

Aus der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie
der Medizinischen Fakultät Charité –
Universitätsmedizin Berlin,
Campus Mitte &
Psychiatrische Klinik
des St. Hedwig-Krankenhaus – Berlin –
Akademisches Lehrkrankenhaus der Charité

DISSERTATION

Genetische Grundlagen der Beta-Aktivität
im Ruhe-Elektroenzephalogramm
schizophrener Patienten

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Damaris Opitz

aus Tübingen

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. J. Gallinat
2. Prof. Dr. med. U. Hegerl
3. Priv.-Doz. Dr. med. M. Schäfer

Datum der Promotion: 09.09.2011

Inhaltsverzeichnis

I. EINLEITUNG	6
I.1. Schizophrenie und genetische Grundlagen	6
I.2. GABA-A Rezeptor	11
I.3. EEG-Grundlagen	13
I.4. Endophänotypen	17
II. HERLEITUNG DER HYPOTHESEN	20
II.1. Beta-Aktivität bei schizophrenen Patienten	20
II.2. Einfluss von Alter und Geschlecht auf die Beta-Aktivität	21
II.3. Einfluss der Medikation auf die Beta-Aktivität	21
II.4. Funktion der Beta-Aktivität als Endophänotyp	23
II.5. Zusammenhang zwischen Beta-Power und SNP rs279845	24
II.6. Hypothesen und Fragestellung	26
III. MATERIAL UND METHODEN	28
III.1. Studienablauf	28
III.2. Probanden und Patienten	28
III.3. EEG-Ableitung	30
III.4. Analyse des EEG	31
III.5. Blutentnahme und Genotypisierung	33
III.6. Statistische Auswertung	36
IV. ERGEBNISSE	37
IV.1. Deskriptive Statistik	37
IV.2. Multifaktorielle Kovarianzanalyse (MANCOVA)	46
V. DISKUSSION	58
V.1. Hypothesen und explorative Fragestellung	59

V.2. Limitierungen der Studie	65
VI. ZUSAMMENFASSUNG	68
VII. LITERATURVERZEICHNIS	71
VIII. ANHANG.....	78
VIII.1. Abkürzungsverzeichnis	78
VIII.2. Lebenslauf	80
VIII.3. Erklärung	81
VIII.4. Danksagung	82

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: GABA-A Rezeptor mit Untereinheiten.....	12
Abbildung 2: Entstehung von EPSP und IPSP.....	14
Abbildung 3: Phänotyp-Genotyp-Beziehung	18
Abbildung 4: Endophänotypstrategie	19
Abbildung 5: Hypothesenherleitung nach dem Endophänotypprinzip	26
Abbildung 6: Beispiel eines Easy-Cap Modells nach dem erweiterten 10-20-System.....	30
Abbildung 7: EEG-Signale im Zeitintervall.....	32
Abbildung 8: EEG-Signale im Frequenzbereich in Power	33
Abbildung 9: Allelische Diskrimination	35
Abbildung 10: Streudiagramm mit Signalintensitäten der Fluoreszenzfarbstoffe	36
Abbildung 11: Prozentuale Verteilung der Genotypen	38
Abbildung 12: Mittelwerte in μV^2 des Beta 1-Frequenzbandes und Streubereiche	49
Abbildung 13: Mittelwerte in μV^2 des Beta 2-Frequenzbandes und Streubereiche	49
Abbildung 14: Mittelwerte in μV^2 des Beta 3-Frequenzbandes und Streubereiche	50

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP) rs279845	33
Tabelle 2: Mögliche Genotypen	34
Tabelle 3: Genotypverteilung der Studienteilnehmergruppen	37

Tabelle 4: Allelverteilung der Studienteilnehmergruppen	38
Tabelle 5: Geschlechterverteilung und Altersdurchschnitt der Studienteilnehmergruppen.....	39
Tabelle 6: Altersdurchschnitt der Genotypen.....	40
Tabelle 7: Geschlechterverteilung der Genotypen	41
Tabelle 8: Klinische Angaben zu den Genotypen	42
Tabelle 9: Erstmanifestationsalter, Post-Hoc-Test mit Mehrfachvergleichen	43
Tabelle 10: Medikation der Genotypen.....	43
Tabelle 11: Neuroleptikamedikation der Genotypen	44
Tabelle 12: Benzodiazepinmedikation der Genotypen	44
Tabelle 13: F20-F25-Diagnosenverteilung der Genotypen.....	46
Tabelle 14: Beta 1-3 Mittelwerte der jeweiligen Genotypen beider Gruppen in μV^2	48
Tabelle 15: MANCOVA und Test der Zwischensubjekteffekte	51
Tabelle 16: Faktor ‚Gruppe‘ und die ungewichteten MW der Betafrequenzen in μV^2	53
Tabelle 17: Faktor ‚Genotypen‘ und die ungewichteten MW der Betafrequenzen in μV^2	55
Tabelle 18: Interaktion ‚Gruppe*Genotypen‘ und die ungewichteten MW der Betafrequenzen in μV^2	57

I. Einleitung

Bei der Schizophrenie wird wie bei anderen psychiatrischen Erkrankungen von einem multifaktoriellen Krankheitsmodell ausgegangen, bei dem speziell die genetische Prädisposition einen hohen Stellenwert in der Ätiologie besitzt. Dabei liegt der Schizophrenie ein polygener Erbgang mit vermutlich multiplen Risikogenen zugrunde. Die Suche nach den prädisponierenden Genen wird nicht nur durch die Polygenie, sondern auch durch heterogene Ergebnisse aus Assoziations- und Kopplungsstudien erschwert. Über die Zusammenhänge zwischen dem komplexen hetero- und polygenen Erbgang und dem rein klinisch definierten uneinheitlichen Phänotyp der Schizophrenie besteht noch Unklarheit.

Zur Aufklärung kann ein als Krankheitskorrelat gewerteter und neurobiologisch definierter Endophänotyp, der vermutlich den Einfluss eines Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP) direkter abbildet, herangezogen werden. Die Charakteristika des Ruhe-EEG erfüllen fast alle Voraussetzungen für neurobiologische Krankheitsmarker (Endophänotypen).

Bestehende Forschungsergebnisse legen einerseits den Schluss nahe, dass bei schizophrenen Patienten vermehrt Beta-Aktivität auftritt. Andererseits ergaben Studien mit alkoholkranken Patienten einen Zusammenhang zwischen der bei ihnen ebenfalls vermehrt auftretenden Beta-Aktivität und einem Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP) rs279845, der für die $\alpha 2$ -Untereinheit des GABA-A Rezeptors (GABRA2 Rezeptorgen) kodiert und einen Austausch der DNA-Base Adenin (A) gegen Thymin (T) bewirkt. Dadurch entstehen drei mögliche Genvarianten (A/A, A/T oder T/T). Diese Genvarianten können das Gleichgewicht zwischen Erregung und Hemmung modulieren und so zu einer unterschiedlich starken Aktivität der Beta-Frequenzen führen. Diese Ergebnisse geben Anlass in der vorliegenden Arbeit den Einfluss der Genvarianten auf die Beta-Aktivität bei schizophrenen und gesunden Studienteilnehmern zu untersuchen.

I.1. Schizophrenie und genetische Grundlagen

Die Schizophrenie wird den endogenen Psychosen zugeordnet und ist eine besonders schwierig zu behandelnde psychiatrische Erkrankung. Sie stellt neben den affektiven Störungen und den Suchterkrankungen eines der häufigsten und schwersten Krankheitsbilder in der Psychiatrie dar.

I.1.1. Symptomatik und Diagnosestellung

Die Schizophrenie ist eine Erkrankung, die das Denken, die Affektivität, die Wahrnehmung, das Handeln, die Psychomotorik und den Antrieb beeinflusst (Wobrock et al. 2004; Widschwendter und Fleischhacker 2005). Nach dem Klassifikationssystem ICD-10 gehören in den Abschnitt F20-F29 die Schizophrenie, die schizotype Störung, die anhaltenden wahnhaften Störungen, eine größere Gruppe akuter vorübergehender psychotischer Störungen und die schizoaffektiven Störungen. Da die Schizophrenie das wichtigste Krankheitsbild dieser Gruppe darstellt, wird in der vorliegenden Arbeit der Fokus auf der F20.x Gruppe liegen.

Die Schizophrenie wird nach dem Klassifikationssystem ICD-10 in mehrere Subtypen mit verschiedenen Leitsymptomen (beispielsweise paranoider (F20.0) oder katatoner Subtyp (F20.2)) klinisch unterteilt. Darüber hinaus wird zwischen Positiv- (Wahn, Halluzinationen, Ich-Störungen) und Negativsymptomatik (Affektverflachung, Anhedonie, Apathie und Asozialität) differenziert (Mass et al. 2000; Wobrock et al. 2004).

Bis heute ist unklar, ob die Schizophrenie mit all ihren Untertypen eine Erkrankung mit verschiedenen klinischen Manifestationsformen ist oder die heterogenen Syndrome unterschiedliche Krankheiten repräsentieren. So ist etwa die Grenze zwischen dem klinischen Erscheinungsbild/Phänotyp einer Schizophrenie (F20.x) und dem einer schizoaffektiven Störung (F25.x) nicht immer klar zu ziehen (Benes 2007; Kirov et al. 2005). Dennoch werden mangels geeigneter Alternativen die Diagnosen nach wie vor mit Hilfe von Klassifikationssystemen wie ICD-10 und DSM-IV, die auf der Psychopathologie ohne ätiopathogenetische Zuordnung basieren, klinisch gestellt. Vor der endgültigen Diagnosenstellung sollten durch genaue internistische, neurologische und apparative Untersuchungen hirnorganische Ursachen ausgeschlossen werden. Allerdings stehen bisher im Unterschied zu vielen somatischen Erkrankungen noch keine biologischen Marker zur Verfügung, die für die Schizophrenie diagnostisch verwertbar sind.

I.1.2. Epidemiologie

Die Wahrscheinlichkeit im Laufe des Lebens an einer Schizophrenie zu erkranken liegt für die Durchschnittsbevölkerung bei 1 % (Widschwendter und Fleischhacker 2005). Die Lebenszeitprävalenz liegt weltweit, d.h. unabhängig von Kultur, sozialem Status oder Geschlecht bei 0,5-1%. Das Erstmanifestationsalter liegt im Durchschnitt zwischen dem 18.-30. Lebensjahr. Männer haben ein mittleres Erkrankungsalter um das 21. und Frauen um das 26. Lebensjahr. Darüber hinaus können den verschiedenen Subtypen der Schizophrenie auch unterschiedliche Prädilektionsalter zugeordnet werden. So manifestiert sich der hebephrene Typ bevorzugt vor

dem 20. Lebensjahr und der paranoide Typ häufig erst im vierten Dezennium. Auch die Erkrankungsdauer und der klinische Verlauf schizophrener Patienten können zwischen Vollremission und chronischem Verlauf mit einer dauerhaften Veränderung der Persönlichkeit stark divergieren (Wobrock et al. 2004).

I.1.3. Ätiopathogenese und genetische Grundlagen

Bei der Annahme einer multifaktoriellen Genese der Schizophrenie wird der genetischen Vulnerabilität am meisten Aufmerksamkeit geschenkt. Vulnerabilität beschreibt das Vorhandensein einer Disposition zur Manifestation der Schizophrenie, deren Zustandekommen sowohl auf genetischen als auch auf anderen Einflüssen (neurobiologischen, psychologischen, sozialen und Umweltfaktoren) basiert (Wobrock et al. 2004).

Neben der Genetik, die als wichtigster ätiologischer Faktor der Schizophrenie angesehen wird, werden also auch Risikofaktoren wie perinatale Schädigungen („Minimal Brain Dysfunction“), virale Infektionen in der prä- oder postnatalen Periode, psychosozialer Stress („High-expressed-emotions“-Familien oder psychosoziale Über- und Unterstimulation) mit in Erwägung gezogen. Neurobiologische und -pathologische Veränderungen, die sich auch bei vielen schizophrenen Patienten finden, werden oft als Folge der genetischen Prädisposition beschrieben (Wobrock et al. 2004). Die Kenntnisse der genetischen Grundlage der Schizophrenie beruhen auf Familien-, Zwillings- und Adoptivstudien, aus denen hervorgeht, dass die Morbidität in betroffenen Familien höher ist als bei der Durchschnittsbevölkerung (Inzidenz ca. 1%) (Kety et al. 1994; Siira 2007; Cardno und Gottesman 2000; Sullivan et al. 2003). Die Wahrscheinlichkeit an einer Schizophrenie zu erkranken liegt bei Angehörigen ersten Grades bei etwa 10%, bei Angehörigen zweiten Grades bei ungefähr 5%. Sind beide Elternteile erkrankt, erhöht sich das Risiko auf etwa 40%. Bei eineiigen Zwillingen liegt die Konkordanzrate bei ca. 50%, wohingegen sie bei zweieiigen nur bei etwa 15% liegt (Kirov et al. 2005). Diese Ergebnisse stützen die Annahme, dass neben der Genetik auch andere Faktoren wie Umwelteinflüsse eine Rolle spielen. In der Vergangenheit stellten Familien-, Adoptions- und Zwillingsstudien eine geeignete Methode zur Trennung genetischer Faktoren von pathogenen Umwelteinflüssen dar und zeigen, dass ein früher Einfluss schizophrener Eltern weniger prägend ist als die genetische Disposition. Das Risiko bei monozygoten Zwillingen beträgt etwa 30 – 50% und bei dizygoten Zwillingen unter 10%. So wiesen beispielsweise Kinder schizophrener Eltern, die von nicht betroffenen Familien adoptiert worden waren, auch ein erhöhtes Erkrankungsrisiko auf. Dieses Erkrankungsrisiko kann unter belastenden familiären Einflüssen ansteigen und bei günstigen Familiensituationen sinken (Kety et al. 1994; Siira 2007; Tienari 1991, 2004).

I.1.4. Genetische Untersuchungsmethoden

Obwohl die Sequenzierung des menschlichen Genoms (3 Milliarden Basenpaare) abgeschlossen ist, bleiben noch viele Fragen über krankheitsverursachende Gene, Genloci und deren mögliche Mutationen offen.

Wie aus der Beschreibung der Familienstudien (I.1.3.) abgeleitet werden kann, geht man bei der Schizophrenie nicht von einem monogenen, sondern von einem komplexen polygenen Erbgang aus (Sullivan et al. 2003), in dem sich mehrere Gene in ihrer Penetranz unterscheiden und in ihrem Effekt summieren oder noch wahrscheinlicher auf synergistische und/oder antagonistische Weise interagieren (Epistase, multiplikatives Modell). Dadurch hat jedes einzelne Allel bei diesen polygenen Erbgängen nur einen moderaten bis geringen Einzeleffekt (Kirov et al. 2005). Somit wird das klinische Erscheinungsbild (Phänotyp) durch die ungleiche Wirkung vieler verschiedener Gene, die unterschiedlich stark mit Umwelteinflüssen interagieren, beeinflusst (Nicodemus et al. 2007). Viele der mutmaßlichen Risikogene wirken wahrscheinlich auf veränderter Genexpressionsebene oder beeinflussen die Signaltransduktion auf Synapsenebene, die Plastizitätsregulierungen und/oder die Synapsogenese (Harrison und Weinberger 2005). Auch der Einfluss epigenetischer Faktoren (vererbare Faktoren ohne Veränderung der DNA-Sequenz, z.B. Änderungen in der DNA-Methylierung oder Chromatinstruktur) wird mit in Erwägung gezogen (Harrison und Weinberger 2005). Fasst man all diese Faktoren zusammen, spricht man von einer multifaktoriellen Vererbung.

Aufgrund dieser komplexen Vererbungsmechanismen ist es der Schizophrenieforschung bisher nicht gelungen, eine genaue Anzahl der Risikogene und ihren jeweiligen Anteil am Erkrankungsrisiko sowie den Grad der Wechselwirkung der Gene untereinander festzulegen.

Mit Hilfe von Kopplungs- und Assoziationsstudien kamen aber einige Chromosomenregionen und Gene, die auch in zahlreichen Studien bestätigt werden konnten, in die engere Auswahl (Badner und Gershon 2002; Lewis et al. 2003; Owen et al. 2004; Petryshen et al. 2005). Allerdings wurden genetische Assoziationsstudien häufig aufgrund ihrer begrenzten Aussagekraft und methodischer Probleme bezüglich polygener Erbgänge, Gen-Gen- sowie Gen-Umwelt-Interaktionen und der rein klinisch definierten Phänotypen kritisiert (Malhotra et al. 1999). Für eine Übersicht über die empirischen Daten zur genetischen Basis der Schizophrenie siehe auch Harrison und Weinberger (2005), Le Niculescu et al. (2007) und Gallinat et al. (2008).

In *Kopplungsstudien* wird bei erstgradigen Verwandten (z.B. Geschwistern), die sich hinsichtlich des zu untersuchenden Merkmals ähnlich sind, die Vererbung der ausgewählten Marker untersucht. Mit Kopplung meint man die enge räumliche Nähe eines gesuchten Allels und eines

bereits bekannten „Markerallels“ auf demselben Chromosom. Gekoppelte Allele treten in Abhängigkeit voneinander zusammen auf und werden gemeinsam vererbt, d.h. sie kosegregieren (Ausnahme sind Translokationen während der Meiose) und können während der Meiose nicht frei rekombiniert werden. Je näher das „Markerallel“ und das gesuchte Allel auf dem Chromosom beieinander liegen, desto unwahrscheinlicher ist eine Trennung der beiden während eines Crossing-overs. Solange das bekannte „Markerallel“ und das gesuchte Allel überzufällig häufig auf demselben Chromosom innerhalb einer Population gemeinsam auftreten, befinden sie sich im Kopplungsungleichgewicht. Sie werden also nicht mehr zufällig verteilt, sondern treten häufiger gemeinsam auf als erwartet. Aus dem Wissen über das Vorliegen des bekannten „Markerallels“ kann mit einer bestimmten Wahrscheinlichkeit auf das Vorliegen des gesuchten Allels und damit auf eine bestimmte Chromosomenregion geschlossen werden (Rujescu 2007).

Während sich mit Kopplungsstudien nur die Chromosomenregion, auf der sich Risikogene befinden könnten, eingrenzen lässt, wird mit Hilfe von *Assoziationsstudien* eine durch Mutation möglicherweise veränderte Allelfrequenz bei den Merkmalsträgern gegenüber den Nichtmerkmalsträgern identifiziert (Rujescu 2007). Assoziationsstudien basieren auf den Ergebnissen der Kopplungsstudien und vergleichen mit statistischen Verfahren die Allelfrequenzen zwischen Patienten und einer gesunden, nicht verwandten Kontrollgruppe. Dabei werden Personen, die Träger eines bestimmten Merkmals (wie das Krankheitsbild Schizophrenie) sind, mit einer Kontrollgruppe verglichen, die das Merkmal nicht besitzt. Polymorphismen verschiedener Kandidatengene werden bei den Merkmalsträgern und der Kontrollgruppe untersucht und die Allelhäufigkeit in beiden Gruppen miteinander verglichen. Tritt ein Allel in der Gruppe der Merkmalsträger statistisch signifikant häufiger auf, kann das auf einen ätiopathogenetischen Zusammenhang zwischen dem Allel des infrage kommenden Gens und der Krankheit hindeuten. Eine genetische Assoziation besteht, wenn zwei oder mehr Merkmale in einer Population überzufällig häufig gemeinsam auftreten und bei mindestens einem ein genetischer Erbgang bekannt ist (Rujescu 2007). Die Kombination der Kopplungs- und Assoziationsstudien hat bereits zu einer Reihe von positiven Studienergebnissen geführt und mögliche Risikogene für Schizophrenie wie beispielsweise Dysbindin auf Chromosom 6p22.3 und Neuregulin 1 auf 8p21-22 aufgedeckt (Riley et al. 2006; Rujescu 2007).

I.1.5. Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP)

Der Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP) stellt eine Art der DNA-Sequenzvariation dar, bei der es zum Austausch eines Basenpaares in einem DNA-Strang kommt und folglich drei unterschiedliche Genotypen entstehen (Shastry 2002). Dadurch kann der SNP zu Unterschieden

im Phäno- und Endophänotyp zwischen Individuen beitragen, obwohl nur die wenigsten SNP direkten Einfluss auf die Proteinkodierung ausüben (Harrison und Weinberger 2005; Hirschhorn und Daly 2005). Die meisten SNP liegen in nicht-kodierenden Bereichen der DNA (Introns) und können dadurch beispielsweise Einfluss auf das Splicing der RNA oder das Binden von Transkriptionsfaktoren ausüben (Harrison und Weinberger 2005). SNP kommen häufig vor und werden auch als „erfolgreiche Punktmutationen“ bezeichnet, da sie den Genpool einer Population bereichern. Sie besitzen eine hohe Variabilität und sind mit schnellen und einfachen Methoden aufzufinden. Sie werden häufig in Assoziationsstudien verwendet, weil sie insbesondere bei polygenen Erbgängen helfen die zugrunde liegenden Gene zu identifizieren. Die Effekte einzelner Polymorphismen auf den Phänotyp sind - vermutlich aufgrund der Heterogenität und der Komplexität des klinischen Krankheitsbildes – jedoch gering. Umso logischer erscheint es, dass der Einfluss einzelner Polymorphismen auf einen weniger komplexen Endophänotyp stärker und direkter abgebildet wird als auf den Phänotyp (siehe I.4.; Zobel und Maier 2004). Bestenfalls könnte eine mögliche Assoziation zwischen einem Allel und einem neurobiologischen Marker (wie EEG-Frequenzbänder) ein Hinweis dafür sein, dass das Allel ein für die Krankheit verantwortlicher Faktor ist (Begleiter und Porjesz 2006).

Ein Haplotyp ist die gekoppelte Kombination aus verschiedenen Allelen. Er kann sich innerhalb einer Population durch Polymorphismen (SNP) unterscheiden. Ein „tag SNP“ ist ein repräsentativer SNP in einer Genomregion mit niedriger Haplotypdiversität und hohem Kopplungsungleichgewicht. Ein „tag SNP“ wird als hinreichend und repräsentativ für die meisten Haplotypdiversitäten des menschlichen Genoms angesehen. Demzufolge müssen nicht zwingend alle SNP eines Haplotypen genotypisiert werden, sondern ein SNP ist meistens ausreichend (Zhang et al. 2005).

Der von Edenberg et al. (2004) beschriebene SNP rs279845 steht im Fokus dieser Arbeit und bewirkt auf dem Chromosom 4 einen Austausch der DNA-Base Adenin (A) gegen Thymin (T) in der Nukleotidposition 46179646 innerhalb des Introns 4 des GABRA2-Rezeptorgens (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispmim.cgi?id=137140>). Daraus ergeben sich drei mögliche Genvarianten A/A, A/T, T/T.

I.2. GABA-A Rezeptor

Der SNP rs279845 kodiert für die $\alpha 2$ -Untereinheit des GABA-A Rezeptors. Gamma-Aminobuttersäure (GABA) ist der wichtigste inhibitorische Neurotransmitter im menschlichen

ZNS und bindet an ionotrope (GABA-A und GABA-C) oder metabotrope (GABA-B) Rezeptoren (Barnard et al. 1998; Charych et al. 2009). Die GABA-A Rezeptoren sind ligandengesteuerte Ionenkanäle und bestehen aus Transmembranproteinen in Nervenzellen, die spezifisch GABA binden und für Chlorid und Bikarbonationen durchlässig sind. Die meisten im Gehirn lokalisierten GABA-A Rezeptoren bestehen aus fünf Untereinheiten und sind häufig aus zwei α -, zwei β - und einer γ -Untereinheit aufgebaut (siehe Abb. 1).

Es gibt diverse GABA-A Rezeptorisoformen (Barnard et al. 1998), deren zahlreiche Kombinationsmöglichkeiten aus den verschiedenen Typen von α - (GABRA1, GABRA2, GABRA3, GABRA4, GABRA5, GABRA6), β - (GABRB1, GABRB2, GABRB3), γ - (GABRG1, GABRG2, GABRG3) und vielen anderen möglichen (δ -, ϵ -, π - θ -) Untereinheiten die Eigenschaften (wie z.B. Affinität zum Rezeptoragonisten) der jeweiligen Rezeptorisoform bestimmen können (Rudolph et al. 2001; Charych et al. 2009). Das für die $\alpha 2$ -Untereinheit des GABA-A Rezeptors kodierende Gen wird GABRA2-Rezeptorgen genannt. Das Gen befindet sich auf dem kurzen Arm des Chromosom 4, Lokalisation 4p12. Die Genregion startet bei 45,946,341bp und endet bei 46,086,702bp (www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=GABRA2).

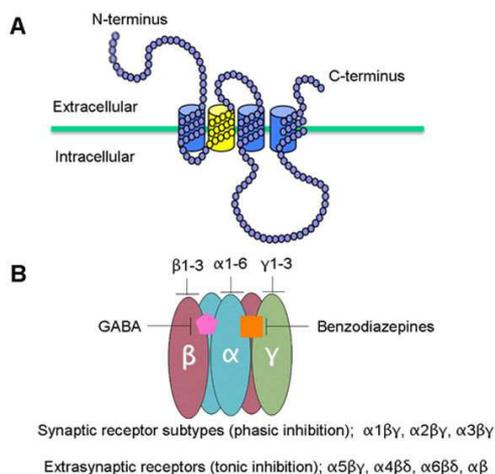


Abbildung 1: GABA-A Rezeptor mit Untereinheiten

A. The membrane topology of an individual GABAA receptor subunit, TM1-3 are indicated in blue and TM2 in yellow. **B.** The tertiary structure of assembled GABAA receptors. Receptor α subunits are illustrated in blue, β subunits in pink and δ/γ in green. The benzodiazepine binding pocket is formed between α and γ subunits (orange square) and the GABA binding pocket is formed between α and β subunits (pink pentagon). Quelle: Charych et al. 2009

Über den GABA-A Rezeptor werden auf Synapsenebene viele hemmende Interneurone reguliert, die wiederum Einfluss auf kortikal lokalisierte und erregend wirkende Pyramidenzellen haben (Whittington et al. 2000). Daraus entsteht ein Zusammenspiel von hemmenden und erregenden

Zellen, die eine Art elektrophysiologisches Gleichgewicht entstehen lassen, das, wenn es gestört wird, zu einem vermehrten Auftreten von Beta-Aktivität im EEG führen kann (Faulkner et al. 1999; Kopell et al. 2000).

