

Aus der Abteilung Experimentelle Psychiatrie der Klinik für Psychiatrie

und Psychotherapie der Medizinischen Fakultät

der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

**Immunhistochemische Untersuchung zur numerischen Dichte AKAP79  
exprimierender Neurone im präfrontalen Kortex schizophrener Patienten und  
gesunder Vergleichspersonen**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

Dr. med.

(doctor medicinae)

an der Medizinischen Fakultät

der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

vorgelegt von Sascha Schadwinkel

aus Burg

Magdeburg 2013

# Dokumentationsblatt

Schadwinkel, Sascha; **Immunhistochemische Untersuchung zur numerischen Dichte AKAP79 exprimierender Neurone im präfrontalen Kortex schizophrener Patienten und gesunder Vergleichspersonen**; 2013. 70 Seiten, 15 Abbildungen, 2 Diagramme, 184 Literaturquellen.

AKAP79 ist ein intrazelluläres Gerüsteiweiß, welches über eine Bindung zahlreicher, an der rezeptorvermittelten Signaltransduktion beteiligter Proteine deren Lokalisation in subsynaptischen Strukturen steuert. Die vorliegende Arbeit basiert auf einer schichtenspezifischen mikroskopischen Zählung von AKAP79-immunreaktiven Neuronen zur Bestimmung der neuronalen Zelldichte. Die Zählung erfolgte in post mortem Gehirnen des Menschen beidseits im dorsolateralen präfrontalen Kortex, im anterioren Gyrus cinguli sowie im orbitofrontalen Kortex.

Es wurden 12 Patienten mit der Diagnose einer Schizophrenie sowie 12 psychiatrisch gesunde Vergleichspersonen untersucht. Hierbei ergaben sich bei Schizophrenen signifikant erhöhte neuronale Dichten im linken dorsolateralen präfrontalen Kortex, Lamina III und V/VI, im linken anterioren Gyrus cinguli, Lamina IV und V/VI sowie im rechten anterioren Gyrus cinguli, Lamina IV. In sämtlichen übrigen untersuchten Hirnregionen und Kortexschichten, mit einer Ausnahme im rechten DLPFC, Lamina I/II, fanden sich eine tendenziell, jedoch nicht signifikant erhöhte neuronale Dichte AKAP79-positiver Neurone.

Als ursächlich für diese Veränderungen sind Alterationen in der Aktivität der Bindungspartner von AKAP79 anzunehmen. Aufgrund der hervorragenden Bedeutung von AKAP79 im Rahmen Glutamat-assoziiertes Übertragungsprozesse sowie bei Mechanismen der synaptischen Plastizität ist eine Änderung glutamaterger synaptischer Abläufe in der Pathogenese der Schizophrenie zu unterstellen.

# Inhaltsverzeichnis

Deckblatt.....	I
Dokumentationsblatt.....	II
Inhaltsverzeichnis.....	III
Abkürzungsverzeichnis.....	V
1. Einleitung.....	1
1.1. Schizophrenie: Geschichte, Symptomatik, Genetik und Epidemiologie.....	1
1.2. Morphologische Hirnveränderungen.....	2
1.3. Einfluss der Transmittersysteme.....	4
1.4. Rolle des Immunsystems.....	6
1.5. Synthese der Ätiologie.....	6
1.6. Glutamatrezeptoren.....	8
1.6.1. Ionotrope Rezeptoren (iGluR).....	8
1.6.2. Metabotrope Rezeptoren (mGluR).....	9
1.7. AKAPs.....	10
1.8. Synaptische Plastizität.....	11
1.9. Hypothese und Fragestellung.....	12
2. Material und Methoden.....	14
2.1. Untersuchungsmaterial.....	14
2.2. Konfundierende Variablen im Gruppenvergleich.....	15
2.3. Hirnregionen.....	16
2.4. Kortikale Schichtung.....	17
2.5. Aufbereitung der Gehirnschnitte.....	17
2.6. Immunhistochemische Färbung.....	18
2.7. Qualitative Differenzierung der Neurone.....	19
2.8. Zellzählung.....	20
2.9. Statistische Analyse.....	21
3. Ergebnisse.....	22
3.1. Numerische Zelldichte der Neurone.....	22
3.2. Einfluss konfundierender Variablen auf die numerische Dichte.....	23
3.2.1. Alter.....	24
3.2.2. Autolysedauer.....	24
3.2.3. Fixationsdauer.....	24
3.2.4. Krankheitsbeginn, Erkrankungsalter.....	24
3.2.5. Krankheitsdauer.....	24
3.3. Validität.....	25

