

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

DISSERTATION

Glutamat als pathobiologischer Faktor
bei endogenen Psychosen

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

André Ehrlich

aus Rostock

Datum der Promotion: 26.02.2016

Inhaltsverzeichnis

	Abstract	4
1.	Einleitung	5
2.	Zielstellung	8
3.	Methodik	
	3.1. Studiendesign	8
	3.2. Technische Durchführung	9
	3.3. Statistische Datenanalyse	9
4.	Ergebnisse	10
5.	Diskussion	10
6.	Literatur	14
7.	Eidesstattliche Versicherung	19
8.	Anteilerklärung	20
9.	Ausgewählte Publikationen	21
	Studie 1: Alterations of cerebral glutamate in the euthymic state of patients with bipolar disorder.	22
	Studie 2: DTNBP1 (Dysbindin) Gene Variants: In Vivo Evidence for Effects on Hippocampal Glutamate Status.	30
	Studie 3: Theory of mind impairments in euthymic bipolar patients.	39
	Lebenslauf	45
	Komplette Publikationsliste	47
	Danksagung	48

Abstract

Glutamat spielt als der bedeutendste exzitatorische Neurotransmitter im zentralen Nervensystem (ZNS) eine wichtige Rolle bei der Entstehung von endogenen Psychosen wie der Schizophrenie und der bipolar affektiven Störung. Deshalb ist es für das bessere Verständnis und zukünftige Behandlungen wichtig, Veränderungen im Glutamat-System im ZNS und die damit verbundenen Risikogene für endogene Psychosen zu erforschen und besser zu verstehen. Gegenstand dieser Dissertation war die Untersuchung von Konzentrationen von Glutamat mittels Protonen-Magnet-Resonanz-Spektroskopie (^1H -MRS) im anterioren zingulären Kortex und im Hippocampus und die Einflüsse des DTNBP1-Gens, das mit Störungen im Glutamat-System in Verbindung gebracht wird. In einer ersten Studie wurden dabei signifikant veränderte Glutamat-Konzentrationen im anterioren zingulären Kortex und im Hippocampus von Patienten mit bipolar affektiver Störung gefunden. In einer zweiten Studie wurde in gesunden Probanden die Verbindung zwischen genetischen Varianten des DTNBP1-Gens und der Glutamat-Konzentration im anterioren zingulären Kortex und Hippocampus untersucht. Ergänzt wird die Dissertation durch eine klinische Studie zur Untersuchung von sozialer Kognition am Beispiel der ‚Theory of Mind‘ (ToM) bei Patienten mit bipolar affektiver Störung.

Abstract

Glutamate as the major excitatory neurotransmitter in the central nervous system plays a key role in the genesis of endogenous psychosis like schizophrenia and bipolar affective disorder. Therefore, researches on the changes of the glutamate system and underlying candidates of risk genes for endogenous psychosis seem to be of importance for a better understanding and future treatment. In this dissertation, we examined concentrations of glutamate using proton magnetic resonance spectroscopy (^1H -MRS) in the anterior cingulate cortex and hippocampus and the impact of DTNBP1-gene associated to the glutamate system. In a first study significant changes in glutamate concentrations in the anterior cingulate cortex and hippocampus of patients with bipolar disorder were found. In a second study of healthy subjects, an association between genetic variants of the DTNBP1-gene and glutamate concentrations in the anterior cingulate cortex and hippocampus was investigated. The dissertation is complemented by a clinical investigation of social cognition on the example of the ‘Theory of Mind’ (ToM) in patients with bipolar disorder.

1. Einleitung

Psychische Erkrankungen wie die bipolar affektive Störung und die Schizophrenie betreffen in der Summe ca. 2,5% der Weltbevölkerung (1) und sind komplexe neuropsychologische Erkrankungen mit nicht selten ungünstiger Prognose und einer hohen Tendenz zur Chronifizierung. Die gegenwärtig zur Verfügung stehenden medikamentösen Behandlungsoptionen lassen oftmals einen wirklich zufriedenstellenden Effekt vermissen und es bedarf bei diesen zu erheblichen Beeinträchtigungen führenden Erkrankungen neuer pharmakologischer Ansätze. Neben Dopamin wird der Neurotransmitter Glutamat als pathobiologischer Faktor in der Entstehung der bipolaren Störung und der Schizophrenie diskutiert. Veränderungen im Glutamat-System und die ursächlichen genetischen Variationen von Risikogenen stehen deshalb im Fokus aktueller Studien, um ein besseres Verständnis dieser Erkrankungen und somit neue therapeutische Ansätze zu ermöglichen (2).

Glutamat als der hauptsächliche exzitatorische Neurotransmitter vermittelt seine Wirkung im zerebralen Kortex über zahlreiche ionotrope (NDMA-R, AMPA-R und Kainat-R) und metabotrope (mGlu1 – mGlu8) Rezeptoren. Ihm wird ein entscheidender Einfluss auf Gedächtnis, Modulation von Bewegungsabläufen, Wahrnehmung und neuronale Entwicklung, sowie Neuroplastizität zugesprochen (3). Zudem wird angenommen, dass Glutamat im Rahmen einer Fehlregulation, aufgrund seiner potentiell neurotoxischen Wirkung, einen Einfluss auf neurologische Erkrankungen wie Schlaganfall, Epilepsie und die Chorea Huntington Erkrankung haben könnte (4).

