

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

DISSERTATION

Assoziation von SNARE-associated Protein Snapin
(SNAPAP) mit
Negativsymptomatik und kognitiven Defiziten bei
schizophrenen Patienten

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Martin Liening

aus

Lohne (Oldenburg)

Datum der Promotion: 11.12.2015

*„Genes represent mechanisms of disease,
and in a field previously based on phenomenology,
this is a sea change in the science of schizophrenia.”*

(Harrison und Weinberger 2005)

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	VI
Tabellenverzeichnis	VII
Abkürzungsverzeichnis	IX
Zusammenfassung	X
Abstract	XI
1 Einleitung	1
1.1 Schizophrenie	1
1.1.1 Historie	1
1.1.2 Epidemiologie	2
1.1.3 Symptomatik und Diagnosekriterien	3
1.1.3.1 Positiv- und Negativsymptomatik	3
1.1.3.2 Klassifikation der Diagnosekriterien	5
1.1.4 Verlauf	7
1.1.5 Therapie	9
1.1.6 Ätiologie/Pathogenese	10
1.1.6.1 Genetik	13
1.1.6.2 Neuroanatomische Befunde und Hypothesen	19
1.1.6.3 Neurobiochemische Hypothesen	19
1.1.7 Konzept der Endophänotypen	21
1.2 SNARE-associated Protein Snapin (SNAPAP)	23
1.2.1 Merkmale von Snapin	23
1.2.2 SNARE-Komplexe	24
1.2.3 BLOC-1	26
1.2.4 Funktionen von BLOC-1	28
1.2.5 Funktionen von Snapin	28
1.2.6 BLOC1, Snapin und Schizophrenie	29

2	Fragestellung	30
3	Methodik	32
3.1	Klinischer Teil	32
3.1.1	Patientenkollektiv	32
3.1.2	Kontrollkollektiv	33
3.1.3	Ablauf der klinischen Studie	33
3.1.4	Psychometrische Messinstrumente	35
3.1.4.1	Skalen der allgemeinen Psychopathologie	35
3.1.4.2	Skalen der speziellen Psychopathologie bei Schizophrenie	35
3.1.4.3	Skalen für Depressivität	37
3.1.5	Kognitive Testungen	38
3.2	Experimenteller Teil	42
3.2.1	Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs).....	42
3.2.2	SNP-Auswahl.....	43
3.2.3	Ablauf der experimentellen Arbeit.....	44
3.2.3.1	DNA-Extraktion	44
3.2.3.2	Polymerase Chain Reaction (PCR).....	45
3.2.3.3	Auswahl der Primer	47
3.2.3.4	Restriktionsenzymverdau	47
3.2.3.5	Agarosegel-Elektrophorese.....	48
3.3	Statistische Auswertung	49
3.4	Zubehör	50
4	Ergebnisse.....	52
4.1	Demografische Daten	52
4.2	Interferenzstatistik.....	55
4.2.1	Populationsunterschiede in der Allelverteilung der SNPs.....	55
4.2.2	SNPs und psychometrische Maße	57

5	Diskussion	64
5.1	Bedeutung von Snapin als Risiko-Gen für Schizophrenie	66
5.2	Bedeutung der Snapin-Polymorphismen für Negativsymptomatik und kognitive Fähigkeiten	67
5.3	Negativsymptomatik und Kognition	69
5.4	Limitationen	72
5.5	Ausblick	74
	Literaturverzeichnis	77
	Eidesstattliche Versicherung	91
	Lebenslauf.....	92
	Danksagung	94

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Verlauf einer schizophrenen Erkrankung	7
Abbildung 2: Das Vulnerabilitäts-Stress-Coping-Modell von Zubin und Spring	11
Abbildung 3: Modell der Ätiopathogenese der Schizophrenie.....	12
Abbildung 4: Lebenszeitrisko für Schizophrenie modifiziert nach Gottesman.....	13
Abbildung 5: Kopplungsuntersuchungen bei genetisch komplexen Erkrankungen.....	16
Abbildung 6: Schematische Darstellung des Interaktionsnetzwerkes von BLOC1	23
Abbildung 7: SNARE-Komplex mit Syntaxin, Synaptobrevin und SNAP-25	25
Abbildung 8: Extrinsische Interaktionen der BLOC1-Untereinheiten.....	27
Abbildung 9: Kognitive Leistungstests mit Testdomänen nach Kircher.....	38
Abbildung 10: Verlauf der PCR mit exponentiellen Amplifizierungsraten.....	46
Abbildung 11: Altersverteilung in beiden Kollektiven.....	52
Abbildung 12: Berufsausbildung der Patienten	53
Abbildung 13: Finanzielle Lebensgrundlagen der Patienten	54
Abbildung 14: Screeplot der Faktorenanalyse für die kognitiven Fähigkeiten.....	58

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Verteilung der Anzahl stationärer Erstaufnahmen schizophrener Erkrankter nach Alter und Geschlecht (Raten pro 100.000)	2
Tabelle 2: Positive und negative Symptome der Schizophrenie	5
Tabelle 3: Vergleichende Klassifikation nach DSM-V und ICD-10	6
Tabelle 4: Risikofaktoren für Schizophrenie	12
Tabelle 5: Ergebnisse der Metastudien von Badner/Gershon (2002), Lewis et al. (2003) und Ng et al. (2009)	17
Tabelle 6: Ergebnisse genomweiter Assoziationsstudien	18
Tabelle 7: Die acht Untereinheiten von BLOC1 nach Dell'Angelica (2004)	27
Tabelle 8: Ein- und Ausschlusskriterien des Patientenkollektivs	33
Tabelle 9: Ablauf der beiden Probandentermine	34
Tabelle 10: Untersuchte SNPs des Snapin-Gens	44
Tabelle 11: Restriktionsenzyme für den Verdau	48
Tabelle 12: Bandenmuster nach Restriktionsenzymverdau und Aufteilung der Genotypen	48
Tabelle 13: Auswertungssoftware	50
Tabelle 14: Verwendete Geräte	51
Tabelle 15: Verwendete Chemikalien	51
Tabelle 16: Deskriptive Statistik der Geschlechts- und Altersverteilung in beiden Kollektiven	52
Tabelle 17: Deskriptive Statistik der psychometrischen Maße	54
Tabelle 18: Chi-Quadrat-Test rs12139953	55
Tabelle 19: Chi-Quadrat Test rs7345	56
Tabelle 20: Chi-Quadrat Test rs12742546	57
Tabelle 21: Ladungen der Faktorenanalysen zu den kognitiven Fähigkeiten	59
Tabelle 22: Korrelationen der Faktoren Negativsymptomatik und kognitive Fähigkeiten	60
Tabelle 23: Korrelation der Faktoren kognitive Fähigkeiten und Negativsymptomatik mit ausgewählten psychometrischen Ratingverfahren	61
Tabelle 24: Korrelationen der demographischen Daten mit den Faktoren Negativsymptomatik und kognitive Fähigkeiten (N>107)	62
Tabelle 25: Multiple Regression zur Vorhersage des Faktors Negativsymptomatik	63

Tabelle 26: Varianzanalysen mit den SNPs und den beiden Globalfaktoren, Negativsymptomatik und kognitive Fähigkeiten	63
Tabelle 27: Varianzanalysen mit den SNPs, Geschlecht und den beiden Globalfaktoren, Ergänzung um den Faktor Geschlecht	64
Tabelle 30: Studien zu Assoziationen von BLOC1, Negativsymptomatik und Dysbindin.....	68
Tabelle 31: Erkenntnisse zu Studien zur Assoziation von Dysbindin und kognitiven Defiziten.....	69
Tabelle 30: Studien zur Korrelation von Negativsymptomatik und kognitiven Fähigkeiten	70
Tabelle 31: Studien zu den Domänen semantische und phonematische Wortflüssigkeit	71
Tabelle 32: Merkmale von Schizophrenie/schizoaffektiver Störung nach Marneros et al (1989)	72

Abkürzungsverzeichnis

BLOC1	Biogenesis of lysosome-related organelles complex 1
bp	Base pair(s)
Con	Kontrollgruppe
DRD2	Dopaminrezeptoren Typ 2
DSM	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
HPS	Hermansky-Pudlak-Syndrom
ICD	International Classification of Diseases
LPS-3	Leistungsprüfsystem, Untertest 3
LRO	Lysosome-related organelles
MHC	Major histocompatibility complex
MWT-B	Mehrfachwahl-Wortschatz-Intelligenztest
NMDA	N-methyl-D-aspartic acid
NSA	Negative Symptom Assessment
OR	Odds Ratio
PANSS	Positive and Negative Syndrome Scale
PCR	Polymerase Chain Reaction
rs	Reference SNP (ID number)
RWT	Regensburger Wortflüssigkeitstest
SANS	Scale of the Assessment of Negative Symptoms
SNAPAP	SNARE-associated protein Snapin
SNARE	Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor
SNAP-25	Synaptosomal-associated protein 25
SNP	Single-nucleotide polymorphism
SPSS	Statistical Package of the Social Sciences
STROOP	Farb-Wort-Interferenz-Test
Sz	Probanden, Schizophreniepatienten
TBE	TRIS Borat EDTA
Tryp1	Tyrosinase-related protein 1
YLD	Years of life lived with disability
VLMT	Verbaler Lern- und Merkfähigkeitstest
WCST	Wisconsin Card Sorting Test

Zusammenfassung

Hintergrund: Schizophrenie ist eine multifaktoriell bedingte psychische Erkrankung. Besonders relevant ist aufgrund der langfristigen Auswirkungen für die Patienten die Ursachenforschung im Bereich der Negativsymptomatik. Wissenschaftlich belegt ist, dass Dysbindin eine zentrale Rolle bei der Entstehung der Schizophrenie spielt und dass Genvariationen im Dysbindin-Gen mit einer eingeschränkten kognitiven Leistung einhergehen. SNARE-associated Protein Snapin (SNAPAP), kurz Snapin genannt, ist wie Dysbindin eine Untereinheit des BLOC1-Komplexes und direkter Interaktionspartner von Dysbindin. Deshalb wurden in dieser Arbeit Single-Nucleotide-Polymorphismen (SNPs) des Snapin-Gen daraufhin untersucht, ob sie mit den Symptomen der Schizophrenie, insbesondere mit der Negativsymptomatik und kognitiven Defiziten, assoziiert sind. *Methoden:* Insgesamt wurden 200 Probanden kaukasischer Herkunft zwischen 18 und 70 Jahren in einer Fall-Kontroll-Studie untersucht. Bei 119 Versuchspersonen lag eine Diagnose nach ICD-10 (F20 Schizophrenie oder F25 Schizoaffektive Störung) vor. Das Kontrollkollektiv umfasste 81 Versuchspersonen, bei denen eine psychiatrische Erkrankung ausgeschlossen worden war. Die klinische Untersuchung erfolgte innerhalb von zwei Terminen, an denen halbstrukturierte Interviews und kognitive Testungen durchgeführt wurden. Im Ablauf der experimentellen Arbeit wurde die DNA der Probanden mittels PCR und Agarosegel-Elektrophorese analysiert. *Ergebnisse:* Die Populationen zeigten bezüglich der nach relevanten Kriterien ausgewählten SNPs von Snapin rs12139953, rs7345, rs12742546 keine signifikanten Unterschiede. Lediglich bei einem der drei untersuchten SNPs (rs12742546) zeigte die Odds Ratio einen etwas deutlicheren Effekt. Männer waren hinsichtlich der Negativsymptomatik stärker betroffen. Effekte der SNPs auf Negativsymptomatik und Kognition zeigten sich nicht. Die Ausprägung kognitiver Defizite und Negativsymptomatik korrelierten bei Schizophrenie-Patienten. *Schlußfolgerung:* Insgesamt ergaben die vorliegenden Untersuchungen keinen Hinweis darauf, dass Snapin ein Risikogen für Schizophrenie ist. Nachfolgende Untersuchungen mit größeren Kollektiven und einer höheren Anzahl an genetischen Varianten sollten folgen, um dieser Frage weiter nachzugehen.

Abstract

Background: Schizophrenia is a multifactorial mental illness. Due to the long-term effects for patients, causal research in the area of negative symptoms is especially relevant. It is scientifically proven that Dysbindin plays a central role in the development of schizophrenia, just as genetic variations in the Dysbindin-gene are associated with impaired cognitive performance. SNARE-associated protein Snapin (SNAPAP), or Snapin for short, is like Dysbindin a subunit of the BLOC1- complex and direct interaction partner of Dysbindin. Therefore, in this work single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the Snapin-gene were examined for whether they are associated with the symptoms of schizophrenia, particularly the negative symptoms and cognitive deficits. *Methods:* A total of 200 subjects between 18 and 70 years old and of Caucasian origin were examined in a case-control study. 119 subjects were diagnosed according to ICD-10 (F20 Schizophrenia or F25 Schizoaffective disorder). The control group consisted of 81 subjects in which a psychiatric illness had been excluded. The clinical examination was carried out within two meetings on which semi-structured interviews and cognitive tests were performed. In the course of the experimental work, the DNA of the subjects was analyzed by PCR and agarose gel electrophoresis. *Results:* The populations have shown no significant differences in terms of the selected SNPs of Snapin rs12139953, rs7345 and rs12742546. When limited to one of the three investigated SNPs (rs12742546), the odds ratio showed a slightly more pronounced effect. Men were more affected regarding negative symptoms. Effects of SNPs on negative symptoms and cognition were not evident. The severity of cognitive deficits and negative symptoms correlated in schizophrenia patients. *Conclusion:* Overall, the present study found no evidence that Snapin is a risk gene for schizophrenia. Subsequent studies with larger populations and a higher number of genetic variants should follow to further explore this issue.

1 Einleitung

1.1 Schizophrenie

1.1.1 Historie

Die heutige Definition des Begriffes Schizophrenie – wörtlich „gespaltene Seele“¹ – geht auf Eugen Bleuler, Ordinarius für Psychiatrie in Zürich, zurück und löste den von Emil Kraepelin (1896) geprägten Begriff Dementia praecox ab, der noch einen fortschreitenden geistigen Abbau implizierte. (1) Er bezog sich dabei auf den psychopathologischen Mangel an der Einheit der Persönlichkeit der Betroffenen, den er in seinem 1911 entwickelten Krankheitskonzept in drei Grundsymptome aufteilte: (2)

- *Störungen des Denkens*: Zerfahrenheit und zusammenhangloses, alogisches Denken,
- *Störungen der Affektivität*: Ambivalenz, instabile Stimmungslage, Gefühlseinbrüche und Ratlosigkeit sowie
- *Störungen der Ich-Persönlichkeit*: Rückzug aus der Wirklichkeit, Desintegration von Fühlen, Wollen und Handeln.

Um die Diagnose zu erleichtern, konzeptionierte Kurt Schneider darauf aufbauend im Jahr 1959 ein Rangsystem, das den heutigen Klassifikationssystemen entspricht. Ich-Störungen und akustische Halluzinationen bilden den ersten Rang. Sofern andere Ursachen wie zum Beispiel eine internistische Erkrankung oder die Einnahme einer toxischen Substanz ausgeschlossen werden können, sprechen diese Symptome mit hoher Wahrscheinlichkeit für die Diagnose einer Schizophrenie. Dazu gehören Gedankeneingebungen, Gedankenentzug, Gedankenausbreitung (Ich-Störungen) sowie dialogische, kommentierende, imperative Stimmen, Gedankenlautwerden, Willensbeeinflussung, Wahnwahrnehmung, leibliche Beeinflussungserlebnisse (akustische Halluzinationen). Symptome zweiten Ranges sind alle anderen Erscheinungen, die bei einer Schizophrenie vorkommen können und für eine Diagnose nachrangig zu betrachten sind wie sonstige akustische Halluzinationen, Zönästhesien im engeren Sinne, optische Halluzinationen, Geruchshalluzinationen, Geschmackshalluzinationen, einfache Eigenbeziehung und Wahneinfall. (3)

¹ Der Begriff „Schizophrenie“ setzt sich aus dem altgriechischen σχίζειν s'chizein „abspalten“ und φρήν phrēn „Seele, Zwerchfell“ zusammen.

Der englische Neurologe J.H. Jackson (1835-1911) verwendete in seinen Schriften erstmals den Begriff der Negativsymptomatik und verstand darunter die kognitiven Defizite, die mit dem Krankheitsbild der Schizophrenie einhergehen, im Unterschied zu den florid-psychotischen Symptomen die er als Positivsymptomatik der Schizophrenie bezeichnete. (4) Peter F. Liddle entwickelte 1987 ein dreidimensionales Modell der Schizophrenie-Symptome, die aufgrund von spezifischen Läsionen im Gehirn in unterschiedlicher Ausprägung auftreten können. Liegt die Läsion im linken dorsalen präfrontalen Kortex kommt es zu Symptomen wie Sprachverarmung, Affektverflachung und Apathie; liegt sie im medialen Temporallappen, kommt es zu Wahn und Halluzinationen; Läsionen im rechten ventralen präfrontalen Kortex gehen mit formalen Denkstörungen, Ablenkbarkeit und inadäquaten Affekten einher. (5)

1.1.2 Epidemiologie

Jährlich erkranken weltweit, unabhängig vom sozioökonomischen Status, von je 100.000 Einwohnern zwischen 11 und 20 Personen neu an Schizophrenie. Die Jahresinzidenz liegt somit zwischen 0,01% und 0,02%. (6) Etwa 1% der Bevölkerung erkrankt weltweit mindestens einmal im Leben, meist zwischen dem 20. und 35. Lebensjahr, an Schizophrenie. Tabelle 1 zeigt, dass der Schwerpunkt der Inzidenz bei Männern zwischen 20 und 24 Jahren und bei Frauen zwischen 30 und 34 Jahren liegt. Insgesamt tritt die Krankheit bei Frauen später auf und ist mehr über die einzelnen Altersgruppen verteilt als bei Männern. (7)

Altersgruppe	Frauen	Männer
12 bis 14 Jahre	0,0	0,0
15 bis 19 Jahre	12,5	19,6
20 bis 24 Jahre	28,2	46,1
30 bis 34 Jahre	31,4	22,7
35 bis 39 Jahre	22,4	14,1
40 bis 44 Jahre	11,6	6,8
45 bis 49 Jahre	14,8	7,7
50 bis 54 Jahre	14,7	2,8
55 bis 59 Jahre	9,8	4,4

Tabelle 1: Verteilung der Anzahl stationärer Erstaufnahmen schizophrener Erkrankter nach Alter und Geschlecht (Raten pro 100.000)

Quelle: Häfner/Löffler (1991), dargestellt in Gaebel/Wölwer (2010) (7)

Jeder vierte bis fünfte Betroffene wird erfolgreich behandelt. Bei 75 bis 80% kommt es zu einem Wechsel von vollständiger Remission mit Symptomfreiheit und - zum Teil wiederholten - Rückfällen mit zum Teil erheblichen kognitiven und sozialen Beeinträchtigungen. Die Rückfallquoten nach Beginn einer medikamentösen Behandlung mit Antipsychotika liegen nach 6 Monaten bei 19%, nach einem Jahr bei 30% und nach zwei Jahren bei 48%. Einen chronisch progredienten Verlauf erleben jedoch nur noch 10% bis 30% der Betroffenen. (7)

Die Schizophrenie zählt weltweit zu den 10 Erkrankungen mit den meisten „YLD“², das heißt den durch die Behinderung eingeschränkten Lebensjahren. In der Altersgruppe der 15- bis 44-Jährigen nimmt Schizophrenie nach Depression und Alkohol-erkrankungen den dritten Rang ein. Besonders bei residualen und chronisch fortschreitenden Verläufen kann das vor der Erkrankung bestehende Funktionsniveau nicht mehr erreicht werden, so dass die Betroffenen Einschränkungen hinnehmen müssen, die ihre Lebensqualität erheblich reduzieren. Die Minderung an Produktivität durch Erwerbsunfähigkeit, Frühberentung und vorzeitige Mortalität ist mit den Volkskrankheiten Diabetes und Herz-Kreislauf-erkrankungen vergleichbar. Die jährlichen Gesamtkosten schizophrener Erkrankungen für das Gesundheits- und Sozialsystem liegen in Deutschland bei 4,4 bis 9,2 Milliarden Euro, das heißt bei 2% bis 4% der Gesamtkosten für Gesundheitsleistungen in Deutschland. (7)

1.1.3 Symptomatik und Diagnosekriterien

Aufgrund der variablen Phänomenologie des Krankheitsbildes wurden die Symptome der Schizophrenie psychiatriegeschichtlich unterschiedlich klassifiziert. Gegenwärtig hat sich die Unterscheidung zwischen den Symptomkomplexen „Positivsymptomatik“ und „Negativsymptomatik“ etabliert.

1.1.3.1 Positiv- und Negativsymptomatik

Positive Symptome wie Wahn- und Sinnestäuschungen sind eindeutiger zu erkennen. Sie sprechen in der Regel gut auf eine gezielte Pharmakotherapie mit antipsychotisch wirkenden Neuroleptika an und bilden sich schneller wieder zurück, wenn sie auch später wiederholt ausbrechen können. Wahnvorstellungen können sich als Wahneinfall oder als Wahnwahrnehmung manifestieren und in allen Lebensbereichen zum Beispiel als Krankheits-, Verfolgungs- sowie Eifersuchtswahn auftreten.

² YLD = Years of life lived with disability

Mehr als die Hälfte der Sinnestäuschungen ist auditorisch; so gehört das Hören von imperativen, dialogisierenden und kommentierenden Stimmen zu den typischen Symptomen der Schizophrenie. Etwa 15 % der Halluzinationen äußern sich visuell und 5 % taktil. (8)

Zu den positiven Symptomen der Schizophrenie zählen auch die psychotischen Ich-Erlebnis-Störungen, deren Merkmal die scheinbar fehlende Grenze des Selbst zur Umwelt ist und die von den Betroffenen als von außen gelenkt oder gemacht empfunden werden. Typische Symptome sind Gedankeneingebung, Gedanken- ausbreitung, Gedankenentzug, Gefühl der Fremdbestimmung, Willens und Gefühlsbeeinflussung. (8)

Die für die Schizophrenie typischen formalen Denkstörungen kommen bei den Positiv- und Negativsymptomen vor. Sie zeigen sich in Form von unpräzisen Begriffen, der Verzerrung logischer Argumentationen, unvollständiger oder unpassender Antworten. Typisch ist auch der Drang, konkrete Begriffe zu abstrahieren und abstrakte Begriffe zu konkretisieren.

Negative Symptome dagegen sind diffuser und lassen sich schwerer erfassen und zuordnen. Sie bilden sich weniger häufig zufriedenstellend zurück und zählen dadurch zu den ungünstigen Prädiktoren³ in Bezug auf den Krankheitsverlauf. Das bedeutet auch, dass sie sich für die Erkrankten psychosozial deutlich auswirken und erhebliche psychosoziale Nachteile in Beziehungen und Beruf verursachen können. Dazu gehört die Unfähigkeit, aufmerksam und konzentriert zu sein, sich für andere Menschen zu interessieren, Kontakte zu pflegen und Freude zu empfinden. Antrieb und Energie fehlen bis zur unkorrigierbaren Antriebsminderung, was eine erhebliche Reduktion des Interessenspektrums zur Folge haben kann. Durch die Verarmung des Sprachinhalts wirken die Betroffenen oft gleichgültig, durch die emotionale Verarmung können sie auf die Ereignisse in ihrem Umfeld nicht mehr angemessen reagieren. (8)

Die amerikanische Anglistin und Psychiaterin Nancy Andreasen (1982) hat diese Symptome in die „sechs A“ Asozialität, Anhedonie, Apathie, Alogie, Affektverflachung und Aufmerksamkeitsstörungen unterteilt, die als wesentliche Kriterien für die Negativsymptomatik gelten. (8)

³ Prädiktoren = Vorhersagekriterien

Positive Symptome	Negative Symptome „6 A“
Eindeutig, durch Medikation meist reversibel	Uneindeutig, schwer behandelbar
Wahn	Asozialität Störungen der Kontakt- und Beziehungsfähigkeit
Halluzinationen	Anhedonie Unfähigkeit, Freude und Vergnügen zu empfinden
Psychotische Ich-Erlebnisstörungen Gedankeneingebung, Gedankenentzug, Gedankenausbreitung, Gefühl der Fremdbestimmung	Apathie Mangel an Energie, Schwung, Ausdauer, Dynamik bis hin zur unkorrigierbaren Antriebsminderung, Einengung des Interessenspektrums
	Alogie Sprachverarmung
	Affektverflachung Einbuße emotionaler Befindlichkeit und Reaktionen
	Aufmerksamkeitsstörungen Mangel an Aufmerksamkeit, Konzentration und Aktivität

Tabelle 2: Positive und negative Symptome der Schizophrenie

Eigene Darstellung, vgl. (8)

1.1.3.2 Klassifikation der Diagnosekriterien

Im Laufe des 20. Jahrhunderts wurden viele Versuche unternommen, die Symptome der Schizophrenie zu klassifizieren, was jedoch zumeist an Langzeituntersuchungen scheiterte. Heute werden zur Diagnose der Schizophrenie zwei Klassifikationssysteme angewendet: ICD-10 und DSM-V. Doch auch diese können das Kriterium "zeitliche Stabilität" nicht wiedergeben. (9)

Während die ICD-10 (10) ein internationales Klassifikationssystem der WHO ist, ist das DSM-V (11) ein nationales Klassifikationssystem der USA. Die beiden Systeme stimmen in Bezug auf Diagnosekriterien weitgehend überein, zeigen jedoch Unterschiede in Bezug auf die minimale Erkrankungsdauer. Durch die Verwendung standardisierter Verfahren wird in der Psychiatrie eine Vergleichbarkeit von Daten in wissenschaftlichen Studien erreicht, die die Untersuchung großer Fallzahlen überhaupt erst möglich macht. In manchen Fällen wird das DSM-V in der Forschung vorgezogen, da es internationale Einschränkungen nicht berücksichtigen muss und Diagnosekriterien ausführlicher und genauer beschrieben sind. In dieser Arbeit wird die ICD-10 als deutsches Diagnosesystem zugrunde gelegt. Tabelle 3 zeigt den Vergleich der Klassifikation nach DSM-V und ICD-10:

Klassifikation DSM-V	Klassifikation ICD-10
295.30 paranoider Typus	F20.0 paranoide Schizophrenie
295.10 desorganisierter Typus	F20.1 Hebephrenie
295.20 katatoner Typus	F20.2 katatone Schizophrenie
295.90 undifferenzierter Typus	F20.3 undifferenzierte Schizophrenie
295.50 residualer Typus	F20.4 postschizophrene Depression
	F20.5 schizophrenes Residuum
	F20.6 Schizophrenia simplex

Tabelle 3: Vergleichende Klassifikation nach DSM-V und ICD-10

Eigene Darstellung, vgl. (10, 11)

Für Deutschland verbindlich ist die vom Deutschen Institut für Medizinische Dokumentation und Information (DIMDI) herausgegebene ICD-10-GM Version 2014. Psychische und Verhaltensstörungen sind in Kapitel V, unter der Notation F00-F99, beschrieben. Im Wesentlichen unterscheidet ICD-10 in F20.0 bis F20.2 drei Typen Erkrankter: der am häufigsten auftretende, *paranoide* Typus (F20.0) leidet hauptsächlich an Wahnvorstellungen und Halluzinationen. Die Patienten entwickeln im Verlauf der Erkrankung häufig Negativsymptome, die dann - bei medikamentös gut behandelten Positivsymptomen - das Krankheitsbild bestimmen. Der *hebephrene* Typus (F20.1) ist durch flache Affekte, Denkstörungen, verantwortungs- und zielloses Verhalten, Manierismen, Klagen gekennzeichnet. Die Erkrankung tritt meist zwischen 15 und 25 Jahren auf und führt frühzeitig zu Negativsymptomen mit einer ungünstigen Prognose. Beim *katatonen* Typus (F20.2) ist die Psychomotorik beeinträchtigt, Kennzeichen sind Stupor, Erregung, Haltungstereotypien, traumähnliche Zustände, szenische Halluzinationen. Katatonien sind in den Industrienationen selten geworden, jedoch in armen Ländern noch häufig vertreten. (10) (11)

Möller et al. (12) teilten die Symptome der Schizophrenie in acht Gruppen. Für die Diagnose Schizophrenie nach ICD-10 sind mindestens ein eindeutiges Symptom beziehungsweise zwei weniger eindeutige Symptome der Gruppen a bis d oder mindestens zwei Symptome der Gruppen e bis h erforderlich. Diese Symptome müssen fast ständig während eines Monats oder länger deutlich aufgetreten sein.

a) Gedankenlautwerden, Gedankeneingebung, Gedankenentzug, Gedanken-
ausbreitung,

- b) Kontrollwahn, Beeinflussungswahn, Gefühl des Gemachten, deutlich bezogen auf Körper- oder Gliederbewegungen oder bestimmte Gedanken, Tätigkeiten oder Empfindungen, Wahrnehmungen,
- c) kommentierende oder dialogische Stimmen, die über den Patienten reden oder andere Stimmen, die aus bestimmten Körperteilen kommen,
- d) anhaltender, kulturell unangemessener, unrealistischer, bizarrer Wahn
- e) anhaltende Halluzinationen jeder Sinnesmodalität, begleitet von flüchtigen oder undeutlich ausgebildeten Wahngedanken, täglich während mindestens eines Monats, ohne deutlich affektive Beteiligung oder begleitet von lang anhaltenden überwertigen Ideen,
- f) Neologismen, Gedankenabreißen oder Einschreibungen in den Gedankenfluss, was zu Zerfahrenheit oder Danebenreden führt,
- g) katatone Symptome wie Erregung, Haltungsstereotypen oder wächserne Biagsamkeit (Flexibilitas cerea), Negativismus, Mutismus und Stupor,
- h) „negative“ Symptome, wie auffällige Apathie, Sprachverarmung, verflachte oder inadäquate Affekte.

1.1.4 Verlauf

Der Verlauf des Krankheitsbildes Schizophrenie ist sehr unterschiedlich. Die Erstmanifestation kann sich schleichend über Jahre entwickeln oder akut einsetzen. Abbildung 1 zeigt, dass sich die ersten akuten Anzeichen einer schizophrenen Psychose meist zwischen dem 18. und 35. Lebensjahr manifestieren.

