschiedenen Kombinationen von α (α 2- α 10)- und β (β 2- β 4)-Untereinheiten, wobei jede Untereinheit durch ein einzelnes Gen codiert wird (CHRNA2-10 und CHRNB2-4). Die Zusammensetzung des nAChR bestimmt die biochemischen und physiologischen Eigenschaften des Rezeptors.

Der neuronale nAChR wird in diversen Regionen des Gehirns exprimiert, wobei die Zusammensetzung der Untereinheiten je nach Lokalisation unterschiedlich ist. Der homomere α 7- und der heteromere α 4 β 2-Rezeptor kommen dabei am häufigsten vor und sind am verhaltensrelevantesten (Mineur und Picciotto 2008). Sie befinden sich hauptsächlich im präsynaptischen und präterminalen Bereich, wo sie die Ausschüttung von Neurotransmittern bedingen, zum Teil auch an den Zellkörpern oder Dendriten, wo sie postsynaptische Effekte vermitteln (Gotti et al. 2006). Auf diese Weise modulieren die nAChR abhängig von der Lokalisation des Rezeptors auf dem Neuron sowie vom Neuronentyp (GABAerg, glutamaterg, dopaminerg oder cholinerg) eine Vielzahl zerebraler Systeme und Prozesse, z. B. das Belohnungs- und Aufmerksamkeitssystem und auf diese Weise auch zentrale Lernprozesse bis hin zur globalen Hirnentwicklung und Neuroprotektion.

Physiologischerweise wird der nAChR durch Acetylcholin stimuliert. Dabei kommt es zu einem schnellen Anfluten des Transmitters, hohen Peak-Konzentrationen und einem Abklingen der Stimulation innerhalb von Millisekunden, da Acetylcholin rasch durch die Cholinesterase abgebaut wird. Unter diesen physiologischen Bedingungen kann sich der nAChR entweder im aktivierbaren Ruhezustand oder im aktivierten Zustand befinden (Mobascher und Winterer 2008).

Anders ist es bei der Stimulation des nAChR durch Nikotin. Beim Rauchen einer Zigarette wird das Nikotin aus dem Tabak destilliert und erreicht über die Partikel des Zigarettenrauchs die Lunge, wo es rasch in den venösen Lungenkreislauf aufgenommen wird. Von dort gelangt es in den arteriellen Kreislauf und wird schnell zum Gehirn weitergeleitet, wo es leicht in das Hirngewebe diffundiert und dort an den neuronalen nAChR bindet (Benowitz 2008). Hier führt es dann zu einer deutlich längeren Exposition des Rezeptors gegenüber dem im Vergleich zum Acetylcholin niedriger konzentrierten Nikotin. Dies ergibt sich zum einen aus der minutenlangen Zufuhr von Nikotin durch den Rauch einer Zigarette und zum anderen aus der

fehlenden Spaltung des Nikotins durch die Cholinesterase oder ein anderes Enzym, wodurch das Nikotin länger mit dem Rezeptor in Wechselwirkung treten kann als Acetylcholin. Diese unphysiologische, niedrigdosierte Dauerstimulation des nAChR begünstigt dann einen dritten, unter physiologischen Bedingungen kaum auftretenden Rezeptorzustand: die inaktivierte/desensibilisierte Konformation. Diese Rezeptordesensibilisierung ist ein gängiges Erklärungsmodell zur Toleranzentwicklung (Robinson et al. 2007) und erklärt damit auch die verstärkte Rauchwirkung nach längerer Nikotinkarenz, z.B. während der Nacht (Mobascher und Winterer 2008).

Bei chronischer Exposition gegenüber Nikotin kommt es beim nAChR nicht wie bei anderen Rezeptoren nach längerfristiger Agonistenstimulation zu einer Herunterregulation des Rezeptors („down regulation“), sondern zu einer Zunahme der Rezeptorzahl. Diese „up regulation“ ist vor allem für den im ZNS häufig vorkommenden $\alpha 4\beta 2$ -Rezeptor sowohl *in vitro* als auch *in vivo* gut dokumentiert (Nguyen et al. 2004) und unter anderem durch eine verminderte „Turn-over“-Rate des nAChR und eine Beschleunigung seiner intrazelluläre Reifung erklärt (Peng et al. 1994, Salette et al. 2005).

II.1.2.2 Einfluss des Nikotins auf das Belohnungssystem

Wie bei den meisten Suchtstoffen führt auch Nikotin über eine Erregung dopaminerger Neurone des ventralen tegmentalens Areals (VTA) zu einer erhöhten Dopaminausschüttung im Nucleus accumbens. Dieser stimulierende Effekt des Nikotins auf das dopaminerge System führt für den Organismus zu einem Belohnungserlebnis und wird daher als Ursache für die positive Verstärkung als kausales Moment der Nikotinabhängigkeit angesehen (Corrigall et al. 1992, David et al. 2006, Tuesta et al. 2011). Reguliert wird diese Wirkung des Nikotins hauptsächlich über den $\alpha 4\beta 2^*$ -nAChR (* steht für eine weitere Rezeptoruntereinheit), der auf dem Großteil der Neurone der VTA exprimiert wird (Klink et al. 2001, Gotti et al. 2006). In Abbildung 2 wird dieser Zusammenhang nochmals dargestellt.

Zusätzlich befinden sich $\alpha 4\beta 2^*$ -nAChR auch auf GABAergen Neuronen der VTA. Hier kommt es zu einer nikotinbedingten Desensibilisierung der $\alpha 4\beta 2^*$ -nAChR, wodurch die inhibitorische Wirkung der GABAergen Neuronen der VTA vermindert wird, was ebenfalls in einer gesteigerten Dopamintransmission im Nucleus accumbens resultiert (Mansvelder und McGehee 2002, Nashmi et al. 2007).

Infolge der chronischen Nikotinzufuhr bei Nikotinabhängigkeit kommt es durch Prozesse der Rezeptordesensibilisierung und Heraufregulation der Rezeptoranzahl zu einer Anpassung der nAChR derart, dass bei einem Wegfall der regelmäßigen Nikotinzufuhr (z.B. im Falle eines Aufhör-/Abstinenzversuchs) eine cholinerge Unterstimulation des Systems mit konsekutivem, relativem Dopaminmangel entsteht. Es wird angenommen, dass dieser Dopaminmangel ein neurobiologisches Korrelat für die typischen psychischen Entzugssymptome bei Nikotinabstinenz wie Anhedonie (Freudlosigkeit) und Depressivität darstellt. Andersherum kann aber auch eine erhöhte Anfälligkeit für Nikotinabhängigkeit bei Personen mit Störungen des Emotionsregulationssystems (Depression) beobachtet werden, so dass hier in Anbetracht der nikotininduzierten Stimulation des Belohnungssystems möglicherweise eine Selbstmedikation zur Linderung der depressiven Symptomatik vorliegt (Mobascher und Winterer 2008).

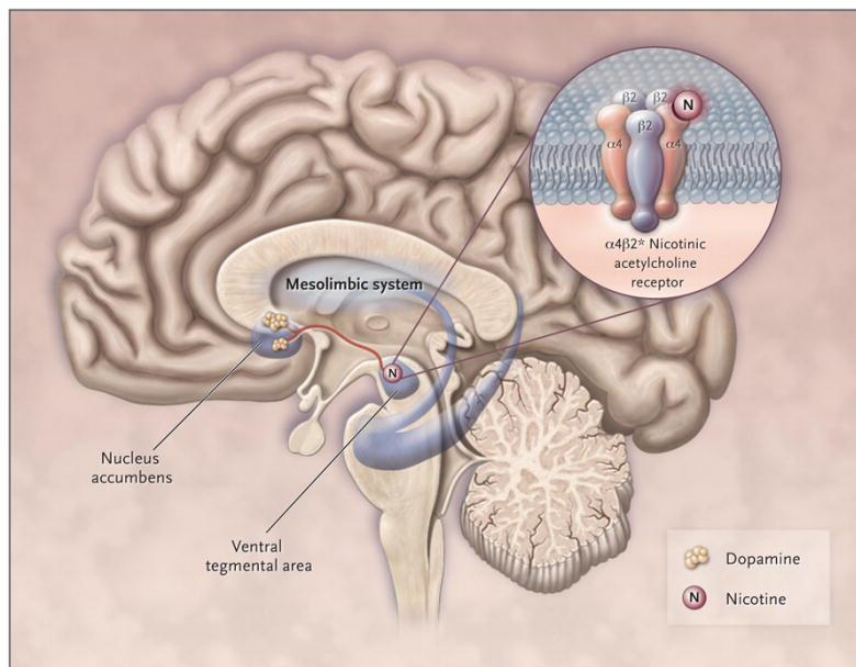


Abbildung 2: Die Wirkung des Nikotins mittels $\alpha 4\beta 2^*$ -nAChR auf das mesolimbische dopaminerge Belohnungssystem (aus Benowitz 2010)

II.1.2.3 Einfluss des Nikotins auf Kognition und Aufmerksamkeit

Nikotin beeinflusst verschiedene kognitive Prozesse wie Lernen und Gedächtnis auch bei nichtabhängigen Personen (Mansvelder et al. 2006, Levin et al. 2006). So wird die in Experimenten beobachtete nikotinbedingte Verbesserung von Lernen und

Gedächtnis durch eine Steigerung der synaptischen Übertragungseffizienz mittels long term potentiation (LTP) in gedächtnisrelevanten zerebralen Strukturen (z.B. dem Hippocampus) erklärt (Fujii et al. 1999, Ge und Dani 2005).

Eine akute Nikotingabe moduliert ebenfalls das Aufmerksamkeitsnetzwerk und verbessert die Aufmerksamkeitsleistung sowohl bei Rauchern als auch bei Nikotinaiven, gesunden Personen (u.a. Hahn et al. 2002, Mobascher und Winterer 2008). Dieser Effekt ist wahrscheinlich bei Personen mit einer Störung des Aufmerksamkeitsnetzwerkes (z.B. bei ADHS und Schizophrenie) besonders stark ausgeprägt, so dass die bei diesen Störungen häufig vorliegende komorbide Nikotinabhängigkeit ebenfalls auf einen Selbstmedikationseffekt zur Verbesserung der Aufmerksamkeitsfähigkeit zurückzuführen sein könnte (u.a. Harris et al. 2004, Mobascher und Winterer 2008).

II.1.2.4 Die Rolle der $\alpha 4$ -Untereinheit

Die $\alpha 4$ -Untereinheit ist Teil des $\alpha 4\beta 2^*$ -nAChR, der etwa 90% der hoch-affinen neuronalen nAChR im Säugergehirn ausmacht.

In einer Studie von Tapper et al. wurde 2004 an „knocked-in“-Mäusen gezeigt, dass die Aktivierung eines $\alpha 4^*$ nAChR (* steht für weitere Untereinheiten) ausreichend für Nikotin-induzierte Effekte wie Belohnung, Toleranzentwicklung und Sensibilisierung ist. Ebenfalls konnte bei „knocked-out“-Mäusen ein fehlender striataler Dopaminanstieg nach Nikotinapplikation beobachtet werden, so dass u.a. auch eine fehlende Zunahme der Nikotinselbstverabreichung als Hinweis einer Abhängigkeit im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen festgestellt werden konnte (Mineur und Picciotto 2007, Parish et al. 2005).

Somit scheint die $\alpha 4$ -Untereinheit eine entscheidende Rolle bei der Nikotinabhängigkeit zu spielen.

II.1.3 Therapeutische Konzepte

Über die Hälfte der Raucher wollen mit dem Rauchen aufhören, wobei die langfristige Erfolgsquote der ohne fremde Hilfe initiierten Entwöhnungsversuche lediglich 3 – 5 % beträgt (Fagerström 2002, Hughes et al. 2004). Daher sind effektive Therapiestrategien notwendig, um die Raucherentwöhnung zu unterstützen. Zur Verfügung stehen dafür medikamentöse und verhaltenstherapeutische

Interventionen. Letztere beinhalten neben Selbsthilfeprogrammen in Form von Broschüren, Büchern oder Internetangeboten auch Telefonberatungen und kognitiv-behaviorale Einzel- oder Gruppentherapien, die eintägig oder mehrtägig angeboten werden. Auch Hypnose und Akupunktur können als Hilfsmittel zur Rauchentwöhnung eingesetzt werden (Kröger und Gadl 2010).

II.1.3.1 Medikamentöse Therapieansätze

Die Nikotinersatztherapie (NRT = nicotine replacement therapy) ist das gängigste medikamentöse Verfahren zur Rauchentwöhnung und wird seit den 1980er Jahren eingesetzt. Das Prinzip beruht auf der Zufuhr minimaler Mengen an Nikotin, um die Ausprägung der Entzugserscheinungen zu vermindern (Stead et al. 2008). Dabei gibt es verschiedene Applikationswege des Nikotins in Form von Nikotinplastern, Nikotinkaugummies, Nikotininhalern u.a. (Fant et al. 2009). In einer Metaanalyse von Stead et al. 2008 zeigten sich signifikant höhere Abstinenzraten für alle Nikotinersatzpräparate gegenüber Placebo, wobei die über alle Präparate gemittelte Odds-Ratio 1,58 (Konfidenzintervall: 1,50–1,66) betrug, d.h. eine um etwa 50-70% erhöhte Wahrscheinlichkeit, mit dem Rauchen aufzuhören.

Ein weiteres Medikament ist Bupropion, welches ursprünglich als Antidepressivum entwickelt wurde und wahrscheinlich über eine Wiederaufnahmehemmung von Noradrenalin und Dopamin wirkt (Holm und Spencer 2000). Es war das erste nicht nikotinhaltige Medikament, welches eine Wirksamkeit bei der Rauchentwöhnung gezeigt hat (McNeil et al. 2010). In einer Metaanalyse von mehreren mindestens 6 Monate dauernden Studien konnte gezeigt werden, dass der Anteil an Nichtraucher nach Bupropion-Therapie um 1,7-fach höher liegt als unter Placeboeinnahme und damit eine ähnliche Effektivität wie die NRT besitzt (Hughes et al. 2007). Als Nebenwirkungen treten vor allem Schlafstörungen und Kopfschmerzen auf.

Vareniclin ist ein partieller Agonist des bereits erwähnten $\alpha 4\beta 2$ -nAChR. Es bedingt eine teilweise Stimulation dieses Rezeptors bei gleichzeitiger kompetitiver Blockierung der Nikotinbindungstelle. Aufgrund dieser gemischten agonistisch-antagonistischen Funktion kommt es zu einer Verminderung des Wohlfühls beim Rauchen einer Zigarette bei gleichzeitiger Minderung der Entzugssymptomatik und des Verlangens nach einer Zigarette bei abstinenten Rauchern (Faessel et al. 2006, Hays et al. 2008). In Zusammenschau mehrerer mindestens 6 Monate dauernder Studien liegt die Rate erfolgreichen Nichtraucher nach Einnahme von Vareniclin um

2,3-fach (Konfidenzintervall: 1,95–2,80) höher als nach Einnahme eines Placebos. Auch gegenüber den anderen etablierten medikamentösen Therapieverfahren zeigt Vareniclin eine Überlegenheit (1,5-fach höhere Erfolgsrate als unter Bupropion-Therapie sowie 1,3-fach höhere Erfolgsrate als unter NRT) (Cahill et al. 2008). Als unerwünschte Medikamentenwirkungen treten vor allem Übelkeit und negative psychische Effekte (darunter suizidales Verhalten) auf (Moore und Furberg 2009).

Weitere medikamentöse Ansätze sind in klinischer Erprobung. Darunter Nortryptilin, ein trizyklisches Antidepressivum; Monoaminoxidase (MAO)-Inhibitoren wie Moclobemid (Hemmer der MAO-A) und Selegilin (MAO-B-Hemmer) und Rimonabant, ein Cannabinoid-1(CB1)-Rezeptorantagonist. Außerdem sind Anti-Nikotin-Impfstoffe in Erforschung, welche die Bildung von Nikotin-spezifischen Antikörpern bedingen sollen, deren Bindung die Passage des Nikotins durch die Blut-Hirn-Schranke verhindern soll (McNeil et al. 2010).

II.2 Elektrophysiologie

II.2.1 Grundlagen des Elektroenzephalogramms (EEG)

Die Elektroenzephalographie wurde 1924 von Hans Berger in Jena entdeckt. Es handelt sich dabei um eine nicht invasive Methode, bei der mit Hilfe von Oberflächenelektroden elektrische Potentialschwankungen an der Schädeloberfläche aufgezeichnet werden (Heil und Rösler 2000). Im Gegensatz zu anderen Verfahren der funktionellen Bildgebung (fMRT, PET, SPECT), die anhand der Hirndurchblutung, Glukoseutilisation oder Sauerstoffsättigung lediglich indirekt auf die neuronale Aktivität des Gehirns schließen können, bildet das EEG unmittelbare Korrelate neuronaler Massenaktivität ab und kann zwischen exzitatorischer und inhibitorischer neuronaler Aktivität differenzieren. Aufgrund eines hohen zeitlichen Auflösungsvermögens erlaubt das EEG eine dynamische Analyse der Hirnfunktion im Millisekundenbereich, womit auch informationsverarbeitende und kognitive Prozesse erfasst werden können. Zu den Nachteilen des EEG zählt unter anderem die geringe räumliche Auflösungskraft (Gallinat und Hegerl 1998).

Die Grundlage der ableitbaren Potentialschwankungen an der Schädeloberfläche stellen elektrische Vorgänge bei der Erregungsübertragung von einer Nervenzelle

auf die andere durch Synapsen dar. Diese Erregungsübertragung erfolgt durch die Ausschüttung von Neurotransmittern wie z. B. Glutamat oder GABA. Diese diffundieren durch den synaptischen Spalt zum Zielneuron und führen dort über eine Änderung der transmembranösen Ionenströme zu Schwankungen des Ruhemembranpotentials (RMP) in Form von postsynaptischen Potentialen (PSP). Inhibitorische postsynaptische Potentiale (IPSP) bewirken durch eine Erhöhung des RMP (Hyperpolarisation) eine Hemmung der Aktivität des Zielneurons, wohin gegen exzitatorische postsynaptische Potentiale (EPSP) durch eine Verringerung des RMP (Depolarisation) zu einer Aktivitätserhöhung des Neurons führen. Die dabei auftretenden intrazellulären Stromflüsse bedingen gegensätzliche Stromflüsse im Extrazellulärraum. Dabei entstehen Feldpotentiale, die sich im Gehirn ausbreiten und als Einzelzeldipole zwischen Soma und Dendriten beschrieben werden können. Aufgrund der senkrechten Ausrichtung der für das EEG relevanten kortikalen Pyramidenzellen und der gegensätzlichen Polarität von Soma und Dendriten bei der Entstehung von postsynaptischen Potentialen, sind diese Dipole senkrecht zur Kortexoberfläche orientiert. Bei gleichzeitiger Aktivität größerer Neuronenverbände eines umschriebenen Kortexareal führt die Summation der Einzelzeldipole zu messbaren Potentialschwankungen an der Schädeloberfläche (Gallinat und Hegerl 1998, Zschocke 2002). Dafür ist laut Lopes da Silva (1993) die synchrone Aktivität von mindestens 10^4 bis 10^7 Nervenzellen erforderlich.

