

Aus der Abteilung Experimentelle Psychiatrie der Klinik für Psychiatrie,
Psychotherapie und Psychosomatische Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

**Expression des Insulin abbauenden Enzyms in Neuronen
schizophrenieassoziiierter Hirnregionen bei Schizophrenen und psychisch
gesunden Vergleichsfällen**

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des Doktorgrades

Dr. med.

(doctor medicinae)

an der Medizinischen Fakultät
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

vorgelegt von	Theresia - Sophie Ernst
aus	Höxter
Magdeburg	2011

Dokumentationsblatt

Ernst, Theresia: Expression des Insulin abbauenden Enzyms in Neuronen schizophreieassoziiierter Hirnregionen bei Schizophrenen und psychisch gesunden Vergleichsfällen. 2011. 100 Blatt: 4 Abbildungen, 21 Diagramme, 27 Tabellen, 144 Literaturzitate, 4 Internetquellen.

Gegenstand dieser Arbeit geht ist die Expression des Insulin abbauenden Enzyms bei an Schizophrenie erkrankten Personen im Vergleich zu psychisch gesunden Personen. Hierbei wurden verschiedene, mit Schizophrenie assoziierte Hirnregionen untersucht: der dorsolaterale präfrontale Kortex, der Nucleus paraventricularis und supraopticus im Hypothalamus und der Nucleus basalis Meynert.

Es konnte eine verminderte Expression des IDE im dorsolateralen präfrontalen Kortex bei den Schizophreniepatienten, insbesondere der Untergruppe der Paranoid-Schizophrenen, gefunden werden.

Dieses Ergebnis kann Folge der Erkrankung sein, da in den Neuronen von an Schizophrenie erkrankten Menschen eine gestörte Insulinrezeptorkaskade gefunden werden konnte, was sekundär zu einer verminderten Expression des IDE führt.. Möglich ist jedoch auch, dass die verminderte IDE-Expression eine gestörte neuronale Entwicklung verursacht und so Ursache der Erkrankung ist.

Schlüsselwörter

Insulin abbauendes Enzym, Schizophrenie, Insulin, Endorphine, Insulin growth factor, dorsolateraler präfrontaler Kortex, Nucleus supraopticus, Nucleus paraventricularis, Nucleus basalis Meynert, Neuronen

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	8
1.1 Schizophrenie	8
1.1.1 Epidemiologie	8
1.1.2 Ätiologie	9
1.1.3 Pathogenese	11
1.1.4 Symptome und Syndrome	14
1.1.4.1 Paranoide Schizophrenie	16
1.1.4.2 Schizophrenes Residuum	16
1.1.4.3 Undifferenzierte Schizophrenie	16
1.1.5 Therapie	16
1.2 Die untersuchten Hirnregionen und ihre Relevanz für die Schizophrenie	17
1.2.1 Dorsolateraler präfrontaler Kortex	17
1.2.2 Nucleus basalis Meynert	19
1.2.3 Nucleus paraventricularis	20
1.2.4 Nucleus supraopticus	20
1.3 Das Insulin abbauende Enzym	21
1.3.1 Allgemeines	21
1.3.2 Struktur	21
1.3.3 Regulation	22
1.3.4 Substrate und Funktionen	25
1.3.5 Putative Rolle des IDE bei der Schizophrenie	26
1.4 Zielsetzung	27
2. Material und Methoden	28
2.1 Untersuchungsgut	28
2.1.1 Herkunft	28
2.1.2 Studiendesign	28
2.1.2.1 Einschlusskriterien	28
2.1.2.2 Ausschlusskriterien	28
2.1.3 Epidemiologische Daten	29

2.1.3.1	Kontrollpersonen	33
2.1.3.2	Schizophrene	34
2.1.3.3	Ausgeschlossene Personen	37
2.2	Präparation der Gehirne	38
2.3	Histologie	38
2.3.1	Immunhistochemische Darstellung des IDE	39
2.3.2	Kombinierte Markscheiden-Nissl-Färbung	43
2.4	Neuronendichtebestimmung	44
2.4.1	Dorsolateraler präfrontaler Kortex	44
2.4.2	Nucleus basalis Meynert	45
2.4.3	Nucleus supraopticus und Nucleus paraventricularis	45
2.5	Statistische Auswertung	46
2.5.1	Datenvalidität	46
2.5.2	Nisslzählung	49
3.	Ergebnisse	51
3.1	Dorsolateraler präfrontaler Kortex	51
3.1.1	Korrelationen	51
3.1.2	Differenzstatistik	52
3.1.2.1	Analyse der Diagnosegruppen	52
3.1.2.2	Analyse der Subgruppen	56
3.1.2.3	Seitenanalyse	58
3.2	Nucleus basalis Meynert, Nucleus paraventricularis und Nucleus supraopticus	60
3.2.1	Korrelationen	60
3.2.2	Differenzstatistik	61
3.2.2.1	Analysen der Diagnosegruppen	61
3.2.2.2	Analyse der Subgruppen	62
3.2.2.3	Seitenanalyse	63
4.	Diskussion	64
4.1	Dorsolateraler präfrontaler Kortex	64
4.1.1	Genort des IDE	65
4.1.2	Gestörter Glukosemetabolismus bei Schizophrenen	66
4.1.3	Gestörte Insulinrezeptorkaskade bei Schizophrenen	68

4.1.4 Neurodevelopmental-Hypothese	71
4.1.5 Hypofrontalitätstheorie	73
4.1.6 Zeitpunkt des Krankheitsbeginns und Krankheitsdauer	74
4.1.7 Weitere Ansätze	75
4.2 Nucleus basalis Meynert	76
4.3 Nuclei supraopticus und paraventricularis	77
4.4 Grenzen durch die Methodik	79
5. Zusammenfassung	80
6. Literaturverzeichnis	81
6.1 Zeitschriftenbeiträge	82
6.2 Buchbeiträge	95
6.3 Internetquellen	97
7. Erklärung	98
8. Danksagungen	99
9. Bildungsweg	100

Abkürzungsverzeichnis

Akt	Proteinkinase B
ANP	Atriales natriuretisches Peptid
ATP	Adenositriphosphat
BDNF	Brain-derived neurotrophic factor
BM	Nucleus basalis Meynert
BMI	Body Mass Index
DISC-1	Disrupted-in-Schizophrenia 1
DLPFC	Dorsolateraler präfrontaler Kortex
DNA	Desoxyribonucleinsäure
EGF	Epidermal growth factor
FD	Fixationsdauer
G	Gesamt
GABA	Gamma-Aminobuttersäure
GHRH	Growth hormone releasing hormone
GLUT	Glukosetransporter
GSK3	Glukose-Synthase-Kinase 3
HG	Hirngewicht
IDE	Insulin abbauendes Enzym (Insulin-degrading enzyme)
IGF	Insulin growth factor
K	Kontrollpersonen
N	Fallzahl
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
OR	Odds ratio
P	Schizophreniepatient
PIP3K	Phosphatidylinositol-3-Kinase
PMI	Postmortemintervall / Autolysezeit
PV	Nucleus paraventricularis
RNA	Ribonucleinsäure
SO	Nucleus supraopticus
TGF α	Tumor growth factor α
VZV	Varizella zoster Virus
Wnt1	Wingless-type MMTV
ZNS	Zentrales Nervensystem

1. Einleitung

Dass Insulin für den Stoffwechsel des Gehirns eine enorme Rolle spielt, ist nach anfänglichen Zweifeln mittlerweile eine anerkannte Tatsache (Dorn et al. 1982a, b). Störungen der Insulinsignalkaskade wurden bei Schizophrenen gefunden (Zhao et al. 2006).

In dieser Arbeit soll untersucht werden, ob die Expression des Insulin abbauenden Enzyms (IDE) bei Schizophrenen im Vergleich zu gesunden Personen verändert ist und welche Rolle das in Zellen des Gehirns gefundene Insulin abbauende Enzym bei den Schizophrenen spielen könnte.

1.1 Schizophrenie

Die Schizophrenie ist eine schwerwiegende psychiatrische Erkrankung, die durch ihr vielfältiges und nahezu alle psychopathologischen Dimensionen betreffendes Erscheinungsbild geprägt ist. Ihre Heterogenität und Komplexität hat zur Folge, dass man die Ursachen und die Entstehung dieser Erkrankung bis heute nicht genau versteht (Möller et al. 2008).

Beschrieben wurde das Krankheitsbild erstmals 1898 von Kraepelin als Dementia praecox und 1911 unter dem heutigen Namen von Bleuler (Möller et al. 2008).

1.1.1 Epidemiologie

Das Lebenszeitrisko, an einer Schizophrenie zu erkranken, beträgt 0,6-1% (Castle et al. 1991, Möller et al. 2008). Dabei sind eher die Bewohner von städtischen Regionen betroffen (Mortensen et al. 1999). Schizophrene gehören oft unteren sozialen Schichten an, was wahrscheinlich durch einen krankheitsbedingten sozialen Abstieg bedingt ist (Mortensen et al. 1999).

Männer sind in etwa gleich häufig betroffen wie Frauen, wobei jedoch das Ersterkrankungsalter mit 20-26 Jahren bei den Männern um etwa 5 Jahre niedriger ist als bei den Frauen (Castle et al. 1991). Im Gegensatz zu dieser Early-onset Schizophrenie tritt die Erkrankung als Late-onset Form bei etwa 15% der Patienten erst nach dem vierzigsten Lebensjahr auf, weshalb hier eine andere Ätiologie diskutiert wird.

Die altersbezogene Mortalität ist bei Schizophrenen im Vergleich zu Kontrollpersonen um den Faktor zwei erhöht, was vor allem auf eine höhere

Suizidalität, aber auch auf eine erhöhte kardiovaskuläre Morbidität zurückzuführen ist. Diese wird durch den niedrigeren sozialen Status, den häufigeren und stärkeren Nikotinabusus (Dalack et al. 1998) und die erhöhte Diabetesprävalenz (de Hert et al. 2006) bei Schizophrenen bedingt.

Es gibt eine Reihe von Risikofaktoren, deren Vorhandensein die Wahrscheinlichkeit der Erkrankung an Schizophrenie erhöht. Diese werden im folgenden Abschnitt näher besprochen.

1.1.2 Ätiologie

Die Ätiologie der Schizophrenie ist nicht eindeutig geklärt.

Gesichert ist eine genetische Komponente. Eine positive Familienanamnese stellt den größten Risikofaktor für Schizophrenie dar.

Tabelle 1 *Wahrscheinlichkeit der Erkrankung einer Person in Abhängigkeit von weiteren erkrankten Verwandten (zusammengestellt nach Mortensen et al. 1999)*

Verwandtschaft mit der Person	Wahrscheinlichkeit der Erkrankung der Person
Erkrankung der Mutter	9,3%
Erkrankung des Vaters	7,2%
Erkrankung beider Eltern	46,3%
Erkrankung eines/r Bruders/Schwester	7,0%
Erkrankung des dizygoten Zwillings	9%
Erkrankung des monozygoten Zwillings	43%

Der Erbgang ist hier noch unklar; er ist wahrscheinlich polygen und multifaktoriell, das heißt, dass es viele Gene gibt, die zur Entstehung dieser Erkrankung beitragen können und im Zusammenspiel mit Umweltfaktoren bei anfälligen Personen zu einer Erkrankung führen. Dabei ist es möglich, dass bei verschiedenen Personen unterschiedliche Gene beziehungsweise Umweltfaktoren zur Schizophrenie führen.

Einige Gene, die mit der Schizophrenie assoziiert sind, wurden schon identifiziert. Einer dieser sogenannten Hotspots liegt auf dem Chromosom 10 q23 - 25, also auf dem Genort, auf dem das Gen, das das Insulin abbauende Enzym kodiert, liegt (Mowry et al. 2000, Chisoe et al. 2008). Andere Gene kodieren für am Stoffwechsel der monoaminergen Transmitter beteiligte

Enzyme, wieder andere für Substanzen, die die Entwicklung des Gehirns regulieren. Zu nennen ist hier das die Neurulation regulierende Wnt1, das in Gehirnen Schizophrener vermehrt vorkommt und ein Suppressor der GSK3 ist (Klempan et al. 2004).

Darüber hinaus spielen eine Reihe anderer Proteine, wie das Neuregulin 1, DISC-1, Dysbindin, der BDNF und der NMDA-Rezeptor, eine Rolle bei der Entstehung einer Schizophrenie (Balu 2010).

Die erwähnten Umweltfaktoren lassen sich in frühe und späte Faktoren unterteilen. Die frühen Faktoren sind solche, die prä- und perinatal auf den Menschen einwirken.

Risikofaktoren während der Pränatalzeit führen im Endeffekt zu einer verminderten Sauerstoffversorgung des Kindes. Zu nennen sind hier Untergewicht der Mutter mit daraus folgender zu kleiner Plazenta sowie zu kleinen und zu leichten Neugeborenen (Wahlbeck 2001). Komplikationen während der Schwangerschaft stellen weitere Risikofaktoren dar. Dazu zählen Präeklampsie, Blutungen, Rhesusinkompatibilität und auch Gestationsdiabetes (Cannon et al. 2003, Hollister et al. 1996, van Lieshout et al. 2008). Auf die Rolle des Diabetes während der Schwangerschaft wird später noch einmal eingegangen.

Auch Geburtskomplikationen wie Uterusatonie und Notsektio haben oft eine Asphyxie zur Folge und sind somit ebenfalls Risikofaktoren für die Entstehung einer Schizophrenie (Cannon et al. 2003). Dabei scheint besonders ein Zusammentreffen mehrerer Geburtskomplikationen schädlich zu sein (Stefan et al. 2002).

Virale Infektionen während der Schwangerschaft, allen voran die Infektion mit Influenza-Viren, erhöhen ebenfalls das Risiko, später an Schizophrenie zu erkranken. Unterstützt wird diese Theorie durch das leicht erhöhte Vorkommen der Erkrankung bei Patienten, die im Februar oder März geboren wurden, besonders nach Influenzaepidemien (Watson et al. 1984, Mortensen et al. 1999). Auch andere virale Infektionen während der Schwangerschaft, wie zum Beispiel mit Rubella- oder Polio-Viren, wurden mit Schizophrenie assoziiert (Brown et al. 2000a, b; Suvisaari 1999).

Auch das Varizella-Zoster-Virus stand in Verdacht, mit einer erhöhten Prävalenz von Schizophrenie in Verbindung zu stehen. Für diese Arbeit ist das

sehr interessant, da das IDE einen Rezeptor für dieses Virus darstellt (Li et al. 2006). Diese Assoziation konnte jedoch nicht bestätigt werden (Alexander et al. 1992).

Pathogenetisch wird durch die oben genannten viralen Infekte eine Entwicklungsstörung des Ekto- und speziell des Neuroektoderms vermutet (Fruntes et al. 2008), die auch mit einer erhöhten Prävalenz an kraniofazialen Fehlbildungen (Lane et al. 1997, Compton et al. 2007) und dermatoglyphischen Veränderungen (Wendt et al. 1951) vergesellschaftet sein kann.

Des Weiteren soll erhöhter Stress der Mutter, aber auch des Kindes in seinen ersten Lebensjahren, die Entstehung einer Schizophrenie begünstigen (Teixeira et al. 1999, King et al. 2005).

Zu den späten Umgebungsfaktoren zählt unter anderem der Missbrauch psychoaktiver Substanzen (Andréasson et al. 1987)

Ähnlich wie bei der Depression können auch lebensschneidende Veränderungen zu einer Schizophrenie führen, jedoch weitaus weniger häufig als bei der erstgenannten Erkrankung (Stefan et al. 2002).

Darüber hinaus wurde ein vermehrtes Vorkommen von Schizophrenie bei Immigranten festgestellt, was auf die soziale Isolierung zurückzuführen ist (Stefan et al. 2002).

1.1.3 Pathogenese

Die Pathogenese dieser Erkrankung lässt noch viele Fragen offen. Es gibt verschiedene Theorien: Die am weitesten verbreitete dieser Theorien ist die "Neurodevelopmental Theory". Sie besagt, dass die genetischen und frühen umweltbedingten Risikofaktoren eine Entwicklungsstörung des Gehirns verursachen. Unterstützt wird diese Theorie durch die zahlreichen pränatalen Risikofaktoren, die oben beschrieben wurden sowie den nichtprogressiven Charakter der Erkrankung (Bogerts 2004, Möller et al. 2008, Weinberger 1987).

Die Hypothese, dass die Schizophrenie eine Art neurodegenerative Erkrankung ist, findet weitaus weniger Akzeptanz, vor allem wegen der überzeugenden Argumente für die Neurodevelopmental-Hypothese. Explizit gegen diese Theorie spricht, dass die Krankheit nur eine geringe Progression zeigt. Dennoch wird sie bei der Late-Onset Schizophrenie nicht ausgeschlossen (Lagodka et al. 2009)

Die Entwicklung des Nervensystems ist ein komplizierter Prozess. Der Großteil dieses Vorganges läuft bereits intrauterin ab. Es gibt verschiedene Gene, deren Produkte die verschiedenen Phasen dieses Prozesses, also die Neurulation, Segmentation, Zellmigration, Apoptose und Fähigkeit der Neurotransmission, regulieren. Wie schon erwähnt, haben aber nicht nur Gene, sondern auch Umweltfaktoren einen Einfluss auf den Ablauf der neuronalen Entwicklung (Klempan et al. 2004).

Das Gehirn reift aber noch bis in das Erwachsenenalter hinein. Diese Reifung ist zunächst in der Kindheit geprägt durch die neuronale Arborisation und die damit einhergehende Verknüpfung zwischen den Neuronen. In der Adoleszenz wird die Reifung durch Myelinisation (Wood et al. 2004) und das Pruning bestimmt, also das selektive, wahrscheinlich nach dem "use it or lose it" Prinzip stattfindende, Löschen einzelner Verbindungen (Giedd et al. 2004).

Störungen der, vor allem pränatalen, Entwicklung des Gehirns haben meist ein morphologisches Korrelat. So sind die Liquorräume bei Schizophrenen im Vergleich zu Kontrollpersonen erweitert, was sich besonders auf die Seitenventrikel, den dritten Ventrikel und die frontalen äußeren Liquorräume bezieht. Das Gesamthirnvolumen ist um etwa 2% verringert. Einige spezielle Regionen zeigen auch eine geringere Größe; insbesondere sind der präfrontale Kortex, der Thalamus, der Hippocampus, die Amygdala und weitere kortikale Areale, vorwiegend des limbischen Systems, zu nennen (zusammengefasst in Bogerts 2005 und 2008, Möller et al. 2008). Es findet sich des Weiteren eine aufgehobene Asymmetrie der Hemisphären (Cullen 2006). Außerdem zeigen sich bei Schizophrenen häufiger seltene Anomalien wie ein Cavum septum pellucidum oder Gefäßanomalien als bei der "Normalpopulation" (Degreef et al. 1992, Brisch et al. 2007).

Aber auch auf der zellulären Ebene sind Veränderungen erkennbar. So finden sich bei Schizophrenen gehäuft zytoarchitektonische Anomalien besonders präfrontal, die auf eine gestörte Zellmigration zurückzuführen sind (Bogerts 2004).

Dass bei Schizophrenen neurochemische Störungen vorhanden sind, die zur Entstehung der Krankheit beitragen, ist spätestens seit der wirksamen Einführung der Neuroleptika bekannt. Die Frage, welche Neurotransmittersysteme hierbei beeinträchtigt sind, führte in den vergangenen

Jahrzehnten zu vielen Hypothesen. Von besonderem Interesse waren dabei dopaminerge, GABAerge und glutamaterge Projektionen. Letztendlich liegt die Wahrheit irgendwo zwischen diesen Theorien; sie schließen sich nicht aus, sondern ergänzen sich vielmehr. So ist die Pathogenese in einem gestörten Zusammenspiel zwischen diesen Neurotransmittersystemen zu sehen. Dabei spielen die Verminderung von NMDA-Rezeptoren und GABA-ausschüttenden Interneuronen sowie eine Dopaminhyperaktivität und -hypoaktivität eine Rolle (O'Donnell et al. 1998, Benes et al. 2001, Stahl 2007). Kehrer (2008) postulierte, dass Neurone, die NMDA-Rezeptoren tragen, während der Entwicklung besonders empfindlich auf veränderte Glutamatkonzentrationen reagieren, welche durch intrauterine Hypoxie bedingt sein könnten. So können sich auch diese Erkenntnisse in die Neurodevelopmental-Theorie einfügen.

Durch die Fehlentwicklung der Hirnregionen kommt es im präfrontalen Kortex zu einer Inaktivierung und somit zu einem verminderten Stoffwechsel (O'Donnell et al. 1998, Stahl 2007), welcher anhand des Blutflusses und der Glukoseaufnahme von verschiedenen Gruppen gezeigt wurde (Andreasen et al. 1997, Wolkin et al. 1988, Buchsbaum et al. 1984). Diese Hypofrontalität wird durch Neuroleptika, insbesondere Atypica, wieder aufgehoben (Sharafi 2005, Erkwow 1997).

Die Frage, warum trotz eines schon bei der Geburt vorhandenen Defizits die Schizophrenie erst im Erwachsenenalter ausbricht, ist nicht eindeutig geklärt. Vermutet wird, dass durch die Reifung des Gehirns, insbesondere durch das Pruning, Kompensationsmechanismen außer Kraft gesetzt werden (Wood et al. 2004, Mala 2008).

Eine weitere Inkongruenz mit der Neurodevelopmental-Theorie stellen die Late-Onset Schizophrenen, also Patienten, bei denen sich die Erkrankung erst nach dem vierzigsten Lebensjahr manifestiert, dar. Es wird diskutiert, ob diese Patientengruppe eine eigene Entität darstellt, wobei jedoch die Gemeinsamkeiten mit der Early-Onset Form überwiegen.

Es stellt sich also die Frage, welche Faktoren den Beginn der Krankheit determinieren.

1.1.4 Symptome und Syndrome

Die Symptome der eigentlichen Erkrankung sind vielfältig und variabel. Tabelle 2 gibt einen Überblick. Ein besonderes Augenmerk ist für diese Arbeit auf die rot hinterlegten Symptome zu legen, die die Funktionen des Arbeitsgedächtnisses sowie Handlungsplanung und -anpassung betreffen, da diese Symptome mitunter auf eine Störung des untersuchten dorsolateralen präfrontalen Kortex zurückzuführen sind (Gruber 2005).

Tabelle 2 Symptomkomplexe der Schizophrenie in Anlehnung an den psychopathologischen Befund (Zusammengestellt nach Möller et al. 2008)

Dimension	positiv	negativ
Aufmerksamkeits- und Gedächtnisstörungen	· Konzentrationsstörungen	· Konzentrationsstörungen · Auffassungsstörungen
Formale Denkstörungen	· Beschleunigtes Denken · Gedankendrängen · Ideenflucht · Inkohärenz, Zerfahrenheit · Paraphrasien, Neologismen	· Gehemmttes Denken · Sprachverarmung, Mutismus · inhaltsarme Sprache · umständlich
inhaltliche Denkstörungen	· Wahn	
Sinnestäuschungen	· akustische Halluzinationen in Form von dialogisierenden oder kommentierenden Stimmen · andere Halluzinationen	
Ich-Störungen		· Gedankenentzug, -ausbreitung, -eingebug · Willensbeeinflussung · Depersonalisation · Derealisation
Störungen der Affektivität	· Ängstlichkeit · Ambivalenz · Parathymie	· innere Unruhe · Ratlosigkeit · Affektarmut · Anhedonie
Antriebs- und psychomotorische Störungen	· Antriebssteigerung · Motorische Unruhe · Manierismus · Parakinesen	· Antriebsarmut · Sprachverarmung · Apathie · katatonies Syndrom (Stupor, Mutismus, Erregung, Haltungstereotypien , Negativismus, Rigidität, Befehlsautomatismen)
Soziale Interaktionen	· soziale Umtriebigkeit · Aggressivität · Suizidalität	· [sozialer Rückzug] · [Suizidalität]

Durch retrospektive und prospektive Studien bei Schizophrenen, beziehungsweise Menschen, für die ein hohes Erkrankungsrisiko besteht (positive Familienanamnese), konnte gezeigt werden, dass auch schon vor dem "offiziellen" Beginn der Erkrankung im jungen Erwachsenenalter dezentale Symptome bei den Betroffenen bestehen. So erreichen sie als Kinder die Meilensteine der Entwicklung später, zeigen häufiger Verhaltensauffälligkeiten und emotionale Defizite (Bearden et al. 2000).

Schon Jahre vor dem Ausbruch der Schizophrenie können Prodromalsymptome auftreten, die sich besonders als plötzliche Verhaltensänderung, Leistungsabfall und sozialer Rückzug präsentieren (Johnstone et al. 2005).

Die Vielfältigkeit der Symptome hat zu verschiedenen Einteilungen der Symptome in Gruppen geführt, um die Diagnostik zu erleichtern. Die Einteilung in Positiv- und Negativsymptome versucht hierbei, ätiopathogenetische Aspekte zu berücksichtigen (Möller et al. 2008).

Die Kombination der Symptome ist sehr variabel, was auch die Heterogenität der Ursachen dieser Erkrankung unterstreicht.

Eine Unterteilung der Schizophrenie in Subgruppen ist künstlich, da fließende Übergänge bestehen, weshalb sie häufigen Erneuerungen ausgesetzt ist.

Heute wird die Schizophrenie nach der ICD-10-Klassifikation in insgesamt neun Subtypen unterteilt, von denen die ersten sieben klinische Krankheitsbilder darstellen. In dieser Arbeit kommen nur die Subtypen 20.0, 20.3 und 20.5 vor, weshalb ich diese kurz erläutern will.

Tabelle 3: ICD-Klassifikation der Schizophrenie

ICD-10-Code	Diagnose
20.0	Paranoide Schizophrenie
20.1	Hebephrene Schizophrenie
20.2	Katatone Schizophrenie
20.3	Undifferenzierte Schizophrenie
20.4	Postschizophrene Depression
20.5	Schizophrenes Residuum
20.6	Schizophrenia simplex
20.7	Nicht vergeben
20.8	Sonstige Schizophrenie
20.9	Schizophrenie, nicht näher bezeichnet

1.1.4.1 Paranoide Schizophrenie

Die paranoide Schizophrenie ist der häufigste Subtyp dieser Erkrankung. Sie ist gekennzeichnet durch das Vorhandensein von Positivsymptomen, also insbesondere inhaltlichen Denkstörungen wie dem Wahn und in vielen Fällen auch Sinnestäuschungen. Aber auch Negativsymptome können gleichzeitig vorhanden sein (Möller et al. 2008).

1.1.4.2 Schizophrenes Residuum

Dieser Subtyp ist durch das überwiegende Vorkommen negativer Symptome gekennzeichnet, wobei zu einem früheren Zeitpunkt eine eindeutige psychotische Episode vorgelegen haben muss (Möller et al. 2008).

1.1.4.3 Undifferenzierte Schizophrenie

Als eine undifferenzierte Schizophrenie werden solche Schizophrenien bezeichnet, die sonst in keine oder mehrere andere Subgruppen eingeordnet werden könnten. Es handelt sich also um eine äußerst heterogene Gruppe (Möller et al. 2008).

1.1.5 Therapie

Für die Therapie der Schizophrenie kommt der Pharmakotherapie die größte Bedeutung zu. Dabei wird die antipsychotische Wirksamkeit der Substanzen ihren Dopamin₂-Rezeptor-antagonistischen Wirkungen zugeschrieben. Jedoch wirken die Substanzen auch auf Dopaminrezeptoren, die nicht in Verbindung mit der Pathogenese der Schizophrenie stehen, so zum Beispiel in der Substantia nigra. Außerdem wirken viele der Substanzen auch auf andere Rezeptoren, zum Beispiel den muscarinergen Acetylcholinrezeptor und den Serotoninrezeptor. So wird verständlich, dass diese Substanzen zu nicht unerheblichen Nebenwirkungen führen, die besonders das extrapyramidalmotorische System betreffen sowie die antiemetische Wirkung, die Sedierung und viele andere Nebenwirkungen erklären.

Auf eine Nebenwirkung wird später noch eingegangen, nämlich auf die diabetogene Wirkung vor allem der neueren Neuroleptika, also der Atypica wie Olanzapin. Wie genau diese Wirksubstanzen zu diesem Befund führen, ist unklar (Göthert et al. 2004).

Das häufige Vorkommen von Nebenwirkungen durch die bisherigen Neuroleptika macht deutlich, dass die Forschung auf diesem Gebiet, besonders was die Ätiopathogenese dieser Erkrankung angeht, wichtig ist, um neue Substanzen mit einer anderen Wirkung finden zu können.

1.2 Die untersuchten Hirnregionen und ihre Relevanz für die Schizophrenie

In dieser Arbeit wurden vier verschiedene Hirnregionen in jeweils beiden Hemisphären untersucht, deren Eigenschaften und Rolle für die Schizophrenie im Folgenden näher erläutert werden.

1.2.1 Dorsolateraler präfrontaler Kortex

Der dorsolaterale präfrontale Kortex (DLPFC) ist einer der phylogenetisch jüngsten Anteile des präfrontalen Kortex. Dabei stellt die Unterteilung des lateralen Kortex in einen dorsalen und einen ventralen Teil ein umstrittenes Konstrukt dar, dessen funktionelle Berechtigung angezweifelt wird (Gruber 2004).

Wie auch beim restlichen präfrontalen Kortex dauert seine Reifung durch Arborisation und Pruning bis in das junge Erwachsenenalter hinein (Wood et al. 2004).

Zytoarchitektonisch gehört er zum granulären Kortex, das heißt, er besitzt ein ausgeprägtes Stratum granulosum internum. Die Neuronen aller Schichten sind kolumnal angeordnet. So entsteht eine funktionelle Trennung, um den hohen organisatorischen Ansprüchen an diese Hirnregion gerecht zu werden.