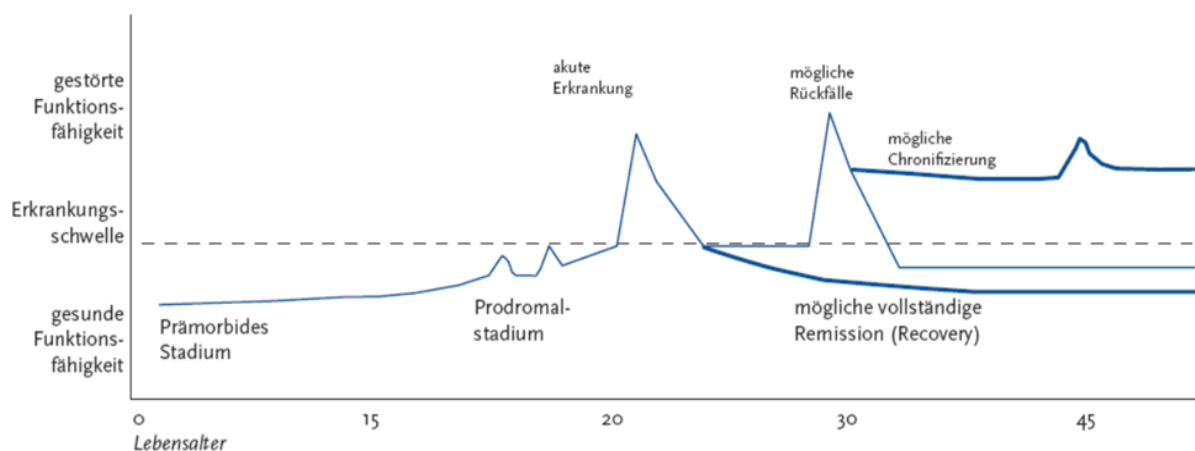


Abbildung 1: Verlauf einer schizophrenen Erkrankung

Quelle: Gaebel/Wölwer (2010) (7)

*Prämorbid*es Stadium: Ca. 3 Viertel der Erkrankten weisen bereits vor der Erstmanifestation unspezifische, jedoch belastende psychische Veränderungen auf, die erst im Nachhinein im Zusammenhang mit der Erkrankung gesehen werden. Häufige Anzeichen dieser Phase sind Ruhelosigkeit, depressive Stimmungen, Ängste sowie Konzentrationsstörungen, Energielosigkeit und Selbstzweifel. Da diese Symptome meist in der jugendlichen Entwicklungsphase auftreten, kommt es zu einer Abnahme der schulischen und beruflichen Leistungsfähigkeit sowie zur Vermeidung sozialer Kontakte. (13)

Prodromales Stadium: Etwa ein Jahr vor der Erstmanifestation treten gelegentliche und/oder leichte, spezifische psychotische Anzeichen wie Beziehungsideen, eigenartige und paranoide Ideen oder übersteigertes Misstrauen auf. Ärztliche Hilfe wird in der Mehrzahl der Fälle erst aufgesucht, wenn die Psychose akut und voll ausgeprägt ist, so dass zwischen dem Auftreten der ersten psychotischen Anzeichen (DUP⁴) bis zur vollen Ausprägung der Psychose ein bis vier Jahre vergangen sind. Der Zeitraum zwischen dem Auftreten erster unspezifischer Symptome (DUI⁵) bis zur akuten Erkrankung ist demgemäß noch wesentlich größer. Je länger die Psychose unbehandelt bleibt, desto ungünstiger sind die Auswirkungen für die langfristige Prognose. (14) Da diese Phase meist in die Zeit der schulischen und beruflichen Ausbildung fällt, beeinträchtigen die Symptome der Prodromalphase die allgemeine Entwicklung und den sozialen Aufstieg der Betroffenen erheblich. Bei schizophrenen Erkrankten kommt es auch deshalb im weiteren Verlauf der Krankheit überproportional häufig zu Arbeitslosigkeit und Frühverrentungen. (13)

Remission: Bei rund 25% der akuten Erkrankungen kann eine vollständige Remission (Recovery) erreicht werden. Drei Viertel erleiden jedoch durchschnittlich im Verlauf von rund elf Jahren drei Rückfälle über mindestens 14 Tage. (15)

Die Phasen der Krankheitsepisoden selbst unterscheiden sich durch eine Akutphase, die einige Wochen bis Monate dauern kann, eine postakute Stabilisierungsphase von ca. 3 bis 6 Monaten sowie eine partielle Remissionsphase, die Monate bis Jahre dauern kann. Verläuft die Remissionsphase ohne Rückfälle, geht sie in die Genesung (Recovery) über. Etwa 60 % der Erkrankten erreichen diese Phase und sind dann wieder beruflich und sozial einsatzfähig. (16)

⁴ DUP = duration of untreated psychosis

⁵ DUI = duration of untreated illness

ICD-10 unterscheidet zwischen den Verlaufstypen kontinuierlich, episodisch mit zunehmendem Residuum, episodisch mit stabilem Residuum, episodisch remittierend sowie solchen mit unvollständiger und vollständiger Remission.

Bisher kann der Verlauf der Krankheit nicht zuverlässig prognostiziert werden. Günstige Faktoren für den Verlauf sind stabile soziale Beziehungen und ein gutes, emotionales Entwicklungsniveau. Hat die Krankheit akut begonnen, weisen positive Symptome mit klar erkennbaren Auslösefaktoren und kurzen, seltenen Krankheitsepisoden auf einen günstigen Verlauf hin. Darüber hinaus muss der Erkrankte selbst die therapeutischen Maßnahmen akzeptieren und aktiv mitwirken, die Therapie muss jedoch auch gut ansprechen. Frauen haben bis zu den Wechseljahren eine bessere Prognose. Negativ für den Krankheitsverlauf sind Affektverflachung und psychiatrische Komorbidität wie zum Beispiel Suchtverhalten. (7)

1.1.5 Therapie

Durch die Kombination pharmakotherapeutischer Verfahren mit psycho- und soziotherapeutischen Methoden konnten die Behandlungsmöglichkeiten wesentlich verbessert und der stationäre Aufenthalt der Erkrankten auf durchschnittlich 34,9 Tage verkürzt werden. (17)

Medikamentöse Therapie

Die medikamentöse Therapie zählt mit der Elektrokrampftherapie zu den somatischen Behandlungsverfahren. Die Behandlung mit Antipsychotika ist am besten von allen Behandlungsverfahren der Schizophrenie wissenschaftlich evidenzbasiert. (18)

Es wird zwischen typischen und atypischen Antipsychotika unterschieden. Die älteren typischen Antipsychotika mindern die positiven Symptome weitreichend und wirken beruhigend, haben jedoch stark belastende, vor allem motorische Nebenwirkungen. Frauen leiden mehr unter diesen Nebenwirkungen als Männer. (19) Die Wirkung der neueren atypischen Antipsychotika auf die positiven Symptome ist weitestgehend vergleichbar mit der Wirkung der typischen, ohne jedoch deren Nebenwirkungen aufzuweisen, die wesentlich schwächer und seltener auftreten. Zudem wirken sie teilweise auch auf negative Symptome wie Depressionen und die Verbesserung einiger kognitiver Funktionen wie Gedächtnis, Konzentration und Aufmerksamkeit. Nebenwirkungen zeigen sich bei atypischen Antipsychotika u.a. in Form von Gewichtszunahme, sexuellen Funktionsstörungen oder Störungen des Stoffwechsels.

Bei Angst, Agitiertheit, Katatonie und Schlafstörungen werden Beruhigungsmittel (Benzodiazepine), bei Depressionen Antidepressiva (selektive Serotonin-Wiederaufnahmehemmer SSRI, trizyklische Antidepressiva) eingesetzt. (7)

Bei schweren Fällen wie akut lebensbedrohlicher Katatonie, schwerer depressiver Symptomatik und Suizidalität gilt die Elektrokrampftherapie (Elektrokonvulsionstherapie, EKT) als kurzfristig wirksames Mittel, das jedoch wissenschaftlich umstritten ist. Dabei wird, nach informierter Einwilligung des Patienten, unter Kurznarkose und Muskelrelaxation ein generalisierter Krampfanfall ausgelöst und somit neurochemische Veränderungen bewirkt. (20)

Psychosoziale Behandlungsverfahren

Dazu gehören psychotherapeutische und soziotherapeutische Maßnahmen. Ziel der psychotherapeutischen Behandlung ist eine Veränderung des Erlebens und Verhaltens, Verminderung der individuellen Vulnerabilität, Verbesserung der Stress- und Krankheitsbewältigung sowie Förderung der sozialen Fähigkeiten und Problemlösungsfähigkeit. In neuerer Zeit wurden kognitiv verhaltenstherapeutische Verfahren zur Verminderung der Positiv- und Negativsymptomatik entwickelt. Psychoedukation ist die Vermittlung von Informationen über die Krankheit und Therapien. Dadurch soll Krankheitsverständnis und Therapieakzeptanz der Erkrankten und ihrer Angehörigen gefördert werden, da die Hälfte der therapeutischen Misserfolge auf die mangelnde Akzeptanz und Mitwirkung der Betroffenen und ihres Umfeldes zurückzuführen ist. (7)

Die Verbesserung der Rückfallquote durch psychoedukative Maßnahmen ist mittlerweile gut evaluiert. (21) Das Ziel soziotherapeutischer Maßnahmen ist die Wiedereingliederung in die Gesellschaft auf der Basis von § 37a SGB V, das heißt die Förderung der Fähigkeit zur eigenen Lebensführung und selbständigen Nutzung sozialer Angebote. (7)

1.1.6 Ätiologie/Pathogenese

Nach dem derzeitigen Stand der Forschung sind für die Entstehung und den Verlauf einer Schizophrenie mehrere Faktoren verantwortlich; man spricht deshalb von einer multifaktoriellen Pathogenese. Relevante Faktoren sind genetische, neurobiologische und psychosoziale Faktoren, die zusammentreffen müssen. Ein einzelner Faktor reicht in der Regel nicht für die Entstehung der Krankheit aus.

Zur Erklärung der Entstehung von Psychosen dient das Vulnerabilität-Stress-Coping-Modell von Zubin und Spring (1977). Das Vulnerabilitäts-Stress-Coping-Modell ist ein integratives Krankheitsmodell, nach dem sich eine Erkrankung klinisch manifestiert, wenn zu einem bestimmten Vulnerabilitätsgrad belastende Stressoren hinzutreten, die durch die individuellen Coping- oder Bewältigungsstrategien nicht mehr kompensiert werden können, d.h. eine multifaktorielle Schwelle überschritten wird. (22)

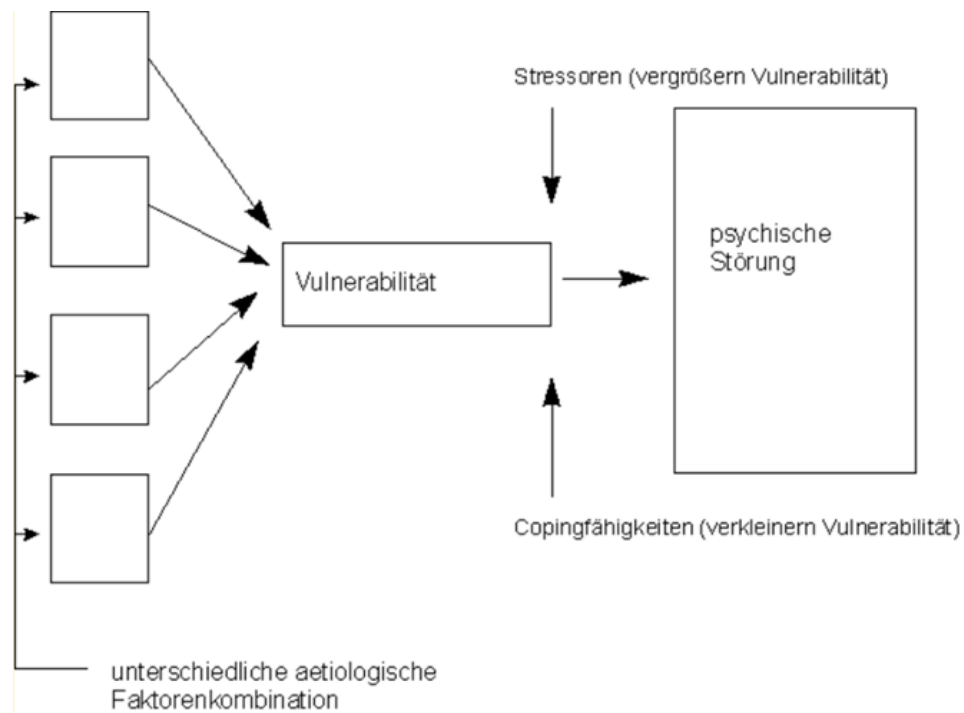


Abbildung 2: Das Vulnerabilitäts-Stress-Coping-Modell von Zubin und Spring (1977)

Quelle: Roder/Brenner/Kienzle/Hodel (1997) (22)

Belastende Faktoren können kritische Lebensereignisse, Belastungen oder Konflikte aus dem psychosozialen Umfeld, aber auch biologische Stressoren sein. Zur Krankheitsdisposition tragen zu 80% genetische Faktoren bei. Die Disposition kann jedoch auch zum Beispiel durch frühkindliche Schädigungen der Hirnentwicklung oder eine Hirnhautentzündung erworben sein. Weitere Risikofaktoren sind Alkohol- und Drogenabusus, entweder durch die Mutter während der Schwangerschaft oder der eigene Abusus während der Pubertät. (7)

Tabelle 4 zeigt relative Erkrankungsrisiken im Verhältnis zur Allgemeinbevölkerung.

Risikofaktor	Relatives Risiko in Prozent
Monozygoter Zwillingspartner	Ca. 50
Eltern/Geschwister/Kind eines Erkrankten	5 bis 15
Geburtskomplikationen	3 bis 5
Schwangerschaftskomplikationen	2 bis 6
Virusinfektion im 2. Trimenon	1 bis 2
Geburt im Frühjahr	1,2 bis 2
Geburt in einer Großstadt	1,2 bis 1,6

Tabelle 4: Risikofaktoren für Schizophrenie

Quelle: Rietschel (2006) (23)

Die Ursachen der schizophrenen Störungen sind noch nicht völlig erforscht, so dass die Therapie weiterhin symptomatisch bleibt. Die unterschiedliche Gewichtung der genetischen und übrigen Risikofaktoren bestimmt auch die Forschungsstrategie, erst die kausalen Faktoren der Erkrankung herauszufinden und dann auf dieser Grundlage nach den spezifischen Umwelteinflüssen zu suchen.

Die multifaktoriellen Zusammenhänge und Wechselwirkungen von prädisponierenden, auslösenden und verlaufsbeeinflussenden Faktoren veranschaulicht Abbildung 3.

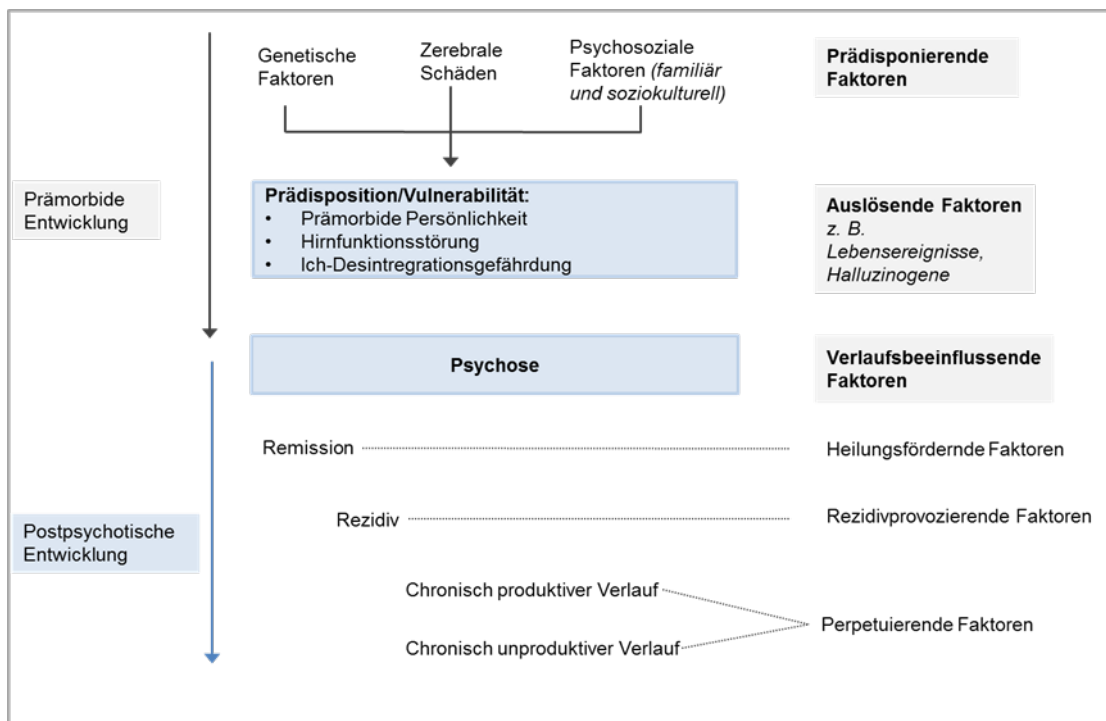


Abbildung 3: Modell der Ätiopathogenese der Schizophrenie

Quelle: Möller et al. 2008 (24)

1.1.6.1 Genetik

Der größte und zugleich am weitestgehend erforschte Risikofaktor für die Entwicklung einer Schizophrenie ist die Erkrankung eines erstgradigen Verwandten mit einer schizophrenen Störung. Abbildung 4 zeigt die Verteilung des Lebenszeitrisikos für Schizophrenie bei erstgradigen Verwandten (5 bis 15%), bei Verwandten 2. Grades wie Halbgeschwister, Großeltern, Nichten/Neffen, Tanten/Onkel (2 bis 5%) und bei drittgradigen Verwandten wie Cousin/Cousine (ca. 2%). Bei monozygoten Zwillingen beträgt das Risiko zu erkranken 50%. (23)

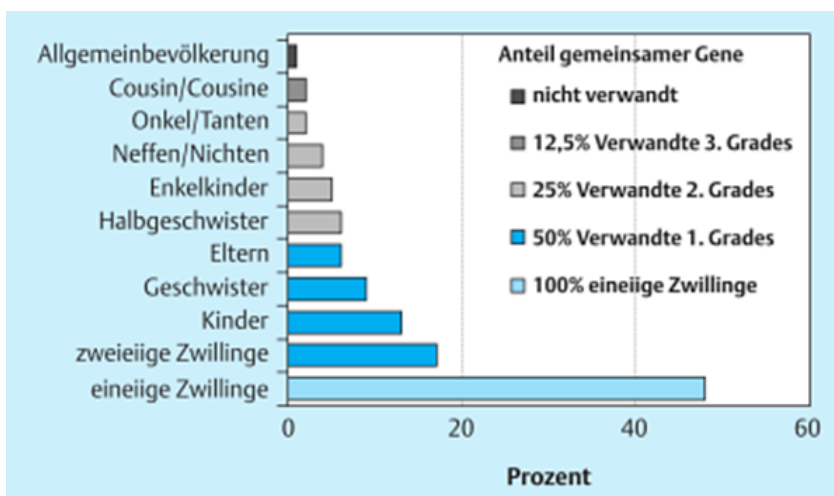


Abbildung 4: Lebenszeitrisiko für Schizophrenie modifiziert nach Gottesman (1991)

Quelle: Rietschel (2006) (23)

Dem Prinzip von Zwillingsuntersuchungen liegt die Annahme zugrunde, dass monozygote Zwillinge mit einem zu 100% identischen Erbmateriale eine höhere Konkordanzrate aufweisen als normale Geschwister, die nur 50% ihres Erbmateriale teilen. In allen bisher durchgeführten Zwillingsuntersuchungen waren die Konkordanzraten tatsächlich weitaus höher als bei normalen Geschwistern. Nach Kendler et al. (1995, zitiert in (23)) wurden in unterschiedlichen Untersuchungen bei monozygoten Zwillingen Konkordanzraten zwischen 31% und 78% festgestellt und bei dizygoten Zwillingen zwischen 0% und 28%.

Die Tatsache, dass die Konkordanzrate bei identischer Erbmasse nicht 100% ist, weist jedoch darauf hin, dass noch weitere Faktoren dazukommen müssen, um eine schizophrene Störung zu entwickeln. (23)

Das Vererbungsmuster der Schizophrenie kann nicht aus den Mendelschen Regeln abgeleitet werden, da Schizophrenie keine monogene Erkrankung und zudem keine Entität ist, sondern phänotypisch und ätiologisch heterogen. Bis heute konnte keinem der pathophysiologisch relevanten Gene eine substantielle Rolle zugewiesen werden. Wahrscheinlich existieren mehrere oder viele Gene, die jeweils in unterschiedlicher Ausprägung vorliegen und für die Krankheit prädisponieren beziehungsweise nicht kausal, sondern nur risikomodulierend sind. (25) (26) Erbanlagen, bei denen man aufgrund funktioneller Überlegungen oder Hypothesen vermutet, dass sie in der Pathophysiologie der betreffenden Krankheit eine Rolle spielen, werden als Dispositions- oder Suszeptibilitätsgene bezeichnet.

Als Dispositionsgene für Schizophrenie konnten bisher wiederholt durch unabhängige Gruppen gezeigt werden: (23)

- Dysbindin-Gen auf Chromosom 6p (27)
- Neuregulin-1-Gen auf Chromosom 8p (28)
- G72/G30-Locus auf Chromosom 13, Interaktion mit dem Gen für D-Amino-Acid-Oxidase (DAAO) auf Chromosom 12p (29) (30)

Da die identifizierten Gene bei der glutamatergen Neurotransmission eine Rolle spielen, könnte dadurch die seit langem bestehende Glutamathypothese der Schizophrenie bestätigt werden. Auf der anderen Seite ist die glutamaterge Transmission im Gehirn so bedeutend, dass die vorerwähnten Gene mit der Entwicklung schizophrener Störungen nicht notwendigerweise eine Verbindung aufweisen müssen. (23)

Um chromosomale Regionen zu entdecken oder einzuengen, in denen sich für das Erkrankungsrisiko relevante DNA-Varianten befinden, werden in der genetischen Ursachenforschung Kopplungs- und Assoziationsstudien eingesetzt, die nachfolgend beschrieben werden.

1.1.6.1.1 Kopplungsuntersuchungen

In den Kopplungsanalysen werden vor allem DNA-Proben von betroffenen Familien genutzt, wobei mithilfe von bekannten Marker-Loci im Genom die Vererbung von chromosomalen Regionen auf die betroffenen Familienmitglieder untersucht wird. In Familien mit mehreren Betroffenen wird überprüft, ob ein genetischer Marker überzufällig häufig zusammen mit der Erkrankung übertragen wird.

Sofern Kandidatengen⁶ und Marker auf dem Chromosom nahe beieinanderliegen, ist es wahrscheinlich, dass der Marker gehäuft bei betroffenen Familienmitgliedern nachgewiesen werden kann. Diese Untersuchungen werden seit über 20 Jahren durchgeführt, erst in den letzten Jahren gelang es jedoch, chromosomale Regionen zu bestimmen, in denen sich mit hoher Wahrscheinlichkeit Dispositionsgene befinden. Einschränkend ist jedoch, dass die Ergebnisse nicht konsistent waren, diese Regionen also nicht konsistent nachgewiesen werden konnten. (23)

Dafür können unterschiedliche Gründe verantwortlich sein wie zum Beispiel die Heterogenität des Patientenkollektivs, abweichende oder falsche Krankheitsdefinitionen oder einfach statistische Mängel wie zu geringe Stichproben. Auch der ethnische Hintergrund des Patientenkollektivs kann zu Abweichungen führen. (23)

Die gefundenen Kandidatengenregionen waren zu groß und 58% des Genoms waren in mindestens einer genomweiten Kopplungsstudie mit der Erkrankung gekoppelt. (31) Kopplungsuntersuchungen konnten somit die Hoffnung, Gene mit einer Hauptwirkung zu identifizieren, nicht erfüllen. (32)

Problematisch bei Kopplungsuntersuchungen eines komplexen Krankheitsbildes ist, dass die Penetranz des Krankheitsgens, der Erbgang und die Phänotypierate bekannt sein müssen. Da hierzu Annahmen getroffen werden müssen, ist die Aussagekraft der Ergebnisse stark eingeschränkt. Penetranz ist die Rate der Dispositionsgen-Träger, die tatsächlich erkranken; die Phänotypierate bezeichnet die Rate der Krankheitsfälle, die nicht durch das Dispositionsgen bedingt sind. (23)

Abbildung 5 zeigt die Problematik der Kopplungsuntersuchungen bei komplexen Störungen, da der beobachtete Gesundheitsstatus nicht mit Sicherheit eine Mutation einschließt oder ausschließt. Beim unteren, gesunden Mann mit einem Crossing-over könnte eine Mutation vorhanden sein, denn 50% der eineiigen Zwillingen zeigen keine Konkordanz. Die Erkrankung des oberen Mannes, bei dem ein Crossing-over beobachtet wurde, könnte dagegen eine andere Ursache als die Mutation haben. (23)

⁶ Kandidatengene sind Erbanlagen, die vermutlich eine Rolle bei der zu untersuchenden Krankheit spielen, wie zum Beispiel Gene für bestimmte Rezeptoren, Enzyme oder Transporter. Die Zahl der Kandidatengene wie auch die Zahl der bisher veröffentlichten Untersuchungen sind unüberschaubar groß, so dass die Befunde aufgrund der vorliegenden Heterogenität und Unübersichtlichkeit nicht eindeutig identifiziert werden können. Zum Teil waren die Untersuchungen auch von mangelhafter Qualität, es wurden zum Beispiel nur einzelne genetische Varianten (Polymorphismen) statt Kombinationen (Haplotypanalysen) untersucht. (23)

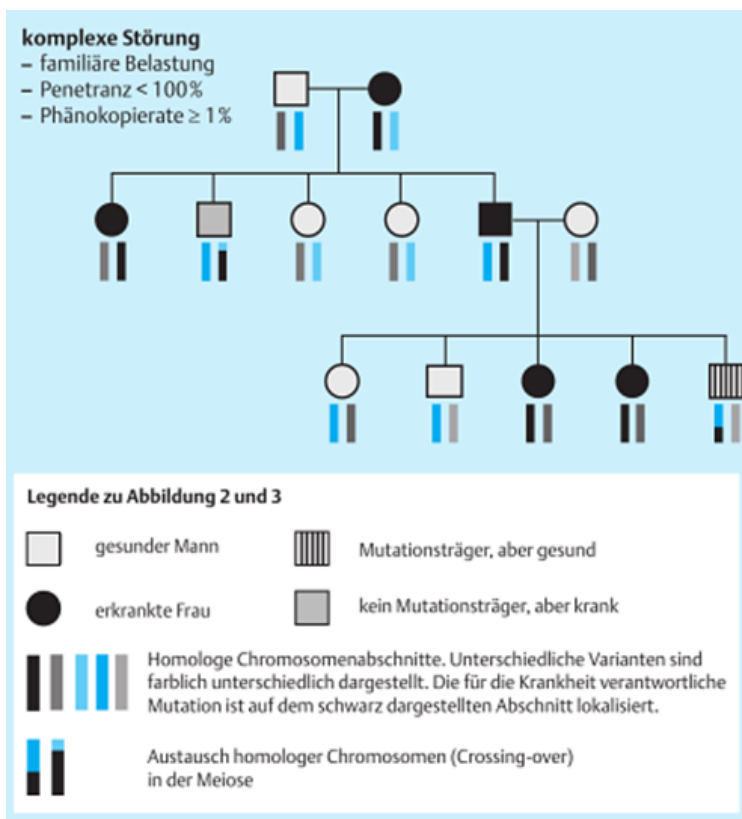


Abbildung 5: Kopplungsuntersuchungen bei genetisch komplexen Erkrankungen

Quelle: Rietschel (2006) (23)

Durch Metaanalysen von systematisch durchgeführten Kopplungsuntersuchungen (Genom-Scans) wurden eine Reihe chromosomaler Regionen identifiziert, die sehr wahrscheinlich auf Dispositionsgene für Schizophrenie hinweisen. Lewis (2003) führte in seiner Metaanalyse zum Beispiel die Regionen 2p12-q22, 16p13-q12 an. (33) Er wertete dabei die Daten von 20 genomweiten Kopplungsstudien zur Schizophrenie aus, die jedoch nur teilweise publiziert waren.

Die Metaanalyse von Ng et al. (34) bezog 32 genomweite Kopplungsstudien ein, die anschließend auf 22 Studien mit ausschließlich europäischen Personen reduziert wurde. Die Ergebnisse der Kopplungsstudien, wie auch die Ergebnisse einer weiteren Metastudie von Badner/Gershon (35) stimmen wiederum nur in geringem Ausmaß überein.

Tabelle 5 stellt die Ergebnisse der drei Metastudien gegenüber:

Metastudien	Ergebnisse
Badner & Gershon (2002)	Hinweise auf Suszeptibilitätsgene auf den Chromosomen 8p, 13q und 22q
Lewis et al. (2003)	Die Genabschnitte 2p12-q22.1 weisen eine signifikante Kopplung auf. Weitere Hinweise auf eine Kopplung auf 5q23.2-q34, 3p25.3-p22.1, 11q22.3-q24.1, 6pter-p22.3, 2q22.1-q23.3, 1p13.3-q23.3, 22pter-q12.3, 8p22-p21.1, 20p12.3-p11, 14pter-13.1
Ng et al. (2009) Gesamtstichprobe 32	1) Genomweite signifikante Kopplung für 2q (118.7-152 Mb) 2) Kopplung auf 5q (141.8-167.7) und 2q (103.3-134.0 Mb)
Ng et al. (2009) Europäische Stichprobe 22	1) keine Kopplung im Chromosomenabschnitt 2q 2) Kopplung auf 8p (15.7-32.7 Mb)

Tabelle 5: Ergebnisse der Metastudien von Badner/Gershon, Lewis et al. und Ng et al.