II.2.2 Grundlagen ereigniskorrelierter Potentiale

Im Gegensatz zu der durch das Spontan-EEG abgebildeten kontinuierlichen Gehirnaktivität können ereigniskorrelierte Potentiale (EKP) als spezifische Antworten des Gehirns auf definierte Ereignisse angesehen werden (Picton et al., 2000). Man versteht darunter alle im EEG messbare elektrokortikalen Potentiale, die vor, während und nach einem sensorischen, motorischen oder psychischen Ereignis zeitsynchron und phasenstarr auftreten (Birbaumer und Schmidt 2003). Die EKPs sind in ihrer Amplitude (1-30 μV) sehr viel kleiner als das Spontan-EEG (1-200 μV) und werden daher von diesem überlagert. Mit Hilfe der Mittelung („Averaging“) von EEG-Zeitabschnitten äquivalenter Ereignisse („Signale“) werden die unabhängig von diesem Ereignis variierenden Aktivitäten („Rauschen“) herausgemittelt, während die elektrokortikalen Antworten, die mit gleicher Form und Phase auftreten, als

gemitteltes Potential sichtbar werden und das Signal-Rausch-Verhältnisses sich somit zunehmend verbessert.

Das EKP weist Schwingungen in positiver und negativer Richtung auf, die als Komponenten bezeichnet werden und eine bestimmte Amplitude und Latenz bezogen auf das auslösende Ereignis besitzen. Die Nomenklatur der einzelnen Komponenten besteht im Allgemeinen aus der Polarität (P = positiv, N = negativ) und der Ordnungszahl der Komponente (z.B. N1, P3). Alternativ zur Ordnungszahl kann auch die Gipfellatenz in Millisekunden angegeben werden (z.B. N100, P300). Weiterhin unterteilt man sie konventionell in exogene und endogene Komponenten. Die exogenen Komponenten (bis etwa 100 ms poststimulus) hängen hauptsächlich von physikalischen Charakteristika des Reizes wie Stimulusintensität oder -modalität ab, wohin gegen die endogenen Komponenten (ab 100 ms poststimulus) spezifische Informationsverarbeitungsprozesse abbilden. Diese zeitliche Trennung ist jedoch unscharf, da sowohl frühe exogene Komponenten z.B. durch Variationen der Aufmerksamkeit als auch späte endogene Komponenten durch Variationen der Stimulusintensität beeinflussbar sind (Hegerl 1998, Hillyard und Anllo-Vento 1998).

II.2.2.1 Akustisch evozierte Potentiale

Die nach Präsentation eines akustischen Stimulus auftretenden akustisch evozierten Potentiale (AEP), die zur Gruppe der ereigniskorrelierten Potentiale (EKP) gehören, werden zeitlich in frühe Hirnstammpotentiale (0-10 ms poststimulus), mittlere (10-100 ms poststimulus) und späte Potentiale (ab 100 ms poststimulus) eingeteilt. Dabei bilden die Hirnstammpotentiale die Aktivität der sensorischen Hörbahn bis zum Thalamus, die mittleren Potentiale die Aktivität spezifischer Projektionsareale des Neokortex und die späten Potentiale Aktivitäten weit auseinander liegender Hirnareale ab. Anhand der oben angeführten Einteilung der EKP-Komponenten abhängig von ihrer Beeinflussbarkeit durch „äußere“ Reize bzw. „innere“ kognitive Prozesse zählen die frühen und mittleren Potentiale des AEP zu den exogenen Komponenten und die späten Potentiale, zu denen auch die P300 gehört, zu den endogenen Komponenten. Ein Beispiel für die Darstellung eines AEP in einem zweidimensionalen Koordinatensystem findet sich in Abbildung 3.

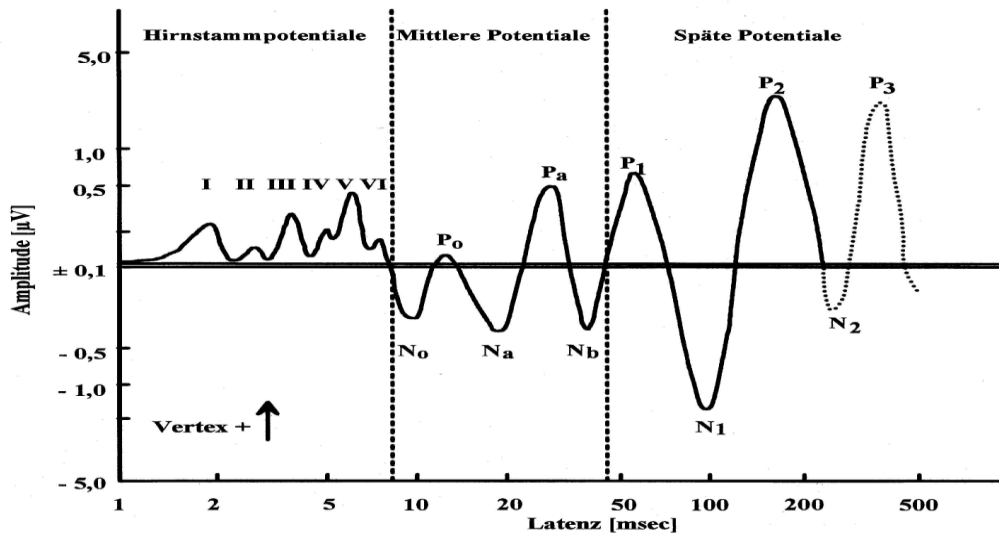


Abbildung 3: Schematische Darstellung der akustisch evozierten Potentiale (AEP). Zeitbereich in logarithmischer Darstellung (aus: Hegerl, 1998: S. 96).

II.2.3 Das ereigniskorrelierte Potential P300

Die P300 wurde erstmals von Sutton et al. (1965) beschrieben und ist die wohl am besten untersuchte Komponente des ereigniskorrelierten Potentials (EKP). Entsprechend der allgemeinen Nomenklatur besitzt sie eine positive Polarität und tritt mit einer Latenz von ca. 300 ms sowohl nach unerwarteten aufgabenrelevanten Stimuli in einer Stimulusreihe als auch im Rahmen anderer Paradigmen auf (Hegerl 1998). Abgeleitet wird die P300 normalerweise an den zentralen Elektroden (Fz, Cz, Pz), wobei sie typischerweise eine steigende Amplitude von frontal nach parietal aufweist (Johnson 1993).

Die P300 ist nach allgemeiner Überzeugung kein einheitliches Potential, sondern stellt die Summation von Aktivitäten verschiedener weit verstreuter Regionen des Gehirns dar (Kok 2001). Sie kann in die frühere P3a oder auch Neuheits-P3 mit frontaler Betonung und in die spätere P3b, die klassische P300, mit parietaler Betonung unterteilt werden (Squires et al. 1975, Friedman et al. 2001).

Diese P3b wird am häufigsten mit dem klassischen Oddball-Paradigma untersucht, bei dem in randomisierter Form dargebotenen seltene Zielreize in einer Reihe von häufigen Standartreizen von der Versuchsperson erkannt werden sollen. Dabei ist die Amplitude der P300 umso größer, je mehr Aufmerksamkeit dem Zielreiz zukommt und je seltener der Zielreiz dargeboten wird (Picton 1992). Eine Erklärung dafür ist in dem Konzept von Kok (2001) zu finden, der die der P300 zugrunde liegenden

kognitiven Prozesse als Ausdruck einer Ereigniskategorisierung sieht. Darunter versteht man im Wesentlichen den Vergleich eines externen Stimulus mit dessen interner Repräsentation, was durch ein Zusammenspiel von Aufmerksamkeit und Arbeitsgedächtnis beeinflusst wird. Durch eine geringe Reizwahrscheinlichkeit und eine erhöhte Aufgabenrelevanz kommt es zu einer verstärkten Aktivierung der mit der Ereigniskategorisierung assoziierten neuronalen Verbindungen und damit zu der Amplitudenvergrößerung der P300.

Die Aufgabenschwierigkeit ist ebenfalls eine Determinante der P300 und führt bei Zunahme eher zu einer Amplitudenverringerng (Picton 1992 u.a.) sowie zu einer Vergrößerung der Latenzzeit (Pfefferbaum et al. 1986 u.a.). Die Latenz der P300 steigt ebenfalls mit zunehmendem Probandenalter und wird als Maß für die Klassifikationsgeschwindigkeit von Stimuli interpretiert, wobei sie negativ mit der kognitiven Leistung korreliert (Polich und Criado 2006).

Die Lokalisation der neuronalen Generatoren der P300 erfolgte mit Hilfe von Läsionsstudien, intrakraniellen EEG-Ableitungen, Quellenanalysen und funktionellen bildgebenden Verfahren (fMRT). Hierbei konnten unter anderem der inferiore Parietallappen bzw. die temporo-parietale Grenzzone (TPJ), der supplementär motorische Kortex (SMA), der vordere cinguläre Kortex (ACC), der superiore temporale Gyrus sowie die Inselregion und der dorsolaterale präfrontale Kortex als Quellen eruiert werden (Mulert et al. 2004). Die P3a wird dabei eher aus den frontalen Arealen und die P3b eher aus den temporo-parietalen Arealen generiert (Polich und Criado 2006).

Bezüglich der an der Generierung der P300 beteiligten Transmittersysteme gibt es keine gesicherten Daten, laut einer Übersichtsarbeit von Polich 2007 sind allerdings für die P3a frontale dopaminerge Einflüsse und für die P3b temporo-parietale noradrenerge Einflüsse hervorzuheben. Passend dazu konnte bei Patienten mit Restless-Legs-Syndrom (RLS) und Parkinson-Syndrom (jeweils Erkrankungen mit einem ursächlichen Dopaminmangel) eine verminderte P300-Amplitude im Vergleich zu gesunden Probanden beobachtet werden. Dieser Effekt war bei der P3a deutlicher ausgeprägt als bei der P3b sowie beim RLS in geringerem Maße vorhanden als beim Parkinson-Syndrom, entsprechend dem Ausmaß des Dopaminmangels (Polich 2007).

II.2.3.1 Physiologische Einflussfaktoren der P300

In mehreren Studien konnte ein Einfluss des Alters auf die Amplitude der P300 gezeigt werden; so ist mit steigendem Alter eine Amplitudenreduktion der P300 zu beobachten (u.a. Dujardin et al. 1993). Außerdem kommt es wie schon erwähnt auch zu einer Zunahme der P300-Latenz mit zunehmendem Alter (Polich und Criado 2006).

Das Geschlecht hat laut einer Übersichtsarbeit von Polich und Herbst nur einen geringen Effekt auf die P300; so haben Frauen eine gering erhöhte Amplitude und leicht verminderte Latenz gegenüber Männern (Polich und Herbst 2000).

Als weitere Einflussfaktoren sind insbesondere Genetik, begleitende psychiatrische Erkrankungen, Substanzeinnahme, Intelligenz sowie die Händigkeit zu nennen.

II.2.3.2 Genetik der P300

Mehrere Zwillings- und Familienstudien erbrachten Hinweise auf den Einfluss genetischer Faktoren auf die P300 (u.a. van Beijsterveldt und Boomsma 1994, O'Connor et al. 1994, Katsanis et al. 1997, Hall et al. 2006). In einer Metaanalyse von 2002 wurde die Heritabilität der P300-Amplitude auf 60% und der P300-Latenz auf 51% geschätzt (van Beijsterveldt und van Baal 2002). Bei monozygoten Zwillingen ist eine nahezu identische P300 im Gegensatz zu dizygoten Zwillingen und vor allem zu unverwandten Kontrollpaaren zu beobachten (Katsanis et al. 1997, O'Connor et al. 1994). Die Heritabilität der P300 spiegelt sich auch bei biologisch verwandten Familienmitgliedern wieder, bei denen die Größen der P300-Komponenten intrafamiliär korrelieren (Polich und Bloom 1999, Eischen und Polich 1994). Dieser Effekt zeigte sich sowohl bei der visuell als auch bei der akustisch evozierten P300.

In einer Studie von Begleiter et al. von 1998 konnten spezifische, die P300 beeinflussende, Genloki u.a. auf den Chromosomen 2 und 6 identifiziert werden. In deren unmittelbarer Nähe befinden sich interessanterweise auch Gene für Glutamat- und Acetylcholinrezeptoren, was einen möglichen funktionellen Zusammenhang nahelegt. Diese Ergebnisse konnten auch in späteren Arbeiten mit größeren Kollektiven bestätigt werden (Porjesz et al. 2002).

II.2.3.3 P300 und Nikotinabhängigkeit

Bei der Untersuchung von Wirkungen des Nikotins muss zwischen akuten und chronischen Effekten differenziert werden. In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass der akute Effekt von Nikotin sowohl bei deprivierten Rauchern als auch bei Nichtrauchern eher mit einer Verbesserung der kognitiven Leistung und einer Erhöhung der P300-Amplitude einhergeht (u.a. Domino 2003). Da in dieser Arbeit jedoch die Nikotinabhängigkeit im Zentrum der Untersuchung steht, sollen hier vor allem die chronischen Effekte des Nikotinkonsums betrachtet werden.

Etlche Studien haben sich in den letzten 10 Jahren mit dem Einfluss des Nikotinkonsums auf das ereigniskorrelierte Potential P300 befasst (u.a. Anokhin et al. 2000, Polich und Ochoa 2004, Neuhaus et al. 2006, Guney et al. 2009). Dabei konnte in der Studie von Anokhin et al. (2000) erstmals eine Amplitudenreduktion der P300 bei Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern gezeigt werden. Neuhaus et al. zeigten in ihrer Arbeit von 2006 zusätzlich zu der Amplitudenreduktion bei aktiven Rauchern auch eine signifikant verminderte P300-Amplitude bei ehemaligen Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern zumindest an der Pz-Elektrode, was darauf hindeutet, dass der Effekt auch nach Beendigung der chronischen Nikotinzufuhr persistiert. Zuletzt konnte eine Amplitudenreduktion der P300 bei Rauchern auch in der Arbeit von Mobascher et al. von 2010 gezeigt werden, wobei hier zusätzlich noch ein signifikanter Zusammenhang zwischen Rauchintensität und dem Ausmaß der Amplitudenreduktion hergestellt werden konnte.

Ob eine erniedrigte P300 bei nichtrauchenden Adoleszenten ein erhöhtes Risiko für eine spätere Nikotinabhängigkeit bedeutet, wurde in einer interessanten Studie von Iacono et al. 2002 untersucht. Hierbei zeigte sich, dass 17-jährige mit einer reduzierten P300-Amplitude im Alter von 20 Jahren häufiger einen Substanzmissbrauch entwickelt hatten und somit der P300-Amplitude ein gewisser prädiktiver Wert zukommen könnte.

II.2.3.4 P300 und weitere psychiatrische Krankheitsbilder

Eine Amplitudenreduktion der P300 wurde nicht nur bei Nikotinabhängigkeit (siehe oben), sondern auch bei anderen Suchterkrankungen, u.a. bei Alkoholismus (Singh und Basu 2009), nachgewiesen. Derselbe Effekt ließ sich ebenfalls bei weiteren psychiatrischen Erkrankungen wie Schizophrenie (Bramon et al. 2005) oder Depression (Anderer et al. 2002) nachweisen. Andersherum konnte in prospektiven

Studien eine verminderte P300-Amplitude bei Adoleszenten gefunden werden, die später eine Suchterkrankung oder einer Persönlichkeitsstörung entwickelten (Carlson et al. 1999, Iacono et al. 2002).

Aber auch bei neurodegenerativen Erkrankungen wie der Alzheimer-Demenz, dem Parkinson-Syndrom und Chorea Huntington können Veränderungen der Amplitude, Latenz und Verteilung der P300 im Vergleich zu Gesunden beobachtet werden, was am ehesten als Ausdruck der verminderten bzw. veränderten kognitiven Funktionen zu werten ist (Guney et al. 2009).

II.3 Genetik

II.3.1 Genetische Grundlagen der Nikotinabhängigkeit

Tabakrauchen ist eine komplexe, multifaktoriell bedingte Verhaltensweise, die in einem hohen Maße durch genetische Faktoren und Umweltfaktoren (sowie ihr Zusammenspiel) moduliert wird.

Die Ansätze zum Verständnis des genetischen Anteils am Rauchverhalten sind vielfältig.

Ein gebräuchliches Verfahren zur Feststellung des genetischen Beitrags zur Entstehung von Verhaltensweisen sind Zwillingsstudien, bei denen monozygote und dizygote Zwillingspaare diesbezüglich miteinander verglichen werden. Dabei wird bei einer genetisch determinierten Verhaltensweise eine höhere Konkordanzrate unter monozygoten Zwillingspaaren im Vergleich zu den Dizygoten erwartet. Dies wurde für das Tabakrauchen erstmals 1958 durch Fischer gezeigt und seither in mehreren Studien bestätigt (Carmelli et al. 1992, Sullivan und Kendler 1999 u.a.). Dabei betrug der genetische Beitrag zum Rauchverhalten schätzungsweise zwischen 46% und 84% (Batra et al. 2003). Im Anschluss wurde bei diesen Heritabilitätsuntersuchungen zunehmend zwischen verschiedenen Aspekten des Rauchverhaltens unterschieden, darunter Rauchbeginn, Regelmäßigkeit des Konsums, Entwicklung einer Abhängigkeit, Konsummenge und Fähigkeit, mit dem Rauchen aufzuhören. Dabei überlappen die genetischen Risikofaktoren nur teilweise zwischen den verschiedenen Aspekten des Zigarettenrauchens. Es gibt Hinweise darauf, dass genetische Aspekte insbesondere bedeutsam für die Aufrechterhaltung und die fehlende Fähigkeit zur Beendigung der Nikotinabhängigkeit sind, während

Umweltfaktoren eher für den Rauchbeginn und in der Anfangsphase des Rauchens eine wichtige Rolle spielen (Heath et al. 1993, Heath und Martin 1993).

Wie bei anderen Krankheiten mit komplexer Ätiologie bedingt jedes einzelne Gen wahrscheinlich nur einen Teil der Anfälligkeit für die Nikotinabhängigkeit und letztendlich bestimmen die Interaktionen mehrerer Gene das entsprechende Risiko. Dabei sind insbesondere solche Gene, die am Nikotinmetabolismus oder der Nikotinantwort beteiligt sind, biologisch plausible risikomodulierende Faktoren und können im Rahmen von Fall-Kontrollstudien zwischen Rauchern und Nichtrauchern als Kandidatengene dienen. Dazu gehören unter anderem Gene für nikotinische Acetylcholinrezeptoren, für Dopaminrezeptoren und -transporter, für GABA-Rezeptoren, für Serotonintransporter, für Opiat- und Cannabinoidrezeptoren sowie für Nikotin abbauende Enzyme wie CYP2A6 (Ho und Tyndale 2007).

