

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

DISSERTATION

Risikogene für Neurotransmitter-Dysfunktionen  
bei Schizophrenie – 3 Studien zur Genetik

Zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät

Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Tomislav Majić

aus Frankfurt am Main

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. J. Gallinat  
2. Prof. Dr. med. C. Mulert  
3. Prof. Dr. med. D. Rujescu

Datum der Promotion: 25.10.2013

## **Inhaltsverzeichnis**

<b>Abstract</b>	<b>4</b>
<b>1. Einleitung</b>	<b>5</b>
<b>2. Zielstellung</b>	<b>7</b>
<b>3. Methodik</b>	
3.1. Studiendesign	8
3.2. Sensory Gating und Proton-Magnetspektroskopie	9
3.3. Statistische Datenanalyse	9
<b>4. Ergebnisse</b>	<b>10</b>
<b>5. Diskussion</b>	<b>10</b>
<b>6. Literatur</b>	<b>14</b>
<b>7. Anteilserklärung</b>	<b>17</b>
<b>8. Ausgewählte Publikationen</b>	<b>18</b>
8.1. COMT Val <sup>108/158</sup> Met genotype modulates human sensory gating.	19
8.2. Schizophrenia risk polymorphisms in the TCF4 gene interact with smoking in the modulation of auditory sensory gating.	26
8.3. DTNBP1 (Dysbindin) Gene Variants: In vivo evidence for effects on hippocampal glutamate status.	32
<b>9. Lebenslauf</b>	<b>41</b>
<b>10. Komplette Publikationsliste</b>	<b>42</b>
<b>11. Selbständigkeitserklärung</b>	<b>44</b>
<b>12. Danksagung</b>	<b>45</b>

## **Abstract**

Genetische Faktoren spielen eine wichtige Rolle in der Entstehung von Erkrankungen aus dem schizophrenen Formenkreis. Dabei ist die Erforschung von Endophänotypen der Störung von zunehmender Bedeutung. Gegenstand dieser Dissertation war die Untersuchung von Einflüssen bestimmter Risikogene auf intermediäre Phänotypen, die mit Störungen in Neurotransmitter-Systemen in Verbindung gebracht werden, sowie auf Konzentrationen von Neurotransmittern in bestimmten Hirnregionen. Dabei wurden elektrophysiologisch P50- und N100-Gating Parameter abgeleitet und ein Zusammenhang mit Polymorphismen der Gene Catechol-O-Methyltransferase (COMT) und des C-Allels des Transkriptionsfaktors 4 (TCF-4) gefunden. In einer weiteren Studie wurde eine Assoziation zwischen dem *DTNBP1*-Risikogen und der Glutamat-Konzentration in Hippocampus und Anteriorem Zingulärem Kortex untersucht. Die Studien untermauern die Bedeutung des Dopamin- und Glutamat-Stoffwechsels für die Entwicklung der Schizophrenie und weisen auf eine hohe genetische Komplexität des Störungsbildes hin.

## **Abstract**

Genetic influences play a key role in the pathophysiology of schizophrenia spectrum disorders. Endophenotypes of the disease have gained major scientific interest. In this dissertation, we examined the influence of candidate risk genes on intermediate phenotypes that have been associated with disturbances of neurotransmitter systems and the concentration of neurotransmitters in certain brain regions. Electrophysiological data (P50 and N100 gating) were recorded, and we found associations between P50 and N100 gating and the genes coding for catechol-O-methyltransferase (COMT) and the c-allele of transcription factor 4 (TCF-4). In another study, an association between the *DTNBP1*-risk gene and the concentration of glutamate in hippocampus and the anterior cingulate cortex (ACC) was investigated. Our studies underline the importance of the dopamine and glutamate metabolisms for the development of schizophrenia and indicate a high genetic complexity of this disorder.

**Key words:** Endophenotype, intermediate phenotype, sensory gating, p50, n100, schizophrenia, catechol-O-methyltransferase (COMT), transcription factor 4 (TCF-4), dopamine, glutamate, nicotine, Dystrobrevin Binding Protein 1 (DTNBP-1)

## 1. Einleitung

Erkrankungen aus dem schizophrenen Formenkreis zeigen weltweit eine hohe Prävalenz von etwa 1% der Bevölkerung und gehören weiterhin zu den Erkrankungen, die häufig mit einer eher ungünstigen Prognose einhergehen. Die medikamentösen und nicht-medikamentösen Behandlungsoptionen zeigen dabei nicht immer eine ausreichende Wirksamkeit, und bei einer zum Teil hohen Chronifizierungstendenz sind Prävention und Früherkennung der Störung zunehmend Gegenstand der psychiatrischen Forschung (1). Obwohl eine familiäre Häufung der Schizophrenie schon seit langer Zeit bekannt ist, ist es bisher nicht gelungen, ein Gen zu identifizieren, das kausal mit der Entwicklung einer Schizophrenie in Zusammenhang gebracht werden könnte. Daher ist die Erforschung von Risikogenen in den Mittelpunkt des Interesses getreten, die für intermediäre, oder Endophänotypen der Schizophrenie kodieren könnten (2).