1.1.6.1.2 Assoziationsuntersuchungen

Bei Assoziationsstudien werden im Gegensatz zu Kopplungsanalysen auch die DNA-Proben von nicht-verwandten Personen untersucht. Häufig sind sie als Fall-Kontroll-Studien angelegt, in denen sowohl gesunde Probanden als auch Patienten teilnehmen. Ziel ist, die Abhängigkeit zwischen einer bestimmten, genetischen Variante und dem Risiko, eine bestimmte Krankheit zu entwickeln, zu identifizieren. Um dies zu bestimmen, wird die Ausprägung der genetischen Variation bei einzelnen Proben charakterisiert und festgestellt, ob bestimmte Ausprägungen mit der Erkrankung assoziiert sein können. Als Marker werden am häufigsten einzelne SNPs (single nucleotide polymorphism) eingesetzt. (23)

Bei Assoziationsuntersuchungen sind Kandidatengenstudien und genomweite Assoziationsstudien zu unterscheiden. Ziel bei Kandidatengenstudien ist, durch den Vergleich einer Patienten- mit einer Kontrollstichprobe ein genetisches, mit der Krankheit assoziiertes Merkmal nachzuweisen. Somit werden Gene untersucht, die als plausible Kandidaten angesehen werden. Dies kann als Schwäche der Methode bewertet werden, da keine neuen Genvarianten untersucht werden, die mit der Erkrankung bisher nicht in Verbindung gebracht wurden. Zudem wurden bei Kandidatengenstudien sehr viele falsch-positive Befunde publiziert, die von anderen Arbeitsgruppen nicht repliziert werden konnten. (36)

Bei genomweiten Assoziationsstudien werden mit Hilfe von DNA-Chips die Häufigkeiten der Allele einer großen Anzahl von SNPs bei Patienten und gesunden Kontrollpersonen gegenübergestellt. Dabei werden hypothesenfrei zeitgleich mehrere Hunderttausend SNPs der jeweiligen Testperson untersucht, das heißt, die SNPs werden weder hinsichtlich einer funktionellen oder positionellen Relevanz in Bezug auf das

Erkrankungsrisiko ausgesucht. Dadurch können auch bisher nicht identifizierte Polymorphismen als risikosteigernde Varianten identifiziert werden. Werden bei der Auswertung unterschiedliche Allelfrequenzen im Pool der Patienten- und Kontrollproben festgestellt, werden anschließend für jeden einzelnen Studienteilnehmer die Allelfrequenzen aller auf dem Genchip befindlichen Marker individuell bestimmt. Tabelle 6 stellt die Ergebnisse einer Auswahl von Studien dar beziehungsweise die Genloci dar, bei denen eine Assoziation mit Schizophrenie gefunden wurde.

Genomweite Studien	Ergebnisse
Mah et al. (2006) (37)	25.000 SNPs auf 14.000 Genen, Stichprobe 320 Patienten/325 gesunde Kontrollpersonen; PLXNA2 auf Chromosom 1q32 und Schizophrenie
Shifman et al. (2008) (38)	Zusammenhang genetische Marker des Reelin-Gens auf Chromosom 7 und Schizophrenie. Zusammenhang nur bei Frauen (aschkenasische Juden), wurde auch in den vier Replikationsstudien nachgewiesen.
Kirov et al. (2009) (39)	Familienbasierte genomweite Assoziationsstudie, 2327 Personen, Kaukasus; Assoziation ($p = 1.2 \times 10^{-6}$) für den Marker rs11064768 im CCDC60-Gen auf Chromosom12.
Lencz et al. (2007) (40)	500.000 SNPs in 178 Patienten/144 gesunde Kontrollpersonen; Gen CSF2RA (colony stimulating factor, receptor 2 alpha).
Sullivan et al. (2008) (41)	738 Patienten/733 Kontrollpersonen; keine signifikanten Assoziationen gefunden.
O'Donovan et al (2008) (42)	479 Patienten/2.937 Kontrollprobanden; Untersuchung der 12 am stärksten assoziierten Loci ($p < 10^{-5}$). Signifikante Assoziationen auf Chromosom 2q32.1, 11p14.1 und 16p13.12. Am stärksten war Locus ZNF804A (2q32.1) assoziiert.
Purcell et al. (2009) ⁷ (43)	SNP auf Chromosom 22 und mehr als 450 SNPs in der MHC (major histocompatibility complex)-Region auf Chromosom 6. Locus ZNF804A (2q32.1)
Shi et al. (2009) (44)	Identifizierten in einer Metaanalyse sieben SNPs in der chromosomalen Region 6p22.1, konnten jedoch in der eigenen Studie keine Assoziationen herausfinden.
Stefansson et al. (2009) (45)	Konnten in der eigenen Studie keine signifikanten Assoziationen identifizieren; bei einer Kombination ihrer 1500 besten Marker mit anderen Studienergebnissen (Purcell et al., 2009, und Shi et al., 2009) stellte sich eine signifikante Assoziation mit einigen Markern aus der MHC-Region auf Chromosom 6p21.3-22.1, einem Marker in der Region 11q24.2 und einem Marker in de Region 18q21.2 heraus.

Tabelle 6: Ergebnisse genomweiter Assoziationsstudien

Eigene Darstellung

Da bisher in keiner Studie genetische Varianten identifiziert werden konnten, die direkt pathogen wirken, ist die biologische Basis der Schizophrenie nach wie vor nur unvollständig bekannt. Häufiger wird von neuroanatomischen und neurobiochemischen Alterationen bei schizophrenen Patienten berichtet, jedoch ist nicht klar, inwieweit diese

⁷ International Schizophrenia Consortium

Veränderungen kausal wirken oder als Folgeerscheinungen der medikamentösen Behandlung oder der Erkrankung eingeordnet werden müssen. (46)

1.1.6.2 Neuroanatomische Befunde und Hypothesen

Mit Hilfe von Gewebeuntersuchungen, die post mortem erfolgten, und bildgebenden Verfahren konnten bei schizophren Erkrankten strukturelle Hirnalterationen nachgewiesen werden. Die Bildgebungsstudien der vergangenen Jahrzehnte ergaben einheitlich eine Volumenminderung der grauen Substanz vor allem in frontotemporalen Regionen. Am häufigsten zeigen sich Volumendefizite im Gyrus temporalis superior und Gyrus frontalis inferior jeweils links. (47)

Derzeit reichen die Untersuchungsergebnisse jedoch nicht aus, um die Abnormitäten der Hirnstrukturen exakt zu identifizieren und zuzuordnen. Zudem wurde in strukturellen, bildgebenden Verfahren festgestellt, dass bei einzelnen Patienten verschiedene Strukturen abnorm verändert sind und in unterschiedlichen Krankheitsstadien verschiedene Strukturen betroffen sind. Es ist auch nicht geklärt, ob die Alterationen als Hirnentwicklungsstörung oder als degenerativer Prozess interpretiert werden können. Zunehmend wird davon ausgegangen, dass sich die beiden Hypothesen nicht ausschließen, sondern ergänzen könnten. Strukturelle bildgebende Verfahren zeigen, dass unterschiedliche Stadien der Hirnentwicklung von abnormen Prozessen betroffen sind wie zum Beispiel eine frühe Hirnentwicklungsstörung (prä- oder perinatal), vor allem des temporo- limbischen und des entorhinalen Kortex sowie des Hippocampus. (48)

1.1.6.3 Neurobiochemische Hypothesen

Neurobiochemische Auffälligkeiten wurden bei Schizophreniepatienten in mehreren Neurotransmittersystemen und funktionalen Netzwerken des Gehirns festgestellt. Nachfolgend werden die Dopamin- und Glutamathypothese sowie der mögliche Einfluss des serotonergen Systems auf die Manifestation der Schizophrenie beschrieben.

Dopaminhypothese

Ausgehend von der Beobachtung, dass zentrale D₂-Rezeptoren durch Neuroleptika blockiert werden, postuliert die Dopaminhypothese, dass eine Überaktivität des mesolimbischen dopaminergen Systems psychotische Symptome verursacht. (49) Viele Neuroleptika wirken über die Blockade postsynaptischer Dopamin-D₂-Rezeptoren und Dopaminagonisten wie zum Beispiel Amphetamine können in gesunden Menschen

ähnliche Symptome wie bei einer Schizophrenie und bei Schizophreniepatienten eine erneute Exazerbation auslösen. (50) Es wurde von einer möglicherweise erhöhten Dichte von striatären Dopamin-D₂-Rezeptoren ausgegangen 1996 wies Laruelle et al. (51) nach, dass schizophrene Patienten nach der Gabe von Amphetaminen deutlich mehr Dopamin freisetzen als gesunde Personen. Dieser Befund konnte in weiteren Untersuchungen repliziert werden. Eine weitere Studie zeigte, dass akut psychotische Patienten auch ohne die Einnahme von Amphetaminen über eine erhöhte Dopaminkonzentration in den striatären Synapsen, die mit der Stärke positiver Symptome korrelierte, verfügten. (52) Positive Symptome der Schizophrenie werden als Resultat dieser sekundären dopaminergen Hyperaktivität im Striatum betrachtet. (53) Bisher lässt sich jedoch weder erklären, wie die initiale präfrontale Dopaminhypoaktivität entsteht noch warum bei Schizophreniepatienten meist erst in der Spätadoleszenz Positivsymptome auftreten. (54)

Glutamathypothese

Die Glutamathypothese basiert auf einer Unterfunktion des glutamatergen Systems. Phencyclidin (PCP) und Ketamin können als non-kompetitive Antagonisten am NMDA-Rezeptor bei gesunden Personen schizophrene, positive wie negative, Symptome bewirken. (55) Glutamaterge Transmissionssysteme haben mit anderen Neurotransmittersystemen reziproke Interaktionen, am häufigsten mit dem dopaminergen und dem GABAergen System. Der NMDA-Rezeptor⁸ liegt auf GABAergen inhibitorischen Neuronen, die glutamaterge Pyramidenzellen hemmen. Ist die Aktivität der GABAergen Neurone reduziert, liegt eine NMDA-Rezeptor-Hypofunktion vor, die primär zu einer übermäßigen, kortikalen Glutamatfreisetzung führt. Die daraus entstehende Excitotoxizität zerstört die GABAergen Interneurone. (54)

Bisher konnte jedoch noch nicht nachgewiesen werden, welches der beiden Neurotransmittersysteme als kausal betrachtet werden kann, da glutamaterge Neurone im Hippocampus und im Kortex von Dopamin moduliert werden, aber Glutamat auch die Aktivität dopaminergener Neurone reguliert. Aus weiteren Befunden wurde die vereinfachte Hypothese abgeleitet, dass die Negativsymptome der Schizophrenie eher durch eine Dysfunktion der NMDA-Rezeptorfunktion und Positivsymptome durch eine verstärkte dopaminerge Neurotransmission entstehen. (54)

⁸ NMDA = N-methyl-D-aspartic acid

Einfluss des serotonergen Systems

Durch psychotrope Substanzen wie LSD (Lysergsäure-diethylamid), welches vor allem an Serotoninrezeptoren wirkt, werden Empfinden und Wahrnehmung so beeinflusst, dass eine Ähnlichkeit zur schizophrenen Symptomatik besteht. Die Serotonin-Hypothese geht davon aus, dass der Wegfall der serotonergen Hemmung des präfrontalen Kortex auf subkortikale Strukturen zu einer gesteigerten dopaminergen Funktion führt. Mehrere Studien zeigten eine Erhöhung der 5-HT_{1A}-Rezeptoren im präfrontalen und temporalen Kortex sowie eine Reduktion der 5-HT₂-Rezeptoren im präfrontalen Kortex von Schizophreniepatienten. (56)

1.1.7 Konzept der Endophänotypen

Da die Ätiologie und die genetischen Risikofaktoren der Schizophrenie – trotz nachgewiesener hoher Heritabilität – immer noch nicht geklärt sind und die Ergebnisse eine hohe Inkonsistenz aufweisen, werden andere Phänotypdefinitionen angestrebt, die im ätiologischen Sinn homogener und weniger komplex genetisch determiniert sind. Endophänotypen beziehungsweise intermediäre Phänotypen stellen die neurophysiologischen und hirnanatomischen Korrelate und ihre krankheitsbedingten Veränderungen dar, die einer Erkrankung zugrunde liegen. Neurobiologische Dysfunktionen könnten stabile Trait-Marker sein, deren genetische Basis untersucht werden kann. (57) Wie klinische Phänotypen werden Endophänotypen als Endprodukte polymorpher Genloci betrachtet, der intermediäre Phänotyp hat möglicherweise einen näheren und direkteren Bezug zur genetischen Basis. Endophänotypen sind determiniert, durch eine reduzierte Anzahl von Genen mit einer höheren Penetranz; Umwelteinflüsse werden dabei als schwächer eingeschätzt. (58) Es wird angenommen, dass die genetischen Varianten, die mit dem untersuchten Endophänotyp assoziiert sind, gleichzeitig auch Suszeptibilitätsgene für Schizophrenie sind. Kann die Genetik der intermediären Phänotypen identifiziert werden, könnte daraus idealerweise auf genetische Varianten der Erkrankung geschlossen werden. (59)

Gottesmann/Gould (60) definierten für den Begriff Endophänotyp die folgenden Kriterien:

- Assoziation des Merkmals mit der Erkrankung
- Erbllichkeit des Merkmals
- Weitgehend unabhängig vom Krankheitsstadium

- Endophänotyp und Erkrankung werden in Familien gemeinsam weitergegeben
- Der Phänotyp der Erkrankten tritt bei gesunden Verwandten häufiger auf als bei der Allgemeinbevölkerung

Weitere Bedingungen für einen idealen Endophänotyp sind, dass er quantitativ und reliabel messbar ist und mit der untersuchten Krankheit eine stärkere Assoziation aufweist als mit anderen Krankheiten. Falls Endophänotypen diese Bedingungen erfüllen, könnten sie unabhängige Risikofaktoren sein, die unterschiedliche Arten von genetischen Risiken offensichtlich machen, die nicht sofort mit der Erkrankung in Zusammenhang gebracht werden. (58) Auch wenn verschiedentlich die Auffassung vertreten wird, dass es wenige oder sogar keine Kandidaten-Endophänotypen gibt, die die Forderungen von Gottesmann/Gould erfüllen (61), werden viele verschiedene Endophänotypen (neurophysiologisch, biochemisch, endokrinologisch, neuroanatomisch, neuropsychologisch) mit unterschiedlichen Verfahren untersucht, um Vulnerabilitäts-gene komplexer Erkrankungen wie der Schizophrenie zu identifizieren. (62)

Neurophysiologisch weisen Schizophreniepatienten unterschiedliche Defizite in der frühen kortikalen und subkortikalen sensorischen Reizfilterung auf wie zum Beispiel eine signifikant reduzierte Präpulsinhibition (PPI) des Schreckreflexes (63) sowie eine reduzierte kortikale P50 Suppression (64). Weitere neurophysiologische Endophänotypen der Schizophrenie sind Antisakkadenfehler; das bedeutet, dass Schizophreniepatienten ebenso wie ihre Verwandten deutlich mehr Fehler bei Antisakkadenaufgaben machen als gesunde Kontrollprobanden. (65) Sakkaden sind die schnellsten Augenbewegungen des Menschen, die ganz bestimmte Kriterien erfüllen müssen, um als Sakkade klassifiziert zu werden. Die Sakkade soll ein visuelles Objekt möglichst schnell und genau auf die Stelle des schärfsten Sehens, die Fovea centralis, zentrieren. Deshalb muss diese Augenbewegung kurz, schnell und exakt sein. Bei einer Antisakkadenaufgabe schauen die Probanden nicht wie in der Prosakkadenaufgabe zu dem in der Peripherie auftauchenden Zielreiz, sondern auf die gegenüberliegende Seite. Die Blickbewegung auf das Sehziel wird als Anordnung der Antisakkadenaufgabe bezeichnet. (66)

Im Bereich der Neuropsychologie zeigen schizophrene Patienten im Vergleich mit gesunden Kontrollgruppen in zahlreichen neuropsychologischen und kognitiven Testungen signifikante Beeinträchtigungen. Im Fokus der neurokognitiven Untersuchungen stehen dabei vor allem das Gedächtnis (Arbeitsgedächtnis, verbales

Gedächtnis), fluide Intelligenz (z.B. abstraktes Denken), Sprache, Aufmerksamkeit (z.B. Daueraufmerksamkeit, serielle Reaktionszeit), motorische Fähigkeiten und die Exekutivfunktionen (z.B. Inhibition, Konzeptbildung). (67) Daher sind diese Phänomene als potentielle klinische Endophänotypen, d.h. als genetisch mit der Erkrankung assoziierte Normvarianten, von großem Interesse für die Schizophrenieforschung. (68)

1.2 SNARE-associated Protein Snapin (SNAPAP)

1.2.1 Merkmale von Snapin

Die Untereinheit Snapin des BLOC1⁹, ein coiled-coil-förmiges Protein, wurde auf der Suche nach Interaktionspartnern von SNAP-25¹⁰ durch Zwei-Hybrid-Verfahren identifiziert und in die Regulationsprozesse der Membranfusion eingeordnet. (69) Als weitere Interaktionspartner wurden im Zusammenhang mit der konstitutiven Exozytose SNAP-23 (70), RGS-7 (71), Vanilloidrezeptor-1 (72) und Adenylatcyclase Typ VI (73) identifiziert. SNAP-23 und SNAP-25 sind zwei eng interagierende, in die Membranfusion eingebundene SNARE-Proteine. (69)

Abbildung 6 stellt die Interaktionen der Untereinheiten des BLOC1 dar. Die in beide Richtungen zeigenden Pfeile zeigen Interaktionen in beide Richtungen. Die Pfeile in eine Richtung weisen von der Bindungs- zur Aktivitätseinheit.

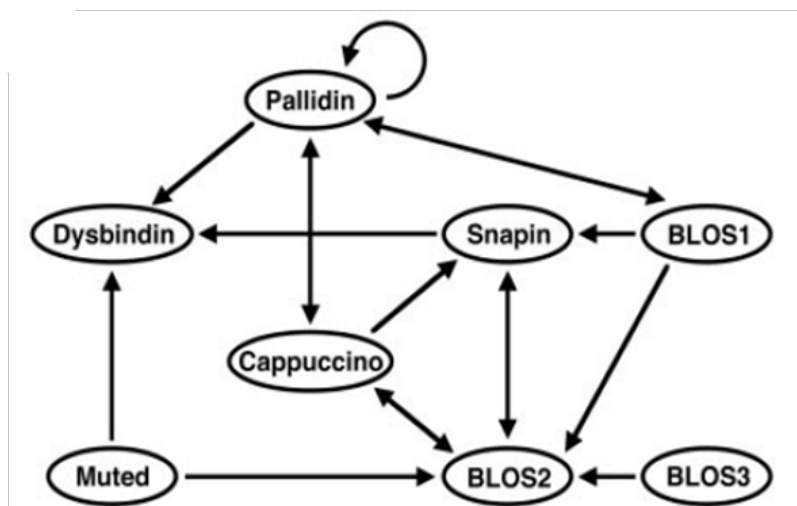


Abbildung 6: Schematische Darstellung des Interaktionsnetzwerkes von BLOC1

Quelle: (69)

⁹ BLOC1 = Biogenesis of lysosome-related organelles complex 1

¹⁰ SNAP-25 = Synaptosomal-associated protein 25

Durch die Identifikation von Snapin als stabile Untereinheit von BLOC-1 eröffneten sich neue Aspekte hinsichtlich der molekularen Funktion von BLOC1. Snapin wurde ursprünglich als SNAP-25-Bindungsprotein und als Regulierungseinheit der Assoziation des Core-Komplexes von SNAP-25 und anderer SNARE-Proteine mit Synaptotagmin, einem Kalziumgebundenen Aktivator der synaptischen Vesikel-Exocytose angenommen (74). Obwohl Snapin ursprünglich als ein Gehirn-spezifisches, integrales Membranprotein beschrieben wurde (74), wurde in der Folge entdeckt, dass es sich um ein ubiquitäres, lösliches Protein handelt welches in der Lage ist, mit Membranen zu assoziieren, mit SNAP-23 zu interagieren und dass es sich ubiquitär paralog zu SNAP-25 verhält (75).

Die Fähigkeit von Snapin, mit SNAP-23 und SNAP-25, und von Pallidin mit Syntaxin 13 zu interagieren, sprechen für einen Beitrag von BLOC1 in der Regulation von SNARE-vermittelten Membranfusionen. Insbesondere lässt die Assoziation von SNAP-25 mit Syntaxin 13 auf frühen Endosomen einen Zwischenschritt in der Bildung fusogener Komplexe mit SNAP-25, Syntaxin 13 und VAMP-2 vermuten. (76)

In Anlehnung daran kann vermutet werden, dass BLOC1 die SNARE-Komplexbildung in einigen Phasen reguliert, wie zum Beispiel das Hepatozytenwachstum regulierende Enzym Tyrosinkinase, die konventionelle Fusion und die Sortierung von Vakuolenproteinkomplexen. (76) (77) Die hier beschriebene Bedeutung von BLOC1 stimmt mit den Anforderungen überein, die sich der normalen Biogenese von Melanosomen und Granulaten hoher Dichte stellen, da angenommen wird, dass die Bildung dieser und anderer Lysosom-abhängiger Organellen einen oder mehr endosomale Bereiche enthält. (69)

1.2.2 SNARE-Komplexe

Die SNARE¹¹-Hypothese geht von der Annahme aus, dass in fusionierenden Membranen Transmembranproteine involviert sind, die Proteinkomplexe bilden, sich den benachbarten Membranen nähern und Lipidhemifusionen formen. Zentrale, an diesen Prozessen beteiligte SNARE-Proteine sind Syntaxin, Synaptobrevin und SNAP-25 (vgl. Abbildung 7). Da SNAP-25 und Syntaxin in der Zellmembran und Synaptobrevin in der Vesikelmembran verankert sind, führt die Komplexbildung zur Annäherung der beiden Membranen. Ergebnis dieses Prozesses ist eine komplette Membranfusion.

¹¹ SNARE = Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor

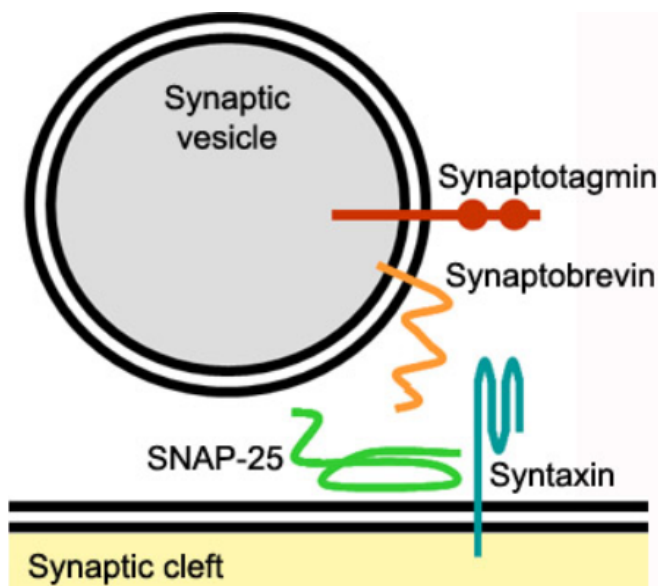


Abbildung 7: Snare-Komplex mit Syntaxin, Synaptobrevin und SNAP-25

Quelle: <http://neuromuscular.wustl.edu/pathol/snare.htm>

Spezifisch ist bei diesem Prozess, dass er nicht vollendet zu werden scheint, sondern in einer späten Phase ruht. So bildet sich eine Ansammlung von sekretionsbereiten Vesikeln, die sich freisetzen, wenn sie das Signal (Kalziumanstieg) dazu erhalten. (78)

SNAREs sind kleine membrangebundene Proteine, deren zelluläre Verteilung auf der vesikulären und der Ziel-("target")-Membran zur ursprünglichen v- und t-SNARE Nomenklatur geführt hat. SNAREs haben eine gemeinsame Domäne, einen leicht konservierten Abschnitt aus ungefähr 60 Aminosäuren, der zur Bildung von Coiled-Coil-Interaktionen fähig ist und somit für die Heterooligomerisierung von SNARE Proteinen verantwortlich ist. In Vergleichen der Kristallstruktur des neuronalen SNARE-Komplexes und der Sequenzen von SNARE-Motiven anderer Mitglieder der SNARE-Familie konnte nachgewiesen werden, dass 16 Kontaktpositionen einzelner Helices der Coiled-Coil-Struktur stark konserviert sind. (79) (80)

SNARE-Proteine sind einfach strukturiert, ein SNARE-Motiv besteht aus 60 bis 70 Aminosäuren und ist mit einer C-terminalen Transmembrandomäne durch einen Linkerbereich verbunden. Im Menschen konnten 36 SNARE-Proteine identifiziert werden, als Vergleich dazu im *Saccharomyces cerevisiae* 25 und im *Arabidopsis thaliana* 54. Der N-Terminus in den einzelnen SNARE-Proteinen ist nicht einheitlich geformt. SNARE-Komplexe bestehen aus vier verflochtenen parallelen α -Helices, die jeweils von anderen Proteinen kommen; im Zentrum des Komplexes formen die

miteinander in Aktion stehenden Aminosäuren stark hydrophobe Ebenen. In der zentralen 0-Ebene, die als einzige Ausnahme nicht hydrophob ist, verbinden sich hochkonservierte Glutaminreste (Q) und ein Argininrest (R), was zu der SNARE-Klassifikation R- und Q-SNAREs führte. Es wird angenommen, dass ein R-SNARE und drei Q-SNAREs einen fusogenen SNARE-Komplex bilden. Die anfänglich unstrukturierten, monomeren SNARE-Motive verursachen bei der Bildung des SNARE-Komplexes einen starken Anstieg im α -helikalen Gehalt. (81)

Analog zu dieser Struktur erfolgt die Einteilung der SNARE-Proteine gemäß ihrer Position im 4-Helix-Bündel in Qa-, Qb-, Qc- oder R-Snares. Man geht davon aus, dass der Fusionsmechanismus zweier Membranen auf der Assoziation der SNARE-Motive zum SNARE-Komplex basiert und es dabei zum "Zippering" der Helices vom N- zum C-Terminus kommt. Zippering entspricht dem Prozess beim Reißverschluss-Öffnen. Dieser ermöglicht den sich angenäherten Membranen die Energiebarrieren für die Fusion zu überwinden. (82)

Unter den intrazellulären Membranfusionen ist die neuronale Exozytose am meisten erforscht. Für die Proteine Synaptobrevin 2m, Syntaxin 1a und SNAP-25a sind – vor allem für Syntaxin – über 50 Interaktionsparameter identifiziert worden, wovon jedoch nur wenige detailliert und zuverlässig charakterisiert wurden. (82)

1.2.3 BLOC-1

Falcon-Perez et al. (83) entdeckten 2002 im Rahmen der Erforschung des HPS-Syndroms¹² veränderte Lysosomen und Defizite der Lysosomen-verwandten Organellen (LROs¹³), die in hochdifferenzierten Zellen mit normalen Lysosomen koexistierten. (84) Sie nahmen an, dass die Biosynthese dieser Organellen im HPS-Modell beeinträchtigt ist und identifizierten einen asymmetrischen Proteinkomplex mit einer Masse von etwa 200 kDa, den sie als BLOC1 beschrieben. Eine reguläre Funktion von BLOC1 wird für die normale Synthese von LROs benötigt. (84)

Dell'Angelica identifizierte 2004 anhand von HPS-Mausmodellen durch Kopplungsanalysen (85) die in Tabelle 7 dargestellten acht Untereinheiten von BLOC1: (86)

¹² HPS, Abkürzung für das Hermansky-Pudlak-Syndrom, tritt weltweit auf und wird autosomal-rezessiv vererbt. Klinische Symptome sind okulokutaner Albinismus und eine erhöhte Blutungsneigung infolge einer gestörten Thrombozytenaggregation. Als Komplikationen können Lungenfibrose und entzündliche Darmerkrankungen auftreten. (84)

¹³ LRO engl. lysosom related organelles

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

Tabelle 7: Die acht Untereinheiten von BLOC1 nach Dell'Angelica, 2004 (86)

Es wird angenommen, dass mit Ausnahme von BLOC1S3 alle Untereinheiten Coiled-Coil-Bereiche aufweisen, die eine günstige Wirkung auf die Stabilität von Bindungen haben. (87) Als Ausgangspunkte für zahlreiche Assoziationen zu Strukturen außerhalb von BLOC1 werden vor allem Dysbindin, Pallidin und Snapin genannt (vgl. Abbildung 8). (88) Beispiele sind SNAP-25, Syntaxin13, jedoch auch SNARE-Proteine, Kinasen, Stachelsaum-Bläschen, Aktinfilamente, Fusionsproteine sowie Rezeptoren der Signalregulierungsmoleküle. (89) BLOC1 wird ubiquitär im Zytosol gelöst, jedoch auch membranassoziiert beobachtet. Bei Yeast-2-Hybrid-Analysen (Y2H) zeigten sich innerhalb des Komplexes 17 binäre, bi- oder unidirektionale Interaktionen. (69)

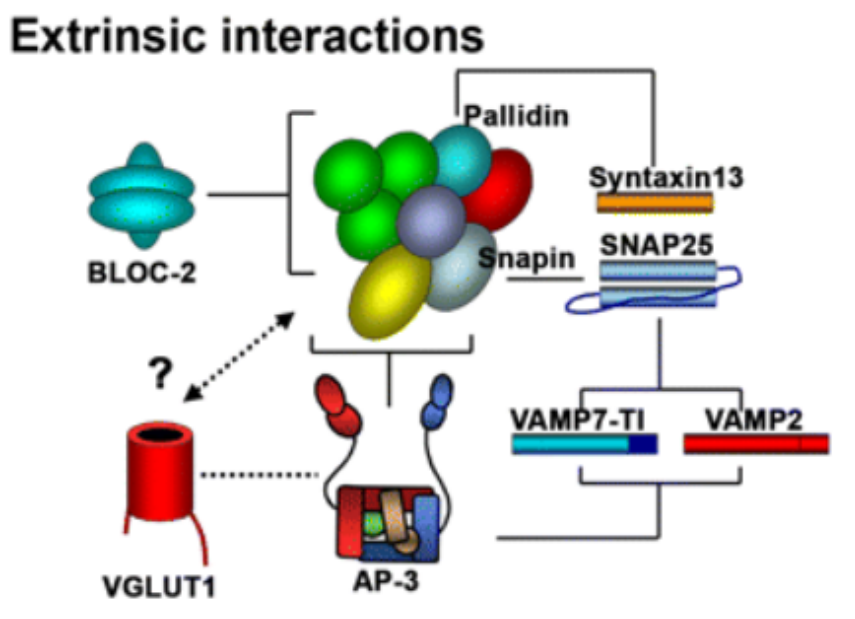


Abbildung 8: Extrinsische Interaktionen der BLOC1-Untereinheiten

Quelle: <http://jcs.biologists.org/content/120/4/531/F5.expansion.html>

1.2.4 Funktionen von BLOC-1

BLOC1 bildet mit BLOC2 und BLOC3 offenbar ein gemeinsames funktionelles System, in dem durch Mutationen der Untereinheiten HPS-Subtypen gebildet werden. (87)

Die Synthese und andere Funktionen der defizitären LROs, die sich in den beschädigten HPS-Zellen ereignen, werden entscheidend durch Funktionen von BLOC1 beeinflusst. Bei der Untersuchung von BLOC1-defizienten Melanozyten zeigte sich, dass die Aufgabe der Melanozyten die Synthese und Speicherung von Melanin in Melanosomen ist. Ein wichtiges Element intakter Melanosomen ist dabei, in Verbindung mit der Tyrosinase, das melanosomale Protein Tryp1 Tyrosinase-related protein1. Die Synthese des Proteins erfolgt im Endosomalen Retikulum, danach durchläuft es das Trans-Golgi-Netzwerk und gelangt durch das endosomale System zu den Melanosomen. (90)