Genomweite Kopplungsanalysen dienen der Detektion von potentiell relevanten chromosomalen Regionen und deren anschließender Assoziation mit möglichen Kandidatengenen.

Eine weitere Möglichkeit zur Identifikation von potentiell relevanten Genen ist die Durchführung von genomweiten Assoziationsstudien (GWAS). Eine der ersten GWAS bezüglich der Nikotinabhängigkeit wurde 2007 durch Bierut et al. durchgeführt. Hierbei wurde das Genom abhängiger Raucher mit demjenigen nicht-abhängiger Raucher bezüglich vorliegender Single-Nukleotid-Polymorphismen (SNP) verglichen, um funktionelle SNPs mit einem Einfluss auf die Nikotinabhängigkeit zu detektieren. Saccone et al. konnten damit 2007 eine Assoziation zwischen Varianten der CHRNA5 und CHRNB3 Gene und der Nikotinabhängigkeit zeigen.

Als interessanter Kandidat galt hierbei in den letzten Jahren auch der SNP rs16969968, für den sich in mehreren unabhängigen Studien eine Assoziation mit der Nikotinabhängigkeit zeigte (Saccone et al. 2007, Spitz et al. 2008, Weiss et al. 2008). Hierbei handelt es sich um einen nichtsynonymen SNP im CHRNA5-Gen, ein zum CHRNA5-CHRNB3-CHRNB4-Gencluster in der chromosomalen Region 15q24-25.1 gehörendes Gen, welches für die $\alpha 5$ -Untereinheit des nikotinischen Acetylcholinrezeptors kodiert. Dieser SNP bedingt einen Austausch von Asparaginsäure (codiert durch das G-Allel) und Asparagin (codiert durch das seltenere A-Allel) an Aminosäure-Position 398 (D398N) im CHRNA5-Gen und es konnte in einem *in vitro* Experiment gezeigt werden, dass solche $\alpha 4\beta 2\alpha 5$ -Rezeptoren

eine verminderte maximale Antwort auf den Nikotinagonisten Epibatidin zeigten gegenüber $\alpha 4\beta 2\alpha 5$ -Rezeptoren mit Asparaginsäure an der entsprechenden Position (D398) (Bierut et al. 2008). Das mit dem SNP rs16969968 assoziierte erhöhte Risiko für Nikotinabhängigkeit könnte als durch die reduzierte Funktion des $\alpha 4\beta 2\alpha 5$ -Nikotinrezeptors bedingt sein (Hartz und Bierut 2010). Die Beobachtung, dass eine reduzierte Funktion des nAChR mit einem erhöhten Risiko für Nikotinabhängigkeit assoziiert ist, stimmt mit Beobachtungen überein, wonach Individuen mit rascher Nikotinverstoffwechslung (z.B. durch Varianten des CYP2A6) und entsprechend verminderter Rezeptoraktivierung pro Zigarette ebenfalls ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer Nikotinabhängigkeit besitzen (Kubota et al. 2006, Audrain-McGovern et al. 2007).

II.3.2. Der CHRNA4-Genpolymorphismus rs1044396 und seine Bedeutung

Das für die $\alpha 4$ -Untereinheit des nAChR kodierende CHRNA4-Gen liegt in einem hochpolymorphen Bereich auf dem langen Arm des Chromosoms 20 (20q13.2-13.3). Es besteht aus 6 Exons und hat eine Größe von etwa 17 Kilobasen (kb) (Steinlein et al. 1996). Genetische Variationen des CHRNA4-Gens konnten mit verschiedenen neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen in Zusammenhang gebracht werden (Chu et al. 2011). So konnten z.B. bisher 4 Mutationen des CHRNA4-Gens mit dem Auftreten der seltenen autosomal dominanten Form der nächtlichen Frontallappenepilepsie (ADNFLE) in Zusammenhang gebracht werden (Espeseth et al. 2007). Auch bei der Aufmerksamkeitsdefizits-/Hyperaktivitätsstörung (ADHS) und bei der Demenz vom Alzheimer Typ (DAT) konnten Zusammenhänge mit Polymorphismen des CHRNA4-Gens nachgewiesen werden (u.a. Kent et al. 2001, Kawamata und Shimohama 2002)

Der in dieser Arbeit untersuchte SNP rs1044396 wurde erstmals von Steinlein und Kollegen beschrieben (Steinlein et al. 1997). Er befindet sich auf Exon 5 des CHRNA4-Gens an der DNA-Position 1629 und kann in Form eines T-Allels (mit Thymin an dieser Position) und eines C-Alles (mit Cytosin an dieser Position) vorliegen (initial wurde der SNP an DNA-Position 1545 als T1545C beschrieben, was in älteren Arbeiten noch auftaucht). Dieser Basenaustausch bedingt allerdings keine Veränderung der Aminosäuresequenz, so dass bei beiden Allel-Formen die Aminosäure Serin an Position 543 vorliegt, weshalb man diesen SNP als synonymen

Einzelnukleotidpolymorphismus bezeichnet (Espeseth et al. 2007). In Abbildung 4 ist die Lokalisation des SNP auf dem Chromosom 20 schematisch dargestellt.

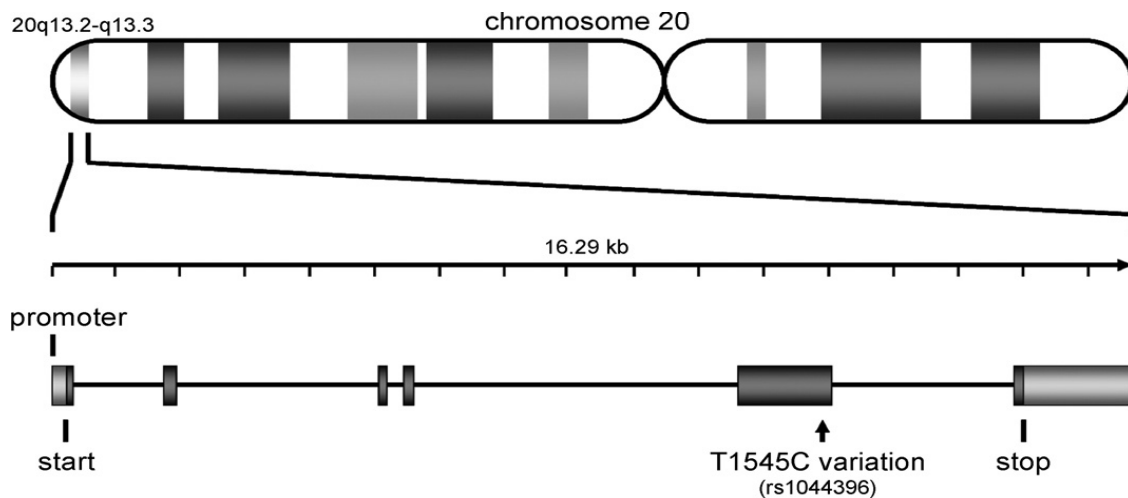


Abbildung 4: Schematische Darstellung des Chromosoms 20 (oberer Teil der Abbildung) und des CHRNA4-Gens (unterer Teil der Abbildung) des menschlichen Genoms. Der hellgraue Streifen am äußersten linken Ende des Chromosoms ist die Lokalisation des CHRNA4-Gens mit einer Größe von ca. 17 kb. In der Vergrößerung ist das CHRNA4-Gen mit Promoter und Exons dargestellt, der SNP rs1044396 auf Exon 5 ist mit einem Pfeil markiert (aus Espeseth et al. 2007)

Die Auswirkungen des Genotyps des SNP rs1044396 auf die Nikotinabhängigkeit und verschiedene spezifische Faktoren des Rauchverhaltens wurden in den letzten Jahren in mehreren internationalen Arbeiten untersucht.

In einer Studie von Feng et al. konnte 2004 ein protektiver Effekt des T-Allels des SNP rs1044396 auf die Entstehung einer Nikotinabhängigkeit bei chinesischen Männern beobachtet werden. In einer Arbeit von Li et al. 2005 konnte dieser Effekt bei amerikanischen Familien afrikanischer und europäischer Herkunft allerdings nicht bestätigt werden, es zeigte sich lediglich ein geringer Einfluss des Genotyps auf die Quantität des Rauchens bei dem europäisch-amerikanischen Kollektiv.

Breitling et al. konnte 2009 in einer großen Studie mit ca. 5500 deutschen Probanden erneut einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem SNP rs1044396 und der Nikotinabhängigkeit beobachten. In einer Arbeit von Etter et al. konnte 2009 ein Einfluss des SNP auf den Cotiningehalt im Speichel (Cotinin ist ein Abbauprodukt des Nikotins) gezeigt werden, mit einem allerdings nur vor statistischer Korrektur signifikant erhöhtem Gehalt bei Probanden mit dem CC-Genotyp des rs1044396. In einer Studie von Chu et al. 2011 konnte neben einem Zusammenhang mit der

Nikotinabhängigkeit auch erstmals eine Assoziation zwischen Rauchbeginn und dem SNP rs1044396 bei chinesischen Männern gezeigt werden (signifikant erhöhtes Risiko von Probanden mit TC-Genotyp). Spruell et al. fanden 2012 in ihrer Studie zur Beendigung des Rauchens allerdings keinen signifikanten Zusammenhang mit dem Genotyp des SNP rs1044396 und der Fähigkeit der Probanden, mit dem Rauchen aufzuhören. Zuletzt konnte in der Arbeit von Kamens et al. von 2013 erneut ein signifikanter Zusammenhang zwischen Genotyp des SNP rs1044396 und dem Risiko einer Nikotinabhängigkeit hergestellt werden.

Einen Zusammenhang zwischen dem SNP rs1044396 und der Funktion des Aufmerksamkeitsnetzwerks konnte in einer Arbeit von Winterer et al. 2007 gezeigt werden, wo sich mittels fMRT dargestellte genotyp-abhängige Effekte auf die Aktivität im supplementär motorischen Kortex, im anterioren cingulären Kortex und im Parietalcortex nach Bearbeitung einer visuellen Oddball-Aufgabe fanden. In einer Arbeit von Greenwood und Kollegen von 2012 wird eine mögliche Verbindung zwischen dem T-Allel des SNP rs1044396 und einer verbesserten Fähigkeit zur Aufmerksamkeitsfokussierung beschrieben. Außerdem wird in dieser Arbeit auch die Vermutung geäußert, dass der betreffende SNP einen wichtigen Einfluss auf die Aktivität in der temporo-parietalen Grenzzone (TPJ) haben könnte. Dies stellt eine Verbindung zum ereigniskorrelierten Potential P300 her, für das die temporo-parietale Grenzzone einen vermutlich wichtigen Generator darstellt (siehe oben Abschnitt I.2.3).

In einer interessanten Arbeit von Markett et al. von 2013 konnten erst kürzlich mittels funktioneller bildgebender Verfahren Einflüsse von Varianten des SNP rs1044396 (in Zusammenspiel mit Varianten des SNP rs6277 im Dopamin-2-Rezeptorgen (DRD2)) auf das Volumen der grauen Substanz im Striatum gezeigt werden. So fanden sich bei Trägern der Genotypkombination CHRNA4 T/T und DRD2 C/C zum einen eine signifikante Volumenreduktion der grauen Substanz im rechten Putamen und zum anderen ein positiver Effekt auf die Kapazität des Arbeitsgedächtnisses. Letzteres konnte auch schon in vorigen Arbeiten gezeigt werden (Markett et al. 2010).

In weiteren aktuellen Arbeiten konnten auch Zusammenhänge zwischen dem SNP rs1044396 und Internetabhängigkeit, negativer Emotionalität/Neigung zu negativen Emotionen sowie Entwicklung von Depressionen und Einsamkeitsgefühl bei älteren Menschen hergestellt werden (Markett et al. 2011, Montag et al. 2012, Tsai et al. 2012).

II.4 Abgeleitete Hypothesen und Fragestellungen

Der folgende Teil der Arbeit beschäftigt sich damit, wie bei Probanden mit Hilfe von elektrophysiologischen Messungen und genetischen Bestimmungen der Zusammenhang zwischen Raucherstatus, definierten Hirnprozessen und genetischer Variabilität untersucht wurde, um auf diese Weise ein besseres Verständnis von den Mechanismen der Nikotinabhängigkeit zu entwickeln

II.4.1 Hypothesen

Wie in Kapitel II.2.3.3 dargestellt, konnte in mehreren Studien ein Einfluss des Raucherstatus auf die Amplitude des ereigniskorrelierten Potentials P300 gezeigt werden, wobei es bei Rauchern zu einer Amplitudenreduktion der P300 kam. Es soll untersucht werden, ob dieser Effekt auch in dem in dieser Arbeit untersuchten Probandenkollektiv repliziert werden kann.

Hypothese 1: *Die Amplitude der P300 ist vermindert bei Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern.*

Varianten des SNP rs1044396 im CHRNA4-Gen konnten wie in Kapitel II.3.2 dargestellt wiederholt mit dem Risiko einer Nikotinabhängigkeit assoziiert werden. In verschiedenen Studien konnte auch ein Einfluss von CHRN-Genpolymorphismen auf das Rauchverhalten gezeigt werden. Es soll untersucht werden, ob dieser Effekt auch in dem in dieser Arbeit untersuchten Probandenkollektiv repliziert werden kann.

Hypothese 2: *Varianten des SNP rs1044396 im CHRNA4-Gen sind mit dem Raucherstatus und dem Rauchverhalten assoziiert.*

II.4.2 Abgeleitete Fragestellungen

In mehreren Studien konnte zudem ein Einfluss von Parametern des Rauchverhaltens auf das Ausmaß der Amplitudenreduktion der P300 gezeigt werden, was in dieser Arbeit zusätzlich untersucht werden soll.

Fragestellung: *Beeinflussen Konsummenge und Summe der Packungsjahre das Ausmaß der Amplitudenreduktion der P300 bei Rauchern?*

Wie in Kapitel II.2.3.2 beschrieben ist die Amplitude der P300 genetisch determiniert und in Studien von Begleiter et al. von 1998 und Porjesz et al. 2002 konnten spezifische, die P300 beeinflussende, Genloki in unmittelbarer Nähe von Genen u.a. für Acetylcholinrezeptoren gefunden werden. Es soll untersucht werden, ob in dieser Arbeit eine Assoziation zwischen dem untersuchten SNP des CHRNA4-Gens und der P300-Amplitude gefunden werden kann.

Fragestellung: *Sind Varianten des SNP rs1044396 im CHRNA4-Gen sind mit der Amplitude der P300 assoziiert?*

Wie bereits erwähnt konnten Varianten des SNP rs1044396 im CHRNA4-Gen wiederholt auch mit dem Risiko einer Nikotinabhängigkeit assoziiert werden. Außerdem zeigte sich in bisherigen Arbeiten eine Amplitudenreduktion der P300 bei Patienten mit verschiedenen psychiatrischen Erkrankungen, u.a. bei der Nikotinabhängigkeit. In einigen Arbeiten konnte ein Zusammenhang zwischen Polymorphismen spezifischer Kandidatengene der jeweiligen Erkrankung und dem Ausmaß der Amplitudenreduktion der P300 hergestellt werden. Daher soll in unserer Arbeit ebenfalls untersucht werden, ob ein Einfluss des untersuchten SNP des CHRNA4-Gens in Interaktion mit dem Raucherstatus auf das Ausmaß der Amplitudenreduktion der P300 vorliegt.

Fragestellung: *Ist die Interaktion von Raucherstatus und Varianten des SNP rs1044396 im CHRNA4-Gen mit dem Ausmaß der Amplitudenreduktion der P300 assoziiert?*

III. Methodik

Die in der Arbeit verwendeten Daten wurden im Rahmen von Studien erhoben, die an der Psychiatrischen Klinik des Campus Charité Mitte (CCM) unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Gallinat erfolgten. Die Studien wurde durch die Ethikkommission der Charité Berlin genehmigt und alle Probanden gaben vor Studienbeginn nach ausführlicher Aufklärung über den Studienablauf ihr schriftliches Einverständnis. Die Erhebung der biografischen Daten, die Durchführung der neuropsychologischen Testungen und elektrophysiologischen Messungen sowie die Akquirierung des biologischen Probenmaterials erfolgte durch mehrere Doktoranden, zu denen auch der Autor dieser Arbeit zählte. Die Auswertung der EEG-Daten sowie die Durchführung der genetischen Bestimmungen erfolgte z.T. an standortfremden zentralen Einrichtungen.

III.1 Probandenrekrutierung und Beschreibung der Stichprobe

III.1.1 Probandenrekrutierung

Die Probanden wurden ausschließlich über randomisierte Namenslisten des Einwohnermeldeamtes rekrutiert, um ein bevölkerungsbasiertes Probandenkollektiv zu erhalten. Dabei wurden die Probanden in einem persönlichen Anschreiben über Ablauf und Ziel der Studie informiert und bei Interesse um Kontaktaufnahme gebeten. In einem telefonischen Vorgespräch (Prescreening) wurden die Probanden bezüglich der Erfüllung folgender Ein- und Ausschlusskriterien befragt.

Einschlusskriterien:

- Alter: mindestens 18 Jahre
- Rauchstatus: aktueller Raucher (mindestens 1 Zigarette/Tag) oder
Nichtraucher (maximal 20 Zigaretten im Leben geraucht)
- Die Großeltern des Probanden stammen aus Deutschland oder einem unmittelbarem Nachbarland (Benelux, Dänemark, Frankreich, Österreich, Polen, Schweiz oder Tschechien)
- Deutschkenntnisse auf Muttersprachlerniveau
- Erhalt eines persönlichen Anschreibens aus dem offiziellen Melderegister

Ausschlusskriterien:

- Ehemalige Raucher
- Alkohol- oder Substanzmissbrauch innerhalb der letzten 6 Monate
- Diagnose einer Alkohol- oder Substanzabhängigkeit in der Anamnese
- Andere psychiatrische Diagnose (Achse-1-Störung nach DSM-IV) in den letzten 6 Monaten
- Schwere Beeinträchtigungen des Seh- oder Hörvermögens
- Schwangerschaft
- ZNS relevante Medikation innerhalb der letzten 6 Monate (z.B. Psychopharmaka)
- ZNS relevante Erkrankung in der Anamnese (Hirnverletzungen, Epilepsie, Koma, Multiple Sklerose, Demenz, Hirninfarkt/Schlaganfall, HIV)

Nach dem Prescreening wurden alle eingeladenen Probanden am Studientag noch einmal auf die Erfüllung der oben genannten Kriterien mittels Screening-Bogen des SCID-I (auf das Vorliegen psychiatrischer Erkrankungen lt. DSM-IV) und kurzer, zielbezogenen Anamnese und körperlichen Untersuchung getestet. So konnten letztendlich 121 Raucher und 156 Nichtraucher als Kontrollprobanden in die Studie eingeschlossen werden.