Zahlreiche investigative Studien stützen die Rolle des glutamatergen Systems bei der bipolaren Erkrankung, indem sie Ergebnisse mit veränderten Glutamat-Spiegeln und fehlerhaften Glutamat-Rezeptorexpressionen in Hirnregionen, wie dem dorsolateralen präfrontalen Kortex, anterioren zingulären Kortex (ACC), Hippocampus und Striatum aufweisen (5). Gestärkt wird diese Hypothese durch genetische Studien, welche prädisponierende Gen-Polymorphismen von Untereinheiten von Glutamat-Rezeptoren-Genen (NMDA) für die bipolare Störung ausfindig machen konnten (6). Für die Glutamat-Hypothese der bipolaren Störung spricht zudem nicht zuletzt die Wirksamkeit von in der Behandlung dieser Störung zahlreich eingesetzten glutamaterg wirksamen Medikamenten wie Lithium, Valproinsäure und Lamotrigin (7).

Für die zugrundeliegende Pathobiologie der Schizophrenie existiert seit den frühen 1980er Jahren neben der bis dahin dominierenden Dopamin-Hypothese ebenfalls eine hohe Evidenz für Veränderungen in der glutamatergen Neurotransmission. Bei Patienten mit familiärem Risiko für

Schizophrenie, einer ersten psychotischen Episode und chronischem Stadium der Erkrankung konnten mehrfach mittels MR-Spektroskopie erhöhte Glutamat und Glutamin Konzentrationen im anterioren zingulären Kortex (ACC) und im Nucleus Caudatus nachgewiesen werden (8). Gleichzeitig konnte in mehreren klinischen Studien gezeigt werden, dass unmittelbar nach der Gabe von NMDA-Rezeptor-Antagonisten wie Phencyclidin (PCP), Dizocilpine (MK-801) und Ketamin bei gesunden Probanden psychoseähnliche Symptome auftraten (9, 10). Hervorzuheben ist in diesem Zusammenhang, dass bei der Gabe von hauptsächlich dopaminerg wirksamen Substanzen, wie z.B. Amphetaminen, lediglich Positivsymptome von Psychosen reproduziert werden können, wohingegen oben genannte NMDA-Rezeptor-Antagonisten auch typisch schizophrene Negativsymptomatik, wie kognitive Defizite, Apathie, Alogie, Anhedonie und Affektarmut auslösen können und damit eine Glutamat-Hypothese oder genauer eine NMDA-Rezeptor-Unterfunktionshypothese der Schizophrenie untermauern (11). Im Zusammenhang mit diesen wegweisenden Erkenntnissen erscheint es notwendig, insbesondere bei Patienten, welche nur geringfügig und unzureichend auf eine Behandlung mit konventionell dopaminerg wirksamen Antipsychotika reagieren, eher von einer glutamatergen Basis der Erkrankung auszugehen. Ansätze, diese Patientengruppe mit glutamaterg wirksamen Medikamenten ohne spezifische Zulassung für Schizophrenie zu behandeln, zeigen jedoch keine überzeugende und ausreichende Effektivität (11).

Die Technologie der Protonen-Magnet-Resonanz-Spektroskopie ($^1\text{H-MRS}$) erlaubt es, anders als die Magnetresonanztomographie (MRT), Konzentrationen von einzelnen Metaboliten wie Glutamat, N-Acetyl-Aspartat, Kreatinin, Phosphokreatinin und cholinhaltige Verbindungen nichtinvasiv in festgelegten Hirnregionen zu untersuchen (12). Aufgrund der ähnlichen Struktur und engen neurochemischen Verbindung von Glutamat und Glutamin ist es von großer Bedeutung, in Abhängigkeit von Feldstärke und Signal-Rausch-Verhältnis eines $^1\text{H-MRS}$, die Derivate des Glutamat einzeln als Glutamat, Glutamin und γ -Aminobuttersäure (GABA) quantifizieren zu können (13).

Ca. 20 % des gesamten Glutamats im Gehirn werden dem Neurotransmitter Reservoir zugeschrieben (14). Während exzitatorischer Neurotransmission bedarf es einer permanenten Bereitstellung von Glutamat und Wiederauffüllung dieser Speicher. Neben direkten Wiederaufnahmewegen von Glutamat in die Präsynapse von Neuronen stellt der Synthesekreislauf über den hauptsächlichen Vorläufer Glutamin in anliegenden Gliazellen einen wichtigen Mechanismus dar. Aufgrund der beschriebenen Rolle von Glutamat in der

Pathophysiologie von endogenen Psychosen wurden in zwei der vorliegenden Studien Konzentrationen von Glutamat mittels $^1\text{H-MRS}$ im ACC und Hippocampus untersucht.

In einer ersten Studie wurde Glutamat bei medikamentös behandelten Patienten mit einer bipolaren Störung in gegenwärtig euthymer Stimmungslage im Vergleich zu gesunden Probanden untersucht. In einer zweiten Studie mit gesunden Probanden wurden Konzentrationen von Glutamat im ACC und Hippocampus im Zusammenhang mit genetischen Varianten des kodierenden Gens für Dystrobrevin-bindendes Protein 1 (Dysbindin) *DTNBPI*, welches in zahlreichen Studien als Suszeptibilitäts-gen für die Schizophrenie identifiziert und für die Modulierung des Ausprägungsgrades der Negativsymptomen verantwortlich gemacht wird, gemessen (15, 16). Es konnte aufgezeigt werden, dass eine verminderte Dysbindin Funktion insbesondere im Glutamat-System die Neurotransmitterfreisetzung und synaptische Morphologie beeinflusst und dadurch zur Beeinträchtigung der kognitiven Leistungsfähigkeit bei der Schizophrenie beiträgt (17, 18). Ergänzt wird diese Evidenz durch Studien, welche eine verminderte Expression von Dysbindin im Hippocampus und im dorsolateralen präfrontalen Kortex von Patienten mit Schizophrenie nachweisen konnten (19, 20).