Der DLPFC ist mit dem lateralen Thalamus, dem dorsalen Nucleus caudatus, dem Hippocampus und dem Neocortex verbunden. Besonders stark ausgeprägt sind aber die Fasern aus den ipsi- und kontralateralen Assoziationsarealen des Kortex. Der DLPFC sendet direkte Projektionen zum Nucleus caudatus, zum medialen Pallidum und zur Substantia nigra.

Man kann dem DLPFC schwer einzelne bestimmte Funktionen zuteilen, da die Assoziationen mit anderen präfrontalen Regionen und anderen Hirnteilen den DLPFC in viele kognitive Prozesse mit einbeziehen (Gruber 2004).

Diese kognitiven Prozesse beinhalten beispielsweise exekutive Funktionen, problemlösendes Denken, Arbeitsgedächtnis und die Verarbeitung von Emotionen (Danek 2004).

Hinweise auf eine starke funktionelle Beteiligung des DLPFC bestehen hierbei für das Arbeitsgedächtnis. Des Weiteren werden die Verarbeitung räumlicher Informationen, Überwachung und Modulation situativ relevanter Informationen und unmittelbare Verhaltensantwort darauf sowie Unterdrückung von unangebrachtem Verhalten und das Erlernen neuer Aufgaben speziell mit diesem Areal in Verbindung gebracht (Förstl 2004, Danek 2004).

Die Beeinträchtigung des DLPFC führt zu einer Reihe von Symptomen. So haben Menschen, die beispielsweise einen infarktbedingten Ausfall dieser Region erlitten haben, starke Einbußen im Arbeitsgedächtnis. Dadurch ist eine zielgerichtete Handlungsplanung und -anpassung nicht mehr möglich, worunter Exekutivfunktionen und Problemlösungsstrategien leiden, im schlimmsten Fall sogar perseveratives Verhalten entsteht. Deutlich wird das zum Beispiel im Wisconsin-Card-Test. Linksseitige Schädigung führt zu Funktionsverlusten eher in Bezug auf sprachliche Fertigkeiten, rechtsseitige Schädigung eher in Bezug auf räumliches Handeln (Danek 2004, Reischies 2004).

Diese Symptomatik besteht, wie oben schon erwähnt, in ähnlicher Form auch bei Schizophrenen und bildet vornehmlich die negativen Symptome (Dolan et al. 1993).

Bei schizophrenen Patienten bestehen morphologische Veränderungen im präfrontalen Kortex im Vergleich zu Kontrollpersonen. Zu nennen sind hier ein um etwa 5% vermindertes Volumen bei erhaltener Zellzahl und eine gestörte Zytoarchitektur mit diskreter neuronaler Schädigung. Hiervon sind vorzugsweise die Interneuronen betroffen. Dabei korrelieren diese Einbußen mit der Stärke negativer Symptome. Des Weiteren ist die zerebrale Asymmetrie im präfrontalen Kortex aufgehoben (Cullen et al. 2006).

In verschiedenen Studien konnte auch eine funktionelle Aberration des DLPFC bei Schizophrenen im Vergleich zu Kontrollpersonen gezeigt werden, was sich in einer verminderten Aktivierbarkeit der Region während der Durchführung sie beeinflussender Aufgaben zeigt (Danek et al. 2005).

Darüber hinaus konnte eine verminderte Durchblutung und eine verminderte Glukosemetabolisierung im dorsolateralen präfrontalen Cortex im Vergleich zu

Kontrollpersonen gezeigt werden. Man spricht von einer „Hypofrontalität“ (Andreasen et al. 1997, Wolkin et al. 1988, Buchsbaum et al. 1984).

1.2.2 Nucleus basalis Meynert

Der Nucleus basalis Meynert wurde 1872 von Theodor Meynert erstmals beschrieben (Pearce 2003) und ist neben dem diagonalen Band von Broca und dem Nucleus septalis medialis ein Teil der basalen Vorderhirnstrukturen (Ulfig 1989). Er befindet sich innerhalb der Substantia innominata (Ulfig 1989) lateral des dritten Ventrikels auf frontaler Höhe der Fornix über der Riechrinde und unterhalb des Putamens (Mai et al. 2004).

Die Zellen des Nucleus basalis Meynert sind zu 90% cholinerg (Trepel 2001). Sie erhalten Impulse aus dem limbischen System, besonders von der Amygdala, dem lateralen Thalamus und dem peripeduncularen Kern (Jones et al 1975). Efferent ist der Nucleus mit nahezu allen Teilen des Neocortex verbunden (Jones et al. 1975). Der Kern spielt somit eine wichtige Rolle bei der Verarbeitung von emotionalen Reizen.

Bei Patienten, die an einer Schizophrenie erkrankt sind, liegt häufig auch eine Störung in der Verarbeitung dieser Funktionen vor. So schrieb Heimer (2000), dass eine Beeinträchtigung des Nucleus basalis Meynert und seiner Vernetzungen eine der Hauptursachen für Störungen in der Konzentration und für die kognitiven Symptome bei der Schizophrenie ist.

Zwar konnte in Post-mortem-Studien bereits gezeigt werden, dass bei an Schizophrenie Erkrankten keine Reduktion der Neuronen des Nucleus basalis Meynert im Vergleich zu Kontrollgehirnen vorliegt (el-Mallakh et al. 1991); ob jedoch die Funktion dieser Zellen bei den Patienten ohne Beeinträchtigung ist, ist bislang unbekannt.

Auch diese Studie lässt keine Aussage über die Funktion der Neuronen des Kernes zu, jedoch kann abgeschätzt werden, ob der „Motor“ der Zelle, nämlich ihr Stoffwechsel, durch eine veränderte Expression des Insulin-degrading Enzymes in irgendeiner Weise verändert ist.

1.2.3 Nucleus paraventricularis

Der Nucleus paraventricularis ist neben dem Nucleus supraopticus, dem Nucleus suprachiasmaticus und dem Nucleus praeopticus einer der vier Kerne aus der vorderen Kerngruppe des Hypothalamus. Er liegt dem dritten Ventrikel auf beiden Seiten direkt an (Mai et al. 2004).

Seine Afferenzen erhält der Kern aus dem gesamten Neocortex und dem limbischen System (Trepel 2001). Hauptaufgabe des Kerns ist die Produktion von Oxytocin, einem Hormon, das für die Kontraktionen des Uterus während der Geburt, aber auch für die Milchausschüttung beim Stillen verantwortlich ist. Daneben produziert der paraventriculäre Kern aber auch Vasopressin, das in den Sammelrohren der Niere den Einbau von Aquaporinen in die Zellmembranen bewirkt und so zu einer vermehrten Rückresorption von Flüssigkeit aus den Harnwegen ins Blut führt (Ishunina et al. 1999).

Die Axone des Nucleus paraventricularis enden im Hypophysenhinterlappen; die dort ausgeschütteten Hormone gelangen direkt über die Blutbahn zu ihren Zielorganen (Ishunina et al. 1999). Beide Hormone spielen eine zunehmende Rolle bei der Erklärung der Psychopathologie der Schizophrenie; Oxytocin ist hierbei für die Entwicklung von Vertrauen und somit für den Aufbau sozialer Bindungen verantwortlich (Keri et al. 2009, Goldmann et al. 2008). Ein Mangel an Vasopressin führt zu Lernschwierigkeiten und Gedächtnisstörungen (Bernstein et al. 2010).

Für diese Arbeit ist von besonderer Bedeutung, dass der Nucleus paraventricularis, wie der gesamte Hypothalamus, β -Endorphine in seinen Neuronen (Bernstein et al. 2002, Emson et al. 1984) beziehungsweise den μ -Opioidrezeptor, der durch β -Endorphine innerviert wird (Zheng et al. 2005), enthält, die ein Substrat des IDE sind.

1.2.4 Nucleus supraopticus

Der Nucleus supraopticus ist ebenfalls Bestandteil der vorderen Kerngruppe des Hypothalamus. Er befindet sich lateral-dorsal des Nervus opticus kurz nach dem Chiasma nervi optici (Mai et al. 2004).

Genau wie der Nucleus paraventricularis produziert der Nucleus supraopticus Vasopressin und Oxytocin; im Gegensatz zu seinem Nachbarkern liegt der Schwerpunkt hier aber beim Vasopressin. Die Afferenzen und Efferenzen stimmen mit denen des Nucleus paraventricularis überein.

Wichtig für diesen Kontext ist, dass auch der Nucleus supraopticus durch β -Endorphine (Makarenko et al. 1985, Emson et al. 1984) über deren Rezeptoren (Zheng et al. 2005) innerviert wird.

1.3 Das Insulin abbauende Enzym

1.3.1 Allgemeines

Das Insulin abbauende Enzym ist eine Zink-Metalloprotease mit einer Molmasse von 113 kDa (Im et al. 2007). Es ist ein evolutionär konserviertes Enzym (Garcia et al. 1989).

Das IDE kommt in allen Geweben des Körpers, außer in Lymphozyten, vor (Weirich et al. 2008).

Im Gehirn kommt das IDE in nahezu allen Regionen vor, besonders aber im Hypothalamus, Nucleus basalis Meynert, Cortex, Stammhirn und Kleinhirn (Bernstein et al. 2008).

Dabei findet sich das Enzym im Cytosol (Akiyama et al. 1988, Bernstein et al. 1999), im Zellkern (Udrisar et al. 2005) und in den Peroxisomen (Authier et al. 1994), nicht aber in den Mitochondrien, den Lysosomen und den Endosomen (Akyama et al. 1988, Authier et al. 1994). Des Weiteren konnte auch ein membranassoziertes IDE nachgewiesen werden. Das zytosolische Enzym hat eine Halbwertszeit von 33 Stunden, während diese Spanne bei dem membranassozierten IDE vier Stunden beträgt (Bulloj et al. 2008).

Der Genort dieses Enzyms befindet sich auf dem langen Arm des Chromosoms 10, und zwar auf den Genorten 94.211.441 bis 94.333.833 (www.ensemble.org). Dieser Genort ist mit Schizophrenie assoziiert (Chisoe et al. 2008).

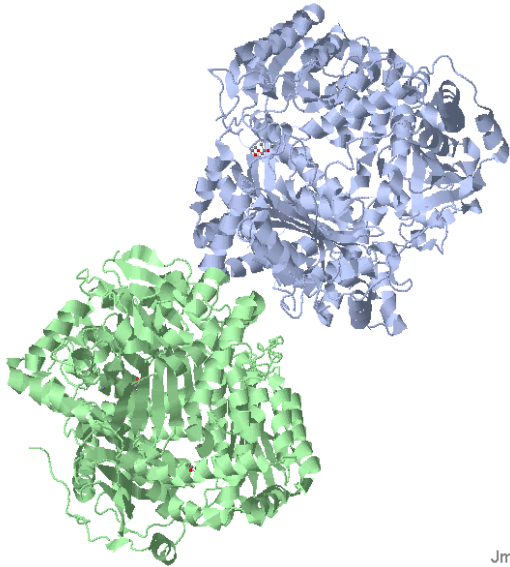
1.3.2 Struktur

Das Insulin abbauende Enzym liegt als Dimer (Abb. 1) oder als Tetramer vor (Safavi et al. 1996, Song et al. 2003). Das Enzymmolekül an sich besteht aus einer C-terminalen und einer N-terminalen Domäne. Die N-terminale Domäne enthält die katalytische Seite, die jedoch ohne die N-terminale Domäne nur 2% der normalen Aktivität aufweist. Durch die Zusammenlagerung der beiden Domänen entsteht eine Nische, in der sich das katalytische Zentrum des Enzyms befindet (Im et al. 2007).

Das Enzym benötigt ein divalentes Zinkion. Ohne dieses ist das Enzym funktionslos (Ansorge et al. 1984).

Es gibt zwei Konformationszustände, in denen das IDE vorliegen kann. Die

Abbildung 1: Struktur des IDE (Im et al. 2007)



aktive Form ist die offene Form.

In dieser Form kann das IDE Substrate an ihr katalytisches Zentrum binden. Gleichzeitig mit der Bindung eines Moleküls geht das Enzym in die geschlossene Form über, wodurch

zum einen kein weiteres Substrat mehr gebunden werden kann und zum anderen das gebundene Molekül katalysiert wird. Für die geschlossene Konformation ist eine intensive Interaktion

zwischen der C- und der N-Domäne des Enzyms notwendig, was unter anderem durch Disulfid-Brücken gewährleistet wird (Im et al. 2007, Neant-Fery et al. 2008). Die geschlossene Form kann aber auch ohne die Bindung an ein Substrat vorliegen. Aber da diese kein Substrat binden kann und somit inaktiv ist, spielt die substratfreie, geschlossene Form des IDE eine Rolle für die Regulation der Enzymaktivität (Im et al. 2007).

1.3.3 Regulation

Die Regulation des IDE ist kompliziert und zum größten Teil bislang noch unbekannt.

Die Translation bzw. Transkription des IDE-Gens auf Chromosom 10 wird durch eine Vielzahl an Mikro-RNAs reguliert (Mirnamap.mbc.nctu.edu.tw). In Gennähe sind 116 Mikro-RNAs zu finden, wobei 22 hiervon negativ mit der Expression des IDE korrelieren, sechs davon positiv. Für die übrige Mikro-RNAs konnte keine Korrelation gezeigt werden (mirnamap.mbc.nctu.edu.tw). Das heißt also, dass einige der Mikro-RNAs die Expression des IDE hemmen, einige aber auch fördern. Eine Störung der Mikro-RNAs führt demnach auch zu einer Störung bzw. Veränderung der IDE-Expression.

Da das IDE eine Metalloprotease ist und Zn^{2+} beinhaltet, wird es durch Chelatbildner konzentrationsabhängig gehemmt, da diese das Metall aus seiner Bindungsstelle im Enzym entfernen. Das Vorhandensein von divalenten Kationen hebt diesen Effekt folglich auf (Ansorge et al. 1984, Hamel et al. 1998). Diese Regulation spielt aber eher in vitro eine Rolle.

Wie bereits oben erwähnt, liegt das IDE als Dimer oder als Tetramer vor, wobei das Dimer eine etwas höhere Aktivität (1,6-fach) gegenüber dem Tetramer besitzt (Song et al. 2003). Stoffe, die nun das Gleichgewicht zwischen dem Dimer und dem Tetramer zugunsten des Dimers verschieben, stellen somit Aktivatoren des IDE dar. Zu diesen Substanzen gehört Bradykinin (Song et al. 2003).

Nur eine der beiden Untereinheiten des IDE-Dimers muss katalytisch aktiv sein; bindet ein Substrat an eine Untereinheit, so führt das zu einer Konformationsänderung des Moleküls. Diese hat zur Folge, dass die zweite, noch substratlose Untereinheit des IDE eine höhere Affinität für seine Substrate erhält. Bindet nun ein Substrat an diese Untereinheit, wird diese katalytisch aktiv. Des Weiteren führt die Strukturänderung auch zu einer Verlagerung des Gleichgewichts zwischen Dimer und Tetramer zugunsten des Dimers. Die Peptid-Substrate führen also durch eine Bindung an das IDE zu dessen Aktivierung.

Eine Ausnahme stellt Insulin dar; es bindet aufgrund seiner Struktur (A- und B-Kette) gleichzeitig an die beiden Untereinheiten des IDE-Dimers, so dass kein anderes Substrat mehr zur Katalysation binden kann. Insulin hat somit einen inhibierenden Effekt (Song et al. 2003) und es lässt sich daraus schließen, dass die kleinen Peptid-Substrate im Falle des Insulins nicht als Aktivatoren wirken (Song et al. 2005b).

Wie weiter oben angesprochen, spielt auch die Interaktion zwischen der N- und der C-terminalen Domäne eine wichtige Rolle in der Regulation des IDE. So führt das Vorliegen des Enzyms in der geschlossenen Form ohne Substrat zu einer Verlangsamung der Katalysationsgeschwindigkeit (V_{max}), die Bindungskonstante (K_m) bleibt jedoch unbeeinflusst (Im et al. 2007). Da diese Interaktion im Wesentlichen durch die Thiolgruppen des Enzyms bewerkstelligt wird, indem sich aus ihnen Disulfidbrücken bilden, wirken Stoffe, die diese

Thiolgruppen blockieren, als Aktivatoren des IDE (Ansorge et al. 1984, Shen et al. 2006).

Ein allosterischer Regulator des IDE ist ATP. Es unterstützt den Abbau von kurzen Peptiden, wahrscheinlich aufgrund einer Destabilisierung der geschlossenen Konformation und einer Konformationsänderung in der Katalysationskammer des Enzyms (Im et al. 2007). Dabei befindet sich die Bindungsstelle des ATP nicht in der Nähe des katalytischen Zentrums, was den Charakter einer nicht kompetitiven, allosterischen Regulation unterstreicht (Song et al. 2004).

Des Weiteren wird angenommen, dass es eine Reihe von endogenen Inhibitoren und Aktivatoren gibt, über deren genauen Wirkmechanismus bislang nur spekuliert werden kann, wie zum Beispiel Wirkung auf das Enzym durch Bindung an das katalytische Zentrum. Als solche Inhibitoren werden Ubiquitin und langkettige Fettsäuren postuliert (Im et al. 2007).

Natürlich kann die Konzentration des IDE auch über seine Expression gesteuert werden. Udrisar (2005) zeigte, dass Testosteron und Estradiol sowie vermutlich auch die IGFs eine Erhöhung der IDE-Konzentration bewirken.

Im Folgenden sollen weitere Substanzen genannt werden, die nachgewiesene aktivierende oder inhibierende Effekte auf das IDE haben, deren Wirkungsmechanismus aber nicht bekannt ist.

Ubiquitin ist in der Lage, das IDE in seiner katalytischen Aktivität in Bezug auf Insulin zu behindern und auch die Bindung von Insulin an das Enzym abzuschwächen (Saric et al. 2003).

Qin und Jia (2008) konnten nachweisen, dass Presenilin 1 V97L, eine Presenilin-Mutante, die bei Verwandten mit der Alzheimer-Erkrankung entdeckt wurde, zu einer erniedrigten Expression und Aktivität des IDE in der Plasmamembran führte (Qin et al. 2008).

Von Harada et al. (1996) wurde belegt, dass Dexamethason, wahrscheinlich durch Bindung an das IDE, die Insulinbindung an das Enzym verhindert (Harada et al. 1996). Die Bedeutung dessen könnte seine, dass das IDE, wie weiter unten aufgeführt wird, den Glucocorticoidrezeptoren die Bindung an die DNA erleichtert und durch die Blockade des Insulinabbaus das Enzym nun dieser Aufgabe mehr Beachtung schenken kann.

1.3.4 Substrate und Funktionen

Das IDE hat unterschiedliche Moleküle als Substrat, wobei diese zumeist eine Molmasse von unter sechs kDa aufweisen (Im et al. 2007). Das IDE besitzt eine besonders gute katalytische Aktivität gegenüber Substraten, die in der β -Faltblattstruktur vorliegen (Bennett et al. 2000), so dass einige der Substrate eine Konformationsänderung durchlaufen um dann gespalten zu werden (Im et al. 2007, Shen et al. 2006). Dennoch entsteht diese Substratvielfalt, die sehr selektiv ist, nicht aufgrund des klassischen Schlüssel-Schloss-Prinzips. Die Substrate werden vielmehr aufgrund ihrer Größe, Form und Lage in der katalytischen Kammer des Enzyms erkannt (Im et al. 2007).

Es scheint so zu sein, dass zumindest ein Teil des Enzyms zusammen mit anderen Enzymen einen proteolytischen Komplex bildet, insbesondere mit der multikatalytischen Proteinase (Bennett et al. 1994)

Als erstes zu nennen ist hier das - schon im Namen des Enzyms enthaltene - Insulin (Ansorge et al. 1984; Safavi et al. 1996).

Ein weiteres Substrat stellt das Amyloid β dar (Kurochkin et al. 1994), weshalb das IDE auch einen interessanten Faktor bei der Pathogenese des Morbus Alzheimer darstellt.

Das IDE ist auch in der Lage, β -Endorphin zu spalten (Safavi et al. 1996). Das entstehende Produkt, γ -Endorphin, wird ausschließlich von dem IDE gespalten. Vorab sei hier schon einmal darauf hingewiesen, dass nicht-opioide Fragmente (DT gamma E, DE gamma E), die bei dieser Spaltung entstehen, selbst eine antipsychotische Wirkung besitzen (Verhoeven 1987, van Praag et al. 1982).

Die Spaltung von Insulin-growth-Factor I und II (Roth et al. 1984) könnte ebenfalls eine Rolle für die Schizophrenie spielen.

Erwähnt werden soll auch die Funktion des IDE als Rezeptor für das VZ-Virus (Li et al. 2006).

Weitere Substrate seien hier nur aufgezählt: das GHRH (Safavi et al. 1996) sowie ANP (Müller et al. 1991), Amylin (Bennett et al. 2000), TGF- α (Garcia et al. 1989) und Glucagon (Ansorge et al. 1984).

Es gibt eine Reihe von Proteinen, die vom IDE gebunden, aber nicht gespalten werden können. Hierzu zählt der Epidermal growth factor (EGF) (Garcia et al. 1989). Interessant ist auch, dass das IDE den Rezeptor für das VZ-Virus darstellt (Li et al. 2006).

Neben diesen proteolytischen Funktionen hat das IDE selber noch regulatorische Aufgaben. So konnte von Kupfer et al. (1994) gezeigt werden, dass das IDE die Bindung des Androgen- und des Glucocorticoid-Rezeptors an die DNA unterstützt.

Das Insulin abbauende Enzym scheint auch eine regulatorische Funktion auf das Wachstum zu haben, was sich zum einen aus den Substraten und Bindungspartnern des IDE schließen lässt (IGF I und II, GHRH, TGF α , EGF). Da das IDE die Konzentration dieser Substanzen vermindert, würde ihm in diesem Kontext eine Hemmung von überschießendem Wachstum zukommen. Dass dieses zumindest für Prostata und Uterus zutrifft, zeigte Udrisar (2005). Zum anderen wurde aber auch von Kuo et al. (1993) gezeigt, dass das IDE während der Entwicklung des Körpers zu verschiedenen Zeiten an verschiedenen Regionen in unterschiedlichen Konzentrationen vorliegt. Daraus lässt sich schließen, dass dem IDE auch hier regulatorische Aufgaben zukommen.

1.3.5 Putative Rolle des IDE bei der Schizophrenie

Verschieden Gründe sprechen für eine Rolle des IDE bei der Schizophrenie.

Zum einen liegt das Gen des IDE auf 10q23. Diese Region ist gleichzeitig ein Hotspot bei der Schizophrenie (Chissoe et al. 2008; Lerer et al. 2003; Mowry et al. 2000; Devlin et al. 2007). Diese Erkenntnis bezieht sich aber zum Teil auf Patienten, bei denen die Schizophrenie familiär gehäuft auftritt (Lerer et al. 2003, Devlin et al. 2007).

Dass auch kodierende Teile des IDE-Gens von diesen Veränderungen betroffen sind, konnte 2008 von Chissoe et al. gezeigt werden.

Zum anderen begründet sich das Interesse an diesem Enzym in seinen Substraten. Wie in der Diskussion noch gezeigt wird, besteht zwischen dem Stoffwechsel einiger der Substrate und der Erkrankung eine Verbindung; zu nennen sind hier Insulin als Substrat und der gestörte Glukosemetabolismus (de Hert et al. 2006) sowie die gestörte Insulinsignalkaskade bei Schizophrenen (Zhao et al. 2006), Endorphine als Substrat des IDE und die antipsychotische Wirkung ihrer Abbauprodukte (Verhoven et al. 1979, van Praag et al. 1982, Azorin et al. 1990) sowie der IGFs sowie die anderen für Wachstum und

Entwicklung bedeutsamen genannten Substrate des IDE im Sinne einer gestörten neuronalen Entwicklung.

1.4 Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit ist es, das IDE mit immunhistochemischen Verfahren im Gehirn des Menschen zu lokalisieren und dann zu prüfen, ob es Unterschiede in der Expression des Insulin abbauenden Enzyms in den genannten Hirnregionen zwischen Schizophrenen und Kontrollpersonen gibt und welche Bedeutung die gefundenen Ergebnisse im Zusammenhang mit der Erkrankung haben könnten.

2. Material und Methoden

2.1 Untersuchungsgut

2.1.1 Herkunft

Alle für diese Studie verwendeten Gehirne stammen aus der Magdeburger Hirnsammlung. Die Gehirne dieser Sammlung stammen aus verschiedenen europäischen Ländern. Sie wurden mit dem vollen Einverständnis der Angehörigen unter Beachtung der deutschen Gesetze und der Richtlinien der lokalen Ethikkommission in die Sammlung aufgenommen.

2.1.2 Studiendesign

2.1.2.1 Einschlusskriterien

Die psychisch gesunden Vergleichsfälle (Kontrollpersonen) und Schizophreniepatienten mussten verschiedene Bedingungen erfüllen, um in diese Studie integriert zu werden.

Beide Gruppen mussten ein Alter zwischen 25 und 75 Jahren zum Zeitpunkt ihres Todes gehabt haben.

Die Kontrollpersonen durften während ihres Lebens zu keinem Zeitpunkt an einer psychiatrischen oder neurologischen Erkrankung gelitten und ebenso wenig neuroleptisch wirkende Medikamente eingenommen haben.

Die Patienten durften keine weiteren psychiatrischen oder neurologischen Erkrankungen gehabt haben.

2.1.2.2 Ausschlusskriterien

Ausgeschlossen wurden alle Patienten und Kontrollpersonen, deren Alter nicht in dem oben genannten Rahmen liegt, also Personen, die jünger als 25 und älter als 75 Jahre zum Zeitpunkt ihres Todes waren.

Des Weiteren war ein Ausschlusskriterium das Vorliegen von psychiatrischen oder neurologischen Erkrankungen außer der hier untersuchten Schizophrenie.

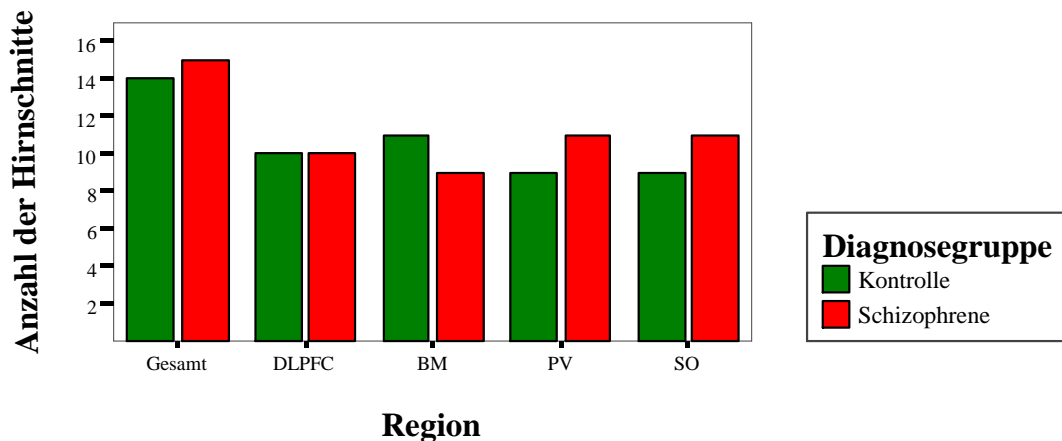
Als Todesursache wurde das Schädel-Hirn-Trauma ausgeschlossen.

2.1.3 Epidemiologische Daten der ausgewählten Gehirne

Für die Studie wurden 14 Gehirne von Kontrollpersonen und 15 Gehirne von Schizophrenie-Patienten präpariert und ausgewertet. Ein weiteres Gehirn einer Kontrollperson wurde aufgrund des jungen Lebensalters von 18 Jahren ausgeschlossen, zwei Gehirne von Patienten mit einer Depression wurden aufgrund dieser Diagnose nicht mit in diese Studie aufgenommen.

Dabei wurden für die Zählungen im DLPFC pro Gruppe zehn Personen ausgewählt. Für die Untersuchungen an den beiden hypothalamischen Kernen wurden jeweils neun Kontrollpersonen und elf Schizophrene verwendet, während es beim Nucleus basalis Meynert elf Kontrollpersonen und neun Schizophrene waren.

Diagramm 1 Anzahl der verwendeten Hirnschnitte in den jeweiligen Regionen



Die Kontrollpersonen und Schizophrenen unterschieden sich weder in den jeweils für die verschiedenen Hirnregionen zusammengestellten Gruppen noch insgesamt in Hinsicht auf Alter, Geschlecht, Hirngewicht, Autolyse- und Fixationszeit der Gehirne, was im Folgenden näher erläutert wird, so dass durch dieses Matching ein Einfluss dieser Größen auf die Ergebnisse der Zählungen mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht besteht.

In Tabelle 4 werden die Ergebnisse des T-Testes für unabhängige Stichproben aufgelistet, mit dem geprüft wurde, ob signifikante Unterschiede für den jeweiligen Parameter zwischen Kontrollen und Schizophrenen vorhanden sind.

Tabelle 4: *T-Test für unabhängige Stichproben zwischen Kontrollen und Patienten für verschiedene Parameter in den jeweiligen Regionen und gesamt*

	Signifikanz (zweiseitig)				
	Gesamt	DLPFC	BM	PV	SO
Alter [J.]	,789	,983	,986	,732	,955
Geschlecht	,604	,398	,895	,895	,605
Gehirngewicht [g]	,991	,594	,258	,525	,582
Autolyse [h]	,794	,578	,338	,265	,217
Fixation [Tage]	,602	,728	,714	,672	,574
BMI [kg/m ²]	,778	,767	,615	,552	,858

Es wird deutlich, dass das für keine Region der Fall ist; die Stichproben sind im Hinblick auf die getesteten Parameter nicht ungleich.