III.1.2 Beschreibung der Stichprobe

Die Stichprobe setzt sich aus insgesamt 277 Probanden zusammen. Davon sind 151 Frauen (54,5%) und 126 Männer (45,5%). Die Kontrollgruppe der Nichtraucher umfasst 156 Probanden, davon 87 Frauen (55,8%) und 69 Männer (44,2%). Die Gruppe der Raucher umfasst insgesamt 121 Probanden, davon 64 Frauen (52,9%) und 57 Männer (47,1%). Statistisch unterscheiden sich beide Kollektive nicht signifikant in ihrer Zusammensetzung ($p=0,633$).

Das durchschnittliche Alter des Gesamtkollektivs beträgt 37,6 Jahre. Die Nichtraucher sind durchschnittlich 39,0 Jahre alt und die Raucher sind durchschnittlich 35,9 Jahre. Hier liegt mit einem p von 0,055 ein grenzwertig signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen vor.

Sowohl bei der Dauer der Schulbildung als auch bei der Dauer der gesamten Ausbildung besteht zwischen Nichtrauchern und Rauchern ein signifikanter

Unterschied. Die Gruppe der Nichtraucher ging durchschnittlich 11,8 Jahre zur Schule gegenüber 11,4 Jahren bei den Rauchern ($p=0,032$). Die gesamte Ausbildungsdauer betrug bei den Nichtrauchern 15,1 Jahre gegenüber 14,4 Jahren bei den Rauchern ($p=0,002$).

Bezüglich der Händigkeit gab es in beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede. Im gesamten Kollektiv gab es vor allem Rechtshänder (173=89,2%), Linkshänder (14=7,2%) und Ambidexter (7=3,6%) waren deutlich seltener vertreten. Fehlende Angaben zur Händigkeit gab es bei 83 Probanden.

In Tabelle 1 wird das untersuchte Kollektiv nochmal zusammenfassend dargestellt.

	Nichtraucher N=156	Raucher N=121
Geschlecht w / m ^(a)	87 / 69	64 / 57
Alter (in Jahren); Mittelwert \pm SD ^(b)	39,0 \pm 14,8	35,9 \pm 11,9
Schulbildung (in Jahren) Mittelwert \pm SD ^(c)	11,8 \pm 1,5	11,4 \pm 1,6
gesamte Ausbildung (in Jahren) Mittelwert \pm SD ^(d)	15,1 \pm 1,9	14,4 \pm 1,8
Händigkeit (rechts / links / ambidexter) <i>fehlend</i> N=83 ^(e)	101 / 6 / 3	72 / 8 / 4

(a) $\chi^2=0,227$; $df=1$; $p=0,633$ (b) $T=1,930$; $df=274,626$; $p=0,055$ (c) $T=2,153$; $df=248,274$; $p=0,032$
(d) $T=3,062$; $df=261,962$; $p=0,002$ (e) $\chi^2 = 1,838$; $df=2$; $p=0,399$

Tabelle 1: Beschreibung des Probandenkollektivs. SD: Standardabweichung.

III.2 Durchführung der Untersuchung und EEG-Messung

III.2.1 Untersuchungsablauf

Die Durchführung der Untersuchungen erfolgte nach einem einheitlichen zeitlichen Ablaufplan jeweils an einem einzelnen Tag in der Zeit von 9 Uhr bis 16 Uhr (ca. 4-5 Stunden pro Proband). Nach ausführlicher Aufklärung des Probanden durch den Studienbetreuer und nachdem dieser schriftlich sein Einverständnis zur Teilnahme an der Studie gegeben hatte, erfolgte das Screening durch erneuter Prüfung der Ein- und Ausschlusskriterien sowie mittels Screening-Bogen des SCID-I (auf das

Vorliegen psychiatrischer Erkrankungen lt. DSM-IV) und kurzer, zielbezogenen Anamnese und körperlichen Untersuchung. Nach dem endgültigen Studieneinschluss wurden die Probanden in die Raucher- bzw. Kontrollgruppe eingeteilt.

Die Datenerhebung umfasste einerseits Fragebögen zu biographischen Daten der Probanden (u.a. Ausbildung und berufliche Situation sowie bei dem Kollektiv der Raucher Fragen zum Rauchverhalten) und andererseits weiterführende Fragebögen zu Aspekten der Persönlichkeit (u.a. NEO-Fünf-Faktoren-Inventar, State-Trait-Angstinventar (STAI)), deren Ergebnisse allerdings in der vorliegenden Arbeit keine weitere Berücksichtigung fanden.

Die Neuropsychologische Testung bestand aus einer neuropsychologische Testbatterie mit verschiedenen Tests der Gedächtnis- und Aufmerksamkeitsfunktion. Die Ergebnisse der neuropsychologischen Testung werden in dieser Arbeit ebenfalls nicht weiter berücksichtigt.

Die EEG-Messung bestand aus der Aufzeichnung des Ruhe-EEGs sowie der akustisch evozierten Potentiale P50 und P300.

Das Kollektiv der Raucher durfte vor Studienbeginn sowie nach Abschluss der EEG-Messungen und der neuropsychologischen Testung eine Zigarette rauchen. Der Abstand zwischen der letzten Zigarette und den EEG-Messungen sollte 1 - 3 Stunden betragen.

Nach Durchführung der neuropsychologischen Testung und der EEG-Messungen erfolgte als abschließendes Element des Studientages die Blutabnahme für die genetischen Untersuchungen.

III.2.2 Durchführung des EEG

Die EEG-Messungen fanden in einem elektromagnetisch abgeschirmten Raum statt. Die Probanden saßen in einem bequemen Sessel mit Armlehnen und Nackenrolle. Sie wurden instruiert, die Augen zu schließen, sich zu entspannen und sich möglichst wenig zu bewegen. Abgeleitet wurde mit einer EEG-Haube (Electrocap, ECI Inc.) nach dem erweiterten 10-20-System (zusätzliche Elektroden waren: FC1, FC2, FC5, FC6, T1, T2, CP5, CP6, PO9, PO10). Die Elektrode zur Kontrolle von Augenbewegungen wurde 1 cm lateral des linken Augenrandes angebracht. Als Referenzelektrode diente die Cz- Elektrode. Als Erdung diente eine Elektrode rostral

der Fz-Elektrode. Die Leitfähigkeit aller Elektroden lag unter 10 k Ω . Die Aufnahme des EEG erfolgte mit einem Pentium-III Personal-Computer und dem EEG-System ‚Neuroscan SynAmps Modell 5083‘. Die Abtastrate betrug 500 Hz. Die akustischen Stimuli wurden von einem Pentium-I Personal-Computer mit ‚Creative Labs Soundblaster 16‘-Soundkarte erzeugt und binaural über einen Kopfhörer dem Probanden zugeleitet. Für die Durchführung der Aufgaben stand den Probanden eine Maus mit zwei Tasten zur Verfügung. Alle elektronischen Gerätschaften sowie der Untersucher befanden sich in einem vom Probanden getrennten Raum. Durch ein Fenster bestand Sichtkontakt.

Zuerst wurde eine 5-minütige Ruhe-EEG Messung durchgeführt. Anschließend folgte nach kurzer Erholungspause die Präsentation des P50-Paradigmas. Hierbei wurden innerhalb von 12 Minuten insgesamt 168 Doppelstimuli (Rechtecksignale, 1 ms Dauer pro Klick, 100 dB SPL, 500 ms Interstimulusintervall) präsentiert. Nach einer weiteren kurzen Ruhepause erfolgte die Messung des akustisch evozierten Potentials P300 mittels eines „Auditory oddball task“. Hierbei wurden insgesamt 240 akustische Stimuli von 50 ms Dauer (einschließlich Anstiegs- und Abfallzeit) in zwei unterschiedlichen Tonhöhen binaural in einer Lautstärke von 70 dB dargeboten. Der seltene, ereignisrelevante Stimulus war ein Sinuston von 2000 Hz und machte 20% der gesamten Stimulianzahl aus. Der häufige, nicht-ereignisrelevante Stimulus war ein Sinuston von 1500 Hz und machte die restlichen 80% der Stimulianzahl aus. Bei Auftreten des ereignisrelevanten Tons sollten die Probanden schnellstmöglich und so korrekt wie möglich per Klick auf die linke Maustaste mit ihrer rechten Hand reagieren. Die Reihenfolge der Töne war (pseudo-) randomisiert und das durchschnittliche Interstimulusintervall betrug 1750 ms (zwischen 1500-2000 ms).

III.2.3 Auswertung der EEG-Daten und Ermittlung der P300-Amplituden

Die Auswertung der EEG-Daten erfolgte halbautomatisch unter visueller Kontrolle. Amplituden größer $\pm 70 \mu\text{V}$ in einem der 32 Kanäle wurden als Artefakte gewertet und von der weiteren Analyse ausgeschlossen. Im Durchschnitt kam es zu 46,2 artefaktfreien und korrekt beantworteten ereignisrelevanten Stimuli aus einer Gesamtmenge von 48 Stimuli. Es gab hierbei keinen relevanten Unterschied zwischen Nichtrauchern und Rauchern. Danach erfolgte die Segmentierung der Daten (Segmentlänge: 200 ms prästimulus bis 800 ms poststimulus), eine digitale Filterung (highpass-Filter: 70 Hz, 24 dB/Octave, Roll-off, Notch-Filter: 50 Hz), eine

Nulllinienkorrektur anhand des Prästimulusintervalls und die Mittelung der Einzelsegmente.

III.3 Gewinnung und Auswertung des genetischen Materials

Die Blutentnahme erfolgte am Ende des Studientages mit dem Vacutainer-System aus der Kubitalvene. Es wurden 2 x 9 ml Blut (Probe A und B) in EDTA Röhrchen von jedem Probanden entnommen. Alle Proben wurden bis zum Transport bei -20°C gelagert und an das „Center for Genomics“ der Universität Köln zur genetischen Analyse versandt.

Die elektrophoretische Auftrennung, Fluoreszenzdetektion und Datenanalyse erfolgte mit einem automatischen Sequenziergerät (TaqMan, PE Applied Biosystems, Foster City, California, USA). Als Primer wurden die von den Herstellern zur Verfügung gestellten Taqman MGB Proben und Primer verwendet. Mithilfe dieses Verfahrens werden sämtliche Schritte in einem einzelnen automatisierten Vorgang bearbeitet. Es beruht auf der Detektion von festgelegten Genotypen mittels einer hochauflösenden Laserkamera. Auf einem vorgefertigten Chip sind die einzelnen Felder von Arrays mit einzelsträngigen DNA-Stücken beschichtet. Durch die Zugabe der mit einem Fluoreszenzfarbstoff markierten Untersuchungsproben binden diese bei komplementärer Basenabfolge an die DNA auf dem Chip. Dieser Vorgang wird Hybridisierung genannt und ist Allel-spezifisch. Die so entstehenden Mischfarben können aufgrund von Intensität und Wellenlänge durch die Laserkamera identifiziert und anschließend anhand ihrer Position in den entsprechenden Genotyp übersetzt werden.

Der SNP rs1044396 wurde als funktionaler Ausdruck des CHRNA4 Gens gewählt. Die Genotypisierung erfolgte mit der SNP Probenentnahme. Die Proben wurden mit dem „GeneAmp PCR System 9700 thermocyclers“ (Applied Biosystems) amplifiziert. Die allelische Diskriminierung erfolgte über die Messung der Fluoreszenzintensität der Darstellung am Endpunkt der Polymerasekettenreaktion, hierfür wurde das ABI Prism 7900 HT System und die SDS Software Version 2.1 (Applied Biosystems) verwendet. Alle Laboruntersuchungen erfolgten verblindet ohne Kenntnis des Fall-Kontroll-Status.

III.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Statistik Softwarepaket SPSS Version 19.0 für Windows.

Als Testverfahren wurde für die Vergleiche von Mittelwerten der T-Test und für Häufigkeitsvergleiche der Chi²-Test verwendet. Zur Testung des Einflusses von festen Faktoren und Kovariaten auf die abhängigen Variablen wurde eine univariate Kovarianzanalyse (ANCOVA), beim Vorliegen mehrerer abhängiger Variablen eine multivariate Kovarianzanalyse (MANCOVA) verwendet.

Der Kolmogorov-Smirnov Test diente der Überprüfung auf Normalverteilung, der Levene-Test der Überprüfung auf Varianzenhomogenität.

Die Korrelationsanalysen erfolgten bei normalverteilten Variablen mittels Produkt-Moment-Korrelation nach *Pearson* und bei nicht-normalverteilten Variablen mittels Bildung der Rangkorrelation nach *Spearman*.

Eine statistische Signifikanz wurde angenommen bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von kleiner 5% ($p < 0,05$).

Die graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgte zum großen Teil mittels Balkendiagrammen mit enthaltenen Fehlerbalken zur Darstellung der einfachen Standardabweichung. Die Ergebnisse der Korrelationsanalysen wurden mittels Streudiagramm dargestellt, wobei der lineare Korrelationskoeffizient als farbige Linie eingezeichnet wurde.

IV. Ergebnisse

IV.1 Amplitudenvergleich der P300 bei Nichtrauchern und Rauchern

Zunächst erfolgte der Vergleich der Mittelwerte der jeweiligen P300-Amplituden im Gruppenvergleich mittels einfaktorieller Varianzanalyse (ANOVA). Hier zeigte sich an beiden Ableitelektroden ein signifikanter Gruppenunterschied der Amplitudenmittelwerte. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 dargestellt.

	Nichtraucher	Raucher	F	df	p
P300 Fz	9,1 ± 6,8	7,0 ± 7,3	5.938	1	0,015
P300 Pz	16,5 ± 6,2	13,6 ± 6,2	14.272	1	< 0,001

Tabelle 2: Mittelwerte der P300-Amplitude (μV) mit Standardabweichung

IV.1.1 Überprüfung auf Normalverteilung und Varianzhomogenität

Die Überprüfung der Normalverteilung der P300-Amplituden erfolgte mittels Kolmogorov-Smirnov Anpassungstest (KSA). Hier ergaben sich an den jeweiligen Elektroden keine Hinweise auf eine signifikante Abweichung der Amplituden von der Normalverteilung.

Mittels Levene Test auf Gleichheit der Varianzen konnte an beiden Elektroden eine Varianzhomogenität der Amplituden gezeigt werden.

Tabelle 3 zeigt die Ergebnisse beider Untersuchungen.

	Kolmogorov-Smirnow-Test		Levene-Test	
	Z	p	F	p
P300 Fz	0,662	0,774	0,284	0,594
P300 Pz	0,680	0,744	1,150	0,284

Tabelle 3: Kolmogorov-Smirnow-Test auf Normalverteilung und Levene Test auf Varianzhomogenität

IV.1.2 Amplitudenvergleich der P300 an den jeweiligen Elektroden

Der Amplitudenvergleich der P300 an der Fz- und Pz-Elektrode zwischen Nichtrauchern und Rauchern erfolgte mittels multivarianter Kovarianzanalyse (MANCOVA) mit der jeweiligen P300-Amplitude als abhängige Variable, der

Gruppenzugehörigkeit (Nichtraucher/Raucher) als Einflussfaktor und dem Alter sowie dem Geschlecht als Kovariaten.

Fz-Elektrode

An der Fz-Elektrode zeigte sich ein signifikanter Amplitudenunterschied der P300 zwischen Nichtrauchern und Rauchern ($F=4,251$; $df=1$; $p=0,040$).

Die Kovariate Alter zeigte ebenfalls einen signifikanten Einfluss auf die Amplitude der P300 ($F=9,571$; $df=1$; $p=0,002$). Der Einfluss des Geschlechts auf die abhängige Variable zeigte sich an der Fz-Elektrode als nicht signifikant ($F=3,097$; $df=1$; $p=0,080$).

Pz-Elektrode

An der Pz-Elektrode zeigte sich ein sogar hoch signifikanter Einfluss der Gruppenzugehörigkeit auf die Amplitude der P300 ($F=22,377$; $df=1$; $p<0,001$).

Bei den Kovariaten Alter und Geschlecht fand sich an der Pz-Elektrode ebenfalls ein jeweils hochsignifikanter Einfluss auf die Amplitudengröße der P300 (Alter: $F=36,580$; $df=1$; $p<0,001$; Geschlecht: $F=27,845$; $df=1$; $p<0,001$).

In den folgenden Balkendiagrammen (Abbildung 5) sind die Mittelwerte der P300-Amplituden von Nichtrauchern und Rauchern an den jeweiligen Zielelektroden Fz und Pz dargestellt.

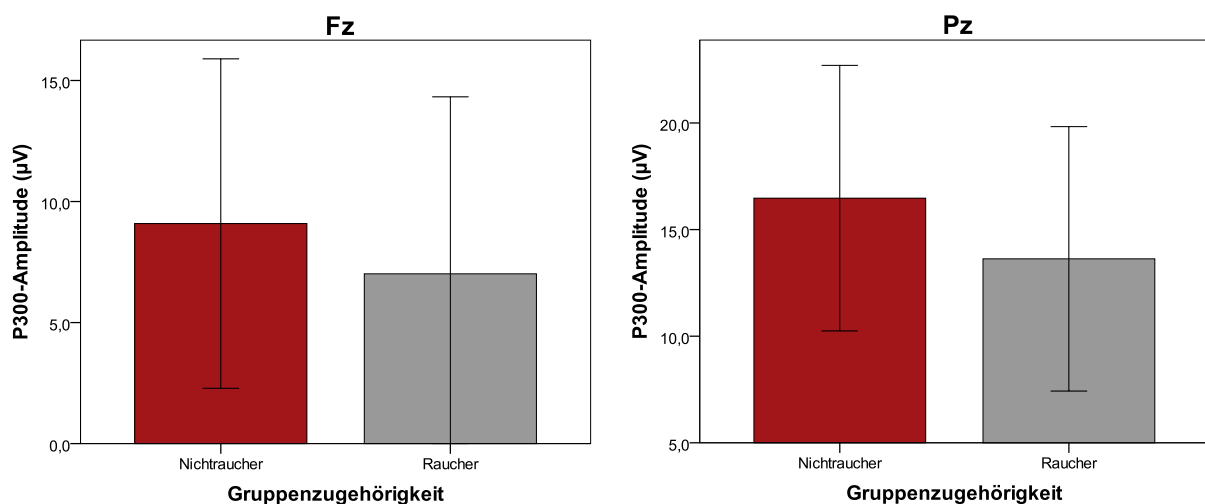


Abbildung 5: Mittelwert der P300-Amplitude im Gruppenvergleich an der Fz- und Pz-Elektrode (Fehlerbalken: +/- 1 SD)

IV.2 Einfluss der Kovariaten auf die Amplitude der P300

IV.2.1 Geschlecht

Die Überprüfung des Einflusses des Geschlechts auf die P300-Amplitude erfolgte mittels T-Test.

An der Fz-Elektrode zeigte sich wie auch in den oben beschriebenen Resultaten der MANCOVA kein signifikanter Einfluss des Geschlechts auf die P300-Amplitude ($T=-1,485$, $df=275$; $p=0,136$).