4. Diskussion.....	27
4.1. Erhöhung von AKAP79 als Folge veränderter Transmitteraktivität.....	27
4.1.1. AKAP79 und Glutamat.....	27
4.1.2. AKAP79 und Dopamin.....	30
4.1.3. AKAP79 und GABA.....	31
4.2. Erhöhung von AKAP79 bei Veränderung nachgeschalteter Effektoren.....	32
4.2.1. Calcineurin.....	33
4.2.2. Adenylatcyclasen.....	34
4.2.3. Proteinkinase A.....	34
4.2.4. Proteinkinase C.....	35
4.3. Therapeutische Implikationen der Glutamathypothese.....	36
4.4. AKAP79 und synaptische Plastizität bei Schizophrenie.....	38
4.5. Pathologisch-morphologische Veränderungen bei Schizophrenie.....	40
4.6. Methodenkritische Aspekte.....	42
4.6.1. Konfundierende Variablen.....	42
4.1.1.1. Alter, Autolyse- und Fixationsdauer.....	42
4.1.1.2. Krankheitsbeginn und –dauer.....	43
4.1.1.3. Medikation.....	43
4.6.2. Färbung und Zellzählung.....	44
4.6.3. Interpretation.....	44
5. Zusammenfassung.....	46
6. Literaturverzeichnis.....	47
7. Tabellen- und Abbildungsverzeichnis.....	61
Ehrenerklärung.....	VII
Danksagung.....	VIII
Bildungsweg.....	IX

# Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AKAP	A-kinase anchoring protein
AMPA	$\alpha$ -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazol-Propionsäure
aqua dest.	Destilliertes Wasser
ATP	Adenosintriphosphat
Ca <sup>2+</sup>	Calcium
CaM	Calmodulin
CaMKII	Calcium-Calmodulin-abhängige Proteinkinase II
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CaN	Calcineurin
CT	Computertomographie
DA	Dopamin
DAG	Diacylglycerin
DAAO	D-Aminosäure-Oxidase
DISC	Disrupted in Schizophrenia
DLPFC	Dorsolateraler präfrontaler Kortex
DSM	Diagnostic and statistical manual
GABA	$\gamma$ -Aminobuttersäure
GAD	Glutamatdecarboxylase
GC	Gyrus cinguli
Gln	Glutamin
Glu	Glutamat
GluT	Glutamat-Transporter
Gly	Glycin
GlyT	Glycin-Transporter
HLA	Human Leukocyte Antigen

ICD	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems
iGluR	Ionotroper Glutamatrezeptor
K <sup>+</sup>	Kalium
li.	links
LTD	Long term depression
LTP	Long term potentiation
MAGuK	Membran-assoziierte Guanylatkinase
Mg <sup>2+</sup>	Magnesium
mGluR	Metabotroper Glutamatrezeptor
MRT	Magnetresonanztomographie
Na <sup>+</sup>	Natrium
NAAG	N-Acetyl-Aspartyl-Glutamat
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NR	NMDA-Rezeptor-Untereinheit
OFC	Orbitofrontaler Kortex
PBS	Phosphate buffered saline
PCP	Phencyclidin, Phenylcyclohexylpiperidin
PET	Positronenemissionstomographie
PIP2	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat
PKA	Proteinkinase A
PKC	Proteinkinase C
PP	Protein-Phosphatase
PSD	Postsynaptische Verdichtung
re.	Rechts
SAP	Synapse-associated protein
Ser	Serin
TH	T-Helferzelle
ZNS	Zentrales Nervensystem

# 1. Einleitung

## 1.1. Schizophrenie: Geschichte, Symptomatik, Genetik und Epidemiologie

Mit dem Begriff der Schizophrenie (Wortherkunft von altgriechisch „schizein“, abspalten und „phren“, Seele) bezeichnet man einen psychiatrischen Symptomenkomplex. Laut Diagnosekriterien des ICD-10<sup>1</sup> bzw. des DSM IV<sup>2</sup> müssen die Krankheitsmerkmale über einen Zeitraum von mindestens einem Monat mehrheitlich vorhanden sein und dürfen nicht Folge symptomatischer Hirnerkrankungen bzw. -affektionen, beispielsweise im Rahmen von Tumoren, Hirnentzündungen oder Intoxikationen sein. Diese Erkrankungen können Symptome der Schizophrenie imitieren und sind als Basis für das Verständnis morphologischer bzw. neurobiochemischer Veränderungen in der Entstehung der Krankheit von Bedeutung.