Das Konzept der Endophänotypen bezeichnet neurobiologische Korrelate von pathophysiologisch komplexen Krankheitsbildern, die genetisch beeinflusst sind und stabil sind über die Zeit, dabei auch schon vor Ausbruch der Erkrankung bzw. auch bei gesunden Angehörigen bestehen können (3). Zu den Kandidatengenomen zählt die Catechol-O-Methyltransferase (COMT), die maßgeblich am Abbau der Katecholamine Dopamin, Adrenalin und Noradrenalin zu Homovanillinmandelsäure beteiligt ist, im Dopaminmetabolismus somit eine wesentliche Rolle spielt und als funktionellen Polymorphismus den Val<sup>108/158</sup>Met-Genotypen enthält (4). Dabei konnte gezeigt werden, dass der Val/Val-Genotyp zu einer 3-4 Mal schwächeren Enzymaktivität als etwa Met/Met führt (5), so dass beim Val/Val-Genotypen von einem Überangebot von Dopamin ausgegangen wird und er daher als potenzieller Risikogenotyp für Schizophrenie diskutiert wird (6). Die Dopaminhypothese zählt zu den ältesten neurobiologischen Erklärungsmodellen der Schizophrenie (7). Eine Überfunktion wird mit der Entwicklung von Positivsymptomen in Verbindung gebracht, und durch Gabe von Dopaminagonisten können schizophreniforme Positivsymptome auch bei Nicht-Schizophrenen induziert werden. Umgekehrt kann eine Blockade z. B. des Dopamin-2-Rezeptors (D2) durch antipsychotisch wirksame Substanzen wie Haloperidol zu einer Suppression von Positivsymptomen führen. Störungen im Dopaminhaushalt wurden einem wichtigen Endophänotypen, dem elektrophysiologischen Gating-Phänomen in Zusammenhang gebracht (8).

Gating-Phänomene zählen zu den am besten untersuchten und stabilsten Endophänotypen für Schizophrenie (9). Das heißt, dass eine Störung des Gatings ein stabiler Befund bei schizophrenen Patienten und deren Angehörigen ist (10), ohne jedoch spezifisch für das Störungsbild zu sein, so dass diagnostische Empfehlungen daraus nicht abgeleitet werden können. Die P50 ist vermutlich die früheste Komponente des akustisch evozierten Potenzials, bei dem ein Gating beobachtet wird (11). Es tritt etwa 50ms nach dem akustischen Reiz auf. Die etwas spätere N100 stellt die Antwort mit der größten Amplitude der Potenziale mittlerer Latenz dar, und zwar etwa 80-120ms nach dem akustischen Reiz (12). Beim P50 oder N100 Gating werden akustisch evozierte Potenziale (AEPs) mit einem Doppelklick-Paradigma untersucht, wobei die akustischen Reize in einem Abstand von 500ms erfolgen. Dabei ist bei gesunden Probanden die Amplitude des zweiten Potenzials deutlich geringer als beim ersten, so dass eine Adaption an den akustischen Reiz postuliert wurde (11). Dieses Phänomen, dem eine Filterfunktion zwischen relevanten und nicht relevanten akustischen Reizen zugeschrieben wird und das das ZNS somit vor einer akustischen Reizüberflutung schützt (13), ist bei Schizophrenen und deren gesunden Angehörigen verändert (10). Und zwar ist bereits die Reaktion auf den ersten Reiz weniger ausgeprägt vorhanden, so dass von einer frühen Signalverarbeitungsstörung ausgegangen wird. Zusätzlich ist die zweite Antwort (nach 500ms) zwar im Vergleich zur ersten weniger stark ausgeprägt, das Verhältnis von der ersten zur zweiten Antwort aber ist weniger akzentuiert (14), so dass hier von einer Störung der Filterfunktion bei Schizophrenen ausgegangen wird (13), die als ein Erklärungsansatz für die Pathophysiologie verschiedener Bereiche der schizophrenen Symptomatik (15, 16) diskutiert wird.

Da Gatingphänomene mit verschiedenen Neurotransmittersystemen, insbesondere aber mit Dopamin in Zusammenhang gebracht werden, wurden in zweien der vorliegenden Studien die Effekte von Risikogenen auf P50 Gating untersucht, das vermutlich mit dem Dopamin-Stoffwechsel in Verbindung steht. Während in Studie 1 der Zusammenhang zwischen Val<sup>108/158</sup>Met-Genotyp und P50 und N100 Gating untersucht wurde, war in Studie 2 der Einfluss eines Polymorphismus des C-Allels des Transkriptionsfaktors 4 (*TCF4*), rs9960767 auf das P50 Gating von Interesse. Das *TCF4*-Gen findet sich in adulten Mäusehirnen vor allem im Kleinhirn, Hippokampus und im Kortex (17), und eine Haploinsuffizienz des Gens führt bei Menschen zum Pitt-Hopkins Syndrom (18), einer schweren Entwicklungsstörung des Nervensystems, die mit schwerer mentaler und motorischer Retardierung einhergeht (19). Daher geht man davon aus, dass das *TCF4*-Gen eine wichtige Rolle für die Entwicklung des Nervensystems von Säugetieren

spielt. Obgleich die genaue Funktion von TCF4 bislang ungeklärt ist, zählt dieser Polymorphismus zu den Genorten, die in früheren Untersuchungen am stärksten mit dem Risiko für die Schizophrenie korreliert war (18, 20). Zugleich ist er mit dem Sensomotorischen Gating assoziiert (21). Da in beiden Studien der Einfluss des Kandidatengens auf das P50 Gating untersucht wird, und dies mit dem Dopaminstoffwechsel in Verbindung gebracht wird, stellen beide Studien auch einen Beitrag zur Erforschung der Dopaminhypothese der Schizophrenie dar.