An der Pz-Elektrode zeigte sich dagegen wie schon in den MANCOVAs ein hochsignifikanter Unterschied der P300-Amplituden zwischen Frauen und Männern ($T=-5,532$; $df=275$; $p<0,001$), wobei Frauen eine deutlich höhere P300-Amplitude aufwiesen. Dieser Effekt blieb auch nach Analyse unter Hinzunahme der Gruppenzugehörigkeit als Kovariate bestehen.

Die Ergebnisse des Geschlechtereinfluss auf die P300-Amplitude an den Zielelektroden sind in Tabelle 4 aufgeführt und in Abbildung 6 graphisch mittels Balkendiagrammen dargestellt.

	Frauen	Männer	T	df	p
P300 Fz	8,8 ± 7,5	7,5 ± 6,5	-1,485	275	0,136
P300 Pz	17,1 ± 6,4	13,0 ± 5,5	-5,532	275	< 0,001

Tabelle 4: Mittelwerte der P300-Amplitude (μV) mit Standardabweichung

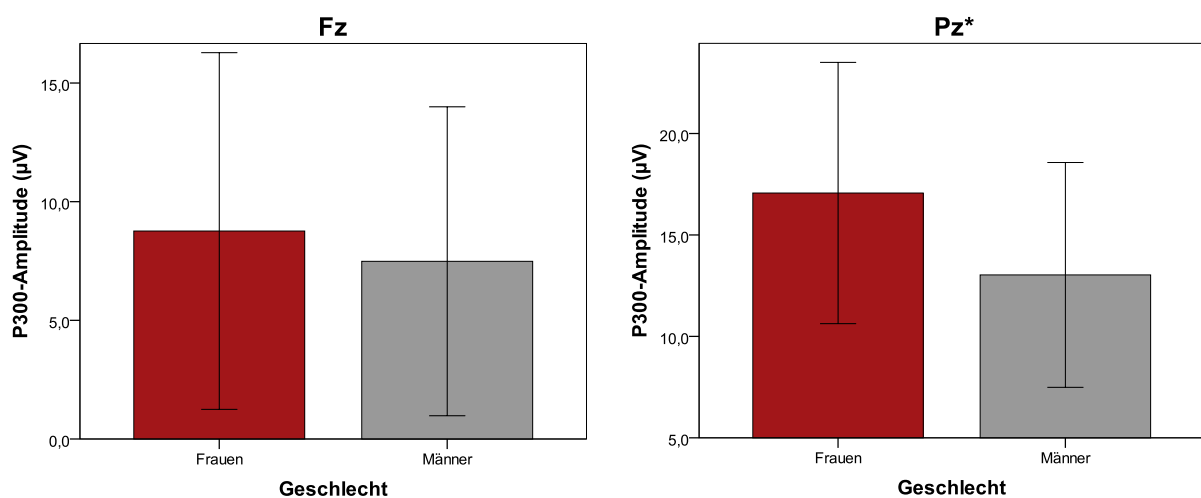


Abbildung 6: Amplitude der P300 in Abhängigkeit vom Geschlecht an der Fz- und Pz-Elektrode (* = signifikanter Effekt; $p<0,05$), (Fehlerbalken: ± 1 SD)

IV.2.2 Alter

Die Überprüfung des sich in den vorangehend dargestellten MANCOVAs präsentierenden signifikanten Einflusses des Alters auf die P300-Amplitude erfolgte mittels Produkt-Moment-Korrelation nach *Pearson*.

An der Fz-Elektrode zeigte sich eine signifikante positive Korrelation zwischen Alter und P300-Amplitude ($r=0,187$; $p=0,002$), d.h. mit steigendem Alter der Probanden kommt es zu einem Anstieg der P300-Amplitude an der Fz-Elektrode.

An der Pz-Elektrode zeigte sich eine hoch signifikante negative Korrelation zwischen Alter und der P300-Amplitude ($r=-0,320$; $p<0,001$), d.h. mit steigendem Probandenalter kommt es zu einer signifikanten Reduktion der P300-Amplitude an der Pz-Elektrode.

Die jeweiligen Effekte sind mittels Streudiagramm in Abbildung 7 dargestellt.

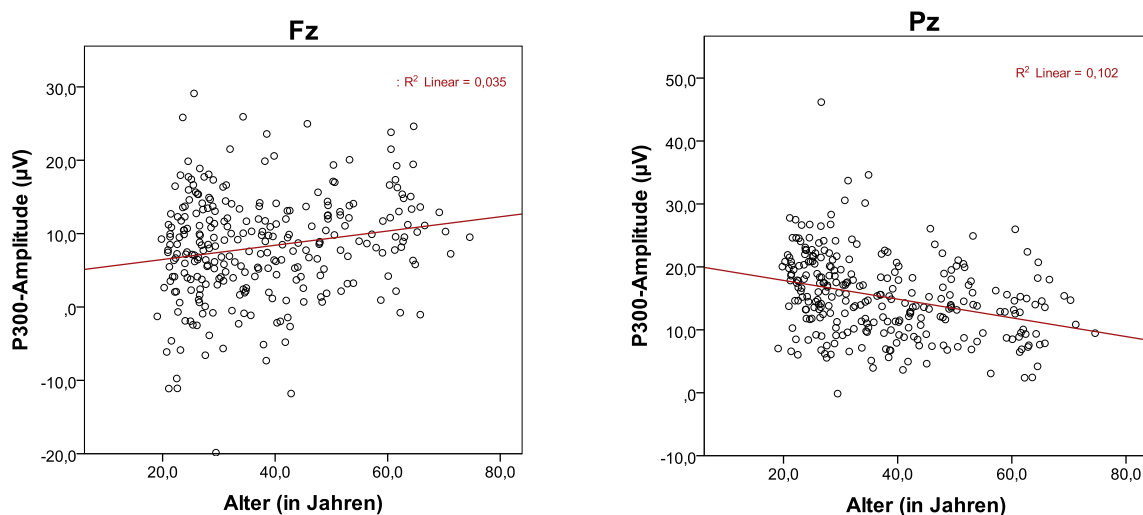


Abbildung 7: Amplituden der P300 in Korrelation zum Alter an der Fz- und Pz-Elektrode

IV.3 Einfluss von Parametern des Rauchverhaltens auf die P300-Amplitude

Hier sollen die Ergebnisse dargestellt werden, die bei der Untersuchung des Einflusses der täglich durchschnittlich konsumierten Zigaretten (Zigaretten/d) sowie die Summe der Packungsjahre auf die P300-Amplitude an den jeweiligen Zielelektroden herausgestellt werden konnten. Die Mittelwerte der Parameter sind in Tabelle 5 dargestellt.

Raucher N=121	
Zigaretten/d; Mittelwert \pm SD N=117; <i>fehlend</i> =4	14,2 \pm 9,6
Summe der Packungsjahre; Mittelwert \pm SD N=107; <i>fehlend</i> =14	14,6 \pm 16,9

Tabelle 5: Mittelwerte der Zigaretten/d und der Summe der Packungsjahre

Das Vorliegen einer Normalverteilung für beide Parameter wurde erneut mittels Kolmogorov-Smirnov Anpassungstest (KSA) untersucht. Für den Parameter Zigaretten/d ergab sich noch eine Normalverteilung ($Z=1,302$; $p=0,067$), die Summe der Packungsjahre weicht von einer Normalverteilung ab ($Z=2,008$; $p=0,001$).

IV.3.1 Einfluss der Zigarettenanzahl pro Tag auf die P300-Amplitude

Aufgrund der vorliegenden Normalverteilung erfolgte die Prüfung bezüglich eines Einflusses mittels Produkt-Moment-Korrelation nach *Pearson*. An der Fz-Elektrode konnte kein signifikanter Einfluss der Zigarettenanzahl pro Tag auf die P300-Amplitude gezeigt werden ($r=-0,040$; $p=0,668$). An der Pz-Elektrode zeigte sich jedoch ein signifikanter Effekt der täglichen Zigarettenanzahl auf die P300-Amplitude ($r=-0,217$; $p=0,019$). Nach partieller Korrelation mit den Kontrollvariablen Alter und Geschlecht war allerdings keine signifikante Korrelation mehr zu beobachten ($r=-0,085$; $p=0,365$).

Die jeweiligen Korrelationen nach *Pearson* sind mittels Streudiagramm in Abbildung 8 graphisch dargestellt.

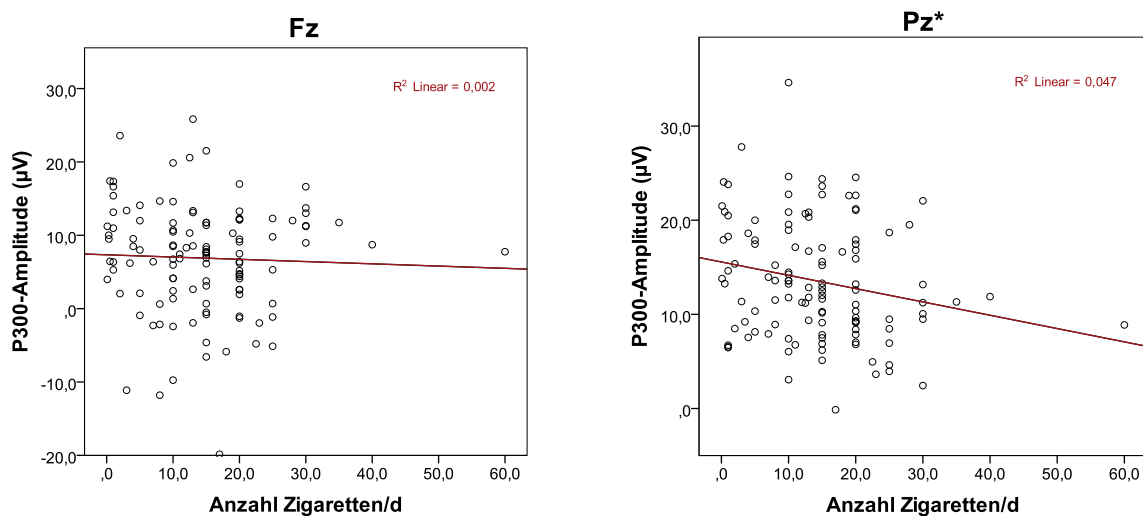


Abbildung 8: Amplituden der P300 in Korrelation zur Zigarettenanzahl pro Tag an der Fz- und Pz-Elektrode (* = signifikanter Effekt; $p<0,05$)

IV.3.2 Einfluss der Summe der Packungsjahre auf die P300-Amplitude

Aufgrund des Abweichens der Summe der Packungsjahre von der Normalverteilung erfolgte die Prüfung eines vorliegenden Einflusses mittels Bildung der Rangkorrelation nach *Spearman*. An der Fz-Elektrode konnte kein signifikanter Einfluss der Summe der Packungsjahre auf die P300-Amplitude gezeigt werden ($r_s=0,046$; $p=0,638$). An der Pz-Elektrode zeigte sich jedoch ein signifikanter Effekt der Summe der Packungsjahre auf die P300-Amplitude ($r_s=-0,316$; $p=0,001$). Nach partieller Korrelation mit den Kontrollvariablen Alter und Geschlecht war allerdings keine signifikante Korrelation mehr zu beobachten ($r=-0,037$; $p=0,709$).

Die jeweiligen Korrelationen nach *Spearman* sind mittels Streudiagramm in Abbildung 9 graphisch dargestellt.

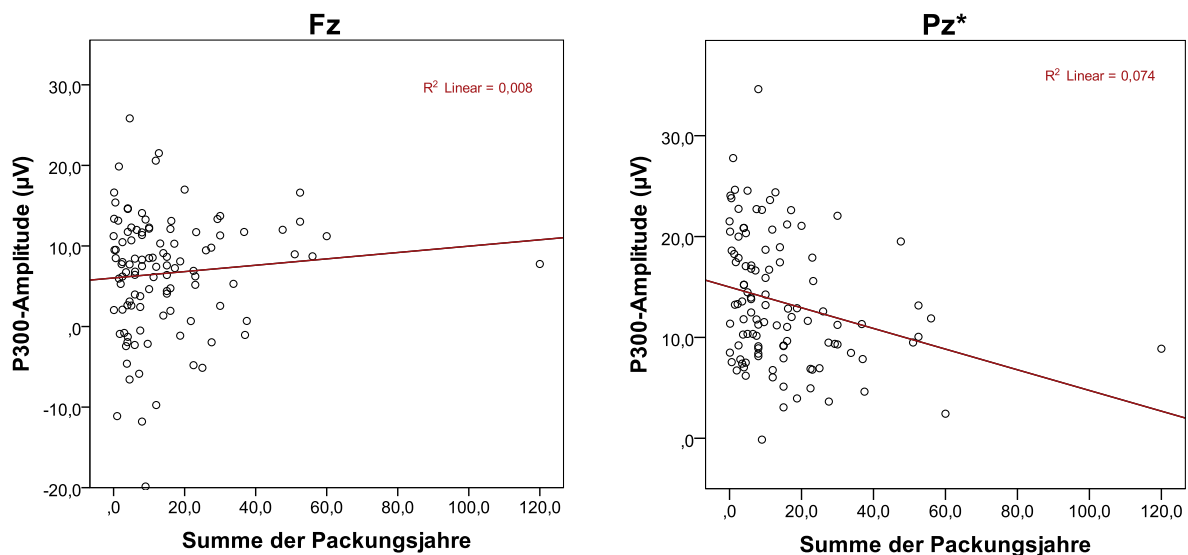


Abbildung 9: Amplituden der P300 in Korrelation zur Summe der Packungsjahre an der Fz- und Pz-Elektrode (* = signifikanter Effekt; $p < 0,05$)

IV.4 Einfluss des Genotyps auf die Gruppenzugehörigkeit sowie auf Parameter des Rauchverhaltens

Ein Zusammenhang zwischen dem Genotyp und der Gruppenzugehörigkeit wurde mittels χ^2 -Test untersucht. Der Einfluss des Genotyps auf die Anzahl der Zigaretten pro Tag und auf die Summe der Packungsjahre wurde mittels einfaktorierter Varianzanalyse (ANOVA) untersucht. Der Levene-Test auf Varianzhomogenität zeigte in beiden Analysen eine Gleichheit der Varianzen.

IV.4.1 Einfluss des Genotyps auf die Gruppenzugehörigkeit

Die Allelverteilung des Genotyps (SNP rs1044396) ist in Tabelle 6 und Abbildung 10 mittels Balkendiagramm dargestellt.

Es besteht kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Genotyp und der Gruppenzugehörigkeit der Probanden ($\chi^2=3,144$; $df=2$, $p=0,208$)

	Nichtraucher (N=156)	Raucher (N=121)
CC (N=67)	36	31
CT (N=126)	66	60
TT (N=84)	54	30

Tabelle 6: Verteilung des Genotyps bei Nichtrauchern und Rauchern

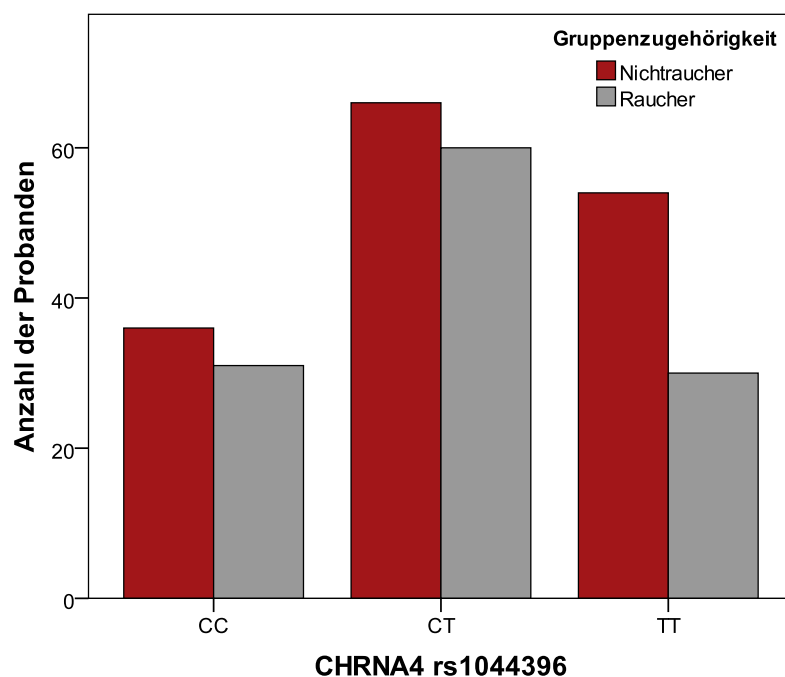


Abbildung 10: Verteilung des Genotyps bei Nichtrauchern und Rauchern

IV.4.2 Einfluss des Genotyps bei Rauchern auf die Zigarettenanzahl pro Tag

Nach Durchführung der oben erwähnten ANOVA mit der Anzahl der täglichen Zigaretten als abhängige Variable und dem Genotyp als Einflussfaktor zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen beiden Parametern ($F=0,400$; $df=2$; $p=0,671$). Die Mittelwerte der Zigarettenanzahl pro Tag in Abhängigkeit vom Genotyp sind mittels Balkendiagramm in Abbildung 11 graphisch dargestellt.

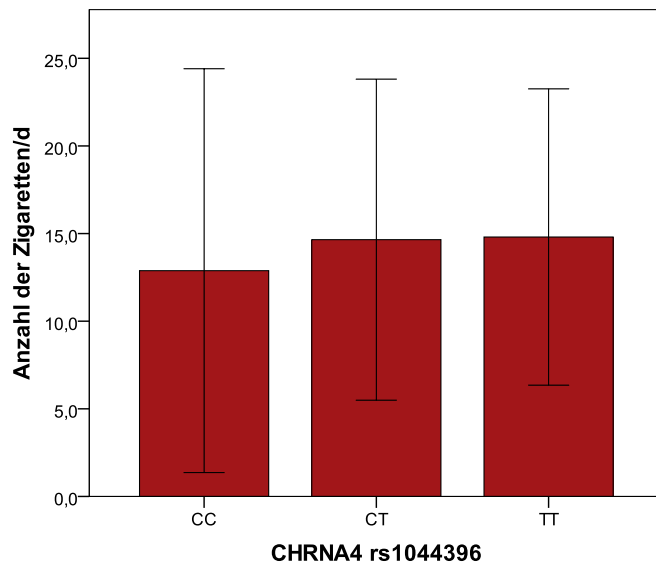


Abbildung 11: Mittelwert der Zigaretanzahl pro Tag in Abhängigkeit vom Genotyp des SNP rs1044396 (Fehlerbalken: +/- 1 SD)

IV.4.3 Einfluss des Genotyps bei Rauchern auf die Summe der Packungsjahre

Nach Durchführung der oben erwähnten ANOVA mit der Summe der Packungsjahre als abhängige Variable und dem Genotyp als Einflussfaktor zeigte sich ebenfalls kein signifikanter Zusammenhang zwischen beiden Parametern ($F=0,660$; $df=2$; $p=0,519$). Die Mittelwerte der Summe der Packungsjahre in Abhängigkeit vom Genotyp sind mittels Balkendiagramm in Abbildung 12 graphisch dargestellt.