Es wird vermutet, dass BLOC1 den Tryp1-Transport von frühen Endosomen zu Melanosomen beeinflusst, da Akkumulationen von Tryp1 in frühen Endosomen und an der Zelloberfläche in den BLOC1-defizienten Zellen entdeckt wurden. Die untersuchten Zellen waren mangelhaft pigmentiert, in den Melanosomen konnte kein Tryp1 nachgewiesen werden. BLOC1 scheint bei diesem Vorgang mit BLOC2 in Interaktion zu treten (BLOC2 downstream von BLOC1), wobei Tryp1 in den BLOC2-defizienten Zellen um die Plasmamembran und in endosomalen Zwischenstufen akkumulierte. (91)

Möglich ist, dass BLOC1 die Ablösung von Tryp1 von frühen Endosomen unterstützt und es dann in eine endosomale Zwischenstufe weiterleitet, während BLOC2 die Ablösung von der Zwischenstufe und die Weiterleitung in Richtung des Melanosoms unterstützt. Wird diese Funktion von BLOC1 nicht übernommen, akkumuliert Tryp1 in frühen Endosomen und wird nicht zielgerichtet ausgeschüttet. Dies führt zu einem vergeblichen Kreislauf aus Transport an die Zelloberfläche, Endozytose und Recycling des Tryp1. (91)

1.2.5 Funktionen von Snapin

Interaktionen mit SNAP25 und Membranfusionen

Ursprünglich wurde davon ausgegangen, dass Snapin an ein monomeres SNAP-25 bindet (74). Durch die darauf folgende Assoziation von mit SNAP-25 interagierenden Snapin-Elementen in Neuronen zeigte sich eine transiente Inhibition der Exozytose, die

die Interaktion zwischen Synaptotagmin und dem SNARE-Komplex verstärkte. (92)

Buxton et al. konnten nachweisen, dass Snapin nicht nur an SNAP-25 bindet, sondern auch an SNAP-23. SNAP-23 ist bei der konstitutiven Exozytose beteiligt. (70) Morenilla-Palao et al. entdeckten, dass Snapin an der neuronalen Exozytose beteiligt ist. Dabei vermindert die Koexpression von interagierenden Snapin und Vanilloidrezeptor die SNARE-abhängige Vanilloidrezeptorexpression auf der Zelloberfläche. (72)

Interaktionen mit BLOC1 und sekretorischen Lysosomen

Alle in BLOC1 enthaltenen Proteine können Coiled-Coil-Interaktionen eingehen und kommen zytosolisch und membranassoziiert vor. Wird eine der Einheiten entfernt, wird das Expressionsniveau der verbliebenen Proteine stark reduziert. Die Ursachen dieser Funktion sind jedoch noch nicht ausreichend untersucht. Zwei Einheiten interagieren mit SNARE-Proteinen: Pallidin mit Syntaxin 13, wobei eine deutliche Kolo-kalisation in einem vesikulärem Kompartiment entsteht und Snapin als Interaktionspartner mit SNAP-25 sowie SNAP-23. SNAP-23 interagiert mit fast allen exozytotischen Lysosomen. (70) (74) (76)

1.2.6 BLOC1, Snapin und Schizophrenie

Im Jahr 2008 untersuchten Morris et al. den Einfluss der BLOC1-Untereinheiten BLOC1S1-3, Pallidin, Cappuccino, Snapin und Muted auf das Erkrankungsrisiko der Schizophrenie. Lediglich bei BLOC1S3 konnte in Bezug auf einen SNP ein positiver Zusammenhang entdeckt werden. (93)

Da Schizophreniepatienten im präfrontalen Cortex, Mittelhirn und Hippocampus einen reduzierten Dysbindin Gehalt aufweisen, wurde die Relevanz von Dysbindin für die Pathophysiologie der Schizophrenie als Untereinheit von BLOC1 untersucht. (94) Talbot et al. entdeckten in zwei verschiedenen Patientenkollektiven, dass besonders das präsynaptische Dysbindin - unabhängig vom Tragen eines Dysbindin-Risiko-Allels - ein signifikantes Defizit aufwies. (94)

Ein weiterer Zusammenhang von BLOC1 auf die Pathophysiologie der Schizophrenie wird aufgrund einer Hemmung der glutamergen Neurotransmission angenommen. Die Reduktion von Dysbindin ist mit einer Abnahme der präsynaptischen Elemente SNAP-25 und Synapsin-1 verbunden, wodurch weniger Glutamat freigesetzt wird. Die BLOC1-Untereinheit Snapin interagiert mit SNAP-25 und Synapsin-1, so dass die beschriebene

Wirkung mit der Funktion von BLOC1 plausibel in Zusammenhang gebracht werden kann. Die Reduzierung der Glutamatfreisetzung entspricht der Glutamathypothese zur Pathogenese der Schizophrenie. (94) (95)

Des Weiteren kann ein Zusammenhang von BLOC1 und Schizophrenie aus der Dopamin-Hypothese abgeleitet werden. Iizuka et al. (2007) entdeckten eine Assoziation von Dysbindin und der Konzentration von Dopaminrezeptoren an der Zelloberfläche. (96) Die Reduzierung des Dysbindingehaltes war bei der Untersuchung Dysbindin-defizienter Zellen und Rattenneuronen mit einem auffälligen Anstieg der Dopaminrezeptoren Typ 2 (DRD2) an der Zelloberfläche verbunden, was jedoch keine Auswirkungen auf Typ 1 (DRD1) hatte. In den beschädigten Zellen war die Downregulierung der DRD2-Rezeptoren völlig außer Kraft gesetzt. Bei der Untersuchung der intrazellulären Signaltransduktion zeigte sich, dass Dysbindin den Bereich der second-messenger ebenso beeinflusste. Die Wirkung der DRD2-Überstimulation macht sich auch in der Gi-Protein (inhibitorisches G-Protein)-vermittelten Signalkaskade bemerkbar. (96) Während sich die Funktion der sekundären Signalkaskade in Dysbindin-defizitären Zellen durch die Gabe von Haloperidol¹⁴ normalisierte, zeigten die Kontrollzellen keine Reaktionen. (96)

Die Erforschung von Phänomenen und Mutationen der noch nicht untersuchten Untereinheiten sind deshalb von hohem Interesse.

2 Fragestellung

Die bisherigen Ausführungen zeigen, dass bis heute die Ätiopathogenese der Schizophrenie nicht eindeutig geklärt ist. Unter der Annahme, dass viele einzelne variable Regionen im Genom in bestimmten Varianten einen Beitrag zur Pathophysiologie der Schizophrenie leisten, kommt es dann zum Ausbruch, wenn diese Varianten auf entsprechende Umweltfaktoren treffen. Zur Eingrenzung für genetische Studien wurde das Konzept der Endophänotypen entwickelt, um klinische sowie neurophysiologische oder bildgebende Parameter hinsichtlich ihrer Assoziation mit genetischen Faktoren zu untersuchen. Zweck dieses Vorgehens ist auch, mehr Vergleichbarkeit mit den ICD-10-Diagnosekriterien der Schizophrenie zu schaffen.

¹⁴ typisches Neuroleptikum - DRD2-Antagonist

Die Negativsymptomatik einer Schizophrenie ist im Krankheitsverlauf häufig ein besonderes Problem. Die Dauer und die Schwere der Symptome beeinflussen das Leben der Patienten nachhaltig, weil sie im Vergleich zur Positivsymptomatik über einen längeren Zeitraum bestehen bleiben und schlechter behandelbar sind (vgl. Kapitel 1.1.3.1). Es ist davon auszugehen, dass die Negativsymptomatik wie auch bestimmte kognitive Defizite als sogenannter Endophänotyp für die genetische Ursachenforschung der Schizophrenie geeignet sind.

Vielfach hat sich in Studien gezeigt, dass Polymorphismen im Dysbindin-Gen mit den Symptomen der Schizophrenie korrelieren. Man geht heute davon aus, dass Dysbindin eine zentrale Rolle bei der Entstehung der Erkrankung und insbesondere bei der Negativsymptomatik spielt. Dysbindin ist ein Protein, das mit vielen anderen Proteinen interagiert. Bisher sind die Interaktionspartner von Dysbindin nur wenig untersucht worden. Aufgrund dieser Erkenntnisse ist der Fokus dieser Arbeit auf das Protein SNARE-associated Protein Snapin (SNAPAP), abgekürzt „Snapin“, gerichtet. Snapin ist ein Bestandteil des BLOC1-Komplexes und ein direkter Interaktionspartner von Dysbindin. In der Studie von Talbot et al. (97) konnte nachgewiesen werden, dass Dysbindin-1 im Gehirn an Snapin bindet und dass Genvariationen im Dysbindin-Gen mit einer eingeschränkten kognitiven Leistung einhergehen.

Dysbindin-1 ist ebenso wie Snapin für die Freisetzung von Neurotransmittern an der Synapse von Nervenzellen verantwortlich. Beide Proteine sind wichtige Bestandteile mikrotubulärer und vesikulärer Vorgänge im gesamten Zentralnervensystem. Talbot et al. gelang der Nachweis, dass eine gestörte Glutamatfreisetzung mit bestimmten Genvariationen im Dysbindin-Gen assoziiert ist. (97) Eine Reduktion von Dysbindin zeigt sich mit einer Abnahme von präsynaptischen Proteinen wie SNAP-25 und Synapsin-1 assoziiert, was eine verminderte Freisetzung von Glutamat bewirkt. (95) Die BLOC-1 Untereinheit Snapin interagiert mit diesen beiden präsynaptischen Proteinen. Eine verminderte Glutamatfreisetzung wäre mit der Glutamathypothese zur Pathogenese der Schizophrenie kompatibel. (94) (95)

In der 2008 publizierten Studie von Ya-Qin Feng et al. (98) wird deutlich, dass eine Reduktion von Snapin in den Gehirnen von Mäusen mit Verhaltensauffälligkeiten assoziiert ist, die den Symptomen der Schizophrenie ähneln. Dickmann et al. konnten 2012 nachweisen, dass die durch Dysbindin gesteuerte neuronale Transmitter-Freisetzung eine normale Funktion von Snapin voraussetzt. Ein Verlust des Snapin-

Gens in *Drosophila melanogaster* blockiert die homöostatische Modulation der präsynaptischen Vesikelfreisetzung. (99) Diese Befunde lassen darauf schließen, dass auch das Snapin-Gen als Risikogen für die Entstehung der Schizophrenie gelten könnte.

In der vorgelegten Dissertation soll im Rahmen einer Assoziationsstudie im Fall-Kontroll-Design untersucht werden, ob Single-Nucleotide-Polymorphismen (SNPs) im Snapin-Gen mit den Symptomen der Schizophrenie assoziiert sind. Dazu werden folgende Hypothesen untersucht:

1. Snapin ist Risikogen für Schizophrenie.
2. Snapin-Polymorphismen stehen in Zusammenhang mit Negativsymptomatik.
3. Snapin-Polymorphismen stehen in Zusammenhang mit kognitiven Defiziten.
4. In Abhängigkeit vom Geschlecht stehen Snapin-Polymorphismen in Zusammenhang mit Negativsymptomatik und kognitiven Defiziten.
5. Die Ausprägung kognitiver Defizite steht im Zusammenhang mit der Ausprägung von Negativsymptomatik bei Schizophreniepatienten.

3 Methodik

3.1 Klinischer Teil

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Charité Berlin bewilligt. Das beschriebene Patienten- und Kontrollkollektiv stellt eine Fortführung der von Auraß 2013 durchgeführten Studie dar. (100)

3.1.1 Patientenkollektiv

Die Studienteilnehmer waren 119 Versuchspersonen kaukasischer Herkunft, die an einer Schizophrenie (F20) bzw. an einer schizoaffektiven Störung (F25) erkrankt waren. 109 davon wurden in der Institutsambulanz der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie Charité Mitte behandelt. 6 Patienten waren im St. Hedwig Krankenhaus der Alexianer in Berlin Mitte in Behandlung. Daneben haben 4 Patienten aus der ambulanten psychiatrischen Versorgung der Pinel AG an unserer Studie teilgenommen.

Die Ein- und Ausschlusskriterien wurden wie folgt definiert:

Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
<ul style="list-style-type: none"> - Alter 18-70 Jahre - Diagnose nach ICD 10 (F20 oder F25, Schizophrenie oder Schizoaffektive Störung) - Stabilität der Erkrankung seit mindestens 6 Monaten (keine signifikanten Schwankungen der Symptomatik) - In regelmäßiger ambulanter psychiatrischer Behandlung - Kaukasische Herkunft 	<ul style="list-style-type: none"> - Diagnose einer hirnorganischen Erkrankung oder klinisch relevanten neurologischen Störungen - Aktueller Drogenmissbrauch, Suchterkrankungen

Tabelle 8: Ein- und Ausschlusskriterien des Patientenkollektivs

3.1.2 Kontrollkollektiv

Das Kontrollkollektiv umfasste 81 gesunde Versuchspersonen kaukasischer Herkunft, die im Rahmen einer Bildgebungsstudie der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie Campus Charité Mitte ausgesucht und zur Studie eingeladen wurden. Psychiatrische Diagnosen bei Angehörigen ersten und zweiten Grades waren ausgeschlossen. Geschlecht und Alter der Probanden waren bekannt.

3.1.3 Ablauf der klinischen Studie

Die meisten Patienten wurden im Rahmen regulärer ambulanter Termine in der Institutsambulanz der Psychiatrie Charité Mitte zur Teilnahme eingeladen. Die Patienten der niedergelassenen Psychiater wurden nach einem Treffen des Vereins für Psychiatrie und seelische Gesundheit e.V., in dem die Studie vorgestellt wurde, von diesen angesprochen. Anschließend wurden die Probanden in die Klinik für Psychiatrie in Mitte gebeten und über Hintergründe und Ablauf der Studie informiert. Nachdem offene Fragen geklärt und der terminliche Ablauf abgesprochen war, gaben die Probanden ihr schriftliches Einverständnis. Sie sollten zwei Termine an verschiedenen Tagen zu jeweils 90 Minuten wahrnehmen. Am Ende der Einführung/Datenerhebung wurde den Probanden Blut abgenommen. Als Entschädigung für die Teilnahme erhielt jeder der Probanden 20 Euro.

Die folgende Tabelle 9 zeigt den jeweiligen Verlauf der beiden Termine:

Erster Termin	
<p>Anamnese</p> <p>Die psychometrischen Daten wurde anhand eines umfassenden, anamnestischen Fragebogens vorgenommen, der durch Prof. Dr. med. J. Gallinat in der Klinik etabliert wurde (Universalrating).</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Allgemeine Angaben (Name, Vorname, Geburtsdatum, Geburtsort, genetische Herkunft der Eltern, Geschwisterzahl) - Familienanamnese (Anzahl schizophren /schizoaffektiv Erkrankter bzw. andere psychiatrisch Erkrankte in der Familie) - Bildungsanamnese (Schul-, Berufsbildung, aktuelle finanzielle Bezüge) - Krankheitsanamnese (Erstmanifestationsalter und –symptome, stationäre Aufenthalte, Therapie, Suizidalität, Drogenkonsum).
<p>Einschätzung der Risikofaktoren für Schizophrenie</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Risikofaktoren für die Entstehung psychotischer Symptome: Alter der Eltern bei Geburt des Probanden, pränatale Komplikationen, neurologische Erkrankungen, cerebrale Taumata
<p>Einschätzung der Symptomatik</p> <p>Halbstrukturiertes Interview durch eine erfahrene Psychiaterin (Prof. Dr. med. I. Puls) mittels etablierter psychometrischer Messinstrumente</p>	<ul style="list-style-type: none"> - PANSS Positive and Negative Syndrom Scale - SANS Scale of the Assessment of Negative Symptoms - SAPS Scale of the Assessment of Positive Symptoms - CGI Clinical Global Impression - GAF Global Assessment of Functioning
<p>Zwei kognitive Testungen am Computer</p>	<ul style="list-style-type: none"> - CPT-IP Continous Performance Test - WCST Wisconsin Card Sorting Test
<p>Fragebögen zur Bearbeitung zu Hause</p>	<ul style="list-style-type: none"> - BDI Beck-Depressions-Inventar BDI - ESI Eppendorfer-Schizophrenie-Inventar - Angstfragebogen
Zweiter Termin	
<p>Neuropsychologische Testbatterie</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 10 Einzeltests in Papierform (Beschreibung Kapitel 3.1.5)
<p>Halbstrukturierte Interviews</p>	<ul style="list-style-type: none"> - HAMD Ratings Hamilton Depression Scale - QLS Quality of Life Scale - NSA-16 Negative Symptoms Assessment
<p>Abgabe der Fragebögen</p>	<ul style="list-style-type: none"> - BDI, ESI, Angstfragebogen
<p>Blutentnahme</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Drei EDTA-Röhrchen venöses Blut (kodiert, Lagerung bei -20o C)

Tabelle 9: Ablauf der beiden Probandentermine

3.1.4 Psychometrische Messinstrumente

Psychometrische Messinstrumente dienen der Quantifizierung von Psychopathologie (vgl. auch (100)).

3.1.4.1 Skalen der allgemeinen Psychopathologie

CGI Clinical Global Impression (101)

- Beurteilung der globalen klinischen Funktionsfähigkeit von Probanden bei Medikamentenstudien.
- Subskalen: Severity of Illness, Global Improvement, Efficacy Index.
- Siebenstufige Skalierung von 1 = nicht krank bis 7 = extrem schwer krank.

In der Studie wurde nur die erste Subskala genutzt. Ein mit dem Krankheitsbild erfahrener Psychiater beschreibt 1 bis 2 min nach dem Patientengespräch seinen allgemeinen klinischen Eindruck.

GAF Global Assessment Functioning (102)

- Teil der DSM IV-Klassifikation.
- Beurteilung des psychischen, sozialen und beruflichen Funktionsniveaus eines Menschen als Achse 5.
- Einschätzung der Funktionsfähigkeit mittels theoretischem Kontinuum zwischen psychischer Gesundheit (100 Punkte) und Krankheit (0 Punkte). > 70 ist eine leichte Beeinträchtigung, 70 - 50 steht für eine ernsthafte Beeinträchtigung. < 50 ist gleichbedeutend mit Selbst- und Fremdgefährdung.

3.1.4.2 Skalen der speziellen Psychopathologie bei Schizophrenie

QLS Quality of Life Scale (103)

- Quantifizierung der Einschränkung der Lebensqualität bei Schizophrenie durch Negativsymptome.
- Durchführung anhand halbstrukturiertem Interview, bezogen auf die letzten vier Wochen.
- Beurteilung von 21 Items wie zum Beispiel Einbindung in soziale Netzwerke, Funktionsfähigkeit im Beruf, persönliche Beziehungen.
- Bewertung auf einer Punkteskala von 0 bis 6; 5 und 6 entsprechen einer normalen Lebensqualität, 0 und 1 einer starken Beeinträchtigung. Die Addition der Einzelwertungen ergibt den Gesamtscore.

Die unterschiedlichen Symptomausprägungen in den sieben vorhergehenden Tagen wurden durch halbstrukturierte Interviews evaluiert:

PANSS Positive und Negative Syndrome Scale (104)

- Bestimmung der Dominanz eines Symptomkomplexes und der Schizophrenie-Untertypen.
- Durchführung einer Befragung nach 30 schizophrenietypischen Symptomen dreier Skalen: Positiv-, Negativskala und der psychopathologischen Globalskala.
- Skalierung der Items von 1 Punkt (nicht vorhanden) bis 7 Punkten (stark ausgeprägt). Bei der Positiv-, Negativskala können je 7 bis 49 Punkte vergeben werden, bei der Globalskala 16 bis 112 Punkte. Der PANSS-Gesamtscore wird durch Addition der Teilergebnisse bestimmt.
- Mit einer zweiten Größe wird die Dominanz eines Symptomkomplexes bestimmt. Der Positiv-Negativscore ergibt sich aus der Subtraktion und beschreibt einen zweiseitigen Index von -42 bis +42 Punkten. Durch diesen Kombinationsscore können die Subtypen der Schizophrenie definiert werden. Nach dem Subtypen-Modell nach Singh (105) wurden Probanden oberhalb der 75. Perzentile (> 3 Punkte) als Positiv-Subtyp und Probanden unter der 25. Perzentile (< -8 Punkte) als Negativ-Subtyp deklariert.

SANS Scale of the Assessment of Negative Symptoms (106)

- Erfassung der Vielfältigkeit des Negativ-Symptomkomplexes.
- Beschreibung von 5 Gruppen negativer Symptome, wobei jedes Item durch eine Punktzahl zwischen 0 = nicht vorhanden und 5 = stark ausgeprägt charakterisiert wird. Der Gesamtscore wird durch Addition errechnet.

7 Items: Affektverflachung

5 Items: Alogie (Verarmung von Sprache und Denken)

4 Items: Apathie (Antriebsmangel)

5 Items: Anhedonie (Unfähigkeit, Freude zu empfinden)

3 Items: Aufmerksamkeit

NSA-16 Negative Symptom Assessment (107)

- Rating zur multidimensionalen Erfassung der Ausprägung der Negativsymptomatik.
- 16 Items mit einer Skala von 1 (= keine Ausprägung) bis 7 (= extreme Ausprägung),

9 für ein nicht messbares Item. Für das Item „Affekt: Zeigen auf Aufforderung wurde 9 gesetzt.

- Errechnung des Gesamtscores aus dem Mittelwert aller Items zwischen 1 und 6.

ESI Eppendorfer Schizophrenie Inventar (108)

- Auswertung von 5 faktorenanalytisch fundierten Skalen

AS = Aufmerksamkeit und Sprachbeeinträchtigung

AU = Akustische Unsicherheit

IR = Beziehungsideen

DP = Wahrnehmungsabweichung

FR = Offenheit

In der vorliegenden Untersuchung wurden nur AS angewendet.

- Fragebogen mit 40 Items und jeweils einer vierstufigen Antwortskala von 0 (= stimmt gar nicht) bis 3 Punkten (= stimmt genau)

3.1.4.3 Skalen für Depressivität

HAMD Hamilton Depression Scale (109) (110)

- Fremdbeurteilungsskala zur Erfassung des Schweregrades einer diagnostizierten Depression.
- Beurteilung von 17 Items, wovon 8 Items dreistufig, 9 Items fünfstufig sind. 0 - 9 Punkte = keine Depression, 10 - 20 Punkte = leichte Depression, > 20 = mittelschwere Depression, > 30 = schwere Depression.
- Keine direkte Abfrage, Sammlung von Informationen während eines 30-minütigen Gespräches.

BDI Beck-Depressions-Inventar (111)

- Fragebogen zur Erfassung der Schwere depressiver Symptomatik durch Bewertung von 21 Items, wobei je vier unterschiedliche Intensitätsgrade zur Verfügung stehen.

Richtwerte:

< 9 Punkte = keine Depression

10 bis 18 Punkte = milde Depression

19 bis 29 Punkte = mittelschwere Depression

30 Punkte = schwere Depression

Angstfragebogen (112)

- Fragebogen zur Erfassung von Angst und Depression. Modifizierter Fragebogen des im Krankenhaus gebräuchlichen HADS-D (Hospital Anxiety and Depression Scale) für die Anwendung bei körperlich kranken Patienten. Insgesamt 21 Items aus dem HADS-D mit je vier unterschiedlichen Intensitätsgraden.

3.1.5 Kognitive Testungen

Mit den Studienteilnehmern wurden 13 kognitive Leistungstests durchgeführt. 10 Tests absolvierten die Probanden am Anfang der Studie, die Batterie wurde im Laufe der Rekrutierungszeit ergänzt. Abbildung 9 stellt die sieben international anerkannten Tests mit den Domänen Aufmerksamkeit, Exekutivfunktionen, Arbeitsgedächtnis und verbales Gedächtnis dar, die in der Auswertung zum Einsatz kamen.

Aufmerksamkeit	Arbeitsgedächtnis	Exekutivfunktionen	Verbales Gedächtnis	
Digit Span				
Continuous Performance Test (CPT)				
Trailmaking Test (TMT)				
Stroop Test				
Wisconsin Card Sorting Test (WCST)				
		Regenburger Wortflüssigkeits-Test (RWT)		
				Lern- und Merkfähigkeitstest (VLMT)

Abbildung 9: Kognitive Leistungstests mit Testdomänen nach Kircher (2008) (113)

STROOP Farb-Wort-Interferenz-Test (114)

Zweiteiliger Test. Teil 1 gibt die Lesegeschwindigkeit wieder, Teil 2 die Exekutivfunktionen.

- Teil 1: Eine A4-Seite mit den in vier Zeilen schwarz gedruckten Worten rot, blau, gelb, grün soll schnellstmöglich vorgelesen werden.

- Teil 2: Es wird ein A4-Blatt hinzugefügt, das die gleichen Worte enthält. Sie sind bunt, jedoch nicht in der Farbe des Wortes. Dieses Mal muss ebenfalls möglichst schnell die Farbe genannt werden, in der das Wort gedruckt ist.
- In der vorliegenden Studie wurde die Kurzversion des STROOP-Testes nach Wolfram et al. (1989) ausgewertet. (115) In beiden Teilen wurde die erforderliche Bearbeitungszeit gestoppt und in eine Normtabelle eingetragen. So konnten zwei Parameter zwischen – 1 und 11 ausgewertet werden.

RWT Regensburger Wortflüssigkeitstest (116)

- Anhand von zwei Untertests werden die formallexikalische Wortflüssigkeit mit dem S-Wörter-Test und die semantisch-kategoriale Flüssigkeit mit dem Tiere-Test bewertet. Abgebildet werden divergentes Denken und dessen Einfluss auf mehrere kognitive Domänen (Arbeitsgedächtnis, Kurzzeitgedächtnis, Vigilanz usw.)
- Es sollen in 60 sec. jeweils so viele Worte wie möglich genannt werden, wobei Wiederholungen von gleichen Worten und Worten mit gleichem Wortstamm als Fehler bewertet werden.
- Die Zahl der richtigen Worte (Rohwerte) sind Auswertungsparameter, wobei unterschiedliche Cut-Off-Werte diskutiert werden: < 10. Perzentile bzw. < 16. Perzentile (Mittelwert +/- Standardabweichung (16.-84. Perzentile). (117) (118)

Digit Span (119)

- Der zweiteilige Digit Span-Test gehört zum Hamburger-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene (HAWIE). Er bildet eine große Zahl kognitiver Funktionen ab, insbesondere Exekutivfunktionen. Getestet wird Konzentration und Aufmerksamkeit, im ersten Teil das verbale Sofortgedächtnis, im zweiten Teil das Arbeitsgedächtnis.
- Es werden sieben verschiedene Zahlenreihen, aufsteigend (3 – 9 Ziffern) nachgesprochen, jede Zahlenreihe wird zweimal vor- und nachgesprochen, im ersten Teil vorwärts, im zweiten Teil rückwärts.
- Für jede richtige Lösung wird ein Punkt vergeben, pro Abschnitt maximal 14 Punkte. Die Punkte beider Teile werden zusammengezählt und der Summenscore zur Auswertung genutzt. Der Test wird abgebrochen, wenn der Proband bei beiden Versuchen des Nachsprechens ein und derselben Zahlenreihe scheitert.

TMT Trailmaking Test (120)

- In diesem zweiteiligen Test werden Konzentration und motorische Geschwindigkeit getestet, im zweiten Teil muss zusätzlich zwischen zwei Bezugssystemen gewechselt werden, was der Domäne der Exekutivfunktionen zugeordnet ist.
- Erster Teil (Version A): auf einem A4-Blatt werden zufällig angeordnete Zahlen in der richtigen Reihenfolge mit einer Bleistiftlinie verbunden. Zweiter Teil (Version B): auf einem A4-Blatt werden jetzt abwechselnd Zahlen und Buchstaben in der richtige Reihenfolge mit einer Linie verbunden. Es kommt darauf an, dass die Aufgaben schnellstmöglich bearbeitet werden, die Zeit wird in Sekunden gemessen.
- Bestimmung der Lesezeit und Interferenz nach Normwerttabellen (Werte zwischen - 1 und 11).

VLMT Verbaler Lern- und Merkfähigkeitstest (121)

- Dieser Test quantifiziert das deklarative, verbale Gedächtnis mit Lernleistung, Supraspanne, langfristiger Entkodierungs- und Abrufleistung sowie das Wiedererkennen.
- Der Untersuchende liest eine Liste von 15 semantisch unabhängigen Worten in fünf Durchgängen, die vom Probanden gelernt bzw. nach jedem Durchgang reproduziert werden müssen. Als Interferenz wird dann eine zweite Wortliste gelernt. Im folgenden 6. Durchgang wird die erste Wortliste ohne vorheriges Wiederholen erneut abgefragt. Nach 30 Minuten Pause folgt Durchgang 7 mit einer letzten Abfrage der ersten Liste. Zum Abschluss werden weitere Worte vorgelesen, durch die der Proband die Worte der ersten Liste diskriminieren soll.
- Auswertung: Auswertungsparameter ist der Summenscore der erinnerten Worte pro Durchgang 1-5 (Lernleistung) und die Reproduktion nach der zeitlichen Verzögerung (Durchgang 7). Für beide Werte sind Cut-Off-Grenzen bekannt, wobei es sich um Bereiche jenseits der Standardabweichung in der Normverteilung handelt. Lernleistungs-Rohwerte von < 49 für Durchgang 1-5 und < 9 für Durchgang 7 werden als pathologisch bewertet.

CPT-IT Continuous Performance Test – Identical Pairs (122)

- Der computergestützte, zweiteilige Test bildet die verbale und nonverbale Vigilanz des Probanden ab.

- In den Testdurchläufen soll auf zwei identisch nacheinander angezeigte Stimuli reagiert werden. Im ersten Teil leuchten dazu 50 msec. lang 4-stellige Zahlen auf, beim zweiten Test geometrische Figuren. Die Reaktion wird durch das Loslassen der permanent gedrückten Maustaste übertragen. Von den 150 auftauchenden Reizen sind 30 Zielreize.
- Auswertung: Die CPT-Software bietet unterschiedliche Auswertungsscores an, wobei in dieser Studie der Deprime (Vigilanzmaß) angewendet wird, durch den die Fähigkeit des Probanden bewertet wird, Stimuli von Hintergrundrauschen zu unterscheiden. Dabei stellt Deprime die Distanz der Frequenzen der richtig erkannten Stimuli von den falschen Alarmen dar. Je höher die Deprimewerte sind, desto höher ist die Aufmerksamkeitskapazität des Probanden.