Ein weiteres Kandidatengen ist das *DTNBPI*-Gen, das für das Dystrobrevin Binding Protein 1 (Syn.: Dysbindin) kodiert. *DTNBPI* wurde als wichtiges Suszeptibilitäts-gen für Schizophrenie identifiziert (22) und moduliert die Schwere von Negativsymptomen (23). Man hat einen Zusammenhang gefunden zwischen dem *DTNBPI*-Gen und der Beeinträchtigung von kognitiven Domänen gefunden, die sowohl bei Schizophrenen (24), als auch bei Gesunden nach Gabe des Glutamat-Rezeptor-Antagonisten Ketamin beeinträchtigt sind (25). Glutamat wird neben Dopamin als wichtiger pathophysiologischer Faktor für die Entwicklung der Schizophrenie diskutiert, und es wurden Zusammenhänge zwischen Glutamat-Konzentrationen und kognitiver Leistungsfähigkeit sowie dem Schizophrenierisiko gefunden (26). Somit gibt es viele Hinweise dafür, dass wichtige Symptombereiche der Schizophrenie mit Störungen des Glutamatsystems in Verbindung stehen, die auch durch *DTNBPI* und seine genetischen Varianten moduliert werden. Andererseits wurde eine verminderte Expression von Dysbindin u. a. im Hippocampus von Schizophrenen gefunden (27). Daher untersuchten wir in dieser Studie den Zusammenhang zwischen *DTNBPI*-Genotyp und der Konzentration von Glutamat im Hippocampus und im Anterioren Zingulären Kortex (ACC). Die Aminosäure N-Azetyl-Aspartat (NAA) kommt im menschlichen Gehirn vor allem in Neuronen vor, gilt als Maß für neuronale Integrität und synaptische Dichte, und ein Defizit gilt als Hinweis für Neuronenverlust (28). Verminderte NAA-Spiegel im Hippocampus wurden wiederholt bei Schizophrenen gefunden (29). Somit wurde auch die Korrelation zwischen *DTNBPI*- Genotyp und NAA-Konzentration im Hippocampus und ACC untersucht. Studie 3 stellt einen Beitrag zur Untersuchung der Glutamathypothese der Schizophrenie dar.

## **2. Zielstellung**

Die vorliegenden Studien sollen einen Beitrag zur Identifikation von Risikogenen für Schizophrenie leisten und zugleich auf molekularer Ebene zum besseren Verständnis der

Pathophysiologie der Schizophrenie beitragen. Dabei werden der Einfluss von potenziellen Suszeptibilitätsgenen für Schizophrenie auf Neurotransmittersysteme bzw. Endophänotypen untersucht, die mit einem erhöhten Risiko für Erkrankungen aus dem schizophrenen Formenkreis in Zusammenhang gebracht wurden, und zwar auf das P50-Gating-Phänomen und somit indirekt auf den Dopamin-Stoffwechsel. Andererseits wird der Einfluss von Kandidatengenen auf den Glutamat-Stoffwechsel in bestimmten Hirnregionen untersucht. Im Einzelnen ging es dabei um folgende Fragestellungen: 1) Welchen Einfluss haben der COMT Val<sup>108/158</sup>Met-Genotyp und der *TCF4*-rs9960767-Polymorphismus auf das P50- bzw N100-Gating? 2) Wird der Zusammenhang zwischen Polymorphismus und Gating durch Rauchen beeinflusst? 3) Welchen Effekt haben die Polymorphismen rs760665 und rs909706 des *DTNBP1*-Gens auf die Glutamat- und N-Acetyl-Aspartat-(NAA)-Konzentrationen im Hippocampus und dem Anterioren Zingulären Kortex (ACC)?

### **3. Methodik**

#### **3.1. Studiendesign**

**Studie 1:** 282 Probanden wurden untersucht. Vor Studieneinschluss waren psychiatrische und neurologische Erkrankungen sorgfältig ausgeschlossen worden. Im ersten Schritt wurde der COMT Val<sup>108/158</sup>Met-Genotyp aus dem venösen Blut bestimmt. Dann wurde elektrophysiologisch das P50- und N100-Gating abgeleitet und es wurden die Assoziationen mit den Genotypen untersucht.

**Studie 2:** 1822 Probanden wurden in einer Multicenter-Studie untersucht, davon 799 Raucher und 1023 Nicht-Raucher. Die Probanden wurden aus der Allgemeinbevölkerung rekrutiert. Der *TCF4*-rs9960767-Polymorphismus wurde genotypisiert, und seine Beziehung zum P50-Gating wurde untersucht. Zusätzlich wurden folgende Einflussgrößen erhoben: Rauchverhalten, Cotinin-Plasmakonzentration, Kohlenmonoxid in der ausgeatmeten Luft und der Fagerström Test für Nikotinabhängigkeit.

**Studie 3:** 79 gesunde Probanden wurden untersucht. Der Zusammenhang zwischen den Polymorphismen rs760665 und rs909706 und den absoluten Konzentrationen von Glutamat und N-Acetyl-Aspartat (NAA) im Hippocampus und dem Anterioren Zingulären Kortex (ACC) wurde unter Einsatz der Protonen-Magnetresonanz-Spektroskopie (MRS) untersucht.



### 3.2. Technische Durchführung

**Studie 1 und 2: P50 und N100 Gating** Die Probanden wurden in schallgedämpften Räumen platziert, die mit den digitalen EEG-Messgeräten verbunden waren. Bei geschlossenen Augen wurden akustische Reize präsentiert, die je aus 175 (Studie 1) und 250 (Studie 2) identischen Doppelklicks bestanden, die über kalibrierte Kopfhörer eingespielt wurden. Zwischen Klick 1 und Klick 2 lag jeweils ein Zeitraum von 500ms. Die Abstände zwischen den verschiedenen Doppelklicks wurden jeweils pseudorandomisiert. Die Antworten wurden über 29 Elektroden nach dem 10/20-System mit Cz als Referenzelektrode abgeleitet. Die EEG-Daten wurden mit dem „Brain vision analyzer“ untersucht, digital gefiltert, Baseline-korrigiert und gemittelt. Aus den Mittelungen wurden die jeweiligen P50- und N100-Gating Werte errechnet als Ratio der Amplituden der beiden Antworten.