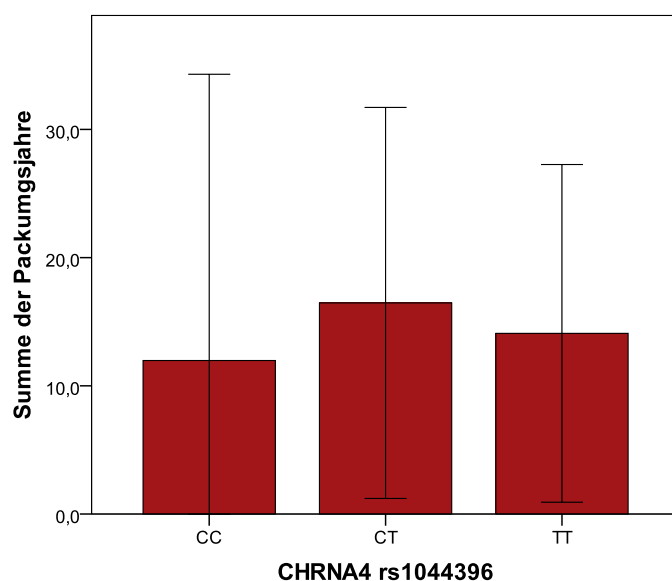


Abbildung 12: Summe der Packungsjahre in Abhängigkeit vom Genotyp des SNP rs1044396 (Fehlerbalken: +/- 1 SD)

IV.5 Amplitudenvergleich der P300 in Abhängigkeit vom Genotyp

Der Amplitudenvergleich der P300 an der Fz- und Pz-Elektrode in Abhängigkeit vom Genotyp erfolgte jeweils mittels einfaktorieller Varianzanalyse (ANOVA).

Der kombinierte Einfluss von Genotyp und Gruppenzugehörigkeit auf die Amplitude der P300 an der Fz- und Pz-Elektrode erfolgte mittels multivariater Kovarianzanalyse (MANCOVA) mit der jeweiligen P300-Amplitude als abhängige Variable. Die Gruppenzugehörigkeit (Nichtraucher/Raucher) und der Genotyps des CHRNA4-Gens (CC, CT, TT) sind die Einflussfaktoren und Alter und Geschlecht stellen Kovariaten dar. Die Mittelwerte der P300-Amplituden in Abhängigkeit von den Genotypen bei Nichtrauchern und Rauchern sind in Tabelle 7 dargestellt.

	Nichtraucher			Raucher		
	CC	CT	TT	CC	CT	TT
P300 Fz	8,507	9,073	9,497	6,035	7,866	6,323
P300 Pz	16,767	16,671	16,036	13,362	13,843	13,474

Tabelle 7: Mittelwerte der P300-Amplitude (μV)

IV.5.1 Amplitudenvergleich der P300 an den jeweiligen Elektroden in Abhängigkeit vom Genotyp

Fz-Elektrode

In der durchgeführten ANOVA konnte kein signifikanter Amplitudenunterschied der P300 an der Fz-Elektrode in Abhängigkeit vom Genotyp gezeigt werden ($F=0,598$; $df=2$; $p=0,551$).

Nach Durchführung der oben erwähnten MANCOVA fand sich ebenfalls kein signifikanter kombinierter Einfluss von Genotyp und Gruppenzugehörigkeit auf die P300-Amplitude ($F=0,756$; $df=2$; $p=0,471$).

Die Kovariate Alter zeigte hier ebenfalls einen signifikanten Einfluss auf die Amplitude der P300 ($F=9,425$; $df=1$; $p=0,002$). Der Einfluss des Geschlechts auf die abhängige Variable zeigte sich an der Fz-Elektrode als nicht signifikant ($F=3,341$; $df=1$; $p=0,069$).

Pz-Elektrode

Auch an der Pz-Elektrode zeigte sich nach Durchführung der ANOVA kein signifikanter Amplitudenunterschied der P300 in Abhängigkeit vom Genotyp ($F=0,027$; $df=2$; $p=0,973$).

Der kombinierte Einfluss von Genotyp und Gruppenzugehörigkeit auf die P300-Amplitude an der Pz-Elektrode war nach Durchführung der MANCOVA ebenfalls nicht signifikant ($F=0,323$; $df=2$; $p=0,725$).

Bei den Kovariaten Alter und Geschlecht fand sich an der Pz-Elektrode ein jeweils hochsignifikanter Einfluss auf die Amplitudengröße der P300 (Alter: $F=39,174$; $df=1$; $p<0,001$; Geschlecht: $F=29,131$; $df=1$; $p<0,001$).

Die Mittelwerte der P300-Amplituden von Nichtrauchern und Rauchern an den jeweiligen Zielelektroden sind in Abhängigkeit vom Genotyp des CHRNA4-Gens anhand von Balkendiagrammen in der Abbildung 13 dargestellt.

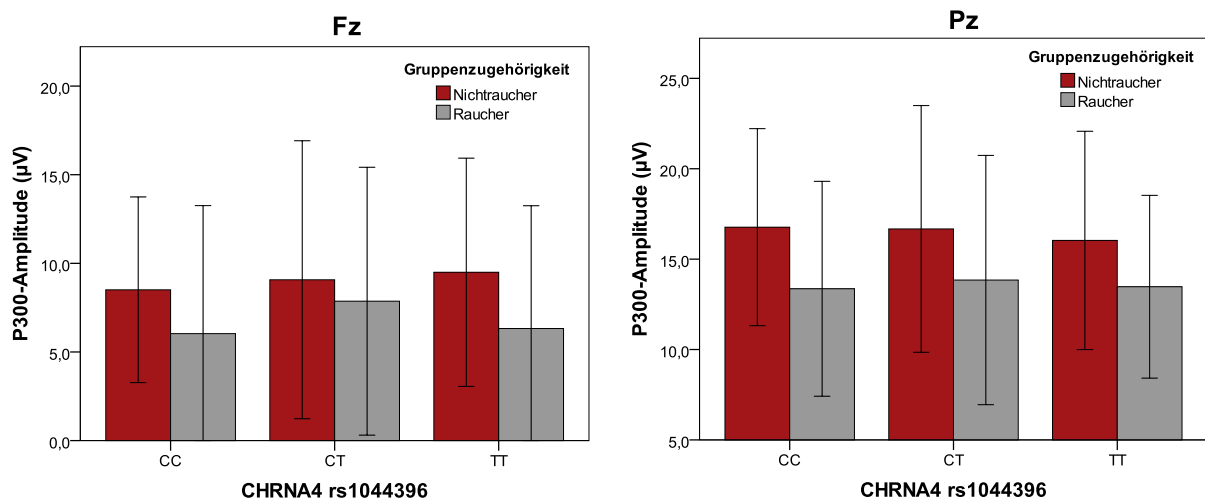


Abbildung 13: Mittelwerte der P300-Amplitude in Abhängigkeit von Gruppenzugehörigkeit und Genotyp an der Fz- und Pz-Elektrode (Fehlerbalken: +/- 1 SD)

V. Diskussion

V.1 Amplitudenvergleich der P300 bei Nichtrauchern und Rauchern

Die elektroenzephalographisch ermittelten Amplituden der P300 zeigten sich in der vorliegenden Arbeit sowohl an der Fz- als auch an der Pz-Elektrode bei Rauchern signifikant reduziert gegenüber Nichtrauchern (Fz: $p=0,040$; Pz: $p<0,001$).

Dieser Effekt bestand unabhängig von anderen, die P300 ebenfalls beeinflussenden Faktoren wie Geschlecht und Alter. Die in Hypothese 1 aufgestellte Behauptung einer Amplitudenreduktion der P300 bei Rauchern gegenüber Nichtrauchern konnte also verifiziert werden. Damit wurde ein bereits in mehreren Studien gezeigtes Ergebnis auch in dieser Arbeit repliziert.

In den Arbeiten von Neuhaus et al. 2006 und Mobascher et al. 2010 wurden zusätzliche Quellenanalysen mittels LORETA (low resolution brain electromagnetic tomography) durchgeführt. In beiden Studien wurde wie auch bei unserer Studie die P300 mittels auditorischem Oddball-Paradigma evoziert. Neuhaus et al. haben bei der Quellenanalyse eine Unterteilung in ein frühes Zeitfenster (250 – 300 ms nach Stimuli) und in ein spätes Zeitfenster (300 – 350 ms nach Stimuli) vorgenommen. Als Ergebnisse fanden sich die maximalen Werte im frühen Zeitfenster eher frontal betont im Bereich des anterioren und posterioren cingulären Kortex und im späten Zeitfenster mit eher temporo-parietaler Betonung, passend zum 2-Komponenten-Modell der P300 mit der frühen P3a- und der späteren klassischen P3b-Komponente. Im Bezug auf den Gruppenvergleich fand sich in dieser Arbeit vor allem eine verminderte Aktivität des vorderen cingulären, orbitofrontalen und präfrontalen Kortexes bei Rauchern gegenüber Nichtrauchern (Neuhaus et al. 2006). In der Arbeit von Mobascher et al. wurden die signifikantesten Differenzen der LORETA zwischen starken Rauchern und Nichtrauchern im Bereich des posterioren parietalen Kortex gefunden (Mobascher et al. 2010).

In der vorliegenden Arbeit wurde keine Quellenanalyse durchgeführt, allerdings zeigte sich eine stärkere und statistisch signifikantere Reduktion der P300-Amplitude bei Rauchern gegenüber Nichtrauchern im Bereich der Pz-Elektrode im Vergleich zur Fz-Elektrode, so dass hieraus ebenfalls auch in Übereinstimmung mit den

Ergebnissen von Mobascher und Kollegen eine parietale Betonung der Amplitudenreduktion ableitbar ist.

Die Größe des in der vorliegenden Arbeit untersuchten Kollektiv war mit $N=277$ eher im unteren Mittelfeld im Vergleich zu den vorliegenden Studien bezüglich der P300-Amplitudenreduktion bei Rauchern, allerdings wurde in anderen Arbeiten mit $N\approx 1500$ (z.B. Anorkhin et al. 2000 oder Yoon et al. 2006) häufig auf Daten aus bereits abgelaufenen Studien (z.B. zur Alkoholabhängigkeit) zurückgegriffen.

In unserem Kollektiv dagegen galten psychiatrische Komorbiditäten bei den Probanden als Ausschlusskriterium, womit weitgehend vermieden werden konnte, dass eine beobachtete Amplitudenreduktion der P300 bei Rauchern in einem möglichen Zusammenhang mit dem Vorliegen bestimmter Komorbiditäten zu interpretieren ist.

V.1.1 Einfluss des Geschlechts auf die Amplitude der P300

Ein signifikanter Einfluss des Geschlechts auf die P300-Amplitude konnte in der vorliegenden Arbeit nur an der Pz-Elektrode ($p<0,001$) nachgewiesen werden, an der Fz-Elektrode ($p=0,136$) lag kein signifikanter Amplitudenunterschied zwischen den Geschlechtern vor. An der Pz-Elektrode zeigten hierbei Frauen deutlich größere P300-Amplituden als Männer; dieser Effekt war auch unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit zu beobachten. Das Ergebnis ist im Einklang mit der Studienlage zu sehen, in der wiederholt eine erhöhte P300-Amplitude bei Frauen beschrieben wurde (Hoffman und Polich 1999). Als eine mögliche Ursache hierfür werden geschlechtsbedingte Größenunterschiede des Corpus callosums angesehen. So geht eine verminderte Größe des Corpus callosums bei Männern mit einer Amplitudenreduktion der P300 einher (u.a. Witelson 1989). Diese Beziehung findet sich auch bei Personen mit alkoholbedingter Größenreduktion des Corpus callosums, bei denen ebenfalls eine reduzierte P300-Amplitude beobachtet werden konnte (Pfefferbaum et al. 1991,1996).

V.1.2 Einfluss des Alters auf die Amplitude der P300

In der vorliegenden Arbeit konnte sowohl an der Fz- als auch an der Pz-Elektrode ein signifikanter Einfluss des Alters auf die P300-Amplitude nachgewiesen werden (Fz: $p=0,002$; Pz: $p<0,001$).

Allerdings zeigte sich in der Korrelationsanalyse ein unterschiedlicher Effekt an den einzelnen Zielelektroden. An der Fz-Elektrode konnte eine positive Korrelation zwischen Alter und P300-Amplitude beobachtet werden ($r=0,187$), d.h. eine mit steigendem Probandenalter steigende P300-Amplitude. An der Pz-Elektrode war im Gegensatz hierzu eine negative Korrelation zwischen Alter und P300-Amplitude zu beobachten ($r=-0,320$), d.h. eine mit steigendem Probandenalter kleiner werdende P300-Amplitude.

Das Ergebnis an der Pz-Amplitude ist im Einklang mit der aktuellen Studienlage zu werten, in der ebenfalls eine altersbedingte Amplitudenreduktion der P300 beschrieben wird. Dies wird vor allem als Folge hirnmorphologischer Veränderungen im Verlauf des Alterungsprozesses gewertet.

Die positive Korrelation an der Fz-Elektrode ist dagegen nicht in Einklang mit vergleichbaren Studien und der vorliegenden Literatur zu bringen. Allerdings zeigt sich z.B. auch in der Arbeit von Dujardin et al. von 1993 der Effekt des Alters auf die P300-Amplitude vor allem an den parietalen Ableitungen. Zu erklären ist diese Beobachtung z.B. durch einen früheren Beginn degenerativer Veränderungen im Bereich des parietalen und temporalen Kortex und einer damit dort akzentuierten altersbedingten Amplitudenreduktion der P300.

V.1.3 Einfluss von Parametern des Rauchverhaltens auf die P300-Amplitude

In der vorliegenden Arbeit konnte ein signifikanter Einfluss der täglichen Zigarettenanzahl auf die P300-Amplitude an der Pz-Elektrode ($p=0,019$) gezeigt werden; an der Fz-Elektrode war kein signifikanter Einfluss zu beobachten ($p=0,668$). Hierbei liegt an der Pz-Elektrode eine negative Korrelation zwischen beiden Parametern ($r=-0,217$) vor, d.h. eine höhere tägliche Anzahl an Zigaretten geht mit einer verminderten P300-Amplitude im Subkollektiv der Raucher einher.

Auch die Summe der Packungsjahre zeigte an der Pz-Elektrode in der vorliegenden Arbeit einen signifikanten Einfluss auf die P300-Amplitude ($p=0,001$). An der Fz-Elektrode war erneut kein signifikanter Effekt zu beobachten. Dabei korreliert auch die Summe der Packungsjahre negativ mit der P300-Amplitude ($r_s=-0,316$), d.h. analog zur Zigarettenanzahl geht auch eine erhöhte Summe der Packungsjahre mit einer verminderten P300-Amplitude an der Pz-Elektrode im Subkollektiv der Raucher einher.

Beide Effekte, also sowohl der Einfluss der täglichen Zigarettenanzahl als auch der Summe der Packungsjahre auf die P300-Amplitude, waren nach partieller Korrelation mit den Kontrollvariablen Alter und Geschlecht allerdings nicht mehr signifikant.

In der Arbeit von Mobascher et al. von 2010 wurden ebenfalls signifikante negative Korrelationen zwischen den Parametern Zigarettenanzahl pro Tag bzw. Summe der Packungsjahre und der Höhe der P300-Amplitude beobachtet. Auch zu weiteren untersuchten Parametern wie den Punktzahlen im FTND („Fagerström test for nicotine dependence“) und QSU („Questionnaire on smoking urges“), dem Cotiningehalt im Plasma und der Konzentration von Kohlenstoffmonoxid in der Ausatemluft zeigten sich signifikante Korrelationen. Nach Korrektur für Alter und Geschlecht fanden sich in der Arbeit von Mobascher noch die Anzahl der täglichen Zigaretten sowie die Ergebnisse von FTND und QSU als signifikante Korrelationsparameter mit der P300-Amplitude. Diese Parameter sind allerdings eng mit dem Ausmaß der Nikotinabhängigkeit verbunden. So werden z.B. starke Raucher je nach Definition als Raucher mit einer täglichen Zigarettenanzahl von größer als 20 oder einer Punktzahl im FTND von größer gleich 4 bezeichnet.

Somit weisen die in der vorliegenden Arbeit angedeuteten Korrelationen zwischen Parametern des Rauchverhaltens und der P300-Amplitude in Zusammenschau mit den positiven Ergebnissen von Mobascher et al. auf einen direkten Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Amplitudenreduktion der P300 und dem Grad der Nikotinabhängigkeit hin.

V.2 Einfluss des Genotyps auf die Gruppenzugehörigkeit sowie auf Parameter des Rauchverhaltens

In der vorliegenden Arbeit konnte kein signifikanter Einfluss des Genotyps des SNP rs1044396 auf die Gruppenzugehörigkeit der Probanden beobachtet werden ($p=0,208$). Allerdings zeigte sich bezüglich des homozygoten TT-Genotyps angedeutet ein bevorzugtes Auftreten bei Nichtrauchern.

Auch bei den Parametern des Rauchverhaltens wie Anzahl der täglichen Zigaretten ($p=0,671$) und Summe der Packungsjahre ($p=0,519$) zeigte sich keine signifikante Beziehung zum Genotyp des SNP rs1044396 in der Subgruppe der Raucher. Somit konnte die Hypothese, dass Varianten des SNP rs1044396 im CHRNA4-Gen mit dem Raucherstatus und der Konsummenge assoziiert sind, nicht bestätigt werden.

Wie schon in der Einleitung erwähnt, konnte in mehreren vorangehenden Studien eine signifikante Assoziation zwischen dem in Arbeit betrachteten SNP rs1044396 im CHRNA4-Gen mit dem Risiko einer Nikotinabhängigkeit bzw. mit Parametern des Rauchverhaltens festgestellt werden (u.a. Breitling et al. 2009 und Kamens et al. 2013). In bisher drei Arbeiten fanden sich Hinweise, dass das Vorliegen des seltenen T-Allels mit einem erhöhten Risiko einer Nikotinabhängigkeit einhergeht (Feng et al. 2004, Breitling et al. 2009, Kamens et al. 2013). Allerdings liegen auch mehrere Arbeiten vor, in denen die Darstellung eines solchen signifikanten Zusammenhangs nicht gelungen ist (z.B. Saccone et al. 2009, Wessel et al. 2010). Die Heterogenität der Ergebnisse der aktuell vorliegenden Studien zeigt, dass bisher keine gesicherte Position zum Einfluss des SNP rs1044396 auf das Risiko der Nikotinabhängigkeit existiert.