WCST Wisconsin Card Sorting Test (123)

- Auf dem Bildschirm liegen vier Stapel Karten, auf denen geometrische Formen in unterschiedlichen Formen, Anzahl und Farben gezeigt werden. Darunter erscheinen einzelne Karten, die einem der vier Stapel zugeordnet werden soll. Nach jeder Zuordnung wird dem Probanden gesagt, ob seine Zuordnung falsch oder richtig war. Der Proband soll das hinter den Zuordnungen stehende Ordnungssystem erkennen (zum Beispiel Zuordnung nach Farbe) und sein Vorgehen entsprechend anpassen. Während der Sitzung verändert sich das Ordnungssystem bzw. das Sortierprinzip sechs Mal ohne Ankündigung. Dies soll der Proband durch Veränderungen im Feedback bemerken und sein Verhalten wieder anpassen.
- Auswertung: Es kamen drei Auswertungsparameter zum Einsatz:
 - Categories Completed: Anzahl der Sortiersysteme, die der Proband 10 mal hintereinander richtig zugeordnet hat (0 bis max. 6 Punkte)
 - Percent Perversion Responses Score: Höhe des prozentualen Anteils an Perversionsantworten (wiederholtes Anwenden eines falschen Ordnungsprinzips)
 - Failure to Maintain Set: Anzahl von Durchgängen, nach denen der Proband nach fünf oder mehr richtigen Antworten einen Fehler macht (0 bis max. 6 Punkte)

LPS-3 Leistungsprüfsystem, Untertest 3 (124)

- Messung nonverbaler, fluider Intelligenz und abstrakter Denkfähigkeit
- Geometrische Zeichen, auf einem A4-Blatt in Zeilen und nach einem bestimmten

Prinzip geordnet. Ein Zeichen gehört nicht zu diesem Prinzip, dieses Zeichen soll markiert werden, wobei Zeile für Zeile vorgegangen wird.

- Auswertung: Richtig bearbeitete Zeilen (Rohwert), Bestimmung des altersbezogenen Intelligenzquotienten nach Normwerttabellen.

MWT-B Mehrfachwahl-Wortschatz-Intelligenztest (125)

(Subtest des Hamburger-Wechsler-Intelligenztests für Erwachsene (HAWIE))

- Quantifizierung verbaler und kristalliner Intelligenz.
- Jeweils 5 Worte in 37 Zeilen (A4 Blatt), 4 davon sind Neologismen, das richtige deutsche Wort soll markiert werden.
- Auswertung: Anzahl der richtig markierten Zeilen (Rohwert). Ermittlung des Intelligenzquotienten durch Vergleich mit Normwerten eines deutschen Kollektivs.

BLT Bilderlerntest (115)

(Teil der „Mnestischen Lerntestbatterie“ von Wolfram et al. 1986)

- Inhalt sind Merkfähigkeitsaufgaben in vier Merkfähigkeitsdimensionen (visuell, verbal-sprachlich, topografisch-räumlich und assoziativ). 4 Testungen: Bilder- und Wörterlerntest, Stadtplanlerntest und assoziativer Wortlerntest.
- Verwendet wurde in dieser Arbeit nur der Bilderlerntest. Der Proband soll sich 20 stilisierte Bilder von Alltagsgegenständen und Tieren (auf A4-Blatt) in drei Schritten einprägen. Das erste Mal wird das Blatt 60 sec., die nächsten beiden Male jeweils 30 sec. vorgelegt.
- Auswertung: Nach jedem Durchgang sollen so viele Bilder wie möglich erinnert werden, Reihenfolge ist egal. Auswertung der Anzahl der erinnerten Bilder (Rohwert). Die Leistungen des Probanden werden als Maß für seine Lernfähigkeit gewertet, zusätzlich nach dem ersten Durchgang als Maß für die Merkfähigkeit.

3.2 Experimenteller Teil

3.2.1 Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs)

Das humane Genom umfasst zwischen 20.000 und 25.000 Gene. Die Erbinformation ist als Basenpaarabfolge auf der zweisträngigen Desoxyribonukleinsäure (DNA) kodiert. Gene sind Abschnitte dieser Basensequenz, die für ein bestimmtes Protein kodieren. (126) Nur 0,1 Prozent der Erbanlage eines Menschen ist individuell ausgeprägt, 99,9 %

des Genoms sind bei allen Menschen identisch. SNPs sind die häufigsten genetischen Variationen. Lediglich jeder 500. bis 1000. DNA-Baustein des Individuums ist unterschiedlich, das heißt, an diesen Stellen ist eine Base des Genoms gegen eine andere ausgetauscht. Vermutlich kommen etwa drei bis sechs Millionen solcher Variationen im Erbgut vor. (127)

Die einzelnen Bausteine der DNA (Nukleotide) bestehen jeweils aus 2-Desoxyribose (Zucker), einem Phosphatrest und einer Base, wobei nur die Base im Nukleotid variabel ist (Adenin, Guanin, Cytosin oder Thymin). SNPs (single nucleotide polymorphism) sind dabei die raren variablen DNA-Bausteine, die sich an einem definierten Ort befinden und deren Base nicht bei jedem Menschen identisch ist. Die Variabilität des Genoms wird zu 90 Prozent durch SNPs bestimmt. Bei zwei Dritteln aller menschlichen SNPs findet ein Austausch von Cytosin mit Thymin statt. Evolutionär betrachtet ist ein SNP eine Punktmutation, die in mehr als einem Prozent der Individuen einer Population beschrieben ist. SNPs sind unterschiedlich verteilt, wobei es sehr variable und sehr konstante DNA-Abschnitte gibt. Der Großteil dieser Polymorphismen hat somit wahrscheinlich keinen Effekt auf die Zellfunktion. Liegen diese jedoch in regulatorischen Einheiten oder codierenden Regionen von Genen, können sie die Expression oder die Struktur eines Proteins beeinflussen, im Einzelfall mit der Folge, dass sie für gewisse Krankheiten prädisponieren. Auch können diese SNPs wichtige Kontrollelemente des Gens beeinflussen und damit das Ablesen eines Gens behindern oder beschleunigen. Viele SNPs liegen in unmittelbarer Nähe von Genen bzw. in den Introns, also denjenigen Bereichen eines Gens, die nicht in ein Genprodukt übersetzt werden. Sie werden meistens mit diesen Genen zusammen vererbt, wodurch sie für die Kartierung Bedeutung erlangen. (127)

3.2.2 SNP-Auswahl

Zuerst wurde auf den Internet-Seiten des „National Center for Biotechnology Information“¹⁵, der Universität von Kalifornien, Santa Cruz¹⁶ und bei Ensembl¹⁷ nach allen vorhandenen SNPs von Snapin recherchiert. Aus dieser Vielzahl wurde nach bestimmten Kriterien selektiert: Die SNPs sollten in etwa gleichen physikalischen und genetischen Abständen über das Gen verteilt sein sowie möglichst innerhalb von

¹⁵ NCBI: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>

¹⁶ UCSC Genome Browser: <http://genome.ucsc.edu>

¹⁷ Ensembl: <http://www.ensembl.org>

Exons, regulatorischen Einheiten oder Splicing-Abschnitten liegen. Das Auftreten der Alternativbasen sollte innerhalb der Population etwa zwischen 30 und 70% liegen, um ausreichend große Gruppen für die verschiedenen Allelausprägungen zu erhalten. Auch die Validierung der SNPs sollte durch vorangegangene etablierte Methoden bestätigt sein. Für jeden SNP wurde anschließend über den Genome Browser der Universität von Kalifornien, Santa Cruz die entsprechende genomische Sequenz ermittelt, um mittels BLAST-Algorithmus von NCBI beide Sequenzen zu vergleichen und auf Vollständigkeit zu überprüfen. Die rs¹⁸ Nummer ist eine Identifikationsnummer, die von Forschern und Datenbanken verwendet wird, um sich auf bestimmte SNPs zu beziehen.

Die folgende Tabelle 10 zeigt alle untersuchten SNPs des Snapin-Gens mit der entsprechenden Chromosomenposition, Lokalisation innerhalb des Gens und dem MAF-Wert (Minor Allele Frequency) sowie Allelvarianten.

SNP	Chromosomenposition	Intron/Exon ggf. synonym/nicht synonym	MAF = Minor Allele Frequenz	Allele
rs12139953	153629755	5'near gene	0,485	A/G
rs7345	153634058	3'UTR	0,340	A/C
rs12742546	1536633128	Intron	0,420	A/G

Tabelle 10: Untersuchte SNPs des Snapin-Gens

3.2.3 Ablauf der experimentellen Arbeit

3.2.3.1 DNA-Extraktion

Von allen Studienteilnehmern wurde Blut venös entnommen. Die Proben wurden kodiert, um Anonymität zu gewährleisten und bei - 20°C konserviert. Zur Extraktion der genomischen DNA wurde ein Kit der Firma Qiagen gemäß der gegebenen Anleitung verwendet. Nach Auftauen des tiefgefrorenen EDTA-Blutes bei Raumtemperatur wurden 8 ml Blut in ein 50 ml Zentrifugenröhrchen, in dem sich 15 ml Lyse-Puffer (FG1) befanden, gegeben. Die gesamte Mischung wurde fünfmal geschwenkt und anschließend mit der „Hettich-Zentrifuge“ für 8 min bei 5000 Umdrehungen zentrifugiert. Anschließend wurde der rote Überstand abgetrennt und verworfen und der Lyseschritt

¹⁸ rs = reference SNP (ID number)

mit 5 ml Lyse Puffer (FG1) und einer Zentrifugation (5 min bei 5000 Umdrehungen) wiederholt. Der Überstand wurde abgetrennt und verworfen.

Dem schloss sich eine erneute Wiederholung des Lyseschrittes (3 ml Lyse Puffer und Zentrifugation für 3 min bei 5000 Umdrehungen) an. Daraufhin wurde der Überstand noch einmal abgetrennt und verworfen.

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

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

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

3.2.3.2 Polymerase Chain Reaction (PCR)

Durch die 1983 von Kary Mullis entwickelte und heute in der Molekularbiologie sehr häufig verwendete Polymerase-Kettenreaktion (PCR¹⁹) können spezifische DNA-Abschnitte millionenfach vervielfältigt werden.

Da die zu analysierende Gensequenz in einer Blutprobe nur in einer sehr geringen Menge (jeweils zwei Kopien einer bestimmten Gensequenz) vorhanden ist, ermöglicht das PCR-Verfahren, Analysen die eine große Zahl an DNA-Sequenzen erfordern. Zugleich werden durch die PCR die zu analysierenden Sequenzen von den nicht zu analysierenden getrennt. (128)

Eine PCR durchläuft 35 Zyklen, jeder Zyklus hat drei Stufen. In jedem Zyklus verdoppeln sich die kopierten Moleküle. Theoretisch vervielfältigen sich die DNA-Sequenzen pro Zyklus um den Faktor 2^{35} , in der Praxis sind die Amplifikationsraten etwas niedriger. Abbildung 10 zeigt den Ablauf einer PCR:

¹⁹ PCR = Polymerase Chain Reaction

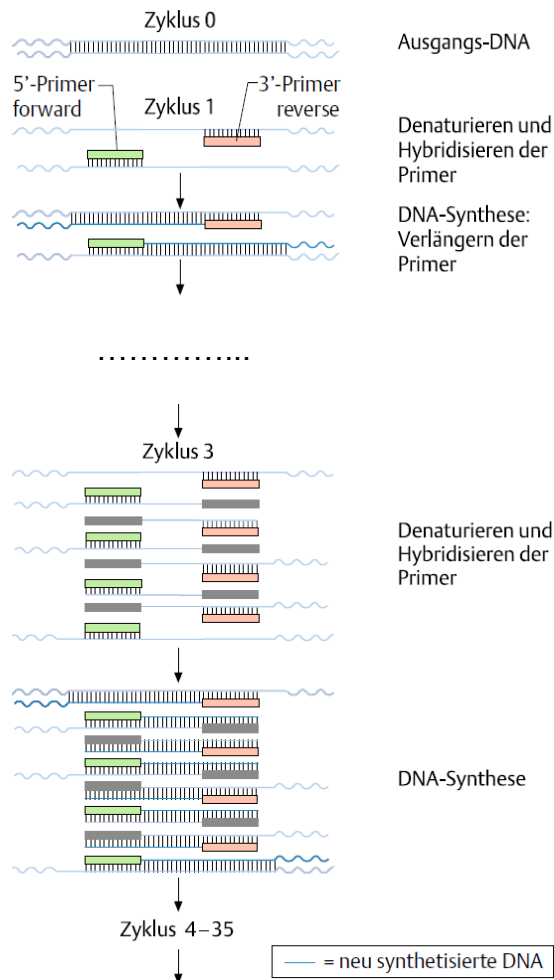


Abbildung 10: Verlauf der PCR mit exponentiellen Amplifizierungsraten

Quelle: (128)

Die synthetische Herstellung der Primer (Oligonukleotide) setzt voraus, dass nur bekannte DNA-Sequenzen verwendet werden. Die Durchführung der Zyklen erfolgt in speziellen für die PCR entwickelten Thermocyclern. Die erste Stufe des Zyklus ist die thermische Denaturierung (Erhitzung auf 94 bis 96° C), durch die der DNA-Doppelstrang in zwei komplementäre Einzelstränge getrennt wird. (128)

Nach der Senkung der Temperatur auf 55 bis 65° C binden zwei spezifische Primer an ihre komplementären Zielsequenzen, die aus 15 bis 30 Oligonukleotiden bestehen, an die DNA-Einzelstränge (Annealing). Jeweils an einem der beiden komplementären DNA-Strängen hybridisieren (Stufe 2) ein Forward- und ein Reverse-Primer, deren 3'-Enden die Sequenz einklammern, die amplifiziert wird (vgl. Abbildung 10, Zyklus 1).

In 35 Zyklen wird die Zielsequenz, ausgehend vom 3'-Ende des Primers, zwischen den Primern millionenfach amplifiziert. Ein Zyklus dauert zwischen einer und zwei Minuten, so dass der gesamte Amplifizierungsprozess etwa ein bis zwei Stunden in Anspruch nimmt. Die ideale Temperatur liegt bei 72° C. (128)

3.2.3.3 Auswahl der Primer

Primer sind artifiziell hergestellte kurze Nukleotid-Sequenzen, die sich komplementär an Einzelstränge der DNA anlagern und damit die Doppelstrangbindungsstelle der Taq-Polymerase bilden. Welcher Abschnitt der DNA reproduziert werden soll, definieren die Primer. Sie ermöglichen so die Vervielfältigung eines Teilstückes der DNA, in dem der zu untersuchende SNP liegt.

Die Primersequenzen für die genomischen Areale der oben genannten SNPs wurden nach folgenden Kriterien ausgewählt:

- Größe des Primer ca. 18 bis 22 bp²⁰
- Differenz der Schmelztemperatur zwischen Forward- und Reward-Primer max. 4°C
- Die Primerpaare dürfen an ihren 3'-Enden weder inter- noch intramolekular komplementär sein, um die Bildung von Primerdimeren zu verhindern
- Anfang und Ende mit C bzw. G, 60% Anteil von C und G, möglichst keine Tripletts
- Theoretische Schmelztemperatur zwischen 56-74°C

Bis zur weiteren Verarbeitung lagerten die Primer im Gefrierschrank bei -20°C.

3.2.3.4 Restriktionsenzymverdau

Restriktionsenzyme erkennen und schneiden DNA an spezifischen Schnittstellen. Anhand der Sequenz der DNA, die mit einem Restriktionsenzym verdaut wird, kann die Länge und die Anzahl der aus dem Template entstehenden Fragmente vorhergesagt werden. Hierzu wurden die entsprechenden Enzyme mittels NEBcutter²¹ bestimmt.

Die PCR-Produkte wurden mit dem Master-Mix für den Verdau inkubiert. Das Vorliegen unterschiedlicher DNA-Fragmente nach Verdau durch Restriktionsenzyme wird als Restriktionslängenpolymorphismus bezeichnet. Die vervielfältigte und geschnittene DNA kann im nächsten Schritt durch eine Agaroseelektrophorese untersucht werden.

²⁰ bp = base pair(s)

²¹ NEBcutter <http://tools.neb.com/NEBcutter2/index.php>

Die Fragmente wandern abhängig von ihrer Größe unterschiedlich schnell durch die netzähnlichen Polysaccharidstrukturen des Agarosegels und werden anschließend im Färbebad sichtbar gemacht.

SNP	Enzym	Inkubations-temperatur	Hersteller	Puffer
rs12139953	HpY 188III	37° C	New England Biolabs	NEB Buffer 4
rs7345	BsaAI	37° C	New England Biolabs	NEB Buffer 4
rs12742546	Acil	37° C	New England Biolabs	NEB Buffer 4

Tabelle 11: Restriktionsenzyme für den Verdau

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

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

Es erfolgte die Inkubation bei der angegebenen Inkubationstemperatur des Herstellers für 16 Stunden. Nach Zugabe von 10µl Laufpuffer zu 10µl des Verdau erfolgten die Elektrophorese auf einem 3-prozentigem Agarose-Gel (9g SERVA Agarose und 300ml 1 x TBE) für 60-80 min bei 100-130 V und die einstündige Lagerung im Färbebad. Mit dem Gelbetrachtungssystem erfolgte die Auswertung der entstandenen DNA-Banden.

SNP/Restriktionsenzym	Homozygot 1	Heterozygot	Homozygot 2
rs12139953/HpY188III Genotyp	187bp A/A	68bp/119bp/187bp A/G	68bp/119bp G/G
rs7345/ BsaAI Genotyp	452bp A/A	172bp/280bp/452bp A/C	172bp/280bp C/C
rs12742546/Acil Genotyp	430bp A/A	170bp/260bp/430bp A/G	170bp/260bp G/G

Tabelle 12: Bandenmuster nach Restriktionsenzymverdau und Aufteilung der Genotypen

3.2.3.5 Agarosegel-Elektrophorese

Für die Vorbereitung einer Agarosegel-Elektrophorese wurde zuerst eine Gelplatte mit Probenfächer hergestellt. Das 2%-ige Agarosegel bestand aus 4g SERVA Agarose und 200 ml TBE-Puffer, welches zuerst mittels Magnetrührer vermischt und in der

Mikrowelle erhitzt wurde. Danach wurde es auf einem Gelträger ausgegossen und mit Gelkämmen zur Taschen-Platzierung versehen.

Für die Durchführung einer Elektrophorese wurden 10 µl der PCR-Produkte mit 10 µl des Ladepuffers (0,25% Bromphenolblau; 15% Ficoll in 100 ml 10 x TBE) auf eine Mikrotiterplatte aufgetragen und danach für 1 min zentrifugiert. Anschließend wurde jede Probe (10 µl) in eine Geltasche auf dem Agarosegel aufgetragen. Bei jedem Lauf wurde neben den Proben 3 µl einer 50 bp DNA-Leiter als Größenstandard aufgetragen. Die Elektrophorese erfolgte in einer mit 1 x TBE gefüllten Gelkammer (Maxilarge von Roth) bei 120 V, 170 mA für 30-60 min. Aufgrund ihrer negativen Ladung wandern die DNA-Fragmente innerhalb dieses elektrischen Feldes abhängig von ihrer Größe unterschiedlich schnell durch die netzähnlichen Polysaccharidstrukturen des Agarosegels zu der positiven Elektrode.

3.3 Statistische Auswertung

Die Arbeit gliederte sich in zwei Haupthypothesen: Zum einen wurde der Zusammenhang bestimmter SNPs mit dem Auftreten einer Schizophrenie untersucht. Zum anderen wurde der Zusammenhang der Negativsymptomatik mit der kognitiven Leistungsfähigkeit im Patientenkollektiv evaluiert. Bei allen Signifikanztests wurde ein α -Fehlerniveau von $\leq 5\%$ zu Grunde gelegt

Die erste Hypothese wurde mit dem χ^2 -Test und Odds Ratios als Effektstärken getestet. Odds Ratios drücken die Veränderung des relativen Risikos aus, an der Erkrankung zu leiden, wenn ein bestimmter SNP vorliegt, Werte von 1 geben dabei an, dass kein Effekt vorliegt, Werte abweichend von 1 einen zunehmend stärkeren Effekt in die eine oder andere Richtung.

Für die zweite Hypothese wurden zuerst mittels Faktorenanalysen die zahlreichen Maße für Negativsymptomatik und getrennt davon die kognitiven Tests auf eine kleinere Zahl allgemeiner Faktoren reduziert, um die statistischen Analysen handhabbar zu machen. Dabei wurde zuerst die Zahl sinnvoller Faktoren bestimmt. Da sich bei den kognitiven Tests mehrere Möglichkeiten darstellten, wurde hierbei schließlich einmal mit einem allgemeinen Faktor (Globalfaktor) kognitiver Leistungsfähigkeit gerechnet und einmal mit drei Facetten (Faktoren). Anschließend wurden Maximum-Likelihood-Faktorenanalysen berechnet.

Die sich ergebenden Faktoren wurden schließlich untereinander sowie mit den demografischen Variablen und anderen klinischen Maßen korreliert, wobei in den meisten Fällen die Pearson-Korrelation r zum Einsatz kam. Im Falle von Geschlecht wurde die punktbiseriale Korrelation verwendet, deren Signifikanztest einem gewöhnlichen t -Test für unabhängige Stichproben entspricht. In einem Fall wurde weiterhin eine multiple Regression verwendet, um die komplexeren Zusammenhänge von Negativsymptomatik, kognitiver Leistungsfähigkeit, Bildung und dem GAF zu erschließen. Bei diesem Verfahren kontrollieren sich die Zusammenhänge einer Menge Prädiktoren (Vorhersagende Variablen) gegenseitig, womit die wichtigsten unter den Prädiktoren ermittelt werden können. Die Betrachtung der bivariaten Zusammenhänge mittels Pearson-Korrelation alleine reicht dafür nicht aus, da diese den Einfluss dritter Variablen unberücksichtigt lassen. Als wichtigste Effektstärke der multiplen Regression gilt das standardisierte Gewicht β , als Signifikanztest ein t -Test.

In einem letzten Schritt wurde auch die Abhängigkeit der Negativsymptomatik bzw. der kognitiven Leistungsfähigkeiten von dem Vorliegen der untersuchten SNPs betrachtet. Da für die SNPs jeweils drei Ausprägungen (Homozygot Allel 1, 2 oder Heterozygot) möglich waren, wurde hierfür eine Varianzanalyse bzw. ein F -Test notwendig. Dieser prüft, ob die Varianz zwischen Gruppen (hier die drei Ausprägungen) größer ist als die Varianz innerhalb der Gruppen. Ist dies der Fall, liegt möglicherweise ein signifikanter Effekt vor.

Bezüglich der statistischen Voraussetzungen für die verwendeten Tests wie Normalverteilung und Homoskedastizität wurde nach Bortz und Schuster nach Inspektion der Verteilungen und den vorliegenden nur geringen Abweichungen von der Robustheit der Verfahren ausgegangen. (129)

3.4 Zubehör

Gerät	Typ	Hersteller
Statistiksoftware	SPSS 19.0	Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, 2009
Microsoft Word	Word 2011	Windows Office Student Version 2011, Microsoft
Microsoft Excel	Excel 2011	Windows Office Student Version 2011, Microsoft

Tabelle 13: Auswertungssoftware

Gerät	Typ	Hersteller
Inkubator	Thermocenter Salvis Lab	Salvis Lab, Schweiz
Waage	OWA Labor	OWA Labor, Deutschland
Zentrifuge	Laboratorian Medical Centrifuge	Lab 4 you, Geesthacht
Mikrozentrifuge	Centrifuge 5415 C	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Hamburg
Thermocycler	Mastercycler Gradient Thermo 2720 Cycler	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Hamburg Applied Biosystems, Kalifornien, USA
Kühlschrank	Economic (-20°C)	Bosch, München
Pipetten		Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Hamburg
Gelkammer	Maxi Large 480000	Harnischmacher
Spannungsquelle	Elite 300	Wealtec, Johannesburg, Südafrika
Gelbetrachtungssystem	Gel Imager U5S-20M-8E	Intas, Gel Imager, Göttingen, Deutschland
Mikrowelle	Bosch	Bosch, München, Deutschland
Vortexer	Combispin	G-Kisker, Steinfurth, Deutschland
Wippschüttler	Unitwist RT	G-Kisker, Steinfurth Deutschland

Tabelle 14: Verwendete Geräte

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

Tabelle 15: Verwendete Chemikalien

4 Ergebnisse

4.1 Demografische Daten

Insgesamt wurde von 200 Versuchspersonen das genetische Material untersucht. Wie aus Tabelle 16 ersichtlich, nahmen mehr Männer (74%) als Frauen (26%) teil. Außerdem sind Frauen in der nicht erkrankten Kontrollgruppe etwas weniger häufig vertreten ($\chi^2 = 3.96$; $df = 1$; $p = .047$). Im Alter unterscheiden sich beide Gruppen nicht ($t = 0.833$; $df = 192$; $p = .406$), wobei für sechs Probanden keine Altersangabe vorlag (vgl. Tabelle 16, Abbildung 11).

Diagnose	Geschlecht						Alter				
	Insgesamt		weiblich		männlich		MW	Mdn	SD	Min	Max
	Anzahl	%	Anzahl	%	Anzahl	%					
Gesund	81	40.5	15	7.5	66	33.0	38.5	39.0	9.9	22	59
Krank	119	59.5	37	18.5	82	41.0	37.2	36.0	11.3	20	70
Gesamt	200	100	52	26.0	148	74.0	37.7	37.5	10.7	20	70

Tabelle 16: Deskriptive Statistik der Geschlechts- und Altersverteilung in beiden Kollektiven

MW = Mittelwert, Mdn = Median, SD = Standard Deviation, Min= Minimum, Max = Maximum

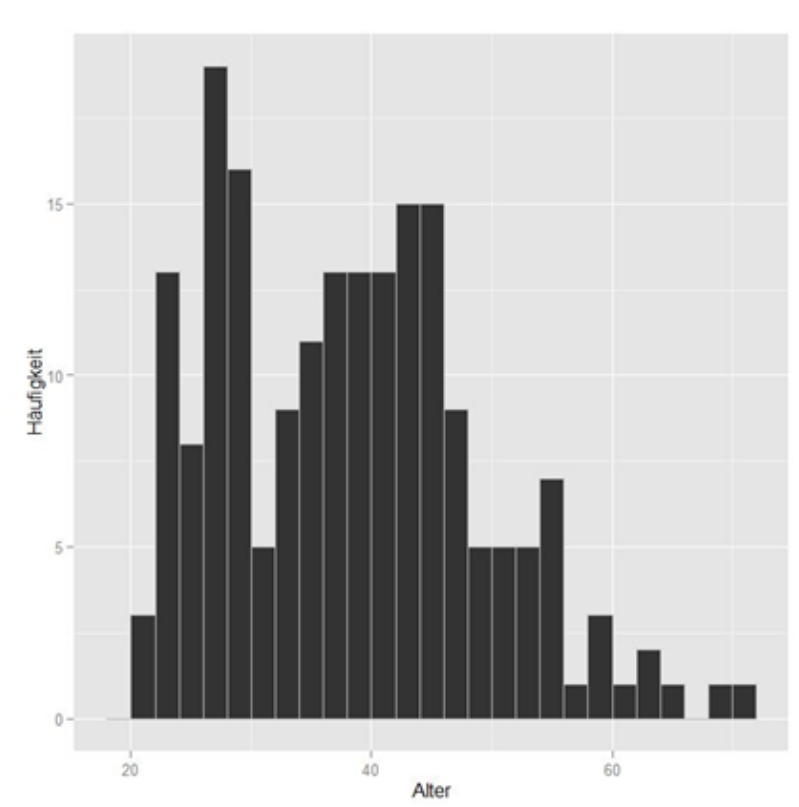


Abbildung 11: Altersverteilung in beiden Kollektiven

Jeweils ein knappes Drittel der Probanden mit schizophrener Erkrankung gaben in der Familienanamnese entweder Verwandte mit schizophrener Störung (31%) oder Verwandte mit anderen psychiatrischen Störungen an (33%).

Die Auswertung des beruflichen Bildungsstatus des Patientenkollektivs zeigte, dass etwas mehr als ein Viertel (27,7%) der Patienten ein Studium erfolgreich absolviert hat bzw. aktuell studiert und rund 40 Prozent (41,2%) eine Ausbildung durchlaufen haben bzw. sich aktuell in einer Ausbildung befinden. Fast ein Drittel (31,1%) der Patienten hat keine Berufsausbildung absolviert oder hat eine Ausbildung bzw. ein Studium abgebrochen (vgl. Abbildung 12).

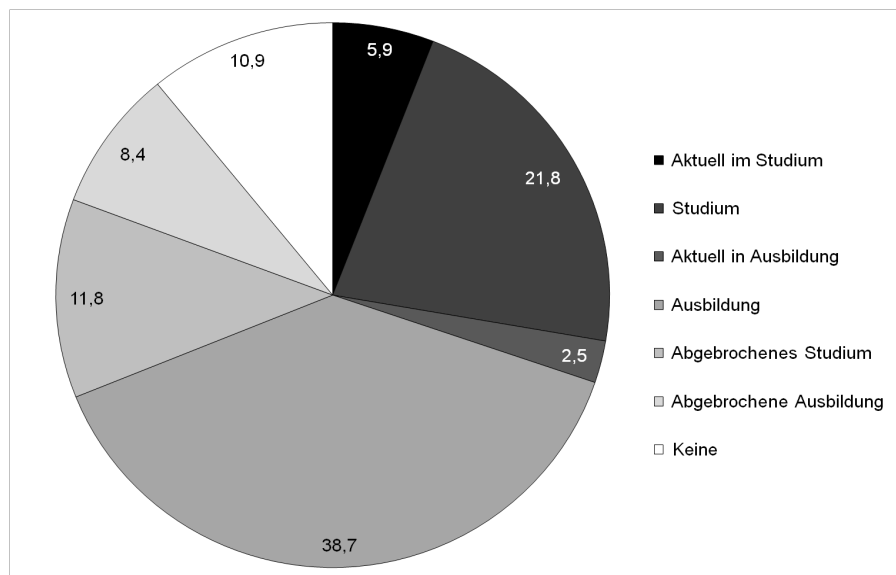


Abbildung 12: Berufsausbildung der Patienten

Die Art der hauptsächlichen Finanzierung des Lebensunterhaltes ist in Abb. 13 dargestellt. Rund ein Viertel (25,2%) der Patienten ist berentet, knapp ein Drittel (32,8%) erhält finanzielle Unterstützung für Arbeitslose.