**Studie 3: Magnetresonanztomographie** Die Magnetresonanz-Messungen wurden auf einem 3-Tesla MRT-Gerät durchgeführt. Magnetresonanztomographien wurden erhoben vom linken Hippocampus und dem ACC der Probanden. Die Methodik der Glutamatquantifizierung wurde nach einer referenzierten Methode durchgeführt.

### 3.3. Statistische Datenanalyse

**Studie 1** Die statistischen Untersuchungen wurden mit SPSS durchgeführt. Gruppen- und Genotypvergleiche wurden durch ANOVA oder  $\chi^2$ -Tests berechnet. Die Beziehung zwischen COMT und P50 und N100 Gating wurde durch eine multivariate Varianzanalyse (MANOVA) mit COMT als unabhängiger Variable berechnet. Alle Tests waren zweiseitig und  $p < 0,05$  wurde als signifikant definiert.

**Studie 2** Für die primäre abhängige Variable (prozentuales Ausmaß der P50 Suppression an Fz und Cz) wurde ein lineares Modell einer Kovarianzanalyse verwendet (ANCOVA), dabei waren Genotyp und Raucherstatus die festen Variablen, Alter, Geschlecht und Ort der Messung waren Kovariaten. Alle übrigen P50 Parameter wurden durch ANCOVA berechnet, mit Rauchen, Alter, Geschlecht, und Ort der Messung als Kovariaten. Das Signifikanzlevel lag bei  $p < 0,05$ .

**Studie 3** Gruppenunterschiede hinsichtlich Alter, Geschlecht, und Raucherstatus wurden durch T-Tests für unabhängige Stichproben und  $\chi^2$ -Tests berechnet. Genotyp-Effekte auf

Gehirnmetaboliten wurden durch multiple Kovarianzanalysen (MANCOVA) mit Alter, Geschlecht als Kovariaten und Raucherstatus als unabhängigem Faktor berechnet.

#### 4. Ergebnisse

**Studie 1** Es zeigte sich kein Zusammenhang zwischen Alter, Geschlecht und Gating. N100 Gating war signifikant mit COMT Val<sup>108/158</sup>Met Polymorphismus assoziiert, nicht aber das P50 Gating. Dabei hatten Probanden mit dem Met/Met Genotypen ein signifikant vermindertes Gating im Vergleich zum Met/Val- und dem Val/Val-Genotypen. Rauchen hatte keinen Einfluss auf die Gating-Phänomene.

**Studie 2** Das P50 Gating war bei Trägern des Risikoallels C des *TCF4* Polymorphismus signifikant vermindert. Dieser Effekt war nur bei Rauchern zu beobachten, wobei es bei starken Rauchern zu einem deutlich stärkeren Effekt von *TCF4* auf das P50 Gating kam als bei weniger starken Rauchern. Bei Nicht-Rauchern war der Effekt nicht zu beobachten.

**Studie 3** Die Glutamatkonzentration im Hippocampus wurde signifikant beeinflusst durch die untersuchten *DTNBPI*-Genotypen. Die NAA-Konzentration war schwach assoziiert mit rs760665.

#### 5. Diskussion

Die vorliegenden 3 Studien untersuchen potenzielle Risikogene für Schizophrenie, die mit Dysfunktionen in verschiedenen Neurotransmittersystemen in Zusammenhang gebracht werden können, und zwar befassen Studie 1 und 2 sich mit dem Dopamin- und Studie 3 mit dem Glutamatstoffwechsel.

**In Studie 1** konnte gezeigt werden, dass das Gating-Phänomen zum Teil von genetischen Variationen des Dopaminsystems moduliert wird. Ein Zusammenhang zwischen COMT Val<sup>108/158</sup>Met Genotyp und Gating konnte insbesondere für die N100-Komponente des Gating-Phänomens gezeigt werden. Kein Zusammenhang konnte zwischen COMT Val<sup>108/158</sup>Met Genotyp und P50-Gating gefunden werden. Aus unseren Ergebnissen lässt sich also schließen, dass zumindest das Potenzial für mittlere Latenzen durch präfrontale Dopaminaktivität beeinflusst wird. Die Ergebnisse lassen ferner die Schlussfolgerung zu, dass eine hohe