Bei Betrachtung der einzelnen Studien ist sicherlich zu erwähnen, dass sie an ethnisch verschiedenen Gruppen durchgeführt worden. So zeigten Feng und Kollegen 2004 die Assoziation zwischen dem T-Allel und dem erhöhten Risiko der Nikotinabhängigkeit in einem Kollektiv chinesischer Männer. Auch in der Arbeit von Kamens und Kollegen 2013 lag ein gemischtes Kollektiv aus Amerikanern europäischer Abstammung und Lateinamerikanern vor. Anhand der unterschiedlichen Verteilung des Genotyps in unterschiedlichen ethnischen Gruppen können Abweichungen zum Ergebnis unserer Arbeit erklärt werden. Allerdings besteht das von Breitling et al. betrachtete Kollektiv ausschließlich aus Probanden deutscher Herkunft, was mit dem von uns betrachteten Probandenkollektiv vergleichbar ist.

Bei genetischen Betrachtungen ist sicherlich auch die Größe des untersuchten Kollektivs entscheidend, da mit steigender Größe auch der Nachweis sehr kleiner genetischer Effekte gelingen kann. In der bereits erwähnten Arbeit von Breitling et al. von 2009 wurde mit ca. 5500 Probanden ein sehr großes Kollektiv untersucht im Vergleich zu 277 Probanden in unserer Arbeit. Dies ist ein möglicher Erklärungsansatz, warum in der vorliegenden Arbeit in einem ähnlich zusammengesetzten Kollektiv kein signifikanter Zusammenhang zwischen Genetik und Nikotinabhängigkeit hergestellt werden konnte. Allerdings wurden auch in den bereits erwähnten Arbeiten mit negativem Ergebnis bezüglich der Beziehung zwischen Genotyp und Nikotinabhängigkeit große Kollektive untersucht (z.B. Saccone et al. 2009 N \approx 2000).

Neben dem in dieser Arbeit untersuchten SNP im CHRNA4-Gen existieren natürlich noch weitere mit der Nikotinabhängigkeit assoziierte. Ein interessanter Vertreter ist der schon in der Einleitung erwähnte SNP rs16969968 des für die $\alpha 5$ -Untereinheit des nAChR kodierenden CHRNA5-Gens. Zum einen zeigte sich für diesen SNP nach aktueller Studienlage konstant eine Assoziation zur Nikotinabhängigkeit (u.a. Bierut et al. 2008, zuletzt Macqueen et al. 2013) und zum anderen ist dieser SNP aufgrund seiner *in vitro* gezeigten Bedeutung für die Funktion einer Subgruppe des nAChR ein potentieller Ansatz für gezielte medikamentöse Therapien der Nikotinabhängigkeit.

V.3 Amplitudenvergleich der P300 in Abhängigkeit vom Genotyp

In der vorliegenden Arbeit konnte keine signifikante direkte Abhängigkeit der P300-Amplitude vom Genotyp des SNP rs1044396 festgestellt werden (Fz: $p=0,616$; Pz: $p=0,199$). Auch der kombinierte Einfluss von Genotyp und Gruppenzugehörigkeit zeigte an beiden Ableitungen keinen signifikanten Einfluss auf die P300-Amplitude (Fz: $p=0,471$; Pz: $p=0,725$). Damit konnte in der vorliegenden Arbeit keine Assoziation zwischen Varianten des SNP rs1044396 des CHRNA4-Gens und der Amplitude der P300 sowie ebenfalls kein Einfluss einer Interaktion von Raucherstatus und Varianten des SNP rs1044396 des CHRNA4-Gens auf das Ausmaß der Amplitudenreduktion der P300 festgestellt werden.

Eine genetischer Determination des ereigniskorrelierten Potentials P300 wurde wie bereits in der Einleitung erwähnt in mehreren Arbeiten beschrieben (siehe hierzu u.a. van Beijsterveldt und van Baal 2002). In Studien u.a. von Begleiter et al. 1998 konnten Genloki nachgewiesen werden, durch welche die P300 beeinflusst wird. Diese befanden sich z.T. in der Nähe von Rezeptoren von Neurotransmittern (u.a. Glutamat, Acetylcholin).

Nach ausführlicher Literaturrecherche sind aktuell keine Arbeiten bekannt, die einen signifikanten Einfluss des SNP rs1044396 oder anderer Polymorphismen des CHRNA4-Gens oder der kodierenden Gene anderer Untereinheiten des nAChR auf die Amplitude der P300 gezeigt haben.

In der Arbeit von Espeseth et al. von 2007 wurde ebenfalls der Einfluss von Varianten des SNP 1044396 auf ereigniskorrelierte Potentiale untersucht, allerdings in Zusammenhang mit Aufmerksamkeit. Auf die P300-Amplitude konnten in

Übereinstimmung mit den Ergebnissen unserer Arbeit keine signifikanten Genotyp-Effekte nachgewiesen werden. Es zeigten sich allerdings erhöhte Amplituden der frühen kognitiven Komponenten der EKP (u.a. N100) bei homozygoten Trägern des T-Allels gegenüber den heterozygoten TC-Genotypen. Die Erklärung sehen Espeseth und Kollegen darin, dass das CHRNA4-Gen eher eine Rolle für frühe verarbeitende Aufmerksamkeitsprozesse als für die spätere Prozessierung bzw. Auswahl der Reizantwort spielen.

Wie ebenfalls bereits einleitend erwähnt, finden sich eine Reduktion der P300-Amplitude bzw. allgemein Veränderungen der P300 nicht nur bei Menschen mit einer Nikotinabhängigkeit sondern auch bei anderen psychiatrischen Erkrankungen wie der Alkoholabhängigkeit und der Schizophrenie. In verschiedenen Studien konnte hier ein Zusammenhang zwischen Kandidatengenen der jeweiligen Erkrankung und der mit der Erkrankung assoziierten P300-Veränderung hergestellt werden.

Gallinat et al. konnten in einer Arbeit von 2003 einen signifikanten Einfluss des Genotyps des funktionellen Polymorphismus G1947A der Catechol-O-Methyltransferase (COMT) auf die frontale P300-Amplitude bei schizophrenen Patienten zeigen. In einer Arbeit von Decoster et al. von 2012 wurde ein möglicher Effekt von verschiedenen SNPs auf die Amplitude der P300 bei schizophrenen Patienten untersucht. Hierbei konnte der signifikante Einfluss einer genetischen Variation des ABCB1-Gens (ATP-binding cassette, Subtyp 2, rs1045642) auf die Amplitudenreduktion der P300 bei schizophrenen Patienten sowie mögliche Assoziationen genetischer Variationen der Gene für DISC-1 (disrupted-in-schizophrenia 1, rs1572899), BDNF (brain-derived neurotrophic factor, rs6265) und MIR137 (auch miR für MicroRNA, rs1625579) gezeigt werden (Decoster et al. 2012). Ein ebenfalls signifikanter Einfluss bestimmter Polymorphismen des DISC-1-Gens auf die P300-Amplitude und -Latenz bei Patienten mit einer Schizophrenie bzw. einer Psychose konnte in der Arbeit von Shaikh et al. von 2011 nachgewiesen werden.

In einer Arbeit von Bautista et al. von 2005 wurde mittels Kopplungsanalyse der Zusammenhang zwischen Alkoholismus, der P300-Amplitude und dem Rauchen untersucht. Als interessantes Resultat hierbei scheinen die bekannten Einflüsse der Alkohol- bzw. Rauchanamnese auf die Amplitude der P300 separate genetische Determinanten zu besitzen.

Somit war das in dieser Arbeit untersuchte und für die im ZNS weit verbreitete α 4-Untereinheit des nikotinischen Acetylcholinrezeptors kodierende CHRNA4-Gen aus unserer Sicht ein potentieller Kandidatengene. Die Auswahl des entsprechenden SNP rs1044396 erschien ebenfalls sinnvoll, da in den bereits erwähnten Studien eine Assoziation des SNP mit der Nikotinabhängigkeit gezeigt werden konnte, auch wenn sich dieses Ergebnis in der vorliegenden Arbeit nicht replizieren ließ.

Dennoch lassen die Ergebnisse der anderen Studien vermuten, dass sich auch in Bezug auf die Amplitudenreduktion der P300 bei Rauchern assoziierte Gene bzw. Genpolymorphismen in zukünftigen Studien detektieren lassen.

V.4 Diskussion der verwendeten Methoden

Wie bereits erwähnt, lag die Größe des in der vorliegenden Arbeit untersuchten Probandenkollektivs bei $N=277$. Eine solche Fallzahl ist für Untersuchungen des Einflusses der Nikotinabhängigkeit auf elektrophysiologische Veränderungen wie die P300-Amplitude sicherlich ausreichend groß, um signifikante Einflüsse abzubilden. Bezüglich der Fragestellung genetischer Effekte ist sicherlich generell ein möglichst großes Probandenkollektiv anzustreben, vor allem, wenn es sich wie bei der Nikotinabhängigkeit um polygenetische Erkrankungen handelt, bei denen im Allgemeinen nur ein geringer Effekt eines einzelnen Gens bzw. eines einzelnen Polymorphismus zu erwarten ist. Dennoch sollte die in der vorliegenden Arbeit erreichte Fallzahl ausreichen, um einen relevanten genetischen Effekt nachzuweisen, wenn dieser existiert, was in dieser Studie bezüglich des untersuchten Polymorphismus nicht gelungen ist.

Das in dieser Arbeit zur Evozierung der P300 verwendete Doppelstimulusparadigma ist eine häufig genutzte Methode, die auch in vergleichbaren Arbeiten zur Anwendung kam. Die akustische Stimulation wurde mit stets demselben Stimulations-Paradigma durchgeführt, wodurch die Stimulusintensität und die Tondauer über den gesamten Aufzeichnungszeitraum gleich blieben. Demzufolge ist nicht von einer Beeinflussung der Messungen durch physikalische Reizeigenschaften auszugehen.

Eine Beeinflussung der Amplitude des EKP durch „Gating“-Effekte, die durch Bewegungen des linken Armes infolge des Anklickens der linken Maustaste als

Antwort auf den ereignisrelevanten Stimulus entstehen, ist nicht zu erwarten, da lediglich ein Einfluss auf frühe kortikale evozierte Potentiale durch die motorische Vorbereitung von Bewegungen eines Fingers gezeigt wurde (Tapia et al. 1987).

VI. Abkürzungsverzeichnis

VI.1 Allgemeine Abkürzungen

ACC	Anteriorer cingulärer Kortex
ADHS	Aufmerksamkeitsdefizit-/Hyperaktivitätssyndrom
ADNFLE	Autosomal dominante nocturnal frontal lobe epilepsy
AEP	Akustisch evoziertes Potential
ANOVA	Univariate Varianzanalyse
ANCOVA	Univariate Kovarianzanalyse
CB	Cannabinoid
CO	Kohlenmonoxid
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
COPD	Chronisch obstruktive Lungenerkrankung
CYP	Cytochrom-P450
DAT	Demenz vom Alzheimer Typ
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DRD2	Dopamin-2-Rezeptorgen
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 4. Revision
EEG	Elektroenzephalogramm
EKP	Ereigniskorreliertes Potential
fMRT	Funktionelle Magnetresonanztomographie
FTND	Fagerström-Test für Nikotinabhängigkeit
GABA	γ -Aminobuttersäure
GWAS	Genomweite Assoziationsstudie
Hb	Hämoglobin
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
ICD-10	International Classification of Diseases, 10. Revision
KSA	Kolmogorov-Smirnov Anpassungstest
LORETA	Low resolution brain electromagnetic tomography
LTP	Long term potentiation
MANCOVA	Multivariate Kovarianzanalyse
MAO	Monoaminoxidase

nAChR	Nikotinischer Acetylcholinrezeptor
NRT	Nicotine replacement therapy (Nikotinersatztherapie)
PET	Positronen-Emissionstomographie
PSP	Postsynaptisches Potential
QSU	Questionnaire on smoking urges
RLS	Restless-Legs-Syndrom
RMP	Ruhemembranpotential
SCID	Structured Clinical Interview for DSM-Disorders
SD	Standardabweichung
SMA	Supplementär motorischer Kortex
SNP	Single-nucleotid polymorphism (Einzelnukleotidpolymorphismus)
SPECT	Einzelphotonen-Emissionscomputertomographie
SPL	Sound Pressure Level (Schalldruckpegel)
TPJ	Temporo-parietale Grenzzone
VTA	Ventrales tegmentales Areal
WHO	World Health Organisation (Weltgesundheitsorganisation)
ZNS	Zentrales Nervensystem

VI.2 Einheiten

cm	Zentimeter
d	Tag
dB	Dezibel
Hz	Hertz
kb	Kilobasen
kcal	Kilokalorien
k Ω	Kiloohm
ml	Milliliter
ms	Millisekunden
μ V	Mikrovolt
$^{\circ}$ C	Grad Celsius

VII. Literaturverzeichnis

Anderer P, Saletu B, Semlitsch HV, Pascual-Marqui RD. Structural and energetic processes related to P300: LORETA findings in depression and effects of antidepressant drugs. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2002;24 Suppl D:85-91.

Anokhin AP, Vedeniapin AB, Sirevaag EJ, et al. The P300 brain potential is reduced in smokers. *Psychopharmacology (Berl)* 2000;149:409-13.

Audrain-McGovern J, Al Koudsi N, Rodriguez D, Wileyto EP, Shields PG, Tyndale RF. The role of CYP2A6 in the emergence of nicotine dependence in adolescents. *Pediatrics* 2007;119:e264-74.

Batra V, Patkar AA, Berrettini WH, Weinstein SP, Leone FT. The genetic determinants of smoking. *Chest* 2003;123:1730-9.

Bautista JF, Quade SR, Parrado AR, Goddard KA. Linkage analysis of alcoholism-related electrophysiological phenotypes: genome scans with microsatellites compared to single-nucleotide polymorphisms. *BMC Genet* 2005;6 Suppl 1:S156.

Begleiter H, Porjesz B, Reich T, et al. Quantitative trait loci analysis of human event-related brain potentials: P3 voltage. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1998;108:244-50.

Benowitz NL. Neurobiology of nicotine addiction: implications for smoking cessation treatment. *Am J Med* 2008;121:S3-10.

Benowitz NL. Nicotine addiction. *N Engl J Med* 2010;362:2295-303.

Bierut LJ, Madden PA, Breslau N, et al. Novel genes identified in a high-density genome wide association study for nicotine dependence. *Hum Mol Genet* 2007;16:24-35.

Bierut LJ, Stitzel JA, Wang JC, et al. Variants in nicotinic receptors and risk for nicotine dependence. *Am J Psychiatry* 2008;165:1163-71.

Birbaumer N, Schmidt RF. *Biologische Psychologie*. 5. Auflage, Springer Berlin Heidelberg 2003.

Bramon E, McDonald C, Croft RJ, et al. Is the P300 wave an endophenotype for schizophrenia? A meta-analysis and a family study. *Neuroimage* 2005;27:960-8.

Breitling LP, Dahmen N, Mittelstrass K, et al. Association of nicotinic acetylcholine receptor subunit alpha 4 polymorphisms with nicotine dependence in 5500 Germans. *Pharmacogenomics J* 2009;9:219-24.

Cahill K, Stead LF, Lancaster T. Nicotine receptor partial agonists for smoking cessation. *Cochrane Database Syst Rev* 2008:CD006103.

Carlson SR, Katsanis J, Iacono WG, Mertz AK. Substance dependence and externalizing psychopathology in adolescent boys with small, average, or large P300 event-related potential amplitude. *Psychophysiology* 1999;36:583-90.

Carmelli D, Swan GE, Robinette D, Fabsitz R. Genetic influence on smoking--a study of male twins. *N Engl J Med* 1992;327:829-33.

Chu CJ, Yang YC, Wei JX, Zhang L. Association of nicotinic acetylcholine receptor subunit alpha-4 polymorphisms with smoking behaviors in Chinese male smokers. *Chin Med J (Engl)* 2011;124:1634-8.

Corrigall WA, Franklin KB, Coen KM, Clarke PB. The mesolimbic dopaminergic system is implicated in the reinforcing effects of nicotine. *Psychopharmacology (Berl)* 1992;107:285-9.

Dajas-Bailador F, Wonnacott S. Nicotinic acetylcholine receptors and the regulation of neuronal signalling. *Trends Pharmacol Sci* 2004;25:317-24.

David V, Besson M, Changeux JP, Granon S, Cazala P. Reinforcing effects of nicotine microinjections into the ventral tegmental area of mice: dependence on cholinergic nicotinic and dopaminergic D1 receptors. *Neuropharmacology* 2006;50:1030-40.

Decoster J, De Hert M, Viechtbauer W, et al. Genetic association study of the P300 endophenotype in schizophrenia. *Schizophr Res* 2012;141:54-9.

Deutsches Krebsforschungszentrum (Hrsg.): Durch Rauchen und Passivrauchen verursachte Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems, Heidelberg, 2008.

Deutsches Krebsforschungszentrum (Hrsg.): Tabakatlas Deutschland 2009. Heidelberg, 2009.

Doll R, Peto R, Boreham J, Sutherland I. Mortality in relation to smoking: 50 years' observations on male British doctors. *BMJ* 2004;328:1519.

Domino EF. Effects of tobacco smoking on electroencephalographic, auditory evoked and event related potentials. *Brain Cogn* 2003;53:66-74.

Dujardin K, Derambure P, Bourriez JL, Jacquesson JM, Guieu JD. P300 component of the event-related potentials (ERP) during an attention task: effects of age, stimulus modality and event probability. *Int J Psychophysiol* 1993;14:255-67.

Eischen SE, Polich J. P300 from families. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1994;92:369-72.

Espeseth T, Endestad T, Rootwelt H, Reinvang I. Nicotine receptor gene CHRNA4 modulates early event-related potentials in auditory and visual oddball target detection tasks. *Neuroscience* 2007;147:974-85.

Etter JF, Hoda JC, Perroud N, et al. Association of genes coding for the alpha-4, alpha-5, beta-2 and beta-3 subunits of nicotinic receptors with cigarette smoking and nicotine dependence. *Addict Behav* 2009;34:772-5.

Faessel HM, Smith BJ, Gibbs MA, Gobey JS, Clark DJ, Burstein AH. Single-dose pharmacokinetics of varenicline, a selective nicotinic receptor partial agonist, in healthy smokers and nonsmokers. *J Clin Pharmacol* 2006;46:991-8.

Fagerstrom K. The epidemiology of smoking: health consequences and benefits of cessation. *Drugs* 2002;62 Suppl 2:1-9.

Fant RV, Buchhalter AR, Buchman AC, Henningfield JE. Pharmacotherapy for tobacco dependence. *Handb Exp Pharmacol* 2009:487-510.

Feng Y, Niu T, Xing H, et al. A common haplotype of the nicotine acetylcholine receptor alpha 4 subunit gene is associated with vulnerability to nicotine addiction in men. *Am J Hum Genet* 2004;75:112-21.

Friedman D, Cycowicz YM, Gaeta H. The novelty P3: an event-related brain potential (ERP) sign of the brain's evaluation of novelty. *Neurosci Biobehav Rev* 2001;25:355-73.

Fujii S, Ji Z, Morita N, Sumikawa K. Acute and chronic nicotine exposure differentially facilitate the induction of LTP. *Brain Res* 1999;846:137-43.