Weniger als ein Drittel (29,4%) der Patienten geht einer bezahlten Beschäftigung nach und bestreitet damit den Lebensunterhalt, wobei hiervon die eine Hälfte geringbeschäftigt und die andere Hälfte vollbeschäftigt ist. Die übrigen 12,6% lassen sich keiner der vorgegebenen Kategorien eindeutig zuordnen und beziehen Einkünfte aus mehreren der zuvor genannten bzw. aus sonstigen Quellen.

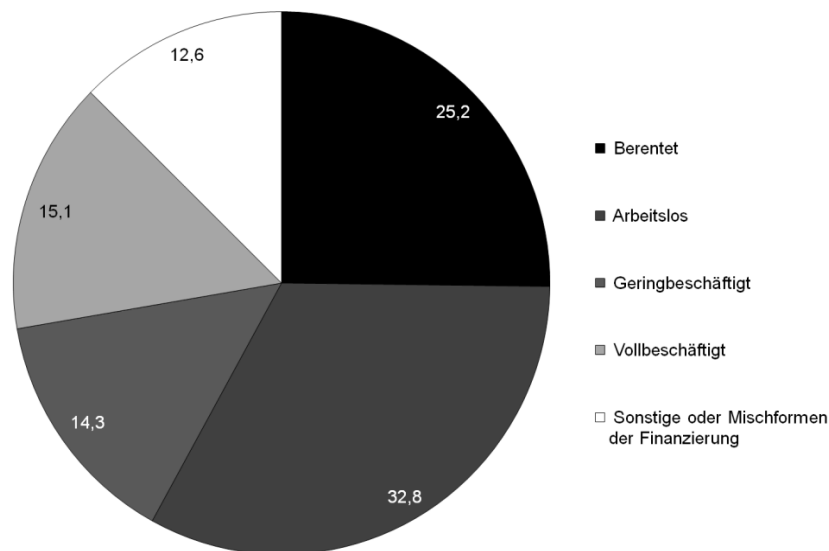


Abbildung 13: Finanzielle Lebensgrundlagen der Patienten

Zur genaueren Beschreibung der Patientenstichprobe sind die Ergebnisse der psychometrischen Messungen in Tabelle 17 wiedergegeben.

Test	N	Min	Max	MW	SD
PANSS Gesamtscore	118	30	91	55.09	14.53
SANS Gesamtscore	118	0	87	36.22	19.37
NSA-16 Gesamtscore	119	1	5	2.71	0.90
HAMD Gesamtscore	117	0	33	10.28	7.07
BDI Gesamtscore	115	0	45	10.30	7.86
Angstfragebogen	116	0	54	9.62	9.93
IQ nach LPS-3	115	61	140	103.27	18.32
IQ nach MWT-B	116	79	145	109.07	15.49
Digit Span vorwärts	118	2	12	8.26	2.15
Digit Span rückwärts	118	3	24	14.75	3.80
Trailmakingtest A (sec.)	119	11	96	32.41	14.64
Trailmakingtest B (sec.)	119	31	300	87.47	47.22
RWT „Tiere“	118	2	40	19.92	7.17
RWT „S-Wörter“	118	4	32	16,81	5,57
Stroop „Lesezeit“	118	-1	11	7,03	2,68
Stroop „Interferenz“	118	-1	11	4,05	2,57
VLMT- 2 Durchgang 1	118	1	10	5.70	1.85
VLMT-2 Durchgang 5	117	4	15	11.11	2.66
WCST Durchgänge	115	70	128	102.03	22.34
WCST Fehler %	115	7	74	26.56	15.45

Tabelle 17: Deskriptive Statistik der psychometrischen Maße

Um die Symptomatik der Patienten genauer zu fassen, wurde auf den PANSS die Subtypeneinteilung nach Singh, Kay und Opler angewendet. (105) Nach dieser Einteilung sind in der vorliegenden Stichprobe 31.4% als Negativ-Subtyp (PANSS Plus-Minus-Score < - 8) und lediglich 1.7% als Positiv-Subtyp (PANSS Plus-Minus-Score > 3) zu charakterisieren, was sich v.a. durch die Tatsache erklärt, dass nur psychiatrisch stabile, möglichst optimal behandelte Patienten in die Studie eingeschlossen wurden.

4.2 Interferenzstatistik

4.2.1 Populationsunterschiede in der Allelverteilung der SNPs

In die Berechnungen zum SNP *rs12139953* gingen n = 194 Fälle ein. Bei sechs Probanden, das heißt jeweils drei aus beiden Kollektiven, konnte kein PCR-Amplifikat gewonnen werden.

		Homozygot Allel 1	Heterozygot	Homozygot Allel 2	Gesamt
Gruppe gesund	Anzahl	16	42	20	78
	Erwartet	14.9	41.0	22.1	
	Prozentsatz	21%	54%	26%	100%
Gruppe krank	Anzahl	21	60	35	116
	Erwartet	22.1	61.0	32.9	
	Prozentsatz	18%	52%	30%	100%
Insgesamt	Anzahl	37	102	55	194
	Prozentsatz	19%	53%	28%	100%

Tabelle 18: Chi-Quadrat-Test rs12139953

Für diesen SNP ließ sich keine unterschiedliche Verteilung der Allele für die beiden untersuchten Populationen feststellen ($\chi^2 = 0.52$, $df = 2$, $p = .771$). Zusätzlich wurden die Unterschiede bzw. Effekte als Odds Ratios (OR) berechnet. Hierbei ergaben sich für den Vergleich des homozygoten Allel 1 und Heterozygotie ein OR = 1.09. Dies bedeutet, dass der Polymorphismus bei der Vergleichsstichprobe mit 1.09-fach erhöhtem Risiko als Homozygot Allel 1 auftritt. Bei Vergleich von Heterozygotie und dem homozygoten Allel 2 betrug die OR = 1.23, für den Vergleich der beiden homozygoten Allele ergab sich OR = 1.33. Insgesamt war es deshalb für die Gruppe der Schizophrenen am wahrscheinlichsten, dass der Polymorphismus als Homozygot Allel 2 vorlag, für die Vergleichsstichprobe hingegen als Allel 1. Diese Effekte sind

jedoch zu schwach, um statistisch signifikant zu sein und stellen daher keine Unterschiede in der Population dar. Für den SNP rs12139953 läßt sich daher kein genetischer Unterschied in den beiden Populationen feststellen.

Auch beim SNP rs7345 ließ sich keine signifikant unterschiedliche Verteilung der Polymorphismen für die beiden untersuchten Populationen finden ($\chi^2 = 0.33$, $df = 2$, $p = .849$). Bei diesem Test konnte bei vier Probanden, das heißt bei einem aus der Patientenstichprobe und drei aus der Vergleichsstichprobe, kein PCR-Amplifikat gewonnen werden, so dass sie nicht berücksichtigt werden konnten.

Die Odds Ratios zeigten nur schwache Effekte in der Art auf, dass der Polymorphismus bei der Gruppe der Schizophrenen eher als Homozygot Allel 1 ausgeprägt war. Es ergaben sich für den Vergleich des homozygoten Allel 1 und Heterozygotie ein OR = 0.84, für Heterozygotie und dem homozygoten Allel 2 OR = 0.81 sowie für den Vergleich der beiden homozygoten Allele OR = 0.96. Wie bereits beschrieben, sind diese Effekte jedoch zu schwach, um statistische Signifikanz zu erreichen und stellen daher keine Unterschiede in der Population dar. Der SNP rs7345 zeigt daher keinen Unterschied in der Allelverteilung innerhalb der beiden Populationen.

		Homozygot Allel 1	Heterozygot	Homozygot Allel 2	Gesamt
Gruppe gesund	Anzahl	19	39	20	78
	Erwartet	20.7	38.2	19.1	
	Prozentsatz	24.4%	50.0%	25.6%	100%
Gruppe krank	Anzahl	33	57	28	118
	Erwartet	31.3	57.8	28.9	
	Prozentsatz	28.0%	48.3%	23.7%	100%
Insgesamt	Anzahl	52	96	48	196
	Prozentsatz	26.5%	49.0%	24.5%	100%

Tabelle 19: Chi-Quadrat Test rs7345

Die im Vergleich deutlichsten Unterschiede in der Gesamtstichprobe waren bei SNP rs12742546 zu beobachten. Jedoch sind auch diese Effekte nicht signifikant ($\chi^2 = 4.37$; $df = 2$, $p = .113$). Die Odds Ratios weisen hier deutlichere Effekte in der Art auf, dass der Polymorphismus bei der Gruppe der Schizophrenen eher als homozygotes Allel 1 aufzufinden war. Es ergaben sich für den Vergleich des homozygoten Allels 1 und Heterozygotie ein OR = 0.40. Für die Probanden der Vergleichsstichprobe war somit das Risiko für das homozygote Allel 1 um das 0.4-fache erhöht. Einfacher ausgedrückt

entspricht dieser Effekt einer Verringerung der Wahrscheinlichkeit für das homozygote Allel 1 um das 2.5-fache ($1/0.4 = 2.5$).

Beim Vergleich der Heterozygotie und des homozygoten Allels 2 ergab sich eine OR = 1.26 und für den Vergleich der beiden homozygoten Allele eine OR = 0.50. Bei der Vergleichsstichprobe lag der Polymorphismus also am häufigsten heterozygot vor. Wie bereits beschrieben, sind diese Effekte jedoch zu schwach, um statistische Signifikanz zu erreichen und stellen daher keine Unterschiede in der Population dar.

Auch für den SNP rs12742546 läßt sich daher kein Unterschied für die Allelverteilung in den beiden Populationen aufzeigen.

		Homozygot Allel 1	Heterozygot	Homozygot Allel 2	Gesamt
Gruppe gesund	Anzahl	8	46	23	77
	Erwartet	13.0	40.7	23.3	
	Prozentsatz	10.4%	59.7%	29.9%	100%
Gruppe krank	Anzahl	25	57	36	118
	Erwartet	20.0	62.3	35.7	
	Prozentsatz	21.2%	48.3%	30.5%	100%
Insgesamt	Anzahl	33	103	59	195
	Prozentsatz	16.9%	52.8%	30.3%	100%

Tabelle 20: Chi-Quadrat Test rs12742546

4.2.2 SNPs und psychometrische Maße

In einem weiteren Schritt wurde untersucht, ob sich die Ausprägung der Negativsymptomatik des Patientenkollektivs mit den SNPs des Snapin-Gens verändert. Neben der Negativsymptomatik wurden als Gegenstück auch die kognitiven Fähigkeiten betrachtet. Diese Analysen wurden nur mit den Daten der 119 Schizophreniepatienten durchgeführt.

Als statistisches Verfahren für die Hypothesentests wurde die Varianzanalyse gewählt. Da mehrere psychometrische Maße für die Negativsymptomatik sowie ebenfalls eine Vielzahl von Maßen für die kognitiven Fähigkeiten verwendet wurden, mussten diese Werte zuerst aggregiert werden. Die Verwendung einzelner Werte für eine dann entsprechend sehr große Zahl von Varianzanalysen würde durch multiples Testen zu nicht vertrauenswürdigen Signifikanzniveaus führen, da bei vielen Einzeltests Unterschiede auch per Zufall „signifikant“ werden können. Die Aggregation der Werte

wurde mittels einer Maximum-Likelihood-Faktorenanalyse durchgeführt, die den Globalfaktor „Negativsymptomatik“ aus den Gesamtscores der Verfahren PANSS (Ladung $\lambda=.524$), SANS ($\lambda=.904$) und NSA ($\lambda=.759$) extrahierte. Dieser Faktor entsprach 68.3% der ursprünglichen Varianz. Zur Bestimmung der kognitiven Fähigkeiten lagen die Messungen des Stroop-Interferenztests, der Intelligenz nach LPS-3 und MWT-B, der RWT, die Digit Span vorwärts und rückwärts, der Trailmakingtest, der VLMT und der WCST vor. Auch hier wurde die Faktorenanalyse gewählt, um zum einen die unterschiedlichen Metriken der Verfahren in eine einzige Metrik zu überführen. Zum anderen kann auf diese Weise auch berücksichtigt werden, dass die Messverfahren den zu beschreibenden Faktor nicht perfekt messen, also einen Messfehler aufweisen. Aufgrund der größeren Zahl an einfließenden Tests (verglichen mit der Negativsymptomatik) war die Bestimmung der Anzahl notwendiger Faktoren komplexer. Während der MAP-Test ebenfalls nur einen gemeinsamen Faktor hinter allen Maßen vorschlug, ergab die Parallelanalyse drei Faktoren. (130) Der in Abbildung 14 dargestellte Screeplot verdeutlicht ebenfalls, dass ein einzelner Faktor deutlich mehr Erklärungswert als die sich anschließenden hatte, der Abfall der Kurve jedoch nicht als sehr stark zu betrachten ist. (130) Es wurde daher entschieden, zwei Möglichkeiten gegenüber zu stellen: Eine einfaktorielle und eine dreifaktorielle Lösung.

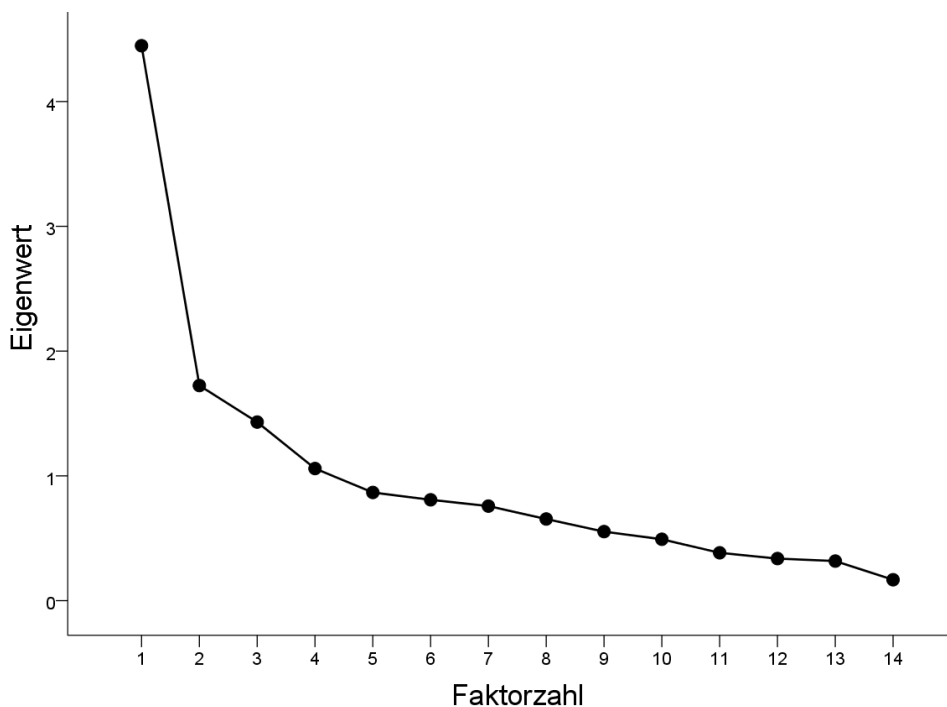


Abbildung 14: Screeplot der Faktorenanalyse für die kognitiven Fähigkeiten

Die einfaktorielle Lösung berücksichtigte 31.8% der ursprünglichen Varianz. Wie in Tabelle 21 zu sehen, waren die Parameter des WCST die stärksten Bestandteile eines gemeinsamen Faktors "Kognitive Fähigkeiten".

Die drei Faktoren wurden nach ihren höchsten Ladungen benannt, wonach sich ein Faktor für fluide Intelligenz (WCST und LPS3), ein Faktor für Verarbeitungsgeschwindigkeit (Strooptest, RWT, TMT und VLMT) und ein Faktor bezüglich des Gedächtnisses ergab (Digit Span und MWT-B). Alle drei erklärten gemeinsam 54.3% der Varianz aller Tests. Es wurde davon ausgegangen, dass diese Faktoren nicht unabhängig voneinander sein können, sondern alle Ausdruck einer übergeordneten Fähigkeit wie Intelligenz sind. Daher wurde eine Rotationstechnik gewählt (Promax), die Korrelationen zwischen den Faktoren erlaubt. (130) Diese Korrelationen waren erwartungsgemäß hoch und signifikant ($r_{12} = .45$, $r_{13} = .46$, $r_{23} = .41$).

		Globalfaktor	Faktoren		
Test		Kognitive Fähigkeiten	1 Fluide Intelligenz	2 Verarbeitungs- geschwindigkeit	3 Gedächtnis
Stroop	Lesezeit	.075		.532	
	Interferenztest	.106		.310	.271
LPS 3	IQ -Wert	.181	.332		.371
MWT-B	Rohwert	.036			.286
RWT	"S" Rohwert	.186		.639	
	"Tiere" Rohwert	.189		.600	
Digit Span	Vorwärts Rohwert	.110			.676
	Rückwärts Rohwert	.194			.791
TMT	A Rohwert	-.201		-.726	
	B Rohwert	-.248	-.362	-.293	
VLMT	Durchgang 1	.080		.384	
	Durchgang 5	.192		.462	
WCST	Durchgänge	-.464	-.943		
	Prozentualer Fehler	-.505	-.950		

Anmerkungen: Bei der Dreifaktoriellen Lösung wurde Promax-rotiert. Geringe Nebenladungen werden nicht dargestellt.

Tabelle 21: Ladungen der Faktorenanalysen zu den kognitiven Fähigkeiten

Die berechneten Faktoren „Negativsymptomatik“ ($n = 116$ durch teilweise unvollständige Daten) und für kognitive Fähigkeiten ($n = 110$) wurden als Faktorwerte im Datensatz gespeichert. Sie korrelierten wie erwartet negativ miteinander (siehe Tabelle 22). Je höher also die Negativsymptomatik ausgeprägt war, desto niedriger waren die gemessenen kognitiven Fähigkeiten. Werden die drei Faktoren der kognitiven Fähigkeiten separat betrachtet, zeigt sich jedoch ein differentielles Bild: der Faktor Verarbeitungsgeschwindigkeit zeigt den stärksten Zusammenhang, während der Faktor Gedächtnis deutlich schwächer korreliert. Werden außerdem die einzelnen Bestandteile der Negativsymptomatik einzeln berücksichtigt, zeigt der PANSS keine signifikanten Zusammenhänge. Nur SANS und NSA-16 korrelieren signifikant negativ mit den kognitiven Fähigkeiten.

	<i>N</i>	Kognitive Fähigkeiten	Faktor Fluide Intelligenz	Faktor Verarbeitungsgeschwindigkeit	Faktor Gedächtnis
Negativ-symptomatik	109	-.43 (.000)	-.30 (.002)	-.49 (.000)	-.22 (.021)
PANSS – allg. Psychopath.	109	-.05 (.597)	.01 (.914)	-.09 (.342)	.04 (.714)
SANS Gesamtscore	110	-.44 (.000)	-.31 (.001)	-.50 (.000)	-.21 (.026)
NSA-16 Gesamtscore	110	-.38 (.000)	-.25 (.009)	-.42 (.000)	-.26 (.007)

Anmerkungen: Signifikante Korrelationen ($\alpha \leq .05$) sind fett gedruckt. Werte in Klammern sind p-Werte.

Tabelle 22: Korrelationen der Faktoren Negativsymptomatik und kognitive Fähigkeiten

Über die Interkorrelationen von Negativsymptomatik und der kognitiven Fähigkeiten hinaus wurden auch die Korrelationen mit anderen klinischen Maßen (GAF, HAMD, BDI, Angstfragebogen/HADS) berechnet. Diese Rechnungen stellen daher Validitätsbetrachtungen für die Faktorenanalysen dar. Wie zu erwarten korrelierten beide Konstrukte mit dem Globalen Funktionsniveau GAF - die kognitiven Fähigkeiten positiv und die Stärke der Negativsymptomatik deutlich signifikant negativ (siehe Tabelle 23). Da das GAF in allgemeinerer Weise Ausdruck psychischer Belastung ist als die Negativsymptomatik der Patienten selbst, wurde weitergehend ebenfalls untersucht, ob die Korrelation zwischen kognitiven Fähigkeiten und GAF eine eigenständige Qualität hatte oder nur durch die Dreiecksbeziehung von Negativsymptomatik, GAF und kognitiven Fähigkeiten zu Stande kam. Durch die

Berechnung einer Partialkorrelation zeigte sich, dass letzteres der Fall war: Die kognitiven Fähigkeiten korrelierten nicht mit dem GAF, wenn für Negativsymptomatik kontrolliert wurde ($r_{\text{partial}} = .08$, $p = .405$). Dies kann als Hinweis darauf gewertet werden, dass die Ausprägung der Negativsymptomatik den Zusammenhang von generellen kognitiven Fähigkeiten und psychiatrischer Symptomatik vermittelt.

Die beiden klinischen Maße für Depressivität (HAMD und BDI) unterschieden sich überraschenderweise in ihrem Korrelationsmuster: Während der HAMD deutlich positiv mit der Höhe der Negativsymptomatik zusammenhing, war dies für den BDI nicht der Fall. Dasselbe Muster galt für die kognitiven Fähigkeiten, jedoch nur für den Faktor Verarbeitungsgeschwindigkeit. Der Zusammenhang von Verarbeitungsgeschwindigkeit und HAMD verschwand jedoch wiederum, wenn für den Einfluss der Negativsymptomatik kontrolliert wurde ($r_{\text{partial}} = .09$, $p = .367$). Insgesamt zeigte also der HAMD interessanterweise einen stärkeren Zusammenhang mit der in dieser Arbeit untersuchten schizophrenen Negativsymptomatik als der BDI.

Dem klinischen Bild entsprechend korrelierte das Angstmaß weder mit den kognitiven Fähigkeiten noch mit der Negativsymptomatik.

	<i>N</i>	GAF	HAMD	BDI	Angst- fragebogen
Kognitive Fähigkeiten	107	.38 (.000)	-.15 (.110)	-.04 (.687)	-.07 (.462)
Fluide Intelligenz	107	.25 (.010)	-.01 (.924)	-.07 (.494)	-.05 (.575)
Verarbeitungsgeschwindigkeit	107	.42 (.000)	-.30 (.002)	.04 (.675)	.03 (.743)
Gedächtnis	107	.22 (.020)	.03 (.734)	-.09 (.331)	-.12 (.216)
Negativsymptomatik	114	-.77 (.000)	.52 (.000)	.17 (.068)	.06 (.530)

Anmerkungen: Signifikante Korrelationen ($\alpha \leq .05$) sind fett gedruckt. Werte in Klammern sind p-Werte.

Tabelle 23: Korrelation der Faktoren kognitive Fähigkeiten und Negativsymptomatik mit ausgewählten psychometrischen Ratingverfahren

Zusätzlich wurde die Pearson-Korrelationen mit den demografischen Variablen Geschlecht, Alter und Bildung sowie dem Ersmanifestationsalter bestimmt (siehe Tabelle 24). Hinsichtlich des Geschlechts konnten signifikante Unterschiede nur für den

GAF und den Faktor Negativsymptomatik (aufgrund dessen Korrelation mit dem GAF) gefunden werden. Hierbei zeigten die Frauen den höheren GAF sowie zwangsläufig die Männer die höhere Negativsymptomatik. Dieser Effekt galt für alle drei Maße der Negativsymptomatik, wobei er beim PANSS am deutlichsten zu Tage trat (siehe Tabelle 24). Mit dem Alter sanken die kognitiven Fähigkeiten signifikant, interessanterweise jedoch nicht für den Faktor Gedächtnis. Außerdem konnte eine leicht erhöhte Depressivität mit höherem Alter mit dem HAMD festgestellt werden, nicht aber mit dem BDI. Weiterhin zeigte auch das Erstmanifestationsalter signifikante Korrelationen, allerdings überraschenderweise nicht mit der Negativsymptomatik, sondern nur mit den kognitiven Fähigkeiten.

	GAF	Negativ-symptomatik	Kognitive Fähigkeiten	Fluide Intelligenz	Verarbeitungsgeschwindigkeit	Gedächtnis
Geschlecht^a	-.27 (.004)	.29 (.002)	.01 (.949)	.12 (.211)	-.12 (.228)	.08 (.388)
Alter	-.12 (.209)	.02 (.823)	-.29 (.002)	-.39 (.000)	-.26 (.007)	-.01 (.879)
Bildung (Jahre)	.27 (.003)	-.23 (.013)	.46 (.000)	.31 (.001)	.41 (.000)	.44 (.000)
Erstmanifestation (Alter)	-.08 (.378)	.12 (.196)	-.20 (.041)	-.21 (.032)	-.19 (.044)	-.08 (.406)

	PANSS	SANS	NSA-16	HAMD	BDI	Angstfragebogen
Geschlecht^a	.33 (.000)	.27 (.003)	.22 (.016)	.17 (.068)	.06 (.526)	.09 (.359)
Alter	-.01 (.911)	.02 (.852)	.08 (.411)	.20 (.031)	.05 (.601)	-.12 (.192)
Bildung (Jahre)	-.19 (.041)	-.23 (.013)	-.22 (.018)	-.03 (.725)	-.09 (.361)	-.06 (.505)
Erstmanifestation (Alter)	.00 (.980)	.16 (.096)	.09 (.351)	.12 (.187)	.14 (.127)	-.11 (.245)

Anmerkungen: Signifikante Korrelationen ($\alpha \leq .05$) sind fett gedruckt. Werte in Klammern sind p-Werte.

^a Positive Korrelationen kennzeichnen höhere Werte bei Männern, negative bei Frauen.

Tabelle 24: Korrelationen der demographischen Daten mit den Faktoren Negativsymptomatik und kognitive Fähigkeiten (N>107)

Bildung korrelierte mit fast allen Maßen signifikant in erwartbaren Richtungen, außer der Depressivität und der Angstsymptomatik. Da zwischen Bildung, den kognitiven Fähigkeiten, dem GAF und der Negativsymptomatik ein offenbar komplexeres

Zusammenhangsnetz bestand, wurden diese Variablen in einer multiplen Regression genauer untersucht. Hierbei wurde die Stärke der Negativsymptomatik durch die anderen Variablen vorhergesagt.

Wie in Tabelle 25 dargestellt, erwies sich nur die Verarbeitungsgeschwindigkeit als stabiler und signifikanter Prädiktor unter den drei kognitiven Faktoren. Die Bildungsjahre waren nicht weiterhin signifikant, während der GAF seinen starken Zusammenhang behaupten konnte. Neben dem Erscheinungsbild eines Patienten im GAF sind also seine Testleistungen bezüglich der Verarbeitungsgeschwindigkeit von zentraler Bedeutung für die Ausprägung der Negativsymptomatik.

	B	SE	β	p
Konstante	2.86	.46	0.01	.000
Faktor Fluide Intelligenz	-0.06	.07	-.06	.401
Faktor Verarbeitungsgeschwindigkeit	-0.22	.08	-.22	.007
Faktor Gedächtnis	0.08	.08	.08	.334
Bildung (Jahre)	0.01	.03	.03	.665
GAF	-0.05	.00	-.69	.000

Anmerkungen: $R^2 = .64$. *B* = unstandardisiertes Regressionsgewicht, *SE* = Standardfehler des Regressionsgewichts, β = standardisiertes Regressionsgewicht, *p* = Signifikanz.

Tabelle 25: Multiple Regression zur Vorhersage des Faktors Negativsymptomatik

Weiterhin wurde untersucht, ob sich die SNPs allein auf die Negativsymptomatik und die allgemeinen kognitiven Fähigkeiten auswirken. Dies war für alle drei SNPs in beiden Variablen nicht der Fall (vgl. Tabelle 26). Aufgrund dieses Befundes wurde auf eine gleichartige Betrachtung für die drei einzelnen Faktoren der kognitiven Fähigkeiten verzichtet.

		F	Df	p
rs12139953	Negativsymptomatik	0.24	2, 110	.791
	Kognitive Fähigkeiten	1.96	2, 104	.146
rs7345	Negativsymptomatik	0.02	2, 112	.983
	Kognitive Fähigkeiten	1.43	2, 106	.224
rs12742546	Negativsymptomatik	0.65	2, 112	.522
	Kognitive Fähigkeiten	0.49	2, 106	.615

Tabelle 26: Varianzanalysen mit den SNPs und den beiden Globalfaktoren, Negativsymptomatik und kognitive Fähigkeiten

Als zweiter Schritt wurden die Varianzanalysen um den Faktor Geschlecht ergänzt. Dies erschien vielversprechend, da in der explorativen Datenanalyse ein Unterschied zwischen Männern und Frauen im Faktor "Negativsymptomatik" aufgefallen war (s.o.). Hierbei zeigten die Männer der Stichprobe eine stärkere Negativsymptomatik. Jedoch konnten auch bei diesen Analysen weder ein Effekt für die SNPs noch ein Interaktionseffekt mit dem Geschlecht festgestellt werden (vgl. Tabelle 27). Da auch hier wiederum kein Effekt für die allgemeine kognitive Fähigkeit gefunden wurde, erschien die Betrachtung für alle drei einzelnen Aspekte redundant.

		F	Df	p
Negativsymptomatik	Geschlecht	5.69	1, 107	.019*
	rs12139953	0.14	2, 107	.870
	Geschlecht* rs12139953	0.39	2, 107	.679
Kognitive Fähigkeiten	Geschlecht	0.23	1, 101	.636
	rs12139953	0.74	2, 101	.478
	Geschlecht* rs12139953	0.26	2, 107	.774
Negativsymptomatik	Geschlecht	7.88	1, 109	.006*
	rs7345	0.01	2, 109	.992
	Geschlecht* rs7345	0.14	2, 109	.870
Kognitive Fähigkeiten	Geschlecht	0.22	1, 103	.641
	rs7345	0.88	2, 103	.417
	Geschlecht* rs7345	1.00	2, 103	.370
Negativsymptomatik	Geschlecht	6.41	1, 109	.013*
	rs12742546	0.28	2, 109	.758
	Geschlecht* rs12742546	1.02	2, 109	.363
Kognitive Fähigkeiten	Geschlecht	0.05	1, 103	.830
	rs12742546	0.03	2, 103	.975
	Geschlecht* rs12742546	1.19	2, 103	.309

Anmerkungen: $p^* \leq 0.05$

Tabelle 27: Varianzanalysen mit den SNPs, Geschlecht und den beiden Globalfaktoren, Ergänzung um den Faktor Geschlecht

5 Diskussion

In dieser Arbeit „Assoziation von SNARE-associated Protein Snapin (SNAPAP) mit Negativsymptomatik und kognitiven Defiziten bei schizophrenen Patienten“ wurden die folgenden Hypothesen untersucht und folgende Ergebnisse erreicht:

Hypothese 1: Snapin ist Risiko-Gen für Schizophrenie.

Ergebnis: Bei den mittels Odds Ratio (Effektstärke) und Chi-Quadrat Test ermittelten Populationen konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Allelverteilungen festgestellt werden. Lediglich bei rs12742546 weist die Odds Ratio einen deutlicheren Effekt auf, jedoch ohne dass der p-Wert statistische Signifikanz erreicht.