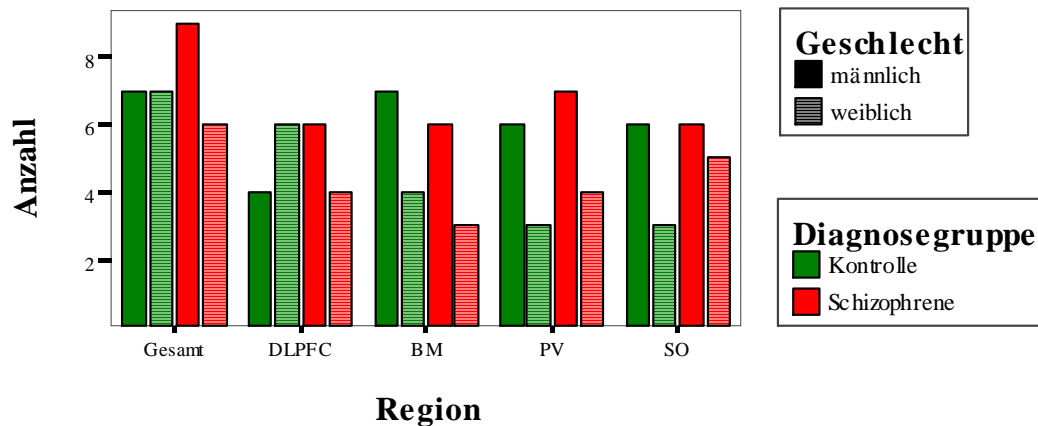
Im Folgenden werden die einzelnen Parameter der Kontrollen und Schizophrenen in den untersuchten Regionen anhand ihrer Mittelwerte und Standardabweichungen verglichen.

Tabelle 5: *Mittelwerte der Merkmale Alter, Hirngewicht, Autolysezeit und Fixationszeit sowie der Verteilung der Geschlechter bei Kontrollen und Patienten in den verschiedenen Regionen*

	DLPFC			SO			PV			BM			Gesamt		
	K	P	G	K	P	G	K	P	G	K	P	G	K	P	G
m:w	4:6	6:4	10:10	6:3	6:5	12:8	6:3	7:4	13:7	7:4	6:3	13:7	7:7	9:6	16:13
Alter [a]	52,8	52,9	52,9	48,2	47,9	48,1	48,2	50,2	49,3	49,5	49,6	49,5	51,6	50,4	51,0
HG [g]	1276	1315	1295	1342	1298	1320	1342	1291	1316	1330	1242	1296	1284	1285	1285
PMI [h]	47	52	50	48	34	40	48	36	41	44	33	39	43	41	42
FD [d]	197	183	190	275	226	250	275	239	257	288	256	276	253	221	238
BMI	23,4	24,7	24,1	25,3	26,0	25,7	25,3	22,9	24,0	24,8	22,6	23,9	24,1	25,1	24,6

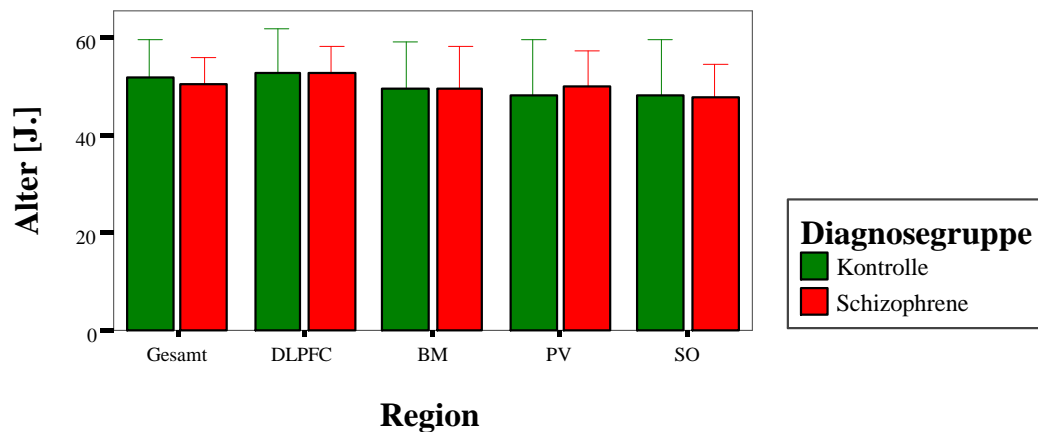
Insgesamt stammten von den 29 verwendeten Gehirnen 16 von Männern und 13 von Frauen. Bei der Gruppe der Kontrollen erreichte man so eine Geschlechtsverteilung von sieben zu sieben, bei der Gruppe der Schizophrenen eine Verteilung von neun Männern zu sechs Frauen. Diese Verhältnisse sind in Diagramm 2 dargestellt.

Diagramm 2: Anzahl der Männer und Frauen in den Diagnosegruppen in den verschiedenen untersuchten Regionen und gesamt



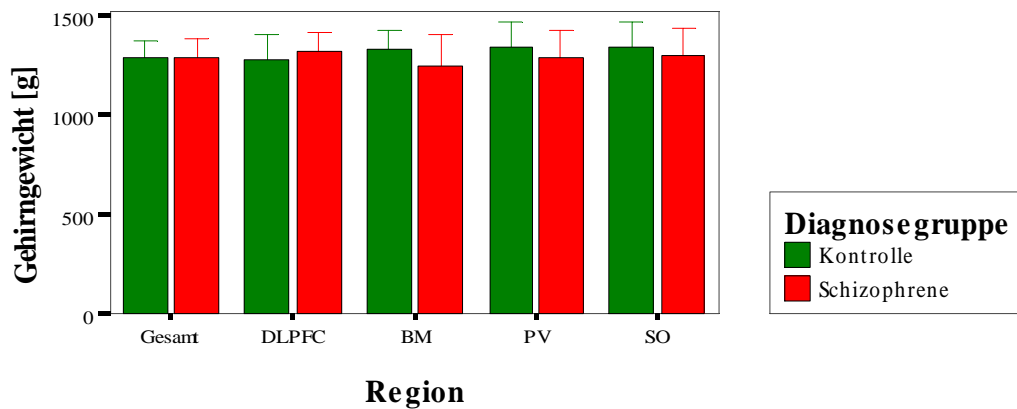
Die Kontrollpersonen waren im Durchschnitt $51,6 \pm 13,5$ Jahre alt bei einer Spannweite von 29 bis 72 Jahren. Bei den Patienten war es ein Durchschnittsalter von $50,4 \pm 9,7$ Jahre. Der Minimalwert lag hier bei einem Alter von 34, der Maximalwert bei 65 Jahren. In Diagramm 3 sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen für die untersuchten Regionen dargestellt.

Diagramm 3: Alter der Kontrollen und Patienten in den verschiedenen Regionen



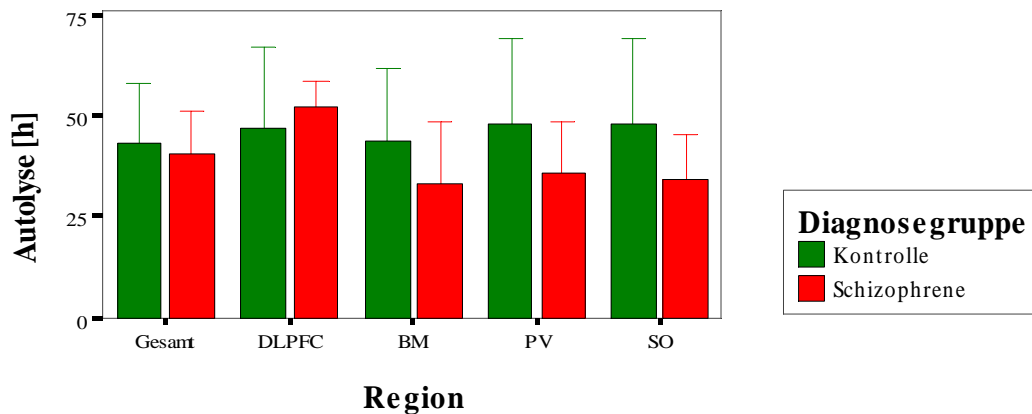
Das Gehirngewicht der Kontrollpersonen gruppierte sich um den Mittelwert 1284 ± 158 g, wobei es Werte zwischen 1055 und 1550 g gab. Bei den Patientengehirnen lag der Mittelwert bei 1285 g bei einer Standardabweichung von $\pm 166,7$ g. Hier lagen die Werte zwischen 950 und 1470 g. Für die untersuchten Regionen sind Mittelwerte und Standardabweichungen grafisch in Diagramm 4 zu sehen.

Diagramm 4: Gehirngewicht der Kontrollen und Patienten in den verschiedenen Hirnregionen



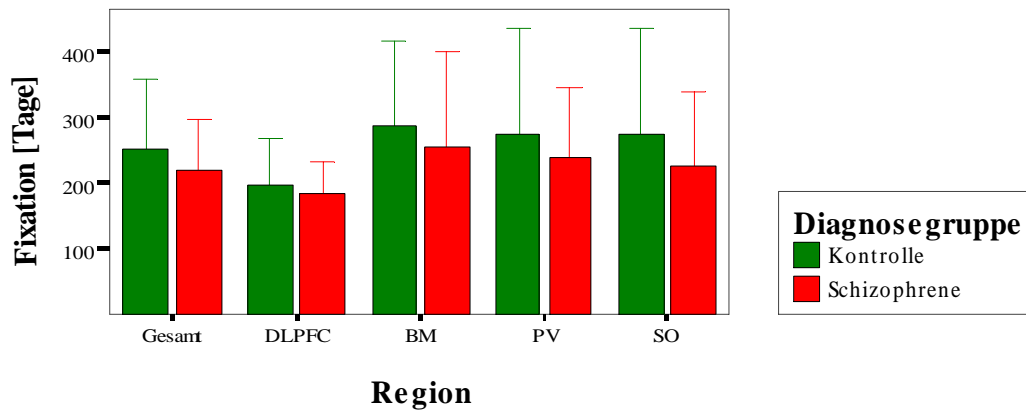
Das Postmortemintervall sollte bei den verwendeten Gehirnen möglichst kurz sein. Bei den verwendeten Kontrollgehirnen wurde eine Autolysezeit von $43 \pm 25,6$ Stunden erzielt, wobei sich die Zeiten zwischen 24 und 96 Stunden verteilen. Bei den Gehirnen der an Schizophrenie erkrankten Personen betrug das Postmortemintervall $41 \pm 18,9$ Stunden, wobei hier das kleinste Intervall fünf und das größte 72 Stunden betrug. In Diagramm 5 sind die Mittelwerte und Standardabweichungen für die einzelnen Regionen aufgetragen.

Diagramm 5: Postmortemintervall der Kontrollen und Patienten in den verschiedenen Hirnregionen



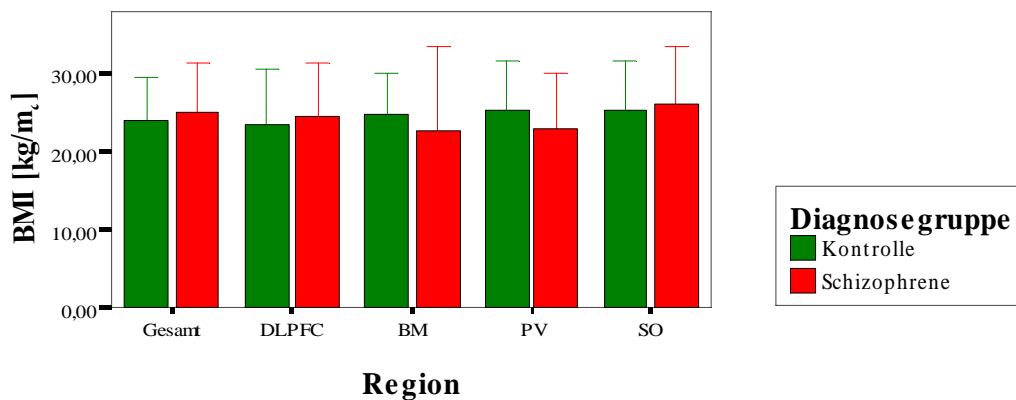
Die Fixationszeit betrug bei der Diagnosegruppe Kontrolle insgesamt 283 ± 184 Tage, verteilt auf Werte zwischen 75 und 808 Tagen. Bei den Schizophrenen lagen Mittelwert und Standardabweichung dieses Parameters bei 221 ± 125 Tagen. Auch hier sind die kennzeichnenden Werte für die untersuchten Hirnregionen grafisch dargestellt.

Diagramm 6: Fixationszeit der Kontrollen und Patienten in den verschiedenen Hirnregionen



Die Kontrollpersonen hatten einen durchschnittlichen Body Mass Index von $24,13 \pm 7,39$ kg/m². Dabei erstreckten sich die Werte zwischen 14,33 und 36,52 kg/m². Bei den Schizophrenen lag der BMI durchschnittlich bei $25,15 \pm 8,01$ kg/m². Das Minimum war hier 14,36, das Maximum bei 36,68 kg/m². Die grafische Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen dieses Parameters findet sich in Diagramm 7.

Diagramm 7: Body Mass Index der Kontrollen und Patienten in den verschiedenen Hirnregionen



2.1.3.1 Kontrollpersonen

In der folgenden Tabelle 6 sind die schon bearbeiteten Parameter sowie zusätzlich die Todesursache für das Kollektiv der Kontrollgruppe aufgelistet.

Tabelle 6: *Alter, Geschlecht, Hirngewicht, Postmortemintervall, Fixationszeit, BMI und Todesursache der Kontrollpersonen*

#	Alter [a]/ Geschlecht		HG [g]	PMI [h]	FD [d]	BMI [kg/m ²]	Todesursache
1	29	m	1340	60	808	-	-
2	40	m	1550	96	180	-	Herzinfarkt
3	46	m	1295	24	290	21,6	Protrahiertes Kreislaufversagen bei Tumorleiden
4	47	m	1450	24	179	34,6	Herzinfarkt
5	50	m	1540	72	90	-	Herzversagen
6	61	m	1400	24	150	26,54	Herzinfarkt
7	64	m	1310	35	240	19,6	Aortenaneurysmaruptur
8	33	w	1150	72	270	20,7	Herzinfarkt
9	38	w	1200	24	258	29,41	Lungenembolie
10	50	w	1055	72	120	36,5	Aortenaneurysmaruptur
11	64	w	1190	24	75	14,33	Peritonitis
12	64	w	1260	26	405	-	Herzinfarkt
13	64	w	1100	24	180	<18	Gastrointestinale Blutung
14	72	w	1140	24	300	21	Ileus
	51,57		1284,2	42,9	253,21	<24,92	

2.1.3.2 Schizophrenie

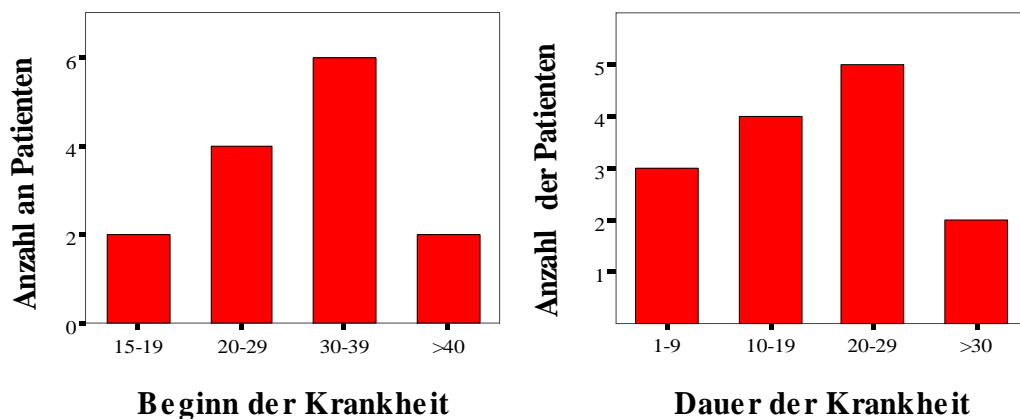
Die Auflistung der einzelnen Merkmale für die einzelnen Personen der Patientengruppe findet sich in Tabelle 7. Zusätzlich zu den Parametern in Tabelle 6 sagt diese Tabelle etwas über Erkrankungsbeginn und -dauer der Patienten aus

Tabelle 7: *Alter, Geschlecht, Hirngewicht, Postmortemintervall, Fixationszeit, BMI und Todesursache der Schizophrenen*

#	Alter [a]/ Geschlecht		HG [g]	PMI [h]	FD [d]	BMI [kg/m ²]	Subtyp [ICD10]	Beginn/ Dauer [a]		Todesursache
1	34	m	-	5	330	-	20.0	32	2	Suizid durch Erhängen
2	38	m	1400	24	560	-	20.0			Suizid durch Erhängen
3	46	m	1450	48	210	28,3	20.5	28	18	Lungenembolie
4	48	m	1300	48	210	29,75	20.3	16	32	Ersticken durch Aspiration
5	50	m	1350	48	120	24,49	20.5	25	25	Ersticken durch Aspiration
6	51	m	1450	48	300	20,72	20.3	23	28	Ileus
7	57	m	1440	72	150	-	20.5	34	23	-
8	63	m	-	24	-	-	20.5	15	48	-
9	65	m	1225	66	210	14,36	20.3	24	23	Herzversagen
10	38	w	950	12	-	<18	20.0	30	8	Pneumonie
11	40	w	1290	48	94	35,99	20.3	21	19	Ileus
12	53	w	1110	48	120	-	20.0	33	20	Myokardinfarkt
13	54	w	1210	24	150	36,7	20.5	36	18	Lungenembolie
14	59	w	1060	48	273	-	20.0	52	7	Herzversagen
15	60	w	1470	48	146	19,03	20.0	44	16	Herzversagen
	50,4		1285	40,7	221	26,17		28,8	20,5	

Alle Patienten wurden mit Haloperidol behandelt. Dabei konnte ausgeschlossen werden, dass das Haloperidol in therapeutischer Dosis *an sich* einen Effekt auf das Insulin abbauende Enzym hat (Kornhuber et al. 2006, Bernstein et al. 2009). Dem folgenden Diagramm kann man entnehmen, wie viele der Patienten in welchem Alter an der Schizophrenie erkrankten und wie lange sie unter der Erkrankung litten.

Diagramm 8: Anzahl an Patienten in Bezug auf Beginn und Dauer der Erkrankung

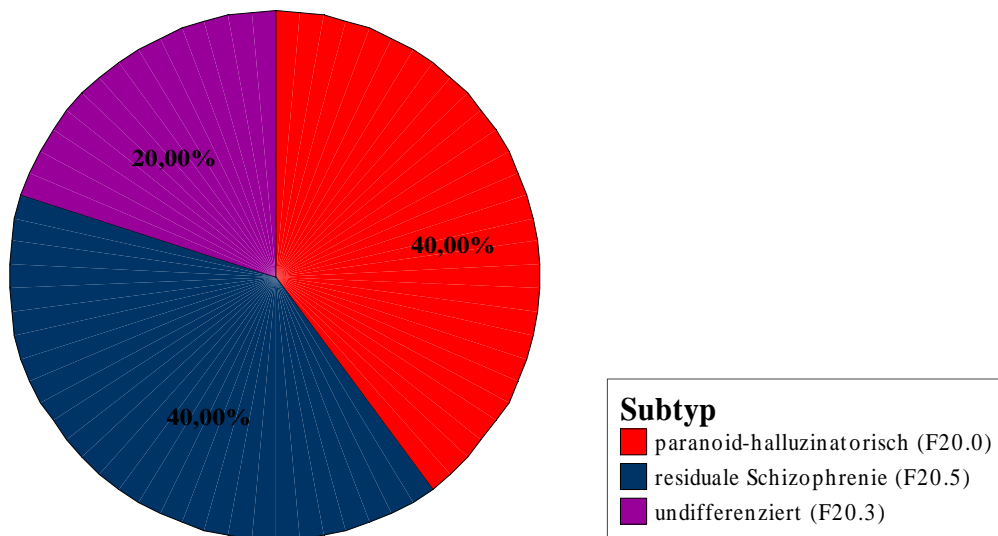


Dabei korrelieren Beginn der Krankheit und die Dauer negativ miteinander.

Von Manfred Bleuler wurde der Begriff der Late-onset Schizophrenie geprägt, wobei er hier einen Cut-off bei einem Alter von 40 Jahren ansetzte (Howard et al. 2000). In dieser Arbeit kommen also zwei Patienten mit einer Late-onset Schizophrenie vor. Besonders bei Frauen findet sich oft ein spätes Auftreten der Erkrankung. Auch hier korreliert das weibliche Geschlecht mit dem Alter (Korrelationskoeffizient = 0,47, $p = 0,09$).

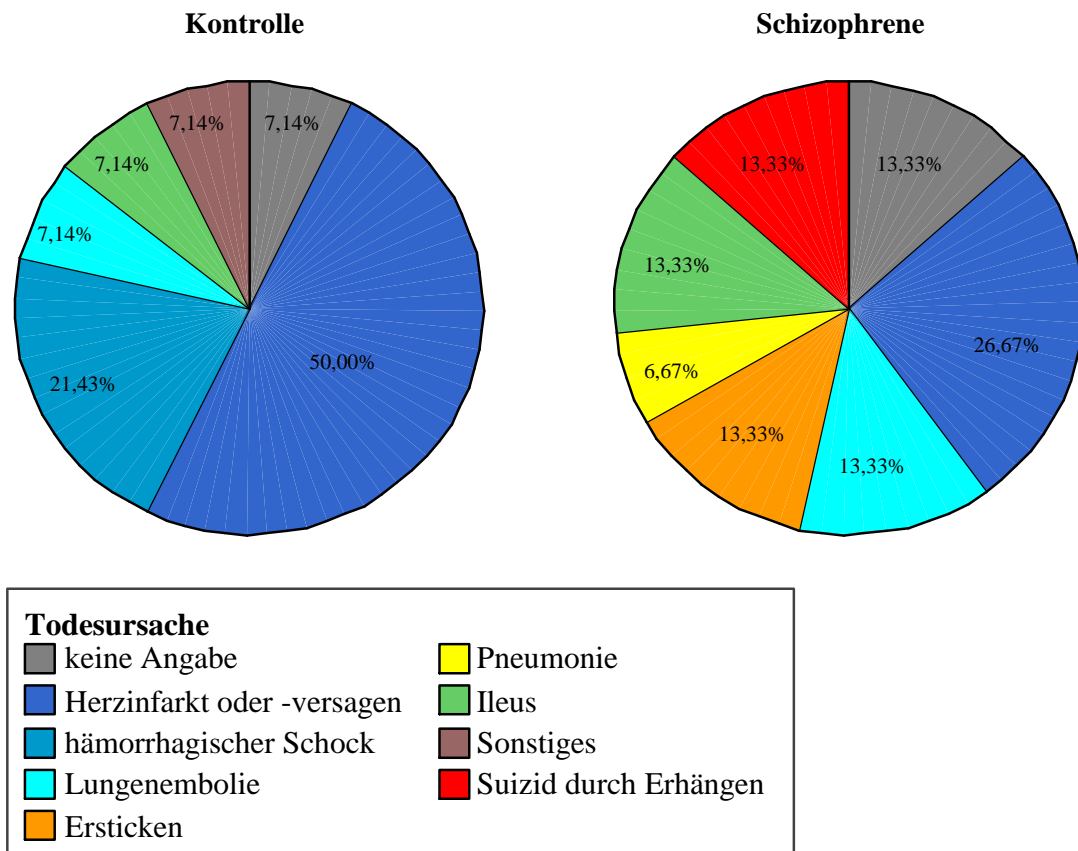
Die Verteilung der Patienten auf die Subgruppen der Schizophrenie ist in Diagramm 9 dargestellt. Es zeigt sich, dass sich die Verteilung hier auf drei der Subgruppen beschränkt.

Diagramm 9: Häufigkeit der Subtypen der Schizophrenie



Im folgenden Diagramm 10 sind die Häufigkeiten der Todesursachen der Kontrollen im Vergleich zu den Schizophrenen dargestellt.

Diagramm 10: Häufigkeiten der Todesursachen bei den Kontrollen und den Schizophrenen



In dieser Stichprobe zeigt sich, dass kardiovaskuläre Todesursachen bei den Kontrollen einen größeren Anteil als bei den Schizophrenen ausmachen, während bei diesen der Anteil der respiratorischen Ursachen den bei den Kontrollen übersteigt. Das widerspricht der Auffassung, dass Schizophrene eine erhöhte kardiovaskuläre Mortalität aufweisen (Casey 2005), liegt hier aber mit Sicherheit an der kleinen Stichprobe.

2.1.3.3 Ausgeschlossene Personen

Die epidemiologischen Daten der ausgeschlossenen Patienten sollen hier der Vollständigkeit halber kurz aufgeführt werden, bedürfen aber keines weiteren Kommentars.

Tabelle 8: *Alter, Geschlecht, Hirngewicht, Postmortemintervall, Fixationszeit, BMI und Todesursache der ausgeschlossenen Personen*

#	Alter [a]/ Geschlecht	HG [g]	PMI [h]	FD [d]	BMI [kg/m ²]	Ausschlusskriterium	Todesursache
1	18 w	1340	60	808	-	Alter	
2	30 m	1470	48	146		Diagnose: Depression	Suizid durch Erhängen
3	63 w	1500	-	-		Diagnose: Depression	Lungenembolie
	37	1436,7	54	477			

2.2 Präparation der Gehirne

Die Gehirne werden für ungefähr acht Monate in einer 10%-igen Formalinlösung fixiert (244 ± 164 Tage). Nach dieser Zeit werden die Gehirne drei Stunden unter fließendem Leitungswasser bewässert. Danach

Tabelle 9

Woche	Alkoholgehalt
1. Woche	50%
2. Woche	60%
3. Woche	70%
4. Woche	80%
5. Woche	90%
6. Woche	96%
7. Woche	100%
8. Woche	100%

erfolgt eine Entwässerung; Dazu werden die Gehirne jeweils eine Woche in eine ansteigende Alkoholreihe eingebracht, wobei der Alkoholgehalt angefangen bei 50% jede Woche um 10% steigt.

In der sechsten Woche wird 96%iger Alkohol verwendet und in den folgenden zwei Wochen reiner Alkohol, wobei dieser ebenfalls nach einer Woche gewechselt wird. Im Anschluss an die Entwässerung werden die Gehirne

sieben Tage lang in Chloroform gelagert, wobei dieses täglich gewechselt wird. In den folgenden vier Wochen werden die Gehirne in Paraplast® eingebettet, wobei das Paraplast® wöchentlich gewechselt wird. Anschließend wird das Gehirn endgültig in Paraplast® eingebettet.

Die Gehirne können nun mit einem Mikrotom (Leica SM 2500) in 20 µm dicke Scheiben geschnitten werden. Dabei wird jeder vierte Schnitt, im Mittelblock sogar jeder zweite Schnitt auf ein Deckglas gezogen. Hierzu wird der Schnitt in ein 40°C warmes Wasserbad gelegt, so dass er problemlos auf das Deckglas aufgezogen werden kann.

Über Nacht werden die Schnitte in einem Wärmeschrank gelagert, bis sie dann in Kästen einsortiert und bis zur weiteren Verwendung eingelagert werden.

2.3 Histologie

Von den hergestellten Gehirnschnitten wird jeder fünfzigste mit einer kombinierten Markscheiden - Nissl – Färbung nach Heidenhain-Wölcke gefärbt. Diese Schnitte dienen vor allem der Orientierung bei der Auswahl weiterer Schnitte für die Studien sowie für morphometrische Untersuchungen.

In dieser Studie werden der DLPFC sowie der Nucleus basalis Meynert und die hypothalamischen Kerne Nucleus supraopticus und Nucleus paraventricularis

untersucht. Nach Auswahl der Gehirne werden nun anhand der Nissl-gefärbten Schnitte die noch ungefärbten Gehirnschnitte für die immunhistochemische Färbung herausgesucht. Beim DLPFC wird hierbei als Orientierung der Abstand zum Sulcus centralis, bei den übrigen drei Regionen der Abstand zum Chiasma opticum ausgewählt. Bei jedem der Schnitte kann so die gleiche koronare Ebene dargestellt werden.

2.3.1 Immunhistochemische Darstellung des IDE

Um die immunhistochemische Färbung vorzunehmen, müssen die Schnitte zunächst wieder entparaffiniert werden. Hierzu wird eine absteigende

Tabelle 10

Zeit [min]	Medium
5	Xylol 1
5	Xylol 2
5	100%
5	95%
5	80%
5	75%
5	50%

Alkoholreihe verwendet, wobei die Schnitte jeweils fünf Minuten in dem jeweiligen Medium bleiben.

Anschließend werden die Schnitte zweimal mit destilliertem Wasser gespült.

Um eine bessere Bindung des Antikörpers am Gewebe zu gewährleisten, hat es sich bewährt, die Schnitte anschließend für vier Minuten in 10mM Citratpuffer (pH 6,0) zu kochen. Nach diesem Schritt muss erneut zweimal mit destilliertem

Wasser gespült werden. Anschließend werden die Schnitte mit Wasserstoffperoxid inkubiert. Dieser wird dazu mit phosphatgepufferter NaCl-Lösung (pH 7,4) der Firma Sigma verdünnt. Diese Inkubation bewirkt eine Reduzierung der Hintergrundfärbung, indem die endogene Peroxidase inaktiviert wird. Die Schnitte müssen nun zweimal je fünf Minuten in Gebrauchspuffer (pH 7,4) gewaschen werden.