Gallinat J, Bajbouj M, Sander T, et al. Association of the G1947A COMT (Val(108/158)Met) gene polymorphism with prefrontal P300 during information processing. *Biol Psychiatry* 2003;54:40-8.

Gallinat J und Hegerl U. Elektroenzephalographie. U.Hegerl (Ed.), Neurophysiologische Untersuchungen in der Psychiatrie. Springer, Wien, 1998. pp. 7-94.

Ge S, Dani JA. Nicotinic acetylcholine receptors at glutamate synapses facilitate long-term depression or potentiation. *J Neurosci* 2005;25:6084-91.

Gotti C, Zoli M, Clementi F. Brain nicotinic acetylcholine receptors: native subtypes and their relevance. *Trends Pharmacol Sci* 2006;27:482-91.

Greenbaum L, Rigbi A, Teltsh O, Lerer B. Role of genetic variants in the CHRNA5-CHRNA3-CHRNA4 cluster in nicotine dependence risk: importance of gene-environment interplay. *Mol Psychiatry* 2009;14:828-30.

Greenwood PM, Parasuraman R, Espeseth T. A cognitive phenotype for a polymorphism in the nicotinic receptor gene CHRNA4. *Neurosci Biobehav Rev* 2012;36:1331-41.

Guney F, Genc BO, Kutlu R, Ilhan BC. Auditory P300 event-related potential in tobacco smokers. *J Clin Neurosci* 2009;16:1311-5.

Hahn B, Shoaib M, Stolerman IP. Nicotine-induced enhancement of attention in the five-choice serial reaction time task: the influence of task demands. *Psychopharmacology (Berl)* 2002;162:129-37.

Hall MH, Schulze K, Rijdsdijk F, et al. Heritability and reliability of P300, P50 and duration mismatch negativity. *Behav Genet* 2006;36:845-57.

Harris JG, Kongs S, Allensworth D, et al. Effects of nicotine on cognitive deficits in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 2004;29:1378-85.

Hartz SM, Bierut LJ. Genetics of addictions. *Clin Lab Med* 2010;30:847-64.

Hays JT, Ebbert JO. Varenicline for tobacco dependence. *N Engl J Med* 2008;359:2018-24.

Heath AC, Cates R, Martin NG, et al. Genetic contribution to risk of smoking initiation: comparisons across birth cohorts and across cultures. *J Subst Abuse* 1993;5:221-46.

Heath AC, Martin NG. Genetic models for the natural history of smoking: evidence for a genetic influence on smoking persistence. *Addict Behav* 1993;18:19-34.

Hegerl U. Ereigniskorrelierte Potentiale. In U. Hegerl (Ed.), *Neurophysiologische Untersuchungen in der Psychiatrie: EEG, EKP, Schlafpolygraphie, Motorik, autonome Funktionen*. Wien, New York, Springer 1998. pp. 95-140.

Heil M, Rösler F. Neuro- und elektrophysiologische Verfahren. In: *Lehrbuch der klinischen Neuropsychologie: Grundlagen, Methoden, Diagnostik, Therapie* (Sturm W, Hermann M, Wallwsch C-W, eds). Lisse, NL: Sweets & Zeitlinger Publishers 2000.

Hillyard SA, Anllo-Vento L. Event-related brain potentials in the study of visual selective attention. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:781-7.

Ho MK, Tyndale RF. Overview of the pharmacogenomics of cigarette smoking. *Pharmacogenomics J* 2007;7:81-98.

Hoffman LD, Polich J. P300, handedness, and corpus callosal size: gender, modality, and task. *Int J Psychophysiol* 1999;31:163-74.

Hoffmann D, Hoffmann I, El-Bayoumy K. The less harmful cigarette: a controversial issue. a tribute to Ernst L. Wynder. *Chem Res Toxicol* 2001;14:767-90.

Holm KJ, Spencer CM. Bupropion: a review of its use in the management of smoking cessation. *Drugs* 2000;59:1007-24.

Hughes JR, Keely J, Naud S. Shape of the relapse curve and long-term abstinence among untreated smokers. *Addiction* 2004;99:29-38.

Hughes JR, Stead LF, Lancaster T. Antidepressants for smoking cessation. *Cochrane Database Syst Rev* 2007:CD000031.

Iacono WG, Carlson SR, Malone SM, McGue M. P3 event-related potential amplitude and the risk for disinhibitory disorders in adolescent boys. *Arch Gen Psychiatry* 2002;59:750-7.

Johnson R, Jr. On the neural generators of the P300 component of the event-related potential. *Psychophysiology* 1993;30:90-7.

Kalamida D, Poulas K, Avramopoulou V, et al. Muscle and neuronal nicotinic acetylcholine receptors. Structure, function and pathogenicity. *FEBS J* 2007;274:3799-845.

Kamens HM, Corley RP, McQueen MB, et al. Nominal association with CHRNA4 variants and nicotine dependence. *Genes Brain Behav* 2013.

Katsanis J, Iacono WG, McGue MK, Carlson SR. P300 event-related potential heritability in monozygotic and dizygotic twins. *Psychophysiology* 1997;34:47-58.

Kawamata J, Shimohama S. Association of novel and established polymorphisms in neuronal nicotinic acetylcholine receptors with sporadic Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2002;4:71-6.

Kent L, Middle F, Hawi Z, et al. Nicotinic acetylcholine receptor alpha4 subunit gene polymorphism and attention deficit hyperactivity disorder. *Psychiatr Genet* 2001;11:37-40.

Klink R, de Kerchove d'Exaerde A, Zoli M, Changeux JP. Molecular and physiological diversity of nicotinic acetylcholine receptors in the midbrain dopaminergic nuclei. *J Neurosci* 2001;21:1452-63.

Kok A. On the utility of P3 amplitude as a measure of processing capacity. *Psychophysiology* 2001;38:557-77.

Kroger C, Gradl S. [Smoking cessation therapies in Germany]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 2010;53:201-6.

Kubota T, Nakajima-Taniguchi C, Fukuda T, et al. CYP2A6 polymorphisms are associated with nicotine dependence and influence withdrawal symptoms in smoking cessation. *Pharmacogenomics J* 2006;6:115-9.

Levin ED, McClernon FJ, Rezvani AH. Nicotinic effects on cognitive function: behavioral characterization, pharmacological specification, and anatomic localization. *Psychopharmacology (Berl)* 2006;184:523-39.

Li MD, Beuten J, Ma JZ, et al. Ethnic- and gender-specific association of the nicotinic acetylcholine receptor alpha4 subunit gene (CHRNA4) with nicotine dependence. *Hum Mol Genet* 2005;14:1211-9.

Lopes Da Silva F. Dynamics of EEGs as signals of neuronal populations: Models and theoretical considerations. E.Niedermeyer and F.Lopes Da Silva (Eds.), *Electroencephalography – basic principles, clinical applications, and related fields*. Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland 1993.

Macqueen DA, Heckman BW, Blank MD, et al. Variation in the alpha 5 nicotinic acetylcholine receptor subunit gene predicts cigarette smoking intensity as a function of nicotine content. *Pharmacogenomics J* 2013.

Mansvelder HD, McGehee DS. Cellular and synaptic mechanisms of nicotine addiction. *J Neurobiol* 2002;53:606-17.

Mansvelder HD, van Aerde KI, Couey JJ, Brussaard AB. Nicotinic modulation of neuronal networks: from receptors to cognition. *Psychopharmacology (Berl)* 2006;184:292-305.

Markett S, Montag C, Reuter M. The nicotinic acetylcholine receptor gene CHRNA4 is associated with negative emotionality. *Emotion* 2011;11:450-5.

Markett S, Reuter M, Montag C, Weber B. The dopamine D2 receptor gene DRD2 and the nicotinic acetylcholine receptor gene CHRNA4 interact on striatal gray matter volume: evidence from a genetic imaging study. *Neuroimage* 2013;64:167-72.

Markett SA, Montag C, Reuter M. The association between dopamine DRD2 polymorphisms and working memory capacity is modulated by a functional polymorphism on the nicotinic receptor gene CHRNA4. *J Cogn Neurosci* 2010;22:1944-54.

McNeil JJ, Piccenna L, Ioannides-Demos LL. Smoking cessation-recent advances. *Cardiovasc Drugs Ther* 2010;24:359-67.

Mineur YS, Picciotto MR. Genetics of nicotinic acetylcholine receptors: Relevance to nicotine addiction. *Biochem Pharmacol* 2008;75:323-33.

Mobascher A, Brinkmeyer J, Warbrick T, et al. The P300 event-related potential and smoking--a population-based case-control study. *Int J Psychophysiol* 2010;77:166-75.

Mobascher A, Winterer G. [Mechanisms of nicotine dependence]. *Pneumologie* 2008;62:553-61.

Montag C, Kirsch P, Sauer C, Markett S, Reuter M. The role of the CHRNA4 gene in Internet addiction: a case-control study. *J Addict Med* 2012;6:191-5.

Moore TJ, Furberg CD. Varenicline and suicide. Risk of psychiatric side effects with varenicline. *BMJ* 2009;339:b4964.

Mulert C, Pogarell O, Juckel G, et al. The neural basis of the P300 potential. Focus on the time-course of the underlying cortical generators. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2004;254:190-8.

Nashmi R, Xiao C, Deshpande P, et al. Chronic nicotine cell specifically upregulates functional alpha 4* nicotinic receptors: basis for both tolerance in midbrain and enhanced long-term potentiation in perforant path. *J Neurosci* 2007;27:8202-18.

Neubauer S, Welte R, Beiche A, Koenig HH, Buesch K, Leidl R. Mortality, morbidity and costs attributable to smoking in Germany: update and a 10-year comparison. *Tob Control* 2006;15:464-71.

Neuhaus A, Bajbouj M, Kienast T, et al. Persistent dysfunctional frontal lobe activation in former smokers. *Psychopharmacology (Berl)* 2006;186:191-200.

Nguyen HN, Rasmussen BA, Perry DC. Binding and functional activity of nicotinic cholinergic receptors in selected rat brain regions are increased following long-term but not short-term nicotine treatment. *J Neurochem* 2004;90:40-9.

O'Connor S, Morzorati S, Christian JC, Li TK. Heritable features of the auditory oddball event-related potential: peaks, latencies, morphology and topography. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1994;92:115-25.

Parish CL, Nunan J, Finkelstein DI, et al. Mice lacking the alpha4 nicotinic receptor subunit fail to modulate dopaminergic neuronal arbors and possess impaired dopamine transporter function. *Mol Pharmacol* 2005;68:1376-86.

Peng X, Gerzanich V, Anand R, Whiting PJ, Lindstrom J. Nicotine-induced increase in neuronal nicotinic receptors results from a decrease in the rate of receptor turnover. *Mol Pharmacol* 1994;46:523-30.

Pfefferbaum A, Christensen C, Ford JM, Kopell BS. Apparent response incompatibility effects on P3 latency depend on the task. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1986;64:424-37.

Pfefferbaum A, Ford JM, White PM, Mathalon D. Event-related potentials in alcoholic men: P3 amplitude reflects family history but not alcohol consumption. *Alcohol Clin Exp Res* 1991;15:839-50.

Pfefferbaum A, Lim KO, Desmond JE, Sullivan EV. Thinning of the corpus callosum in older alcoholic men: a magnetic resonance imaging study. *Alcohol Clin Exp Res* 1996;20:752-7.

Picton TW. The P300 wave of the human event-related potential. *J Clin Neurophysiol* 1992;9:456-79.

Picton TW, Bentin S, Berg P, et al. Guidelines for using human event-related potentials to study cognition: recording standards and publication criteria. *Psychophysiology* 2000;37:127-52.

Polich J. Updating P300: an integrative theory of P3a and P3b. *Clin Neurophysiol* 2007;118:2128-48.

Polich J, Bloom FE. P300, alcoholism heritability, and stimulus modality. *Alcohol* 1999;17:149-56.

Polich J, Criado JR. Neuropsychology and neuropharmacology of P3a and P3b. *Int J Psychophysiol* 2006;60:172-85.

Polich J, Herbst KL. P300 as a clinical assay: rationale, evaluation, and findings. *Int J Psychophysiol* 2000;38:3-19.

Polich J, Ochoa CJ. Alcoholism risk, tobacco smoking, and P300 event-related potential. *Clin Neurophysiol* 2004;115:1374-83.

Porjesz B, Begleiter H, Wang K, et al. Linkage and linkage disequilibrium mapping of ERP and EEG phenotypes. *Biol Psychol* 2002;61:229-48.

Robinson SE, Vann RE, Britton AF, O'Connell MM, James JR, Rosecrans JA. Cellular nicotinic receptor desensitization correlates with nicotine-induced acute behavioral tolerance in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 2007;192:71-8.

Saccone NL, Saccone SF, Hinrichs AL, et al. Multiple distinct risk loci for nicotine dependence identified by dense coverage of the complete family of nicotinic receptor subunit (CHRN) genes. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2009;150B:453-66.

Saccone SF, Hinrichs AL, Saccone NL, et al. Cholinergic nicotinic receptor genes implicated in a nicotine dependence association study targeting 348 candidate genes with 3713 SNPs. *Hum Mol Genet* 2007;16:36-49.

Salette J, Pons S, Devillers-Thiery A, et al. Nicotine upregulates its own receptors through enhanced intracellular maturation. *Neuron* 2005;46:595-607.

Shaikh M, Hall MH, Schulze K, et al. Effect of DISC1 on the P300 waveform in psychosis. *Schizophr Bull* 2013;39:161-7.

Singh SM, Basu D. The P300 event-related potential and its possible role as an endophenotype for studying substance use disorders: a review. *Addict Biol* 2009;14:298-309.

Spitz MR, Amos CI, Dong Q, Lin J, Wu X. The CHRNA5-A3 region on chromosome 15q24-25.1 is a risk factor both for nicotine dependence and for lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 2008;100:1552-6.

Spruell T, Colavita G, Donegan T, et al. Association between nicotinic acetylcholine receptor single nucleotide polymorphisms and smoking cessation. *Nicotine Tob Res* 2012;14:993-7.

Squires NK, Squires KC, Hillyard SA. Two varieties of long-latency positive waves evoked by unpredictable auditory stimuli in man. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1975;38:387-401.

Statistisches Bundesamt. Mikrozensus 2009. Wiesbaden 2010 (Accessed at: <https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/Gesundheit/GesundheitszustandRelevantesVerhalten/Tabellen/Rauchverhalten.html>).

Stead LF, Perera R, Bullen C, Mant D, Lancaster T. Nicotine replacement therapy for smoking cessation. *Cochrane Database Syst Rev* 2008:CD000146.

Steinlein O, Weiland S, Stoodt J, Propping P. Exon-intron structure of the human neuronal nicotinic acetylcholine receptor alpha 4 subunit (CHRNA4). *Genomics* 1996;32:289-94.

Steinlein OK, Deckert J, Nothen MM, et al. Neuronal nicotinic acetylcholine receptor alpha 4 subunit (CHRNA4) and panic disorder: an association study. *Am J Med Genet* 1997;74:199-201.

Steinlein OK, Deckert J, Nothen MM, et al. Neuronal nicotinic acetylcholine receptor alpha 4 subunit (CHRNA4) and panic disorder: an association study. *Am J Med Genet* 1997;74:199-201.

Sullivan PF, Kendler KS. The genetic epidemiology of smoking. *Nicotine Tob Res* 1999;1 Suppl 2:S51-7; discussion S69-70.

Sutton S, Braren M, Zubin J, John ER. Evoked-potential correlates of stimulus uncertainty. *Science* 1965;150:1187-8.

Tapia MC, Cohen LG, Starr A. Attenuation of auditory-evoked potentials during voluntary movement in man. *Audiology* 1987;26:369-73.

Tapper AR, McKinney SL, Nashmi R, et al. Nicotine activation of alpha4* receptors: sufficient for reward, tolerance, and sensitization. *Science* 2004;306:1029-32.

Tsai SJ, Yeh HL, Hong CJ, et al. Association of CHRNA4 polymorphism with depression and loneliness in elderly males. *Genes Brain Behav* 2012;11:230-4.

Tuesta LM, Fowler CD, Kenny PJ. Recent advances in understanding nicotinic receptor signaling mechanisms that regulate drug self-administration behavior. *Biochem Pharmacol* 2011;82:984-95.

Van Beijsterveldt CE, Boomsma DI. Genetics of the human electroencephalogram (EEG) and event-related brain potentials (ERPs): a review. *Hum Genet* 1994;94:319-30.

Van Beijsterveldt CE, van Baal GC. Twin and family studies of the human electroencephalogram: a review and a meta-analysis. *Biol Psychol* 2002;61:111-38.

Weiss RB, Baker TB, Cannon DS, et al. A candidate gene approach identifies the CHRNA5-A3-B4 region as a risk factor for age-dependent nicotine addiction. *PLoS Genet* 2008;4:e1000125.

Wessel J, McDonald SM, Hinds DA, et al. Resequencing of nicotinic acetylcholine receptor genes and association of common and rare variants with the Fagerstrom test for nicotine dependence. *Neuropsychopharmacology* 2010;35:2392-402.

WHO (Hrsg.): The Tobacco Atlas. World Health Organization. Genf, Schweiz 2002.

WHO (Hrsg.): WHO report on the global tobacco epidemic. World Health Organization. Genf, Schweiz 2008.

Winterer G, Musso F, Konrad A, et al. Association of attentional network function with exon 5 variations of the CHRNA4 gene. *Hum Mol Genet* 2007;16:2165-74.

Witelson SF. Hand and sex differences in the isthmus and genu of the human corpus callosum. A postmortem morphological study. *Brain* 1989;112 (Pt 3):799-835.

Wonnacott S, Sidhpura N, Balfour DJ. Nicotine: from molecular mechanisms to behaviour. *Curr Opin Pharmacol* 2005;5:53-9.

Yoon HH, Iacono WG, Malone SM, McGue M. Using the brain P300 response to identify novel phenotypes reflecting genetic vulnerability for adolescent substance misuse. *Addict Behav* 2006;31:1067-87.

Zschocke S. Klinische Elektroenzephalographie. 2. Auflage, Springer Berlin Heidelberg 2002.

VIII. Anhang

VIII.1 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Conrad Drescher, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Kortikale Funktionsstörung bei Nichtrauchern und Rauchern, gemessen durch die akustisch evozierte P300-Komponente in Abhängigkeit von genetischen Varianten der α 4-Untereinheit des nikotinischen Acetylcholinrezeptors“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

VIII.2 Lebenslauf

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

VIII.3 Danksagung

Zunächst bedanke ich mich bei Herrn Prof. Jürgen Gallinat für die freundliche Überlassung des Themas und die zu jeder Zeit engagierte und unkomplizierte Betreuung dieser Arbeit.

Desweiteren bedanke ich mich bei allen an der Studie beteiligten Personen sowie den Mitarbeitern der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, ohne deren Mitarbeit und Hilfe die Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Schließlich danke ich meiner Familie und meinen Freunden für ihre Unterstützung und Ausdauer während der gesamten Zeit der Erstellung dieser Arbeit.