Benes et al. (2001) nehmen an, dass verminderte Aktivität und Dichte inhibitorischer GABAerger Interneurone im Frontalhirn schizophrener Patienten pathologische Disinhibierungserscheinungen im EEG zur Folge haben können. Der Zusammenhang zwischen dem GABA-A Rezeptor und der Beta-Aktivität im Ruhe-EEG wird in Kapitel I.3.4. ausführlicher erläutert.

I.3. EEG-Grundlagen

I.3.1. Entstehung der EEG-Frequenzen

Zum besseren Verständnis des Zusammenhangs zwischen dem Elektroenzephalogramm (EEG) und dem GABA-A Rezeptor, sind wesentliche Erläuterungen der EEG-Grundlagen notwendig (zum Folgenden siehe insbesondere Zschocke 2002 und Kirschstein 2008).

Das EEG misst, wie auch das Elektrokardiogramm, als nicht-invasives Verfahren elektrische Spannungsdifferenzen, die von der Kopfhaut abgeleitet werden können. Für die Entstehung des EEG sind besonders die kortikalen Pyramidenzellen von Bedeutung. Über synaptische Verschaltung sind sie mit vielen kortiko-kortikalen, aber auch thalamo-kortikalen Nervenfasern verbunden. An den Synapsen wird die Erregung durch Neurotransmitter und die dazu gehörigen spezifischen Rezeptoren übertragen. Es gibt hemmende und erregende Synapsen.

Bei *exzitatorischen Synapsen* kommt es an der subsynaptischen Membran zu einer Transmitter-Rezeptor-Bindung. Der wichtigste erregende Transmitter ist Glutamat, das an AMPA- oder NMDA-Rezeptoren bindet. Diese Bindung bewirkt durch einen Na^+ Einstrom eine Erniedrigung des Ruhemembranpotentials (Depolarisation). Daher wird das Zelläußere der subsynaptischen Membran (Minuspol) im Vergleich zur postsynaptischen Membran (Pluspol) relativ negativer. Dieser elektrische Dipol wird EPSP, exzitatorisches postsynaptisches Potential, genannt (siehe Abb. 2).

Bei der *inhibitorischen Synapse* führt die Transmitter-Rezeptor-Bindung dagegen zu einem positiveren Zelläußeren (über vermehrten K^+ Ausstrom oder Cl^- Einstrom) und damit zu einer Erhöhung des Ruhemembranpotentials (Hyperpolarisation). Der daraus entstehende Dipol wird als IPSP, inhibitorisches postsynaptisches Potential, bezeichnet. Wichtigster inhibitorischer Transmitter ist GABA und seine Rezeptoren, die in der postsynaptischen Membran verankert sind (siehe Abb. 2).

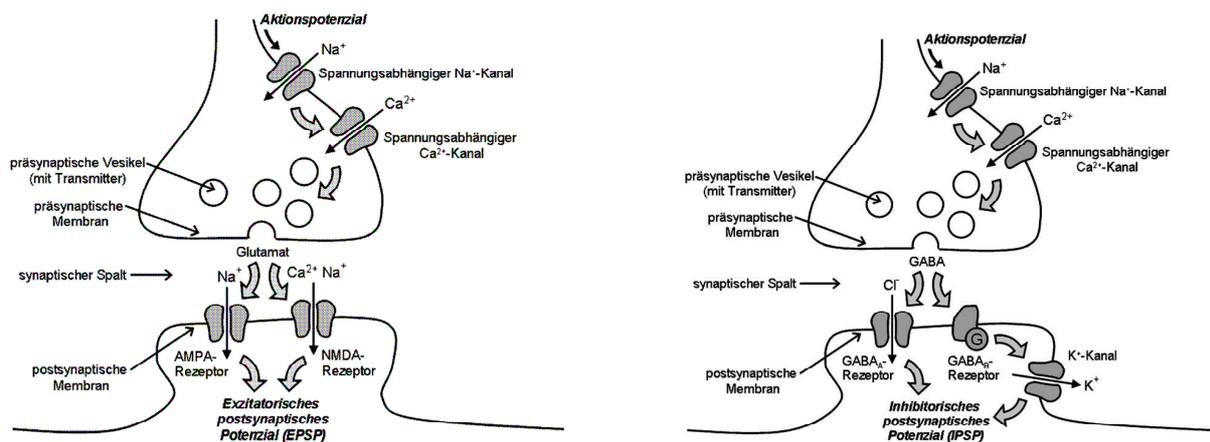


Abbildung 2: Entstehung von EPSP und IPSP

In der linken Synapse sieht man die Entstehung eines EPSP und den dazugehörigen AMPA- und NMDA-Rezeptoren. Rechts sieht man, wie über die in der postsynaptischen Membran lokalisierten GABA-A und GABA-B Rezeptoren ein IPSP ausgelöst wird. Quelle: Kirschstein 2008

Überlagerungen einzelner EPSP und IPSP führen zu langsam fluktuierenden *Summenpotentialen* der Neuronenmembran. Sie können im Gegensatz zu Aktionspotentialen (1-2 ms) mit einer Dauer von bis zu mehreren 100 ms auf dem Skalp messbare extrazelluläre Potentialschwankungen im Bereich von 50 bis 100 μV erzeugen und im EEG abgebildet werden. Eine große Pyramidenzelle in der Großhirnrinde hat bis zu 10.000 Synapsen. Neben den direkten Afferenzen aus Thalamus und anderen Kortexarealen erhalten kortikale Pyramidenzellen außerdem synaptische Einflüsse von Interneuronen.

Kortikale Pyramidenzellen stellen aufgrund ihrer anatomischen Lage mit einem langen apikalen Dendriten senkrecht zur Kortexoberfläche einen hervorragenden Dipol dar. An diesen Pyramidenzellen befinden sich oberflächliche und tiefe Synapsen, die unterschiedlich gepolt sind und wieder in erregende und hemmende Synapsen unterteilt werden.

Wenn viele gleichsinnig und gleichzeitig (synchron) ablaufende postsynaptische Potentiale stattfinden und somit viele gleichgepolte elektrische Dipole entstehen, summieren sich diese zu einem *elektrischen Potentialfeld*, das sich in Form von EEG-Wellen ableiten lässt. Je mehr synchrone Potentiale entstehen, desto höher wird die Amplitude und desto langsamer die Frequenz. Für das EEG spielen also sowohl die Ausrichtung der Pyramidenzellen als auch die zeitliche Synchronisierung elektrischer Dipole eine entscheidende Rolle.

Im entspannten Zustand mit geschlossenen Augen sind die sensorischen Eingänge reduziert, so dass es zu einem relativ synchronen EEG (Alpha-Rhythmus) kommt, das hauptsächlich die Ladungen der skalpnahen thalamokortikalen Afferenzen widerspiegelt. Bei Augenöffnung

kommt es aufgrund der visuellen Reize zu einer Desynchronisation der thalamo-kortikalen Afferenzen (Beta-Aktivität). Im desynchronisierten EEG summieren sich die Potentiale nicht so stark und es kommt zu einer kleineren Amplitude bei höherer Frequenz.

Das EEG unterliegt demnach komplexen Schaltkreisen und Netzwerken aus erregend wirkenden Pyramidenzellen und hemmend wirkenden Interneuronen, die beide wiederum thalamo-kortikale Afferenzen erhalten. Die EPSP und IPSP werden über entsprechende transmitter-sensitive Rezeptoren (NMDA-, AMPA- und GABA-Rezeptoren) ausgelöst und summieren oder subtrahieren sich, wodurch synchrone oder desynchrone Aktivität im EEG entsteht.

Infolgedessen stellen die EEG-Frequenzbänder bedeutungsvolle Korrelate der menschlichen Informationsbearbeitung und Kognition dar (Begleiter und Projesz 2006).

I.3.2. Die verschiedenen EEG-Frequenzen

Das EEG lässt sich in unterschiedliche Frequenzspektren unterteilen: Gamma (28,5-50Hz), Beta (12,5-28Hz), Alpha (8-12Hz), Theta (3,5-7,5Hz/s), Delta (0,5-3Hz) und Subdelta (<0,5Hz). Im Ruhe-EEG dominieren v.a. Alpha und Beta-Aktivität. Alpha-Aktivität findet man hauptsächlich über okzipito-parietalen und Beta-Aktivität vorwiegend über fronto-zentralen Hirnregionen. Die einzelnen Frequenzspektren werden auch als Frequenzbänder bezeichnet.

Das Beta-Frequenzband wird auch als „schnelle Aktivität“ bezeichnet und lässt sich in drei Frequenzbereiche unterteilen: Beta 1: 12,5-16Hz, Beta 2: 16,5-20Hz und Beta 3: 20,5-28Hz mit einer Amplitude zwischen 20 und 30 μ V (Porjesz et al. 2002). Man findet sie in wachem Zustand über beiden Gehirnhälften symmetrisch verteilt, am eindeutigsten jedoch ist sie in fronto-zentralen Ableitungen zu erkennen. Obwohl man den einzelnen EEG-Frequenzen keine eindeutige funktionelle Rolle zuordnen kann, geht man davon aus, dass die Beta-Frequenzbänder einen Zustand erhöhter Aktivität der zugrunde liegenden neuronalen Netzwerke widerspiegeln. Bei kortikalen Schäden kann es zu einer reduzierten oder fehlenden Beta-Aktivität kommen. Bei erhöhtem peripheren Signalfluss (z.B. Augenöffnen) wechseln thalamische Zellen ihren Funktionsmodus von einer phasischen Aktivierbarkeit (generiert den Alpha-Grundrhythmus) in den Modus einer andauernden Aktivierbarkeit (generiert die Beta-Aktivität).

I.3.3. Genetische Grundlagen und Reliabilität der EEG-Frequenzen

Genetische Analysen menschlicher EEG-Frequenzen helfen die Geneorte zu identifizieren, die für die individuelle menschliche neuroelektrische Aktivität verantwortlich sein könnte. Bereits vor einem halben Jahrhundert wurde aufgrund von Zwillings- und Familienstudien von einer genetischen Basis des menschlichen Ruhe-EEG berichtet, die nicht den Mendelschen Regeln

folge (Vogel 1957, 1962; Vogel et Götze 1959). In vergleichbaren anderen Studien erwiesen sich die meisten Ruhe-EEG Parameter ebenfalls als intraindividuell stabil und vererbbar (Benninger et al. 1984; Gasser et al. 1985; Stassen et al. 1987, 1988a, 1988b, 1998; Pollock et al. 1991). Auch in Untersuchungen mit alkoholabhängigen Patienten und ihren Nachkommen wurde die Vererbbarkeit der Beta-Aktivität, bzw. -power mehrfach postuliert (Costa und Bauer 1997; Bauer und Hesselbrock 1993; Rangaswamy et al. 2004). Die Beta-Power ist ein Maß für die Menge, bzw. absolute Gesamtaktivität im Beta-Frequenzbereich und besitzt die Maßeinheit μV^2 . In einer großen Zwillingsstudie, deren Ergebnisse von Van Beijsterveldt und Boomsma (1994) veröffentlicht wurden, wurde eine höhere Konkordanz bei monozygoten als bei dizygoten Zwillingspaaren in der Spektralanalyse des Ruhe-EEG gesehen. Auch Anokhin et al. (2006) sprechen von deutlichen genetischen Einflüssen auf die individuellen komplexen Unterschiede im Ruhe-EEG in einer Studie mit mono- und dizygoten Zwillingspaaren. Die abgeleiteten Frequenzbänder Alpha und Theta zeigten eine mittlere Vererbbarkeit von 89%, Beta eine von 86% und Delta eine von 76% (vgl. dazu auch Van Beijsterveldt et al. 1998; Van Baal et al. 1998). Da aber nie eine Vererbbarkeit von 100 % nachgewiesen werden konnte, sprechen die Zahlen, wie eingangs ausführlicher beschrieben (siehe I.1.3.), auch für das Vorhandensein von anderen nicht-genetischen Einflussfaktoren wie Alter, Geschlecht, Krankheitsprozesse und Wachheitsgrad, die ebenfalls eine, wenn auch weniger relevante, Rolle spielen als die Genetik (Vogel 1962; Stassen et al. 1987; Van Beijsterveldt et Boomsma 1994).

Das EEG und seine Frequenzen stellen daher zwar interindividuell unterschiedliche, aber intraindividuell über die Zeit stabile und vererbare Charakteristika dar (Pollock et al. 1991).

I.3.4. Beta-Aktivität und GABA-A Rezeptor

Benes et al. (2001) nehmen an, dass eine verminderte Aktivität und Dichte inhibitorischer GABAerger Interneurone im Frontalhirn schizophrener Patienten pathologische Dis-Inhibierungserscheinungen zur Folge haben. Haenschel et al. (2000) veranschaulichen und Porjesz et al. (2002, 2004) bekräftigen, dass die Beta-Aktivität GABA-A Rezeptortätigkeit involviert. Whittington et al. (2000) zeigen, dass das Entstehen der Beta-Frequenzbänder auf einem Zusammenspiel von exzitatorischen Pyramidenzellen und GABA-A Rezeptor-sensitiven inhibitorischen Interneuronen beruht. Schnelle synaptische Inhibition im ZNS von Säugern wird hauptsächlich über GABA-A Rezeptortätigkeit vermittelt (Tobler et al. 2001). GABA-A Rezeptortätigkeit ist demnach fundamental sowohl für Gamma- als auch für Beta-Frequenzbänder. Ein Blockade dieser Rezeptoren führt zu einem Synchronisationsverlust im EEG (Haenschel et al. 2000). Mutationen im GABA-A Rezeptor können das Gleichgewicht

zwischen Erregung und Hemmung zerstören und beispielweise zu einem vermehrten Auftreten von Beta-Frequenzen führen (Faulkner et al. 1999; Kopell et al. 2000; Whittington et al. 2000). Alkohol stimuliert die Freisetzung des Neurotransmitters GABA und führt daraufhin zu einer Stimulation der synaptischen und extrasynaptischen GABA-A Rezeptoren. Bei der Alkoholabhängigkeit wird vermutet, dass sich auf Dauer eine veränderte Zusammensetzung der GABA-A Rezeptor-Untereinheiten mit verminderter Ansprechbarkeit der Rezeptoren sowohl auf Alkohol als auch auf Benzodiazepine einstellt (Krystal et al. 2006). In einer großen Ruhe-EEG-Studie bei 307 alkoholabhängigen Patienten wurde eine vermehrte Aktivität der Beta 1- und 2-Powerwerte über allen Skalpbereichen verglichen zu einer nach Alter und Geschlecht gematchten Kontrollgruppe beschrieben (Rangaswamy et al. 2002, 2004). Auch Costa und Bauer (1997) und Covault et al. (2004) zeigten ähnliche Ergebnisse. Das vermehrte Auftreten der Beta-Power konnte sowohl bei abstinenten alkoholkranken Patienten als auch bei deren Nachkommen dokumentiert werden (Rangaswamy et al. 2002) und bekräftigt die Annahme eines zugrundeliegenden genetischen Vererbungsrisikos für die Alkoholabhängigkeit (Bauer und Hesselbrock 1993; Rangaswamy et al. 2004).

I.4. Endophänotypen

Das Konzept des „Endophänotyps“ kann als komplementäre Strategie zu den Kopplungs- und Assoziationsstudien auf der Suche nach den Risikogenen verwendet werden. Der Phänotyp, der das klinische Krankheitsbild einer Person repräsentiert, stellt das Endprodukt von Genotypen dar (siehe Abb. 3). Weil das Krankheitsbild der Schizophrenie sehr weitgefasst ist und der klinische Symptomenkomplex nicht eindeutig einem einzelnen charakteristischen Phänotyp zugeordnet werden kann (Benes 2007), werden in der Forschung bevorzugt neurobiologische Krankheitskorrelate verwendet, die quantitativ besser messbar sind und als sensitivere Indikatoren für die genetische Grundlage gesehen werden. Diese neurobiologischen Krankheitskorrelate werden als Endophänotypen bezeichnet (Gottesman und Gould 2003; Gallinat et al. 2008). Mit Hilfe bildgebender Verfahren lässt sich solch ein neurobiologisches Krankheitskorrelat ermitteln. Zu diesen bildgebenden Verfahren zählt das Elektroenzephalogramm (EEG), mit dem Veränderungen der spontanen und ereigniskorrelierten Gehirnaktivität untersucht werden können.

Ein Endophänotyp ist zwar häufig diskreter, aber wird wahrscheinlich direkter von Genen und weniger von nicht-genetischen Einflüssen modifiziert als der Phänotyp (Zobel und Maier 2004; Gallinat et al. 2008). Der Endophänotyp verkörpert somit einen Teilaspekt der Ätiopathologie

der Erkrankung und sollte im Idealfall einige Voraussetzungen erfüllen (Gottesman und Gould 2003; Zobel und Maier 2004):

- Der Endophänotyp sollte mit der Krankheit assoziiert sein.
- Er sollte vererbbar sein und somit eine mögliche neurobiologische Komponente der Erkrankung darstellen, die zur Symptomatik beiträgt.
- Die Normabweichungen sollten schon vor Krankheitsbeginn bestehen.
- Der neurobiologische Marker sollte auch bei nicht betroffenen Angehörigen verglichen zu einer Kontrollgruppe verändert sein.
- Der Endophänotyp sollte über die Zeit stabil und nicht durch Medikamente oder andere Erkrankungen beeinflussbar sein.

Die Genvarianten, die die Ausprägung des Endophänotyps bestimmen, stellen zugleich prädisponierende Gene der Erkrankung dar, beeinflussen den Endophänotyp aber direkter, da ihre Anzahl geringer ist, und sie eine höhere Penetranz bei geringeren Umgebungseinflüssen aufweisen. Das Konzept des Endophänotyps stellt eine Möglichkeit dar, Rückschlüsse vom Erkrankungsphänotyp auf die verantwortlichen Gene zu ziehen („downstream“) und umgekehrt von den Genen auf den Phänotyp zu schließen („upstream“). Dem klinischen Phänotyp „Schizophrenie“ liegen vermutlich viele Kombinationen neurobiologischer Endophänotypen zugrunde (Gottesman und Gould 2003; Zobel und Maier 2004), die sich wiederum auf bestimmte Gene und Allele zurückführen lassen (siehe Abb. 3 und 4).

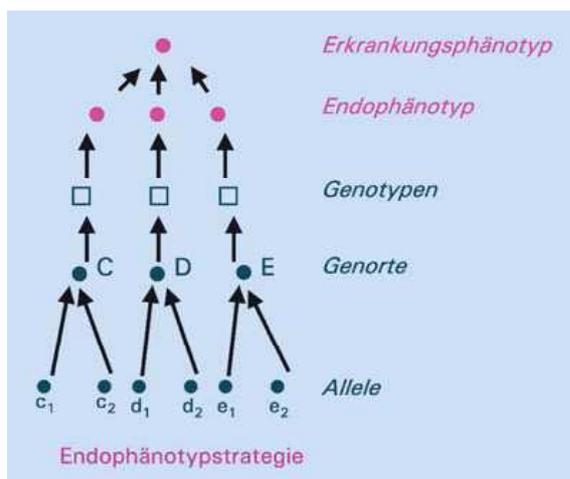


Abbildung 3: Phänotyp-Genotyp-Beziehung

Quelle: Zobel und Maier 2004

Ergebnisse von Studien mit Endophänotypen können Beiträge zu biologisch orientierten Klassifikationsystemen, Diagnosestellungen und psychopathologischem Verständnis psychiatrischer Erkrankungen leisten (Gottesman und Gould 2003). So gilt die veränderte P300-Amplitude im EEG als ereigniskorreliertes neurobiologisches Krankheitskorrelat einer Frontalhirnstörung, die wiederum pathophysiologischer Bestandteil der Schizophrenie ist (Gallinat et al. 2003). Die Frequenzbänder des Ruhe-EEG stellen hierbei besonders geeignete Endophänotypen dar, da sie vererbt werden und eine hohe intraindividuelle Stabilität und interindividuelle Variabilität aufweisen (Begleiter und Porjesz 2006).

Abbildung 4 veranschaulicht einige der Erfolge, die bereits mit der Endophänotypstrategie zur Identifikation oder näheren Eingrenzung von Risikogenen bei der Schizophrenie erzielt wurden.

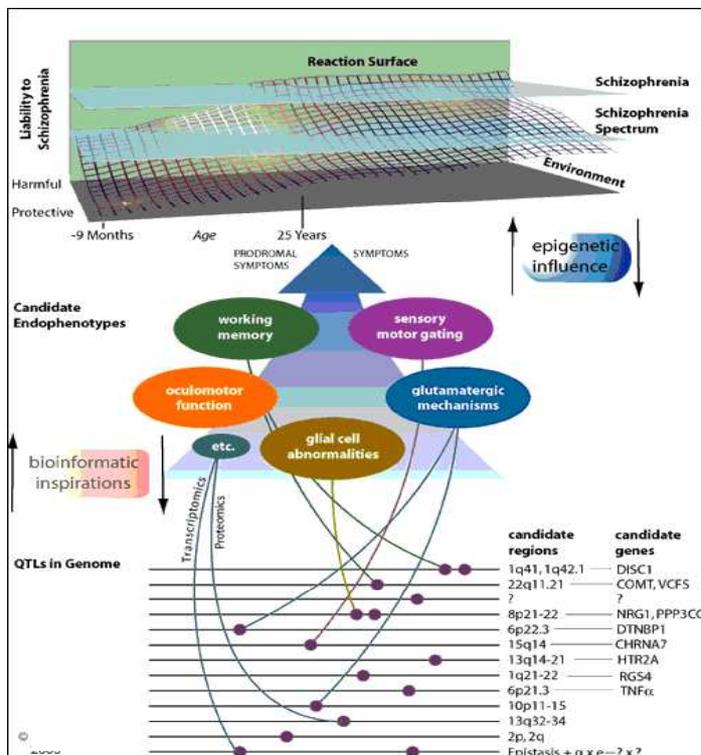


Abbildung 4: Endophänotypstrategie

Neurobiologische Marker werden bei der Suche nach den der Schizophrenie zugrunde liegenden Genen als Endophänotypen verwendet. Quelle: Gould und Gottesman 2006

Zum Beispiel stellten Egan et al. (2001) den Einfluss des Einzelbasenaustausch im COMT-Gen (158val-COMT) auf das Dopaminsystem dar. Das Enzym COMT (Catechol-O-Methyltransferase) baut Katecholamine wie Adrenalin, Noradrenalin und Dopamin ab. Akil et al. (2003) beschrieben den Zusammenhang von COMT-Polymorphismusträgern, einem frontal erhöhten Dopaminabbau und einer mesenzephal erhöhten Dopaminproduktion. Gallinat et al.

(2003) beobachteten in einer Studie mit schizophrenen Patienten einen signifikanten Effekt eines bestimmten COMT Genotyps des SNP G1947A auf die frontale P300 Amplitude, die als Endophänotyp diente, und fanden statistische Hinweise für eine Interaktion zwischen der Diagnose und dem Genotyp.

In Analogie zu diesen Studien soll auch in der vorliegenden Arbeit nach dem Prinzip des Endophänotypen vorgegangen werden.

II. Herleitung der Hypothesen

II.1. Beta-Aktivität bei schizophrenen Patienten

Wenn man die Vielgestaltigkeit psychopathologischer Befunde oder die diversen hirnstrukturellen Veränderungen und die interindividuelle Variabilität einer so komplexen Erkrankung wie der Schizophrenie bedenkt, ist nicht mit einfachen EEG-Charakteristika zu rechnen. Dennoch gibt es schon lange relativ übereinstimmende Studien über das vermehrte Auftreten von Beta-Aktivität, bzw. Power im Beta-Frequenzband bei schizophrenen Patienten (Dierks et al. 1995; Karson et al. 1988; Kemali et al. 1992; Saletu et al. 1990; Spondheim et al. 1994; Boutros et al. 2008). Auch in pharmakologischen Studien konnte vermehrt Beta-Aktivität, bzw. Power im Beta-Frequenzband bei nicht medizierten schizophrenen Patienten nachgewiesen werden (Herrmann und Winterer 1996; Tislerova et al. 2008). Laut Gross et al. (2006) sei bei schizophrenen Patienten dafür teilweise eine chronische Übererregung durch Dauerstimulation des „Ascending Reticular Activating System“ (ARAS, „Weckzentrum“) in der Formatio reticularis verantwortlich. Gross et al. (2006) schrieben auch der Positiv- und Negativsymptomatik eigenständige EEG-Veränderungen zu. Basierend auf Untersuchungen von Harris et al. (1999) berichteten sie dabei von einer signifikanten Korrelation zwischen dem Beta-Frequenzband über der Fz-Elektrode und der aus einem standardisierten Interview (Positive and Negative Syndrome Scale, PANSS) gewonnenen Punktezahl für Positiv- und Negativsymptome. Daraus folgerten die Autoren, dass das Beta-Frequenzband ganz unspezifisch mit einer Reihe von schizophrenen Symptomen korrelieren könnte.