Die Aufbringung und Sichtbarmachung des Antikörpers erfolgt mit der ABC-Methode (Avidin-Biotin-Komplex-Methode).

Als erstes wird der Schnitt mit Normalserum beschichtet und in einer feuchten Kammer für eine Stunde inkubiert. Um das Hinunterlaufen des Serums von dem Deckglas zu verhindern, werden die Schnitte vorher mit einem Fettstift (Firma Dako) umrandet. Als Normalserum wird Ziegennormalserum in der Verdünnung 1:10 verwendet. Während der 60 Minuten wird die feuchte Kammer in Bewegung gehalten. Auch dieser Schritt reduziert die unspezifische Hintergrundanfärbung.

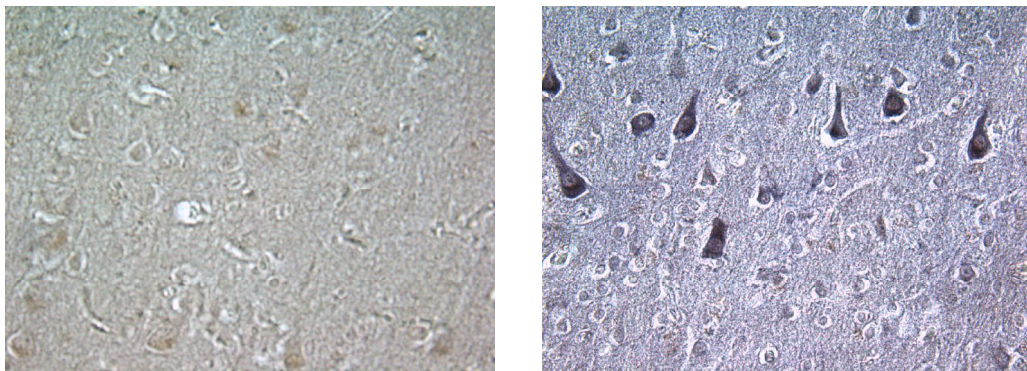
Nun wird der Antikörper gegen das Zielantigen, das IDE, aufgebracht. Es handelt sich um einen polyklonalen Antikörper.

Bei diesem Antikörper handelt es sich um in Kaninchen produziertes Antiserum gegen aus Rattenlebern gewonnenes IDE. Für die Herstellung wurde einem Kaninchen 2 ml einer Lösung, welche aus „Freund's complete adjuvant“ sowie einem IDE-enthaltenen Polyacrylamidgel besteht, inguinal injiziert. Eine Boosterung erfolgte nach drei Monaten in wöchentlichen Abständen. Nach insgesamt drei bis vier Injektionen konnte das Antiserum aus dem Tier verwendet werden.

Die immuninhibitorischen Eigenschaften des Antikörpers stellten sich sehr gut dar (Ansorge et al. 1984) und die Reinheit sowie Spezifität des Antikörpers für das IDE konnten mittels zweidimensionaler Elektrophorese und Immunodiffusion bzw. Präzipitationstests gezeigt werden (Ansorge et al. 1984).

Es wurden auch Färbungen mit einem monoklonalen Antikörper (Abcam Klon 9B12.225, Abcam Cambridge, U.K) vorgenommen, die zwar quantitativ das gleiche Ergebnis lieferten, qualitativ jedoch nicht überzeugen konnten (Abbildung 2).

Abbildung 2: *Färbung mit dem monoklonalen Antikörper (links) und dem polyklonalen Antikörper (rechts) im Vergleich: qualitativer Unterschied*



Dieser primäre Antikörper wird nun in einer Verdünnung von 1:400 nach Abgießen des Ziegennormalserums auf den Schnitt aufgebracht. Diese Verdünnung hatte sich in Probeläufen als optimal herausgestellt. In der feuchten Kammer wird der Schnitt nun für 48 Stunden aufbewahrt, wobei in der ersten Stunde zur besseren Verteilung des Antikörpers im Gewebe die Schnitte wieder geschwenkt werden.

Nach den zwei Tagen müssen die Schnitte wieder zweimal fünf Minuten mit Arbeitspuffer gespült werden.

Der nächste Schritt ist die Aufbringung des sogenannten Brückenantikörpers, der gegen den konstanten Anteil des Primärantikörpers gerichtet ist. Der konstante Teil dieses Antikörpers ist biotinyliert, so dass er das Bindeglied zwischen dem primären Antikörper und dem Avidin-Biotin-Komplex bildet. Es wird ein polyklonaler Ziegen-Anti-Kaninchen-Antikörper in einer Verdünnung von 1:100 verwendet. Er wird auf den Schnitt aufgetragen und zwei Stunden mit ihm inkubiert, wobei er in der ersten Stunde wieder in Bewegung gehalten wird. Auch hier wird im Anschluss wieder zweimal fünf Minuten mit dem Arbeitspuffer gespült.

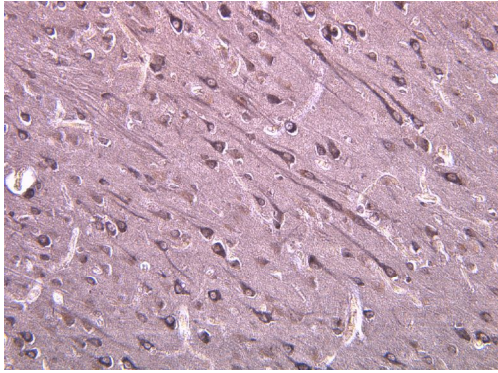
Nun kann das Markierungsagens aufgebracht werden. Es handelt sich um einen Komplex aus Streptavidin, das an mehreren seiner vier Bindungsstellen für Biotin an Meerrettichperoxidase gekoppeltes Biotin enthält. Streptavidin hat eine sehr starke Affinität für Biotin und hängt sich mit seinen freien Biotinbindungsstellen an den biotinylierten sekundären Antikörper an, so dass dieser markiert wird. Die Inkubation erfolgt für eine Stunde, anschließend wird wieder gespült.

Als letzter Schritt der immunhistochemischen Färbung muss nun die Antikörperreaktion sichtbar gemacht werden. Hierzu wird auf den Schnitt eine Lösung geträufelt, die aus 0,5 g Ammoniumnickel-II-sulfat-Hexahydrat und 0,0125 g III,III-Diaminobenzidintetrahydrochlorat (DAB), jeweils in 12,5 ml Sigmapuffer gelöst, besteht und 0,25 ml einprozentiges Wasserstoffperoxid enthält. Die Meerrettichperoxidase oxidiert nun das angebotene Wasserstoffperoxid; die frei werdenden Protonen oxidieren nun das farblose DAB zu einem blau-violetten Farbstoff (Bernstein et al. 1999b).

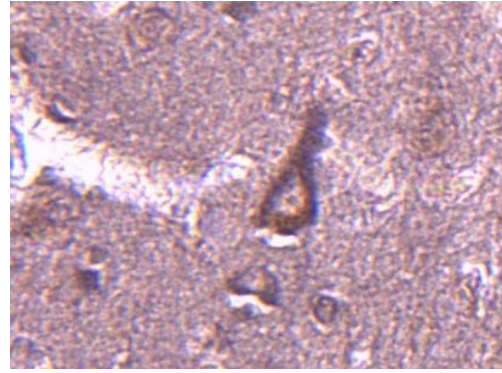
Das Ergebnis dieser Methode ist in der Abbildung 3 zu sehen. Schon in der 20-fachen Vergrößerung ist zu erkennen, dass sich der Farbstoff in den Zellkörpern und Dendriten ablagert. In der Zellmembran kann man eine besonders dichte Färbung erkennen. Der Zellkern bleibt ausgespart.

Zwar kann man keine quantitative Aussage machen, dennoch ist offensichtlich, dass sich in den Pyramidenzellen mehr Farbstoff als in den anderen kortikalen Zellen befindet, und dass sich die Zellen des Nucleus basalis Meynert, paraventricularis und supraopticus besonders stark anfärben.

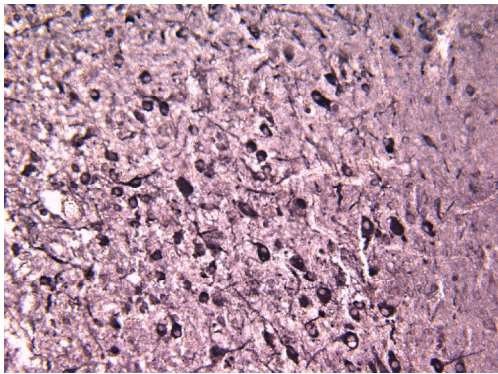
Abbildung 3: Mit Anti-IDE gefärbte Ausschnitte aus einem Hirnschnitt: Stratum pyramidale externum (a) mit einer vergrößerten Pyramidenzelle (b), Nucleus paraventricularis (c, d), Nucleus supraopticus (e, f) und Nucleus basalis Meynert (g) in der 20er bzw. 40er Vergrößerung



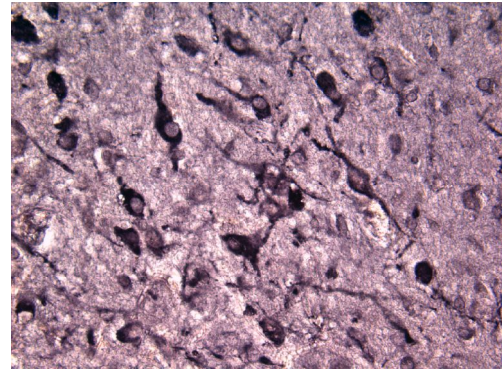
a



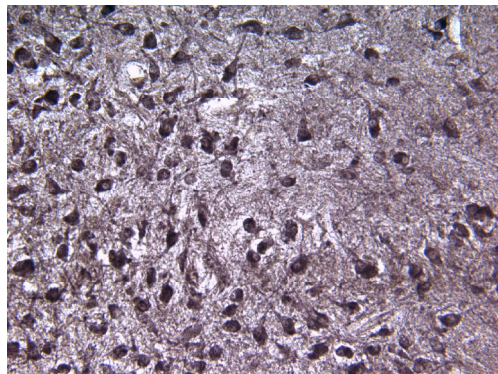
b



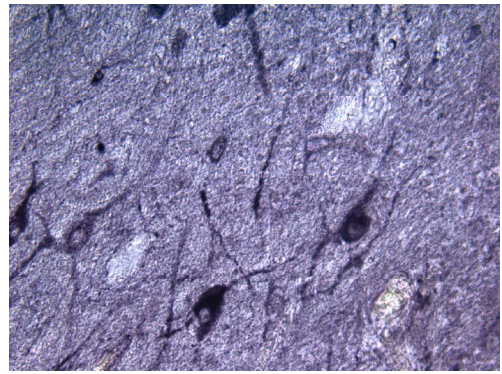
c



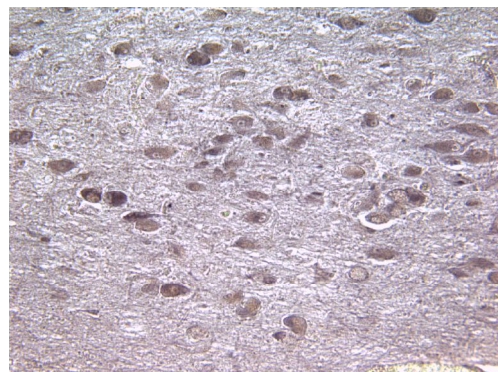
d



e



f



g

2.3.2 Kombinierte Markscheiden-Nissl-Färbung

Um die Schnitte mit einer kombinierten Markscheiden-Nissl-Färbung nach Heidenhain-Wölcke zu färben, müssen auch hier die Schnitte vorher entparaffiniert werden. Hierzu werden die Schnitte eine halbe Stunde in Xylol und anschließend eine halbe Stunde in reinem Alkohol gelagert. Anschließend werden die Schnitte mit 70%-igem Alkohol und dann mit Aqua dest abgespült. Über Nacht werden die Schnitte in Eisenalaun gelagert. Hierbei handelt es sich um eine Lösung von 50 g Ammonium-III-sulfat-Dodecahydrat in 2 l Aqua dest. Nachdem die Schnitte am nächsten Tag zweimal mit destilliertem Wasser gespült werden, werden sie für zwei Stunden mit der Farblösung inkubiert. Diese Lösung besteht aus 2 g Lithiumcarbonat, das mit 200 ml Aqua dest aufgefüllt wird, 20 g Hämatoxylin, das mit 200 ml 96%-igem Alkohol aufgefüllt wird und 1600 ml einer Lösung aus 0,6 g Natriumjodat, das mit 2 l Aqua dest aufgefüllt wird. Anschließend werden die Schnitte wieder mit 70%-igem Alkohol und destilliertem Wasser abgespült. Nun werden die Schnitte genau zehn Sekunden in eine zweiprozentige Kresylviolettlösung eingetaucht. Danach wird der Schnitt noch einmal mit Aqua dest gespült und dann 15 Minuten in einer Mischung aus 96%-igem Alkohol und Eisessig gelagert, wobei das Mischungsverhältnis 200:1 beträgt. Nun sollte eine Kontrolle unter dem Mikroskop erfolgen. Es wird noch zwei bis drei Mal mit Aqua dest gespült. Anschließend wird der Schnitt kurz in 96%-igen Alkohol gelegt, dann für jeweils fünf Minuten in absoluten Alkohol. Zum Schluss wird der nun fast fertige Schnitt für 15 bis 30 Minuten in Xylol gelagert.

2.4 Neuronendichtebestimmung

Die Bestimmung der Neuronendichte der mit dem spezifischen IDE-Antikörper angefärbten Neuronen in den ausgewählten Regionen erfolgte in Hinblick auf die Diagnosegruppe verblindet. Je nach Gebiet wurden zwei unterschiedliche Methoden angewandt:

Dort, wo die Region sehr ausgedehnt war (Kortex), wurde eine bestimmte Anzahl von in den Okularen des Mikroskops befindlichen Zählgittern ausgezählt. Die Zählungen wurden gemittelt und mit Hilfe der Fläche des Zählrasters und der Schichtdicke des Schnittes in die Zelldichte dieser Region umgerechnet.

In den beiden hypothalamischen Kernen, die unter dem Mikroskop überschaubar sind, wurden die Zellen mit Orientierung am Zählraster komplett ausgezählt. Anschließend wurde die Fläche des Kerns mit Hilfe des Programms ANALYSIS berechnet und auch hier wieder mit der Schichtdicke des Schnittes in die Zelldichte umgewandelt (Bernstein et al. 2009).

2.4.1 Dorsolateraler präfrontaler Kortex

Im DLPFC wurde in jeder der sechs Schichten separat mit der 40er-Vergrößerung gezählt. Zuerst erfolgte in einer kleineren Vergrößerung (10er oder 20er) die Identifikation der einzelnen Schichten.

In einigen Fällen wurde ein in nächster Nähe liegender Nissl- gefärbter Schnitt zur Orientierung zu Hilfe genommen. Danach wurde das Zählraster in der Zählvergrößerung parallel zum Zellverlauf in die Schicht gelegt. Hierbei war es in den Schichten I, II, IV und VI in den meisten Fällen aufgrund der geringen Schichtdicke nicht möglich, das ganze Zählgitter unterzubringen, so dass hier nur die Hälfte des Gitters zur Zählung benutzt wurde.

In jeder Schicht wurden pro Seite 15 Zählraster gezählt. Es wurden alle Zellen gezählt, die sich in dem Zählraster oder auf seiner oberen und rechten Begrenzung befanden. Zellen, die den unteren Rand oder den linken Rand berührten, wurden außer Acht gelassen. Die Zählungen wurden auf den Fehler des Mittelwertes überprüft; in allen Schichten bis auf die Schicht I war dieser immer sehr gering, so dass der Mittelwert der Zählungen für die weiteren Berechnungen genommen werden konnte.

Um die Zelldichte des ausgezählten Bereiches zu berechnen, wurde der Mittelwert durch das Produkt aus Fläche des Zählgitters, Dichte des Schnittes und Schrumpfungsfaktor dividiert:

$$\frac{\text{Mittelwert der Zählungen}}{0,0625\text{mm}^2 \text{ (bzw. } 0,03125\text{mm}^2) * 0,018\text{mm} * 2,15}$$

Der Schrumpfungsfaktor von 2,15 berücksichtigt die präparationsbedingte Volumenreduktion der Gehirne und ist ein Mittelwert der Schrumpfungsfaktoren der Gehirne der Hirnsammlung.

2.4.2 Nucleus basalis Meynert

Im Nucleus basalis Meynert wurde ähnlich wie im DLPFC vorgegangen: Der Kern wurde aufgesucht und in der 20er Vergrößerung wurden mit dem Mikroskop (Olympus BH 2) pro Seite zehn Zählraster ausgezählt. Auch hier galt die Regel, Zellen vom unteren oder linken Rand nicht in die Zählung einzubeziehen.

Die Zählung wurde wieder auf den Fehler des Mittelwertes überprüft und der Mittelwert für die weiteren Berechnungen genutzt. Die Berechnung erfolgte wie bereits oben aufgeführt.

2.4.3 Nucleus supraopticus und Nucleus paraventricularis

Bei den beiden Kernen des Hypothalamus wurden in der 20er Vergrößerung mit dem Mikroskop alle zum jeweiligen Kern gehörenden Neuronen gezählt. Dabei wurde das Zählraster als Orientierung benutzt. Anschließend wird mit dem Mikroskop und dem Computerprogramm ANALYSIS die Begrenzungen des Kerns manuell markiert und die so entstandene Fläche von dem Programm berechnet. Um die Zelldichte zu berechnen wird auch hier die gezählte Zellzahl durch das Produkt aus gemessener Fläche, Schnittdicke und Schrumpfungsfaktor dividiert.

2.5 Statistische Auswertung

Die Zählwerte wurden zunächst in Excel (Version 2003) eingegeben und mit Hilfe dieses Programms nach dem oben angegebenen Schema in die Zelldichte umgerechnet.

Die statistische Auswertung der gewonnenen Daten wurde mit Hilfe des Programms SPSS 15 durchgeführt.

Dabei wurden zur Überprüfung der Datenvalidität eine explorative Datenanalyse und eine Intraraterkorrelationsanalyse durchgeführt. Zur Auswertung der erhobenen Daten wurden Korrelationsanalysen mit den verschiedenen Parametern, T-Tests für unabhängige Stichproben und eine Zwischensubjekteffektanalyse durchgeführt.

2.5.1 Datenvalidität

Zunächst einmal wurden die Daten auf ihre Reliabilität getestet. Dazu wurde die Zelldichte in allen Regionen bei sieben bis zehn Schnitten ein zweites Mal von mir selber (Intraraterreliabilität) bestimmt. Dabei wurde für den dorsolateralen präfrontalen Kortex wie oben beschrieben verfahren; beim Nucleus supraopticus und beim Nucleus paraventricularis wurde nur die Zellzahl der Kernfläche berücksichtigt, das heißt, es handelt sich hier um eine Korrelation der Zellzahl, nicht der Zelldichte.

Die nun erhaltene Zelldichte wurde mit der aus der ersten Zählung korreliert.

Tabelle 11: *Korrelationskoeffizienten der Intraraterreliabilitätszählung im schichtspezifischen DLPFC (n=8)*

	L2	L3	L4	L5	L6	R2	R3	R4	R5	R6
Korrelationskoeffizient	,979	,841	,922	,835	,867	,880	,910	,864	,890	,644
Signifikanz	,000	,009	,001	,010	,005	,004	,002	,006	,003	,085

Tabelle 12: *Korrelationskoeffizienten der Intraraterreliabilitätszählung im schichtübergreifenden DLPFC (n=8)*

	L	R
Korrelationskoeffizient	,968	,908
Signifikanz	,000	,002

Diagramm 11: Streudiagramm der Zelldichten in Original- und Intraraterzählung für den DLPFC

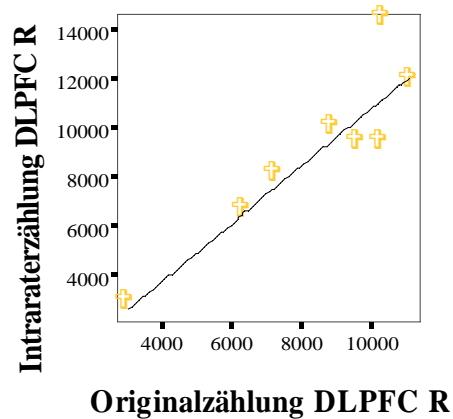
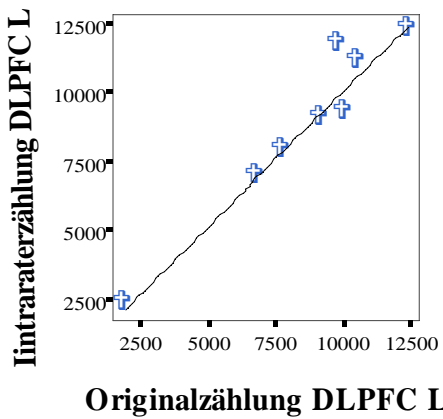


Tabelle 13: Korrelationskoeffizienten der Intraraterreliabilitätszählung im Nucleus basalis Meynert (n=8 im BML, n=7 im BMR)

	BML	BMR
Korrelationskoeffizient	,622	,895
Signifikanz	,100	,007

Diagramm 12: Streudiagramm der Zelldichten in Original- und Intraraterzählung für den Nucleus basalis Meynert

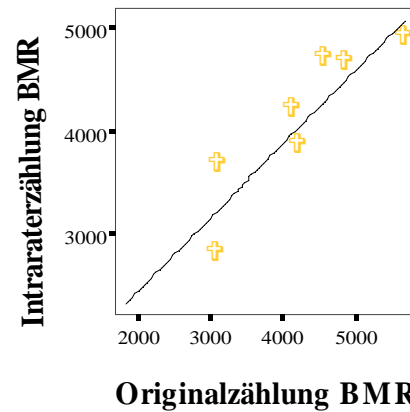
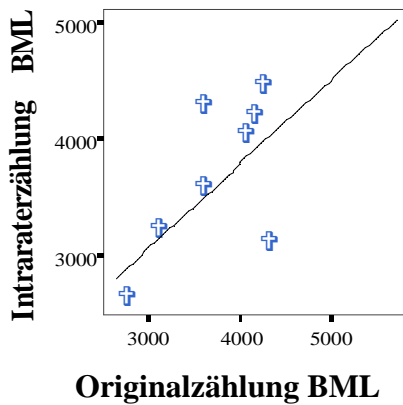


Tabelle 14: Korrelationskoeffizienten der Intraraterreliabilitätszählung im Nucleus paraventricularis (n=10 im PVL, n=9 im PVR)

	PVL	PVR
Korrelationskoeffizient	,849	,815
Signifikanz	,002	,007

Diagramm 13: Streudiagramm der Zelldichten in Original- und Intraraterzählung für den Nucleus paraventricularis

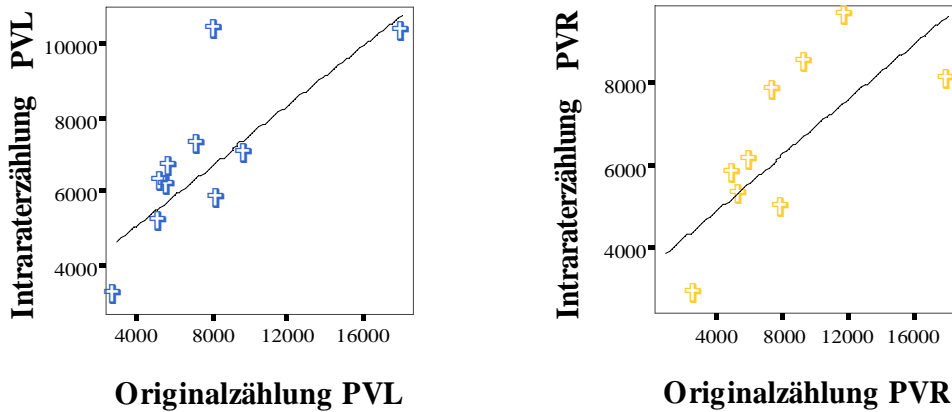
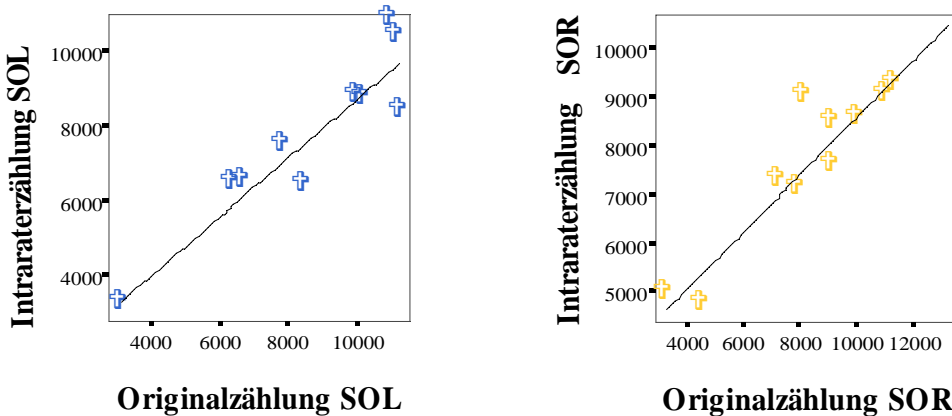


Tabelle 15: Korrelationskoeffizienten der Intraraterreliabilitätszählung im Nucleus supraopticus (n=10)

	SOL	SOR
Korrelationskoeffizient	,949	,943
Signifikanz	,000	,000

Diagramm 14: Streudiagramm der Zelldichten in Original- und Intraraterzählung für den Nucleus supraopticus



Um von einer wiederholbaren Messung zu sprechen, sollten diese Korrelationskoeffizienten 0,8 für die Intraraterreliabilität überschreiten. Da das hier der Fall ist, ist davon auszugehen, dass die erhobenen Daten reproduzierbar sind.

2.5.2 Nissl-Zählung

Die Zelldichte des dorsolateralen präfrontalen Kortex unterscheidet sich beim Schizophrenen nicht wesentlich von der einer Kontrollperson (Cullen et al. 2006). Diese Tatsache ist wichtig für diese Arbeit, da eine ebenfalls verminderte Zelldichte bei Schizophrenen in der Nissl-Färbung zu einer Annäherung der relativen Zelldichte an mit Anti-IDE gefärbten Neuronen der Diagnosegruppen führen würde. Um zu zeigen, dass eine Gleichheit der insgesamt Neuronendichte bei beiden Diagnosegruppen auch für die Stichprobe in dieser Arbeit besteht, wurde bei einer im Hinblick auf Alter, Geschlecht, Hirnmasse, Autolysezeit, Fixationszeit sowie BMI gematchten Stichprobe (N=8) aus dem Probandenkollektiv die Zelldichte im dorsolateralen präfrontalen Kortex in der Nissl-Färbung nach der oben beschriebenen Vorgehensweise berechnet. Die Ergebnisse dieser Zählung wurden dann mit dem Student's T-Test auf Zelldichtegleichheit getestet. Die Ergebnisse dieses Tests sind den Tabellen 16 und 17 zu entnehmen.

Tabelle 16: T-Test bei unabhängigen Stichproben

	Levene-Test der Varianzgleichheit		T-Test für die Mittelwertgleichheit			
	F	Signifikanz	T	df	Signifikanz (2-seitig)	
L	V =	11,226	,015	1,597	6	,161
	V -=			1,597	4,350	,180
R	V =	35,895	,001	1,204	6	,274
	V -=			1,204	3,116	,312

Tabelle 17: T-Test bei unabhängigen Stichproben

		Levene-Test der Varianzgleichheit		T-Test für die Mittelwertgleichheit		
		F	Signifikanz	T	df	Signifikanz (2-seitig)
2L	V=	5,54	,057	3,127	6	,020
	V-=			3,127	4,706	,028
3L	V=	10,67	,017	0,789	6	,460
	V-=			0,789	3,979	,474
4L	V=	,451	,527	1,640	6	,152
	V-=			1,640	5,972	,152
5L	V=	,726	,427	1,286	6	,246
	V-=			1,286	5,777	,247
6L	V=	7,672	,032	,791	6	,459
	V-=			,791	3,565	,478
2R	V=	2,237	,185	1,920	6	,103
	V-=			1,920	5,405	,109
3R	V=	4,655	,074	,124	6	,905
	V-=			,124	4,088	,907
4R	V=	30,36	,002	,764	6	,475
	V-=			,764	3,731	,492
5R	V=	4,313	,083	1,389	6	,214
	V-=			1,389	3,445	,248
6R	V=	6,528	,043	1,267	6	,252
	V-=			1,267	3,943	,275

Wie den Tabellen zu entnehmen ist, unterscheiden sich die Zelldichten der Schizophrenen und Gesunden in der Nissl-Färbung in allen Schichten des DLPFC (bis auf Schicht 2 links) nicht signifikant voneinander.

3. Ergebnisse

3.1 DLPFC

3.1.1 Korrelationen

Um etwaige Korrelationen zwischen den Zelldichten und irgendeinem Patientenparameter aufzudecken, wurde eine Korrelationsanalyse durchgeführt. Der BMI war hierbei von besonderem Interesse, da eine signifikante Korrelation der IDE-Zelldichte mit dem Body Mass Index für eine Assoziation von Diabetes mellitus und der IDE-Expression im Hirngewebe sprechen könnte.