Im Fokus beider Studien stand der Hippocampus als Untersuchungsregion aufgrund seiner Funktion in Verbindung mit anderen Hirnarealen in der Entstehung von Lern- und Gedächtnisleistung (21), sowie Emotionen (22). Seine Funktionalität zeigt sich dabei in einem großen Maße von der glutamatergen Transmission abhängig (23, 24). Als weitere Untersuchungsregion wurde der ACC mit seiner Verbindung zum präfrontalen Kortex, der Amygdala und dem ventrale Striatum aufgrund seines Einflusses auf emotionale Informationsverarbeitung (25) und seiner ebenfalls hohen Dysbindin Expression und Glutamat-Rezeptor-Dichte ausgewählt (26, 27).

Zusätzlicher Bestandteil der Untersuchung in den beschriebenen Hirnregionen stellte die Messung der Aminosäure N-Acetyl-Aspartat (NAA) dar. Im menschlichen Gehirn befindet sich NAA fast ausschließlich in Neuronen und repräsentiert ein Maß für die neuronale Integrität. Eine verminderte Konzentration von NAA lässt sich folglich als ein Zeichen für den Verlust von Neuronen oder eine Fehlfunktion der Mitochondrien in den Neuronen interpretieren (28). Verminderte Konzentrationen von NAA wurden im ACC und Hippocampus sowohl bei bipolaren Patienten als auch bei schizophrenen Patienten nachgewiesen (29, 30, 31). Es wird zudem diskutiert, dass NAA womöglich als ein Reservoir für Glutamat dienen könnte, da beide über energetisch günstige Syntheseschritte innerhalb des Zitratzyklus in Verbindung stehen (32).

2. Zielstellung

Ziel der vorliegenden Studien ist es, den Neurotransmitter Glutamat als pathobiologischen Faktor in der Entstehung von endogenen Psychosen weiter zu untersuchen und auf dieser Basis einen Beitrag zum besseren Verständnis dieser komplexen Erkrankungen zu leisten. Dabei geht es um die direkte Untersuchung von Glutamat-Spiegeln in Hirnregionen die mit der Pathogenese der endogenen Psychosen in Verbindung gebracht werden. Neben der Messung von Glutamat-Spiegeln bei bipolaren Patienten, stellt der untersuchte Einfluss von genetischen Varianten eines Suszeptibilitätsgens auf den Glutamat-Stoffwechsel in den ausgewählten Hirnregionen in gesunden Probanden eine Verlinkung zur Schizophrenie dar. Konkret ging es dabei in Studie 1 um die Frage, ob die Konzentrationen für Glutamat im ACC und Hippocampus von Patienten mit bipolarer Störung in remittiertem Zustand im Gegensatz zu gesunden Probanden erhöht sind? Des Weiteren wurden mögliche Korrelationen zwischen klinischen Parametern und Glutamat-Veränderungen untersucht. In der 2. Studie wurde der Einfluss der Polymorphismen rs760665 und rs909706 des *DTNBPI*-Gens auf die Konzentrationen für Glutamat und NAA im ACC und Hippocampus untersucht.

3. Methodik

3.1. Studiendesign

Studie 1

Alle Probanden und Patienten erklärten schriftlich ihr Einverständnis gemäß der Erklärung von Helsinki. Die Studie wurde von der zuständigen Ethikkommission genehmigt. 21 euthyme Patienten, welche die Kriterien einer bipolaren Störung Typ I nach DSM-IV erfüllten, wurden im Vergleich mit 42 nach Alter und Geschlecht angepassten gesunden Probanden untersucht. Psychiatrische und neurologische Erkrankung, sowie eine Familienanamnese für Psychosen und affektive Erkrankungen wurden bei den gesunden Probanden ausgeschlossen. Ausschlusskriterien für beide Gruppen waren frühere Hinweise auf Kopfverletzungen oder vorübergehende zerebrale Durchblutungsstörungen und Schlaganfälle, sowie eine gegenwärtige Substanzabhängigkeit. Die Patienten wurden einer Testung mittels des Hamilton-Test (HAMD) und der Young Mania Rating Scale (YMRS) unterzogen. Im zweiten Schritt wurde in beiden Gruppen unter Einsatz der Protonen-Magnet-Resonanz-Spektroskopie (¹H-MRS) Glutamat (+ NAA) im ACC und Hippocampus untersucht.

Studie 2

Alle Probanden erklärten schriftlich ihr Einverständnis gemäß der Erklärung von Helsinki. Die Studie wurde von der zuständigen Ethikkommission genehmigt. Psychiatrische und neurologische Erkrankung, sowie gegenwärtige klinische relevante Erkrankungen wurden ausgeschlossen. Die Zielsetzung der Studie war es, bei 79 ausgewählten gesunden Probanden den Zusammenhang zwischen den Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNP) rs760665 und rs909706 des *DTNBPI*-Gens und den absoluten Konzentrationen für Glutamat und den Konzentrationen für NAA im ACC und Hippocampus mit Hilfe der Protonen-Magnet-Resonanz-Spektroskopie (¹H-MRS) zu untersuchen.

3.2. Technische Durchführung

Die Protonen-Magnet-Resonanz-Spektroskopie-Messung (¹H-MRS) in **Studie 1** und **2** wurde mittels eines 3-Tesla MRT-Gerät (MEDSPEC 30/100, Bruker Biospin, Etlingen, Deutschland) durchgeführt. Die Voxel wurden im ACC (2.5x4x2 cm³) und im linken Hippocampus (für Studie 1: 2x2x1.2 cm³; für Studie 2: 2x3x2 cm³) platziert. In der Untersuchung wurde der linke Hippocampus, aufgrund seiner größeren Abweichung in der Dichte von exzitatorischen Aminosäure-Rezeptoren unter pathologischen Bedingungen, bevorzugt (33). Für beide Voxel wurde ein Spektrum mit jeweiligen typischen Metaboliten-Amplituden für Glutamat, N-Acetyl-Aspartat, Kreatinin und Cholin erstellt. Die Metaboliten-Konzentrationen wurden um den Anteil der zerebrospinalen Flüssigkeit bereinigt. Für die Glutamat-Bestimmung wurde ein maximal selektives Quantifizierungsverfahren genutzt, um die Kontamination mit dem Stoffwechselprodukt Glutamin so niedrig wie möglich zu halten.