Zu den definitions-begründenden Merkmalen zählen Positiv- und Negativsymptome. Unter ersteren fasst man Ich-Störungen (Gedankeneingebung, -ausbreitung, -lautwerden und -entzug), Wahnsymptome sowie, insbesondere akustische, Halluzinationen zusammen. Zu den Negativsymptomen zählt man affektive Abflachung, Sprachverarmung oder Apathie. Hinzu kommen zusätzliche Krankheitszeichen wie eine Inkonsistenz des Denkens, Manierismen oder katatone Symptome, worunter unnatürliche Haltungen oder Verkrampfungen des Körpers zu verstehen sind. Der Krankheitsprozess mündet in einigen Fällen in ein schizophreses Residuum, in welchem Negativsymptome überwiegen. In den letzten Jahren ist der Fokus verstärkt auf kognitive Störungen gerichtet worden, welche regelhaft mit dem Bild der Schizophrenie assoziiert sind<sup>3</sup>. Nach langjährigem Verlauf kann es auch zu demenziellen Bildern kommen<sup>4</sup>. Die Unschärfe der Definition und die Möglichkeit der Entstehung schizophreniformer Symptome im Rahmen multipler Hirnerkrankungen wirft die Frage auf, ob es sich bei der Schizophrenie um eine eigenständige Krankheitsentität handelt oder um unspezifische Reaktionen des Gehirns auf multifaktorielle ätiologische Einflüsse.

Erstmalig wurde der Symptomenkomplex der Schizophrenie unter dem Begriff der „Dementia praecox“ im Jahr 1878 von Emil Kraepelin von der manisch-depressiven Psychose abgegrenzt. Schon in diesem Begriff wird der Aspekt der kognitiven Beeinträchtigung in den Vordergrund gerückt. Der Begriff „Schizophrenie“ selbst wurde 1908 durch Eugen Bleuler eingeführt. Dieser unterschied Grund- und Zusatzsymptome der Erkrankung.

Im Jahr 1959 verwendete Kurt Schneider die Bezeichnung Erst- und Zweitrangsymptome, auf welche die Diagnose der Schizophrenie sich unter anderem auch heute noch stützt<sup>5</sup>.

Die Lebenszeitprävalenz der Schizophrenie beträgt ca. 0,4% mit gleichem Risiko für Männer und Frauen <sup>6</sup>. Das typische Erkrankungsalter liegt im Bereich von 15 – 24 Jahren, wobei Frauen tendenziell etwas später symptomatisch werden <sup>7</sup>. Die Erkrankung hat einen enormen Einfluss auf das Leben der Betroffenen. Schizophrene haben im Vergleich zur Durchschnittsbevölkerung eine um mehr als 20 Jahre reduzierte Lebenserwartung <sup>8</sup>. Als eine wesentliche Ursache ist zu erwähnen, dass Patienten ein 8,5fach erhöhtes Suizidrisiko im Vergleich zur Normalbevölkerung tragen <sup>9</sup>. Ätiologisch werden, wie bei den meisten Krankheiten, genetische Prädispositionen angenommen, welche durch variable Entwicklungsfaktoren beeinflusst werden können. So beträgt die Konkordanz des Auftretens einer Schizophrenie 40-50% bei monozygoten und 0-30% bei dizygoten Zwillingen <sup>10</sup>. Mittels genetischer Analysen konnten zahlreiche Suszeptibilitätsgene nachgewiesen werden. Hierzu zählen beispielsweise das Gen für Neuregulin-1, ein für neuronale und gliäre Entwicklung bedeutsames Protein <sup>11</sup>, Dysbindin <sup>12</sup> oder die Gene für die Proteine DISC (Disrupted in Schizophrenia)-1 und -2 <sup>13</sup>. Neuere genomweite Assoziationsstudien erbrachten weitere auffällige Genloci, deren genaue Bedeutung jedoch weitgehend unbekannt ist <sup>14</sup>. Eine Reihe von Umweltfaktoren konnten mit einem erhöhten Risiko zur Entwicklung einer Schizophrenie assoziiert werden, so z.B. geburtstraumatische Komplikationen oder fortgeschrittenes väterliches Alter <sup>15, 16</sup>.