Hypothese 2: Snapin-Polymorphismen stehen in Zusammenhang mit Negativsymptomatik.

Ergebnis: Die durch Varianzanalyse ermittelten Ergebnisse konnten keinen signifikanten Einfluss von Snapin-Polymorphismen auf die Negativsymptomatik feststellen.

Hypothese 3: Snapin-Polymorphismen stehen in Zusammenhang mit kognitiven Defiziten.

Ergebnis: Die durch Varianzanalyse ermittelten Ergebnisse konnten keinen signifikanten Einfluss von Snapin-Polymorphismen auf kognitive Defizite feststellen.

Hypothese 4: In Abhängigkeit vom Geschlecht stehen Snapin-Polymorphismen in Zusammenhang mit Negativsymptomatik und kognitiven Defiziten.

Ergebnis: Hierbei zeigten die Männer der Stichprobe eine stärkere Negativsymptomatik. Jedoch konnten auch bei diesen Analysen weder ein Effekt bezüglich der SNPs noch ein Interaktionseffekt bezüglich des Geschlechtes verzeichnet werden.

Hypothese 5: Die Ausprägung kognitiver Defizite steht bei Schizophreniepatienten in Zusammenhang mit der Ausprägung von Negativsymptomatik.

Ergebnis: Je höher die Negativsymptomatik ausgeprägt war, desto niedriger waren die gemessenen kognitiven Fähigkeiten.

Demografische Daten

Bei der Auswertung der demografischen Daten fiel vor allem der hohe Bildungsstand auf. Jeder vierte Proband aus dem Patientenkollektiv hatte ein Hochschulstudium abgeschlossen bzw. befand sich zum Zeitpunkt der Studie noch im Studium. Diese positiven Zahlen konnten jedoch im Berufsleben nicht gehalten werden.

Weniger als ein Drittel finanzierte den eigenen Lebensunterhalt hauptsächlich durch eigene Erwerbstätigkeit. Nur 15 Prozent sind voll berufstätig.

Fast jeder dritte Proband aus dem Patientenkollektiv leidet unter einer ausgeprägten Negativsymptomatik nach dem Subtypenmodell von Singh (105), die jedoch geschlechtsabhängig unterschiedlich wahrgenommen wurde. Insgesamt zeigten die Männer der Stichprobe eine stärkere Beeinträchtigung. Ältere Probanden weisen eine zunehmende Tendenz depressiver Symptomatik auf.

Der Krankheitsverlauf beeinflusst somit das soziale Leben der Betroffenen erheblich. Die Bedeutung und Dringlichkeit der Schizophrenieforschung ergibt sich darüber hinaus auch aus den damit verbundenen volkswirtschaftlichen Folgen.

5.1 Bedeutung von Snapin als Risiko-Gen für Schizophrenie

Untersucht wurden die drei SNPs rs12139953, rs7345 und rs12742546.

Für rs12139953 konnte keine signifikant unterschiedliche Allelverteilung beim Vergleich der beiden Populationen gesund/krank festgestellt werden. Die zusätzliche Berechnung der Odds Ratio (OR) ergab, dass der Polymorphismus bei der Vergleichsstichprobe mit einem 1.09-fach erhöhtem Risiko als Homozygot Allel 1 auftrat. Wahrscheinlich ist deshalb, dass der Polymorphismus für die erkrankte Gruppe als Homozygot Allel 2 vorlag, für die gesunde Gruppe dagegen als Allel 1. Die Effekte reichen jedoch nicht aus, um einen statistisch signifikanten, genetischen Unterschied zwischen erkrankt und gesund ableiten zu können. Auch beim SNP rs7345 konnte keine signifikant unterschiedliche Allelverteilung für die beiden untersuchten Populationen gefunden werden. Die OR zeigten nur schwache Effekte in der Art auf, dass der Polymorphismus bei der Gruppe der Schizophreniepatienten eher als Homozygot Allel 1 aufzufinden war. Es ergaben sich zwar für den Vergleich des homozygoten Allel 1 und Heterozygotie ein OR = 0.84, für Heterozygotie und dem homozygoten Allel 2 ein OR = 0.81 sowie für den Vergleich der beiden homozygoten Allele OR = 0.96. Diese Effekte reichen jedoch ebenfalls nicht aus, um einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den beiden Populationen festzustellen.

Deutlicher sind die Unterschiede bei SNP rs12742546, jedoch auch hier nicht statistisch signifikant ($\chi^2 = 4.37$; $df = 2$, $p = .113$). Die durch die Odds Ratio gezeigten Effekte sind bei der Gruppe der Schizophreniepatienten mehr in der Verteilung Homozygot Allel 1 zu finden. Es ergaben sich für den Vergleich des homozygoten Allels 1 und Heterozygotie ein OR = 0.40. Für die Probanden der Vergleichsstichprobe war also das Risiko für das

homozygote Allel 1 um das 0.4-fache erhöht. Einfacher ausgedrückt entspricht dieser Effekt einer Verringerung der Wahrscheinlichkeit für das homozygote Allel 1 um das 2.5-fache ($1/0.4 = 2.5$). Beim Vergleich der Heterozygotie und des homozygoten Allels 2 ergab sich ein OR = 1.26 und für den Vergleich der beiden homozygoten Allele ergab sich ein OR = 0.50.

5.2 Bedeutung der Snapin-Polymorphismen für Negativsymptomatik und kognitive Fähigkeiten

In den beiden nächsten Schritten der Untersuchung wurden die Effekte der SNPs des Snapin-Gens auf die Negativsymptomatik sowie die kognitiven Fähigkeiten untersucht und anschließend in Bezug zum Geschlecht der Probanden gebracht. Die beiden mittels Varianzanalysen berechneten Faktoren Negativsymptomatik und kognitive Fähigkeit korrelierten wie erwartet negativ miteinander ($r = -.431$, $p = .000$). Je stärker die Negativsymptomatik war, desto niedriger waren die durch die unterschiedlichen Tests gemessenen kognitiven Fähigkeiten. Die Untersuchung der einzelnen SNPs rs12139953, rs7345, rs12742546 ergab keine Auswirkungen auf die Negativsymptomatik und die kognitiven Fähigkeiten.

Anschließend wurden die Varianzanalysen um den Faktor Geschlecht der Probanden ergänzt. Der Grund dafür war, dass in der explorativen Datenanalyse beim Faktor Negativsymptomatik eine Abweichung ($t = 3.22$, $df = 114$, $p = .002$) festgestellt wurde, das heißt, bei der Stichprobe bei den Männern eine stärker ausgeprägte Negativsymptomatik aufgefallen war.

Negativsymptomatik

Da für den Zusammenhang Snapin und Negativsymptomatik keine Daten vorliegen und der Untersuchung die Annahme zugrunde lag, dass sowohl Dysbindin als auch Snapin als Untereinheiten von BLOC1 funktionieren, soll die Literatur zu Dysbindin herangezogen werden.

In der Literatur wurde die Assoziation von Risiko-Markern des Dysbindin-Gens und Negativsymptomatik häufig untersucht. (131) (132) Die Ergebnisse von Studien, die den Zusammenhang mit psychotischen Symptomen und/oder depressiver Symptomatik untersuchen sind zum Teil widersprüchlich. (133) (134) Tabelle 28 stellt zu diesem

Thema relevante Studien zusammen, insbesondere auch zur Assoziation von Dysbindin zu weiteren Diagnosen.

Arbeitsgruppen	Untersuchungsgegenstand/Ergebnisse
Kim et al. (2007) (135)	Signifikante Zusammenhänge von Dysbindin und psychotischen Symptomen bei unipolarer Depression, Assoziation zu Antidepressiva-Respondern bei psychotischer Depression
Domschke et al. (2010) (136)	Signifikante Assoziationen zwischen vier Dysbindin-SNPs und psychotischer Symptomatik, Untersuchung von vier Kombinationen von je 3 SNPs als 3 Marker-Haplotypen, wobei jeder Haplotyp im Zusammenhang mit psychotischer Depression stand. Der häufigste Haplotyp schien vor psychotischen Symptomen zu schützen, der zweithäufigste war dagegen eine Risikovariante (kaukasisches Kollektiv mit unipolarer Depression n=243)
Raybould et al. (2005) (137)	Untersuchung Assoziation bipolare Erkrankung ²² und Dysbindin. Keine Assoziationen zur Diagnose bipolare Erkrankung, jedoch Korrelation zwischen Dysbindin und psychotischem Erleben bei bipolarer Störung, auf SNP- und auf Haplotyp-Ebene. (Bipolar Erkrankte n=726/Kontrollgruppe n=1407)
Pae et al. (2007) (138)	Protektiver Effekt vor Bipolar I Störung durch einen 5-Marker-Haplotyp von Dysbindin (Bipolar I Erkrankte n =151/Kontrollgruppe n=478)

Tabelle 28: Studien zu Assoziationen von BLOC1, Negativsymptomatik und Dysbindin

Kognitive Fähigkeiten

Besonders häufig wurden Assoziationen von Dysbindin zu kognitiven Domänen untersucht. Tabelle 29 stellt die Erkenntnisse relevanter Studien zusammen:

Arbeitsgruppen	Untersuchungsgegenstand/Ergebnisse
Alfimova et al. (2009) (139)	Domäne Gedächtnisfunktion, verbales Kurzzeitgedächtnis, signifikante Assoziation mit zwei DTNBP1-SNPs. In direkten Recall-Aufgaben von zwei Wortlisten zu 10 Worten unterschied sich die Leistung der Sz (n=405) von Con (n=290) erheblich zum Beispiel in der proaktiven Interferenz (Überlagerung von neu erlerntem durch vorheriges Wissen). Die Gesamtleistungsfähigkeit assoziierte jedoch nicht mit Dysbindin.
Donohoe et al. (2010) (140)	Zwischen Defiziten im räumlichen Arbeitsgedächtnis und Dysbindin-Risiko-Haplotypen könnte ein Zusammenhang bestehen. Sz (n = 52).
Hashimoto et al. (2010) (141)	Zusammenhang von Gedächtnisleistung mit protektivem Dysbindin-Haplotypen DTNBP1. Bei den Trägern des protektiven Haplotyps aus der gesunden Kontrollgruppe (Sz n=70/Con n=165) wurde eine signifikant bessere Gedächtnisleistung beobachtet als bei den anderen Con und Sz.

²² Nach DSM IV sind Biopolar I Störungen, die sich in mindestens einer manischen oder gemischten Episode und dem nachfolgenden depressiven Einbruch zeigen und Bipolar II Störungen, die sich durch eine längere depressive Episode, gefolgt von einer hypomanischen Phase, zeigen.

Markov et al. (2010) (142)	Ineffektive Aktivierung der zuständigen Areale durch Sichtbarmachung der Gedächtnisleistung mittels fMRT bei Probanden mit Dysbindin-Risiko-Haplotyp-Trägern. Für eine Testung wurde eine vermehrte bilaterale Aktivierung des mittleren Frontalgyrus beobachtet, was als Ineffektivität oder zusätzliche Aktivität im Sinne einer erforderlichen Kontroll-Aktivierung bewertet wurde.
Thimm et al. (2010) (143)	Untersuchung des Zusammenhangs von Aufmerksamkeitsleistungen Schizophrener und Dysbindin-Polymorphismen. Identifizierung eines Defizits bei Risikoallelträgern im linken präfrontalen Netzwerk, der exekutiven Kontrollebene von Aufmerksamkeitsprozessen. fMRT-Studie zur Aufmerksamkeitsleistung sowie zur warnenden, orientierenden und exekutiven Aufmerksamkeit.
Weickert et al. (2004) (144)	Beobachtung einer verminderten Dysbindin-Expression in Hirnregionen (Hippocampus, präfrontaler Cortex) bei Schizophrenen. Post-mortem-Analyse, die Bedeutung der Hirnregionen für die kognitive Leistungsfähigkeit ist jedoch nicht geklärt.

Tabelle 29: Erkenntnisse zu Studien zur Assoziation von Dysbindin und kognitiven Defiziten

5.3 Negativsymptomatik und Kognition

In der vorliegenden Arbeit kristallisierte sich ein Zusammenhang zwischen der Ausprägung der Negativsymptomatik und kognitiver Defizite heraus. Dieser Befund zeigte sich vor allem bei den Testergebnissen zur Verarbeitungsgeschwindigkeit. Die Leistungen wiesen einen signifikanten Zusammenhang mit der Negativsymptomatik, die durch mehrere Ratings objektiviert wurde, auf. Die Korrelation von ausgeprägter Negativsymptomatik und kognitiven Defiziten bei Schizophrenie ist gut erforscht. (145) Werden die negativen Symptome erfolgreich therapiert, verbessern sich auch die kognitiven Defizite. Verbesserungen wurden vor allem bei der motorischen Geschwindigkeit der Probanden festgestellt, während sich zum Beispiel Intelligenz, Wortflüssigkeit und Gedächtnisleistung nicht veränderten. (146) (147)

Möglich ist auch, dass ein früher Zeitpunkt der therapeutischen Maßnahmen für den Erfolg der Therapie entscheidend ist. Dies geht aus einer Studie von Schuepbach et al. (2004) hervor, die 32 erst-diagnostizierte Schizophrene zwei Jahre lang begleiteten. Die jeweils behandelnden Ärzte wählten die Medikation (typische/atypische Neuroleptika, Anticholinergika) für die bis dahin medikamentös nicht behandelten Patienten aus. Es konnte nicht nur ein schneller Rückgang der negativen Symptome beobachtet werden, sondern auch eine langfristige Verbesserung der Leistungen in den Domänen Wortflüssigkeit, Aufmerksamkeit, nonverbales Lernen und Gedächtnis. (148) Weitere Studien mit vergleichbaren Ergebnissen zeigt Tabelle 30, wobei jedoch eingeschränkt

werden muss, dass Studien generell zu Exekutivfunktionen und Negativsymptomatik keine einheitlichen Ergebnisse zeigen. (113)

Arbeitsgruppen	Untersuchungsgegenstand/Ergebnisse
Bilder et al. (2000) (149)	35 Testungen, Korrelation von Negativsymptomatik (Erfassung durch SANS) und Exekutivfunktionen, Fokus auf Sprachverarmung und affektive Verflachung
O'Leary (2000) (150)	134 Testungen, Partialkorrelation von Negativsymptomatik (SANS) mit Wortflüssigkeit und Gedächtnis (nicht untersuchte Symptomkomplexe wurden aktiv herausgerechnet)
Müller et al. (2001) (151)	100 Testungen, Erfassung der Symptomatik mit PANSS, Korrelation von Negativsymptomatik und phonematischer Wortflüssigkeit

Tabelle 30: Studien zur Korrelation von Negativsymptomatik und kognitiven Fähigkeiten

Der Kausalzusammenhang zwischen den beiden Symptomkomplexen konnte bisher nicht geklärt werden. So besteht die Wahrscheinlichkeit, dass die negativen Symptome auf ein schlechtes kognitives Leistungsniveau zurückzuführen sind oder sich beide Symptomkomplexe parallel entwickeln könnten. Zudem könnten Symptome wie Alogie, Lethargie und Interessenlosigkeit die Ursache für ein schwaches, neuropsychologisches Testergebnis sein.

Innerhalb der kognitiven Testdomänen, bzw. innerhalb des Globalfaktors kognitive Fähigkeiten wurden in unserer Untersuchung drei Komponenten bzw. Faktoren unterschieden: Fluide Intelligenz, Verarbeitungsgeschwindigkeit und Gedächtnis. Wenn man sich die einzelnen Komponenten anschaut, dann ist die Verarbeitungsgeschwindigkeit der wichtigste Prädiktor. Die beiden anderen waren nicht signifikant. Die Komponente Verarbeitungsgeschwindigkeit bestand unter anderem aus den Testungen STROOP (Lesezeit, Interferenz) und RWT ("S" und "Tiere"). Müller et al. untersuchten bereits 2004 eine durch Wortflüssigkeitstestung und STROOP definierte Komponente. Zur Komponente trugen nur die semantische Wortflüssigkeit und die STROOP-Interferenzleistung bei. Schizophrene Patienten zeigten im Vergleich mit einer gesunden Kontrollgruppe signifikant schlechtere Testergebnisse. (152)

Ein wichtiger Punkt bei STROOP und RWT ist die Dauer der Bearbeitung. Die Testperson muss bei der STROOP-Interferenztestung automatisch die semantische Enkodierung der Wortfarbe wegdrücken. Dadurch steht der Proband unter Druck. (153)

In der vorliegenden Arbeit waren in die Komponente Verarbeitungsgeschwindigkeit außer der Interferenzzeit die Lesezeit und der Rohwert der phonematischen Wortflüssigkeit integriert.

Bei den Testergebnissen zeigte sich im Patientenkollektiv eine starke Beeinträchtigung der semantischen Wortflüssigkeit. Während hier durch die schizophrenen Patienten nur mittlere Leistungen erreicht werden konnten, waren die Leistungen bei der phonematischen Wortflüssigkeit besser.

Diese Unterschiede in den beiden Wortflüssigkeitsdomänen der Schizophreniepatienten sind wiederholt gezeigt worden. (113)

Tabelle 31 stellt relevante Studien zu den beiden Domänen semantische und phonematische Wortflüssigkeit zusammen:

Arbeitsgruppen	Untersuchungsgegenstand/Ergebnisse
Bokat/Goldberg (2001) (154)	Untersuchung der Frage, ob die beiden Domänen unterschiedliche Physiologien aufweisen
Aloia et al. (1998) (155) Dickinson et al. (2007) (156)	Untersuchung der Frage, ob Schizophreniekranken mehr Zeit benötigen, bis sie kategoriekonforme Worte formulieren können. Sie könnten länger im semantischen Netzwerk verbleiben, in diesem Fall würde die Verarbeitungsgeschwindigkeit die semantische Wortflüssigkeit einschränken
Kircher (2008) (113)	Mehrere Studien konnten nachweisen, dass für gesunde Testpersonen die phonematische Testung wesentlich schwieriger zu lösen ist als die kategoriale, semantische Testung
Spitzer et al. (1993) (157)	Im Sinne eines STROOP-Interferenz-Phänomens könnte die zusätzlich benötigte Zeit durch die Inhibition falscher oder sich wiederholender Antworten verursacht sein
Sumiyoshi et al. (2001) (158) Henry/Crawford (2005) (159)	57 Testungen/33 Kontrollen gesunde Patienten, Untersuchung der semantischen Strukturbildung bei Schizophreniepatienten. Bei Freecall-Wortflüssigkeitsausgaben wurden bei der Bildung von Clustern und im Wechsel verschiedener Cluster Defizite festgestellt. Die Defizite wurden hier in der Frontalregion im Bereich der Exekutivfunktionen lokalisiert.
Zakzanis et al. (2000) (160)	Testung der semantischen Wortflüssigkeit der Rubrik „Tiere“. Keine Clusterbildung nach Haustieren und Größe bei Patienten im Gegensatz zur Kontrollgruppe. Frühformen der Schizophrenie wirken sich negativ auf verbale Intelligenz aus, wesentlich schlechteres Clusterverhalten, bei Spätformen ist semantische Strukturbildung kaum beeinträchtigt.

Tabelle 31: Studien zu den Domänen semantische und phonematische Wortflüssigkeit

5.4 Limitationen

Probanden

Für eine genetische Studie handelt es sich um ein ausgesprochen kleines Patientenkollektiv; diskrete genetische Effekte werden somit nicht identifiziert. Aufgrund der ähnlichen Pathophysiologie der Schizophrenie und schizoaffektiven Störung wurden in die vorliegende Arbeit beide Ausprägungen gemäß ICD-Diagnosen F20 (Schizophrenie) und F25 (schizoaffektive Störung) einbezogen. Da die Beeinträchtigungen bei Schizophreniepatienten im Durchschnitt wesentlich stärker ausgeprägt sind, könnten sich die Ergebnisse in manchen gemeinsamen pathophysiologischen Phasen nicht entsprechen. (161) Möglich sind somit auch Unterschiede in der genetischen Konstellation. Tabelle 32 stellt die unterschiedlichen klinischen Ausprägungen der beiden Erkrankungen dar:

Vergleich von Schizophrenie und schizoaffektiver Störung		
Charakteristika	Schizophrenie	Schizoaffektive Störung
Patienten in Vollremission	10 %	50 %
Schizophrenes Residuum	Häufig	In Ausnahmefällen
Funktionelle Einschränkungen im Verlauf	Häufig, schwer	Selten, leicht
Geschlechtsspezifische Unterschiede	Männer stärker betroffen als Frauen	keine

Tabelle 32: Merkmale von Schizophrenie/schizoaffektiver Störung nach Marneros et al (1989) (161)

Die an der Studie teilnehmenden Personen verfügten über eine weit überdurchschnittliche Schulbildung und im Durchschnitt über eine sehr gute Berufsausbildung. Vollständig im Berufsleben stand jedoch nur ein kleiner Teil der Probanden. Die niedrige Teilnahme von Berufstätigen könnte mit dem erforderlichen Zeitaufwand und der finanziellen Entschädigung sowie mit der Tatsache zusammenhängen, dass die Patienten in psychiatrischen Institutsambulanzen rekrutiert wurden, wo sich tendenziell schwerer erkrankte Patienten finden.

Weitere Einschränkungen könnten durch die untersuchte Symptomatik veranlasst sein. Da die Negativsymptomatik häufig mit sozialem Rückzug und Antriebsarmut einhergeht,

könnten Patienten mit einer ausgeprägten negativen Symptomatik seltener eine Sprechstunde aufsuchen und weniger motiviert sein, an einer Studie teilzunehmen. Bei den Untersuchungen wurden die Medikation der Probanden bzw. potentielle Nebenwirkungen der Medikation nicht berücksichtigt.

Das Kontrollkollektiv bestand aus gesunden, kaukasischen Personen. Es waren lediglich Geschlecht und Alter bekannt. Zwar wurden Personen mit einer positiven Familien- oder eigenen psychiatrischen Anamnese ausgeschlossen, eine spätere Entwicklung einer psychiatrischen Erkrankung ist dennoch möglich.

Klinische Testungen

Eines der Einschlusskriterien war die Stabilität der Symptome über sechs Monate. Die Probanden waren medizinisch optimal versorgt, die Negativsymptomatik verläuft in der Regel verhältnismäßig stabil. So erfüllten alle Probanden das Stabilitätskriterium.

Darüber hinaus sind Abweichungen bei den einzelnen Ergebnissen in Betracht zu ziehen. Die Probanden absolvierten eine ganze Testreihe, einige hatten schon mehrmals an Studien teilgenommen oder kognitive Trainings absolviert, so dass sich Gewöhnungseffekte bei der Durchführung der Tests einstellen könnten, andererseits könnten Ausdauer und Motivation nachlassen. Ein weiterer Aspekt ist der Umgang mit dem Computer, die praktische Erfahrung der Probanden ist sehr unterschiedlich, was sich bei den Testungen WCST und CPT auswirken könnte. Auch wenn alle Probanden fließend Deutsch sprechen, könnte es zudem möglich sein, dass Nicht-Muttersprachler vor allem in den Domänen verbales Gedächtnis und Wortflüssigkeit bei der Leistungserbringung benachteiligt sind.

Genetik

Bezüglich der genetischen Untersuchungen sind zwei Einschränkungen anzumerken:

Erstens wurden statt Kombinationen (Haplotypenanalyse) nur einzelne genetische Varianten (Single-Nucleotide-Polymorphsimen) untersucht, da eine Haplotypenanalyse für drei SNPs wenig sinnvoll erscheint, additive Effekte damit aber verloren gehen. Zweitens konnten nur SNPs aus nicht codierenden Regionen berücksichtigt werden, da zum Untersuchungszeitpunkt keine SNPs zu den vorgegebenen Bedingungen in Exonregionen bekannt waren.

Auswertung

Aufgrund der Vielzahl an Testungen zur Negativsymptomatik und den kognitiven Fähigkeiten, ist die α -Fehler Wahrscheinlichkeit, d.h. die Wahrscheinlichkeit das eine getestete Hypothese aus dem Datensatz (fehlerhaft) als zutreffend angenommen wird erhöht. Dies ist als Schwäche der Methode anzunehmen. Die Verwendung einzelner Testwerte für eine sehr große Zahl von Varianzanalysen führt durch multiples Testen zu nicht vertrauenswürdigen Signifikanzniveaus. Um die Fehlerwahrscheinlichkeit zu verringern wurden für die Varianzanalysen einzelne Tests aggregiert und so entsprechende Globalfaktoren extrahiert.

5.5 Ausblick

Da die Wirkungsweise von SNARE-associated Protein Snapin in den Bereichen Neurowissenschaften und Psychiatrie bisher kaum untersucht wurde, sind weitere Studien von hohem Interesse. Die beschriebenen Assoziationen von Snapin-Polymorphismen mit Negativsymptomatik und kognitiven Defiziten sollten mit einem deutlich größeren Probandenkollektiv und einer höheren Anzahl von SNPs in dieser Region umfassend repliziert werden.

Dysbindin ist als einzige Untereinheit von BLOC1 mit allen Symptomkomplexen der Schizophrenie sowie mit vielen kognitiven Domänen assoziiert worden. Ausgehend von der Annahme, dass Dysbindin zur Genese der Schizophrenie einen Beitrag leistet, müssen die anderen Untereinheiten entsprechend untersucht werden, so dass die pathophysiologische Relevanz des gesamten Proteinkomplexes evaluiert werden kann. Fraglich bleibt in diesem Zusammenhang, ob die Effekte von Dysbindin auf BLOC1 ausgeweitet werden können.

Falls Dysbindin für die Pathophysiologie der Schizophrenie relevant ist, kann nach dem derzeitigen Forschungsstand der Effekt von Dysbindin nicht auf eine Mutation der Proteinstruktur zurückgeführt werden. So untersuchten Dwyer et al. Dysbindin auf eine Assoziation zur Diagnose Schizophrenie (Sz n=669, Con n=710), wobei elf Exonregionen von Dysbindin auf Sequenzvarianten geprüft wurden. Innerhalb der Exons ergab sich kein Befund, alle signifikant assoziierten SNPs befanden sich außerhalb der Exons. (162)

Zum besseren Verständnis der Funktionalität des Proteinkomplexes BLOC1 müssten weitere Fragen geklärt werden wie zum Beispiel, welche Bedeutung den Lysosomen-ähnlichen Organellen in der Physiologie der Zellen zukommt, welche Recyclingvorgänge unterstützt oder an andere Organellen delegiert werden. Grundsätzlich stellt sich jedoch die Frage, ob die Wirkungen der Untereinheiten von BLOC1 über ein Zusammenwirken der Untereinheiten zustande kommen oder durch andere Mechanismen verursacht werden. Die Prozesse des Organellen-Stoffwechsels könnten durch Untersuchungen von BLOC1-defizienten Zellkulturen klarer verständlich werden.

Ergänzend sind Studien anzustreben, die die interagierende Funktion von Dysbindin außerhalb von BLOC1 untersuchen wie zum Beispiel zu den Interaktionspartnern Dystrobrevin A und B (DTNB-A/-B), Adaptor-related protein complex 3 (ArP3) und Synaptosomal-associated protein 25 (SNAP-25).

Genetische, biochemische und molekularbiologische Untersuchungen tragen damit insgesamt nicht nur zu mehr Klarheit über die Pathophysiologie der Schizophrenie bei, sondern auch über die Funktionsweisen des Gehirns allgemein.

Auf dem Gebiet der Neuropsychologie bestätigten die Ergebnisse dieser Arbeit die These von Dickinson et al. (156), dass die Einschränkung der kognitiven Leistungsfähigkeit der Schizophrenie-Erkrankten im Wesentlichen durch die verlangsamte kognitive Verarbeitungsgeschwindigkeit verursacht wird. Diese These könnte weitergehend evaluiert werden, wenn in den weiteren Testungen der zentrale Zahlen-Symbol Test eingesetzt wird. Diese Testung ist ein etabliertes Verfahren für Verarbeitungsgeschwindigkeit und gehört zum Hamburg-Wechsler-Test für Erwachsene (HAWIE). (163)

Nach wie vor sind die Symptomkomplexe Negativsymptomatik und kognitive Defizite schwer zu therapieren. Aufgrund der langfristigen Auswirkungen für die Betroffenen stellen sie im Krankheitsverlauf häufig ein besonderes Problem dar. Die Untersuchung von Schuepbach et al. (148) könnte hier den Weg zur erfolgreichen Frühintervention weisen. Demnach sind Studien zur Frühintervention erforderlich, die die Wirkung von kognitiven Trainings auf die Entwicklung der Negativsymptomatik untersuchen. Solche Studien könnten auch Licht in die Diskussion um die Kausalzusammenhänge der beiden Symptomkomplexe liefern.

Assoziationsstudien von Kandidatengeneten zur Negativsymptomatik und kognitiven Defiziten könnten ferner einen wichtigen Beitrag zur Diskussion um die Neubewertung und Systemorientierung der Diagnosekriterien liefern, die nach wie vor umstritten sind. Diskutiert wird zudem die Idee eines Kontinuums zwischen Schizophrenie und affektiven Störungen. Immer wieder wurden Assoziationen von Dysbindin zu einem Symptomkomplex aus depressiver/negativer Symptomatik, kognitiven Defiziten und psychotischem Erleben beobachtet. (113)

Es sollte überprüft werden, ob die strikte Trennung von schizophrenen Patienten und gesunden Kontrollprobanden zielführend ist. Unter dem Aspekt der Kombination individuell sehr verschiedener Ausprägungen spezifischer Systemkategorien wie zum Beispiel psychomotorische Verlangsamung, Realitätsverzerrung und Desorganisiertheit im dimensionalen Ansatz nach Liddle (5), können in jeder Kategorie individuell Ausprägungen beobachtet werden, die als „gesund“ zu betrachten sind, auf molekularer Ebene jedoch eine pathologische Basis aufweisen, die auch bei der „kranken“ individuellen Ausprägung vorhanden ist.

Durch die Entwicklung mehrdimensionaler, sensiblerer Ansätze in der Schizophrenieforschung sowie bei psychopathologischen und neuropsychologischen Test- und Ratingverfahren würden Studien über alle Länder und Kulturen hinweg besser verständlich und vergleichbarer werden und zugleich ein wichtiger Beitrag zur Destigmatisierung des schizophrenen Formenkreises geleistet werden.