3.3. Statistische Datenanalyse

In **Studie 1** wurden die individuellen Konzentrationen der Metaboliten zwischen Patienten und Probanden durch multivariate Analysen der Kovarianz (MANCOVA) mit Alter und Geschlecht als Kovariaten berechnet. Die Verbindung zwischen den Konzentrationen der Metaboliten und klinischen Parametern wurde mit einer Korrelationsanalyse nach Pearson berechnet.

In **Studie 2** wurden Unterschiede der Gruppen bezüglich Alter, Geschlecht und Raucherstatus durch T-Tests für unabhängige Stichproben und χ^2 -Tests berechnet. Korrelationen von Alter und

Metabolit-Konzentrationen wurden als Pearson-Korrelationskoeffizient berechnet. Effekte der ausgewählten Genotypen auf die Metaboliten wurden durch multivariate Analysen der Kovarianz (MANCOVA) mit Alter und Geschlecht als Kovariaten und Raucherstatus als unabhängigem Faktor berechnet.

4. Ergebnisse

In **Studie 1** wurden signifikant höhere Konzentrationen von Glutamat im ACC und signifikant niedrigere im Hippocampus von bipolaren Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden nachgewiesen. NAA war signifikant erniedrigt im ACC und im Hippocampus bei bipolaren Patienten. Cholin war signifikant erhöht im Hippocampus bei bipolaren Patienten im Vergleich zu Gesunden. Des Weiteren korrelierten die Konzentrationen von Glutamat im ACC von bipolaren Patienten invers mit der Gesamtzahl an Episoden (depressiv/manisch).

In **Studie 2** korrelierten die Konzentrationen von Glutamat und NAA im Hippocampus und im ACC invers mit dem Alter der untersuchten Probanden. In einer nachträglichen Kovarianzanalyse (ANCOVA) konnte gezeigt werden, dass die Konzentrationen von Glutamat im Hippocampus der Probanden signifikant durch die untersuchten Einzelnukleotid-Polymorphismen rs760665 und rs909706 des *DTNBPI*-Gens beeinflusst werden. Die Konzentration von NAA im Hippocampus wies eine statistisch schwache Assoziation mit dem Einzelnukleotid-Polymorphismus rs760665 des *DTNBPI*-Gens auf.

5. Diskussion

In den beiden ersten Studien untersuchten wir Veränderungen von Glutamat bei bipolaren Patienten und gesunden Probanden im Zusammenhang mit einem Risikogen für Schizophrenie. Im Folgenden soll deshalb insbesondere auf die Fehlfunktion im Glutamat-System in endogenen Psychosen eingegangen werden und damit zu einem besseren Verständnis der Entstehung dieser schwerwiegenden Erkrankungen beitragen.

In **Studie 1** wurden signifikant erhöhte Konzentrationen von Glutamat im ACC und signifikant erniedrigte im Hippocampus von bipolaren Patienten nachgewiesen. Ein signifikanter Zusammenhang zeigte sich zwischen Konzentrationen von Glutamat im ACC und der Gesamtzahl manisch/depressiver Episoden. In einem Nebenbefund wurden signifikant

erniedrigte Konzentrationen von NAA im ACC und Hippocampus von bipolaren Patienten im Vergleich zu Gesunden nachgewiesen. Das Ergebnis erhöhter Konzentrationen von Glutamat im ACC von bipolaren Patienten bekräftigt die Annahme einer gestörten glutamatergen Neurotransmission in diesem Hirnareal und die Bedeutung von Glutamat in der Pathobiologie der bipolaren Störung. Pathologisch erhöhte Konzentrationen von Glutamat lassen eine glutamaterge Überaktivität vermuten und können in der Folge zur Zerstörung von Gliazellen- und Neuronen führen (34). Dahingehend lässt sich insbesondere eine glutamaterge Überstimulation im ACC, mit seiner Funktion in der Emotions- und Kognitionsverarbeitung, mit der Entstehung von Veränderungen in diesen Bereichen bei der bipolaren Erkrankung in Verbindung bringen. Da nur Glutamat und nicht Glutamin als aktiver Neurotransmitter fungiert, wurde bei der Messung in der vorliegenden Studie großer Wert auf eine spezifische Separation dieser beiden Metaboliten gelegt. Generell bedarf der exzitatorische Neurotransmitter Glutamat eines hochkomplexen Rezyklierungs-Mechanismus, um eine permanente Neurotransmission zu gewährleisten, und bildet unter anderem mit Glutamin in den anliegenden Gliazellen einen Synthese-Kreislauf. Zu beachten ist ebenfalls bei der Messung der absoluten Konzentration von Glutamat, dass nur ca. 20% des Glutamat-Signals im ¹H-MRS Spektrum dem Neurotransmitter-Reservoir und die übrigen 80% der Stoffwechselfunktion von Glutamat im Gehirn zuzuschreiben sind (14). Die signifikant erniedrigten Konzentrationen von Glutamat im Hippocampus, lassen aufgrund einer geringen Fallzahl nur eine begrenzte Interpretation zu. Die nachgewiesenen signifikant erniedrigten Konzentrationen von NAA im ACC und Hippocampus von bipolaren Patienten können als ein Zeichen der reduzierten neuronalen Integrität, also einem Verlust von Neuronen oder einer Mitochondrien-Fehlfunktion und damit einer Störung in diesen Hirnarealen diskutiert werden. Ein möglicher limitierender Faktor der Untersuchung sind eventuelle pharmakologische Effekte der unterschiedlich eingesetzten Medikamente in der Behandlung der Patienten. Zusammenfassend sind die Ergebnisse der Studie ein Beitrag zum Konzept der glutamatergen Fehlregulation insbesondere im ACC von bipolaren Patienten.