Alfimova et al. (2003) und Venables et al. (2009) konnten in Studien mit schizophrenen Patienten und deren Angehörigen hauptsächlich über frontalen Hirnregionen vermehrt Aktivität in den Beta-Frequenzbändern ableiten. Alfimova et al. (2003) beschrieben in einer Ruhe-EEG Studie mit schizophrenen Patienten und deren Angehörigen, dass bei schizophrenen Eltern mehr

Beta-Aktivität aufgezeichnet wurde - sowohl langsame als auch schnelle - als bei deren jüngeren Verwandten, bei denen nur über fronto-temporalen Bereichen insbesondere schnelle Beta-Frequenzen abgeleitet wurden. Venables et al. (2009) konnten bei schizophrenen Patienten und ihren Angehörigen im Gegensatz zu bipolaren Patienten mehr Aktivität in den Beta-Frequenzbändern aufzeichnen und deuteten dies als Hinweis auf eine Störung v.a. in frontalen Hirnregionen und als eine genetische Prädisposition für die Erkrankung Schizophrenie.

II.2. Einfluss von Alter und Geschlecht auf die Beta-Aktivität

Im Säuglings- und Kindesalter finden sich v.a. Theta- und Delta-Aktivität. Mit zunehmendem Alter nehmen die langsamen Frequenzen ab und es finden sich tendenziell mehr schnelle Frequenzen (Dierks et al. 1993; Gasser et al. 1988). Auch Clarke et al. (2001) beschreiben eine relative Abnahme der Delta- und Theta-Aktivität und eine Zunahme der Alpha- und Beta-Aktivität mit fortschreitendem Alter. Roubicek (1975, 1977) beschrieb neben einer Abnahme der Alpha-Aktivität und der Frequenzen im Bereich von 13-25 Hz eine Zunahme der Frequenzen im Bereich von 25-30 Hz im Laufe des Alterungsprozesses.

Allgemein wird von einer Verlangsamung des Grundrhythmus und einer vermehrten Einstreuung von Beta-Frequenzen, insbesondere über zentralen Regionen, mit zunehmendem Alter berichtet. Dabei zeigen Mädchen ein frühzeitigeres Auftreten der mit dem Alter sich verändernden EEG-Frequenzen als Jungen (Benninger et al. 1984; Clarke et al. 2001) und Frauen häufiger eine im Alter auftretende Zunahme der Beta-Aktivität als Männer (Christian 1984).

II.3. Einfluss der Medikation auf die Beta-Aktivität

Im folgenden Abschnitt wird auf zwei Substanzklassen (Benzodiazepine und Neuroleptika), die die Beta-Aktivität beeinflussen können, näher eingegangen.

II.3.1. Benzodiazepine und Barbiturate

Benzodiazepine und Barbiturate, die ihre Wirkung als Sedativa und Hypnotika entfalten, führen häufig zu einer vermehrten Beta-Aktivität im EEG (Yamadera et al. 1993; Blume 2006). Benzodiazepine können die Wirkung von GABA verstärken, indem sie an α - und γ -Untereinheiten der GABA-A Rezeptoren binden und dadurch eine größere Affinität des Neurotransmitters GABA für den GABA-A Rezeptor bewirken. Für die Benzodiazepineffekte

auf das EEG (Änderungen im Frequenzspektrum) sind vermutlich die $\alpha 2$ -, $\alpha 3$ -, und/oder $\alpha 5$ - Untereinheit des GABA-A Rezeptors verantwortlich (Tobler et al. 2001). Die Art der Untereinheiten scheint auch die Wirkungsweise der Benzodiazepine mitzubestimmen. Die $\alpha 1$ - und $\alpha 5$ - Untereinheiten werden eher mit sedierender und amnestischer Wirkung in Verbindung gebracht, die $\alpha 2$ - und $\alpha 3$ - Untereinheiten eher mit anxiolytischen Effekten (Low et al. 2000). Die antikonvulsive Wirkung der Benzodiazepine wird vermutlich über alle Untereinheiten vermittelt. Benzodiazepine erhöhen im EEG die Beta-Aktivität, indem sie das Gleichgewicht zwischen exzitatorischen Pyramidenzellen und inhibitorischen Interneuronen unterbrechen und ein „Beta Buzz“ erzeugen, eine gesteigerte Aktivität von Beta-Frequenzen im EEG (Traub et al. 1996; Whittington et al. 1996). Typischerweise tritt die durch Benzodiazepine verursachte Beta-Aktivität in spindelförmigen Komplexen v.a. über frontalen und zentralen Kortexregionen auf (Herrmann und Winterer 1996). Eine Amplitude der Beta-Aktivität über $50\mu\text{V}$ (normal zwischen $20\text{-}30\mu\text{V}$) kann auch ein Hinweis auf eine pharmakologische Ursache sein.

II.3.2. Neuroleptika

Neuroleptika wirken anders als Benzodiazepine vorwiegend an Dopamin- und Serotonin-Rezeptoren und nicht an GABA-Rezeptoren. Die Studienlage hinsichtlich des Einflusses von Neuroleptika auf das EEG schizophrener Patienten ist nicht einheitlich und teilweise sogar widersprüchlich.

In einer Studie mit akuten und chronisch schizophrenen Patienten führte die Einnahme von typischen Neuroleptika bei akuten nicht medizierten Patienten, die zuvor ein arrhythmisches EEG mit vermehrter Beta-Aktivität aufgewiesen hatten, zu einer Verlangsamung und Synchronisierung der Frequenzen. Bei chronisch schizophrenen Patienten dagegen führte die Neuroleptikamedikation zu einer Abnahme der Synchronisation und zu einem vermehrten Auftreten von Beta-Aktivität (Herrmann und Winterer 1996). In einer anderen Studie wurde auch von einem allgemeinen gehäuften Auftreten von Delta- und schneller Beta-Aktivität bei nicht medizierten schizophrenen Patienten verglichen zu einer gesunden Kontrollgruppe berichtet. Allerdings ergaben die EEG-Aufzeichnungen direkt nach Einnahme von Haloperidol eine signifikante Abnahme der Delta- und Zunahme der Theta 2-, Beta1- und Beta 2-Frequenzbänder. In der Aufzeichnung nach 28 Tagen Behandlung mit Haloperidol wurden zusätzlich zu den vorherigen Veränderungen eine Zunahme der Alpha1- und Abnahme der schnellen Beta-Frequenzen beobachtet (Kemali et al. 1992). Spondheim et al. (1994) wiederum berichteten in einer Studie mit Erstmanifestations- und chronisch schizophrenen Patienten keine signifikanten Unterschiede gefunden zu haben und schlossen daraus, dass die EEG-

Veränderungen bei schizophrenen Patienten stabile EEG-Charakteristika darstellen und keine Epiphänomene der Medikation seien. Begic et al. (2000) untersuchten bei seit zwei Monaten gänzlich unmedizierten schizophrenen Patienten die Unterschiede im EEG vor und während der Medikation mit typischen Neuroleptika. Die erneute Medikamenteneinnahme nach zwei Monaten zeigte bei diesen Patienten eine Abnahme der Delta- und Beta 2-Frequenzbänder im EEG. Joutsiniemi et al. 2001 hingegen veranschaulichten, dass nach der Einnahme des atypischen Neuroleptikums Clozapin wiederholt Veränderungen im EEG im Sinne einer vermehrten paroxysmalen Delta-Theta-Aktivität auftraten. Eine neuere Studie, die nicht medizierte schizophrene Patienten mit einer Kontrollgruppe verglich, beschrieb ein vermehrtes Auftreten der Beta 1- und Beta 2-Frequenzbänder über dem temporo-okzipitalen Kortex und den posterioren limbischen Strukturen bei schizophrenen Patienten. Die Einnahme von atypischen Neuroleptika (Clozapin, Olanzapin, Risperidon) führte indessen eher zu einer Abnahme der Beta-Frequenzbänder verglichen zu einer Kontrollgruppe (Tislerova et al. 2008). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass es einen unspezifischen nicht über GABA-Rezeptoren fungierenden Einfluss von Neuroleptika auf die Beta-Aktivität gibt.

II.4. Funktion der Beta-Aktivität als Endophänotyp

Das Ruhe-EEG hat in der Messung des Endophänotyps verschiedene Vorteile verglichen zu anderen Methoden: Die Aufzeichnung ist unkompliziert, kann in fast jedem psychiatrischen Setting durchgeführt werden und wird von vielen Patienten gut akzeptiert.

Gemäß den in Kapitel I.4. beschriebenen Endophänotyp-Kriterien und der bisher zusammengetragenen Literatur lässt sich Folgendes festhalten:

- Die Beta-Aktivität, bzw. -Power lässt sich im Ruhe-EEG bei schizophrenen Patienten vermehrt ableiten (siehe II.1.).
- Die Beta-Aktivität steht unter genetischem Einfluss, ist vererbbar und stellt eine mögliche neurobiologische Komponente der Schizophrenie dar. Die genetische Determination der Beta-Aktivität ist vermutlich einfacher konstituiert als die des Phänotyps selbst (weniger Gene, höhere Penetranz, geringere Umwelteinflüsse). Die Beta-Aktivität wird somit aller Voraussicht nach direkter von den Risikogenen beeinflusst als die Schizophrenie (siehe I.3.3.).
- Ob die Normabweichungen hinsichtlich der Beta-Aktivität bereits vor Krankheitsbeginn nachweisbar sind, geht aus der Literatur nicht hervor.

- In EEG-Studien von Alfimova et al. (2003) und Venables et al. (2009) wird eine vermehrte Aktivität von Beta-Frequenzen, bzw. -Power, auch bei gesunden Angehörigen schizophrener Patienten beschrieben.
- Die Charakteristika des Ruhe-EEG stellen besonders geeignete Endophänotypkandidaten dar, da sie eine ausgeprägte interindividuelle Variation aufweisen, intraindividuell aber überdauernd stabil sind (Zobel und Maier 2004). Allerdings unterliegt die Beta-Aktivität auch starker äthyltoxischer und medikamentöser (Barbiturate, Benzodiazepine, Neuroleptika) Beeinflussbarkeit (siehe II.3.), die im Widerspruch zu den zu erfüllenden Endophänotyp-Kriterien steht.

Darüber hinaus wurde die Beta-Power bereits gezielt als Endophänotyp für genetische Untersuchungen bei alkoholkranken Patienten eingesetzt (Rangaswamy et al. 2002; Porjesz et al. 2002; Edenberg et al. 2004) und explizit als Endophänotyp bei schizophrenen Patienten empfohlen (Venables et al. 2009). In dieser Arbeit sollen die drei Untergruppe des Beta-Frequenzbandes im Ruhe-EEG als Endophänotypen fungieren.

II.5. Zusammenhang zwischen Beta-Power und SNP rs279845

Der Zusammenhang zwischen der Beta-Power und dem SNP rs279845 wurde bisher bei alkoholkranken, nicht aber bei schizophrenen Patienten nachgewiesen. Rangaswamy et al. (2002, 2004, 2008) beschreiben das vermehrte Auftreten absoluter Beta-Power bei alkoholkranken Patienten. Porjesz et al. (2002) führten basierend auf diesen Ergebnissen in einer Kopplungsstudie einen Genomscan bei alkoholkranken Patienten durch und fanden eine signifikante Kopplung zwischen der bei den Patienten erhöhten Power im Beta-Frequenzband und einem Cluster von GABA-A Rezeptorgenen (GABRA2, GABRA4, GABRB1 und GABRG1) auf Chromosom 4. Tatsächlich zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen allen drei Untergruppen der Beta-Frequenzbänder (Beta 1-3) und dem Cluster von GABA-A Rezeptorgenen. Mit dem Gebrauch von mehreren SNP verteilt über diesem Cluster veröffentlichten sie 2004, dass es insbesondere Genvariationen im GABRA2 Rezeptorgen waren, die zu der signifikanten Kopplung mit den Powerwerten in den Beta-Frequenzbänder geführt hatten. Sie schlussfolgerten, dass die Genvariationen im GABRA2 Rezeptorgen die EEG-Ableitungen und damit die Neuronenerregbarkeit (das Gleichgewicht zwischen Exzitation und Inhibition) direkt beeinflussen. Sie fanden einen Zusammenhang zwischen dem SNP rs279836 auf dem GABRA2 Rezeptorgen und dem Beta 2-Frequenzband. Personen, die

homozygot für den selteneren Genotyp (15%) des SNP rs279836 waren, hatten signifikant mehr Power im Beta 2-Frequenzband als Personen der anderen Genotypen und eine größere Wahrscheinlichkeit eine Störung der Neuroneninhibition mit sichtbaren EEG-Veränderungen zu manifestieren. Ghosh et al. (2003) berichteten ebenfalls von positiven Kopplungszusammenhängen zwischen der Beta-Aktivität und dergleichen Chromosomenregion. Allem Anschein nach enthält die Region auf Chromosom 4 folglich Gene, die die Beta-Aktivität beeinflussen.

Edenberg et al. (2004) untersuchten daraufhin bei alkoholkranken Patienten in Kopplungsungleichgewichtstudien 69 SNP innerhalb des Clusters für die Rezeptorisoformen: GABRG1, GABRA2, GABRA4, and GABRB1. Dabei fanden sie eine starke Assoziation der Beta-Power im Ruhe-EEG mit 25 verschiedenen SNP im GABRA2-Gen auf Chromosom 4 und darüber hinaus eine starke Assoziation mit der Alkoholabhängigkeit bei 31 unterschiedlichen SNP im GABRA2-Gen. Auf der Grundlage dieser Ergebnisse wurde vermutet, dass das GABRA2-Gen bei der Prädisposition der Alkoholabhängigkeit eine Rolle spiele, indem es das Level der neuronalen Erregbarkeit moduliere. Edenberg et al. analysierten weiterhin 2 Hochrisiko-Haplotypen auf dem GABRA2-Gen genauer. Der erste Haplotyp (bestehend aus 3 SNP: rs279871, rs279826 und rs279836) zeigte eine signifikante Assoziation mit der Alkoholabhängigkeit und der zweite (bestehend aus: rs279871, rs279845 und rs279836) eine noch signifikantere Assoziation mit den Beta-Frequenzbändern im Ruhe-EEG.

Der Zusammenhang zwischen GABRA2 und der Alkoholabhängigkeit wurde von einer Vielzahl anderer Studiengruppen wiederholt festgestellt (Covault et al. 2004; Drgon et al. 2006; Enoch et al. 2006; Fehr et al. 2006; Soyka et al. 2008).

Infolgedessen ist die Wahrscheinlichkeit, dass das vermehrte Auftreten von Beta-Aktivität bei schizophrenen Patienten ein Korrelat des zugrundeliegenden gestörten Gleichgewichts zwischen Pyramidenzellen und GABA-A sensitiven Interneuronen im Frontalhirn darstellt, relativ groß (Benes et al. 2001).

II.6. Hypothesen und Fragestellung

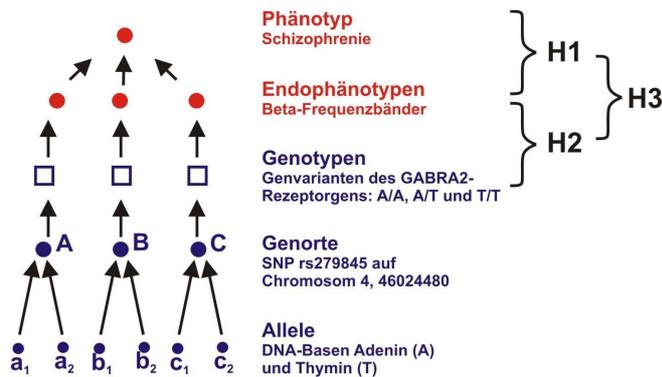


Abbildung 5: Hypothesenherleitung nach dem Endophänotypprinzip

Quelle: In Anlehnung an Zobel und Maier 2004

II.6.1. Erste Hypothese (H1)

Aus den in Kapitel II.1. beschriebenen Studien lässt sich folgende Hypothese ableiten:

Das Ruhe-EEG bei schizophrenen Patienten zeigt über frontalen Hirnregionen (an den Elektroden F3, Fz und F4) mehr Beta-Power als bei gesunden Probanden.

In der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, ob sich dieses Ergebnis replizieren lässt. In Anbetracht der in Kapitel II.4. hergeleiteten Aussagen und der möglicherweise in dieser Arbeit replizierten Befunde kann die vermehrte Beta-Power als neurobiologisches Krankheitskorrelat und folglich als Endophänotyp der rein klinisch gestellten Diagnose Schizophrenie angesehen werden. Aus der Abbildung 5 geht der in der ersten Hypothese (H1) deklarierte Zusammenhang zwischen Endophänotyp und Phänotyp hervor.

II.6.2. Nebenhypothesen

Wie in den Kapiteln II.2. und II.3. beschrieben, ist eine Abhängigkeit der Beta-Aktivität von Alter, Geschlecht und Medikation (Neuroleptika und Benzodiazepine) sehr wahrscheinlich. Daraus ergeben sich die folgenden drei Nebenhypothesen:

1. Nebenhypothese: *Es gibt einen Einfluss des Alters auf die drei Beta-Frequenzbänder an den Elektroden F3, Fz und F4.*
2. Nebenhypothese: *Es gibt einen Einfluss des Geschlechts auf die drei Beta-Frequenzbänder an den Elektroden F3, Fz und F4.*
3. Nebenhypothese: *Es gibt einen Einfluss der Medikation (Neuroleptika und Benzodiazepine) auf die drei Beta-Frequenzbänder an den Elektroden F3, Fz und F4.*

II.6.3. Zweite Hypothese (H2)

Basierend auf den in den Kapiteln II.4. und II.5. beschriebenen Ergebnissen der Studiengruppen um Porjesz und Edenberg sollen bei den Studienteilnehmern (schizophrene Patienten und gesunde Probanden) der vorliegenden Arbeit gezielt die Genotypen des SNP rs279845 typisiert werden, da eine positive Assoziation zu den Beta-Frequenzbändern im EEG am aussichtsreichsten und erfolgversprechendsten erscheint. Daraus lässt sich folgende Hypothese formulieren:

Es gibt einen Zusammenhang zwischen den verschiedenen Genvarianten des Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP) rs279845 (A/A, A/T, T/T) und den Powerwerten der drei Beta-Frequenzbänder (Endophänotypen) über frontalen Hirnregionen (Elektroden F3, Fz und F4).

Entsprechend den Endophänotyp-Prinzipien sollte dieser Zusammenhang zwischen Endophänotyp und Genotyp (siehe H2 in Abb. 5) trotz der komplexen genetischen Ausgangssituation deutlich einfacher nachzuweisen sein als ein Zusammenhang zwischen Phänotyp und Genotyp.

II.6.4. Explorative Fragestellung (H3)

Aufbauend auf den ersten beiden Hypothesen lassen sich folgende Überlegungen ableiten: Das Gleichgewicht zwischen Erregung und Hemmung in den drei Beta-Frequenzbändern wird über den GABA-A Rezeptor moduliert. Die durch den SNP rs279845 verursachten unterschiedlichen Genvarianten im GABRA2 Rezeptorgen könnten zu einer unterschiedlich starken Aktivität der Beta-Frequenzen führen. Eine ungleiche Häufigkeitsverteilung der Genotypen bei den Studienteilnehmern könnte infolgedessen mitverantwortlich für eine unterschiedliche Beta-Aktivität sein und beispielsweise bei schizophrenen Patienten vermehrt erscheinen. Träte ein Genotyp oder ein Allel in der Gruppe der schizophrenen Patienten statistisch signifikant häufiger auf, könnte das auf einen ätiopathogenetischen Zusammenhang zwischen Allel/Genotyp und Phänotyp hindeuten. Daraus ergibt sich folgende explorative Fragestellung:

Ist die Häufigkeitsverteilung der Genvarianten des Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP) rs279845 bei den schizophrenen und gesunden Studienteilnehmergruppen unterschiedlich?

Jedoch dürfte der Zusammenhang zwischen Genotyp und Phänotyp (siehe H3 in Abb. 5) aufgrund der beschriebenen komplexen genetischen Ätiologie und des heterogenen Krankheitsbildes „Schizophrenie“ deutlich schwerer nachzuweisen sein als die in der zweiten Hypothese formulierte Assoziation zwischen Endophänotyp und Genotyp (siehe II.6.3.).

III. Material und Methoden

III.1. Studienablauf

Die Ausführung und Organisation der Studie erfolgte unter Leitung von Prof. Gallinat, nachdem sie von der „Ethik-Kommission der Charité“ bewilligt worden war. Die vorliegende Arbeit war ein Teilprojekt einer größeren Studie, die unter dem Titel "Glutamaterges System und Schizophrenie" an der Psychiatrischen Universitätsklinik der Charite im Krankenhaus St. Hedwig durchgeführt wurde. Nach der Aufklärung über den Versuchsablauf und der Mitteilung über die anonymisierte Verwendung der erhobenen Daten und der gewonnenen Blutproben hatten alle Probanden und Patienten ihr schriftliches Einverständnis zur freiwilligen Teilnahme abgegeben.

Der Studienablauf wurde standardisiert bei allen Teilnehmern wie folgt durchgeführt:

- Aufklärung über die Studie mit Einverständniserklärung
- Erhebung demographischer Daten zur Person und Psychopathologie
- EEG-Ableitung:
 - Ruhe-EEG (Dauer: 5 Minuten)
 - P300 Komponente (Dauer: 11 Minuten)
 - Mismatch-Negativität (MMN) (Dauer: 7 Minuten)
- Blutentnahme (30 ml EDTA-Blut) und Tiefkühlagerung bei –18 Grad
- Genotypisierung des Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP) rs279845 im GABRA2 Rezeptorgen
- Erhebung der Positiv- und Negativsymptomatik bei schizophrenen Patienten mit Hilfe eines standardisierten psychiatrischen Interviews (PANSS) und neuropsychologische Testung

Die EEG-Ableitungen konnten aus organisatorischen Gründen und in Anbetracht des Klinikalltags nicht zu den gleichen Tageszeiten durchgeführt werden.

III.2. Probanden und Patienten

Die Rekrutierung der Probanden und der Patienten sowie die EEG Ableitungen, Blutentnahmen und Datenerhebung wurden sowohl von der Autorin selbst als auch mit Hilfe anderer Doktoranden und Mitarbeiter (Ärzte) des Hauses durchgeführt. Insgesamt wurden 453 Personen in die Studie aufgenommen, 343 gesunde Probanden und 110 schizophrene Patienten.

III.2.1. Allgemeine Ein- und Ausschlusskriterien

Eingeschlossen wurden Männer und Frauen kaukasischer Abstammung (vgl. Begleiter und Porjesz 2006) ab 18 Jahren jeder Altersgruppe.

Ausschlusskriterien für Studienteilnehmer waren:

- Internistische Erkrankungen (Bsp.: Metabolische Systemerkrankungen)
- Maligne Erkrankungen
- Hirnorganische Erkrankungen (Bsp.: Morbus Parkinson, Demenz, unklare neurologische Symptome)
- Schädelhirntraumata
- Infektiöse Erkrankungen (Bsp.: Hepatitis C, HIV-Infektion)
- Klinisch relevante laborchemische Veränderungen
- Bekannter Substanzmittelmissbrauch (Bsp.: Amphetamine, Cannabis)
- Hörprobleme

III.2.2. Studienteilnehmer

Die Rekrutierung der 343 gesunden Probanden erfolgte über Inserate in Berliner Tageszeitungen. In einem telefonischen Vorgespräch wurden Ein- und Ausschlusskriterien anhand eines halbstandardisierten Telefoninterviews und dem Mini-SCID (vgl. Sheehan et al. 1998) bereits im Vorfeld geprüft. Eine positive psychiatrische (Familien-) Anamnese war neben den bereits erwähnten ein weiteres Ausschlusskriterium speziell für die Probandengruppe. Die geladenen Probanden kamen zu einem zeitnahen Termin und bekamen jeweils 40 Euro Aufwandsentschädigung.

Die Rekrutierung der Patienten erfolgte hauptsächlich im St. Hedwig Krankenhaus, in der Psychiatrischen Universitätsklinik der Charité und in der Ambulanz der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Charité (CCM). Es wurden 110 Patienten mit einer Erkrankung aus dem schizophrenen Formenkreis (ICD-10: F20-F25) eingeschlossen. Die Diagnosen wurden von unabhängigen Fachärzten psychiatrischer Stationen gestellt und ihre Verwendung für die Studie in einem Gespräch überprüft. Bei 19 der 110 Patienten war in der Vorgeschichte ein Alkoholmissbrauch bekannt. Allerdings gab es bei keinem dieser Patienten einen aktuellen Substanzmissbrauch. Die Patienten erhielten aus ethischen Gründen keine Aufwandsentschädigung.

III.3. EEG-Ableitung

Die EEG-Ableitungen fanden in einem geräuscharmen, leicht abgedunkelten Raum statt. Die Probanden saßen in halbliegender Position in einem bequemen Sessel, der mit Armlehnen und Nackenstütze ausgestattet war. Die Ruhe-EEG Messung erfolgte im entspannten, aber wachen Zustand mit geschlossenen Augen.

Abgeleitet wurde von 36 Ag/AgCl Ringelektroden mit fix definierten Positionen nach dem erweiterten 10-20-System, die über einen Adapter an der Subtemporalhaube Easy-Cap (ehemals Falk Minow Services) befestigt wurden (siehe Abb. 6). Um eine passende Haubengröße auszuwählen, wurde der Kopfumfang und zur richtigen Platzierung der Nasion-Inion Abstand gemessen. Die Cz-Elektrode wurde auf halben Weg zwischen Nasion und Inion lokalisiert und diente als Referenzelektrode (siehe Abb. 6). Um Widerstände zu minimieren, wurden die unter den Elektroden liegenden Haare zur Seite geschoben, die Kopfhaut mit Alkohol gereinigt und ein salzfreies abrasives Elektrolytgel verwendet. Auf diese Weise konnte die erforderliche Leitfähigkeit der Elektroden von unter 10 k Ω erreicht werden. Eine LO1-Elektrode zur Kontrolle der Augenbewegungen wurde 1cm lateral vom linken Augenrand platziert.