Literaturverzeichnis

1. Kraepelin E. Psychiatrie. 4. Auflage. Leipzig: Abel (Meixner), 1893.
2. Bleuler E. Dementia Praecox oder Gruppe der Schizophrenien. Leipzig, Wien: Deuticke, 1911.
3. Schneider K. Klinische Psychopathologie. 14. Auflage. Stuttgart, New York: Thieme, 1992.
4. Jackson JH. Selected Writings. Oxford: Hodder & Stoughton, 1931.
5. Liddle PF. The symptoms of chronic schizophrenia. A re-examination of the positive-negative dichotomy. Br J Psychiatry 1987;151(2):145-51.
6. Saha S, Welham J, Chant D, McGrath J. Incidence of schizophrenia does not vary with economic status of the country: evidence from a systematic review. Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol 2006;41(5):338-40.
7. Gaebel W, Wölwer W. Schizophrenie. Themenheft Nr. 50. In: Robert Koch-Institut (Hrsg.): Gesundheitsberichterstattung des Bundes. Berlin: RKI.
8. Andreasen NC. Negative symptoms in schizophrenia. Definition and reliability. Arch Gen Psychiatry 1982;39(7):784-8.
9. Deister A, Marneros A. Long-term stability of subtypes in schizophrenic disorders. A comparison of four diagnostic systems. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci 1993;242(4):184-90.
10. WHO. ICD-10, 2010. (Accessed April 25, 2015 at <http://www.dimdi.de/static/de/klassi/icd-10-gm/kodesuche/onlinefassungen/htmlgm2014/index.htm>.)
11. DSM-V-2014. The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. American Psychiatric Association, 2014. (Accessed April 25, 2015 at <http://www.dsm5.org/about/Pages/DSMVOverview.aspx>, [http://counsellingresource.com/lib/distress/dsm codes/](http://counsellingresource.com/lib/distress/dsm%20codes/).)
12. Möller HJ, Deister A, Schaub A, Riedel M. Schizophrene Psychosen. In: Möller HJ, Laux G, Kapfhammer HP (Hrsg.) Psychiatrie und Psychotherapie. Spezielle Psychiatrie. Heidelberg: Springer, 2008:253-356.

13. Häfner H, Nowotny B, Löffler W et al. When and how does schizophrenia produce social deficits? *Aur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 1995; 246(1):17-28.
14. Tandon R, Nasrallah HA, Keshavan MS et al. Schizophrenia, "just the facts". Clinical features and conceptualization. *Schizophr Res*. 2009;110(1-3):1-23.
15. An der Heiden W, Könnecke R, Maurer K ET. Depression in the long-term course of schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2005;255(3):174-84.
16. Simonsen E, Friis S, Haahr U et al. Clinical epidemiologic first-episode psychosis: 1-year outcome and predictors. *Acta Psychiatr Scand*. 2007; 116(1):54-61.
17. Statistisches Bundesamt. Krankenhausstatistik - Diagnosedaten der Patientinnen und Patienten in Krankenhäusern. Wiesbaden: Statistisches Bundesamt, 2008.
18. Möller HJ. Antipsychotic agents. Gradually improving treatment from the traditional oral neuroleptics to the first atypical depot. *Eur Psychiatry*. 2005; 20(5-6):379-85.
19. Canuso CM, Pandina G. Gender and schizophrenia. *Psychopharmacol Bull*. 2007; 40(4):178-90.
20. Tharyan P, Adams CE. Electroconvulsive therapy for schizophrenia. *Cochrane Database Syst Rev* 2. 2005;18(2):CD000.076.
21. Pitschel-Walz G, Bäuml J. Psychotherapie bei Schizophrenien. Ergebnisse von Metaanalysen zur Wirksamkeit. *Psychiatr Prax*. 2007;34(1):28-32.
22. Roder V, Brenner HD, Kienzle, N, Hodel B. IPT - Integriertes Psychologisches Therapieprogramm für schizophrene Patienten. 4. Auflage. Weinheim: Psychologie Verlags Union, 1997.
23. Rietschel M. Genetik schizophrener Störungen. (Hrsg.) M Spitzer. (Forum Neuroscience Schizophrenie). Stuttgart: Thieme, 2006:1-16.
24. Möller HJ, Laux G, Kapfhammer HP. Psychiatrie und Psychotherapie. 3. Auflage. Wiesbaden: Springer, 2008.
25. Harrison PJ, Weinberger DR. Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Mol Psychiatry*. 2005;10(1):40-68.

26. Prasad KM, Keshavan MS. Structural cerebral variations as useful endophenotypes in schizophrenia: do they help construct “extended endophenotypes”? *Schizophr Bull.* 2008;34(4):774-90.
27. Straub RE, Jiang Y, MacLean CJ et al. Genetic variation in the 6p22.3 gene DTNBP1, the human ortholog of the mouse dysbindin gene, is associated with schizophrenia. *Am J Hum Genet.* 2002;71(2):337-48.
28. Stefansson H, Sarginson J, Kong A et al. Association of neuregulin I with schizophrenia confirmed in a Scottish population. *Am J Hum Genet.* 2003;72:83-7.
29. Chumakov I, Blumenfeld M, Guerassimenko O et al. Genetic and physiological data implicating the new human gene G72 and the gene for D-amino acid oxidase in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002;99(21):13675-80.
30. Schumacher, J, Abou Jamra R, Freudenberg J et al. Examination of G72 and D-amino acid oxidase as genetic risk factors for schizophrenia and bipolar affective disorder. *Mol Psychiatry.* 2004;9(2):203-7.
31. Sullivan PF, Lin D, Tzeng JY et al. Genomewide association for schizophrenia in the CATIE study: results of stage 1. *Mol Psychiatry.* 2008;13(6):570-84.
32. Owen MJ, Williams NM, O'Donovan MC. The molecular genetics of schizophrenia: new findings promise new insights. *Mol Psychiatry.* 2004;9(1):14-27.
33. Lewis CM, Levinson DF, Wise LH. Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia. *Am J Hum Genet.* 2003; 73(1):34-48.
34. Ng MY, Levinson DF, Faraone SV et al. Meta-analysis of 32 genome-wide linkage studies of schizophrenia. *Mol Psychiatry.* 2009;14(8):774-85.
35. Badner JA, Gershon ES. Meta-analysis of whole-genome linkage scans of bipolar disorder and schizophrenia. *Mol Psychiatry.* 2002;7(4):405-11.
36. Lohmueller KE, Pearce CL, Pike M et al. Meta-analysis of genetic association studies supports a contribution of common variants to susceptibility to common disease. *Nat Genet.* 2003;33(2):177-82.
37. Mah S, Nelson MR, Delisi LE et al. Identification of the serpin receptor PLXNA2 as a candidate for susceptibility to schizophrenia. *Mol Psychiatry.* 2006;11(5):471-78.

38. Shifman S, Johanneson M, Bronstein M. et al. Genome-wide association identifies a common variant in the reelin gene that increases the risk of schizophrenia only in women. *PLoS Genet.* 2008;4(2): e28. doi: 10.1371/journal.pgen.0040028.
39. Kirov G, Zaharieva I, Georgieva L et al. A genome-wide association study in 574 schizophrenia trios using DNA pooling. *Mol Psychiatry.* 2009;14(8):796-803.
40. Lencz T, Morgan TV, Athanasiou M et al. Converging evidence for a pseudo-autosomal cytokine receptor gene locus in schizophrenia. *Mol Psychiatry.* 2007;12(6):572-80.
41. Sullivan PF, Lin D, Tzeng JY et al. Genomewide association for schizophrenia in the CATIE study: results of stage 1. *Mol Psychiatry.* 2008;13(6):570-84.
42. O'Donovan MC, Craddock N, Norton N et al. Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association. *Nat Genet.* 2008;40(9):1053-55.
43. Purcell SM, Wray NR, Stone JL et al. Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Nature.* 2009;460(7256):748-52.
44. Shi J, Levinson DF, Duan J et al. Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia. *Nature.* 2009;460(7256):753-7.
45. Stefansson H, Ophoff RA, Steinberg S et al. Common variants conferring risk of schizophrenia. *Nature.* 2009;460(7256):744-7.
46. Lang UE, Puls I, Müller DJ, Strutz-Seebohm N, Gallinat J. Molecular mechanisms of schizophrenia. *Cell Physiol Biochem* 2007;20(6):687-702.
47. Wright IC, Rabe-Hesketh S, Woodruff PW, David AS, Murray RM, Bullmore ET. Meta-analysis of regional brain volumes in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2000;157(1):16-25.
48. DeLisi LE. The concept of progressive brain change in schizophrenia: implications for understanding schizophrenia. *Schizophr Bull* 2008;34(2):312-21.
49. Carlsson A. Antipsychotic drugs, neurotransmitters, and schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 1978;135(2):165-73.
50. Ross CA, Margolis RL, Reading SA et al. Neurobiology of Schizophrenia. *Neuron.* 2006;52(1):139-53.

51. Laruelle M, Abi-Dargham A, Dyck CH et al. Single photon emission computerized tomography imaging of amphetamine-induced dopamine release in drug-free schizophrenic subjects. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996;93(17):9235-40.
52. Abi-Dargham A, Kegeles LS, Zea-Ponce Y et al. Striatal amphetamine-induced dopamine release in patients with schizotypal personality disorder studied with single photon emission computed tomography and [1231] jodobenzamide. *Biol Psychiatry*. 2004;55(10):1001-6.
53. Abi-Dargham A, Moore H. Prefrontal DA transmission at D1 receptors and the pathology of schizophrenia. *Neuroscientist*. 2003;9(5):404-16.
54. Stone JM, Morrison PD, Pilowsky LS. Glutamate and dopamine dysregulation in schizophrenia - a synthesis and selective review. *J Psychopharmacol*. 2007;21(4):440-52.
55. Krystal JH, Karper LP et al. Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. *Arch Gen Psychiatry*. 1994;51(3):199-214.
56. Laruelle M, Abi-Dargham A, Casanova MF et al. Selective abnormalities of prefrontal serotonergic receptors in schizophrenia. A postmortem study. *Archives of general psychiatry*. 1993;50(10):810-8.
57. Gur RE, Calkins ME, Gur RC et al. The consortium on the genetics of schizophrenia neurocognitive endophenotypes. *Schizophr Butt*. 2007;33(1):49-68.
58. Chan RC, Gottesman II. Neurological soft signs as candidate endophenotypes for schizophrenia: A shooting star or a Northern star? *Neurosci Biobehav Rev*. 2008;32(5):957-71.
59. Meyer-Lindenberg A, Weinberger DR. Intermediate phenotypes and genetic mechanisms of psychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci*. 2006;7(10):818-27.
60. Gottesman II, Gould TD. The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *Am J Psychiatry*. 2008;160(4):636-45.
61. Waldman ID. Statistical approaches to complex phenotypes: evaluating neuropsychological endophenotypes for attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry*. 2005;57(11):1347-56.

62. Braff DL, Freedman R, Schork NJ et al. Deconstructing schizophrenia: an overview of the use of endophenotypes in order to understand a complex disorder. *Schizophr Bull.* 2007;33(1): 21-32.
63. Kumari V, Das M, Zachariah E et al. Reduced prepulse inhibition in unaffected siblings of schizophaenia patients. *Psychophysiology.* 2005;42(5):588-94.
64. Myles-Worsley M. P50 sensory gating in multiplex schizophrenia families from a pacific island isolate. *Am J Psychiatry.* 2002;159(12):2007-12.
65. Calkins ME, Curtis CE, Iacono WG et al. Antisaccade performance is impaired in medically and psychiatrically healthy biological relatives of schizophrenia patients. *Schizophr Res.* 2004;71(1):167-78.
66. Hallet PE, Adams BD. The predictability of saccadic latency in a novel voluntary oculomotor task. *Vision Research.* 1980;20(4):329-39.
67. O'Carroll R. Cognitive impairment in schiophrenia. *Advances in Psychiatric Treatment.* 2000;6(3):161-68.
68. Lautenbacher S., Möser C. *Neuropsychologie der Schizophrenie.* (Hrsg.) S. Lautenbacher, S. Gauggel. *Neuropsychologie psychischer Störungen.* Berlin: Springer, 2004:285-99.
69. Starcevic M, Dell'Angelica EC. Identification of snapin and three novel proteins (BLOS 1, BLOS2. and BLOS3/reducecl pigmentation) as subunits of biogenesis of lysosome-related organelles complex-1 (BLOC-1). *J Biol Chem.* 2004;279(27): 28393-401.
70. Buxton P, Zhang XM, Walsh B et al. Identification and characterization of Snapin as a ubiquitously expressed SNARE binding protein that interacts with SNAP23 in non-neuronal. *Biochem J.* 2003; 375(2):433–40.
71. Hunt RA, Edris W, Chanda PK et al. Snapin interacts with the N-terminus of regulator of G protein signaling: *Biochem Biophy Res Com.* 2003;303(2):594-9.
72. Morenilla-Palao C, Planells-Cases R, Garcia-Sanz N et al. Regulated exocytosis contributes to protein kinase C potentiation of vanilloid receptor activity. *J Biol Chem.* 2004;279(24):25665-72.

73. Chou JL, Huang CL, Lai HL et al. Regulation of type VI adenylyl cyclase by snapin, a SNAP25-binding protein. *J Bio Chem.* 2004;1(2):567-72.
74. Ilardi JM, Mochida S, Sheng ZH. Snapin: a SNARE-associated protein implicated in synaptic transmission. *Nat Neurosci.* 1999;2(2):119-124.
75. Buxton P; Zhang XM, Walsh B et al. Identification and characterization of Snapin as a ubiquitously expressed SNARE-binding protein that interacts with SNAP23 in non-neuronal cells. *Biochem. J.* 2004;375(2): 433–40.
76. Sun W, Yan Q, Vida TA et al. HRS regulated early endosome fusion by inhibiting formation of an endosomal SNARE complex. *J Cell Biol.* 2003;162(1):125-37.
77. Richardson SCW, Winistorfer SC, Poupon V et al. Mammalian late vacuole protein sorting orthologues participate in early endosomal fusion and interact with the cytoskeleton. *Mol Biol Cell.* 2004;15(3):1197-210.
78. Neher E. Vorratshaltung sorgt für Geschwindigkeit. Dynamische Prozesse bei der Signaübertragung im Gehirn. 2003 (Accessed June 15,2014 at http://www.mpibpc.mpg.de/367809/03_11.)
79. Sutton RB, Fasshauer D, Jahn R et al. Crystal structure of a SNARE complex involved in synaptic exocytosis at 2.4 Å resolution. *Nature.* 1998;395(6700):346-9.
80. Fasshauer D, Sutton RB, Brunger AT et al. Conserved structural features of the synaptic fusion complex: SNARE proteins reclassified as Q- and R-SNAREs. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998;95(26):15781-6.
81. Fasshauer D, Otto H, Eliason, WK et al. Structural changes are associated with soluble N-ethylmaleimide-sensitive fusion protein attachment protein receptor complex formation. *J Biol Chem.* 1997; 272(44):28036-41.
82. Jahn R, Scheller RH. SNAREs-engines for membrane fusion. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2006;7(9):631-43.
83. Falcon-Perez JM, Starcevic M, Gautam R et al. BLOC-1, a novel complex containing the pallidin and muted proteins involved in the biogenesis of melanosomes and platelet-dense granules. *J Biol Chem.* 2002;277(31):28191-9.

84. Hermansky F, Pudlak P. Albinism associated with hemorrhagic diathesis and unusual pigmented reticular cells in the bone marrow: report of two cases with histochemical studies. *Blood*. 1959;14(2):162-169.
85. Wei ML. Hermansky-Pudlak syndrome: a disease of protein trafficking and organelle function. *Pigment Cell Res*. 2006;19(1):19-42.
86. Dell'Angelica EC. The building BLOC(k)s of lysosomes and related organelles. *Curr Opin Cell Biol*. 2004;16(4):458-64.
87. Di Pietro SM, Falcon-Perez JM, Tenza D. et al. BLOC-1 interacts with BLOC-2 and the AP-3 complex to facilitate protein trafficking on endosomes. *Mol Biol Cell*. 2006;17(9):4027-38.
88. Newell-Litwa K, Seong E, Burmeister M et al. Neuronal and non-neuronal functions of the AP-3 sorting machinery. *J Cell Sci*. 2007;120(4):531-41.
89. Borner GH, Harbour M, Hester S et al. Comparative proteomics of clathrin-coated vesicles. *J Cell Biol*. 2006;175(4):571-8.
90. Lüllmann-Rauch, R. *Histologie*. Stuttgart: Thieme, 2003.
91. Setty SR, Tenza D, Truschel ST et al. BLOC-1 is required for cargo-specific sorting from vacuolar early endosomes toward lysosome-related organelles. *Mol Biol Cell*. 2007;18(3):768-80.
92. Chheda MG, Ashery U, Thakur P et al. Phosphorylation of Snapin by PKA modulates its interaction with the SNARE complex. *Nat Cell Biol*. 2001;3(2):331-8.
93. Morris DW, Murphy K, Kenny N et al. Dysbindin (DTNBP1) and the biogenesis of lysosome-related organelles complex 1 (BLOC-1): main and epistatic gene effects are potential contributors to schizophrenia susceptibility. *Biol Psychiatry*. 2008;63(1):24-31.
94. Talbot K, Eidem WL, Tinsley CL et al. Dysbindin-1 is reduced in intrinsic, glutamatergic terminals of the hippocampal formation in schizophrenia. *J Clin Invest*. 2004;113(9):1353-63.
95. 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.

96. Iizuka Y, Sei Y, Weinberger DR et al. Evidence that the BLOC-1 protein dysbindin modulates dopamine D2 receptor internalization and signaling but not D1 internalization. *J Neurosci*. 2007;27(45):12390-5.
97. Talbot K, Cho DS, Ong WY et al. Dysbindin-1 is a synaptic and microtubular protein that binds brain snapin. *Human molecular genetics*. 2006;15(20):3041-54.
98. Feng YQ, Zhou ZY, He X et al. Dysbindin deficiency in sandy mice causes reduction of snapin and displays behaviors related to schizophrenia. *Schizophrenia research*. 2008;106(2-3):218-28.
99. Dickman DK, Tong A, Davis GW. Snapin is critical for presynaptic homeostatic plasticity. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*. 2012;32(25):8716-24.
100. Auraß F. Einflüsse von BLOC1S3-Polymorphismen auf Schizophrenie mit Fokus auf Negativsymptomatik und kognitive Defizite. Berlin: 2013.
101. Guy W. Clinical global impression. ECDEU assessment manual, revised 1976. 1976: 217-222.
102. Weinheim R. GAF-Skala: Global Assessment of Functioning Scale. Basel: Beltz, 1989.
103. Heinrich DW, Hanlon TE, Carpenter WT. The Quality of Life Scale. An instrument for rating the schizophrenic deficit syndrome. *Schizophr Bull*. 1984;10(3):388-98.
104. Kay SR, Fiszbein, A und Opler, LA. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr Bull*. 1987;13(2):261-76.
105. Singh MM, Kay SR, Opler LA. Anticholinergic-neuroleptic antagonism in terms of positive and negativ symptoms of schizophrenia. Implications for psychobiological subtyping. *Psychol Med*. 1987;17(1):39-48.
106. Andreasen NC. The Scael for the Assessment of Negative Symptoms (SANS): conceptual and theoretical foundations. *Br J Psychiatry Suppl*. 1989:49-58.
107. Axelrod BG, Alphas LD. Validation of the 16-item Negative Symptom Assessment. *J Psychiatr Res*. 1993;27(3):253-258.
108. Mass R, Haasen C, Wolf K. The Eppendorf Schizophrenia Inventory (ESI). Development and evaluation of a questionnaire for assessment of characteristic

- self perception of cognitive dysfunctions by schizophrenic patients. *Nervenarzt*. 2000;71(11):885-92.
109. Hamilton M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1960;23:56-62.
 110. Hamilton M. Development of a rating scale for primary depressive illness. *Br J Soc Clin Psychol*. 1967;6(4):278-96.
 111. Beck AT, Ward CH, Mendelson M. An inventory for measuring depression. *Arch Gen Psychiatry*. 1961;4:561-71.
 112. Herrmann-Lingen C, Buss U, Snaith RP. HADS-D. Hospital Anxiety and Depression Scale: Deutsche Version. Bern: Huber Verlag, 2011.
 113. Kircher K, Gauggel S. Neuropsychologie der Schizophrenie. Berlin, Heidelberg: Springer, 2008.
 114. Stroop JR. Studies of interference in serial verbal reactions. *Journal of Experimental Psychology*. 1935;18:643-62.
 115. Wolfram H, Neumann J, Wiczorek, V. Psychologische Leistungstests in der Neurologie und Psychiatrie: Methoden und Normiwerte. Leipzig: Thieme, 1989.
 116. Aschenbrenner A, Tucha O, Lange K. RWT Regensburger Wortflüssigkeits-Test. Handanweisung. Göttingen, 2000.
 117. Lezak MD. Neuropsychological assessment. New York: Oxford University Press, 1995.
 118. Fisseni, H. Lehrbuch der psychologischen Diagnostik. Göttingen : Hogrefe, 1990.
 119. Tewes U. HAWIE-R Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene. Revision 1991. Handbuch und Testanweisungen. Bern: Hans Huber, 1994.
 120. Reitan RM. The relation of the trail making test to organic brain damage. *J Consult Psychol*. 1955;19(5):393-4.
 121. Rey A. L'examen psychologique dans les cas d'encephalopathie traumatique (Les problems). *Archives de Psychologie*. 1941;28:215-85.
 122. Cornblatt BA, Risch NJ, Faris G et al. The Continuous Performance Test, identical pairs version (CPT-IP): I. New findings about sustained attention in normal families. *Psychiatry Res* .1988;26:223-38.

123. Berg EA. A simple objective technique for measuring flexibility in thinking. *J Gen Psychol.* 1948;39:15-22.
124. Horn W. L-P-S Leistungsprüfsystem. Göttingen: Hogrefe, 1983.
125. Lehrl S. Mehrfachwahl-Wortschatz-Intelligenztest MWT-B. Balingen: Spitta, 2005.
126. Gregory SG, Barlow KF, McLay KE et al. The DNA sequence and biological annotation of human chromosome 1. *Nature.* 2006;441(7091):315-21.
127. Foernzler D. SNPs - kleine Unterschiede mit großer Wirkung. *BioWorld.* 2000; 3:18-20.
128. Holinski-Feder E. DNA-Untersuchung. Diagnostische Anwendung beim Menschen. (Hrsg.) JD Murken, T Grimm und E Holinski-Feder. *Humangenetik.* 8. Stuttgart: Thieme, 2011, 103-38.
129. Bortz J., Schuster C. Statistik für Human- und Sozialwissenschaftler. Lehrbuch mit Online-Materialien. Heidelberg: Springer, 2010.
130. Bühner M. Einführung in die Test- und Fragebogenkonstruktion. München: Pearson, 2006.
131. DeRosse P, Funke B, Burdick KE et al. Dysbindin genotype and negative symptoms in schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 2006;163(3):532-4.
132. Fanous AH, von den Oord EJ, Riley BP et al. Relationship between a high-risk haplotype in the DTNBP1 (dysbindin) gene and clinical features of schizophrenia *Am J Psychiatry.* 2005;162(10):1824-32.
133. Wirgenes KV, Djurovic S, Agartz I et al. Dysbindin and d-amino-acid-oxidase gene polymorphisms associated with positive and negative symptoms in schizophrenia. *s.l. : Neuropsychobiology.* 2009;60(1)31-36.
134. Pae CU, Drago A, Kim JJ et al. DTNBP1 haplotype influences baseline assessment scores of schizophrenic in-patients. *Neurosci Lett.* 2008;440(2):150-4.
135. Kim JJ, Mandelli L, Pae CU, DeRonchi D et al. Is there protective haplotype of dysbindin gene (DTNBP1) 3 polymorphisms for major depressive disorder. *s.l. : Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2007;32(2):375-9.
136. Domschke K, Lawford B, Young R et al. Dysbindin (DTNBP1) - A role in psychotic depression? *J Psychiatr Res,* 2011;45(5):588-95.

137. Raybould R, Green EK, MacGregor S et al. Bipolar disorder and polymorphisms in the dysbindin gene (DTNBP1). *Biol Psychiatr*. 2005;57(7):696-701.
138. Pae CU, Serretti A, Mandelli L et al. Effect of 5-haplotype of dysbindin gene (DTNBP1) polymorphisms for the susceptibility to bipolar I disorder. *s.l. : Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2007;144B(5): 701-3.
139. Alfimova MV, Monakovh M, Abramova LI et al. Serotonin receptor (5-HTR2A) and dysbindin (DTNBP 1) genes and component process variables of short-term verbal memory in schizophrenia. *Zh Nevrol Psikhiatr Im SS Korsakova*. 2009;109(7):70-5.
140. Donohoe G, Morris DW, Clarke S et al. Variance in neurocognitive performance is associated with dysbindin-1 in schizophrenia: a preliminary study. *Neuropsychologia*. 2007;45(2):454-8.
141. Hashimoto R, Noguchi H, Hori H et al. A genetic variation in the dysbindin gene (DTNBP1) is associated with memory performance in healthy controls. *World J Biol Psychiatry*. 2010;11(2):431-8.
142. Markov V, Krug A, Krach S et al. Impact of schizophrenia-risk gene dysbindin 1 on brain activation in bilateral middle frontal gyrus during a working memory task in healthy individuals. *Hum Brain Mapp*. 2010;31(2):266-75.
143. Thimm M, Krug A, Kellermann T et al. The effects of a DTNBP1 gene variant on attention networks: an fMRI study. *Behav Brain Funct*. 2010;16(6):54.
144. Weickert CS, Straub RE, McClintock BW et al. Human dysbindin (DTNBP 1) gene expression in normal brain and in schizophrenic prefrontal cortex and midbrain. *Arch Gen Psychiatry*. 2004;61(6):544-55.
145. Möller HJ, Wegner U, Wittmann J et al. Long term course of schizophrenic, affective and schizoaffective psychosis: focus on negative Symptoms and their impact of global indicators for outcome. *Acta Psychiatr Scand Suppl*. 2000;407(2):54-57.
146. Hughes C, Kumari V, Soni W et al. Longitudinal study of symptoms and cognitive function in chronic schizophrenia. *Schizophr Res*. 2003;59(2-3):137-46.
147. Mishara AL, Goldberg TE. A meta-analysis and critical review of the effects of conventional neuroleptic treatment on cognition in schizophrenia: opening a closed book. *Biol Psychiatry*. 2004;55(10):1013-22.

148. Schuepbach D, Hill SK, Sanders RD et al. Early treatment induced improvement of negative symptoms predicts cognitive functioning in treatment - naive first episode schizophrenia: a 2-year followup. *Schizophr Bull.* 2004;30(4):837-48.
149. Bilder RM, Goldman RS, Robinson D et al. Neuropsychology of first-episode schizophrenia: initial characterization and clinical correlates. *Am J Psychiatry.* 2000;157(4):549-59.
150. O'Leary DS, Flaum M, Kesler ML et al. Cognitive correlates of the negative, disorganized and psychotic symptom dimensions of schizophrenia. *Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 2000;12(1):4-15.
151. Müller MJ, Wetzel H, Benkert O. Depressive Factors and their relationships with other symptom domains in schizophrenia, schizoaffective disorder and psychotic depression. *Schizophr Bull.* 2001;27(1):19-28.
152. Müller U, Ullsperger M, Hammerstein E et al. Directed forgetting in schizophrenia: prefrontal memory and inhibition deficits. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2005;255(4):251-7.
153. Carter CS, Mintun M, Cohen JD. Interference and facilitation effects during selective attention: an H2150 PET study of Stroop task performance. *Neuroimage.* 1995;2(4):264-272.
154. Brocat C, Goldberg TE. Letter and category fluency in schizophrenic patients: a meta-analysis. *Schizophr Res.* 2003;64(1):73-8.
155. Aloia MS, Gourovitch ML, Missar D et al. Cognitive Substrates of thought disorder, II: specifying a candidate cognitive mechanism. *Am J Psychiatry.* 1998;155(12):1677-84.
156. Dickinson D, Ramsey ME, Gold JM. Overlooking the obvious: a meta-analytic comparison of digit symbol coding tasks and other cognitive measures in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry.* 2007;64(5):532-42.
157. Spitzer M, Braun U, Maier S et al. Indirect semantic priming in schizophrenic patients. *Schizophr Res.* 1993;11(1):71-80.
158. Sumiyoshi C, Mintun M, Sumiyoshi T et al. Semantic Structure in schizophrenia as assessed by the category fluency test: effect of verbal intelligence and age of onset. *Psychiatry Res.* 2001;105(3):187-99.

159. Henry JD, Crawford JR. A meta-analytic review of verbal fluency deficits in schizophrenia relative to other neurocognitive deficits. *Cogn Neuropsychiatry*. 2005;10(1):1-33.
160. Zakzanis KK, Troyer AK, Rich JB et al. Component analysis of verbal fluency in patients with schizophrenia. *Neuropsychiatry Neuropsychol Behav Neurol*. 2000;13(4):239-45.
161. Marneros A, Deister A, Rohde A et al. Long-term outcome of schizoaffective and schizophrenic disorders: a comparative study. I. Definitions, methods, psychopathological and social outcome. *Eur Arch Psychiatry Neurol Sci*. 1989;238(3):118-25.
162. Dwyer S, Carroll L, Mantripragada KK et al. Mutation screening of the DTNBP1 exonic sequence in 669 schizophrenics and 710 controls using high-resolution melting analysis. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2010;153B(3):766-74.
163. Volz HP, Reischies F, Riedel M. Cognitive disorders in schizophrenic patients. *Nervenarzt*. 2010;81(1):39-54.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Martin Liening, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema „Assoziation von SNARE-associated Protein Snapin (SNAPAP) mit Negativsymptomatik und kognitiven Defiziten bei schizophrenen Patienten“ 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.

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

Berlin, den 18. Mai 2015

Martin Liening

Lebenslauf

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

Danksagung

Die Arbeit wurde in der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Charité Campus Mitte durchgeführt. Zum Gelingen haben viele Personen beigetragen, denen ich an dieser Stelle danken möchte.

Zunächst danke ich allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der psychiatrischen Poliklinik der Charité Campus Mitte sowie allen Probanden einschließlich den Bewohnern der Pinel Wohngemeinschaft in Moabit, die mit der Teilnahme an der Studie die vorliegende Arbeit ermöglicht haben.

Mein besonderer Dank gilt meiner Doktormutter Frau Prof. Dr. med. Imke Puls für die Überlassung des Themas und die inspirierende Betreuung der Arbeit. Ebenfalls danke ich herzlich Dr. rer. nat. Werner Kitzrow, Sarina Richter, Dr. med. Friederike Auraß, Silke Onken und der gesamten Arbeitsgemeinschaft „Genetik der Psychiatrie“ der Charité Campus Mitte für die gute Zusammenarbeit.

Meinen Freunden und meiner Familie, insbesondere meinen Eltern, danke ich für Ihr Interesse an meiner Arbeit und die fortwährende Unterstützung.