präfrontale Effizienz, wie sie beim COMT Met/Met-Genotypen erwartet wird, mit einem „schlechteren“ N100 Gating verbunden ist. Dies erscheint zunächst kontraintuitiv, lässt sich jedoch folgendermaßen erklären: Da die Aktivität des akustischen Kortex wie auch das Gating durch präfrontale Einflüsse top-down-moduliert wird, führt eine erhöhte präfrontale Effizienz regulatorisch zu einer gesteigerten Aktivität am akustischen Kortex. Durch die höhere präfrontale Verarbeitungseffizienz kommt es durch präfrontale Modulation am akustischen Kortex zu einer vermehrten Öffnung und damit zu einem erhöhten Input von akustischen Reizen, was wiederum zu einer Reizüberflutung und damit zu einem abgeschwächten Gating führt. Dass sich zwar ein Zusammenhang zwischen Genotyp und N100, nicht aber zu P50-Gating zeigte, könnte durch die unterschiedlichen Lokalisationen der Generatoren von P50 versus N100 begründet sein. Bei letzterem werden stärkere Einflüsse aus dem im Präfrontalen (PFC) und Anterioren Zingulären Kortex (ACC) angenommen. Dabei handelt es sich insofern auch um ein wichtiges Ergebnis, als ein Zusammenhang zwischen COMT Val<sup>108/158</sup>Met Genotyp und Gating bei Schizophrenen in kleineren Stichproben gezeigt werden konnten. Da sich unsere Stichprobe ausschließlich aus gesunden Probanden zusammensetzte, die keinerlei psychotrope Medikation erhielten, kann bei diesem Ergebnis jedoch davon ausgegangen werden, dass es sich um physiologische Zusammenhänge handelt, die nicht durch Krankheits- oder Medikationseinflüsse verändert wurden. Zusammenfassend sprechen die Ergebnisse der Studie 1 nicht dafür, dass es eine lineare oder einfach kausale Verknüpfung zwischen COMT-Gen und Endophänotypen gibt, sondern dass auch diese multifaktoriell ist.

Dieser Eindruck wird durch die Ergebnisse aus **Studie 2** bekräftigt. Hier wurde der Zusammenhang zwischen dem *TCF4*-Einzelnukleotid-Polymorphismus und dem P50-Gating gefunden. In unserer Studie zeigte sich, dass das Risikoallel C des Gens stabil mit einem verminderten P50-Gating assoziiert ist. Interessanterweise war dieser Effekt nur bei Rauchern zu beobachten, während sich bei Nicht-Rauchern kein Einfluss des *TCF4*-Genotyps auf die P50 fand. Diese Interaktion zwischen *TCF4*-Genotyp und Raucherstatus wiederum war deutlich dosisabhängig, und zwar stieg der Effekt bei zunehmend starkem Rauchverhalten an. Dieses Ergebnis lässt unterschiedliche Deutungen zu: 1) entweder handelt es sich bei der Interaktion zwischen Genotyp und Raucherstatus um eine Interaktion des Gens mit einem weiteren, „versteckten“ Gen (oder auch mehreren), so dass es nur durch die Interaktion der beiden Gene mit dem Raucherstatus zu einer Verminderung des P50 Gatings kommt. Oder 2) es handelt sich um eine Interaktion zwischen Gen und Umgebung, d. h., chronisches Rauchen wird als

anhaltende Noxe aufgefasst, durch die es im Zusammenhang mit dem *TCF4*-Genotyp im kumulativen Sinne zu einer Verminderung des P50 Gatings kommt. Damit hätten *TCF4*-Genotyp und Raucherstatus beide einen Einfluss auf die frühe Informationsverarbeitung. Denkbar wäre zudem, dass Rauchen das Risiko für Schizophrenie an sich verändern könnte, und Rauchverhalten ebenso wie Risikogene wie der *TCF4*-Genotyp als frühe Indikatoren für die Entwicklung einer Psychose darstellen könnten. Damit sind genetische Einflüsse auf den Gating-Endophänotypen nicht auf den COMT-Genotyp beschränkt, sondern auch andere Gene haben einen Einfluss auf denselben Gating-Phänotypen. Zudem zeigt sich, dass in zukünftigen Studien Einflussfaktoren wie das Rauchverhalten unbedingt berücksichtigt werden sollten, wenn genetische Risikofaktoren für Schizophrenie untersucht werden.

In **Studie 3** wurde ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Einzelnucleotid-Polymorphismus des *DTNBPI*-Gens und der Glutamat-Konzentration im Hippocampus, nicht aber für den ACC gefunden. Ein schwacher Zusammenhang zeigte sich zwischen der NAA-Konzentration im Hippocampus und rs760665. Das heißt, dass es einen Zusammenhang zwischen dem *DTNBPI*-Gen und dem Glutamat-Stoffwechsel zumindest im Hippocampus gibt. Interessanterweise überlappen sich die Domänen kognitiver Beeinträchtigung, die mit dem Gen in Verbindung stehen, mit den bei der Schizophrenie betroffenen Domänen zum Teil (24), und das *DTNBPI*-Gen wird als Risikogen für Schizophrenie diskutiert. Eine andere mögliche Deutung unserer Ergebnisse wäre, dass es nur eine Subgruppe von Schizophrenie-Patienten gibt, bei denen Störungen im Glutamatstoffwechsel pathogenetisch eine entscheidende Rolle spielen. Bei dieser Gruppe könnten Glutamat-Modulatoren ein vielversprechendes Therapiekonzept darstellen. Da die NAA-Konzentration im Gehirn von Schizophrenen vermindert ist (29) und als ein Maß für neuronale Integrität und synaptische Dichte (30) diskutiert wird, erscheint der Zusammenhang zwischen NAA-Konzentration und *DTNBPI*-Gen insofern plausibel, als Dysbindin eine regulatorische Wirkung auf die Synaptogenese und den Untergang von Neuronen hat (22). Zusammenfassend stützten die Ergebnisse also die Hypothese, dass Varianten des *DTNBPI*-Gens einen Einfluss auf den Glutamatstoffwechsel und die NAA-Konzentration im menschlichen Gehirn haben, und zwar vor allem im Hippocampus. Dieses Ergebnis deutet auf die zentrale Rolle von Glutamat in der Pathobiologie der Schizophrenie hin und ist – auch im Zusammenhang mit den anderen beiden Studien – ein weiterer Hinweis für die ätiopathogenetische Vielgestaltigkeit der Störung.