Table 18a: Korrelationskoeffizienten und deren Signifikanz für die Zelldichte mit den aufgeführten Parametern für die linke (a) und rechte (b) Hemisphäre

		links						
		gesamt	1	2	3	4	5	6
Geschlecht	Korrelationskoeffizient	-,255	-,204	-,312	-,247	-,275	-,180	-,288
	Signifikanz	,278	,389	,181	,293	,240	,448	,218
Alter	Korrelationskoeffizient	-,140	-,049	-,043	-,055	-,099	-,288	-,071
	Signifikanz	,556	,838	,857	,818	,677	,218	,765
Gehirngewicht	Korrelationskoeffizient	,210	,122	,290	,075	,205	,098	,227
	Signifikanz	,375	,607	,215	,754	,386	,682	,335
Autolysezeit	Korrelationskoeffizient	,019	-,031	,076	-,105	,079	,044	-,057
	Signifikanz	,938	,898	,749	,659	,740	,852	,812
Fixationszeit	Korrelationskoeffizient	,119	-,037	,067	,091	,191	,144	,077
	Signifikanz	,617	,875	,780	,704	,419	,544	,746
BMI	Korrelationskoeffizient	-,063	-,072	-,297	,144	-,102	,224	-,081
	Signifikanz	,831	,807	,303	,623	,729	,442	,783
Beginn der Krankheit	Korrelationskoeffizient	-,345	-,295	-,288	-,333	-,205	-,415	-,432
	Signifikanz	,329	,409	,420	,347	,569	,232	,213
Krankheitsdauer	Korrelationskoeffizient	,388	,318	,444	,192	,102	,305	,480
	Signifikanz	,267	,371	,199	,595	,729	,391	,160

Tabelle 18b

		rechts						
		gesamt	1	2	3	4	5	6
Geschlecht	Korrelationskoeffizient	-,243	-,415	-,371	-,025	-,216	-,078	-,240
	Signifikanz	,302	,069	,107	,916	,360	,745	,308
Alter	Korrelationskoeffizient	-,053	-,223	,219	-,307	,016	-,231	-,081
	Signifikanz	,825	,344	,353	,187	,947	,327	,733
Gehirngewicht	Korrelationskoeffizient	,229	,456	,292	,162	,185	,047	,217
	Signifikanz	,330	,043	,212	,496	,434	,846	,359
Autolysezeit	Korrelationskoeffizient	-,007	,348	,031	-,021	,008	-,096	-,025
	Signifikanz	,977	,133	,897	,930	,974	,687	,915
Fixationszeit	Korrelationskoeffizient	,096	-,059	,059	-,069	,250	,014	,124
	Signifikanz	,686	,806	,805	,771	,287	,863	,603
BMI	Korrelationskoeffizient	-,253	,219	-,462	,118	-,303	,034	-,329
	Signifikanz	,382	,452	,096	,687	,292	,909	,251
Beginn der Krankheit	Korrelationskoeffizient	-,246	-,203	-,133	-,326	-,133	-,398	-,252
	Signifikanz	,493	,573	,713	,358	,715	,254	,482
Krankheitsdauer	Korrelationskoeffizient	,359	,329	,342	,241	,364	,296	,439
	Signifikanz	,309	,353	,333	,502	,301	,406	,205

Für den dorsolateralen präfrontalen Kortex bestehen auf beiden Hemisphären keine signifikanten Korrelationen mit den aufgeführten Parametern, auch nicht dem Body Mass Index.

3.1.2 Differenzstatistik

3.1.2.1 Analyse der Diagnosegruppen

In der Tabelle 19 sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen, Minima und Maxima der ermittelten Zelldichte für die einzelnen Schichten und über den gesamten dorsolateralen präfrontalen Kortex der beiden Hemisphären aufgelistet.

Es sei darauf hingewiesen, dass es sich nicht um echte Mittelwerte handelt, da bei ihrer Berechnung nicht die Dicke der jeweiligen Schicht berücksichtigt wurde. Es wurde vereinfachend angenommen, dass jede Schicht ein Sechstel der Gesamtdicke ausmacht.

Tabelle 19: Mittelwert, Standardabweichung, Minimum und Maximum der Zelldichten in den verschiedenen Schichten des DLPFC für Kontrollen (K) und Schizophrene (P)

		Mittelwert		Standardabw.		Minimum		Maximum	
		K	P	K	P	K	P	K	P
Links gesamt		7883,33	5405,46	1491,50	2664,16	5673,28	1589,44	10505,90	8222,81
links	1	644,96	253,57	3501,79	307,69	165,37	,00	1102,50	992,25
	2	10947,82	6267,71	1301,11	4014,76	5843,25	330,75	16096,49	12182,62
	3	9172,79	7042,21	2822,82	3531,04	7441,87	2067,19	11438,43	12899,24
	4	9812,24	6311,81	1041,98	3939,99	6559,87	1488,37	14828,61	12513,37
	5	7869,09	5865,30	1602,57	2419,32	6339,37	2397,94	9260,99	9481,49
	6	8853,07	6692,17	2572,63	2968,14	6449,62	3031,87	11245,49	10418,62
Rechts gesamt		7578,30	5838,65	160,25	2652,97	5328,75	2572,50	8732,71	9247,21
rechts	1	496,12	248,06	347,67	160,72	165,37	110,25	1157,62	606,37
	2	9255,48	7254,44	3338,03	4316,53	3913,87	992,25	13505,62	13285,12
	3	9092,86	7995,88	1484,14	3336,53	7414,31	4134,37	12706,30	12485,80
	4	9112,16	6626,02	1703,24	3686,81	6670,12	2535,75	11741,62	12788,99
	5	7844,28	5961,76	1202,00	2478,82	5843,25	3004,31	9591,74	10005,18
	6	9668,92	6945,75	2507,12	2964,24	5677,87	3252,37	12954,37	10418,62

Die Diagramme 15 und 16 und stellen diese Tabelle grafisch dar.

Diagramm 15: Numerische Zelldichte im dorsolateralen präfrontalen Kortex beider Hemisphären bei Kontrollen und Schizophrenen

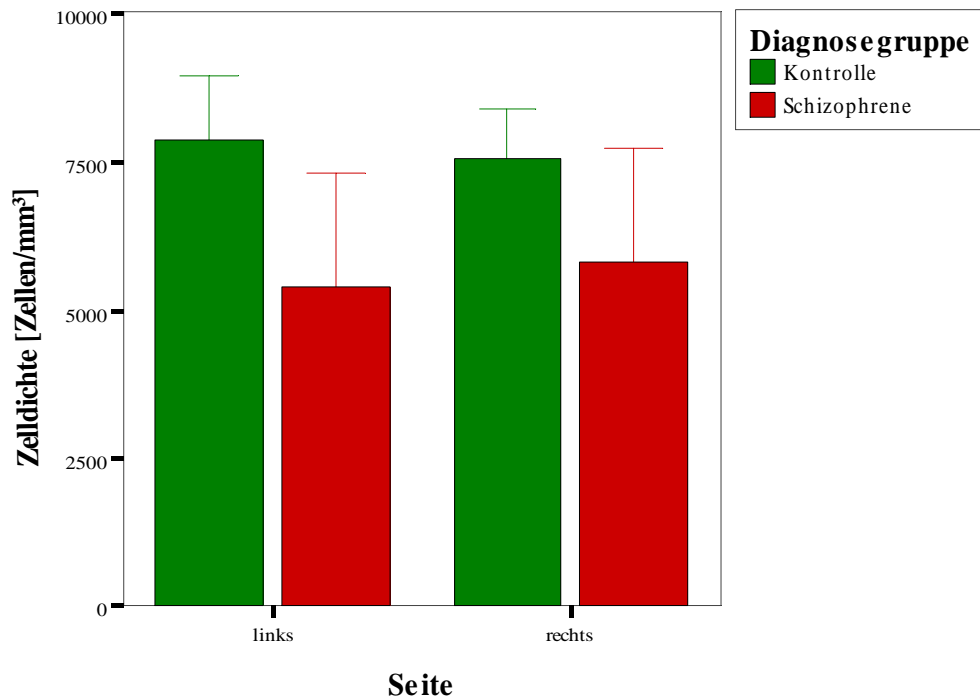
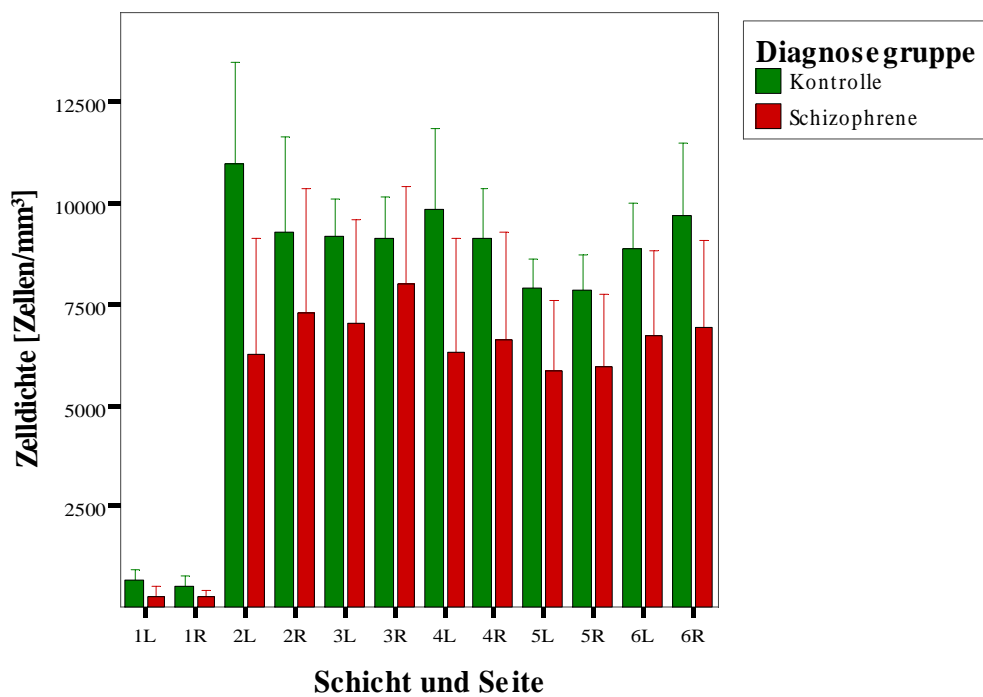


Diagramm 16: Numerische Zelldichte in den Schichten des dorsolateralen präfrontalen Kortex beider Hemisphären bei Kontrollen und Schizophrenen



Schon anhand dieser Grafiken lässt sich vermuten, dass es einen deutlichen Unterschied zwischen den beiden Diagnosegruppen gibt.

In den Tabellen 20 und 21 wird dieser optische Unterschied nun statistisch verifiziert: Tabelle 20 stellt die Ergebnisse des T-Tests nach Student dar, mit dem getestet wurde, ob es bei den beiden Kontrollgruppen in Hinsicht auf die Zelldichte des DLPFC auf beiden Hemisphären Unterschiede gibt.

Tabelle 20: *T-Test bei unabhängigen Stichproben*

		Levene-Test der Varianzgleichheit		T-Test für die Mittelwertgleichheit		
		F	Signifikanz	T	df	Signifikanz (2-seitig)
L	V =	14,673	,001	2,566	18	,019
	V -=			2,566	14,137	0,22
R	V =	29,496	,000	1,900	18	,074
	V -=			1,900	12,321	,081

Tabelle 21 stellt die Ergebnisse dieses Tests auch dar, jedoch wurde hier jede der sechs Schichten einzeln betrachtet.

Tabelle 21: *T-Test bei unabhängigen Stichproben*

		Levene-Test der Varianzgleichheit		T-Test für die Mittelwertgleichheit		
		F	Signifikanz	T	df	Signifikanz (2-seitig)
1L	V =	,713	,410	2,691	18	,015
	V -=			2,691	17,804	,015
2L	V =	,886	,359	2,778	18	,012
	V -=			2,778	17,674	,013
3L	V =	11,560	,003	1,790	18	,090
	V -=			1,790	11,400	,100
4L	V =	3,732	,069	2,284	18	,035
	V -=			2,284	16,313	,036
5L	V =	6,127	,023	2,406	18	,027
	V -=			2,406	12,228	,033
6L	V =	17,914	,001	2,026	18	,058
	V -=			2,026	13,836	,063
1R	V =	6,807	,018	2,048	18	,055
	V -=			2,048	12,678	,062
2R	V =	2,245	,151	1,160	18	,261
	V -=			1,160	16,929	,262
3R	V =	15,020	,001	,950	18	,355
	V -=			,950	12,427	,360
4R	V =	8,526	,009	1,936	18	,069
	V -=			1,936	12,674	,076
5R	V =	11,943	,003	2,161	18	,044
	V -=			2,161	13,011	,050
6R	V =	2,021	,172	2,218	18	,040
	V -=			2,218	17,518	,040

Es wird deutlich, dass signifikante Unterschiede in der Zelldichte zwischen den beiden Diagnosegruppen besonders links bestehen. Auf die einzelnen Schichten bezogen sind dies die Schichten 1, 2, 4 und 5 im linken DLPFC und die Schichten 5 und 6 im rechten Kortex. In den übrigen Schichten des linken Kortex ist ein deutlicher Trend in dieselbe Richtung zu erkennen, im rechten Kortex ist dieser Trend nur in den Schichten 1 und 4, weniger aber in 2 und 3 zu erkennen. Das Stratum pyramidale internum ist also auf beiden Seiten signifikant weniger zell dicht in Hinblick auf IDE-haltige Zellen beim Schizophrenen, das Stratum pyramidale externum hat keine verminderte Zelldichte bei den Schizophrenen gegenüber den Kontrollen.

Um auszuschließen dass der BMI einen Effekt auf dieses Ergebnis ausübt, wurde noch ein Zwischensubjekttest durchgeführt, dessen Resultat in Tabelle 22 zu sehen ist.

Tabelle 22: Tests der Zwischensubjekteffekte

Quelle	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Konstanter Term	781718927,030	1	781718927	15,251	,002
BMI	9575022,560	1	9575022	,187	,674
Diagnose	136343061,701	1	136343061	2,660	,131
Fehler	563839099,849	11	51258099		

Eine Beeinflussung des Ergebnisses durch den BMI ist also auszuschließen.

3.1.2.2 Analyse der Subgruppen

Die Gruppe der Schizophrenen besteht aus verschiedenen Subtypen dieser Diagnose, wie in Kapitel 2.1.3.2 bereits beschrieben wurde. In der Gruppe der Schizophrenen waren drei Patienten mit einer undifferenzierten, vier mit einer chronischen und drei Patienten mit einer paranoid-halluzinatorischen Schizophrenie vertreten.

Der statistische Vergleich dieser Subgruppen mit den Kontrollen bringt ein eindrucksvolles Ergebnis vom Vorschein (Tabelle 23):

Tabelle 23: P-Werte der Zelldichteunterschiede zwischen Kontrollen und der jeweiligen Subgruppe

		Undifferenzierte Schizophrenie	Schizophrenes Residuum	Paranoide Schizophrenie
N		4	3	3
L	gesamt	,181	,338	,000
	1	,299	,043	,047
	2	,141	,307	,001
	3	,773	,493	,000
	4	,112	,676	,001
	5	,371	,190	,000
	6	,584	,4559	,000
R	gesamt	,411	,969	,000
	1	,379	,048	,246
	2	,445	,719	,017
	3	,555	,496	,002
	4	,025	,887	,000
	5	,461	,348	,000
	6	,235	,529	,004

Wie man erkennt, ist für die auf die Diagnosegruppe bezogene Signifikanz im Unterschied zu den Zelldichten allein der Subgruppe der Patienten mit einer paranoid-halluzinatorischen Schizophrenie zu verdanken. Die Signifikanzen, die sich bei den beiden anderen Subgruppen finden, sind meiner Meinung nach nicht relevant: Im Stratum moleculare sind sehr wenig angefärbte Neuronen vorhanden gewesen, so dass der Fehler des Mittelwertes immer recht hoch war; die Zählung in diesem Gebiet ist somit nicht sehr aussagekräftig. Die Signifikanz im Stratum granulosum internum der rechten Hemisphäre bei den undifferenzierten Schizophrenen kann auch gut eine zufällige Signifikanz sein; bei einem α -Wert von 0,05 und einer so großen Masse an ausgerechneten Signifikanzen ist das nicht ungewöhnlich.

Die Ergebnisse der Subgruppenanalyse sind in den Diagrammen 17 und 18 grafisch dargestellt.

Diagramm 17: Numerische Zelldichte in den Schichten des dorsolateralen präfrontalen Kortex beider Hemisphären bei Kontrollen und den Subgruppen der Schizophrenie

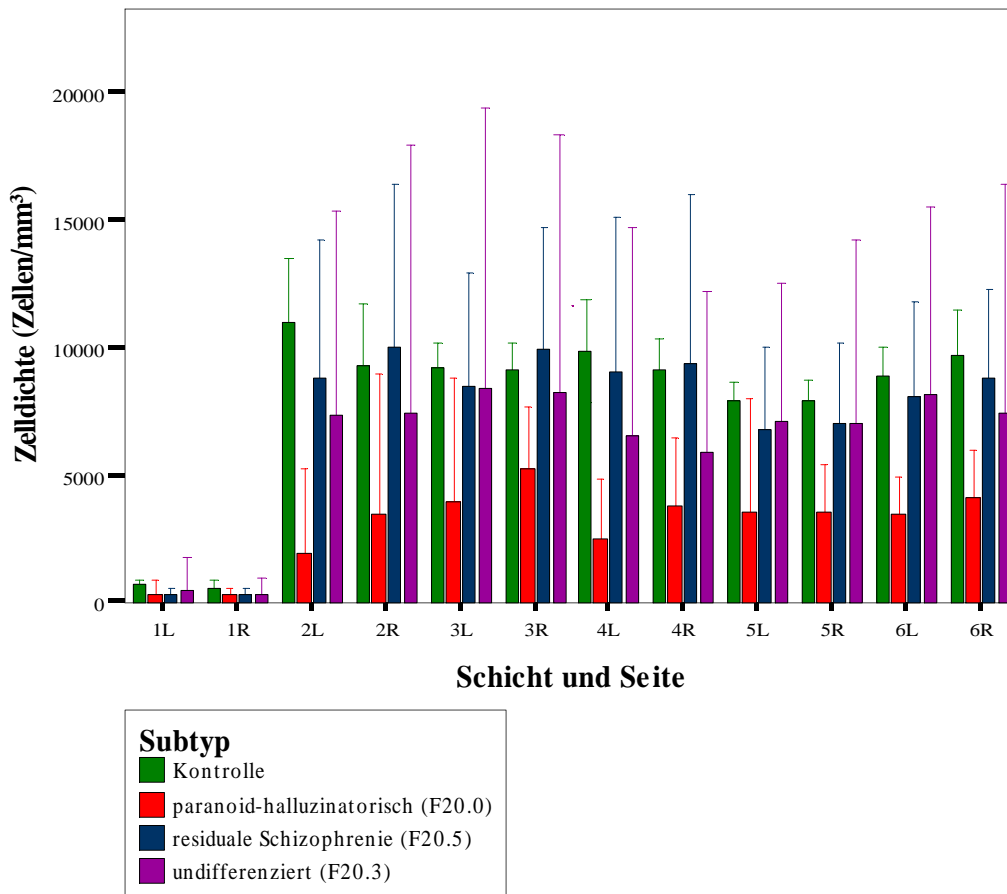
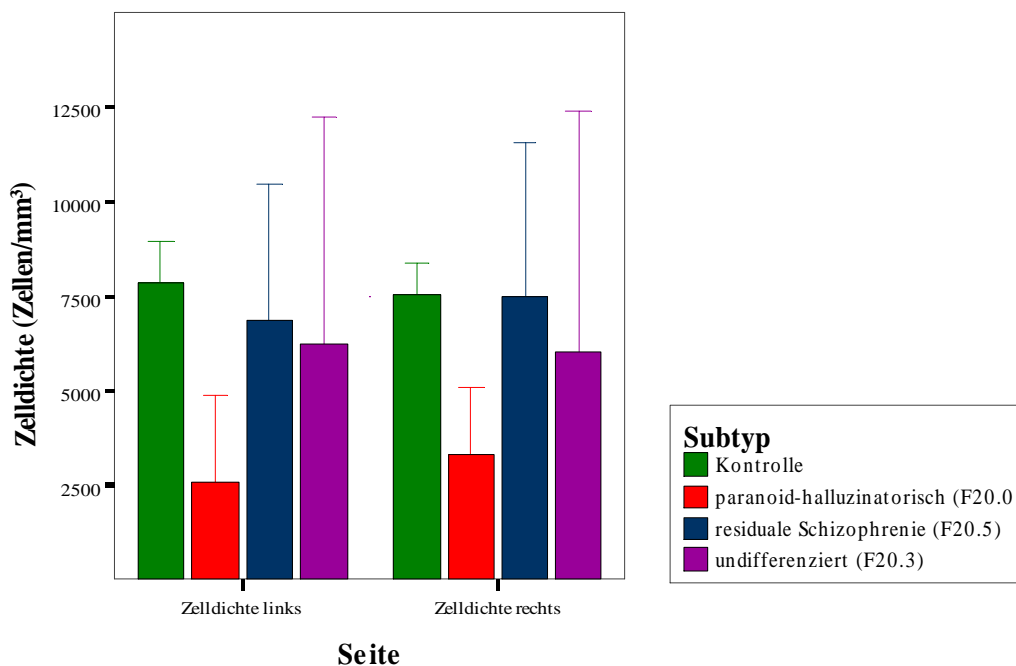


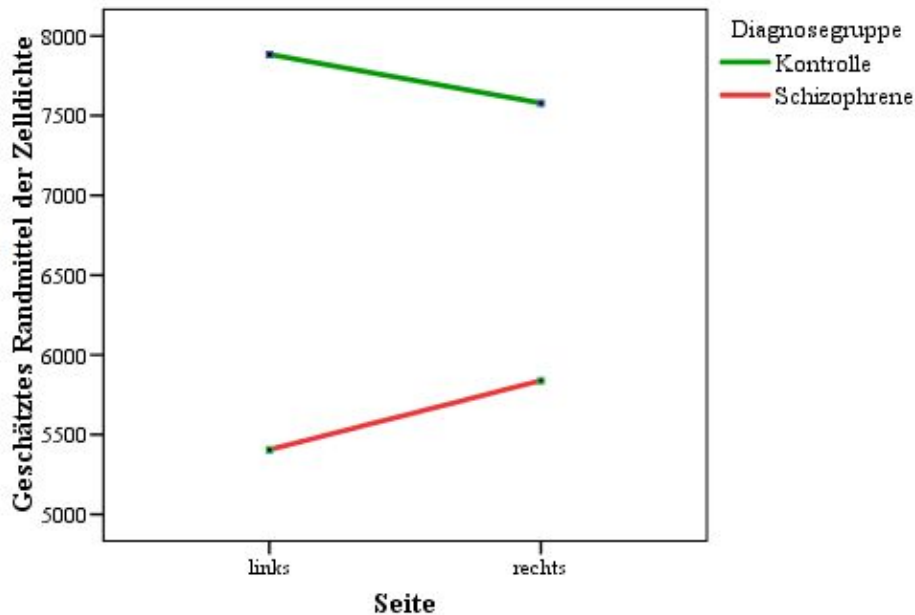
Diagramm 18: Numerische Zelldichte im dorsolateralen präfrontalen Kortex beider Hemisphären bei Kontrollen und den Subgruppen der Schizophrenie



3.1.2.3 Seitenanalyse

In dieser Arbeit hat sich die in Diagramm 19 dargestellte Dichte von mit Anti-IDE angefärbten Neuronen in den Hemisphären der Kontrollpersonen und Schizophrenen gezeigt:

Diagramm 19: Geschätztes Randmittel der Zelldichte der beiden Hemisphären bei den Kontrollpersonen und Schizophrenen.



Bei den Kontrollpersonen ist die Zelldichte in der linken Hemisphäre größer als in der rechten, beim Schizophrenen ist die Zelldichte in der linken Hemisphäre kleiner als in der rechten, also umgekehrt. Diese Differenzen sind aber weder bei den Kontrollen noch bei den Schizophrenen insgesamt signifikant. Nur bei der Untergruppe der Patienten mit einem schizophrenen Residuum besteht eine signifikant verminderte Zelldichte links im Vergleich zu rechts ($p=0,021$).

Diese Tatsache findet sich auch in mit Kresyl-Violett gefärbten Neuronen des dorsolateralen präfrontalen Kortex wieder (Cullen et al. 2006), was bedeutet, dass die Differenz der mit Anti-IDE gefärbten Neuronen im DLPFC zu den Neuronen des DLPFC insgesamt auf beiden Hemisphären ungefähr gleich groß ist.

3.2 Nucleus basalis Meynert, Nucleus paraventricularis und Nucleus supraopticus

3.2.1 Korrelationen

Um herauszufinden, ob die Zelldichte in den untersuchten Kernen mit irgendeinem Patientenparameter korreliert, wurde eine Korrelationsanalyse durchgeführt. Besonderes Augenmerk wurde auch hier auf den BMI gelegt.

Tabelle 24: Korrelationskoeffizienten und deren Signifikanz für die Zelldichte mit den aufgeführten Parametern

		Nucleus basalis Meynert		Nucleus paraventricularis		Nucleus supraopticus	
		L	R	L	R	L	R
Geschlecht	Korrelationskoeffizient	,398	,373	-,090	,012	,122	-,207
	Signifikanz	,098	,105	,715	,962	,610	,381
Alter	Korrelationskoeffizient	-,223	-,351	-,005	-,181	,155	,092
	Signifikanz	,358	,130	,982	,459	,513	,698
Gehirngewicht	Korrelationskoeffizient	-,382	-,362	-,076	-,079	-,260	,045
	Signifikanz	,130	,140	,772	,763	,297	,858
Autolysezeit	Korrelationskoeffizient	-,028	,075	-,344	-,421	-,138	,167
	Signifikanz	,910	,753	,149	,073	,561	,480
Fixationszeit	Korrelationskoeffizient	,038	,011	-,095	-,049	-,026	,066
	Signifikanz	,883	,967	,717	,851	,918	,793
BMI	Korrelationskoeffizient	,112	,012	,013	,073	-,424	,272
	Signifikanz	,743	,971	,968	,851	,149	,368
Beginn der Krankheit	Korrelationskoeffizient	,349	-,158	,041	-,350	,091	-,048
	Signifikanz	,442	,703	,916	,321	,803	,896
Krankheitsdauer	Korrelationskoeffizient	-,160	-,337	-,539	-,300	-,078	-,036
	Signifikanz	,731	,415	,135	,399	,831	,921

Es gibt also auch bei den Kernen keine signifikanten Korrelationen mit einem der hier aufgeführten Merkmale.

3.2.2 Differenzstatistik

3.2.2.1 Analyse der Diagnosegruppen

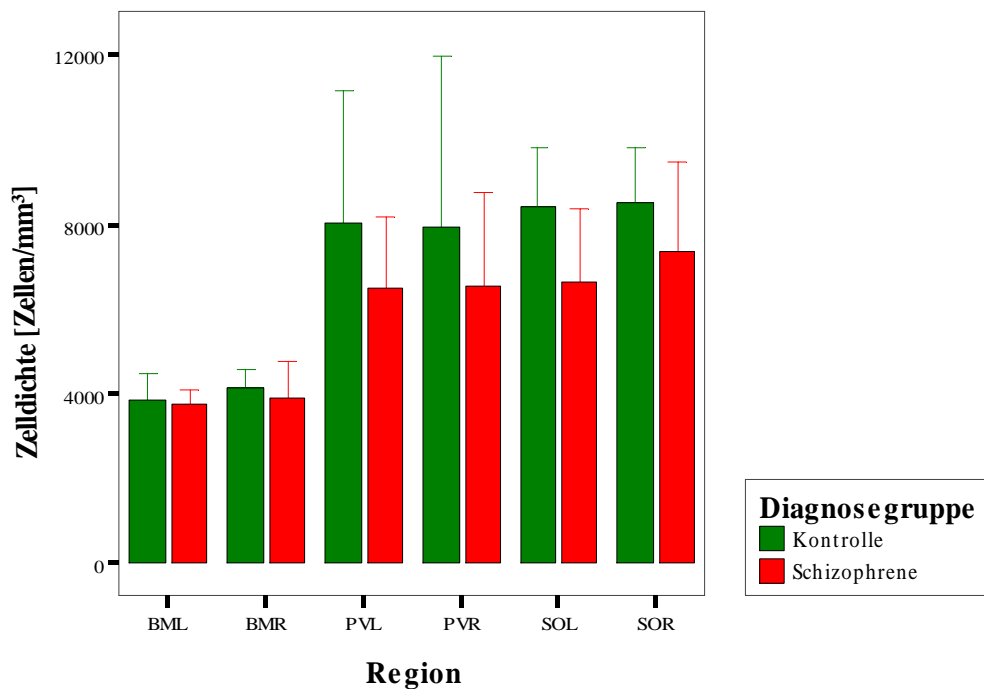
In der Tabelle 25 sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen, Minima und Maxima der ermittelten Zelldichte für die drei untersuchten Kerne auf beiden Hemisphären aufgelistet.

Tabelle 25: Mittelwert, Standardabweichung, Minimum und Maximum der Zelldichten in den Kernen für Kontrollen und Schizophrenie

		Mittelwert		Standardabw.		Minimum		Maximum	
		K	S	K	S	K	S	K	S
Ncl. basalis Meynert	L	3892,29	3765,01	907,18	393,80	2649,77	3307,49	5705,43	4289,41
	R	4156,45	3903,62	684,8972	1172,39	3100,78	1829,46	5209,30	5684,75
Ncl. paraventricularis	L	8037,00	6515,88	4049,64	2334,17	4892,05	3011,26	17974,95	11073,44
	R	7947,23	6545,54	4798,50	3334,72	3451,21	908,59	18037,48	12229,01
Ncl. supraopticus	L	8431,79	6654,45	1807,99	2590,09	6370,02	3135,92	11181,20	10214,22
	R	8501,82	7380,96	1697,72	3092,14	5955,30	3840,78	11223,11	13202,51

Auch diese Werte sind grafisch in Diagramm 20 dargestellt.