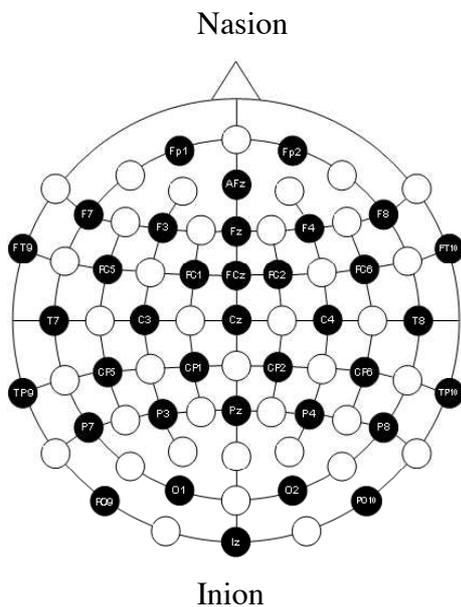


Abbildung 6: Beispiel eines Easy-Cap Modells nach dem erweiterten 10-20-System.

Quelle: <http://www.easycap.de/easycap/e/products/products.htm#15>

Für die EEG-Aufzeichnungen wurde ein Pentium-III PC mit dem Verstärker ‚BrainAmp MR‘ (Amplifier) und der Software ‚Brain Vision Recorder‘ Version 1.02 (Hersteller: Brain Products) verwendet. Die Bandbreitenfilterung befand sich zwischen 0,02 und 50Hz. Die Abtastrate lag bei

500HZ. Zur Archivierung wurde der Brain Vision Datamanager 0.94c (Brain Products) verwendet. Die Ableitung begann mit dem für die vorliegende Studie relevanten Ruhe-EEG. Da die darauffolgenden Aufzeichnungen (P300, MMN) für die Arbeit nicht von Bedeutung sind, wird im Weiteren auf deren nähere Erläuterung verzichtet.

III.4. Analyse des EEG

Die Analyse des Ruhe-EEG erfolgte mit dem ‚Brain Vision Analyzer‘ Version 1.04. Die Daten wurden in die Mittelwertsreferenz transformiert, d.h. das gemittelte Potential aller Elektroden bildet die Referenz für die ausgewerteten Kanäle. Der Vorteil ist, dass Ableitungen gegen eine Mittelwertsreferenz weniger durch Artefakte belastet sind als bei einer natürlichen Referenzschaltung. Die Mittelwertsreferenz ist weniger störanfällig und gibt eine korrektere Darstellung der EEG-Potentiale wider als eine bipolare Ableitung. Allerdings können durch die Mittelwertsreferenz lokale Aktivitätsschwankungen abgeschwächt oder artifiziell auf andere Ableitgebiete übertragen werden (Zschocke 2002).

In der vorliegenden Arbeit wurde ein auf 30 Sekunden reduzierter repräsentativer Abschnitt (Segment) des fünfminütigen Ruhe-EEG von der Autorin selbst mit Markern gekennzeichnet. Dabei wurden die EEG-Aufzeichnungen zunächst auf bereits mit bloßem Auge sichtbare Vigilanzminderungen und Artefakte (wie z.B. Muskelartefakte mit Amplituden über 100 μ V, Elektrodenablösungen, Wechselstrom von 50Hz und Augenbewegungen), die eine deutliche Gestaltänderung im EEG hervorrufen, überprüft. Traten Artefakte auf, wurden diese Abschnitte von der weiteren Analyse ausgeschlossen. Weiterhin wurde darauf geachtet, dass der zur Auswertung markierte Abschnitt dem vorherrschenden Funktionszustand des jeweiligen EEG entsprach. Die Autorin markierte je nach Qualität der Aufzeichnung entweder 3 x 10s, 2 x 15s oder 1 x 30s Segmente. Die auf diese Weise ausgewählten EEG-Segmente wurden einer Baselinekorrektur unterzogen, die alle Potentiale im Zeitintervall mittelt und eine Nulllinie definiert.

Da sich die Beta-Aktivität, bzw. -Power, v.a. über frontalen Regionen ableiten lässt (Herrmann und Winterer 1996; Alfimova et al. 2006; Gross et al. 2006; Venables et al. 2009) und die besondere Beteiligung des Frontalhirns im Zusammenhang mit der GABAergen Beteiligung bei schizophrenen Patienten diskutiert wird (Benes et al. 2001), wurden zur weiteren Verarbeitung nur noch die Daten frontaler Elektroden (F3, Fz und F4) verwendet (siehe Abb. 6). Um eine Normierung der nicht normal verteilten Variablen zu erreichen, wurden die Elektrodendaten logarithmiert. Die quantitative Auswertung der markierten Segmente erfolgte mit Hilfe einer

Spektralanalyse, einer Fast Fourier Transformation (FFT) (vgl. Begic et al. 2000). Die FFT bedient sich eines mathematischen Verfahrens (basierend auf einer hypothetischen Annahme), mit dem sich EEG-Wellen in Sinuswellen unterschiedlicher Frequenz zerlegen lassen. Die FFT kann EEG-Signale im Zeitbereich in Signale im Frequenzbereich (siehe Abb. 7 und 8) überführen. Sie mittelt die Daten aller Frequenzbereiche und betrachtet die Amplitudengröße als „Leistung“. So entsteht ein Leistungsspektrum („power sepctrum“), das in absoluter Power (μV^2) und in räumlicher Abhängigkeit (d.h. für jede einzelne Elektrode) angegeben werden kann. Die Spektralanalyse liefert für eine bestimmte Frequenz (z.B. 10 Hz) oder ein Frequenzband (z.B. 8,5-12 Hz) eine mittlere Amplitude (in μV) die, wenn sie quadriert wird die Power mit der Maßeinheit μV^2 ergibt. Mit der absoluten Power kann das Verhältnis der einzelnen Frequenzbänder untereinander besser beurteilt werden. Die Frequenzanalyse ist eine Methode, mit der die Unvollkommenheiten der visuellen EEG-Auswertung ausgewogen werden können. Die Frequenzanalysen der FFT lassen sich nur segmentweise durchführen. Die in einer FFT ermittelten Powerwerte sind somit Mittelwerte der zuvor von Hand markierten 30s-Segmente. Dabei wurden die jeweiligen Power-Mittelwerte der drei Elektroden F3, Fz und F4 addiert und durch drei geteilt. Die manuelle Segmentauswahl ist zwar durch subjektive Aspekte mitgeprägt, hat aber den Vorteil, dass die berechnete Beta-Power nicht durch Muskelaktivität kontaminiert ist. Der Fokus lag auf den absoluten Powerwerten der Beta 1 (12.5-16Hz), Beta 2 (16.5-20Hz) und Beta 3 (20.5-28Hz) -Frequenzbänder (vgl. Abb. 8 und Kapitel I.3.2.), die in dieser Arbeit als abhängige Variablen in die statistischen Rechnungen aufgenommen wurden.

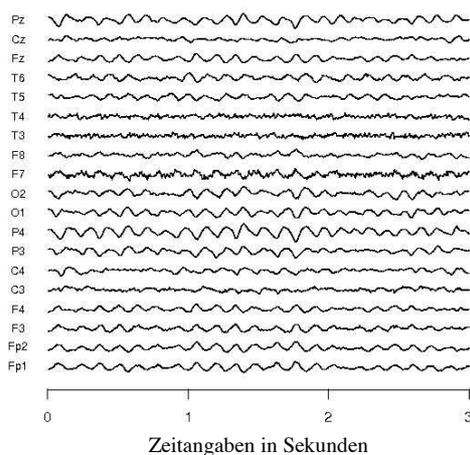


Abbildung 7: EEG-Signale im Zeitintervall

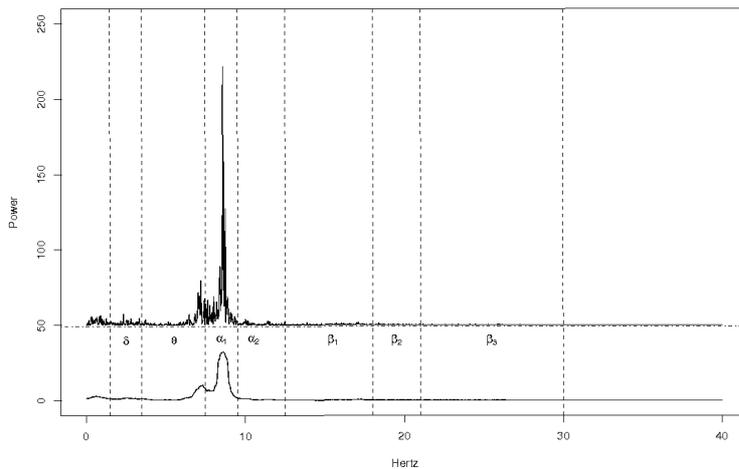


Abbildung 8: EEG-Signale im Frequenzbereich in Power

III.5. Blutentnahme und Genotypisierung

Da Edenberg et al. (2004) eine signifikante Assoziation der Beta-Frequenzen zu dem SNP rs279845 fanden, wurde er als „tag SNP“ (Ziel-SNP) verwendet und gezielt typisiert. Aufgrund der genannten Voruntersuchung erscheint eine positive Assoziation zu den Beta-Frequenzbändern im EEG am geeignetsten.

Von jedem Studienteilnehmer wurden 30 ml antikoaguliertes venöses EDTA-Blut abgenommen und bei -18 Grad tiefgefroren. Die Blutproben wurden mit Nummern kodiert und anonymisiert. Die DNA-Analyse wurde mit üblichen Verfahren durchgeführt (siehe weiter unten). Die Genotypisierung erfolgte an dem aus der Arbeit von Edenberg et al. (2004) identischen SNP rs279845 im GABRA2-Rezeptorgen (siehe Tab. 1) durch das Max-Delbrück-Zentrum Berlin.

Tabelle 1: Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP) rs279845

SNP ID	Gen-Symbol und Gen-Name	Lokalisation	Allele	SNP Typ	Literaturhinweise
rs279845	GABRA2 ($\alpha 2$ Untereinheit des GABA-A Rezeptors)	Chromosom 4, 46024480	A und T (Ursprüngliches Allel: A)	Intron	Porjesz et al. (2002); Edenberg et al. (2004)

Quelle: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=279845

In Tabelle 2 sind die aus den Allelen A und T sich ergebenden möglichen Genotypen aufgeführt.

Tabelle 2: Mögliche Genotypen

Genotyp 1	Genotyp 2	Genotyp 3
homozygot A/A	heterozygot A/T	homozygot T/T

Die Genotypisierung erfolgte mittels eines TaqMan Assay (Livak 1999). Die TaqMan Sonden und Primer stammen aus der Kollektion TaqMan® SNP Genotyping Assays, produziert von der Firma Applied Biosystems (Foster City, CA, USA).

In der TaqMan Real-Time-Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR) werden zwei Reaktionsschritte zyklisch wiederholt: In einem ersten Schritt wird die doppelsträngige DNA in der Lösung mit den Primerpaaren, den Nukleotiden, den Sonden, dem Reaktionspuffer, der hitzestabilen Taq-Polymerase und gegebenenfalls weiteren Zusätzen denaturiert. In einem zweiten Schritt folgt die Anlagerung der Primer und Verlängerung der DNA-Kopie durch die Taq-DNA-Polymerase (Heid et al. 1996).

Im Gegensatz zur normalen PCR wird in der TaqMan RT-PCR zusätzlich zu den Primerpaaren eine Sonde, die aus zur DNA-Zielsequenz komplementären Einzelstrangoligonukleotiden besteht, hinzugefügt. An das jeweilige 5' und 3' Ende der Sonden sind Fluoreszenzfarbstoffe (ein Reporter R und ein Quencher Q) gebunden. Die räumliche Nähe der beiden Fluoreszenzfarbstoffe zueinander verhindert die Emission des Reporters. Ist eine DNA-Zielfrequenz vorhanden, verlängert die Taq-Polymerase die spezifisch gebundenen Primer und trifft dabei auf die ebenfalls spezifisch gebundene Sonde. Die Taq-Polymerase spaltet mittels 5'-3'-Exonukleaseaktivität das Reporter-molekül der Sonde ab. Das führt zur Unterbrechung der räumlichen Nähe zum Quencher und seines Unterdrückungseffekts, woraufhin die charakteristische Fluoreszenz des Reporters abgestoßen wird. Die über Laser detektierte Fluoreszenz hat eine definierte Wellenlänge und ist proportional zu der Anzahl neugebildeter DNA-Stränge. Ungebundene Sonden bleiben intakt und tragen nicht zur gemessenen Fluoreszenzmenge bei.

Um bereits bekannte SNP und deren allelische Diskrimination (McGuigan und Ralston 2002) zu detektieren, werden spezielle SNP-Genotypisierungsassays verwendet. Hierzu nimmt man zwei allelspezifische Sonden, die für jedes Allel jeweils mit einem unterschiedlichen Reporter-Fluoreszenzfarbstoff markiert sind (z.B. VIC und FAM).

Ein PCR Reaktionansatz von 5µl beinhaltet: 2,5µl mit 10ng genomischer DNA und den TaqMan Primern und Sonden (markiert mit VIC oder FAM als Reporter-Fluoreszenzfarbstoffe)

für die allelische Diskrimination und 2,5µl 2x TaqMan universal PCR Master Mix. Die Reaktionsbedingungen der Amplifikationszyklen waren initial 10 Minuten bei 95°C (Denaturierung und Polymeraseaktivierung), gefolgt von 40 Zyklen à 15 Sekunden bei 95°C (Denaturierung und Polymeraseaktivierung) und 1 Minute bei 60°C (Primerannealing und DNA Synthese).

Das Fluoreszenzsignal war nur messbar (mittels ABI Prism 7900HT), wenn die Sonde eine komplementäre DNA-Zielsequenz gefunden hatte. Die Signalintensitäten beider Sonden wurden in einem Streudiagramm dargestellt (siehe Abb. 10). Die allelische Diskrimination erfolgte mit der Software SDSv.2.2.2 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Abbildung 9 veranschaulicht die allelische Diskrimination. Auf der linken Seite wird die Hybridisierung von Sonde und vorhandenem komplementärem DNA-Strang mit Emission der jeweiligen Fluoreszenzfarbstoffe dargestellt. Auf der rechten Seite sieht man, dass die Sondennukleotidsequenz nicht mit der der DNA übereinstimmt. Dadurch ist die Bindung sehr instabil und die Sonde wird als Ganzes gelöst, ohne dass VIC oder FAM freigesetzt werden.

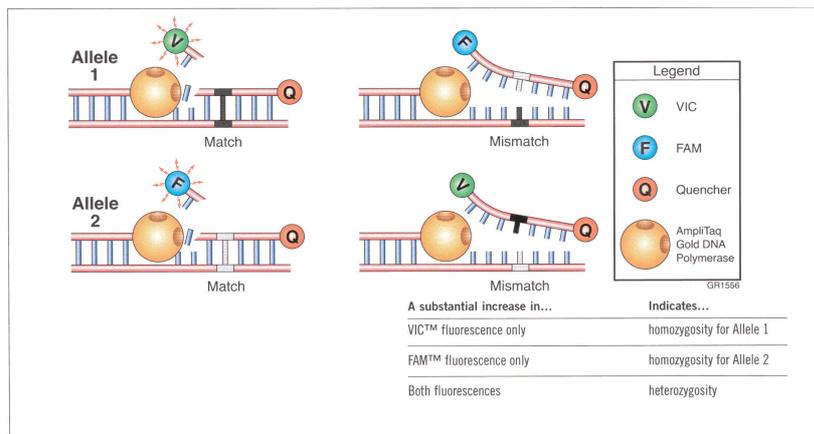


Figure 2. Design strategy for allelic discrimination assay with fluorogenic probes in the 5' nuclease assay. The presence of a mismatch between probe and target destabilizes probe binding during strand displacement, reducing the efficiency of probe cleavage. The possible results of the example allelic discrimination assay are summarized above.

Abbildung 9: Allelische Diskrimination

Quelle: appliedbiosystems.com

Abbildung 10 veranschaulicht die Analyseergebnisse des SNP rs279845 bei den an dieser Studie teilnehmenden schizophrenen Patienten und gesunden Probanden in einem Streudiagramm. Dabei fand sich bei Homozygotie ein erhöhtes Signal entweder für VIC (rote Cluster) oder FAM (blaue Cluster). Bei Heterozygotie dagegen war das Signal für beide Fluoreszenzfarbstoffe erhöht (grüne Cluster). Die Signale der Kontroll-Proben ohne DNA (schwarze Cluster) dienen als empirischer Leerwert, der aussagt, wie viel spontane Freisetzung von Farbstoffsonden bei der Reaktion auftritt. Im Normalfall sollte dieser Wert niedrig sein. Erhöhte Werte könnten sich

beispielsweise bei DNA Kontaminationen oder bei älteren Proben, bei denen der Quencher die intakte Farbstoffsonde nicht mehr vollständig unterdrücken kann, finden.

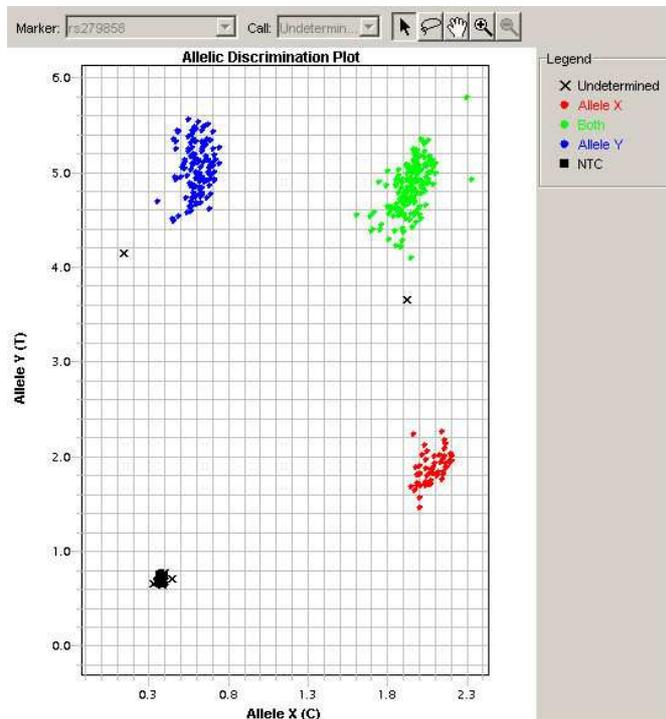


Abbildung 10: Streudiagramm mit Signalintensitäten der Fluoreszenzfarbstoffe

III.6. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mit Hilfe der Statistikprogramme SPSS (Version 16.0) von SPSS Inc. und Microsoft Excel (Version 2007) für Microsoft Windows durchgeführt. Die Genotypverteilung wurde mit Hilfe der Binomischen Formel berechnet. Für Mittelwertvergleiche wurden t-Tests für unabhängige Stichproben und für Häufigkeitsvergleiche χ^2 -Tests verwendet. Zur Testung der Effekte mehrerer fester Faktoren und Kovariaten auf eine einzige abhängige Variable wurde eine univariante Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt. Bei mehreren abhängigen Variablen wurde eine multivariante Varianzanalyse (MANOVA) eingesetzt.

Für Ergebnisse statistischer Tests wurde ein Signifikanzniveau von 5% festgelegt. Somit gilt ein p-Wert, der 0.05 oder kleiner ist, als signifikant und ein Wert, der 0.001 oder kleiner ist, als hochsignifikant. Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner 10% ($p < 0.1$) wird ein statistischer Trend angenommen. Die Mittelwerte (MW) werden mit der jeweiligen Standardabweichung (SD) angegeben.

IV. Ergebnisse

IV.1. Deskriptive Statistik

Im diesem Kapitel werden die erhobenen Daten der Studienteilnehmer zunächst deskriptiv dargestellt und statistische Zusammenhänge auf Signifikanz überprüft. Dabei werden die Daten für jeden der drei mittels PCR gewonnenen Genotypen (A/A, A/T, T/T) getrennt angegeben, um eventuelle Unterschiede oder Auffälligkeiten zu visualisieren. Ergänzend werden Alter, Geschlecht und zusätzlich erhobene klinische Daten berücksichtigt.

IV.1.1. Genotyp- und Allelverteilung

Der SNP rs279845 im GABRA2 Rezeptorgen bewirkt einen Austausch der DNA-Base Adenin (A) gegen Thymin (T). Daraus resultieren drei mögliche Genotypen, deren Verteilung innerhalb der Patienten- und Probandengruppen aus Tabelle 3-4 und Abbildung 11 hervorgehen.

Tabelle 3: Genotypverteilung der Studienteilnehmergruppen

	A/A-Genotyp	A/T-Genotyp	T/T- Genotyp	Gesamt n
Schizophrene Patienten	n = 15 (13.6%)	n = 56 (50.9%)	n = 39 (35.5%)	n = 110
Gesunde Probanden	n = 61 (17.8%)	n = 175 (51%)	n = 107 (31.2%)	n = 343
Gesamt	n = 76 (16.8%)	n = 231 (51%)	n = 146 (32.2%)	n = 453

Anmerkung: n: Anzahl

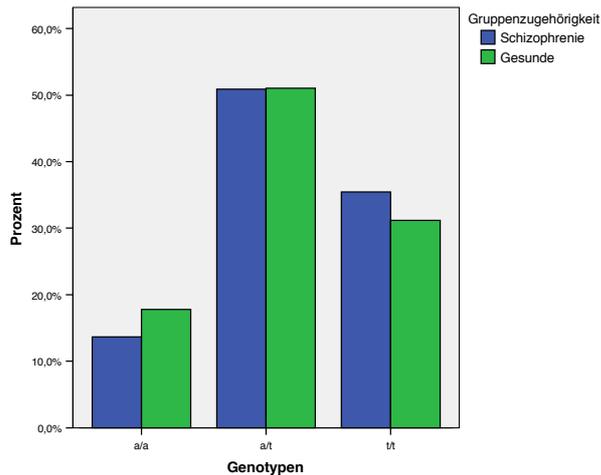


Abbildung 11: Prozentuale Verteilung der Genotypen

Tabelle 3 und Abbildung 11 zeigen, dass sowohl bei den schizophrenen und als auch bei den gesunden Teilnehmern der Genotyp A/A am seltensten (16.8%), aber zahlenmäßig bei den gesunden Probanden geringfügig häufiger vorkommt (17.8%). Der heterozygote Genotyp A/T ist bei beiden Gruppen etwa gleichhäufig (ca. 51%) und auch insgesamt am häufigsten vertreten. Der homozygote Genotyp T/T findet sich etwas häufiger bei den schizophrenen Patienten (35.5%) und ist in der gesamten Stichprobe am zweit häufigsten anzufinden (32.2%).

Die Rechnung, für die sich hieraus ergebende *Allelverteilung* (siehe Tab. 4) soll nur beispielhaft für die Gruppe der schizophrenen Patienten aufgeführt werden:

- Häufigkeit des Allels A: 2 x Genotyp A/A (n = 15) + 1 x Genotyp A/T (n = 56) = 86
- Häufigkeit des Allels T: 2 x Genotyp T/T (n = 39) + 1 x Genotyp A/T (n = 56) = 134

Tabelle 4: Allelverteilung der Studienteilnehmergruppen

	A-Allel	T-Allel	Gesamt n
Schizophrene Patienten	n = 86 (39%)	n = 134 (61%)	n = 220
Gesunde Probanden	n = 297 (43.3%)	n = 389 (56.7%)	n = 686
Gesamt	n = 383 (42.3%)	n = 523 (57.7%)	n = 906

Anmerkung: n: Anzahl

Aus Tabelle 4 geht hervor, dass das Allel A in beiden Gruppen zahlenmäßig seltener auftritt. Dagegen das Allel T deutlich häufiger repräsentiert zu sein scheint.

Zur statistischen Überprüfung der *Genotypverteilung* innerhalb der Gruppen wurde das Hardy-Weinberg-Equilibrium (HWE) berechnet. Das HWE beschreibt die Beziehung zwischen den Allelhäufigkeiten und den daraus resultierenden Genotyphäufigkeiten. Es basiert auf der Annahme, dass die Genotypverteilung in einer großen Population mit zufälliger Paarung und ohne populationsverändernde Einflüsse gleich bleibt. Dabei können bei Kenntnis der Allelfrequenzen mit Hilfe der Binomischen Formel $[(p + q)^2 = 1]$; dabei steht p für die Frequenz von Allel A und q für die Frequenz von Allel T] die Erwartungswerte der Genotyp-Frequenzen berechnet werden. Demzufolge kann festgestellt werden, ob ein bestimmter Genotyp in einer Gruppe häufiger vorkommt als ein anderer. Beim HWE Test wird die beobachtete Verteilung der Genotypen mit der erwarteten Verteilung mittels eines χ^2 Test verglichen.

Probandengruppe $\chi^2 = .524; df = 1; p = .469$	Patientengruppe $\chi^2 = .525; df = 1; p = .469$
--	--

Anmerkung: χ^2 : Chi-Quadrat-Test, df: Freiheitsgrade, p: Signifikanz

Weder in der Probanden- noch in der Patientengruppe konnte mittels eines χ^2 -Test ein Verstoß gegen das Hardy-Weinberg-Equilibrium festgestellt werden. Das bedeutet, die Genotypverteilung ist gleich. Kein bestimmter Genotyp taucht innerhalb einer Teilnehmergruppe häufiger auf als ein anderer. Dies ist insbesondere für die explorative Fragestellung relevant.