**Schlussfolgerung:** Zusammenfassend sprechen unsere drei Studien für die hohe Komplexität der Interaktionen von Genotypen, Umwelteinflüssen und (Endo-) Phänotypen der Schizophrenie. Angesichts der Vielgestaltigkeit des Störungsbildes und seiner Pathophysiologie halten wir die weitere Erforschung von genetischen Einflüssen, Umweltfaktoren und pathobiochemischen Prozessen bei der Schizophrenie für vielversprechend hinsichtlich der zukünftigen Entwicklung von differenzialdiagnostischen und –therapeutischen Ansätzen für die Behandlung und Prävention dieses Krankheitsbildes.

## 6. Literatur

- 1 Ruhrmann S, Schultze-Lutter F, Salokangas RK, et al. Prediction of psychosis in adolescents and young adults at high risk: results from the prospective European prediction of psychosis study. *Arch Gen Psychiatry*. 2010; 67(3):241-51.
- 2 Braff DL, Greenwood TA, Swerdlow NR, et al. Investigators of the Consortium on the Genetics of Schizophrenia. Advances in endophenotyping schizophrenia. *World Psychiatry*. 2008; 7(1):11-8.
- 3 Cannon TD, Keller MC. Endophenotypes in the genetic analyses of mental disorders. *Annu Rev Clin Psychol*. 2006; 2: 267-90.
- 4 Soyka M. Neurobiology of aggression and violence in schizophrenia. *Schizophr Bull*. 2011; 37(5):913-20.
- 5 Gogos JA, Morgan M, Luine V, et al. Karayiorgou M. Catechol-O-methyltransferase-deficient mice exhibit sexually dimorphic changes in catecholamine levels and behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998; 95(17):9991-6.
- 6 Egan MF, Goldberg TE, Kolachana BS, et al. Effect of COMT Val108/158 Met genotype on frontal lobe function and risk for schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; 98(12):6917-22.
- 7 Carlsson A. Antipsychotic drugs, neurotransmitters, and schizophrenia. *Am J Psychiatry*. 1978; 135(2):165-73.
- 8 Oranje B, Gispen-de Wied CC, Westenberg HG, et al. Increasing dopaminergic activity: effects of L-dopa and bromocriptine on human sensory gating. *J Psychopharmacol*. 2004; 18(3):388-94.
- 9 Hong LE, Summerfelt A, Mitchell BD, et al. Sensory gating endophenotype based on its neural oscillatory pattern and heritability estimate. *Arch Gen Psychiatry*. 2008; 65(9):1008-16.
- 10 Siegel C, Waldo M, Mizner G, Adler LE, Freedman R. Deficits in sensory gating in schizophrenic patients and their relatives. Evidence obtained with auditory evoked responses. *Arch Gen Psychiatry*. 1984; 41(6):607-12.
- 11 Waldo MC, Freedman R. Gating of auditory evoked responses in normal college students. *Psychiatry Res*. 1986; 19(3):233-9.
12. Lijffijt M, Lane SD, Meier SL, et al. P50, N100, and P200 sensory gating: relationships with behavioral inhibition, attention, and working memory. *Psychophysiology*. 2009; 46(5):1059-68.
- 13 Boutros NN, Korzyukov O, Jansen B, Feingold A, Bell M. Sensory gating deficits during the mid-latency phase of information processing in medicated schizophrenia patients. *Psychiatry Res*. 2004; 126(3):203-15.

- 14 Boutros NN, Belger A. Midlatency evoked potentials attenuation and augmentation reflect different aspects of sensory gating. *Biol Psychiatry*. 1999; 45(7):917-22.
- 15 Louchart-de la Chapelle S, Levillain D, Ménard JF, et al. P50 inhibitory gating deficit is correlated with the negative symptomatology of schizophrenia. *Psychiatry Res*. 2005; 136(1):27-34.
- 16 Potter D, Summerfelt A, Gold J, Buchanan RW. Review of clinical correlates of P50 sensory gating abnormalities in patients with schizophrenia. *Schizophr Bull*. 2006; 32(4):692-700.
- 17 Brzózka MM, Radyushkin K, Wichert SP, Ehrenreich H, Rossner MJ. Cognitive and sensorimotor gating impairments in transgenic mice overexpressing the schizophrenia susceptibility gene *Tcf4* in the brain. *Biol Psychiatry*. 2010; 68(1):33-40.
- 18 Blake DJ, Forrest M, Chapman RM, Tinsley CL, O'Donovan MC, Owen MJ. *TCF4*, schizophrenia, and Pitt-Hopkins Syndrome. *Schizophr Bull*. 2010; 36(3):443-7.
- 19 Zweier C, Peippo MM, Hoyer J, et al. Haploinsufficiency of *TCF4* causes syndromal mental retardation with intermittent hyperventilation (Pitt-Hopkins syndrome). *Am J Hum Genet*. 2007; 80(5):994-1001
- 20 Steinberg S, de Jong S, Andreassen OA, Werge T, Borglum AD, Mors O et al. Common variants at *VRK2* and *TCF4* conferring risk of schizophrenia. *Hum Mol Genet* 2011; In press.
- 21 Quednow BB, Ettinger U, Mössner R, et al. The schizophrenia risk allele C of the *TCF4* rs9960767 polymorphism disrupts sensorimotor gating in schizophrenia spectrum and healthy volunteers. *J Neurosci*. 2011; 31(18):6684-91.
- 22 Numakawa T, Yagasaki Y, Ishimoto T, et al. Evidence of novel neuronal functions of dysbindin, a susceptibility gene for schizophrenia. *Hum Mol Genet*. 2004; 13(21):2699-708.
- 23 DeRosse P, Funke B, Burdick KE, et al. Dysbindin genotype and negative symptoms in schizophrenia. *Am J Psychiatry*. 2006; 163(3):532-4.
- 24 Elvevåg B, Goldberg TE. Cognitive impairment in schizophrenia is the core of the disorder. *Crit Rev Neurobiol*. 2000;14(1):1-21.
- 25 Newcomer JW, Farber NB, Jevtovic-Todorovic V, et al. Ketamine-induced NMDA receptor hypofunction as a model of memory impairment and psychosis. *Neuropsychopharmacology*. 1999; 20(2):106-18.
- 26 Purdon SE, Valiakalayil A, Hanstock CC, Seres P, Tibbo P. Elevated 3T proton MRS glutamate levels associated with poor Continuous Performance Test (CPT-0X) scores and genetic risk for schizophrenia. *Schizophr Res*. 2008; 99(1-3):218-24.
- 27 Chen XW, Feng YQ, Hao CJ, et al. *DTNBP1*, a schizophrenia susceptibility gene, affects kinetics of transmitter release. *J Cell Biol*. 2008; 181(5):791-801.