Das hauptsächliche Ergebnis unserer **2. Studie** stellt der signifikante Zusammenhang der Konzentrationen von Glutamat im Hippocampus und den Einzelnukleotid-Polymorphismen rs760665 und rs909706 des *DTNBPI*-Gens dar. Für die Konzentrationen von Glutamat im ACC als spezifisch gewähltes kortikales Voxel wurde dabei kein signifikanter Zusammenhang mit den zwei Einzelnukleotid-Polymorphismen nachgewiesen. Für die Konzentrationen von NAA im Hippocampus zeigte sich eine schwache Assoziation mit dem Einzelnukleotid-Polymorphismus rs760665. In der Vergangenheit konnte insbesondere für den Hippocampus der Zusammenhang

zwischen Genotypen des *DTNBPI*-Gens und dem Glutamat-System in Tiermodellstudien und Zellkultur-Studien, in welchen der Einfluss von Dysbindin durch die Interaktion mit diversen Transportermolekülen auf die Freisetzung von Glutamat in den synaptischen Spalt gezeigt wurde, nachgewiesen werden (17, 35). Des Weiteren wird das codierende Gen für Dysbindin *DTNBPI* als ein Suszeptibilitäts-gen für Schizophrenie diskutiert und es konnte nachgewiesen werden das Dybindin einen regulatorischen Einfluss auf den Schweregrad der Negativsymptomatik der Schizophrenie hat (16, 36). Zudem konnte gezeigt werden, dass sich die Domänen kognitiver Funktionsstörungen bei Schizophrenie und gesunden Probanden, welche den NMDA-Rezeptor-Antagonist Ketamin erhalten haben, zum Teil mit den Domänen kognitiver Beeinträchtigung, welche in Verbindung mit dem *DTNBPI*-Gen stehen, übereinstimmen (37, 38). Demzufolge scheinen wichtige Symptomkomplexe der Schizophrenie als ein Hauptvertreter der endogenen Psychosen mit einer Störung der glutamatergen Neurotransmission in Verbindung zu stehen, welche durch genetische Variationen des für Dysbindin kodierenden Gens vermittelt werden. Erste therapeutische Effekte mit Glutamatagonisten bei einem Teil der Patienten lassen zudem vermuten, dass es eine Untergruppe von Schizophrenie-Patienten gibt, deren Symptomentwicklung auf einem gestörten Glutamat-Stoffwechsel basiert und die somit eher von einer spezifischen Glutamat modulierenden Therapie profitieren könnten. Der in unserer Studie nachgewiesene Zusammenhang zwischen den Konzentrationen von NAA im Hippocampus und dem Einzelnukleotid-Polymorphismus rs760665 des *DTNBPI*-Gens lässt sich dahingehend schlüssig erklären, dass NAA mit seiner Funktion als Marker für die neuronale Integrität und Indikator für die synaptische Dichte gilt (39). Darüber hinaus wird Dysbindin ein regulatorischer Einfluss auf die Synaptogenese und den neuronalen Zelltod zugeschrieben (35) und bekräftigt mit diesem Effekt seine Rolle als Prädispositionsfaktor für die Schizophrenie, wo verminderte zerebrale Konzentrationen von NAA nachwiesen wurden (40). Schlussfolgernd untermauert insbesondere der nachgewiesene Zusammenhang zwischen Glutamat-Veränderungen im Hippocampus und den Einzelnukleotid-Polymorphismen des *DTNBPI*-Gens die wichtige Funktion von Glutamat in der Pathogenese der Schizophrenie als Vertreter der endogenen Psychosen.

In einer ergänzenden **3. Studie** wurde die Beeinträchtigung der sozialen Kognition am Beispiel der ‚Theory of Mind‘ (ToM) in euthymen bipolaren Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden unter Einsatz eines videobasierten Tests dem ‚Movie for the Assessment of Social Cognition‘ (MASC) untersucht. Die Theory of Mind beschreibt dabei die Fähigkeit, emotionale und mentale Zustände in anderen Personen anzunehmen und in der eigenen Person zu erkennen.

Durch den MASC-Test lassen sich bei einer Versuchsperson bereits subtile Schwierigkeiten beim Schlussfolgern auf diese mentalen Zustände eines darstellenden Charakters evaluieren (41). Es wurde berichtet, dass Patienten mit endogenen Psychosen - wie der bipolar affektiven Störung - auch Beeinträchtigungen im Bereich der ToM aufweisen (42). In der vorliegenden Studie wurden 29 euthyme bipolare Patienten und 29 nach Alter und Geschlecht angepasste gesunde Probanden untersucht. Die untersuchten Zielparameter mit Hilfe des MASC-Tests umfassten eine ‚kognitive‘ und ‚emotionale‘ Domäne der ToM, Fehlerkategorien dargestellt durch ‚Unter-Mentalisierungs-, und ‚Über-Mentalisierungsstrategien‘ und einer nicht-sozialen Schlussfolgerung als Kontrollfaktor (6 MASC Kontrollfragen und Mehrfachwahl-Wortschatz Test MWT-B). In unserer Studie erzielten bipolare Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden signifikant niedrigere Werte im ‚kognitiven‘ Funktionsbereich, jedoch nicht in der ‚emotionalen‘ Domäne der ToM. In der Auswertung der Fehlertypen bei der kognitiven Domäne wiesen bipolare Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden eine signifikant höhere ‚Unter-Mentalisierungstendenz‘, also eine reduzierte Fähigkeit, mentale Zustände anderer Personen zu interpretieren, auf. Zusammenfassend wurde unabhängig von einer generellen kognitiven Beeinträchtigung bei der bipolaren Störung bei den untersuchten Patienten ein deutliches Defizit in der ‚kognitiven‘ Domäne des ToM nachgewiesen bei gleichzeitig erhaltener ‚emotionaler‘ Mentalisierungsfähigkeit. Ein signifikanter Zusammenhang zeigte sich zwischen der Anzahl an (hypo)manischen Episoden und den Werten für ‚Unter-Mentalisierung‘, sowie den Werten der ‚emotionalen‘ Domäne der ToM. Der Zusammenhang mit der Anzahl manischer Episoden lässt eine Zunahme von Defiziten in der sozialen Kognition mit dem Fortschreiten der Erkrankung vermuten. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass soziale Kognition eine wichtige Dimension der bestehenden kognitiven Defizite bei der bipolaren Störung widerspiegelt und die Verlaufsprognose der Erkrankung beeinflusst.