IV.1.2. Geschlechterverteilung und Altersdurchschnitt

Tabelle 5: Geschlechterverteilung und Altersdurchschnitt der Studienteilnehmergruppen

	Alter in Jahren (MW \pm SD)	Männer n (%)	Frauen n (%)	Gesamt n
Schizophrene Patienten	33.5 \pm 11.2	85 (77.3%)	25 (22.7%)	110
Gesunde Probanden	39.5 \pm 14.9	174 (50.7%)	169 (49.3%)	343
Gesamt	38.1 \pm 14.3	259	194	453

Anmerkung: MW: Mittelwerte, SD: Standardabweichung, n: Anzahl

Aus Tabelle 5 geht die *Geschlechterverteilung* hervor. Diese zeigt, dass sich die Probandengruppe aus 174 Männern (50.7%) und 169 (49.3%) Frauen zusammensetzte. Unter den 110 schizophrenen Patienten befanden sich 85 Männer (77.3%) und 25 Frauen (22.7%).

Der *Altersdurchschnitt* der gesunden Probandengruppe beträgt 39.5 Jahre und variiert von 19.1 bis 91.9 mit einer Standardabweichung (SD) von 14.9 Jahren. Dabei befindet sich der Altersdurchschnitt der 169 gesunden Frauen bei 39.6 \pm 16 und der der 174 schizophrenen

Männer bei 39.4 ± 13.7 Jahre. Der Altersdurchschnitt der gesamten schizophrenen Patientengruppe beträgt 33.5 Jahre mit einer Variationsbreite von 18.4 bis 68.9 Jahren und einer Standardabweichung (SD) von 11.2 Jahren. Dabei liegt der Altersdurchschnitt der 25 schizophrenen Frauen bei 36.6 ± 11.2 und der 85 Männer bei 32.7 ± 11.1 Jahren. In einem t-Test für unabhängige Stichproben bestätigte sich der bereits zahlenmäßig sichtbar gewordene Unterschied im Altersdurchschnitt zwischen den beiden Studienteilnehmergruppen und in einem χ^2 -Test der Unterschied in der Geschlechterverteilung mit hochsignifikanten p-Werten.

Altersdurchschnitt t-Test = -4.453; df = 242.185; p < .001	Geschlechterverteilung χ^2 -Test = 23.967; df = 1; p < .001
---	---

Anmerkung: t-Test für unabhängige Stichproben, χ^2 : Chi-Quadrat-Test, df: Freiheitsgrade, p: Signifikanz

Tabelle 6 veranschaulicht den *Altersdurchschnitt der Genotypen* innerhalb der Patienten- und Probandengruppen.

Tabelle 6: Altersdurchschnitt der Genotypen

	Genotypen	Alter in Jahren (MW \pm SD)	n
Schizophrene Patienten	A/A	36.2 ± 15.4	15
	A/T	$32.3 \pm 9,8$	56
	T/T	34.4 ± 11.3	39
Gesunde Probanden	A/A	38.5 ± 14.9	61
	A/T	40.1 ± 15.5	175
	T/T	39.1 ± 13.8	107

Anmerkung: MW: Mittelwerte, SD: Standardabweichung, n: Anzahl

Bei der statistischen Überprüfung konnte mit Hilfe einer univariaten ANOVA kein signifikanter Unterschied zwischen den Genotypen innerhalb der beiden Gruppen (Patienten und Probanden) hinsichtlich des Durchschnittsalters festgestellt werden.

Patientengruppe F = .887; df = 2; p = .415	Probandengruppe F = .296; df = 2; p = .744
---	---

Anmerkung: F: Varianzanalytischer F-Test, df: Freiheitsgrade, p: Signifikanz

Tabelle 7 demonstriert die *Geschlechterverteilung der Genotypen*. Der Genotyp A/A kommt bei gesunden Männern (30 von 61) häufiger vor als bei schizophrenen (10 von 15) und der Genotyp

T/T bei schizophrenen Männern (32 von 39) häufiger als bei gesunden (58 von 107). Bei den Frauen finden sich keine derartig eindeutigen Differenzen zwischen den Gruppen (siehe Tab. 7).

Tabelle 7: Geschlechterverteilung der Genotypen

		A/A	A/T	T/T	Gesamt n ^{c)}
Schizophrene Patienten ^{a)}	Männer	n = 10/15 (11.8%)	n = 43/56 (50.6%)	n = 32/39 (37.7%)	85/110
	Frauen	n = 5/15 (20%)	n = 13/56 (52%)	n = 7/39 (28%)	25/110
Gesunde Probanden ^{b)}	Männer	n = 30/61 (17.2%)	n = 86/175 (49.4%)	n = 58/107 (33.3%)	174/343
	Frauen	n = 31/61 (18.3%)	n = 89/175 (52.7%)	n = 49/107 (29%)	169/343

Anmerkung: n: Anzahl

Trotz dieser numerischen Unterschiede (Tab. 7) zeigen χ^2 -Tests keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Geschlechterverteilung zwischen den drei Genotypen innerhalb der Teilnehmergruppen (a und b) und der gesamten Gruppe (c).

a) Patientengruppe $\chi^2 = 1.475; df = 2; p = .478$	b) Probandengruppe $\chi^2 = .752; df = 2; p = .687$	c) Gesamte Gruppe $\chi^2 = 1.999; df = 2; p = .368$
--	---	---

Anmerkung: χ : Chi-Quadrat-Test, df: Freiheitsgrade, p: Signifikanz

IV.1.3. Klinische Angaben

Neben den Genotypen, Alter und Geschlecht wurden zusätzliche klinische Daten in der Patientengruppe erhoben, die im Folgenden näher beschrieben werden.

Tabelle 8 zeigt eine Zusammenstellung von Daten, die über Fragebögen und aus den Patientenakten in Zusammenarbeit mit den betreuenden Ärzten gewonnen wurden (siehe III.2.2.). Die klinischen Daten werden mit ihrer Verteilung über die drei Genotypen schizophrener Patienten angegeben. Bei sechs der 110 Patienten fehlen die Angaben zum Erstmanifestationsalter und zur Krankheitsdauer. Bei fünf der 110 Patienten sind die Angaben zur Medikation unvollständig. Für 13 der 110 Patienten sind die Daten zur Positiv- und Negativsymptomatik und für 21 Patienten zur Globalsymptomatik im PANSS unvollständig.

Tabelle 8: Klinische Angaben zu den Genotypen

	A/A	A/T	T/T	Gesamt
Anzahl (n) der Patienten	n = 15	n = 56	n = 39	n = 110
Alter bei Erstmanifestation ^{a)} (MW ± SD)	31 ± 14.1 n = 13/15	24.1 ± 6.7 n = 52/56	26.7 ± 7.9 n = 39/39	26 ± 8.6 n = 104/110
Krankheitsdauer in Jahren ^{a)} (MW ± SD)	4.9 ± 5 n = 13/15	8.13 ± 8.6 n = 52/56	7.6 ± 8.2 n = 39/39	7.5 ± 8.1 n = 104/110
Anzahl medizierter Patienten	n = 11/14	n = 34/53	n = 29/39	n = 74/106
Anzahl der Patienten mit Neuroleptika ^{b)}	n = 12/14	n = 39/52	n = 32/39	n = 83/105
- mit typische N. ^{b)}	n = 7/14	n = 14/52	n = 13/39	n = 34/105
- mit atyp./neueren N. ^{b)}	n = 5/14	n = 25/52	n = 19/39	n = 49/105
Anzahl der Patienten mit Benzodiazepinen ^{c)}	n = 2/14	n = 13/52	n = 10/39	n = 25/105
PANSS Positiv-Score ^{a)} (MW ± SD)	16.2 ± 6.4 n = 13	19.7 ± 6.2 n = 48	17 ± 7 n = 36	18.2 ± 6.6 n = 97/110
PANSS Negativ-Score ^{a)} (MW ± SD)	16.9 ± 7.6 n = 13	21 ± 6.6 n = 48	20.1 ± 5.8 n = 36	20.1 ± 6.6 n = 97/110
PANSS Global-Score ^{a)} (MW ± SD)	29.6 ± 11.8 n = 13	35.3 ± 12.1 n = 46	31.6 ± 10 n = 30	33.2 ± 11.4 n = 89/110

Anmerkung: MW: Mittelwerte, SD: Standardabweichung, n: Anzahl

- a) Berechnung mit einfaktorieller ANOVA
- b) Deskriptive Daten
- c) Berechnung mit χ^2 -Test

Die Inhalte der Tabelle 8 werden im Folgenden näher erläutert.

IV.1.3.1. Erstmanifestationsalter

Mit Hilfe einer ANOVA wurde der Einfluss der Genotypen schizophrener Patienten auf das Erstmanifestationsalter berechnet. Das Ergebnis zeigt einen signifikanten Effekt.

$F = 3.845; df = 2; p = .025$

Anmerkung: F: Varianzanalytischer F-Test, df: Freiheitsgrade, p: Signifikanz

Der Genotyp A/A weist in der deskriptiven Darstellung (siehe Tab. 8) ein späteres Erstmanifestationsalter auf als die anderen beiden Genotypen. In einem Post-Hoc-Test nach Tukey mit Mehrfachvergleichen konnte statistisch bestätigt werden, dass sich vor allem der Genotyp A/A von dem Genotyp A/T schizophrener Patienten signifikant hinsichtlich des Erstmanifestationsalters unterscheidet (siehe Tab. 9).

Tabelle 9: Erstmanifestationsalter, Post-Hoc-Test mit Mehrfachvergleichen

Genotypen		Signifikanz	Standardfehler	95% Konfidenzintervall	
				Untergrenze	Obergrenze
A/A	A/T	p = .024*	2.592	.75	13.08
	T/T	p = .255	2.677	-2.11	10.62
A/T	A/A	p = .024*	2.592	-13.08	-.75
	T/T	p = .294	1.771	-6.87	1.55
T/T	A/A	p = .255	2.677	-10.62	2.11
	A/T	p = .294	1.771	-1.55	6.87

Anmerkung: *: Signifikantes Ergebnis ($p \leq .05$)

IV.1.3.2. Erkrankungsdauer

Obwohl der Genotyp A/A in der deskriptiven Darstellung (siehe Tab. 8) zahlenmäßig eine kürzere Krankheitsdauer als die Genotypen A/T und T/T hatte, konnte kein signifikanter Unterschied in einer einfaktoriellen ANOVA hinsichtlich der Erkrankungsdauer bei den verschiedenen Genotypen schizophrener Patienten festgestellt werden.

$F = .824; df = 2; p = .441$

Anmerkung: F: Varianzanalytischer F-Test, df: Freiheitsgrade, p: Signifikanz

IV.1.3.3. Medikamente

Mediziert wurden insgesamt 74 von 106 Patienten. Zu 4 Patienten fehlen die Angaben oder sind unvollständig (siehe Tab. 10).

Tabelle 10: Medikation der Genotypen

Mediziert	A/A	A/T	T/T	Gesamt
Ja	n = 11	n = 34	n = 29	n = 74
Nein	n = 3	n = 19	n = 10	n = 32
Gesamt	n = 14	n = 53	n = 39	n = 106

Anmerkung: n: Anzahl

Von 105 wurden 83 Patienten mit Neuroleptika behandelt, davon 34 mit typischen und 49 mit atypischen Neuroleptika. Bei den Angaben wurde eine mögliche Doppelbehandlung (mit typischen und atypischen Neuroleptika) einzelner Patienten nicht berücksichtigt. Die Neuroleptikamedikation mit Verteilung über die Genotypen ist Tabelle 11 zu entnehmen.

Tabelle 11: Neuroleptikamedikation der Genotypen

Typische Neuroleptika	A/A	A/T	T/T	Gesamt
Dauertherapie	n = 7	n = 13	n = 13	n = 33
In den letzten 24 h Einmalgabe	n = 0	n = 1	n = 0	n = 1
Gesamt	n = 7	n = 14	n = 13	n = 34
Keine	n = 7	n = 38	n = 26	n = 71
Atypische Neuroleptika	A/A	A/T	T/T	Gesamt
Dauertherapie	n = 5	n = 25	n = 19	n = 49
Keine	n = 9	n = 27	n = 20	n = 56

Anmerkung: n: Anzahl

Benzodiazepine erhielten 25 von 105 Patienten entweder als Dauertherapie oder als Bedarfsmedikation (siehe Tab. 12).

Tabelle 12: Benzodiazepinmedikation der Genotypen

Benzodiazepineinnahme	A/A	A/T	T/T	Gesamt
Bei Bedarf	n = 0	n = 5	n = 2	n = 7
Dauertherapie	n = 2	n = 4	n = 6	n = 12
In den letzten 24 h Einmalgabe	n = 0	n = 4	n = 2	n = 6
Gesamt	n = 2	n = 13	n = 10	n = 25
Keine	n = 12	n = 39	n = 29	n = 80

Anmerkung: n: Anzahl

Die drei Genotypen weisen sowohl hinsichtlich der allgemeinen Medikation (ja/nein) ($\chi^2 = 1.698$; $df = 2$; $p = .428$), als auch bezüglich der Benzodiazepineinnahme ($\chi^2 = 4.392$; $df = 6$; $p = .624$) und der typischen ($\chi^2 = 4.161$; $df = 4$; $p = .385$) und atypischen Neuroleptika ($\chi^2 = .782$; $df = 2$; $p = .676$) keine signifikanten Unterschiede auf.

IV.1.3.4. Positive And Negative Syndrome Scale (PANSS)

Die Positive And Negative Syndrome Scale (PANSS) ist ein standardisiertes klinisches 30-40 minütiges Interview zur Messung der Psychopathologie schizophrener Patienten (Santor et al. 2007). Es besteht aus 30 Items mit einer Ratingskala von jeweils 1-7 Punkten. Davon verteilen sich sieben Items auf die Positivsymptomatik (mögliche Punktzahl 49), sieben Items auf die Negativsymptomatik (mögliche Punktzahl 49) und 16 Items auf die generelle (globale) Psychopathologie (mögliche Punktzahl 112). 97 der Patienten hatten in der Positivsymptomatik einen durchschnittlichen Punktwert von 18.2 ± 6.6 und in der Negativsymptomatik einen Punktwert von 20.1 ± 6.6 . Bei 89 der 110 Patienten wurde ein globaler Score erhoben und erreichte einen Mittelwert von insgesamt 33.2 ± 11.4 .

Hinsichtlich der klinischen Symptomatik (PANSS) ergaben sich aus einer einfaktoriellen ANOVA keine statistisch signifikanten Unterschiede bei den Genotypen schizophrener Patienten.

PANSS positiv	F = 2.372; df = 2; p = .099
PANSS negativ	F = 2.123; df = 2; p = .125
PANSS global	F = 1.733; df = 2; p = .183

Anmerkung: F: Varianzanalytischer F-Test, df: Freiheitsgrade, p: Signifikanz

IV.1.4. Diagnosen der Patientengruppe

Nach ICD-10 wurde bei 102 Patienten eine F20.x Diagnose gestellt. Bei vier der Patienten wurde eine schizoaffektive Störung (F25.x), bei zwei Patienten eine wahnhaft (F22.0) und bei weiteren zwei eine akute schizophrenieforme psychotische Störung (F23.2) diagnostiziert. Tabelle 13 dient der Veranschaulichung der klinischen Diagnosenverteilung (nach ICD-10) über die drei Genotypgruppen.

Tabelle 13: F20-F25-Diagnosenverteilung der Genotypen

ICD-10 Diagnose	A/A	A/T	T/T	Gesamt n
Paranoide Schizophrenie F20.0	n = 12 (80%)	n = 41 (73.2%)	n = 28 (71.8%)	81
Hebephrene Schizophrenie F20.1	n = 1 (6.7%)	n = 6 (10.7%)	n = 1 (2.6%)	8
Katatone Schizophrenie F20.2	-	n = 2 (3.6%)	n = 1 (2.6%)	3
Undifferenzierte Schizophrenie F20.3	n = 1 (6.7%)	n = 2 (3.6%)	n = 1 (2.6%)	4
Postschizophrene Depression F20.4	-	-	n = 1 (2.6%)	1
Schizophrenes Residuum F20.5	-	n = 1 (1.8%)	n = 1 (2.6%)	2
Sonstige Schizophrenie F20.8	-	-	n = 1 (2.6%)	1
Nicht näher bezeichnete Schizophrenie F20.9	-	n = 1 (1.8%)	n = 1 (2.6%)	2
Wahnhafte Störung F22.0	-	n = 2 (3.6%)	-	2
Akute schizophrenieforme psychotische Störung F23.2	-	n = 1 (1.8%)	n = 1 (2.6%)	2
Schizomanische Störung F25.0	-	-	n = 1 (2.6%)	1
Schizodepressive Störung F25.1	n = 1 (6.7%)	-	-	1
Nicht näher bezeichnete schizoaffektive Störung F25.9	-	-	n = 2 (5.1%)	2
Gesamt (100%)	n = 15	n = 56	n = 39	n = 110

Anmerkung: n: Anzahl

IV.2. Multifaktorielle Kovarianzanalyse (MANCOVA)

IV.2.1. Methode

Eine Varianzanalyse dient der Überprüfung der Signifikanz von mehreren Mittelwertdifferenzen. In diesem Fall sollen die Mittelwerte der Beta-Frequenzbänder, gemessen in absoluter Power, verglichen werden. Die Varianzanalyse zeigt auf, ob mindestens ein Unterschied zwischen multiplen Vergleichsgruppen signifikant ausfällt. Da eine Aussage um welche Gruppe es sich handelt darüber nicht ermöglicht wird, können die ungewichteten Mittelwerte zur näheren Interpretation herangezogen werden. Bei SPSS werden in der Tabelle „Deskriptive Statistiken“ die gewichteten Mittelwerte wiedergegeben (siehe Kapitel IV.2.2). Dahingegen handelt es sich

bei der „Schätzung der Randmittel“ um die ungewichteten Mittelwerte, d.h., es werden die Zellenmittelwerte verwendet. Durch die Voreinstellung (Methode III) bei SPSS werden die Zellenbesetzungen nicht berücksichtigt (Regressionsmethode), d.h. die Hauptvarianzanalyse basiert auf den ungewichteten Mittelwerten.

Als Signifikanztest wird ein F-Test verwendet. Die Varianzanalyse dient auch der Ermittlung des erklärten Anteils der Gesamtvarianz von einer oder mehrerer unabhängiger Variablen. Man unterscheidet zwischen uni- und multifaktorieller Varianzanalyse. Mit einer Multifaktoriellen Varianzanalyse (MANOVA) kann der Einfluss von Faktoren und gegebenenfalls Kovariaten auf mehrere abhängige Variablen in derselben Varianzanalyse gleichzeitig berechnet werden. Werden Kovariaten in die Rechnung integriert, spricht man auch von einer multifaktoriellen Kovarianzanalyse (MANCOVA). Bei abhängigen Variablen, die untereinander korrelieren und somit nicht unabhängig voneinander sind, sollte immer eine multifaktorielle Varianzanalyse verwendet, um einen kumulierten Alpha-Fehler, der bei einer multiplen unifaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) auftreten könnte, zu vermeiden. Bei einer ANOVA werden demzufolge Interdependenzen zwischen den abhängigen Variablen nicht berücksichtigt. Mit einer MANOVA kann berechnet werden, ob sich die Erwartungswerte mehrerer abhängiger Variablen in den verschiedenen Gruppen (Faktoren) unterscheiden, d.h. ob die Varianz der Mittelwerte zwischen den Gruppen größer ist als die innerhalb der Gruppen. Außerdem prüft der multifaktorielle Test für jeden Faktor und jede Kovariate den Anteil der Gesamtvarianz (Eta-Quadrat).

Die drei Beta-Frequenzbänder (Beta1, 2 und 3) werden als abhängige Variablen, die ‚Gruppe‘ (schizophrene Patienten und gesunde Probanden) und die ‚Genotypen‘ (A und T Allel-Kombinationen) als unabhängige Variablen - auch Faktoren genannt - definiert. Der Beitrag jeder der genannten Faktoren zur Erklärung der Gesamtvariation wird für sich alleine (Haupteffekte) und die Wirkung einer Kombination mehrerer Faktoren miteinander (Interaktionseffekt) untersucht. Alter, Geschlecht und Medikation werden als Kovariaten in die Rechnung mitaufgenommen. Obwohl es keine signifikanten Unterschiede in den χ^2 -Tests hinsichtlich der Medikamenteneinnahme zwischen den Genotypen bezüglich der Benzodiazepin- oder Neuroleptikaeinnahme gibt, wird die Variable Medikation aufgrund der in Kapitel II.3. beschriebenen Einflussmöglichkeiten als Kovariate mitaufgenommen.

Ziel des Gebrauchs der MANOVA ist es also, folgende Fragestellungen, die zur weiteren Interpretation der Hypothesen beitragen, statistisch zu überprüfen:

- 1) Welchen Einfluss hat die Studienteilnehmergruppe (Patienten und Probanden) auf die Powerwerte der Beta-Frequenzbänder?
- 2) Welchen Einfluss haben Alter, Geschlecht und Medikation auf die Powerwerte der Beta-Frequenzbänder?
- 3) Welchen Einfluss haben die Genotypen des SNP rs279845 im GABRA2-Gens auf die Powerwerte der Beta-Frequenzbänder?
- 4) Welchen Einfluss hat die Kombination aus Genotypen und Teilnehmergruppe auf die Powerwerte der Beta-Frequenzbänder?

IV.2.2. Deskriptive Mittelwerte der Beta-Frequenzbänder

Tabelle 14 gibt die durchschnittlichen Mittelwerte der logarithmierten Beta 1-3 Frequenzbänder in absoluter Power (μV^2) und deren Standardabweichung (SD) wider. Diese rein deskriptive Darstellung zeigt die gewichteten Mittelwerte der abhängigen Variablen (Beta 1-3), die ohne Berücksichtigung der Faktoren berechnet wurden.

Tabelle 14: Beta 1-3 Mittelwerte der jeweiligen Genotypen beider Gruppen in μV^2

Abhängige Variablen	Gruppe	Genotypen	Gewichtete MW in μV^2	SD	n
Beta 1	Gesunde Probanden	A/A	.43	.301	61
		A/T	.36	.328	175
		T/T	.39	.340	107
	Schizophrene Patienten	A/A	.72	.333	14
		A/T	.40	.343	53
		T/T	.50	.383	39
Beta 2	Gesunde Probanden	A/A	-.08	.330	61
		A/T	-.16	.339	175
		T/T	-.11	.342	107
	Schizophrene Patienten	A/A	.19	.365	14
		A/T	-.18	.361	53
		T/T	-.07	.528	39
Beta 3	Gesunde Probanden	A/A	.19	.301	61
		A/T	.13	.229	175
		T/T	.20	.327	107
	Schizophrene Patienten	A/A	.52	.379	14
		A/T	.12	.361	53
		T/T	.22	.510	39

Anmerkung: MW: Mittelwerte, SD: Standardabweichung, n: Anzahl

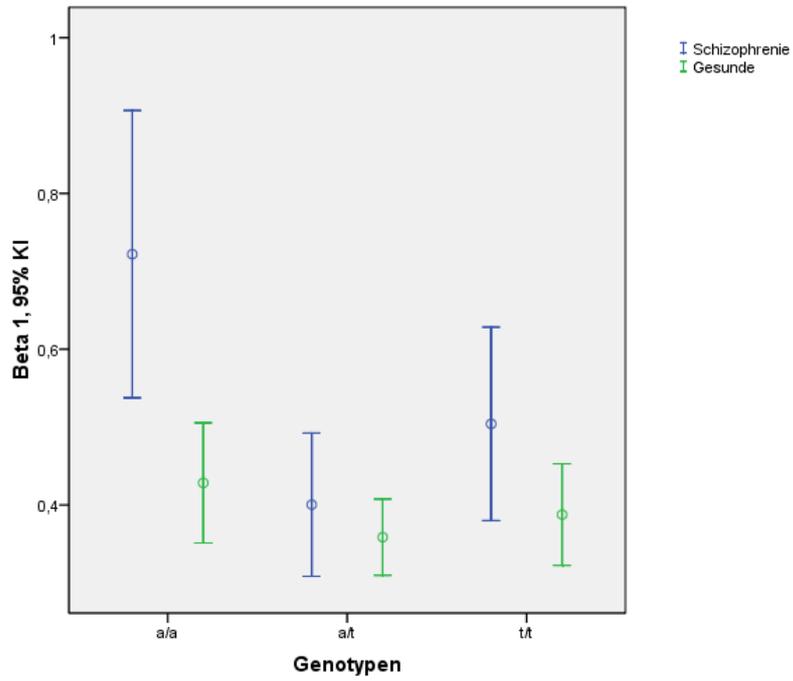


Abbildung 12: Mittelwerte in μV^2 des Beta 1-Frequenzbandes und Streubereiche

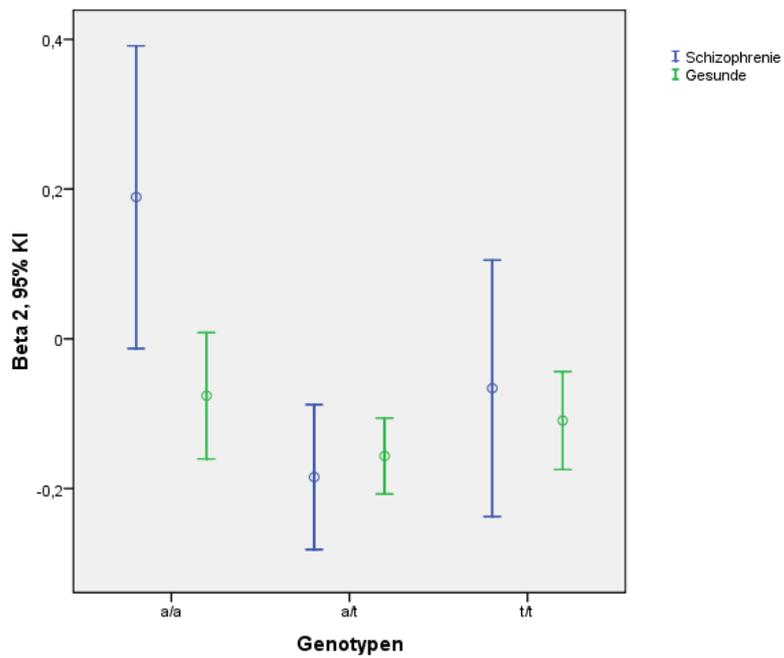


Abbildung 13: Mittelwerte in μV^2 des Beta 2-Frequenzbandes und Streubereiche

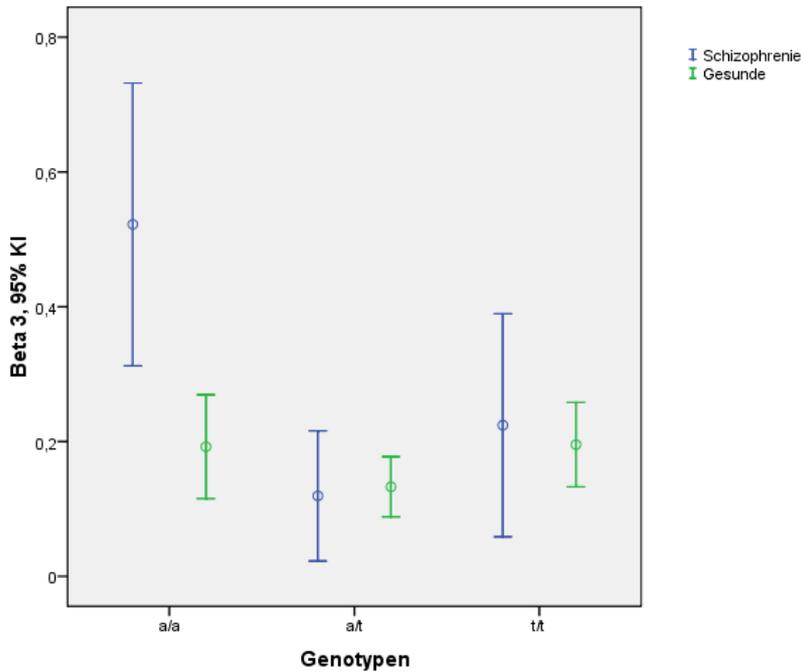


Abbildung 14: Mittelwerte in μV^2 des Beta 3-Frequenzbandes und Streubereiche

In den Fehlerbalkendiagrammen in Abbildung 12 bis 14 werden die Mittelwerte in Power (μV^2) und die Streubereiche der Beta-Frequenzbänder beider Gruppen im Vergleich bei einem Konfidenzintervall von 95% abgebildet. Dabei wird sichtbar, dass bei den homozygoten Genotypen A/A und T/T der schizophrenen Patientengruppe höhere Mittelwerte in allen drei Beta-Frequenzbändern vertreten sind als bei den gesunden Probanden. Bei dem heterozygoten A/T Genotyp sind nur die Werte des Beta 1-Frequenzbandes in der Gruppe der schizophrenen Patienten höher als bei der gesunden Kontrollgruppe.