- 28 Lu ZH, Chakraborty G, Ledeen RW, Yahya D, Wu G. N-Acetylaspartate synthase is bimodally expressed in microsomes and mitochondria of brain. *Brain Res Mol Brain Res*. 2004; 122(1):71-8.
- 29 Blasi G, Bertolino A, Brudaglio F, et al. Hippocampal neurochemical pathology in patients at first episode of affective psychosis: a proton magnetic resonance spectroscopic imaging study. *Psychiatry Res*. 2004; 131(2):95-105.
- 30 Li SJ, Wang Y, Pankiewicz J, Stein EA. Neurochemical adaptation to cocaine abuse: reduction of N-acetyl aspartate in thalamus of human cocaine abusers. *Biol Psychiatry*. 1999; 45(11): 1481-7.



## **7. Anteilserklärung**

Tomislav Majić hatte folgenden Anteil an den an den vorgelegten Publikationen:

### **Studie 1:**

Majic T, Rentzsch J, Gudlowski Y, Ehrlich S, Juckel G, Sander T, Lang UE, Winterer G, Gallinat J. COMT Val108/158Met genotype modulates human sensory gating. *Neuroimage*. 2011; 55(2): 818-24.

75%: Durchführung von EEG-Messungen, Schreiben des Manuskriptentwurfes und substantielle Mitwirkung an der Anfertigung der Publikation in der vorliegenden Form.

### **Studie 2:**

Wirth C, Schubert F, Lautenschlager M, Bruhl R, Klar A, Majic T, Lang UE, Ehrlich A, Winterer G, Sander T, Schouler-Ocak M, Gallinat J. DTNBP1 (Dysbindin) Gene Variants: In Vivo Evidence for Effects on Hippocampal Glutamate Status. *Curr Pharm Biotechnol*. 2012; 13(8):1513-21.

30%: Mitarbeit bei statistischer Auswertung und Modifikation des Manuskriptes.

### **Studie 3:**

Quednow BB, Brinkmeyer J, Mobascher A, Nothnagel M, Musso F, Gründer G, Savary N, Petrovsky N, Frommann I, Lennertz L, Spreckelmeyer KN, Wienker TF, Dahmen N, Thuerlauf N, Clepce M, Kiefer F, Majic T, Mössner R, Maier W, Gallinat J, Diaz-Lacava A, Toliat MR, Thiele H, Nürnberg P, Wagner M, Winterer G. Schizophrenia risk polymorphisms in the TCF4 gene interact with smoking in the modulation of auditory sensory gating. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012; 109(16):6271-6.

30%: Modifikation des Manuskriptes.

---

Tomislav Majic

## **8. Ausgewählte Publikationen**

Die Seiten 19-40 umfassen folgende Originalartikel:

### **Studie 1**

Majic T, Rentzsch J, Gudlowski Y, Ehrlich S, Juckel G, Sander T, Lang UE, Winterer G, Gallinat J. COMT Val108/158Met genotype modulates human sensory gating. *Neuroimage*. 2011; 55(2): 818-24.

### **Studie 2**

Wirth C, Schubert F, Lautenschlager M, Bruhl R, Klar A, Majic T, Lang UE, Ehrlich A, Winterer G, Sander T, Schouler-Ocak M, Gallinat J. DTNBP1 (Dysbindin) Gene Variants: In Vivo Evidence for Effects on Hippocampal Glutamate Status. *Curr Pharm Biotechnol*. 2012; 13(8):1513-21.

### **Studie 3**

Quednow BB, Brinkmeyer J, Mobascher A, Nothnagel M, Musso F, Gründer G, Savary N, Petrovsky N, Frommann I, Lennertz L, Spreckelmeyer KN, Wienker TF, Dahmen N, Thuerauf N, Clepce M, Kiefer F, Majic T, Mössner R, Maier W, Gallinat J, Diaz-Lacava A, Toliat MR, Thiele H, Nürnberg P, Wagner M, Winterer G. Schizophrenia risk polymorphisms in the TCF4 gene interact with smoking in the modulation of auditory sensory gating. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012; 109(16):6271-6.



















































## **9. Lebenslauf**

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird mein Lebenslauf in der elektronischen Version der Dissertation nicht veröffentlicht.