Diagramm 20: Numerische Zelldichte im Nucleus basalis Meynert, Nucleus paraventricularis und Nucleus supraopticus beider Hemisphären bei Kontrollen und Schizophrenen



Ein kleiner Unterschied der Zelldichte zwischen den beiden Diagnosegruppen ist hier in der Grafik sichtbar, der T-Test zeigt jedoch keine Signifikanz, allenfalls einen Trend, wie aus Tabelle 26 hervorgeht.

Tabelle 26: Test bei unabhängigen Stichproben

		Levene-Test der Varianzgleichheit		T-Test für die Mittelwertgleichheit		
		F	Signifikanz	T	df	Signifikanz (2-seitig)
BML	V=	5,348	,034	,370	17	,716
	V-=			,415	14,466	,684
BMR	V=	2,942	,103	,603	18	,554
	V-=			,572	12,323	,578
PVL	V=	,842	,372	1,017	17	,324
	V-=			,989	12,505	,342
PVR	V=	,582	,456	,754	17	,461
	V-=			,711	11,765	,491
SOL	V=	,948	,343	1,737	18	0,99
	V-=			1,802	17,638	,089
SOR	V=	4,979	,039	,971	18	,344
	V-=			1,028	16,010	,319

3.2.1.2 Analyse der Subgruppen

Auch für die drei untersuchten Kerne wurde die Zelldichte in Abhängigkeit vom Subtyp der Schizophrenie untersucht.

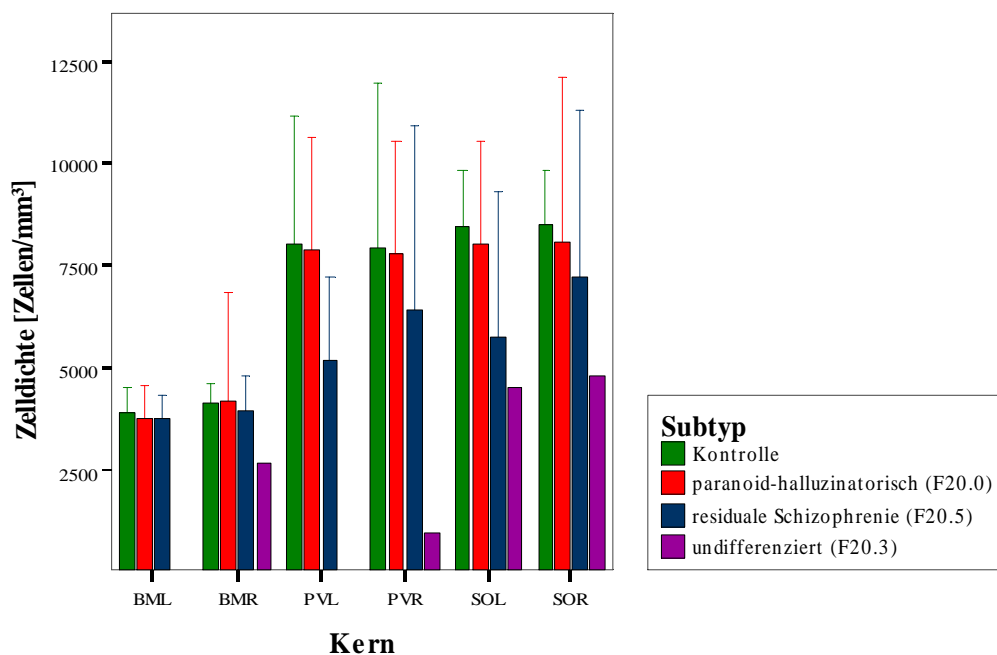
Tabelle 27: T-Test bei unabhängigen Stichproben mit Angabe der Anzahl an Kontrollen (K) und Patienten der jeweiligen Subgruppe (P)

		Undifferenzierte Schizophrenie	Schizophrenes Residuum	Paranoide Schizophrenie
BM	L	-	,765	,825
	N	11K/0P	9K/5P	9K/5P
	R	,065	,579	,974
	N	11K/1P	9K/5P	9K/5P
PV	L	-	,160	,934
	N	9K/0P	9K/5P	9K/5P
	R	,209	,559	,945
	N	8K/1P	8K75P	8K75P
SO	L	,075	,049	,691
	N	9K/1P	11K/4P	11K/4P
	R	,072	,448	,750
	N	9K/1P	11K/4P	11K/4P

Wie man sieht, bestehen hier ebenfalls keine signifikanten Unterschiede in der Anzahl IDE-immunreaktiver Neuronen, wenn man die Subgruppen anstelle der Diagnosegruppe insgesamt betrachtet. Die Subgruppe der undifferenzierten Schizophrenen sollte hier außer Acht gelassen werden, da hier maximal eine Person zur statistischen Analyse ausgewertet werden konnte. Auch hier würde ich die knappe Signifikanz im linken Nucleus supraopticus bei den Patienten mit dem schizophrenen Residuum nur als zufällig signifikant bewerten.

Die Zelldichte in den Kernen unterteilt nach Subgruppen ist in Diagramm 20 dargestellt.

Diagramm 21: Numerische Zelldichte im Nucleus basalis Meynert, Nucleus paraventricularis und Nucleus supraopticus beider Hemisphären bei Kontrollen und Subgruppen der Schizophrenie



In dem Diagramm erkennt man noch deutlicher, dass sich die Mittelwerte insbesondere der paranoid-halluzinatorischen Untergruppe der Schizophrenen nicht von denen der Kontrollgruppe unterscheiden.

3.2.1.3 Seitenanalyse

Beim Vergleich der Zelldichten der linken und rechten Hemisphäre eines Kerns gab es keine signifikanten Unterschiede, sowohl bei der Betrachtung der Diagnosegruppen als auch der Subgruppen, was auch in den vorangegangenen Grafiken zu erkennen ist.

4. Diskussion

4.1 Dorsolateraler präfrontaler Kortex

Im dorsolateralen Kortex konnte bei der Schizophreniegruppe ohne deren Aufteilung in Subgruppen auf der linken Hemisphäre eine verminderte Zahl an Neuronen, die das IDE exprimieren, in den Schichten 1, 3, 4 und 5 im Vergleich zu Kontrollpersonen gezeigt werden (1: $p=0,015$, 2: $p=0,012$, 4: $p=0,035$, 5: $p=0,033$). Ein deutlicher Trend in dieselbe Richtung zeigte sich auch in den Schichten 3 und 6 (3: $p=0,01$, 6: $p=0,063$), so dass insgesamt im linken dorsolateralen präfrontalen Kortex von Schizophrenen eine signifikant verminderte Zelldichte von mit Anti-IDE gefärbten Neuronen gegenüber Normalpersonen besteht. Für die rechte Hemisphäre kann man diese Aussage nicht treffen. Es bestehen zwar in den Schichten 5 und 6 signifikante Unterschiede (5: $p=0,05$, 6: $p=0,04$) und ein Trend in den Schichten 1 und 4 (1: $p=0,062$, 4: $p=0,076$), doch insgesamt hat sich für die rechte Gehirnseite im DLPFC keine signifikant verminderte Zelldichte gezeigt.

Dass die Expression des IDE im DLPFC bei Schizophrenen im Vergleich zu Kontrollen vermindert ist, konnte auch in einer Westernblot-Analyse gezeigt werden (Bernstein et al. 2009). Hierbei wurden aber keine Aussagen über Seite bzw. Schicht der Region getroffen.

Interessant ist jedoch, dass sich in dieser Arbeit die Zelldichten von den Untergruppen der undifferenzierten und der residualen Schizophrenie nicht signifikant von der der Kontrollen unterscheiden, die der Untergruppe der paranoiden Schizophrenie jedoch höchst signifikant. Die p-Werte sind hier auf beiden Seiten bis auf das Stratum moleculare (links: $p=0,047$; rechts: $p=0,247$) unter 0,01 beziehungsweise unter 0,05 (Stratum granulosum externum der rechten Seite: $p=0,017$). Leider wird durch die Unterteilung der Diagnosegruppe und Subtypen die Fallzahl sehr gering: Sie lag bei den paranoiden Schizophrenen bei drei. Dadurch sind diesem Ergebnis auch Grenzen gesetzt.

Im Folgenden soll nun diskutiert werden, wie dieses Ergebnis gedeutet werden kann.

4.1.1 Genort des IDE

Wie schon erwähnt, liegt das Gen des IDE auf 10q23-25. Diese Region ist gleichzeitig ein Hotspot bei der Schizophrenie (Lerer et al. 2003; Mowry et al. 2000; Devlin et al. 2007, Chisoe et al. 2008).

Es ist nicht auszuschließen, dass diese verminderte Anzahl an Zellen, die das IDE exprimieren, an einem Gendefekt liegt. Das würde allerdings nur einen gewissen Prozentsatz an Fällen erklären.

Die primär verminderte Expression des Enzyms hätte einen Überschuss an ihren Substraten zur Folge, unter anderem auch Insulin, das nun den Insulinrezeptor ständig aktivieren würde.

Die Insulinrezeptordichte im Hirngewebe wird nicht durch die Insulinkonzentration geregelt (Boyd et al. 1983), sondern über die Konzentration des IDE, die in diesem Fall erhöht werden müsste (Zhao et al. 2004), um die Anzahl der Insulinrezeptoren herunter zu regulieren.

Im Falle eines defekten IDE-Gens wäre das aber nicht möglich, so dass das Gehirn den erhöhten Insulinspiegeln und den daraus resultierenden Auswirkungen ausgesetzt wäre.

Endeffekt dieses Circulus vitiosus könnte eine Stoffwechsellentgleisung sein, deren Folge die Symptome der Schizophrenie darstellen.

Gegen diese Theorie spricht aber die im DLPFC vorgefundene Verminderung der β -Untereinheit des Insulinrezeptors (Zhao et al. 2006). Diese müsste dann zufällig gleichzeitig vorliegen, was unwahrscheinlich ist, und würde diesem Teufelskreis entgegenstehen.

Des Weiteren spricht gegen diese Vermutung, dass nur bestimmte Regionen des ZNS von einer Funktionsstörung betroffen sind (Wolkin et al. 1988). Ein Gendefekt müsste sich auf alle Regionen auswirken.

Auch die Tatsache, dass das IDE im DLPFC nur bei den paranoiden Schizophrenen weniger exprimiert wird, spricht gegen diese Annahme: Die meisten Patienten mit einem schizophrenen Residuum haben dieses sekundär aus einer anderen Form der Schizophrenie entwickelt, so auch der paranoiden Unterform. Bei diesen Patienten müsste demnach häufiger dieser Gendefekt vorliegen.

Außerdem ist ein Gendefekt für diese Arbeit besonders schwer zu beurteilen, da über die psychiatrische Familienanamnese der Patienten kaum Informationen

vorliegen, die Verbindung zwischen Schizophrenie und dem Genort 10q23-25 aber gerade gehäuft bei Patienten mit familiär gehäuft auftretender Schizophrenie auftritt (Lerer et al. 2003).

Die verminderte Expression des Enzyms kann aber auch bei intaktem Gen auf anderen Ebenen erreicht werden. Um zu klären, ob das Gen des IDE direkt betroffen ist, bedürfte es einer molekulargenetischen Untersuchung.

4.1.2 Gestörter Glukosemetabolismus bei Schizophrenen

Die Prävalenz des Diabetes Typ 2 in der deutschen Gesamtbevölkerung liegt bei etwa 4,7% bei Männern und 5,5% bei Frauen im Alter zwischen 18 und 79 Jahren (Thefeld 1999). Aus verschiedenen Studien lässt sich zeigen, dass das Vorkommen dieser Stoffwechselkrankheit bei Patienten mit Schizophrenie erhöht ist. So zeigten de Hert et al. (2006), dass die Prävalenz des Diabetes mellitus Typ 2 bei mit (in 90% der Fälle atypischen) Neuroleptika behandelten Schizophrenen etwa fünfmal über der der Normalbevölkerung liegt, wobei sich je nach Alter der Individuen ein absoluter Prozentunterschied von 1,6% bei 15 bis 25-jährigen bis 19,2 % bei den 55 bis 65-jährigen ergibt (de Hert et al. 2006). Ähnliche Aussagen finden sich auch in anderen Studien (Dwyer et al. 2001, Subramaniam et al. 2003, Lambert et al. 2005, Casey 2005), wobei im Falle der Behandlung mit Atypica die Dauer der Medikation eine untergeordnete Rolle spielt (Lambert et al. 2005).

Dass der neuroleptischen Behandlung bei diesen Beobachtungen eine bedeutende Rolle zukommt, ist unumstritten. Dennoch kann man davon ausgehen, dass die Schizophrenie *an sich* schon eine Prädisposition zur Entwicklung einer Glukoseintoleranz oder eines Diabetes mellitus Typ 2 darstellt (Bushe et al. 2004, Ryan et al. 2003, Kohen 2004).

Auch muss gesagt werden, dass Glukoseintoleranz und Diabetes mellitus Typ 2 als Nebenwirkungen bei der Behandlung mit Haloperidol seltener auftreten als bei der Behandlung mit Atypica, wobei hier Clozapin, Olanzapin und Quetiapin die höchste Rate an Diabetes bewirken (Sernyak et al. 2002). Trotzdem ist das Vorkommen eines Diabetes mellitus Typ 2 bei der Behandlung mit Typica wie Haloperidol immer noch größer als bei unbehandelten Patienten (Saddichha et al. 2008).

Im Fall des insulinabhängigen Diabetes mellitus Typ 1 konnte gezeigt werden, dass dieser besonders bei familiär gehäuft auftretender Schizophrenie bei den erstgradigen Verwandten des Patienten 9,65 mal häufiger vorkommt als bei gesunden Familien (Wright et al. 1996). Das gilt im Übrigen auch für weitere Autoimmunerkrankungen (Ganguli et al. 1993). Für den Schizophreniepatienten selbst konnte aber keine Assoziation mit dem Typ 1 Diabetes festgestellt werden (Juvonen et al. 2007).

Im peripheren Gewebe verhält sich das Insulin abbauende Enzym kongruent zum Insulinspiegel (Standi et al. 1984, Hern et al. 1987, Ionushuas et al. 1987). Für den Diabetes mellitus Typ 1 bedeutet das, dass das IDE peripher vermindert ist, für den Diabetes mellitus Typ 2 in der Phase der Insulinresistenz erhöht und in der späteren Phase, die mit zusätzlicher verminderter Insulinsekretion einhergeht, vermindert. Bedingt ist dieser Regelkreis vermutlich auch durch den im nächsten Kapitel beschriebenen negativen Feedback-Mechanismus.

Im Hirngewebe von Mäusen mit Diabetes mellitus konnte vor kurzem nachgewiesen werden, dass beim Typ 1 dieser Erkrankung sich ein ähnliches Bild wie im peripheren Gewebe darstellt; eine verminderte Insulin- und IDE-Konzentration lagen vor. Interessanterweise schränkte dieser Zustand das Lernvermögen der Tiere ein, weshalb man die hier nahe liegende Alzheimerpathologie dafür in Betracht zog. Beim Typ 2 Diabetes wurden diese Beobachtungen jedoch nicht gemacht (Jolivald et al. 2008).

Über die Assoziation der verminderten Expression des IDE mit Diabetes mellitus Typ 2 kann durch diese Arbeit keine sichere Aussage getroffen werden. Ein diagnostizierter Diabetes mellitus lag bei einem der residualen Schizophrenen vor. Da aber die meisten der Patienten in den 1980ern und 1990ern gestorben sind und man sich zu dieser Zeit noch nicht des erhöhten Risikos für diese Stoffwechselerkrankung bewusst war, ist es gut möglich, dass einige der Patienten (aber auch der Kontrollen) einen undiagnostizierten Diabetes oder eine Glukoseintoleranz hatten.

Da der Body Mass Index negativ mit dem Insulinsensitivitätsindex korreliert (Lu et al. 1996), also bei steigendem BMI die Insulinsensitivität abnimmt, wurde daher der BMI als Parameter eines gestörten Stoffwechsels gewertet.

In dieser Arbeit zeigte sich jedoch kein Zusammenhang zwischen dem BMI und der Expression des IDE in den Neuronen der untersuchten Hirnregionen. Wenn

man den Body Mass Index als Parameter der Stoffwechsellage anerkennt, könnte man daraus nur schlussfolgern, dass die erhöhte Prävalenz des Diabetes mellitus bei Patienten mit Schizophrenie nicht mit der verminderten Expression des IDE im Hirngewebe zusammenhängt, eine gemeinsame Ursache also unwahrscheinlich ist.

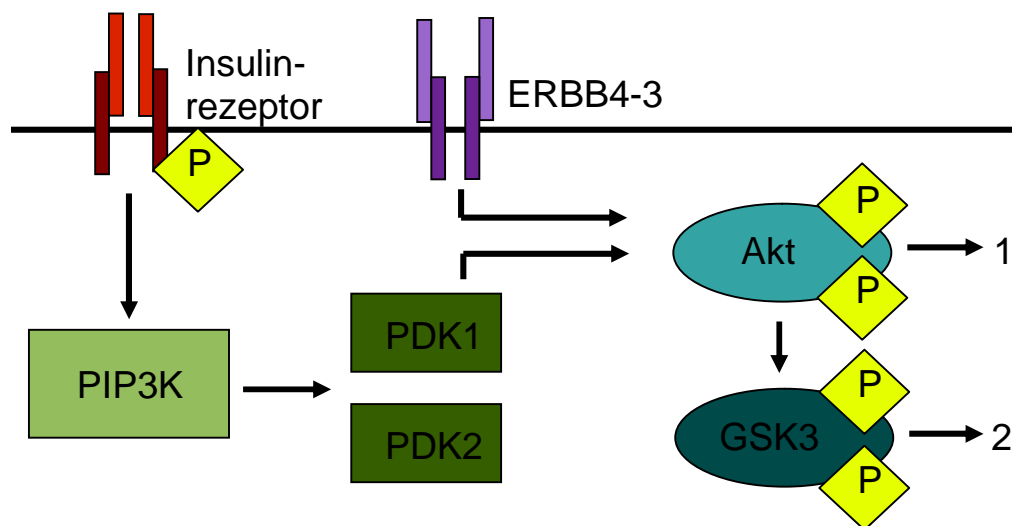
Jedoch sollte man, um diese Aussage zu sichern, eine weiterführende Untersuchung durchführen, deren Ziel es ist, Unterschiede in der neuronalen IDE-Expression bei Schizophrenen mit und ohne Diabetes zu erkennen. Diese konkrete Fragestellung kann durch diese Arbeit nicht beantwortet werden.

4.1.3 Gestörte Insulinrezeptorkaskade bei Schizophrenen

2006 konnten Zhao et al. zeigen, dass die Signaltransduktion des Insulinrezeptors bei Schizophrenen im dorsolateralen präfrontalen Kortex gestört ist.

Die normal ablaufende Signalkaskade ist vereinfacht in Abbildung 4 dargestellt.

Abbildung 4: Vereinfachendes Schema der Insulinrezeptorsignalkaskade



Durch Bindung von Insulin an seinen Rezeptor phosphoryliert diese Tyrosinkinase sich selbst und aktiviert somit seine Funktion. Nun ist er in der Lage, die Phosphatidylinositol-3-Kinase (PIP3K) zu aktivieren. Die PIP3K aktiviert nun ihrerseits die Phosphatidylinositolkinasen (PDK1/2).

Durch zweifache Phosphorylierung überführen diese nun die Proteinkinase B (Akt) in ihren aktiven Zustand. Dieses Enzym hat zum einen eigene direkte

Wirkungen (1): Sie koppelt den Glukosemetabolismus an die oxidative Phosphorylierung, fördert das Zellwachstum und hat eine antiapoptotische Wirkung. Zum anderen (2) phosphoryliert es die Glycogensynthasekinase-3 (GSK3). In unphosphoryliertem Zustand ist dieses Enzym aktiv und hemmt die Glykogen- und Proteinsynthese. Durch das Anhängen von Phosphatgruppen wird diese nun inaktiviert; daraus resultiert eine gesteigerte Synthese von Glykogen und Proteinen.

Beim Schizophrenen ist diese Kaskade im dorsolateralen präfrontalen Kortex an einigen Stellen verändert.

Die β - Untereinheit des Insulinrezeptors, also der Teil des Rezeptors, der phosphoryliert wird, ist um etwa die Hälfte vermindert. Des Weiteren enthalten die Zellen im DLPFC beim Schizophrenen etwa 76-78% weniger Akt und auch die Aktivität des Akt ist um diesen Prozentsatz vermindert, was sich an einer verminderten Phosphorylierung messen lässt. Außerdem ist der Gehalt an GSK3 erhöht (Zhao et al. 2006). Die Veränderungen der Enzyme Akt und GSK3 können hierbei als Folgen des gestörten Insulinrezeptors betrachtet werden.

Das bedeutet also, dass beim Schizophreniepatienten durch eine herabgesetzte Anzahl an voll funktionsfähigen Insulinrezeptoren der Anabolismus und Katabolismus der Zelle gestört ist: Dieses äußert sich in einer verminderten Proteinbiosynthese, Glykogensynthese und vermindertem Zellwachstum.

Interessant ist nun hierbei, welche Rolle das Insulin abbauende Enzym hier spielen könnte. Hierbei kann man zwei verschiedene Hypothesen betrachten:

Die erste ist, dass die Störung primär am Insulinrezeptor liegt. Um diesen Fehler auszugleichen, müsste mehr Insulin vorhanden sein, um die noch vorhandenen Rezeptoren häufiger stimulieren zu können. Eine somit regulatorisch verminderte Konzentration des IDE wäre zu diesem Modell kongruent.

Passend hierzu konnte von Zhao et al. (2004) bereits gezeigt werden, dass über die Insulinrezeptorkaskade ein negativer Feedbackmechanismus zum IDE besteht: Da nämlich im Hirngewebe, anders als in anderen Körpergeweben, die Anzahl der Insulinrezeptoren nicht durch Insulin selbst beeinflusst werden kann (Boyd et al. 1983), wird einer andauernden Aktivierung der Signalkaskade mit Hilfe des IDE vorgebeugt. Hierbei scheint der PIP3K die regulierende Wirkung zuzukommen: Durch ihre Aktivierung steigt die Konzentration des IDE, bei Anwesenheit von PIP3K-Inhibitoren bleibt dieser Zuwachs aus (Zhao 2004).

In der zweiten Hypothese ist davon auszugehen, dass die verminderte Konzentration funktionsfähiger Insulinrezeptoren die sekundäre Folge eines verminderten IDEs ist: Denn liegt primär durch einen zu geringen Abbau zu viel Insulin vor, muss die Zelle sich vor dessen Wirkung durch eine Herunterregulierung der Anzahl von Insulinrezeptoren vor diesem Überangebot schützen. Jedoch wurde schon angesprochen, dass dieser Mechanismus im Hirngewebe nicht funktioniert (Boyd et al. 1983). Diese zweite Annahme würde zum Beispiel bei einem Gendefekt zutreffen; dieses wurde bereits diskutiert.

Beide Hypothesen würden also mit einer verminderten Konzentration bzw. Aktivität des IDE einhergehen; die Ergebnisse dieser Arbeit wären also mit den Theorien vereinbar.

Unter Hinzunahme des Konzeptes der Hypofrontalität scheint jedoch die erste Variante (also eine gestörte Insulinsignalkaskade mit konsekutiv herunterreguliertem IDE) plausibler zu sein: Wie schon erwähnt, zeigten Wolkin et al (1988) eine verminderte Glukoseaufnahme in die Zellen des präfrontalen Kortex im Sinne einer Hypofrontalität. Die im Gehirn für die Aufnahme von Glukose verantwortlichen Transporter sind der Glut-1 und der Glut-3 (Duelli et al. 2001). Über die Regulation dieser Transporter ist noch nicht viel bekannt, doch zumindest ist klar, dass Insulin über seine Rezeptorsignalkaskade die Expression des im Endothel befindlichen Glut-1 steigert (Duelli et al. 2001). Funktioniert diese Hochregulierung des Transporters durch eine defekte Signalkaskade nicht, bleibt die Glukoseaufnahme aus und die Zellen müssen sich mit einem geringen Stoffwechsel zufrieden geben. Ein vermindertes IDE würde versuchen, dieser Unterversorgung des Gehirns mit Glukose, wie oben beschrieben, entgegen zu wirken.

Diese Theorie geht also zusammengefasst davon aus, dass bei der Schizophrenie ein Defekt des Insulinrezeptors über eine Unterversorgung mit Glukose sowie Störungen des Zellana- und -katabolismus vorliegt, wodurch das IDE im Sinne einer Schutzmaßnahme konsekutiv vermindert exprimiert wird.

4.1.4 Neurodevelopmental-Hypothese

Cannon et al. (2002) zeigten, dass das relative Risiko, später an Schizophrenie zu erkranken, bei Kindern von Müttern, die während der Schwangerschaft an Diabetes litten, erhöht ist (OR=7,76). Erklärungsversuche hierfür lieferte van Lieshout (2008). So kann es an der durch den Diabetes erhöhten Rate an Geburtskomplikationen liegen. Auf deren Rolle für die Schizophrenie wurde oben eingegangen.

Durch die Hyperglykämie im Fetus wird im fetalen Gewebe mehr Insulin produziert, so dass es zu einer Hyperinsulinämie kommt. Durch diese Hyperinsulinämie steigt die Stoffwechselrate des Feten an, so dass die Plazenta nicht mehr in der Lage ist, genügend Sauerstoff bereit zu stellen. Es kommt zu einer Hypoxie, die die Gehirnentwicklung behindert. So könnte sich diese Theorie auch in die Neurodevelopment-Hypothese einfügen.

Andere Erklärungsansätze zielen auf eine inflammatorische Aktivierung durch die Hyperglykämie ab (van Lieshout et al. 2008).

Um dieser inflammatorischen Aktivierung entgegenzuwirken, wird Insulin benötigt, darüber hinaus auch die Insulinrezeptoren.

Passend hierzu konnte als einer der Faktoren, die bei einer neuronalen Hypoxie protektiv wirken, zumindest für die Neuronendes Gyrus dentatus des Hippocampus, Insulin (über seine Signalkaskade) identifiziert werden (Sun et al. 2010).

Als regulatorische Instanz kommt hier das IDE in Frage; eine verminderte Konzentration des IDE würde nämlich zum einen vermehrten Angebot an Insulin (Ansorge et al. 1984), zum anderen zu einer erhöhten Insulinrezeptorendichte führen (Zhao et al. 2004).

Ein Unterschied der Insulinkonzentration konnte jedoch nicht nachgewiesen werden (Horesh et al. 2010).

Offen bleibt bei diesen Annahmen jedoch, warum eine verminderte Expression des IDE ausschließlich im DLPFC von Paranoid-Schizophrenen zu finden ist.

Darüber hinaus liegen in dieser Studie keine Informationen darüber vor, ob die Mütter der Patienten an Diabetes oder Schwangerschaftsdiabetes litten bzw. ob es zu Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen gekommen ist.

Wie schon erwähnt, spaltet das IDE auch die Insulin-Growth-Factors I und II (Roth et al. 1984). Es konnte gezeigt werden, dass die Konzentration dieser Faktoren im Plasma von Schizophrenen niedriger als bei Kontrollpersonen ist (Venkatasubramanian et al. 2007). Ein verminderter IGF-I-Spiegel während der Intrauterinzeit ist mit einem verminderten Wachstum des Feten assoziiert, was, wie bereits in der Einleitung erwähnt, einen Risikofaktor für die Schizophrenieentstehung darstellt.

Darüber hinaus hat auch der IGF I, zumindest in bestimmten Hirnregionen, eine neuroprotektive Wirkung bei Hypoxie (Sun et al. 2010).

Diese Erkenntnisse sprechen dafür, dass verminderte IGF-I-Spiegel mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung einer Schizophrenie einhergehen. Da das IDE IGF abbaut, wäre also eine erhöhte IDE-Konzentration bzw. Aktivität nötig. Zumindest für die Expression dieses Enzyms konnte hier jedoch das Gegenteil gezeigt werden.

Möglich ist jedoch, dass diese im Vergleich zu Kontrollpersonen verminderten IGF-I-Spiegel bei Schizophrenen mit einem anderen gestörten Gleichgewicht von Substrat und Protease zusammenhängen; in diesem Fall könnte das IDE wieder regulatorisch verringert worden sein, um den IGF-Spiegel nicht noch weiter zu senken. Ob diese Theorie zutrifft, kann anhand dieser Arbeit jedoch keineswegs beantwortet werden.

Für den IGF II konnte eine erhöhte Blutplasmakonzentration bei mit Haloperidol behandelten Schizophrenen gezeigt werden. Hier scheint also die neuroleptische Behandlung einen Einfluss auf den Metabolismus dieses Faktors zu haben; inwieweit dem Haloperidol also doch eine Rolle für den Metabolismus des IDEs zukommen könnte, bleibt unklar.

Aber auch andere Substanzen, die zu einer regelgerechten neuronalen Entwicklung beitragen, wie GHRH, TGF α und EGF stellen Substrate des IDE dar. Es ist durchaus vorstellbar, dass es durch ein gestörtes Gleichgewicht all dieser Faktoren durch einen gestörten Metabolismus des IDE zu einer neuronalen Fehlentwicklung mit folgender psychiatrischer Erkrankung, hier also der Schizophrenie, kommen kann. Um diese Aussage zu verifizieren, bedürfte es jedoch einer Untersuchung dieser Faktoren im Gehirn bei schizophrenen Patienten.