Schlussfolgerung: Unsere ersten beiden Studien untermauern die evidente Rolle des Neurotransmitters Glutamat in der komplexen neurobiologischen Pathogenese der endogenen Psychosen. Unsere 3. Studie stellt dabei in Verbindung zu den beiden ersten investigativen neurobiologischen Untersuchungen eine weiterführende Ergänzung zur symptomatischen und klinischen Vielgestaltigkeit der endogenen Psychosen dar. Angesichts der komplexen Pathogenese und der Vielfalt an Symptomen bei endogenen Psychosen obliegt es zukünftiger Untersuchungen, die aussichtsvolle Erforschung pathobiochemischer Prozesse und klinischer Symptomausprägung fortzuführen um möglichst individuelle und differenzierte Behandlungsansätze zu entwickeln.

6. Literatur

- 1 Piccinelli M, Gomez Homen F. Gender Differences in the Epidemiology of Affective Disorders and Schizophrenia. Geneva. World Health Organization. Accessed Aug 14, 1997. (WHO reference number: WHO/MSA/NAM/97.1).
- 2 Cherlyn SY, Woon PS, Liu JJ, Ong WY, Tsai GC, Sim K. Genetic association studies of glutamate, GABA and related genes in schizophrenia and bipolar disorder: A decade of advance. *Neurosci Biobehav Rev* 2010;34(6):958-77.
- 3 Belsham B. Glutamate and its role in psychiatric illness. *Hum Psychopharmacol* 2001;16(2):139-146.
- 4 Lipton SA, Rosenberg PA. Excitatory amino acids as a final common pathway for neurologic disorders. *The New England J Med* 1994;330(9):613-622.
- 5 Gigante AD, Bond DJ, Lafer B, Lam RW, Young LT, Yathman LN. Brain glutamate levels measured by magnetic resonance spectroscopy in patients with bipolar disorder: a meta-analysis 2012;14(5):478-87.
- 6 Mundo E, Tharmalingham S, Neves-Pereira M, Dalton EJ, Macciardi F, Parikh SV, Bolonna A, Kerwin RW, Arranz MJ, Makoff AJ, Kennedy JL. Evidence that the N-methyl-d-aspartate subunit 1 receptor gene (GRIN1) confers susceptibility to bipolar disorder. *Mol Psychiatry* 2003;8(2):241-5.
- 7 Sanacora G, Zarate C, Krystal J, Manji H. Targeting the glutamatergic system to develop novel, improved therapeutics for mood disorders. *Nat Rev Drug Discov* 2008;7(5):426–437.
- 8 Tandon N, Bolo NR, Sanghavi K, Mathew IT, Francis AN, Stanley JA, Keshavan MS. Brain metabolite alterations in young adults at familial high risk for schizophrenia using proton magnetic resonance spectroscopy. *Schizophr Res* 2013;148(1-3):59-66.
- 9 Javitt DC. Glutamate and schizophrenia: Phencyclidine, n-methyl-d-aspartate receptors, and dopamine-glutamate interactions. *Int Rev Neurobiol* 2007;78:69-108.
- 10 Morgan CJ and Curran HV. Acute and chronic effects of ketamine upon human memory: A review. *Psychopharmacology (Berl)* 2006;188(4):408-24.
- 11 Howes O, McCutcheon R, Stone J. Glutamate and dopamine in schizophrenia: an update

for the 21st century. *J Psychopharmacol* 2015;29(2):97-115.

12 Schubert F, Gallinat J, Seifert F, Rinneberg H. Glutamate concentrations in human brain using single voxel proton magnetic resonance spectroscopy at 3 Tesla. *Neuroimage* 2004;21(4):1762-71.

13 Marx MC, Billups D, Billups B. Maintaining the presynaptic glutamate supply for excitatory neurotransmission. *J Neurosci Res* 2015;93(7):1031-44.

14 Heath PR, Shaw PJ. Update on the glutamatergic neurotransmitter system and the role of excitotoxicity in amyotrophic lateral sclerosis. *2002;26(4):438-58.*

15 Straub RE, Jiang Y, MacLean CJ, Ma Y, Webb BT, Myakishev MV, Harris-Kerr C, Wormley B, Sadek H, Kadambi B, Cesare AJ, Gibberman A, Wang X, O'Neill FA, Walsh D, Kendler KS. Genetic variation in the 6p22.3 gene DTNBP1, the human ortholog of the mouse dysbindin gene, is associated with schizophrenia. *Am J Hum Genet* 2002;71(2):337-48.

16 DeRosse P, Funke B, Burdick KE, Lencz T, Ekholm JM, Kane JM, Kucherlapati R, Malhotra AK. Dysbindin genotype and negative symptoms in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2006;163(3):532-4.