Bei ungleichen Zellbesetzungen unterscheiden sich gewichtete und ungewichtete Mittelwerte. Aufgrund der stark ungleichen Zellbesetzung (siehe Spalte n in Tab. 14) sollten deshalb zur genaueren Beurteilung nicht die gewichteten, sondern die ungewichteten Mittelwerte betrachten (siehe IV.2.1.).

IV.2.3. Ergebnisse der MANCOVA und Test der Zwischensubjekteffekte

Die Auswirkungen, bzw. Effekte, der Faktoren ‚Genotyp‘ und ‚Gruppe‘ und der Kovariaten ‚Alter‘, ‚Geschlecht‘ und ‚Medikation‘ auf die Mittelwerte der unabhängigen Variablen (Beta 1-3) wurden mit Hilfe der MANCOVA statistisch berechnet. In einer Interaktionsrechnung wurden zudem die beiden Faktoren ‚Genotypen‘ und ‚Gruppe‘ miteinander kombiniert und quasi zu

einem Faktor (Gruppe*Genotypen) zusammengefasst, um deren wechselwirkenden Gesamteffekt (Interaktionseffekt) auf die Beta-Frequenzbänder zu prüfen. Ist der multifaktorielle Test statistisch signifikant, können zur weiteren Interpretation die Ergebnisse des Tests der Zwischensubjekteffekte herangezogen werden, die ähnlich einer ANOVA sind (siehe Tab. 15).

Tabelle 15: MANCOVA und Test der Zwischensubjekteffekte

Variablen	MANCOVA	Test der Zwischensubjekteffekte		
	Beta 1-3	Beta 1 ^{a)}	Beta 2 ^{b)}	Beta 3 ^{c)}
Gruppe	WilksL = .976 F _{3,438} = 3.660 η ² = .024 p = .013*	F = 6.419 df = 1 η ² = .014 p = .012*	F = 4.822 df = 1 η ² = .011 p = .029*	F = 8.951 df = 1 η ² = .020 p = .003*
Alter	WilksL = .975 F _{3,438} = 3.780 η ² = .025 p = .011*	F = 3.851 df = 1 η ² = .009 p = .05*	F = 2.830 df = 1 η ² = .006 p = .093	F = 8.610 df = 1 η ² = .019 p = .004*
Geschlecht	WilksL = .977 F _{3,438} = 3.438 η ² = .023 p = .017*	F = 9.659 df = 1 η ² = .021 p = .002*	F = 8.650 df = 1 η ² = .019 p = .003*	F = 6.920 df = 1 η ² = .015 p = .009*
Medikation	WilksL = .994 F _{3,438} = 0.835 η ² = .006 p = .475	F = 0.039 df = 1 η ² = .000 p = .844	F = 0.365 df = 1 η ² = .001 p = .546	F = 1.029 df = 1 η ² = .002 p = .311
Genotypen	WilksL = .960 F _{6,876} = 3.027 η ² = .020 p = .006*	F = 6.069 df = 2 η ² = .027 p = .003*	F = 7.185 df = 2 η ² = .032 p = .001**	F = 8.684 df = 2 η ² = .038 p < .001**
Gruppe * Genotypen - Interaktion	WilksL = .979 F _{6,876} = 1.561 η ² = .011 p = .156	F = 2.174 df = 2 η ² = .010 p = .115	F = 2.588 df = 2 η ² = .012 p = .076	F = 4.259 df = 2 η ² = .019 p = .015*

a) R-Quadrat = .072

b) R-Quadrat = .06

c) R-Quadrat = .079

Anmerkung: *: Signifikantes Ergebnis ($p \leq .05$), **: Hochsignifikantes Ergebnis ($p \leq .001$), WilksL: Wilks-Lambda, F: Varianzanalytischer F-Test, η²: Partielles Eta-Quadrat

Wilks-Lambda ist der gängigste multifaktorielle F-Test. Er misst die Gruppenunterschiede der Mittelwerte mehrerer unabhängiger Variablen. Alle Faktoren, sowie die Kovariaten Alter und

Geschlecht zeigen in der MANCOVA einen signifikanten Einfluss auf die drei Beta-Frequenzbänder (abhängigen Variablen) über den Elektrodenpositionen F3, Fz und F4 (siehe p-Werte in Tab. 15). Die Kovariate Medikation und die Interaktionsrechnung zeigen keinen signifikanten Einfluss.

Um die Erklärungskraft des Gesamtmodells und der einzelnen Faktoren, Kovariaten und Interaktion abschätzen zu können, kann auf R-Quadrat und die Eta-Statistik (η^2) zurückgegriffen werden. Das Gesamtmodell (R-Quadrat) erklärt somit beispielsweise beim Beta 1-Frequenzband 7.2%^{a)}, beim Beta 2-Frequenzband 6%^{b)} und beim Beta 3-Frequenzband 7.9%^{c)} der Gesamtvarianz. Der berechnete Erklärungsanteil der einzelnen Faktoren und Interaktion wird um die Einflüsse der übrigen Faktoren im Modell bereinigt. Die ermittelten partiellen Eta-Werte verdeutlichen, dass der Faktor Genotypen in Hinblick auf die abhängigen Variablen Beta 2 (3,2%) und Beta 3 (3,8%) einen größeren Varianzanteil aufweist als der Faktor Gruppe.

IV.2.3.1. Einfluss des Faktors ‚Gruppe‘

In der MANCOVA zeigt der Faktor ‚Gruppe‘ (gesunde und schizophrene Studienteilnehmer) einen signifikanten Haupteffekt auf alle Beta-Frequenzbänder und erklärt 2.4% der Gesamtvarianz (η^2).

Wilks-Lambda = .976; $F_{3,438} = 3.660$; $p = .013$

Anmerkung: WilksL: Wilks-Lambda, F: Varianzanalytischer F-Test, η^2 : Partielles Eta-Quadrat, p: Signifikanz

Auch im Test der Zwischensubjekteffekte zeigt der Faktor ‚Gruppe‘ signifikante Einzeleffekte auf die drei Frequenzbänder.

Beta 1: $F = 6.419$; $df = 1$; $p = .012$

Beta 2: $F = 4.822$; $df = 1$; $p = .029$

Beta 3: $F = 8.951$; $df = 1$; $p = .003$

Anmerkung: F: Varianzanalytischer F-Test, df: Freiheitsgrade, p: Signifikanz

In Tabelle 16 sind die Auswirkungen des Faktors ‚Gruppe‘ auf die Beta-Frequenzbänder in geschätzten Randmittelwerten (ungewichtete MW) und die Standardabweichung (SD) aufgeführt. Die geschätzten Randmittelwerte stellen die ungewichteten Mittelwerte dar, die als Teile des Outputs der MANCOVA erscheinen.

Tabelle 16: Faktor ‚Gruppe‘ und die ungewichteten MW der Betafrequenzen in μV^2

Abhängige Variable	Gruppe	Ungewichtete MW in μV^2	SD
Beta 1	Gesunde Probanden	.385	.023
	Schizophrene Patienten	.555	.055
Beta 2	Gesunde Probanden	-.130	.025
	Schizophrene Patienten	.03	.06
Beta 3	Gesunde Probanden	.152	.023
	Schizophrene Patienten	.356	.056

Anmerkung: MW: Mittelwerte, SD: Standardabweichung

Aus Tabelle 16 wird ersichtlich, dass alle ungewichteten Mittelwerte der Beta-Frequenzbänder schizophrener Patienten höhere Werte aufweisen als die gesunder Kontrollen. Dieses Ergebnis untermauert die erste Hypothese, nach der schizophrene Patienten über frontalen Hirnregionen mehr Beta-Power aufweisen als gesunde Probanden (siehe II.6.1. und Abb. 5).

IV.2.3.2. Einfluss der Kovariate ‚Alter‘

Die Kovariate ‚Alter‘ ergibt in der MANCOVA einen signifikanten Haupteffekt auf alle drei Beta-Frequenzbänder und erklärt 2.5% der Gesamtvarianz (η^2).

Wilks-Lambda = .975; $F_{3,438} = 3.780$; $p = .011$

Anmerkung: WilksL: Wilks-Lambda, F: Varianzanalytischer F-Test, η^2 : Partielles Eta-Quadrat, p: Signifikanz

In dem Test der Zwischensubjekteffekte ist ein signifikanter Effekt auf Beta 1 und Beta 3 des Alters erkennbar, jedoch nicht auf Beta 2.

Beta 1: $F = 3.851$; $df = 1$; $p = .05$
--

Beta 2: $F = 2.830$; $df = 1$; $p = .093$

Beta 3: $F = 8.610$; $df = 1$; $p = .004$

Anmerkung: F: Varianzanalytischer F-Test, df: Freiheitsgrade, p: Signifikanz

Somit kann die erste Nebenhypothese, nach der das Alter einen Einfluss auf die Beta-Frequenzbänder hat, in dieser Arbeit für das Beta 1 und Beta 3 Frequenzband bekräftigt werden.

IV.2.3.3. Einfluss der Kovariate ‚Geschlecht‘

Die MANCOVA zeigt auch einen signifikanten Haupteffekt der Kovariate ‚Geschlecht‘ auf die drei Beta-Frequenzbänder und erklärt 2.3 % der Gesamtvarianz (η^2).

Wilks-Lambda = .977; $F_{3,438} = 3.438$; $p = .017$

Anmerkung: WilksL: Wilks-Lambda, F: Varianzanalytischer F-Test, η^2 : Partielles Eta-Quadrat, p: Signifikanz

Der Test der Zwischensubjekteffekte zeigt die deutlich signifikanten Effekte der Kovariate ‚Geschlecht‘ auf die einzelnen Beta-Frequenzbänder.

Beta 1: $F = 9.659$; $df = 1$; $p = .002$

Beta 2: $F = 8.650$; $df = 1$; $p = .003$

Beta 3: $F = 6.920$; $df = 1$; $p = .009$

Anmerkung: F: Varianzanalytischer F-Test, df: Freiheitsgrade, p: Signifikanz

Auch die zweite Nebenhypothese, nach der das Geschlecht einen Einfluss auf die Beta-Frequenzbänder an den drei Elektroden F3, Fz und F4 hat, wird durch diese Arbeit gestützt.

IV.2.3.4. Einfluss der Kovariate ‚Medikation‘

Aus der MANCOVA geht kein signifikanter Haupteffekt der Kovariate ‚Medikation‘ auf die drei Beta-Frequenzbänder hervor.

Wilks-Lambda = .994; $F_{3,438} = 0.835$; $p = .475$

Anmerkung: WilksL: Wilks-Lambda, F: Varianzanalytischer F-Test, p: Signifikanz

Die dritte Nebenhypothese, nach der die Medikation (Neuroleptika und Benzodiazepine) einen Einfluss auf die Beta-Frequenzbänder an den drei Elektroden F3, Fz und F4 hat, wird durch diese Arbeit nicht bekräftigt.

IV.2.3.5. Einfluss des Faktors ‚Genotypen‘

Der Effekt des Faktors ‚Genotypen‘ zeigt einen signifikanten Haupteffekt auf alle drei Beta-Frequenzbänder (MANCOVA) und erklärt 2.0% der Gesamtvarianz (η^2).

Wilks-Lambda = .960; $F_{6,876} = 3.027$; $p = .006$

Anmerkung: WilksL: Wilks-Lambda, F: Varianzanalytischer F-Test, η^2 : Partielles Eta-Quadrat, p: Signifikanz

Auch der Test der Zwischensubjekteffekte bestätigt signifikante (Beta 1 und 2) und hochsignifikante (Beta 3) Einzeleffekte des Faktors ‚Genotypen‘ auf die drei Frequenzbänder.

Beta 1: $F = 6.069$; $df = 2$; $p = .003$
Beta 2: $F = 7.185$; $df = 2$; $p = .001$
Beta 3: $F = 8.684$; $df = 2$; $p < .001$

Anmerkung: F: Varianzanalytischer F-Test, df: Freiheitsgrade, p: Signifikanz

Aufgrund dieser Ergebnisse kann auch die zweite Hypothese, nach der es einen Zusammenhang zwischen den Powerwerten der drei Beta-Frequenzbänder über frontalen Hirnregionen und den Genvarianten des SNP rs 279845 (A/A, A/T, T/T) gibt, untermauert werden (siehe II.6.3. und Abb. 5).

In Tabelle 17 sind die Auswirkung der Genotypen auf die Beta-Frequenzbänder und deren geschätzte Randmittelwerte (ungewichtete MW) mit Standardabweichung (SD) aufgeführt.

Tabelle 17: Faktor ‚Genotypen‘ und die ungewichteten MW der Betafrequenzen in μV^2

Abhängige Variablen	Genotypen	Ungewichtete MW in μV^2	SD
Beta 1	A/A	.570	.051
	A/T	.383	.028
	T/T	.457	.034
Beta 2	A/A	.067	.056
	A/T	-.154	.031
	T/T	-.064	.037
Beta 3	A/A	.376	.052
	A/T	.148	.029
	T/T	.239	.035

Anmerkung: MW: Mittelwerte, SD: Standardabweichung

Aus Tabelle 17 geht hervor, dass der homozygote Genotyp A/A die höchsten Mittelwerte in allen drei Beta-Frequenzbändern, der homozygote Genotyp T/T die zweithöchsten und der heterozygote Genotyp A/T die niedrigsten Mittelwerte in allen drei Beta-Frequenzbändern aufweist.

IV.2.3.6. Einfluss der Interaktion ‚Gruppe*Genotypen‘

Aus der Interaktionsrechnung ‚Gruppe (schizophrene und gesunde Gruppe) * Genotypen (AA, AT, TT)‘ ergibt sich kein signifikanter Haupteffekt auf die Beta-Frequenzbänder.

Wilks-Lambda = .979; $F_{6,876} = 1.561$; $p = .156$

Anmerkung: WilksL: Wilks-Lambda, F: Varianzanalytischer F-Test, η^2 : Partielles Eta-Quadrat, p: Signifikanz

Im Test der Zwischensubjekte zeigt sich ein signifikanter Effekt der Interaktion auf das Beta 3-Frequenzband und für das Beta 1 und Beta 2- Frequenzband ein statistischer Trend.

Beta1: $F = 2.174$; $df = 2$; $p = .115$
--

Beta2: $F = 2.588$; $df = 2$; $p = .076$
--

Beta3: $F = 4.259$; $df = 2$; $p = .015$
--

Anmerkung: F: Varianzanalytischer F-Test, df: Freiheitsgrade, p: Signifikanz

Da die Interaktionsrechnung nicht signifikant ist, stützen diese Ergebnisse nicht die explorative Fragestellung, die einen möglichen Zusammenhang zwischen Phänotyp und Genotyp postuliert (siehe II.6.4. und Abb. 5).

In Tabelle 18 sind die geschätzten Randmittelwerte der Beta-Frequenzbänder mit Bezug zu den interagierenden Faktoren ‚Gruppe*Genotypen‘ und die Standardabweichung (SD) aufgeführt.

Tabelle 18: Interaktion ‚Gruppe*Genotypen‘ und die ungewichteten MW der Betafrequenzen in μV^2

Abhängige Variablen	Gruppe	Genotypen	Ungewichtete MW in μV^2	SD
Beta 1	Gesunde Probanden	A/A	.422	.044
		A/T	.349	.028
		T/T	.385	.034
	Schizophrene Patienten	A/A	.719	.098
		A/T	.417	.057
		T/T	.529	.067
Beta 2	Gesunde Probanden	A/A	-.093	.043
		A/T	-.176	.030
		T/T	-.122	.037
	Schizophrene Patienten	A/A	.227	.107
		A/T	-.132	.062
		T/T	-.006	.073
Beta 3	Gesunde Probanden	A/A	.172	.045
		A/T	.108	.028
		T/T	.178	.035
	Schizophrene Patienten	A/A	.580	.100
		A/T	.189	.058
		T/T	.300	.069

Anmerkung: MW: Mittelwerte, SD: Standardabweichung

Die Inspektion der Mittelwerte in Tabelle 18 zeigt, dass alle schizophrenen Patienten – vergleicht man auf der Genotypebene – numerisch über höhere Mittelwerte in den Beta-Frequenzbändern verfügen als die gesunden Probanden.

Resümierend lässt sich sagen, dass die Inhalte der Tabelle 18 eigentlich nicht zur weiteren Interpretation herangezogen werden dürfen, da die Interaktionsrechnung in der MANCOVA keinen signifikanten Haupteffekt ergab, die p-Werte und die geschätzten Randmittelwerte (ungewichtete MW) aber bei näherer Betrachtung auf einen statistischen Trend ($p < .1$) hinweisen könnten.

V. Diskussion

Mit der vorliegenden Arbeit soll ein Beitrag zum Verständnis des Zusammenhangs zwischen dem komplexen polygenen Erbgang und dem heterogenen klinischen Phänotyp der Schizophrenie geleistet werden. Zu diesem Zweck wurde ein als Krankheitskorrelat gewerteter und neurobiologisch definierter Endophänotyp (Beta-Power im Ruhe-EEG), der höchst wahrscheinlich direkter und stärker als der Phänotyp selbst den Einfluss eines aus anderen Studien bereits bekannten Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP) rs279845 abbildet, herangezogen. Dieser SNP rs279845 befindet sich auf dem Chromosom 4 im GABRA2-Rezeptorgen und bewirkt einen Austausch der DNA-Base Adenin (A) gegen Thymin (T). Für die vorliegende Arbeit wird angenommen, dass die sich aus dem SNP rs279845 ergebenden Genvariationen (A/A, A/T oder T/T) einen unterschiedlich starken Einfluss auf das Gleichgewicht zwischen Erregung und Hemmung im Ruhe-EEG haben und dass daher eine Genvariante zu mehr Aktivität in den Beta-Frequenzbändern führen kann als eine andere.

Rangaswamy et al. (2002, 2004, 2008) berichteten von erhöhter Beta-Power bei alkoholkranken Patienten. Daraufhin fanden Porjesz et al. (2002, 2004) in einem Genomscan ebenfalls bei alkoholkranken Patienten Zusammenhänge zwischen der Beta-Power und GABA-A Rezeptorgenen (insbesondere GABRA2-Rezeptorgen) auf Chromosom 4. Edenberg et al. (2004) entdeckten danach eine signifikante Assoziation der Beta-Frequenzen zu einem speziellen Haplotyp, bestehend aus SNP rs279871, SNP rs279845 und rs279836 bei alkoholkranken Patienten. Alfimova et al. (2003), Venables et al. (2009) und auch andere Gruppen (wie Dierks et al. 1995; Boutros et al. 2008) beschrieben das vermehrte Auftreten von Beta-Aktivität im EEG bei schizophrenen Patienten gegenüber gesunden Probanden.

Die aus dieser Arbeit hervorgehenden Ergebnisse geben Hinweise auf Effekte der jeweiligen Faktoren ‚Gruppe‘ (schizophrene und gesunde Teilnehmer) und ‚Genotypen‘ (des SNP rs279845) auf die in drei Untergruppen unterteilten Beta-Frequenzbänder (Endophänotypen). Zudem wurde ein Einfluss der Kovariaten ‚Alter‘ und ‚Geschlecht‘ auf die Beta-Frequenzbänder sichtbar. Keinen statistischen Effekt zeigte die Kovariate ‚Medikation‘ und es konnte kein direkter statistischer Zusammenhang zwischen den Genotypen und dem Phänotyp (schizophrene Patienten) ausfindig gemacht werden.

V.1. Hypothesen und explorative Fragestellung

V.1.1. Erste Hypothese

In der vorliegenden Arbeit konnte der in der Literatur beschriebene Befund einer vermehrt auftretenden Beta-Aktivität, bzw. –Power, schizophrener Patienten gegenüber gesunden Kontrollgruppen gestützt werden (Boutros et al. 2008; Herrmann und Winterer 1996; Tislerova et al. 2008; Gross et al. 2006; Alfimova et al. 2003; Venables et al. 2009). Analog zu diesen Studien geht bereits aus der rein deskriptiven Statistik der MANCOVA hervor, dass die schizophrenen Patienten dieser Studie mehr Beta-Power aufweisen als die gesunden Probanden (siehe IV.2.2., Abb. 12-14). Weil die Faktoren ‚Gruppe‘ und ‚Genotypen‘ aber eine ungleiche Zellbesetzung aufweisen (Tab. 14), ist es zur Beurteilung sinnvoller die ungewichteten Mittelwerte zu betrachten (Tab. 16 und 17), die sich mit Hilfe der MANCOVA berechnen lassen. Die ungewichteten Mittelwerte bestätigen die Ergebnisse der rein deskriptiven, gewichteten Mittelwerte der Beta-Frequenzbänder. In der Hauptrechnung der MANCOVA zeigt sich ein signifikanter Haupteffekt des Faktors ‚Gruppe‘ auf alle drei Beta-Frequenzbänder und auch in dem Test der Zwischensubjekte präsentieren sich signifikante Einzeleffekte auf jedes Beta-Frequenzband (siehe IV.2.3. und IV.2.3.1.). Aus den geschätzten Randmittelwerten, d.h. den ungewichteten Mittelwerten (siehe Tab. 16), wird deutlich, dass die Beta-Frequenzbänder aller schizophrener Patienten höhere Mittelwerte aufweisen als die gesunder Kontrollen. Diese Resultate stehen im Einklang mit den Ergebnissen der oben erwähnten Studien (das vermehrte Auftreten einer erhöhten Beta-Aktivität im Ruhe-EEG bei schizophrenen Patienten) und untermauern die erste Haupthypothese (siehe II.6.1. und Abb. 5).

Die bisherigen Informationen zusammengefasst, sprechen die Ergebnisse dieser Arbeit dafür, dass die Beta-Aktivität in Übereinstimmung mit Anokhin et al. (2006), Venables et al. (2009), Van Beijsterveldt et al. (1998) und Van Baal et al. (1998) mit großer Wahrscheinlichkeit unter genetischem Einfluss steht und ein neurobiologisches Krankheitskorrelat der Schizophrenie darstellt. Ebenso wie von Gottesman und Gould (2003) sowie von Zobel und Maier (2004) beschrieben, kann aufgrund der Ergebnisse davon ausgegangen werden, dass die genetische Determination der Beta-Aktivität einfacher ist als die der Schizophrenie selbst (weniger Gene, höhere Penetranz, geringere Umwelteinflüsse) und dass deshalb die Beta-Frequenzbänder direkter und stärker von den Risikogenen beeinflusst werden. Diese Gene können demnach prädisponierend für die Schizophrenie sein. Die erwähnten Untersuchungen sprechen für die Eignung der Beta-Frequenzbänder als Endophänotypen, die quantitativ besser messbar sind als klinisch gestellte Diagnosen.

Andererseits ist die Beta-Aktivität auch nicht-genetischen Einflussfaktoren wie Alter, Geschlecht, Krankheitsprozessen, Medikamenten und Wachheitsgraden unterworfen, die nach den Kriterien von Gottesman und Gould (2003) limitierend für den in Frage kommenden Endophänotyp sind. Der potenzielle Einfluss der geschilderten Störfaktoren wird im Folgenden vertieft.