4.1.5 Hypofrontalitätstheorie

Aber was unterscheidet nun einen paranoid Schizophrenen von anderen Schizophreniepatienten? Typisch für die paranoide Schizophrenie sind, wie in der Einleitung beschrieben, inhaltliche Denkstörungen und Halluzinationen. Das Modell von O'Donnel und Grace aus dem Jahr 1998 erklärt die Entstehung dieser Symptome durch die Hypofrontalität, die durch einen gestörten Schaltkreis zwischen präfrontalem Kortex, Nucleus accumbens, dem medialen Pallidum und dem mediodorsalen Kern des Hypothalamus bewirkt wird. Örtlich genau bezieht sich das Modell jedoch nicht auf den dorsolateralen präfrontalen Kortex; obwohl nur hier die Neuronendichte erhoben wurde, kann man jedoch sagen, dass auch in benachbarten Gebieten dieser Region eine augenscheinlich verminderte Anzahl gefärbter Neuronen zu erkennen war; dennoch müsste man hier und in den genannten Regionen noch einmal Zählungen vornehmen.

Eine Hypofrontalität des präfrontalen Kortex bedeutet eine Aktivitätsminderung, also eine Herunterregulierung bestimmter zellulärer Stoffwechselfparameter. Diese äußert sich unter anderem in einem verringertem Glukoseverbrauch (Benes et al. 2001).

Da Insulin von den Neuronen selbst produziert werden kann (Dorn et al. 1982 a, b, Degreef et al. 1992) und es die Aufnahme von Glukose über den Glut-1 (Duelli et al. 2001), der in den Endothelien der Kapillargefäße vorkommt, und eventuell über den neuronalen Glut-3 (über dessen Regulation noch nichts bekannt ist) fördert, wäre bei einer solchen Minderperfusion die verminderte Produktion von Insulin eine adäquate Lösung. Ist der Insulinspiegel niedrig, also die Aktivierung der Rezeptorsignalkaskade gering, so wird auch die Expression des IDE herunter reguliert. Um diese Hypothese zu unterstützen, müsste die Synthese des Insulins in dieser Hirnregion bei Schizophrenen mit der von Kontrollpersonen verglichen werden.

Aber die verschiedenen Pathogenesemodelle beschreiben diese Hypofrontalität auch bei den Negativsymptomen (O'Donnel et al. 1998, Stahl 2007). Diese können zwar auch bei der paranoiden Schizophrenie auftreten, sind aber charakteristisch für andere Formen der Erkrankung, wie auch für das schizophrene Residuum. Die verminderte Durchblutung und Stoffwechselrate befindet sich hier besonders im dorsolateralen präfrontalen Kortex, dessen Rolle ohnehin für die Ausbildung von Negativ-Symptomen favorisiert wird.

Falkai et al. (2008) postulierten, dass die verschiedenen transmitterabhängigen Modelle, die hier in der Einleitung beschrieben wurden, jeweils in einer bestimmten Phase der Erkrankung zum Tragen kommen. So gehen sie davon aus, dass zuerst eine Störung GABAerger Interneuronen vorherrscht, dann ein Ungleichgewicht im glutamatergen System. Beide Veränderungen führen zu Veränderungen im dopaminergen System.

Die GABAergen Interneuronen spielen eine besonders wichtige Rolle in der ventralen tegmentalen Area im Mittelhirn. Wie oben beschrieben, werden sie durch kortikale glutamaterge Projektionen stimuliert und hemmen die dopaminergen Neuronen dieser Region, die die mesolimbischen Bahnen bilden. Fallen zuerst diese Interneuronen aus, ohne dass das glutamaterge System stark beeinträchtigt ist, führt das zu einer Dopaminhyperaktivität am Nucleus accumbens mit den daraus folgenden Konsequenzen - dem Auftreten von Positivsymptomen. Fallen nun im weiteren Verlauf der Erkrankung auch glutamaterge Bahnen aus, wird ein zusätzlicher Neuronenkreis gestört, nämlich der zwischen dem Kortex und den dopaminergen Neuronen der ventralen tegmentalen Region; denn fällt die direkte Stimulation dieser dopaminergen Neuronen via NMDA-Rezeptor aus, so kommt es zu einer verminderten mesokortikalen Projektion und somit zu den Negativ-Symptomen.

Für die Ergebnisse dieser Arbeit heißt das, dass die Hypofrontalität im präfrontalen Kortex bei den paranoiden Schizophrenen sich durchaus von denen der anderen unterscheiden kann, nämlich durch eine andere Pathogenese, und dass diese Pathogenese zu der hier gefundenen verminderten Expression des IDEs führen könnte.

4.1.6 Zeitpunkt des Krankheitsbeginns und Krankheitsdauer

Wo liegen weitere Unterschiede zwischen den paranoid-halluzinatorischen und den anderen Schizophrenen?

Es fällt auf, dass die paranoid-schizophrenen Patienten in dieser Arbeit ein vergleichsweise hohes Alter hatten, als sie erkrankten. Einer war 33 Jahre alt, die anderen beiden 44 bzw. 52 Jahre, so dass sie in die Kategorie der Spätschizophrenie fallen (Howard et al. 2000).

In dieser Arbeit litten die drei paranoiden Schizophrenen, deren Gehirne für die Zählungen im dorsolateralen präfrontalen Kortex verwendet wurden, recht lange

an der Krankheit (sieben, 16 und 20 Jahre), ohne dass diese in ein schizophreses Residuum überging. Eine signifikante Korrelation zwischen Alter bei Krankheitsbeginn oder Krankheitsdauer mit den Zelldichten konnte jedoch nicht gezeigt werden.

In diesem Kontext könnte das geringere Vorhandensein des IDE im Sinne eines Schutzfaktors vor dem Übergang in eine residuale Schizophrenie gedeutet werden. Einen sicheren Anhalt oder andere Fakten, die diese Theorie unterstützen könnten, gibt es jedoch nicht, so dass es sich hier nur um Annahmen handelt.

4.1.7 Weitere Ansätze

Wie bereits in der Einleitung erwähnt wurde, stellt das IDE auch den Rezeptor für das Varizell-Zoster-Virus dar, indem es mit dem Glycoprotein E des Virus eine Bindung eingeht. Es konnte gezeigt werden, dass eine verminderte IDE-Konzentration mit einer verminderten Ausbreitung des Virus innerhalb des Körpers einhergeht, dass also eine Infektion mit dem Virus milder verläuft als unter normalen Umständen (Li et al. 2006).

Eine Assoziation zwischen VZV-Infektion und Schizophrenie konnte jedoch nicht gezeigt werden (Alexander et al. 1992). Im Falle einer bestehenden Assoziation hätte man jedoch nicht eine verringerte, sondern eine erhöhte Konzentration des IDE erwarten müssen; das ist aber ohnehin nicht der Fall.

Die Expression des IDE wird unter anderem über Mikro-RNAs geregelt. Hierbei gibt es Mikro-RNAs, die eine verminderte Expression, und solche, die eine gesteigerte Expression des Enzyms bewirken (Mirnamap.mbc.nctu.edu.tw). Eine Störung dieser Mikro-RNAs wirkt sich auf die Expression des IDEs aus. Eine verminderte IDE-Expression kann durch eine gesteigerte Aktion der hemmenden Mikro-RNAs, aber auch durch eine verminderte Aktion der fördernden Mikro-RNAs bedingt sein. Durch diese Arbeit sind solche Veränderungen nicht fassbar, dennoch könnten sie eine Erklärung für die hier gefundenen Ergebnisse darstellen.

4.2 Nucleus basalis Meynert

Im Nucleus basalis Meynert konnte keine verminderte Anzahl an IDE-exprimierenden Neuronen evaluiert werden (links: $p=0,554$, rechts: $p=0,684$).

Eine signifikante Verminderung hätte bedeutet, dass in den Zellen dieses Kerns weniger Insulin-abbauendes Enzym vorhanden gewesen wäre. Da eines seiner Substrate β -Amyloid ist, hätte das zur Folge gehabt, dass dieses seltener abgebaut wird (Kurochkin et al. 1994).

Amyloid- β wird für die Alzheimer-Pathologie verantwortlich gemacht. Es kommt im gesamten Gehirn in Form von senilen Plaques und fibrillären Ablagerungen und als Angiopathie in den Gefäßen des Gehirns (Ogomori et al. 1989), aber auch in extraneuronalen Geweben vor (Yamada et al. 1988). Dem Nucleus basalis Meynert kommt hier aber eine besondere Bedeutung zu, da eine Ablagerung von Amyloid- β in diesem Kern bei der Alzheimer'schen Demenz pathognomonisch ist (Arendt et al. 1988).

Man hätte also bei solch einem Ergebnis eine erhöhte Komorbidität von Schizophrenie und Alzheimer erwarten können. Tatsächlich finden sich bei beiden Erkrankungen erhebliche kognitive Defizite; wie gezeigt werden konnte, unterscheiden diese sich jedoch pathophysiologisch voneinander (Religa et al. 2003).

Passend zu dem Ergebnis dieser Arbeit konnte eine erhöhte Komorbidität jedoch nicht nachgewiesen werden. (Purohit et al. 1998, Heun et al. 2002). Es scheint hierbei einige Faktoren zu geben, die bei Schizophrenen vorliegen und diese Menschen vor der Alzheimerpathologie „schützen“: Zur Diskussion stehen hier die antipsychotische Medikation, der Nikotinmissbrauch, die verminderte GSK-3-Aktivität sowie das erhöhte Cathepsin K (Bernstein et al. 2010).

Verschiedene Arbeiten haben gezeigt, dass die IDE- Rolle in der Alzheimer-Pathologie komplizierter ist. So fanden Bernstein et al. (1999) heraus, dass das IDE bei Alzheimer sogar stärker exprimiert wird als in Kontrollgehirnen, was für eine Funktionsstörung des Enzyms sprechen könnte. Außerdem wird Amyloid- β auch zusätzlich durch Nepriysin abgebaut (Ling et al. 2003). Darüber hinaus besteht die Möglichkeit, dass Neuroleptika wie Haloperidol einen protektiven Effekt in Bezug auf die Entwicklung der Alzheimer-Erkrankung haben (Palotas et al. 2004). Dieses Thema soll aber nicht Inhalt dieser Arbeit sein.

Das Ergebnis, nach dem keine Unterschiede in der IDE-Expression in den Neuronen des Nucleus basalis Meynert zur Normalbevölkerung bestehen, passt also zu den klinischen Beobachtungen.

In der Einleitung wurde auf die Rolle des Kerns für die Verarbeitung von Emotionen und die vermeintliche Störung dieser Funktion bei Schizophrenie hingewiesen (Heimer 2000). Diese Arbeit hat nun zeigen können, dass diese Funktionseinschränkung nicht auf eine veränderte Expression des Insulin abbauenden Enzyms im Nucleus basalis Meynert zurückzuführen ist.

4.3 Nucleus paraventricularis und supraopticus

Auch in den beiden hypothalamischen Kernen Nucleus paraventricularis und Nucleus supraopticus konnte kein signifikanter Unterschied der Dichte der mit Anti-IDE dargestellten Zellen nachgewiesen werden. In der Grafik ist zwar insgesamt ein Trend zu erkennen, aufgrund der hohen Standardabweichungen erreicht dieser jedoch keine Signifikanz. Auch nach der Aufteilung in die Subtypen der Schizophrenie unterscheiden sich die gemessenen Werte nicht von denen der Kontrollen, insbesondere nicht bei der paranoiden Subgruppe. Bei den Patienten mit einem schizophrenen Residuum sieht man in der Grafik auch einen Trend; statistisch ist er aber nicht zu erkennen. Es stellt sich hier die Frage, ob man diese beiden Kerne mit der gleichen Fragestellung, aber einer größeren Stichprobe nur dieser Subgruppe noch einmal untersuchen sollte; ein signifikantes Ergebnis ließe sich somit vielleicht erzielen. In diesem Rahmen muss ich aber das nicht-signifikante Ergebnis hinnehmen und in den Kontext einbringen.

Wie oben aufgeführt, ist das IDE in der Lage β -Endorphin in γ -Endorphin zu spalten (Safavi et al. 1996). β -Endorphin ist eines der vielen Produkte aus Proopiomelanocortin und entsteht aus dessen Spaltprodukt β -Lipotropin. Im Gehirn kommt es in vielen verschiedenen Regionen vor, hervorzuheben ist aber besonders der Hypothalamus (Emson et al. 1984), wobei von hier aus die beiden untersuchten Kerne innerviert werden.

Das γ -Endorphin wird von dem IDE weiter in nicht-opioide Fragmente gespalten (Safavi et al. 1996).

Diese nicht-opioiden Fragmente DT gamma E und DE gamma E wurden als endogene Antipsychotika identifiziert (Verhoeven et al. 1979, van Praag et al.

1982, Azorin et al. 1990). Ihre Wirkungsweise ist aber eine andere als die von „herkömmlichen“ Neuroleptika (van Praag et al. 1982); ihre Wirkung beschränkt sich vorwiegend auf Positivsymptome (van Ree et al. 1985). Störungen des Endorphin-Haushaltes mit einer verminderten Produktion dieser antipsychotisch wirkenden Bruchstücke könnten einen Bestandteil der Pathogenese der Schizophrenie darstellen.

Passend hierzu konnte gezeigt werden, dass bei Schizophrenen eine verminderte β -endorphinerge Innervation des Nucleus paraventricularis im Vergleich zu Kontrollen besteht (Bernstein et al. 2002).

Wiegant et al. (1988) zeigten, dass der Gehalt des Hypothalamus an β -Endorphin bei Schizophrenen im Vergleich zu Kontrollpersonen nicht verändert ist, der Gehalt an α - und γ -Endorphinen, welche beide aus β -Endorphin entstehen, bei den Schizophrenen jedoch signifikant erhöht ist. Tatsächlich scheint also der Endorphinmetabolismus bei Schizophrenen gestört zu sein.

Interessant wäre es, zu wissen, wie es sich mit der Konzentration der Spaltprodukte DT-gamma E und DE-gamma E verhält.

Man könnte postulieren, dass ein verminderter Gehalt an IDE eine verminderte Produktion der Endorphin-Fragmenten nach sich ziehen würde, wodurch deren psychose-verhindernde Wirkung geschwächt werden und es zu Symptomen einer Schizophrenie kommen würde. Diese Annahme kann aber durch diese Arbeit, die ja keinen signifikanten Unterschied in der Expression des IDE in diesen beiden Kernen zeigte, nicht unterstützt werden.

Bislang ist ein weiteres Enzym identifiziert worden, welches in der Lage ist, β -Endorphin zu spalten: Cathepsin K. Der Metabolismus der Endorphine scheint mehr von diesem Enzym als vom IDE abzuhängen (Lendeckel et al. 2009).

4.4 Grenzen durch die Methodik

Der Deutung der Ergebnisse dieser Arbeit sind Grenzen gesetzt. Dieses hängt mit der Methodik der Arbeit zusammen: Durch die immunhistochemische Färbetechnik lässt sich nur eine quantitative Aussage über das untersuchte Enzym machen. Man kann also keine Aussagen über die Qualität, also die Funktion des Enzyms treffen, genauso wenig kann man sagen, wie hoch die Konzentration des IDE in den Zellen ist; diese Tatsachen lassen nur einen Vergleich der Anzahl gefärbter Zellen zwischen zwei Diagnosegruppen zu. Zwar konnte durch die parallele Zählung der Nissl-gefärbten Schnitte und durch vorhergehende histologische Arbeiten (Cullen et al. 2006) bewiesen werden, dass sich die Anzahl aller Neuronen bei Schizophrenen nicht von der der Kontrollen unterscheidet, so dass das Ergebnis dieser Arbeit aussagekräftig ist. Ich konnte zwar keine Unterschiede in der Intensität der Färbung zwischen Kontrollen und Schizophrenen feststellen, dennoch ist eine Aussage über die Enzymaktivität, wie schon gesagt, keinesfalls möglich. Wie in der Einleitung beschrieben, unterliegt das IDE jedoch verschiedenen Regulationsmechanismen. Diese Tatsache kann in dieser Arbeit nicht berücksichtigt werden, so dass eine Fehlinterpretation der Rolle des IDE für den (neuronalen) Metabolismus und für die Schizophrenie durch diese Arbeit nicht auszuschließen ist.

Darüber hinaus ist der Stichprobenumfang insbesondere nach Unterteilung der Gruppe der Schizophrenen in Subgruppen gering. Es sind zwar klare Signifikanzen erkennbar; dennoch bleibt bei einer Gruppengröße von $N = 3$ ein gewisses Misstrauen.

5. Zusammenfassung

Im dorsolateralen präfrontalen Kortex von Schizophrenen mit einer paranoiden Schizophrenie konnte eine signifikante Verminderung der Zellanzahl, die das Insulin abbauende Enzym exprimieren, im Vergleich zu Kontrollen gefunden werden.

Angesichts der Tatsache, dass wir bis heute nur sehr wenig über die vielfältigen neurobiologischen Mechanismen und ihre Rolle für psychiatrische Erkrankungen wissen, ist die Deutung des Ergebnisses dieser Arbeit schwierig. Es stellt sich die Frage, ob diese Verminderung Ursache oder Folge der Erkrankung ist.

Viele Punkte sprechen dafür, dass es sich um eine Folge der Schizophrenie handelt; so könnte es einerseits Folge der von Zhao aufgedeckten gestörten Insulinrezeptorsignalkaskade im DLPFC sein, wodurch diese Region in einen Ruhezustand versetzt wird und es zu einer herabgesetzten Aktivierung dieser Region kommt; andererseits könnte die Verminderung des Enzyms infolge eines heruntergefahrenen Stoffwechsels dieser Hirnregion durch die Hypofrontalität bedingt sein, die durch die Störung des kortiko-striato-pallido-thalamo-kortikalen Schaltkreises entstanden ist.

Aber die verminderte Expression des IDE könnte auch Ursache der Erkrankung sein, wobei hier die mögliche Rolle des Enzyms für die neuronale Entwicklung zum Tragen kommt.

Viele Fragen bleiben offen, und so müssen in Zukunft noch weitere Arbeiten folgen, um die Rolle des untersuchten Enzyms für die Schizophrenie weiter zu entschlüsseln.

6. Literaturverzeichnis

6.1 Zeitschriftenbeiträge

1. Akiyama H, Shii K, Yokono K, Yonezawa K, Sato S, Watanabe K, Baba S: Cellular localization of insulin-degrading enzyme in rat liver using a monoclonal antibodies specific for this enzyme. *Biochem Biophys Res Commun*, September 1988; 155 (2): S. 914-922.
2. Alexander RC, Cabirac G, Lowenkopf T, Casanova M, Kleinman J, Wyatt RJ, Kirch DG: Search for evidence of herpes simplex virus, type 1, or varicella-zoster virus infection in postmortem brain tissue from schizophrenic patients. *Acta Psychiatr Scand*, 1992 Nov; 86 (5): S. 418-420.
3. Andreasen NC, O'Leary DS, Flaum M, Nopoulos P, Watkins GL, Boles Ponto LL, Hichwa RD: Hypofrontality in schizophrenia: distributed dysfunctional circuits in neuroleptic-naive patients. *Lancet*, Juni 1997; 349 (9067): S. 1730-1734.
4. Andréasson S, Allebeck P, Engstrom A, Rydberg U: Cannabis and schizophrenia. A longitudinal study of Swedish conscripts. *Lancet*, 1987; 2: S. 1483-1486.
5. Ansorge S, Bohley P, Kirschke H, Langner J, Wiederanders B: The insulin and glucagon degrading proteinase of rat liver: a metal-dependent enzyme. *Biomed Biochim Acta*, 1984; 43 (1): S. 39-46.
6. Arendt T, Taubert G, Bigl V, Arendt A: Amyloid deposition in the Nucleus basalis of Meynert complex: a topographic marker for degenerating cell clusters in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol*, 1988; 75 (3): S. 226-232.
7. Authier F, Rachubinski RA, Posner BI, Bergeron JJ: Endosomal proteolysis of insulin by an acidic thiol metalloprotease unrelated to insulin degrading enzyme. *J Biol Chem*, Januar 1994; 269 (4): S. 3010-3016.
8. Azorin JM, Blum A, Charbaut J, Escande M, Granier F, Huber JP, Metzger JY, Richou H, Sitsen A, Van Amerongen P, et al.: Des-enkephalin-gamma-endorphin in the treatment of schizophrenia. *Int Clin Psychopharmacol*, Juli 1990; 5 (3): S. 205-215.

9. Balu DT, Coyle JC: Neuroplasticity signaling pathways linked to the pathophysiology of schizophrenia. *Neurosci Biobehav Rev*, Januar 2011; 35(3): S. 848-870.
10. Bearden CE, Rosso IM, Hollister JM, Sanchez LE, Hadley T, Cannon TD: A prospective cohort study of childhood behavioral deviance and language abnormalities as predictors of schizophrenia. *Schizophr Bulletin*, 2000; 26 (2): S. 395-410.
11. Benes FM, Berretta S: GABAergic Interneurons: Implications for Understanding Schizophrenia and Bipolar Disorder. *Neuropsychopharmacology*, 2001; 25 (1): S. 1-27.
12. Bennett RG, Duckworth WC, Hamel FG: Degradation of amylin by insulin-degrading enzyme. *J Biol Chem*, November 2000; 275(47): S. 36621-36625.
13. Bennett RG, Hamel FG, Duckworth WC: Identification and Isolation of a cytosolic proteolytic complex containing insulin degrading enzyme and the multicatalytic proteinase. *Biochem Biophys Res Commun*, Juli 1994, 202 (2): S. 1047-1053.
14. Bernstein HG, Ansorge L, Riederer P, Reiser M, Frölich L, Bogerts B: Insulin-degrading enzyme in the Alzheimer's disease brain: prominent localization in neurons and senile plaques. *Neuroscience letters*, Februar 1999; 263: S. 161-164.
15. Bernstein HG, Baumann B, Danos P, Diekmann S, Bogerts B, Gundelfinger ED, Braunewell KH: Regional and cellular distribution of neural visinin-like protein immunoreactivities (VILIP-1 and VILIP-3) in human brain. *J Neurocytol*, August 1999; 28 (8): S. 655-662.
16. Bernstein HG, Krell D, Emrich HM, Baumann B, Danos P, Diekmann S, Bogerts B: Fewer beta-endorphin expressing arcuate nucleus neurons and reduced beta-endorphinergic innervation of paraventricular neurons in schizophrenics and patients with depression. *Coll Mol Biol*, 2002; 48. Online Pub: OL259-65.
17. Bernstein HG, Lendeckel U, Bukowska A, Ansorge S, Ernst T, Stauch R, Trübner K, Steiner J, Dobrowolny H, Bogerts B: Regional and cellular distribution patterns of insulin-degrading enzyme in adult human brain and pituitary. *J Chem Neuroanat*, März 2008; 35(2): S. 216-224.

18. Bernstein HG, Ernst T, Lendeckel U, Bukowska A, Ansorge S, Stauch R, Ten Have S, Steiner J, Dobrowolny H, Bogerts B: Reduced neuronal expression of insulin-degrading enzyme in the dorsolateral prefrontal cortex of patients with haloperidol-treated, chronic schizophrenia. *Journal of Psychiatric Research*, September 2009; 43(13): S. 1095-1105.
19. Bernstein HG, Keilhoff G, Steiner J, Dobrowolny H, Bogerts B: The Hypothalamus in Schizophrenia Research: No Longer a Wallflower Existence. *The Open Neuroendocrinology Journal*, 2010; 3: S. 59-67.
20. Boyd FT Jr, Raisada MK: Effects of insulin and tunicamycin on neuronal insulin receptors in culture. *Am J Physiol*, September 1983; 245 (3): S. 283-287.
21. Brisch R, Bernstein HG, Krell D, Stauch R, Trübner K, Dobrowolny H, Kropf S, Bielau H, Bogerts B: Volumetric analysis of septal region in schizophrenia and affective disorder. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, April 2007; 257 (3): 140-148.
22. Brown AS, Schaefer CA, Wyatt RJ, Goetz R, Begg MD, Gorman JM, Susser ES: Maternal exposure to respiratory infections and adult schizophrenia spectrum disorders: a prospective birth cohort study. *Schizophr Bull*, 2000; 26 (2): S. 287-295.
23. Brown AS, Cohen P, Greenwald S, Susser E: Nonaffective psychosis after prenatal exposure to rubella. *Am J Psychiatry*. März 2000; 157 (3): S. 438-443.
24. Buchsbaum, MS DeLisi LE, Holcomb HH, Cappalletti J, King AC, Johnson J, Hazlett E, Dowling-Zimmermann S, Post RM, Morihisa J, et al.: Anteroposterior gradients in cerebral glucose use in schizophrenia and affective disorders. *Arch Gen Psychiatry*, Dezember 1984; 41 (12): S. 1159-1166.
25. Bulloj A, Leal MC, Curace EI, Zhang X, Xu H, Ledesma MD, Castano EM, Morelli L: Detergent resistant membrane-associated IDE in cultured cells and brain tissue: Relevance to Abeta and insulin degradation. *Mol Neurodegener*, Dezember 2008; 3 (1): S. 22.
26. Bushe C, Holt R: Prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance in patients with schizophrenia. *Br J Psychiatry*, April 2004, 47: S. 67-71.

27. Cannon M, Jones PB, Murray RM: Obstretic complications and schizophrenia: historical and meta-analytic review. *Am J Psychiatry*, Mai 2003; 159 (7): S. 1080-1092.
28. Casey DE: Metabolic issues and cardioavascular disease in patients witch psychiatric disorders. *Am J Med*, April 2005, 118 (Suppl 2): S. 15-22.
29. Castle DJ, Murray RM: The neurodevelopmental basis of sex differences in schizophrenia. *Psychol Med*, August 1991; 21 (3): S. 565-575.
30. Compton MT, Brudno J, Kryda AD, Bollini AM, Walker EF: Facial measurements differences between patients with schizophrenia and non-psychiatric controls. *Schizophr Research*, Juli 2007; 93 (1-3): S. 245-252.
31. Cullen TJ, Walker MA, Eastwood SL, Esiri MM, Harrison PJ, Crow TJ: Anomalies of asymmetry of pyramidal cell density und structuere in dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia, *Br J Psychiat*, Januar 2006; 188: S. 26-31.
32. Dalack GW, Healy DJ, Meador-Woodruff JH: Nicotine Dependence in Schizophrenia: Clinical Phenomena and Laboratory Findings. *Am J Psychiat*, 1998; 155: S. 1490-1501.
33. Degreeef G, Bogerts B, Falkai P, Greve B, Lantos G, Ashtari M, Lieberman J.: Increased prevalence of the cavum septum pellucidum in magnetic resonance scans and post-mortem brains of schizophrenic patients. *Psychiatry Res*, Mai 1992; 45 (1): S. 1-13.
34. De Hert M, Van Winkel R, Van Eyck R, Hanssens L, Wampers M, Scheen A, Peuskens J: Prevalence of diabetes, metabolic syndrome and metabolic abnormalities in schizophrenia over the course of the illness: a cross-sectional study. *Clin Pract Epidemiol Ment Health*, Juni 2006, 2: S. 14.
35. Devlin B, Klei L, Myles-Worsley M, Tiobech J, Otto C, Byerley W, Roeder K: Genetic liability to schizophrenia in Oceanic Palau: a search in the affected and maternal generation. *Hum Genet*, Juli 2007, 121 (6): S. 675-84

36. Dolan RJ, Bech CJ, Liddle PF, Friston KJ, Frith CD, Graspy PM, Frackowiak RS: Dorsolateral prefrontal cortex dysfunction in the major psychoses: symptom or disease specificity? *J Neurol Neurosurg Psychiatr*, Dezember 1993; 56 (12): S 1290-1294.
37. Dorn A, Bernstein HG, Rinne A, Hahn HJ, Ziegler M: Insulin-like immunoreactivity in the human brain- A preliminary report. *Histochemistry*, 1982; 74 (2): 293-300.
38. Dorn A, Rinne A, Hahn HJ, Bernstein HG, Ziegler M: C-peptide immunoreactive neurons in human brain. *Acta Histochem*, 1982; 70 (2): 326-330.
39. Duelli R, Kuschinsky W: Brain glucose transporters: relationship to local energy demand. *News Physiol Sci*, April 2001; 16: S. 71-76.
40. Dwyer DS, Bradley RJ, Kablinger AS, Freeman AM 3rd: Glucose metabolism in relation to schizophrenia and antipsychotic drug treatment. *Ann Clin Psychiatry*, Juni 2001; 13 (2): S. 103-113.
41. El-Mallakh RS, Kirch DG, Shelton R, Fan KJ, Pezeshkpour G, Kanhouwa S, Wyatt RJ, Kleinmann JE: The nucleus of Meynert, senile plaques, and intellectual impairment in schizophrenia. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 1991; 3 (4): S. 383-386.
42. Emson PC, Corder R, Ratter CJ, Tomlin S, Lowry PJ, Rens LH, Arregui A, Rosser MN: Regional distribution of pro-opiomelanocortin-derived peptides in the human brain. *Neuroendocrinology*, Januar 1984; 38 (1): S. 45-50.
43. Erkwow R, Sabri O, Steinmeyer EM, Bull U, Sass H: Psychopathological and SPECT findings in never-treated schizophrenia. *Acta Psychiatr Scand*, Juli 1997; 96 (1): 51-57.
44. Falkai P, Wobrock T, Schneider-Axmann T, Gruber O: Schizophrenia as a brain disorder and its development. *Fortschr Neurol Psychiatr*, Mai 2008; 76 (1): S. 63-67.
45. Fruntes V, Limosin F: Schizophrenia and viral infection during neurodevelopment: a pathogenesis model? *Med Sci Monit*, Juni 2008; 14 (6): S. RA71-77.