## 10. Komplette Publikationsliste

**Majić T**, Stugis A, Gutzmann H, Heinz A, Lang UE, Rapp MA. Animal-assisted therapy and agitation and depression in demented nursing home residents: a matched case-control trial. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2013.

Rapp MA, Mell T, **Majić T**, Treusch Y, Nordheim J, Niemann-Mirmehdi M, Gutzmann H, Heinz A. Agitation in Nursing Home Residents With Dementia (VIDEANT Trial): Effects of a Cluster-Randomized, Controlled, Guideline Implementation Trial. *J Am Med Dir Assoc*. 2013;14(9):690-5.

**Majić T**, Pluta JP, Mell T, Treusch Y, Gutzmann H, Rapp MA. Correlates of agitation and depression in nursing home residents with dementia. *Int Psychogeriatr*. 2012: 1-11.

Mutschler J, Abbruzzese E, von der Goltz C, Dinter C, Mobascher A, Thiele H, Diaz-Lacava A, Dahmen N, Gallinat J, **Majić T**, Petrovsky N, Kornhuber J, Thuerauf N, Gründer G, Brinkmeyer J, Wienker T, Wagner M, Winterer G, Kiefer F. Genetic Variation in the Neuropeptide Y Gene Promoter Is Associated with Increased Risk of Tobacco Smoking. *Eur Addict Res*. 2012; 18(5):246-252.

Mutschler J, Abbruzzese E, Wiedemann K, von der Goltz C, Dinter C, Mobascher A, Thiele H, Diaz-Lacava A, Dahmen N, Gallinat J, **Majić T**, Petrovsky N, Thuerauf N, Kornhuber J, Gründer G, Rademacher L, Brinkmeyer J, Wienker T, Wagner M, Winterer G, Kiefer F. Functional polymorphism in the neuropeptide Y gene promoter (rs16147) is associated with serum leptin levels and waist-hip ratio in women. *Ann Nutr Metab*. 2013;62(4):271-6.

Quednow BB, Brinkmeyer J, Mobascher A, Nothnagel M, Musso F, Gründer G, Savary N, Petrovsky N, Frommann I, Lennertz L, Spreckelmeyer KN, Wienker TF, Dahmen N, Thuerauf N, Clepce M, Kiefer F, **Majić T**, Mössner R, Maier W, Gallinat J, Diaz-Lacava A, Toliat MR, Thiele H, Nürnberg P, Wagner M, Winterer G. Schizophrenia risk polymorphisms in the TCF4 gene interact with smoking in the modulation of auditory sensory gating. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012.

Wirth C, Schubert F, Lautenschlager M, Brühl R, Klär A, **Majić T**, Lang UE, Ehrlich A, Winterer G, Sander T, Schouler-Ocak M, Gallinat J. DTNBP1 (Dysbindin) Gene Variants: In vivo evidence for effects on hippocampal glutamate status. *Curr Pharm Biotechnol*. 2012.

**Majić T**, Rentzsch J, Gudlowski Y, Ehrlich S, Juckel G, Sander T, Lang UE, Winterer G, Gallinat J. COMT Val108/158Met genotype modulates human sensory gating. *Neuroimage*. 2011; 55(2):818-24.

**Majić T**, Mell T, Oldenkott B, Behr J. Reversible antipsychotic-associated leukopenia in a patient with splenomegalia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2010; 34(7):1353-4.

**Majić T**, Pluta JP, Mell T, Aichberger MC, Treusch Y, Gutzmann H, Heinz A, Rapp MA. The pharmacotherapy of neuropsychiatric symptoms of dementia: a cross-sectional study in 18 homes for the elderly in Berlin. *Dtsch Arztebl Int*. 2010; 107(18): 320-7.

Rapp MA, **Majic T**, Pluta JP, Mell T, Kalbitzer J, Treusch Y, Heinz A, Gutzmann H. [Pharmacotherapy of neuropsychiatric symptoms in dementia in nursing homes: a comparison of service provision by psychiatric outpatient clinics and primary care psychiatrists]. *Psychiatr Prax.* 2010; 37(4):196-8.

**Majic T**, Mell T, Heinz A, Rapp MA. Adjunct treatment with levodopa in a patient with dementia with Lewy bodies, delusions and severe neuroleptic hypersensitivity syndrome. *Int Psychogeriatr.* 2010; 22(4):678-9.

Treusch Y, Jerosch D, **Majic T**, Heinz A, Gutzmann H, Rapp MA. [How Can we provide better services for demented nursing home residents suffering from apathy?]. *Psychiatr Prax.* 2010; 37(2):84-8.

## **11. Selbstständigkeitserklärung**

Ich, Tomislav Majić, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Risikogene für Neurotransmitter-Dysfunktionen bei Schizophrenie – 3 Studien zur Genetik“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Berlin, 28.07.12

Tomislav Majić

## **12. Danksagung**

Meinem Doktorvater Professor Dr. Gallinat danke ich für die Überlassung des Themas und für seine unermüdliche, motivierende und freundliche Betreuung und Förderung.

Ein besonderer Dank gilt Frau Dr. rer. nat. Dipl.-Psych. Yehonala Gudlowski für die geduldige und nachsichtige, wie auch kompetente methodische Unterstützung bei der Erhebung der elektrophysiologischen Daten. Professor Dr. Ehrlich danke ich für die beratende Unterstützung bei der Fertigstellung des Manuskripts.

Meiner Frau danke ich für ihre Zuversicht und ihre warmherzige Unterstützung, meiner Tochter Helena für ihre ewig gute Laune.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern, die mich in meiner langjährigen beruflichen Ausbildung und finanziell und ideell unterstützten.