V.1.2. Nebenhypothesen: Alter und Geschlecht

Betrachtet man die Studienteilnehmer und die Verteilung von Alter und Geschlecht auf die Gruppen, fällt zunächst eine relativ geringe Anzahl schizophrener Frauen auf (siehe IV.1.2.). Dieser Umstand könnte zu einer allgemeinen Reduktion der Aussagekraft der statistischen Ergebnisse führen. Andererseits sind große Fallzahlen bei genetischen Studien äußerst wichtig. Je höher die Fallzahl, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit auch kleine Effektstärken, wie sie bei multifaktoriellen polygenen Erbgängen angenommen wird, zu messen. Aus diesem Grunde wurden die Patienten- und Kontrollgruppen zugunsten einer hohen Stichprobenzahl trotz signifikanter Unterschiede in Alter und Geschlecht nicht nach diesen Kriterien gematcht.

Überdies zeigen sich in der deskriptiven Statistik zwischen den drei Genotypen - wie im Voraus angenommen - keine signifikanten Unterschiede in der Geschlechter- oder Durchschnittsalterverteilung, weder in der Patienten- noch in der Probandengruppe (siehe IV.1.2.). Ein Unterschied hätte die Begünstigung bestimmter Genotypen durch das Geschlecht oder eine Altersklasse indizieren können.

Da der Einfluss von Alter und Geschlecht auf die Beta-Aktivität angenommen wird (Christian 1984; Clarke et al. 2001; Roubicek 1977), wurden diese zur Vermeidung möglicher Störeffekte als Kovariaten in die MANCOVA integriert (siehe IV.2.1., IV.2.3. und Tab. 15). Während in der statistischen Überprüfung mit der MANCOVA die Kovariate Alter - entsprechend der ersten Nebenhypothese - einen signifikanten Haupteffekt auf die Power der drei Beta-Frequenzbänder aufweist, fallen im Test der Zwischensubjekte nur signifikante Einzeleffekte auf die Beta 1- und Beta 3-Frequenzbänder auf (siehe IV.2.3.2.). Dieser Befund könnte ein Hinweis sein, dass das Alter hauptsächlich Einfluss auf Beta 1 und 3 besitzt. Auch das Geschlecht hatte - entsprechend der zweiten Nebenhypothese - einen signifikanten Haupteffekt auf die Werte aller drei Beta-Frequenzbänder, sowohl in der MANCOVA als auch in der ANOVA (siehe IV.2.3.3.). Da Alter und Geschlecht nur Kovariaten und nicht Faktoren waren, wurden diese Ergebnisse nicht weitergehend analysiert.

V.1.3. Nebenhypothesen: Medikamente und Alkohol

Neben Alter und Geschlecht können bekanntermaßen auch Medikamente und Alkohol die EEG-Frequenzen beeinflussen. Benzodiazepine wirken am GABA-A Rezeptor und führen dadurch zu einem vermehrten Auftreten von Beta-Aktivität im Ruhe-EEG (Blume 2006; Tobler et al. 2001; Traub et al. 1996; Whittington et al. 1996; Yamadera et al. 1993). Neuroleptika wiederum wirken an Dopamin- und Serotonin-Rezeptoren und haben den Literaturangaben zufolge keinen derartig einheitlichen Einfluss auf die Beta-Aktivität wie Benzodiazepine (Begic et al. 2000; Herrmann und Winterer 1996; Kemali et al. 1992; Tislerova et al. 2008).

In der vorliegenden Studie waren 74 von 106 Patienten mediziert. Von diesen wurden 34 Patienten mit typischen, 49 mit atypischen Neuroleptika und 25 mit Benzodiazepinen behandelt (12 Patienten mit einer Dauer-, sieben mit einer Bedarfstherapie und sechs mit einer Einmalgabe in den letzten 24 Stunden). Bei fünf Patienten sind die Angaben zur Medikation inkomplett (siehe IV.1.3.3.). Somit ist es nicht unwahrscheinlich, dass die erhöhte Aktivität in den Beta-Frequenzbändern auch auf die Einnahme von Neuroleptika und Benzodiazepine zurückzuführen ist. Aus diesem Grunde wurde die Variable Medikation (Neuroleptika und Benzodiazepine) mit in die MANCOVA aufgenommen (siehe IV.2.3. und Tab. 15). Entgegen dem in der Literatur häufig beschriebenen Einfluss der erwähnten Medikamente auf die Beta-Frequenzbänder zeigt sich in dieser Rechnung kein signifikanter Haupteffekt der Medikation. Allerdings unterscheidet die aggregierte Variable ‚Medikation‘ nicht zwischen Benzodiazepin- und Neuroleptikaeinnahme.

Zudem geht man - wie bereits in Kapitel II.5. dargestellt - von einem Zusammenhang zwischen der Alkoholkrankheit und einer vermehrten Beta-Aktivität im Ruhe-EEG aus. Bei chronischem Alkoholkonsum kann es zu einer veränderten Zusammensetzung der Untereinheiten des GABA-A Rezeptors kommen und der Rezeptor dadurch weniger sensibel für Alkohol werden (Krystal et al. 2006). In diversen Studien wurde ein Zusammenhang zwischen der Diagnose Alkoholabhängigkeit, dem GABRA2-Rezeptorgen (Covault et al. 2004; Drgon et al. 2006; Enoch et al. 2006; Fehr et al. 2006; Soyka et al. 2008) und dem vermehrten Auftreten von Beta-Aktivität (Rangaswamy et al. 2002, 2004) geschildert. Edenberg et al. (2004) beschreiben einen direkten Zusammenhang zwischen dem SNP rs279845 und der vermehrten Aufzeichnung von Beta-Aktivität im Ruhe-EEG bei alkoholkranken Personen.

In der vorliegenden Studie wurde bei 19 der 110 schizophrenen Patienten in der Vorgeschichte ein vermehrter Alkoholkonsum dokumentiert (siehe III.2.2.). Da aber bei keinem der Patienten im Unterschied zu Edenberg et al. (2004) ein aktueller Alkoholmissbrauch vorlag, wurde auf eine Aufnahme dieser Variable in die Rechnung verzichtet.

V.1.4. Weitere klinische Daten

Neben Medikamenten- und Alkoholkonsum wurden zusätzliche klinische Daten in der Patientengruppe erhoben.

Beim Vergleich des *Erstmanifestationsalters* der drei Genotypen weist der Genotyp A/A zahlenmäßig ein späteres Erstmanifestationsalter als die anderen Genotypen auf. Dies bestätigte sich auch statistisch im Mittelwertsvergleich. Daraufhin wurde ein Post-Hoc-Test nach Tukey durchgeführt und ergab in den Mehrfachvergleichen einen signifikanten Unterschied zwischen den Genotypen A/A und A/T hinsichtlich des Erstmanifestationsalters (siehe IV.1.3.1.). Obgleich die Ergebnisse mit Vorsicht interpretiert werden sollten, lässt sich spekulieren, ob es angesichts dieser Resultate nicht auch einen Zusammenhang zwischen einer Unterform der Schizophrenie mit späterem Erstmanifestationsalter (siehe I.1.2.) und einem spezifischen Genotyp geben könnte.

Bei der *Krankheitsdauer* fällt ein Unterschied in den Mittelwerten der Genotypen auf. Dabei scheint der Genotyp A/A zahlenmäßig eine deutlich kürzere Krankheitsdauer aufzuweisen als die Genotypen A/T und T/T. In einer daraufhin durchgeführten ANOVA konnte jedoch kein signifikant statistischer Unterschied hinsichtlich der Erkrankungsdauer der verschiedenen Genotypen festgestellt werden (siehe IV.1.3.2.).

Die *Diagnose* Schizophrenie verkörpert eine derartig heterogene Gruppe (siehe I.1.1.), dass es schwierig scheint, wirklich vergleichbare Schlüsse zu ziehen. Deshalb wurde die klinische Diagnosenauflistung der Genotypen ohne Interpretationsversuche rein deskriptiv dargestellt (siehe IV.1.4.). 102 der 110 Patienten hatten eine F20.x Diagnose und acht Patienten besaßen Diagnosen zwischen F21 und F25. Diese wurden trotzdem in die Studie mit aufgenommen, da sie dem schizophrenen Formenkreis angehören und sich die Grenze zwischen dem klinischen Erscheinungsbild (Phänotyp) einer Schizophrenie und dem einer schizoaffectiven Störung nicht immer klar ziehen lässt (Benes 2007; Kirov et al. 2005).

Hinsichtlich der klinischen Symptomatik (*PANSS*) ergaben sich aus einer einfaktoriellen ANOVA keine evidenten Unterschiede zwischen den drei Genotypen schizophrener Patienten (siehe IV.1.3.4.). Entgegen der von Gross et al. (2006) dargestellten Korrelationen zwischen Positiv-/Negativsymptomatik und bestimmter EEG-Veränderungen bei schizophrenen Patienten scheinen die Genotypen der an dieser Studie teilnehmenden schizophrenen Patienten keinen signifikanten Einfluss auf den PANSS und damit auf die Symptomausprägung zu haben. Indessen ermöglicht erst der mangelnde Unterschied in der Symptomatik zwischen den Genotypen einen Vergleich der Effekte des Faktors ‚Genotypen‘ in den Patienten- und Kontrollgruppe auf die Beta-Aktivität (Gallinat et al. 2003).

Signifikante Unterschiede hinsichtlich der klinischen Daten bei den Genotypen hätten den dezidierten Einfluss eines einzelnen Genotyps auf eine bestimmte klinische Ausprägung, wie beispielsweise auf das Erstmanifestationsalter, dokumentieren können.

V.1.5. Zweite Hypothese

Die zweite Hypothese postuliert einen Zusammenhang zwischen den Genotypen des SNP rs279845 und den Endophänotypen (Beta-Frequenzbänder). Demnach bildet sich der Einfluss der Genotypen direkter und stärker in den Endophänotypen als im Phänotyp ab (vgl. I.4 und II.6.3. und Abb. 5). Schon die deskriptive Statistik zeigt, dass speziell der homozygote Genotyp A/A rein quantitativ die höchsten Powerwerte aufweist (siehe IV.2.2. und Tab. 14). Die statistische Überprüfung (MANCOVA) verdeutlicht, dass in der Tat ein signifikanter Gesamteffekt des Faktors ‚Genotypen‘ auf alle drei Beta-Frequenzbänder auftritt. Ebenso präsentieren sich in dem Test der Zwischensubjekte signifikante Einzeleffekte auf jedes Beta-Frequenzband (IV.2.3.5.). Dabei verfügt vor allem der Genotyp A/A über die höchsten Randmittelwerte, der Genotyp T/T über die zweithöchsten und der heterozygote Genotyp über die niedrigsten Randmittelwerte (siehe IV.2.3.5. und Tab. 17). Die Individuen mit dem selteneren homozygoten Genotyp A/A weisen die höchsten Mittelwerte im Beta 1-Frequenzband auf. Somit besteht bei diesem Genotyp die größte Wahrscheinlichkeit, dass im EEG messbare Veränderungen im Beta 1-Frequenzband hervorgerufen werden.

Dass sowohl die MANCOVA als auch der Test der Zwischensubjekte signifikante Effekte des Faktors ‚Genotypen‘ auf die abhängigen Variablen ‚Beta 1-3‘ (Endophänotypen) zeigt, untermauert die zweite Hypothese, der zufolge die Genotypen des SNP rs279845 im GABRA2-Gen einen Einfluss auf die Beta-Power haben. Ähnlich wie bei Edenberg et al. (2004) wird auch in der vorliegenden Arbeit eine signifikante Assoziation der erhöhten Aktivität in den Beta-Frequenzbändern im Ruhe-EEG zu dem SNP rs279845 beobachtet. Allerdings besteht die Stichprobe in dieser Arbeit aus einem Sample von schizophrenen und gesunden Studienteilnehmern im Gegensatz zu den alkoholkranken Patienten bei Edenberg et al. (2004). Porjesz et al. (2002, 2004) beschreiben dagegen, dass sich bei Individuen mit dem selteneren Genotyp (15%) des SNP rs279836 auf dem GABRA2 Rezeptorgen signifikant mehr Power im Beta 2-Frequenzband als bei den anderen Genotypen fand.

Der GABA-A Rezeptor ist ein wichtiger Rezeptor in der Vermittlung von IPSP und damit Teil des neuronalen Netzwerkes (Tobler et al. 2001), das laut Whittington et al. 2000 ein Gleichgewicht aus Hemmung und Erregung darstellt und im EEG sichtbar wird. Kommt es zu

einer Störung dieser Balance, kann es verglichen zu gesunden Kontrollgruppen zu einem vermehrten Auftreten von Beta-Aktivität kommen (Faulkner et al. 1999; Kopell et al. 2000).

In der Summe stützen die beschriebenen Studien und die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit die Annahme, dass Differenzen in der Expression oder Funktion des GABA-A Rezeptors über die Modulierung der neuronalen Exzitation bei der Generierung der Beta-Aktivität eine zentrale Rolle spielen.

V.1.6. Explorative Fragestellung

Basierend auf der ersten und zweiten Hypothese sucht die explorative Fragestellung nach einem möglichen Zusammenhang zwischen den Genotypen und dem Phänotyp (vgl. I.4. und II.6.4.). Um diesen in Betracht kommenden Zusammenhang zu detektieren, wurde zunächst die unterschiedliche Häufigkeitsverteilung der Genvarianten des SNP rs279845 geprüft. Die allgemeine Genotypverteilung (A/A, A/T oder T/T) der Stichprobe aus schizophrenen und gesunden Teilnehmern befand sich sowohl in der Probandengruppe als auch in der Patientengruppe im Hardy-Weinberg-Equilibrium (HWE), d.h. die Genotypverteilung (siehe Tab. 3) innerhalb der Gruppen war gleich und keiner der Genotypen manifestierte sich häufiger als ein anderer (siehe IV.1.1.). Dies schuf die Voraussetzung für eine Interaktionsrechnung, mit welcher der Effekt der kombinierten Faktoren ‚Genotypen‘ und ‚Gruppe‘ (Genotypen*Gruppe) auf die Beta-Frequenzbänder in einer MANCOVA ermittelt werden kann (siehe IV.2.3. und Tab. 15). Die Rechnung ergab kein signifikantes Ergebnis ($p = .156$). Somit besteht kein Interaktionseffekt der Kombination aus den Faktoren ‚Genotypen‘ (Genvarianten des SNP rs279845) und ‚Gruppe‘ auf die Beta-Frequenzbänder (siehe IV.2.3.6.). Das bedeutet, der vermutete Zusammenhang zwischen Genotyp und Phänotyp wird mit diesem Erklärungsmodell nicht gestützt. Dennoch könnten die geschätzten Randmittelwerte (siehe Tab. 18) und die Ergebnisse aus dem Test der Zwischensubjekteffekte auf einen statistischen Trend ($p < .1$) hindeuten, da sie diesen Wert nur leicht überschreiten ($p = .156$, siehe Tab.15). Folglich könnten größere Fallzahlen zu signifikanten Ergebnissen führen.

Um die Erklärungskraft des Gesamtmodells, der einzelnen Faktoren, Kovariaten und Interaktion abschätzen zu können, kann man auf die Eta-Statistik zurückgreifen. Aus dem Vergleich der partiellen Eta²-Werte (siehe Tab. 15) ergibt sich, dass die Effektgrößen sowohl des Gesamtmodells (R-Quadrat) als auch der einzelnen Faktoren, Kovariaten und Interaktion (Eta²) klein sind, und insofern dieses Modell nur einen geringen Teil der Gesamtvarianz der Beta-Powermittelwerte erklärt (siehe IV.2.3.). Dies steht aber durchaus im Einklang mit der etablierten Annahme, dass ein Gen bzw. dessen Polymorphismus vermutlich nur einen geringen

Effekt im Gesamtsystem ausübt und in Anbetracht der multifaktoriellen Ätiopathogenese der Schizophrenie auch viele andere Einflüsse eine Rolle spielen (vgl. Kety et al. 1994; Siira 2007; Cardno und Gottesman 2000; Sullivan et al. 2003; Tienari 1991, 2004).

Da bezüglich der explorativen Fragestellung kein signifikant positives Ergebnis gefunden wurde, kann weder von einer signifikant unterschiedlichen Häufigkeitsverteilung der Genvarianten bei den Studienteilnehmern ausgegangen werden, noch schlussfolgernd einem bestimmten Genotyp überwiegender Einfluss auf den Phänotyp der Schizophrenie zugeschrieben werden. Damit konnte kein zusätzliches Argument geliefert werden, den zugrunde liegenden SNP als mögliches Risikogen der Schizophrenie weiter zu untersuchen (vgl. Gallinat et al. 2003; Porjesz et al. 2002).

Insgesamt bestätigt also die vorliegende Arbeit den aktuellen Stand der Forschung in der Hinsicht, dass - wie bereits erwähnt - Differenzen in der Expression oder Funktion des GABA-A Rezeptors über eine Modulation der neuronalen Exzitation bei der Generierung der Beta-Aktivität eine essentielle Funktion innehaben.

V.2. Limitierungen der Studie

V.2.1. Statistik

Hinsichtlich der *Validität* der Aussagen dieser Arbeit lässt sich anmerken, dass multiples Testen statistisch nicht berücksichtigt wurde. Da die vorliegende Arbeit einen Teil einer übergeordneten Gesamtstudie darstellt und somit die Studienteilnehmergruppe in mehreren Studien verwendet wurde, müssen die signifikanten Ergebnisse in weiteren unabhängigen Studien reproduziert werden. In diesem Sinne ist bei den in dieser Arbeit beschriebenen signifikanten p-Werten von explorativen Ergebnissen auszugehen.

Die *Erklärungskraft des statistischen Gesamtmodells* und der einzelnen Faktoren, Kovariaten und Interaktionen (R-Quadrat und Eta-Statistik) ist relativ gering. Deshalb konnte nur 7.2% der Gesamtvarianz des Beta 1-Frequenzbandes, nur 6% des Beta 2-Frequenzbandes und 7.9% des Beta 3-Frequenzbandes durch dieses Modell aufgeklärt werden. Anhand der partiellen Eta²-Werte lässt sich die Bedeutsamkeit der unabhängigen Faktoren erkennen. Dabei zeigten sowohl die Faktoren ‚Gruppe‘ (Varianzaufklärung 2.4%) und ‚Genotypen‘ (Varianzaufklärung 2.0%), als auch die Kovariaten insgesamt nur einen geringen Anteil an der Varianzaufklärung.

Die *Stichprobe* wurde nicht nach Alter und Geschlecht gematcht, da mehr Wert auf eine hohe Stichprobenzahl gelegt wurde. Insgesamt nahmen 453 Personen an der Studie teil. Es wurden 110 Patienten aus dem gesamten klinisch sehr heterogenen ICD-10-Abschnitt F20-F25

eingeschlossen. Acht der 110 Patienten wurde keine F20.x-Diagnose zugeschrieben. Diese acht Patienten wurden aber trotz einer F21-25-Diagnose in die Studie aufgenommen, da sie dem schizophrenen Formenkreis angehören und sich das klinische Erscheinungsbild (Phänotyp) einer Schizophrenie und das beispielsweise einer schizoaffektiven Störung nicht immer präzise voneinander abgrenzen lässt (Benes 2007; Kirov et al. 2005).

Das Aufdecken der Effekte einzelner Polymorphismen setzt die Rekrutierung großer Stichproben mit vielen hundert Probanden und Patienten voraus. Aufgrund dem der Schizophrenie zugrunde liegenden komplexen, multifaktoriellen und polygenen Erbgang (Sullivan et al. 2003), der vielen unterschiedlichen prädisponierenden Gene (vgl. Harrison und Weinberger 2005; Le Niculescu et al. 2007) und deren unterschiedlichen Effektstärken (Kirov et al. 2005) müsste vermutlich eine noch viel größere Patientenfallzahl untersucht werden, um Unterschiede deutlicher sichtbar zu machen und falsch negative Ergebnisse zu vermeiden. Trotz der Anzahl von 453 Studienteilnehmern ist die Stichproben-Fallzahl in dieser Arbeit für neurogenetische Studien vermutlich noch relativ klein und erschwert - insbesondere in Anbetracht der vermuteten geringen Effektstärke des gesuchten Gens - die Interpretation der Ergebnisse aus neurogenetischer Sichtweise. Somit scheint eine abschließende Beurteilung der Ergebnisse nur bedingt möglich.

V.2.2. EEG

Trotz der von vielen Autoren deklarierten intraindividuellen Stabilität (Gasser et al. 1985; Stassen et al. 1987, 1998; Pollock et al. 1991; Venables et al. 2009) und Vererbbarkeit der Ruhe-EEG Parameter (Van Beijsterveldt et al. 1994, 1998; Van Baal et al. 1998; Stassen et al. 1988a, 1988b) bleibt die Unsicherheit, ob die *Retest-Reliabilität* und die *intraindividuelle Stabilität der Ruhe-EEG Parameter* tatsächlich uneingeschränkt vorliegt. Auch wenn versucht wurde die Messbedingungen zu standardisieren, konnten die EEG-Ableitungen nicht alle zu denselben Tageszeiten durchgeführt werden (vgl. III.3.). Dies könnte u.a. einen unterschiedlichen Wachheitsgrad der Studienteilnehmer zur Folge gehabt haben. Zudem stellt streng genommen der für die EEG-Aufzeichnungen von den schizophrenen Patienten verlangte Ruhezustand an sich schon eine Art Belastung dar, die auch zu Veränderungen im EEG führen können. Angesichts des klinischen Alltagsablaufs und die bei den meisten Patienten vorhandene schwere und akute Ausprägung der Erkrankung, wurden diese Einschränkungen in Kauf genommen.

Kritisch betrachtet werden muss zudem die *Analyse der Ruhe-EEG-Daten* (siehe III.4.): Die jeweiligen EEG-Abschnitte wurden – entsprechend klinischer EEG-Auswertepaxis - von der Autorin selbst selektiert, womit ein gewisser subjektiver Einfluss nicht auszuschließen ist.

Andererseits gelang es so, kurze repräsentative Frequenzabschnitte gegenüber langen, möglicherweise artefaktbehafteten EEG-Abschnitten auszuwählen.

Die Potentialverteilung im Ruhe-EEG wird als Differenz gegen eine Referenzelektrode ermittelt. Bei der gewählten *Mittelwertreferenz* wurde eine mögliche Abschwächung lokaler Aktivitätsschwankungen oder die artifizielle Übertragung auf andere Ableitgebiete in Kauf genommen. Die Beta-Aktivität lässt sich bevorzugt über frontalen Hirnregionen ableiten (Venables et al. 2009; Benes et al. 2001). Zur statistischen Überprüfung der Hypothesen wurden nur die drei Elektroden F3, Fz und F4 der EEG-Daten verwendet (siehe III.4.). Allerdings verwendeten auch andere Autoren wie Alfimova et al. (2006) und Gross et al. (2006) einen reduzierten Elektrodensatz für die statistischen Rechnungen.

Die EEG-Daten wurden mit Hilfe einer *FFT* in Signale im Frequenzbereich (Powerwerte) transformiert. Diese Datenmanipulation ist wiederum in der EEG-Forschung ein gängiges und akzeptiertes Verfahren (Begic et al. 2000; Dierks et al. 1995), mit dessen Hilfe aus Ruhe-EEG-Abschnitten Leistungsspektren gewonnen und die Mittelwerte einzelner Frequenzbänder verglichen werden können.

VI. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit soll einen Beitrag zur Verbindung zwischen dem hetero- und polygenen Erbgang der Schizophrenie einerseits und der Komplexität des rein klinisch definierten uneinheitlichen Phänotyps dieser Erkrankung andererseits leisten. Dazu dient ein als Krankheitskorrelat gewerteter und neurobiologisch definierter Endophänotyp (Beta-Frequenzbänder des Ruhe-EEG), der vermutlich direkter und stärker als der Phänotyp selbst den Einfluss eines einzelnen, aus anderen Studien bereits bekannten Polymorphismus (SNP rs279845 im GABRA2-Rezeptorgen auf Chromosom 4) abbildet. Die Charakteristika des Ruhe-EEG erfüllen fast alle Voraussetzungen für neurobiologische Krankheitsmarker und stellen somit geeignete Kandidaten für Endophänotypen dar. Eine Reihe von Untersuchungen zeigten, dass sich im Ruhe-EEG schizophrener Patienten mehr Beta-Aktivität ableiten lässt als bei gesunden Probanden. In anderen Untersuchungen mit alkoholabhängigen Patienten wurde ein Zusammenhang zwischen der bei alkoholkranken Patienten ebenfalls vermehrt auftretenden Beta-Power des Ruhe-EEG und einem Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP) rs279845 festgestellt. Die durch den SNP rs279845 verursachten Genotypvariationen (A/A, A/T oder T/T) im GABRA2 Rezeptorgen können das Gleichgewicht zwischen Erregung und Hemmung modulieren und so zu unterschiedlich starker Aktivität der Beta-Frequenzen führen.

In diese Studie wurden 110 Patienten aus dem schizophrenen Formenkreis (F20-F25) und 343 gesunde Probanden eingeschlossen. Bei allen erfolgte eine elektrophysiologische Untersuchung, in der der Anteil absoluter Powerwerte des gesamten Beta-Frequenzbandes über den Elektroden F3, Fz und F4 berechnet wurde. Zudem erfolgte eine DNA-Analyse, in der mittels einer RT-PCR explizit nach dem SNP rs279845 auf dem GABRA2-Gen und den sich daraus ergebenden möglichen Genotypen gesucht wurde.