17 Chen XW, Feng YQ, Hao CJ, Guo XL, He X, Zhou ZY, Guo N, Huang HP, Xiong W, Zheng H, Zuo PL, Zhang CX, Li W, Zhou Z. DTNBP1, a schizophrenia susceptibility gene, affects kinetics of transmitter release. *J Cell Biol* 2008;181(5):791-801.

18 Karlsgodt KH, Robleto K, Trantham-Davidson H, Jairl C, Cannon TD, Lavin A, Jentsch JD. Reduced dysbindin expression mediates N-methyl-D-aspartate receptor hypofunction and impaired working memory performance. *Biol Psychiatry* 2011;69(1):28-34.

19 Talbot K, Eidem WL, Tinsley CL, Benson MA, Thompson EW, Smith RJ, Hahn CG, Siegel SJ, Trojanowski JQ, Gur RE, Blake DJ, Arnold SE. Dysbindin-1 is reduced in intrinsic, glutamatergic terminals of the hippocampal formation in schizophrenia. *J Clin Invest* 2004;113(9):1353-63.

20 Weickert CS, Straub RE, McClintock BW, Matsumoto M, Hashimoto R, Hyde TM, Herman MM, Weinberger DR, Kleinman JE. Human dysbindin (DTNBP1) gene expression in normal brain and in schizophrenic prefrontal cortex and midbrain. *Arch Gen Psychiatry* 2004;61(6):544-55.

- 21 O'Reilly RC, Rudy JW. Conjunctive representations in learning and memory: principles of cortical and hippocampal function. *Psychol Rev* 2001;108(2):311-45.
- 22 Goosens KA. Hippocampal regulation of aversive memories. *Curr Opin Neurobiol* 2011;21(3):460-6
- 23 Tamminga CA, Southcott S, Sacco C, Wagner AD, Ghose S. Glutamate dysfunction in hippocampus: relevance of dentate gyrus and CA3 signaling. *Schizophr Bull* 2012;38(5):927-35.
- 24 Lim CS, Baldessarini RJ, Vieta E, Yucel M, Bora E, Sim K. Longitudinal neuroimaging and neuropsychological changes in bipolar disorder patients: review of the evidence. *Neurosci Biobehav Rev* 2013;37(3):418-35.
- 25 Wang JF, Shao L, Sun X, Young LT. Increased oxidative stress in the anterior cingulate cortex of subjects with bipolar disorder and schizophrenia. *Bipolar Disord* 2009;11(5):523-9.
- 26 Weickert CS, Straub RE, McClintock BW, Matsumoto M, Hashimoto R, Hyde TM, Herman MM, Weinberger DR, Kleinman JE. Human dysbindin (DTNBP1) gene expression in normal brain and in schizophrenic prefrontal cortex and midbrain. *Arch Gen Psychiatry* 2004;61(6):544-55.
- 27 Bozkurt A, Zilles K, Schleicher A, Kamper L, Arigita ES, Uylings HB, Kötter R. Distributions of transmitter receptors in the macaque cingulate cortex. *Neuroimage* 2005;25(1):219-29.
- 28 Lu ZH, Chakraborty G, Ledeen RW, Yahya D, Wu G. N-Acetylaspartate synthase is bimodally expressed in microsomes and mitochondria of brain. *Brain Res Mol Brain Res* 2004;122(1):71-8.
- 29 Klär AA, Ballmaier M, Leopold K, Häke I, Schaefer M, Brühl R, Schubert F, Gallinat J. Interaction of hippocampal volume and N-acetylaspartate concentration deficits in schizophrenia: a combined MRI and 1H-MRS study. *Neuroimage* 2010;53(1):51-7.
- 30 Atmaca M, Yildirim H, Ozdemir H, Poyraz AK, Tezcan E, Ogur E. Hippocampal 1H MRS in first-episode bipolar I patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2006;30(7):1235-9.
- 31 Ongur D, Jensen JE, Prescott AP, Stork C, Lundy M, Cohen BM, Renshaw PF.

Abnormal glutamatergic neurotransmission and neuronal-glia interactions in acute mania. *Biol Psychiatry* 2008;64(8):718-26.

32 Clark JF, Doepke A, Filosa JA, Wardle RL, Lu A, Meeker TJ, Pyne-Geithman GJ. N-Acetylaspartate as a reservoir for glutamate. *Med Hypotheses* 2006; 76(3):506-12.

33 Kerwin R, Patel S, Meldrum B. Quantitative autoradiographic analysis of glutamate binding sites in the hippocampal formation in normal and schizophrenic brain post mortem. *Neuroscience* 1990;39:25-32.

34 Dong XX, Wang Y, Qin ZH. Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Acta Pharmacol Sin* 2009;30(4):379-87.

35 Numakawa T, Yagasaki Y, Ishimoto T, Okada T, Suzuki T, Iwata N, Ozaki N, Taguchi T, Tatsumi M, Kamijima K, Straub RE, Weinberger DR, Kunugi H, Hashimoto R. Evidence of novel neuronal functions of dysbindin, a susceptibility gene for schizophrenia. *Hum Mol Genet* 2004;13(21):2699-708.

36 Fanous AH, van den Oord EJ, Riley BP, Aggen SH, Neale MC, O'Neill FA, Walsh D, Kendler KS. Relationship between a high-risk haplotype in the DTNBP1 (dysbindin) gene and clinical features of schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2005;162(10):1824-32.

37 Elvevag B, Goldberg TE. Cognitive impairment in schizophrenia is the core of the disorder. *Crit Rev Neurobiol* 2000;14(1):1-21.

38 Newcomer JW, Farber NB, Jevtovic-Todorovic V, Selke G, Melson AK, Hershey T, Craft S, Olney JW. Ketamine-induced NMDA receptor hypofunction as a model of memory impairment and psychosis. *Neuropsychopharmacology* 1999;20(2):106-18.