46. Ganguli R, Brar JS, Chengappa KN, Yang ZW, Nimgaonkar VL, Rabin BS: Autoimmunity in schizophrenia: a review of recent findings. *Ann Med*, Oktober 1993; 25 (5): S. 489-496.
47. Garcia JV, Gehm BD, Rosner MR: An evolutionarily conserved enzyme degrades transforming growth factor-alpha as well as insulin. *J Cell Biol*, September 1989; 109 (3): S. 1301-1307.
48. Goldman M, Marlow-O'Connor M, Torres I, Carter CS: Diminished plasma oxytocin in schizophrenic patients with neuroendocrine dysfunction and emotional deficits. *Schizophr Res*, Januar 2008; 98 (1-3): 247-255.
49. Hamel FG, Bennett RG, Duckworth WC: Regulation of multicatalytic enzyme activity by insulin and the insulin-degrading enzyme. *Endocrinology*, Oktober 1998; 139 (10): S. 4061-4066.
50. Harada S, Smith RM, Hu DQ, Jarett L: Dexamethasone inhibits insulin binding to insulin-degrading enzyme and cytosolic insulin-binding protein p82. *Biochem Biophys Res Commun*, Januar 1996; 218 (1): S. 154-158.
51. Heimer L: Basal forebrain in the context of schizophrenics. *Brain Res Rev*, März 2000; 31 (2-3): S. 205-235.
52. Hern EP, Shroyer LA, Varandani PT: Insulin-degrading neutral cysteine proteinase activity of adipose tissue and liver of nondiabetic, streptococin-diabetic and insulin-treated diabetic rats. *Arch Biochem Biophys*, 1987; 254 (1): S. 35-42.
53. Heun R, Kockler M, Ptom U: Psychiatric disorders in relatives of subjects with Alzheimer's disease. No evidence for common genetic risk factors. *Eur Arch Psychiatry Cli Neurosci*, April 2002; 252 (2): S. 93-97.
54. Hollister JM, Laing P, Mednick SA: Rhesus incompatibility as a risk factor for schizophrenia in male adults. *Arch Gen Psychiatry*, Januar 1996; 53 (1): 19-24.
55. Horesh Y, Katsel P, Haroutunian V, Domany E: Gene expression signature is shared by patients with Alzheimer's disease and Schizophrenia at the superior temporal gyrus. *Eur J Neurol*, Juli 2010.

56. Im H, Manolopoulou M, Malito E, Shen Y, Zhao J, Neant-Fery M, Sun CY, Meredith SC, Sisodia SS, Leissring MA, Tang, WJ: Structure of Substrate-free Human Insulin-degrading Enzyme (IDE) and Biophysical Analysis of ATP-induced Conformational Switch of IDE. *J Biol Chem*, August 2007, 282 (35): S. 25453-25463.
57. Inoshuas BS, Matuliavichus VA, Ostrauskas RV, Brazauskas AP, Vareikis EI: Blood insulinase activity in patients with diabetes mellitus. *Ter Arkh*, 1987; 59 (11): S. 12-15.
58. Ishunina TA, Swaab DF: Vasopressin and oxytocin neurons of the human supraoptic and paraventricular nucleus: size and changes in relation to age and sex. *J Clin Endocrinol Metab*, Dezember 1999; 84 (12): 4637-4644.
59. Johnstone EC, Ebmeier KP, Miller P, Owens DGC, Lawrie SM: Predicting schizophrenia: findings from the Edinburgh High-Risk Study. *British Journal of Psychiatry*, 2005; 186: S. 18-25.
60. Jolivald CG, Lee CA, Beiswenger KK, Smith JL, Orlov M, Torrance MA, Masliah E: Defective insulin signaling pathway and increased glycogen synthase kinase-3 activity in the brain of diabetic mice: parallels with Alzheimer's disease and correction by insulin. *J Neurosci Res*, November 2008; 86 (15): S. 3265-3274.
61. Jones EG, Burton H, Saper CB, Swanson LW: Midbrain, diencephalic and cortical relationships on the basal nucleus of Meynert and associated structures in primates. *J Comp Neurol*, Juni 1975; 167 (4): S. 385-419.
62. Juvonen H, Reunanen A, Haukka J, Muhonen M, Suvisaari J, Arajärvi R, Partonen T, Lönnqvist J: Incidence of schizophrenia in a nationwide cohort of patients with type I diabetes mellitus. *Arch Gen Psychiatry*, August 2007; 64 (8): S. 894-899.
63. Kehrer C, Maziashville N, Dugladze T, Glovelli T: Altered excitatory-inhibitory balance in the NMDA-hypofunction model of schizophrenia. *Frontiers. Molecular Neuroscience*, April 2008; 1 (6): S. 1-7.
64. Kéri S, Kiss I, Kelemen O: Sharing secrets: oxytocin and trust in schizophrenia. *Soc Neurosci*, 2009; 4(4): S. 287-293.

65. King S, Laplante D, Joobor R: Understanding putative risk factors for schizophrenia: retrospective and prospective studies. *J Psychiatry Neurosci*, September 2005; 30 (5): S. 342-348.
66. Kohen D: Diabetes mellitus and schizophrenia: historical perspective. *Br J Psychiatry Suppl*, April 2004; 47: S. 64-66.
67. Kornhuber J, Wiltfang J, Riederer P, Bleich S: Neuroleptic drugs in the human brain: clinical impact of persistence and region-specific distribution. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, August 2006; 256 (5): S. 274-280.
68. Kuo WL, Montag AG, Rosner MR: Insulin-degrading enzyme is differentially expressed and developmentally regulated in various rat tissue. *Endocrinology*, Februar 1993; 132 (2): S. 604-611.
69. Kupfer SR, Wilson EM, French FS: Androgen and glucocorticoid receptors interact with insulin degrading enzyme. *J Biol Chem*, August 1994; 269 (32): S. 20622-20628.
70. Kurochkin IV, Goto S: Alzheimer's beta-amyloid peptide specifically interacts with and is degraded by insulin degrading enzyme. *FEBS Lett*, Mai 1994; 345 (1): S. 33-37.
71. Lagodka A, Robert P: Is late-onset schizophrenia related to neurodegenerative processes? A review of literature. *Encephale*, September 2009; 35 (4): S. 386-393.
72. Lambert BL, Chou CM, Chang KY, Tafesse E, Carson W: Antipsychotic exposure of type 2 diabetes among patients with schizophrenia: a matched case-control study of California Medicaid claims. *Pharmakoepidemiolo Drug Saf*, Juni 2005; 14 (6): S. 417-425.
73. Lane A, Kinsella A, Murphy P, Byrne M, Keenan J, Colgan K, Cassidy B, Sheppard N, Horgan R, Waddington JL, Larkin C, O'Callaghan E: The anthropometric assessment of dysmorphic features in schizophrenia as an index of its developmental origins. *Psychol Med*, September 1997; 27 (5): S. 1155-1164.

74. Lendeckel U, Kähne T, Have ST, Bukowska A, Wolke C, Bogerts B, Keilhoff G, Bernstein HG: Cathepsin K generates enkephalin from b-endorphin: A new mechanism with possible relevance for schizophrenia. *Neurochemistry International*, Juni 2009; 54 (7): S. 410-417.
75. Lerer B, Segman RH, Hamden A, Kanyas K, Karni O, Kohn Y, Korner M, Lanktree M, Kaadan M, Turetsky N, Yakir A, Kerem B, Macciardi F: Genome scan of Arab Israeli families maps a schizophrenia susceptibility gene to chromosome 6q23 and supports a locus at chromosome 10q24. *Mol Psychiatry*, Mai 2003; 8 (5): S. 488-498.
76. Li Q, Ali MA, Cohen JI.: Insulin degrading enzyme is a cellular receptor mediating varicella-zoster virus infection and cell-to-cell spread. *Cell*, Oktober 2006; 127 (2): S. 305-316.
77. Ling Y, Morgan K, Kalsheker N: Amyloid precursor protein (APP) and the biology of proteolytic processing: relevance to Alzheimer's disease. *Int J Biochem Cell Biol*, November 2003; 35 (11): S. 1505-1535.
78. Lu J, Pan C, Tian H: A study of insulin sensitivity and its related factors in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus and impaired glucose tolerance. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi*, Oktober 1996; 35 (10): S. 678-681.
79. Mala E: Schizophrenia in childhood and adolescence. *Neuro Endocrinol Lett*, Dezember 2008; 29 (6): S. 831-836.
80. Mortensen PB, Pedersen CB, Westergaard T, Wolfahrt J, Ewald H, Mors O, Andersen PK, Melbye M: Effects of family history and place and season of birth on the risk of schizophrenia. *N Engl J Med*, Februar 1999; 340 (8): S. 603-608.
81. Mowry BJ, Ewen KR, Nancarrow DJ, Lennon DP, Nertney DA, Jones HL, O'Brien MS, Thornley CE, Walters MK, Crowe RR, Silverman JM, Endicott J, Sharpe L, Hayward NK, Gladis MM, Foote SJ, Levinson DF: Second stage of a genome scan of schizophrenia: study of five positive regions in an expanded sample. *Am J Med Genet*, Dezember 2000, 96 (6): S. 864-869.
82. Müller D, Baumeister H, Buck F, Richter D: Atrial natriuretic peptide (ANP) is a high-affinity substrate for rat insulin-degrading enzyme. *Eur J Biochem*, Dezember 1991; 202 (2): S. 285-292.

83. Neant-Fery M, Garcia-Ordoñez RD, Logan TP, Selkoe DJ, Li L, Reinstatler L, Leissring MA: Molecular basis for the thiol sensitivity of insulin-degrading enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA*, Juli 2008; 105 (28): S. 9582-9587.
84. O'Donnel P, Grace AA: Dysfunction in multiple interrelated systems as the neurobiological basis of schizophrenic symptom clusters. *Schizophr Bulletin*, 1998; 24 (2): S. 267-283.
85. Ogomori K, Kitamoto T, Tateishi J, Sato Y, Suetsugu M, Abe M: Beta-protein amyloid is widely distributed in the central nervous system of patients with Alzheimers'disease. *Am J Pathol*, Februar 1989; 134 (2): S. 243-251.
86. Palotas A, Penke B, Palotas M, Kenderessy AS, Kemeny L, Kis E, et al: Haloperidol attenuates beta-amyloid-induced calcium imbalance in human fibroblasts. *Skin Pharmacology and Physiology*, 2004; 17: S. 195-199.
87. Pearce JMS: The nucleus of Theodor Meynert (1833-1892). *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2003; 74: S. 1358.
88. Purohit DP, Perl DP, Haroutunian V, Powchik P, Davidson M, Davis KL: Alzheimer disease and related neurodegenerative diseases in elderly patients with schizophrenia: a postmortem neurodegenerative study of 100 cases. *Arch Gen Psychiatry*, März 1998; 55 (3): S. 205-211.
89. Qin W, Jia J: Down-regulation of insulin-degrading enzyme by presenilin 1 V97L mutant potentially underlies increased levels of amyloid beta. *Eur J Neurosci*, Mai 2008; 27 (9): S. 2425-2432.
90. Religa D, Laudon H, Styczynska M, Winblad B, Näslund J, Haroutunian V: Amyloid beta pathology in Alzheimer's disease and schizophrenia. *American Journal of Psychiatry*, 2003; 160: S. 867-872.
91. Roth RA, Mesriow ML, Yokono K, Baba S: Degradation of insulin-like growth factors I and II by a human insulin degrading enzyme. *Endocr Res*, 1984; 10 (2): S. 101-112.

92. Ryan MC, Collins P, Thakore JH: Impaired fasting glucose tolerance in first-episode, drug-naive patients with schizophrenia. *Am J Psychiatry*, Oktober 2004; 160 (2): S. 284-289.
93. Saddichha S, Manjunatha N, Ameen S, Akhtar S: Diabetes in schizophrenia – effect or drug? Results from a randomized, double-blind, controlled prospective study in first-episode schizophrenia. *Acta Psychiatr Scand*, Mai 2008; 117 (5): S. 342-347
94. Safavi A, Miller BC, Cottam L, Hersh LB: Identification of gamma-endorphin-generating enzyme as insulin-degrading enzyme. *Biochemistry*, November 1996, 35 (45): S. 14318-14325.
95. Sánchez-Wandelmer J, Dávalos A, de la Peña G, Cano S, Giera M, Canfrán-Duque A, Bracher F, Martín-Hidalgo A, Fernández-Hernando C, Lasunción MA, Busto R. Haloperidol disrupts lipid rafts and impairs insulin signaling in SH-SY5Y cells. *Neuroscience*, April 2010; 167 (1): S. 143-53.
96. Saric T, Müller D, Seitz HJ, Pavelic K: Non-covalent interaction of ubiquitin with insulin-degrading enzyme. *Mol Cell Endocrinol*, Juni 2003; 204 (1-2): S. 11-20.
97. Sernyak MJ, Leslie DL, Alarcon RD, Losonczy MF, Rosenheck R: Association of diabetes mellitus with use of atypical neuroleptics in the treatment of schizophrenia. *Am J Psychiatry*, April 2002, 159 (4): S. 561-566
98. Sharafi M: Comparison of Classical and Clozapine Treatment on Schizophrenia Using Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) and SPECT Imaging. *Int J Med Sci*, 2005; 2 (2): S. 79-86.
99. Shen Y, Joachimiak A, Rosner MR, Tang WJ: Structures of human insulin-degrading enzyme reveal a new substrate recognition mechanism. *Nature*, Oktober 2006; 443 (7113): S. 870-874.
100. Siuta MA, Robertson SD, Kocalis H, Saunders C, Gresch PJ, Khatri V, Shiota C, Kennedy JP, Lindsley CW, Daws LC, Polley DB, Veenstra-Vanderweele J, Stanwood GD, Magnuson MA, Niswender KD, Galli A: Dysregulation of the norepinephrine transporter sustains cortical hypodopaminergia and schizophrenia-like behaviors in neuronal retractor null mice. *PLoS Biol*, Juni 2010; 8(6): e1000393.

101. Song ES, Juliano MA, Juliano L, Hersh LB: Substrate activation of insulin-degrading enzyme (insulysin). A potential target for drug development. *J Biol Chem*, Dezember 2003, 278(50): S. 49789-49794.
102. Song ES, Juliano MA, Juliano L, Fried MG, Wagner SL, Hersh LB: ATP effects on insulin degrading enzyme are mediated primarily through its triphosphate moiety. *J Biol Chem*, Dezember 2004; 279 (52): S. 54216-54220.
103. Song ES, Hersh LB: Insulysin: an allosteric enzyme as target for Alzheimer's disease. *J Mol Neurosc*, Februar 2005; 25 (3): S. 201-206.
104. Stahl, SM: Beyond the dopamin hypothesis to the NMDA glutamate receptor hypofunction hypothesis of schizophrenia. *CNS Spectr*, 2007; 12 (4): S. 265-268.
105. Standi E, Kolb HJ: Insulin degrading enzyme activity and insulin binding of erythrocytes in normal subjects and Type (non-insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia*, Juli 1984; 27 (1): S. 17-22.
106. Subramaniam M, Chong SA, Pek E: Diabetes mellitus and impaired glucos tolerance in patients with schizophrenia. *Can J Psychiatry*, Juni 2003, 48 (5): S. 345-347.
107. Sun X, Yao H, Douglas RM, Gu XQ, Wang J, Haddad GG: Insulin/PI3K signalling protects dentate neurons from oxygen-glucose deprivation in organotypic slice cultures. *J Neurochem*, Januar 2010, 112 (2): S. 377-388.
108. Suvisaari J, Haukka J, Tanskanen A, Hovi T, Lönnqvist J: Association between prenatal exposure to poliovirus infection and adult schizophrenia. *Am J Psychiatry*. Juli 1999; 156 (7): S. 1100 – 1102.
109. Teixeira JMA, Fisk NM, Glover V: Association between maternal anxiety in pregnancy and increased uterine artery resistance index: cohort based study. *BMJ*, Januar 1999; 318: S. 153-157.
110. Udrisar DP, Wanderley MI, Porto RC, Cardoso CL, Barbosa MC, Camberos MC, Cresto JC: Androgen-and estrogen-dependent regulation of insulin-degrading enzyme in subcellular fractions of rat prostate and uterus. *Exp Biol Med (Maywood)*, Juli 2005; 230 (7): S. 479-486.

111. Ulfing N: Configuration of the magnocellular nuclei in the basal forebrain of the human adult. *Acta Anat (Basel)*, 1989; 134 (2): S. 100-105.
112. Van Praag HM, Verhoeven WM, van Ree JM, de Wied D: The treatment of schizophrenic psychoses with gamma-type endorphins. *Biol Psychiatry*, Januar 1982; 17 (1): S. 83-98.
113. Van Lieshout RJ, Voruganti LP: Diabetes mellitus during pregnancy and increased risk of schizophrenia in offspring: a review of the evidence and putative mechanisms. *Rev Psychiatr Neurosci*, 2008; 33 (5): S. 395-404.
114. Van Ree JM, Verhoeven WM, De Wied D: Gamma-type andorphins: neurolepticum-like and antipsychotic action. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 1985; 9 (5-6): S. 561-567.
115. Venkatasubramanian S, Chittiprol C, Neelakantachar N, Naveen MN, Thirhall J, Gangadhar BN, et al.: Insulin and Insulin-like growth factor-1 abnormalities in antipsychotic naive schizophrenia. *American Journal of Psychiatry*, 2007; 164: S. 1557-1560.
116. Verhoeven VM: Antipsychotic efficacy of neuroleptic neuropeptides in schizophrenia. Review of clinical data. *Encephale*, November – Dezember 1987, 13(6): S. 349-356.
117. Verhoeven WM, van Praag HM, van Ree JM, de Wied D: Improvement of schizophrenic patients treated with [des-Tyr-1]-gamma-endorphin (DT-gammaW). *Arch Gen Psychiatry*, März 1979; 36 (3): S. 294-298.
118. Wahlbeck K, Forsén F, Barker DJ, Eriksson JG: Association of schizophrenia with low maternal body mass index, small size at birth, and thinness during childhood. *Arch Gen Psychiatry*, Januar 2001; 58 (1): S. 48-52.
119. Watson CG, Kucala T, Tilleskjor C, Jacobs L: Schizophrenic birth seasonality in relation to the incidence of infectious diseases and temperature extremes. *Arch Gen Psychiatry*, Januar 1984; 41 (1): S. 85-90.
120. Weinberger DR: Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, Juli 1987; 44 (7): S. 660-669.

121. Weirich G, Mengele K, Yfanti C, Gkazepis A, Hellman D, Welk A, Giersig C, Kuo WL, Rosner MR, Tang WJ, Schmitt M: Immunohistochemical evidence for ubiquitous diT, Osmond C, tribution of the metalloendoprotease insulin-degrading enzyme (IDE; insulysin) in human non-malignant tissues and tumor cell lines. *Biol Chem*, November 2008; 389 (11): S. 1441-1445.
122. Wendt GG, Zell W: Schizophrenia and the fingerprint. *Arch Psychiatr Nervenerkr Z Gesamte Neurol Psychiatr*, 1951; 186 85): S. 456-463.
123. Wiegant VM, Verhoef CJ, Burbach JP, de Wied D: Increased concentration of alpha- and gamma-endorphin in post-mortem hypothalamic tissue of schizophrenic patients. *Life Sci*, 1988; 42 (18): S. 1733-1742.
124. Wolkin A, Angrist B, Brodie JD, Wolkin B, Jaeger J, Cancro R, Rotrosen J: Low frontal glucose utilization in chronic schizophrenia: A replication study. *Am J Psychiatry*, Februar 1988; 145 (2): S. 251-253.
125. Wright P, Sham PC, Gilvarry CM, Jones PB, Cannon M, Sharma T, Murray RM: Autoimmune diseases in the pedigrees of schizophrenic and control subjects. *Schizophr Res*, Juli 1996, 20 (3): S. 261-267.
126. Yamada M, Tsukagoshi H, Otomo E, Hayakawa M: Systemic amyloid deposition in old age and dementia of Alzheimer type: the relationship of brain amyloid to other amyloid. *Acta Neuropathol*, 1988; 77 (2): S. 136-141.
127. Zhao L, Teter B, Morihara T, Lim GP, Abegaokar SS, Ubeda OJ, Frautschy SA, Cole GM: Insulin-degrading enzyme as a downstream target of insulin receptor signaling cascade: Implications for Alzheimer's disease intervention. *J Neurosci*, Dezember 2004; 24 (49): S. 11120-11126.
128. Zhao Z, Ksiezak-Reding H, Riggio S, Haroutunian V, Pasinetti GM: Insulin receptor deficits in schizophrenia and in cellular and animal models of insulin receptor dysfunction. *Schizophr Res*, Mai 2006, 84(1): S. 1-14.
129. Zheng SX, Bosch MA, Rønnekleiv OK: mu-opioid receptor mRNA expression in identified hypothalamic neurons. *J Comp Neurol*, Juli 2005; 487 (3): 332-344.

6.2 Buchbeiträge

1. Bernstein HG, Ernst TS, Lendeckel U, Dobrowolny H, Steiner J, Bogerts B: What protects patients with schizophrenia from developing Alzheimer pathology?
In: Ritsner MS: Brain Protection in Schizophrenia, Mood and Cognitive Disorders. Heidelberg/London/New York: Springer Medizin Verlag, 2010: S. 45-66.
2. Bogerts B: Bedeutung der Frontallappen für die Pathophysiologie schizophrener Erkrankungen.
In: Förstl H: Frontalhirn. Funktionen und Erkrankungen. Zweite Auflage. Berlin/Heidelberg: Springer Medizin Verlag, 2005. S. 213-231.
3. Bogerts B: Funktionell-neuroanatomische und neuropathologische Grundlagen psychiatrischer Erkrankungen.
In: Möller HJ, Laux G, Kapfhammer HP: Psychiatrie und Psychotherapie. Dritte Auflage. Heidelberg: Springer Medizin, 2008: S. 106-122.
4. Danek A, Göhringer T: Kognitive Neurologie und Neuropsychologie.
In: Förstl H: Frontalhirn. Funktionen und Erkrankungen. Zweite Auflage. Berlin/Heidelberg: Springer Medizin Verlag, 2005: S. 41-83.
5. Giedd JN, Rosenthal MA, Rose AB, Blumenthal JD, Molloy E, Dopp RR, Clasen LS, Fridberg DJ, Gogtay GJ: Brain development in healthy children and adolescents: magnetic resonance imaging studies.
In: Keshavan M, Kennedy JL, Murray R: Neurodevelopment and Schizophrenia. Cambridge University Press 2004: S. 35-44.
6. Göthert M, Bönisch H, Sclicke E, Helmchen H: Psychopharmaka: Psychotherapie psychische Erkrankungen.
In: Forth W, Henschler D, Rummel W, Förstermann U, Starke K: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. Achte Auflage. Jena/München: Urban und Fischer Verlag, 2001: S. 335-374.
7. Gruber O, Arendt T, von Cramon DY: Neurobiologische Grundlagen.
In: Förstl H: Frontalhirn. Funktionen und Erkrankungen. Zweite Auflage. Berlin/Heidelberg: Springer Medizin Verlag, 2005: S. 15-39.
8. Klempan TA, Muglia P, Kennedy JL: Genes and brain development.
In: Keshavan M, Kennedy JL, Murray R: Neurodevelopment and Schizophrenia. Cambridge University Press 2004: S. 3-33.

9. Lendeckel, Uwe; Hooper, N. M.: Proteases in the Brain, Springer Science+Business Media, Inc. 2005: S. 2-9.
10. Mai JK, Assheuer J, Paxinos G: Atlas of the human brain. Zweite Auflage. London: Elsevier Academic Press, 2004.
11. Möller HJ, Deister A: Schizophrenie.
In: Möller HJ, Laux G, Kapfhammer HP: Psychiatrie und Psychotherapie. Dritte Auflage. Heidelberg: Springer Medizin, 2008: S. 1051-1122.
12. Reischies FM: Psychopathologie.
In: Förstl H: Frontalhirn. Funktionen und Erkrankungen. Zweite Auflage.. Berlin/Heidelberg: Springer Medizin Verlag, 2005. S. 83-101
13. Stefan M: An atlas of schizophrenia. Erste Auflage. Boca Raton: Parthenon Publ. Group, 2002: S.11-17 und 27-56.
14. Trepel M: Neuroanatomie: Struktur und Funktion. Erste Auflage. München/Wien/Baltimore: Urban und Schwarzenberg, 1995: S. 155-171.
15. Wood SJ, de Luca CR, Anderson V, Pantelis C : Cognitive development in adolescence : cerebral underpinnings, neural trajectories, and the impact of aberrations.
In: Keshavan M, Kennedy JL, Murray R: Neurodevelopment and Schizophrenia. Cambridge University Press 2004: S. 69-88.

6.3 Internetquellen

1. http://mirnamap.mbc.nctu.edu.tw/php/mirnaT_entry.php?transcript_id=ENST00000265986&miRNA_type=all&species=hsa
02.01.2011, 11:00.
2. http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Location/View?r=10:93863439-94863439
02.01.2011, 11:30.
3. Chissoe S, Ehm MG, Jean P: Genes associated with schizophrenia.
<http://www.freepatentsonline.com/y2008/0176239.html>. Epub Juli 2008.
02.01.2011, 10:30.
4. <http://pdbeta.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=2JG4>
28.12.2008, 14:00.

7 Erklärung

Ich erkläre, dass ich die der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel

**Expression des Insulin abbauenden Enzyms in Neuronen
schizophrenieassoziiierter Hirnregionen bei Schizophrenen und psychisch
gesunden Vergleichsfällen**

in der Abteilung Experimentelle Psychiatrie der Klinik für Psychiatrie, Psychotherapie und Psychosomatische Medizin

mit Unterstützung durch Prof. Dr. rer. Nat. H.-G. Bernstein, Prof. Dr. med. B. Bogerts, H. Dobrowolny, Dipl.-Ing. R. Stauch sowie dem Labor der experimentellen Psychiatrie der Otto-von-Guericke Universität Magdeburg.

ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Bei der Abfassung der Dissertation sind Rechte Dritter nicht verletzt worden.

Ich habe diese Dissertation bisher an keiner in- oder ausländischen Hochschule zur Promotion eingereicht. Ich übertrage der Medizinischen Fakultät das Recht, weitere Kopien meiner Dissertation herzustellen und zu vertreiben.

Magdeburg, den 24.01.2011

Theresia Ernst

8 Danksagungen

Ich möchte ganz besonders meinem Doktorvater, Prof. Dr. rer. nat. H.-G. Bernstein, für seine außerordentliche Unterstützung und Geduld danken. Durch zahlreiche Ratschläge und Diskussionen ist ihm das Gelingen dieser Arbeit zu verdanken.

Weiterer Dank gilt Prof. Dr. med. B. Bogerts, dem Leiter der psychiatrischen Abteilung der Otto-von-Guericke Universität.

Ich danke auch H. Dobrowolny für seine Hilfe bezüglich statistischer Fragen. Frau Dipl.-Ing R. Stauch sowie dem gesamten Labor der experimentellen Psychiatrie danke ich für die Herstellung der Hirnschnitte.

Nicht vergessen möchte ich, die Unterstützung meines Partners und meiner Familie zu erwähnen. Unzählige Stunden vor meinen Unterlagen wurden von ihnen nicht nur toleriert, ich wurde sogar durch die Abnahme anderer (Haus)arbeiten und durch liebevolle Sorge um mein leibliches und psychisches Wohl unterstützt.

9 Bildungsweg

- 1991 - 1992 Katholische Grundschule Brakel
- 1992 Grundschule Süplingen
- 1992 - 1995 Driebe - Grundschule (Königslutter)
- 1995 - 1997 Orientierungsstufe der Wilhelm - Bode - Schule (Königslutter)
- 1997 - 2001 Gymnasium Anna - Sophianeum (Schöningen)
- 2001 - 2004 Gymnasium am Bötschenberg (Helmstedt)
- 06/2004 Abschluss mit der Allgemeinen Hochschulreife
- 10/2004 Beginn des Medizinstudium an der Otto - von - Guericke Universität Magdeburg
- 09/2006 Abschluss des ersten Studienabschnitts
- 11/2010 Abschluss des zweiten Studienabschnittes mit Erteilung der Approbation durch das Landesverwaltungsamt Sachsen-Anhalt
- Seit 12/2010 Tätigkeit als Assistenzärztin der Inneren Medizin im Kreiskrankenhaus Helmstedt

Veröffentlichungen:

1. Bernstein HG, Ernst T, Lendeckel U, Bukowska A, Ansorge S, Stauch R, Ten Have S, Steiner J, Dobrowolny H, Bogerts B: Reduced neuronal expression of insulin-degrading enzyme in the dorsolateral prefrontal cortex of patients with haloperidol-treated, chronic schizophrenia. *Journal of Psychiatric Research*, September 2009; 43(13): S. 1095-1105.
2. Bernstein HG, Lendeckel U, Bukowska A, Ansorge S, Ernst T, Stauch R, Trübner K, Steiner J, Dobrowolny H, Bogerts B: Regional and cellular distribution patterns of insulin-degrading enzyme in adult human brain and pituitary. *J Chem Neuroanat*, März 2008; 35(2): S. 216-224.
3. Bernstein HG, Ernst TS, Lendeckel U, Dobrowolny H, Steiner J, Bogerts B: What protects patients with schizophrenia from developing Alzheimer pathology?
In: Ritsner MS: *Brain Protection in Schizophrenia, Mood and Cognitive Disorders*. Heidelberg/London/New York: Springer Medizin Verlag, 2010.