Die Daten wurden statistisch (Hauptanalyseverfahren: Multifaktorielle Kovarianzanalyse (MANCOVA)) auf eine Assoziation zwischen den Genotypen des SNP rs279845 und der Power im Beta-Frequenzband geprüft. Die Beta-Power wurde in drei Frequenzbänder (Beta 1-3) unterteilt und diese als abhängige Variablen festgelegt. Als unabhängige Variablen (Faktoren) wurden zum einen die Eigenschaft ‚Gruppe‘ (Patienten und Probanden) und zum anderen die Eigenschaft ‚Genotypen‘ des SNP rs279845 (A/A, A/T, T/T) definiert. Alter, Geschlecht und Medikation wurden als Kovariaten in die Berechnung mit aufgenommen.

1. Hypothese: Das Ruhe-EEG bei schizophrenen Patienten zeigt über frontalen Hirnregionen (an den Elektroden F3, Fz und F4) mehr Beta-Power als bei gesunden Probanden.

Übereinstimmend mit den Ergebnissen anderer Studien konnten auch bei den schizophrenen Patienten dieser Arbeit höhere Powerwerte in den drei Beta-Frequenzbändern abgeleitet werden als bei den gesunden Kontrollen. In der MANCOVA wurde ein signifikanter Gesamteffekt des Faktors ‚Gruppe‘ auf alle drei Beta-Frequenzbänder sichtbar und auch in dem Test der Zwischensubjekte stellten sich signifikante Einzeleffekte auf jedes der drei Beta-Frequenzbänder dar. Die (ungewichteten) Mittelwerte der Beta-Frequenzbänder wiesen bei den schizophrenen Patienten höhere Mittelwerte auf als bei den gesunden Kontrollen.

2. Hypothese: Es gibt einen Zusammenhang zwischen den verschiedenen Genvarianten des Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP) rs279845 (A/A, A/T, T/T) und den Powerwerten der drei Beta-Frequenzbänder (Endophänotypen) über frontalen Hirnregionen (an den Elektroden F3, Fz und F4).

Der homozygote Genotyp A/A des SNP rs279845 zeigte in der statistischen Überprüfung bei allen drei Beta-Frequenzbändern die höchsten Randmittelwerte, der homozygote Genotyp T/T die zweithöchsten und der heterozygote Genotyp A/T die niedrigsten Werte. Dabei wiesen die Individuen mit dem selteneren homozygoten Genotyp A/A die höchsten Werte im langsamen Beta 1-Frequenzband auf. Somit werden messbare EEG-Veränderungen im Beta-Frequenzband mit größter Wahrscheinlichkeit bei eben diesem Genotyp auftreten.

3. Explorative Fragestellung: Ist die Häufigkeitsverteilung der Genvarianten des Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP) rs279845 bei den schizophrenen und gesunden Studienteilnehmergruppen unterschiedlich?

Die allgemeine Genotypenverteilung (A/A, A/T, T/T) der Stichprobe aus schizophrenen und gesunden Teilnehmern befand sich im Hardy-Weinberg-Equilibrium (HWE), war also innerhalb der Gruppen statistisch ausgeglichen. Auf dieser Grundlage konnte ein möglicher Interaktionseffekt der Kombination aus den Faktoren ‚Genotypen‘ und ‚Gruppe‘ auf die Beta-Frequenzbänder mit Hilfe einer Interaktionsrechnung (Genotypen*Gruppe) in der MANCOVA getestet werden. Diese Berechnung ergab keinen signifikanten Interaktionseffekt.

Zusammengefasst liefert die vorliegende Arbeit Hinweise auf Effekte der einzelnen Faktoren ‚Gruppe‘ (schizophrene und gesunde) und ‚Genotypen‘ des SNP rs279845 auf die Beta-Frequenzbänder (Endophänotypen). Zudem wurde ein Einfluss von Alter und Geschlecht auf die Beta-Power beobachtet. Ein direkter statistischer Zusammenhang zwischen Genotyp und Phänotyp im Sinne der explorativen Fragestellung konnte nicht bekräftigt werden. Ein wichtiger Limitationsfaktor für eine neurogenetische Betrachtung ist die dafür eher geringe Fallzahl (453 Teilnehmer), die die Interpretation der Ergebnisse erschwert. Insgesamt jedoch bestätigt die vorliegende Arbeit den aktuellen Stand der Forschung in der Hinsicht, dass Differenzen in der

Expression oder Funktion des GABA-A Rezeptors über eine Modulation der neuronalen Exzitation bei der Generierung der Beta-Aktivität eine zentrale Rolle spielen.

VII. Literaturverzeichnis

- 1 Akil M, Kolachana BS, Rothmond DA, et al. Catechol-O-methyltransferase genotype and dopamine regulation in the human brain. *J Neurosci* 2003;23:2008-2013.
- 2 Alfimova M, Uvarova L. Cognitive peculiarities in relatives of schizophrenic and schizoaffective patients: heritability and resting EEG-correlates. *Int J Psychophysiol* 2003;49:201-216.
- 3 Anokhin AP, Muller V, Lindenberger U, et al. Genetic influences on dynamic complexity of brain oscillations. *Neurosci Lett* 2006;397:93-98.
- 4 Badner JA, Gershon ES. Meta-analysis of whole-genome linkage scans of bipolar disorder and schizophrenia. *Mol Psychiatry* 2002;7:405-411.
- 5 Barnard EA, Skolnick P, Olsen RW, et al. International Union of Pharmacology. XV. Subtypes of gamma-aminobutyric acidA receptors: classification on the basis of subunit structure and receptor function. *Pharmacol Rev* 1998;50:291-313.
- 6 Bauer LO, Hesselbrock VM. EEG, autonomic and subjective correlates of the risk for alcoholism. *J Stud Alcohol* 1993;54:577-589.
- 7 Begic D, Hotujac L, Jokic-Begic N. Quantitative EEG in schizophrenic patients before and during pharmacotherapy. *Neuropsychobiology* 2000;41:166-170.
- 8 Begleiter H, Porjesz B. Genetics of human brain oscillations. *Int J Psychophysiol* 2006;60:162-171.
- 9 Benes FM. Searching for unique endophenotypes for schizophrenia and bipolar disorder within neural circuits and their molecular regulatory mechanisms. *Schizophr Bull* 2007;33:932-936.
- 10 Benes FM, Berretta S. GABAergic interneurons: implications for understanding schizophrenia and bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology* 2001;25:1-27.
- 11 Benninger C, Matthis P, Scheffner D. EEG development of healthy boys and girls. Results of a longitudinal study 2. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1984;57:1-12.
- 12 Blume WT. Drug effects on EEG. *J Clin Neurophysiol* 2006;23:306-311.
- 13 Boutros NN, Arfken C, Galderisi S, et al. The status of spectral EEG abnormality as a diagnostic test for schizophrenia 16. *Schizophr Res* 2008;99:225-237.
- 14 Cardno AG, Gottesman II. Twin studies of schizophrenia: from bow-and-arrow concordances to star wars Mx and functional genomics. *Am J Med Genet* 2000;97:12-17.
- 15 Charych EL, Liu F, Moss SJ, Brandon NJ. GABA(A) receptors and their associated proteins: implications in the etiology and treatment of schizophrenia and related disorders. *Neuropharmacology* 2009;57(5-6):481-95.

- 16 Christian W. [The electroencephalogram in advanced age]. *Nervenarzt* 1984;55:517-524.
- 17 Clarke AR, Barry RJ, McCarthy R, et al. Age and sex effects in the EEG: development of the normal child. *Clin Neurophysiol* 2001;112:806-814.
- 18 Costa L, Bauer L. Quantitative electroencephalographic differences associated with alcohol, cocaine, heroin and dual-substance dependence. *Drug Alcohol Depend* 1997;46:87-93.
- 19 Covault J, Gelernter J, Hesselbrock V, et al. Allelic and haplotypic association of GABRA2 with alcohol dependence. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2004;129:104-109.
- 20 Dierks T, Ihl R, Maurer K. Age-related changes of spontaneous EEG described by equivalent dipoles. *Int J Psychophysiol* 1993;15:255-261.
- 21 Dierks T, Strik WK, Maurer K. Electrical brain activity in schizophrenia described by equivalent dipoles of FFT-data. *Schizophr Res* 1995;14:145-154.
- 22 Drgon T, D'Addario C, Uhl GR. Linkage disequilibrium, haplotype and association studies of a chromosome 4 GABA receptor gene cluster: candidate gene variants for addictions. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2006;141:854-860.
- 23 Edenberg HJ, Dick DM, Xuei X, et al. Variations in GABRA2, encoding the alpha 2 subunit of the GABA(A) receptor, are associated with alcohol dependence and with brain oscillations. *Am J Hum Genet* 2004;74:705-714.
- 24 Egan MF, Goldberg TE, Kolachana BS, et al. Effect of COMT Val108/158 Met genotype on frontal lobe function and risk for schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:6917-6922.
- 25 Enoch MA, Schwartz L, Albaugh B, et al. Dimensional anxiety mediates linkage of GABRA2 haplotypes with alcoholism. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2006;141B:599-607.
- 26 Faulkner HJ, Traub RD, Whittington MA. Anaesthetic/amnesic agents disrupt beta frequency oscillations associated with potentiation of excitatory synaptic potentials in the rat hippocampal slice. *Br J Pharmacol* 1999;128:1813-1825.
- 27 Fehr C, Sander T, Tadic A, et al. Confirmation of association of the GABRA2 gene with alcohol dependence by subtype-specific analysis. *Psychiatr Genet* 2006;16:9-17.
- 28 Gallinat J, Bajbouj M, Sander T, et al. Association of the G1947A COMT (Val(108/158)Met) gene polymorphism with prefrontal P300 during information processing. *Biol Psychiatry* 2003;54:40-48.
- 29 Gallinat J, Bauer M, Heinz A. Genes and neuroimaging: advances in psychiatric research. *Neurodegener Dis* 2008;5(5):277-85.
- 30 Gasser T, Bacher P, Steinberg H. Test-retest reliability of spectral parameters of the EEG. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1985;60:312-319.

- 31 Gasser T, Verleger R, Bacher P, et al. Development of the EEG of school-age children and adolescents. I. Analysis of band power. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1988;69:91-99.
- 32 Ghosh S, Begleiter H, Porjesz B, et al. Linkage mapping of beta 2 EEG waves via non-parametric regression. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2003;118B:66-71.
- 33 Gould TD, Gottesman II. Psychiatric endophenotypes and the development of valid animal models. *Genes Brain Behav* 2006;5:113-119.
- 34 Gottesman II, Gould TD. The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *Am J Psychiatry* 2003;160:636-645.
- 35 Gross A, Joutsiniemi SL, Rimon R, et al. Correlation of symptom clusters of schizophrenia with absolute powers of main frequency bands in quantitative EEG. *Behav Brain Funct* 2006;2:23.
- 36 Haenschel C, Baldeweg T, Croft RJ, et al. Gamma and beta frequency oscillations in response to novel auditory stimuli: A comparison of human electroencephalogram (EEG) data with in vitro models. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:7645-7650.
- 37 Harris AW, Williams L, Gordon E, et al. Different psychopathological models and quantified EEG in schizophrenia. *Psychol Med* 1999;29:1175-1181.
- 38 Harrison PJ, Weinberger DR. Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Mol Psychiatry* 2005;10:40-68.
- 39 Heid CA, Stevens J, Livak KJ, et al. Real time quantitative PCR. *Genome Res* 1996;6:986-994.
- 40 Herrmann WM, Winterer G. [Electroencephalography in psychiatry - current status and outlook]. *Nervenarzt* 1996;67:348-359.
- 41 Hirschhorn JN, Daly MJ. Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. *Nat Rev Genet* 2005;6:95-108.
- 42 Joutsiniemi SL, Gross A, Appelberg B. Marked clozapine-induced slowing of EEG background over frontal, central, and parietal scalp areas in schizophrenic patients. *J Clin Neurophysiol* 2001;18:9-13.
- 43 Karson CN, Coppola R, Daniel DG, et al. Computerized EEG in schizophrenia. *Schizophr Bull* 1988;14:193-197.
- 44 Kemali D, Galderisi S, Maj M, et al. Computerized EEG topography findings in schizophrenic patients before and after haloperidol treatment. *Int J Psychophysiol* 1992;13:283-290.
- 45 Kety SS, Wender PH, Jacobsen B, et al. Mental illness in the biological and adoptive relatives of schizophrenic adoptees. Replication of the Copenhagen Study in the rest of Denmark. *Arch Gen Psychiatry* 1994;51:442-455.

- 46 Kirov G, O'Donovan MC, Owen MJ. Finding schizophrenia genes. *J Clin Invest* 2005;115:1440-1448.
- 47 Kirschstein T. Wie entsteht das EEG? How is the EEG generated? *Neurophysiol Lab* 2008;30:29-37.
- 48 Klingelhöfer J, Rentrop M. *Klinikleitfaden Neurologie, Psychiatrie*. Urban & Fischer 2003, 3.Aufl.
- 49 Kopell N, Ermentrout GB, Whittington MA, et al. Gamma rhythms and beta rhythms have different synchronization properties. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:1867-1872.
- 50 Krystal JH, Staley J, Mason G, et al. Gamma-aminobutyric acid type A receptors and alcoholism: intoxication, dependence, vulnerability, and treatment. *Arch Gen Psychiatry* 2006;63:957-968.
- 51 Le Niculescu H, Balaraman Y, Patel S, et al. Towards understanding the schizophrenia code: an expanded convergent functional genomics approach. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2007;144B:129-158.
- 52 Lewis CM, Levinson DF, Wise LH et al. Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia. *Am J Hum Genet* 2003;73:34-48.
- 53 Livak KJ. Allelic discrimination using fluorogenic probes and the 5' nuclease assay. *Genet Anal* 1999;14:143-149.
- 54 Low K, Crestani F, Keist R, et al. Molecular and neuronal substrate for the selective attenuation of anxiety. *Science* 2000;290:131-134.
- 55 Malhotra AK, Goldman D. Benefits and pitfalls encountered in psychiatric genetic association studies. *Biol. Psychiatry* 1999;45:544-550.
- 56 Mass R, Schoemig T, Hitschfeld K et al. Pathophysiological syndroms of schizophrenia: evaluation of the dimensional structure of the positive and negative syndrome scale. *Schizophr Bull* 2000;26(1):167-77.
- 57 McGuigan FE, Ralston SH Single nucleotide polymorphism detection: allelic discrimination using TaqMan. *Psychiatr Genet* 2002;12:133-136.
- 58 Mihic SJ, Harris RA. GABA and the GABAA receptor. *Alcohol Health Res World* 1997;21:127-131.
- 59 Nicodemus KK, Kolachana BS, Vakkalanka R, et al. Evidence for statistical epistasis between catechol-O-methyltransferase (COMT) and polymorphisms in RGS4, G72 (DAOA), GRM3, and DISC1: influence on risk of schizophrenia. *Hum Genet* 2007;120:889-906.
- 60 Owen MJ, Williams NM, O'Donovan MC. The molecular genetics of schizophrenia: new findings promise new insights. *Mol Psychiatry* 2004;9:14-27.
- 61 Petryshen TL, Middleton FA, Tahl AR, et al. Genetic investigation of chromosome 5q GABAA receptor subunit genes in schizophrenia. *Mol Psychiatry* 2005;10:1074-88, 1057.

- 62 Pollock VE, Schneider LS, Lyness SA. Reliability of topographic quantitative EEG amplitude in healthy late-middle-aged and elderly subjects. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1991;79:20-26.
- 63 Porjesz B, Almasy L, Edenberg HJ, et al. Linkage disequilibrium between the beta frequency of the human EEG and a GABAA receptor gene locus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:3729-3733.
- 64 Porjesz B, Jones K, Begleiter H. The genetics of oscillations in the human brain. *Suppl Clin Neurophysiol* 2004;57:441-449.
- 65 Rangaswamy M, Porjesz B, Chorlian DB, et al. Beta power in the EEG of alcoholics. *Biol Psychiatry* 2002;52:831-842.
- 66 Rangaswamy M, Porjesz B, Chorlian DB, et al. Resting EEG in offspring of male alcoholics: beta frequencies. *Int J Psychophysiol* 2004;51:239-251.
- 67 Rangaswamy M, Porjesz B. Uncovering genes for cognitive (dys)function and predisposition for alcoholism spectrum disorders: a review of human brain oscillations as effective endophenotypes. *Brain Res* 2008;1235:153-171.
- 68 Riley B, Kendler KS. Molecular genetic studies of schizophrenia. *Eur J Hum Genet* 2006;14:669-680.
- 69 Roubicek J. Proceedings: Fast beta activity in the EEG of the elderly. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1975;39:532.
- 70 Roubicek J. The electroencephalogram in the middle-aged and the elderly. *J Am Geriatr Soc* 1977;25:145-152.
- 71 Rudolph U, Crestani F, Mohler H. GABA(A) receptor subtypes: dissecting their pharmacological functions. *Trends Pharmacol Sci* 2001;22:188-194.
- 72 Rujescu D. Genetik der Schizophrenie. *BIOspektrum* 2007;7:727-729.
- 73 Saletu B, Kufferle B, Anderer P, et al. EEG-brain mapping in schizophrenics with predominantly positive and negative symptoms. Comparative studies with remoxipride/haloperidol. *Eur Neuropsychopharmacol* 1990 ;1:27-36.
- 74 Santor DA, Ascher-Svanum H, Lindenmayer JP, et al. Item response analysis of the Positive and Negative Syndrome Scale. *BMC Psychiatry* 2007;7:66.
- 75 Shastry BS. SNP alleles in human disease and evolution. *J Hum Genet* 2002;47:561-566.
- 76 Sheehan DV, Lecrubier Y, Sheehan KH, et al. The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.): the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. *J Clin Psychiatry* 1998;59 Suppl20:22-33.
- 77 Siira V, Wahlberg KE, Hakko H, et al. Interaction of genetic vulnerability to schizophrenia and Communication Deviance of adoptive parents associated with MMPI schizophrenia vulnerability indicators of adoptees. *Nord J Psychiatry* 2007;61:418-426.

- 78 Soyka M, Preuss UW, Hesselbrock V, et al. GABA-A2 receptor subunit gene (GABRA2) polymorphisms and risk for alcohol dependence. *J Psychiatr Res* 2008;42:184-191.
- 79 Sponheim SR, Clementz BA, Iacono WG, et al. Resting EEG in first-episode and chronic schizophrenia. *Psychophysiology* 1994;31:37-43.
- 80 Stassen HH, Bomben G, Propping P. Genetic aspects of the EEG: an investigation into the within-pair similarity of monozygotic and dizygotic twins with a new method of analysis. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1987;66:489-501.
- 81 Stassen HH, Lykken DT, Propping P, et al. Genetic determination of the human EEG. Survey of recent results on twins reared together and apart. *Hum Genet* 1988a;80:165-176.
- 82 Stassen HH, Lykken DT, Bomben G. The within-pair EEG similarity of twins reared apart. *Eur Arch Psychiatry Neurol Sci* 1988b;237:244-252.
- 83 Stassen HH, Bomben G, Hell D. Familial brain wave patterns: study of a 12-sib family. *Psychiatr Genet* 1998;8:141-153.
- 84 Sullivan PF, Kendler KS, Neale MC. Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. *Arch Gen Psychiatry* 2003;60:1187-1192.
- 85 Tienari P. Interaction between genetic vulnerability and family environment: the Finnish adoptive family study of schizophrenia. *Acta Psychiatr Scand* 1991;84:460-465.
- 86 Tienari P, Wynne LC, Sorri A, et al. Genotype-environment interaction in schizophrenia-spectrum disorder. Long-term follow-up study of Finnish adoptees. *Br J Psychiatry* 2004 ;184:216-222.
- 87 Tislerova B, Brunovsky M, Horacek J, et al. LORETA functional imaging in antipsychotic-naive and olanzapine-, clozapine- and risperidone-treated patients with schizophrenia. *Neuropsychobiology* 2008;58:1-10.
- 88 Tobler I, Kopp C, Deboer T, et al. Diazepam-induced changes in sleep: role of the alpha 1 GABA(A) receptor subtype. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:6464-6469.
- 89 Traub RD, Whittington MA, Colling SB, et al. Analysis of gamma rhythms in the rat hippocampus in vitro and in vivo. *J Physiol* 1996;493(Pt 2):471-484.
- 90 van Baal GC, de Geus EJ, Boomsma DI. Genetic influences on EEG coherence in 5-year-old twins. *Behav Genet* 1998;28:9-19.
- 91 van Beijsterveldt CE, Boomsma DI. Genetics of the human electroencephalogram (EEG) and event-related brain potentials (ERPs): a review. *Hum Genet* 1994;94:319-330.
- 92 van Beijsterveldt CE, Molenaar PC, de Geus EJ, et al. Genetic and environmental influences on EEG coherence. *Behav Genet* 1998;28:443-453.
- 93 Venables NC, Bernat EM, Sponheim SR. Genetic and Disorder-Specific Aspects of Resting State EEG Abnormalities in Schizophrenia. *Schizophr Bull* 2009;35:826-39.

- 94 Vogel F. [Electroencephalographic examination of healthy twins.]. *Acta Genet Stat Med* 1957;7:334-337.
- 95 Vogel F, Gotze W. [Familial studies on genetics of the normal electroencephalogram.]. *Dtsch Z Nervenheilkd* 1959;178:668-700.
- 96 Vogel F. [Supplementary studies on the genetics of human low-voltage electroencephalography.]. *Dtsch Z Nervenheilkd* 1962;184:105-111.
- 97 Whittington MA, Jefferys JG, Traub RD. Effects of intravenous anaesthetic agents on fast inhibitory oscillations in the rat hippocampus in vitro. *Br J Pharmacol* 1996;118:1977-1986.
- 98 Whittington MA, Traub RD, Kopell N, et al. Inhibition-based rhythms: experimental and mathematical observations on network dynamics. *Int J Psychophysiol* 2000;38:315-336.
- 99 Widschwendter CG, Fleischhacker WW. [Pathophysiology of schizophrenia and its impact on pharmacotherapy]. *Fortschr Neurol Psychiatr* 2005;73:32-7.
- 100 Wobrock T, Pajonk FG, Falkai P. Schizophrenie. *Fortschr Neurol Psychiatr* 2004;72:98-113.
- 101 Yamadera H, Kato M, Ueno T, et al. Pharmacology-EEG mapping of diazepam effects using different references and absolute and relative power. *Pharmacopsychiatry* 1993; 26:254-258.
- 102 Zhang K, Sun F. Assessing the power of tag SNPs in the mapping of quantitative trait loci (QTL) with extremal and random samples. *BMC Genet* 2005;6:51.
- 103 Zobel A, Maier W. [Endophenotype--a new concept for biological characterization of psychiatric disorders]. *Nervenarzt* 2004;75:205-214.
- 104 Zschocke S. *Klinische Elektroenzephalographie*, 2002; 2., überarbeitete und erweiterte Auflage. Springer.

VIII. Anhang

VIII.1. Abkürzungsverzeichnis

A	Adenin
Ag/AgCl	Silber/Silber-Chlorid
AMPA	α -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-Propionsäure
ANOVA	Analysis of Variance, univariate Varianzanalyse
bp	Basenpaare
Cl ⁻	Chlorid
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
df	Degrees of Freedom, Freiheitsgrade
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EEG	Elektroenzephalogramm
EPSP	Exzitatorisches postsynaptisches Potential
FFT	Fast-Fourier-Transformation
Fz, F3, F4	EEG-Elektroden an den Positionen Fz, F3 und F4 im 10-20 System
GABA	Gamma-Amino-Butyryl-Acid
GABRA-2	Gamma-aminobutyric acid receptor subunit alpha-2
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
HWE	Hardy-Weinberg-Equilibrium
Hz	Hertz
ICD-10	International Classification of Diseases-10
IPSP	Inhibitorisches postsynaptisches Potential
K ⁺	Kalium
MANOVA	Multivariate Analysis of Variance, multivariate Varianzanalyse
MANCOVA	Multivariate Analysis of Covariance
ml	Milliliter
MW	Mittelwerte
n	Anzahl
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
p	Signifikanz-Wert

PANSS	Positive and Negative Syndrome Scale
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
RT-PCR	Real-Time Polymerase-Kettenreaktion
s	Sekunde
SD	Standarddeviation, Standardabweichung
SCID	Structured Clinical Interview für DSM-IV
SNP	Single-Nukleotide-Polymorphism
T	Thymin
V	Volt
μV	Mikro-Volt
χ^2	Chi-Quadrat(-Test)

VIII.2. Lebenslauf

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

VIII.3. Erklärung

Ich, Damaris Opitz, erkläre, dass ich die vorgelegte Doktorarbeit mit dem Thema "Genetische Grundlagen der Beta-Aktivität im Ruhe-Elektroenzephalogramm schizophrener Patienten" selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel und Quellen benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Berlin, den 20.07.2011

VIII.4. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer und Doktorvater Prof. Dr. Jürgen Gallinat für die Möglichkeit zur Durchführung dieser Arbeit in seiner Forschungsgruppe, dem gemeinsamen Entwerfen der Arbeitshypothesen, der fachkundigen Betreuung und seiner kontinuierlichen Zuverlässigkeit.

Herzlichen Dank auch an Priv.-Doz. Dr. Peter Schlattmann aus dem Institut für Biometrie der Charité für die Unterstützung und Korrektur des statistischen Abschnitts dieser Arbeit und an Dr. Thomas Sander aus dem Max-Delbrück-Zentrum für die kooperative Zusammenarbeit (Genotypisierung) und den Informationsaustausch.

Ferner möchte ich meinen Doktorandenkollegen Irina, Monica, Jeff, Robert und insbesondere Katrin für die ermutigenden Worte und freundschaftliche Unterstützung danken.

Aus tiefstem Herzen aber danke ich Martin und meiner Familie für die ausdauernde Hilfsbereitschaft und den liebevollen Beistand in all den Jahren meines Studiums.