39 Li SJ, Wang Y, Pankiewicz J, Stein EA. Neurochemical adaptation to cocaine abuse: reduction of N-acetyl-aspartate in thalamus of human cocaine abusers. *Biol Psychiatry* 1999;45(11):1481-7.

40 Bertolino A, Frye M, Callicott JH, Mattay VS, Rakow R, Shelton-Repella J, Post R, Weinberger DR. Neuronal pathology in the hippocampal area of patients with bipolar disorder: a study with proton magnetic resonance spectroscopic imaging. *Biol Psychiatry* 2003;53(10):906-13.

- 41 Dziobek I, Fleck S, Kalbe E, Rogers K, Hassenstab J, Brand M, Kessler J, Woike J, Wolf O, Convit A. Introducing MASC: a movie for the assessment of social cognition. *J Autism Dev Disord* 2006;36(5):623-636.
- 42 Inoue Y, Tonookaa Y, Yamadaa K, Kanba S. Deficiency of theory of mind in patients with remitted mood disorder. *J Affect Disord* 2004;82(3):403-9.

7. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, **André Ehrlich**, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema:

„**Glutamat als pathobiologischer Faktor bei endogenen Psychosen**“

selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

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

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

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

Datum

Unterschrift

8. Anteilserklärung

André Ehrlich hatte folgenden Anteil an den vorgelegten Publikationen:

Studie 1:

Ehrlich A, Schubert F, Pehrs C, Gallinat J. Alterations of cerebral glutamate in the euthymic state of patients with bipolar disorder. *Psychiatry Res* 2015 May 22. pii: S0925-4927(15)00117-1. doi: 10.1016/j.psychresns.2015.05.010. [Epub ahead of print]

75%: Rekrutierung von Patienten, Durchführung klinischer Testung, Schreiben des Manuskriptentwurfes und substantielle Mitwirkung an der Anfertigung der Publikation in der vorliegenden Form.

Studie 2:

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

35%: Mitarbeit an der labortechnischen Genotypisierung und Modifikation des Manuskriptes.

Studie 3:

Montag C, Ehrlich A, Neuhaus K, Dziobek I, Heekeren HR, Heinz A, Gallinat J. Theory of mind impairments in euthymic bipolar patients. *J Affect Disord* 2010; 123(1-3):264-9.

35%: Rekrutierung von Patienten, Durchführung klinischer Testung (MASC) und Modifikation des Manuskriptes.

André Ehrlich

9. Ausgewählte Publikationen

Diese Dissertation umfasst folgende Originalartikel:

Studie 1

Ehrlich A, Schubert F, Pehrs C, Gallinat J. Alterations of cerebral glutamate in the euthymic state of patients with bipolar disorder. *Psychiatry Res* 2015 May 22. pii: S0925-4927(15)00117-1. doi: 10.1016/j.psychresns.2015.05.010. [Epub ahead of print]

Studie 2

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

Studie 3

Montag C, Ehrlich A, Neuhaus K, Dziobek I, Heekeren HR, Heinz A, Gallinat J. Theory of mind impairments in euthymic bipolar patients. *J Affect Disord* 2010; 123(1-3):264-9.

Druckexemplare der ausgewählten Publikationen

Publikation 1: Ehrlich *et al.*, 2015

Ehrlich A, Schubert F, Pehrs C, Gallinat J. Alterations of cerebral glutamate in the euthymic state of patients with bipolar disorder. *Psychiatry Res* 2015 Aug 30;233(2):73-80.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.psychresns.2015.05.010> (entsprechende Zugangsrechte vorausgesetzt)

Publikation 2: Wirth *et al.*, 2012

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

<http://dx.doi.org/10.2174/138920112800784952> (entsprechende Zugangsrechte vorausgesetzt)

Publikation 3: Montag *et al.*, 2010

Montag C, Ehrlich A, Neuhaus K, Dziobek I, Heekeren HR, Heinz A, Gallinat J. Theory of mind impairments in euthymic bipolar patients. *J Affect Disord* 2010; 123(1-3):264-9.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jad.2009.08.017> (entsprechende Zugangsrechte vorausgesetzt)

Lebenslauf

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

Komplette Publikationsliste

Ehrlich A, Schubert F, Pehrs C, Gallinat J. Alterations of cerebral glutamate in the euthymic state of patients with bipolar disorder. *Psychiatry Res* 2015 May 22. pii: S0925-4927(15)00117-1. doi: 10.1016/j.psychresns.2015.05.010. [Epub ahead of print]

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

Montag C, **Ehrlich A**, Neuhaus K, Dziobek I, Heekeren HR, Heinz A, Gallinat J. Theory of mind impairments in euthymic bipolar patients. *J Affect Disord* 2010; 123(1-3):264-9.

Danksagung

Mein erster Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. Jürgen Gallinat für die Überlassung des Themas und seine stets geduldige und freundliche Unterstützung und Betreuung in allen Phasen dieser Arbeit.

Besonderer Dank gilt Dr. Florian Schubert von der Physikalisch-Technischen Bundesanstalt für die methodische Unterstützung bei der Erhebung der MRS-Daten, ohne dessen Mitarbeit und Hilfe diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre. Bei Dr. Jan Kalbitzer bedanke ich mich für die kritischen Korrekturhinweise bei der Fertigstellung des Manuskripts.

Ein Dankeschön auch an alle beteiligten Patienten und Probanden, ohne die diese Arbeit selbstverständlich nicht möglich gewesen wäre.

Meiner Freundin danke ich für ihre unermüdlich optimistische Unterstützung und ihre andauernde Ermutigung und Geduld.

Schließlich danke ich meinen Eltern, dass sie mich auf meinem schulischen und beruflichen Werdegang stets ohne Zögern unterstützt haben und mir dadurch viele Möglichkeiten in meinem Leben eröffnet haben.