## **1.2. Morphologische Hirnveränderungen**

Im Unterschied zu anderen Hirnerkrankungen sind für die Schizophrenie bisher keine pathognomonischen makro- oder mikroskopischen Hirnveränderungen beschrieben. So finden sich beim Morbus Alzheimer intrazelluläre tau-Fibrillen und interneuronale Amyloidplaques, nach Schlaganfällen bilden sich gliöse Narben, bei der Multiplen Sklerose sind Entzündungszellen und Demyelinisierungsherde detektierbar. Auffälligkeiten in der Hirnmorphologie lassen nur im statistischen Mittel Gehirne von Schizophrenen von denen gesunder Kontrollpersonen unterscheiden. Hier konnten jedoch verschiedene Differenzen demonstriert werden. Mittels CT- und MRT-Untersuchungen konnte bei 30-50 % der schizophrenen Patienten eine Erweiterung der inneren und äußeren Liquorräume nachgewiesen werden. Als ursächlich lässt sich dafür eine Minderung des Hirnvolumens mit temporalem Schwerpunkt ausmachen <sup>17</sup>. Darüber hinaus findet sich eine Aufhebung der angeborenen Asymmetrie in der Struktur von Frontal- und Okzipitallappen <sup>18</sup>. Weitere Unterschiede treten spezifisch für bestimmte Hirnregionen auf.



Die Bezeichnung „Hypofrontalität“ wurde 1974 durch Ingvar und Franzen eingeführt. In Studien zeigten sie eine Verminderung des zerebralen Blutflusses in frontalen Kortextarealen schizophrener Patienten<sup>19</sup>. Diese Arbeiten ließen sich später, insbesondere für Patienten mit dominierenden Negativsymptomen, durch PET- bzw. funktionelle MRT-Untersuchungen bestätigen<sup>20</sup>. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass Hirnfunktionen, welche insbesondere frontalen Kortextbereichen zuzuordnen sind, wie das Arbeitsgedächtnis, bei schizophren Erkrankten eingeschränkt waren<sup>21</sup>. Tomographisch und auch histologisch findet sich eine Volumenabnahme des dorsolateralen präfrontalen Kortext, eines Assoziationsareals, während primär sensorische oder motorische Kortextareale unverändert bleiben. Diese Volumenreduktion lässt sich laut Selemon et al. (1999) nicht durch eine Abnahme der Neuronenzahl, sondern durch eine veränderte Zusammensetzung und Schrumpfung des interzellulären Neuropils erklären. Es fanden sich darüber hinaus auch volumenreduzierte Bereiche in anderen kortikalen Arealen, wie beispielsweise im orbitofrontalen Kortext<sup>22,23</sup>. Funktionell konnten im dorsolateralen präfrontalen Kortext Schizophrener Dysfunktionen GABAerger-Interneurone nachgewiesen werden, was kognitive Defizite zu erklären in der Lage sein könnte<sup>24</sup>.

Neben frontalen Veränderungen ließen sich insbesondere in limbischen Strukturen morphologische Auffälligkeiten finden. Hierzu zählen Volumenminderungen von Hippocampus, Amygdala und parahippocampalem Gyrus.<sup>25</sup> Auch im anterioren Cingulum waren derartige Veränderungen detektierbar<sup>26</sup>. Neben solchen makroskopischen Differenzen ergaben sich histologisch Hinweise auf eine gestörte Zytoarchitektur<sup>27</sup>. Es fand sich jedoch trotz dieser Abnahme des Volumens eine gesteigerte Aktivität im Hippocampus schizophrener Erkrankter, welche als eventuelle Ursache einer dopaminergen Überfunktion diskutiert wird<sup>28,29</sup>. Dem limbischen System wird in seiner Rolle als Schaltinstanz zwischen den phylogenetisch älteren Strukturen Hirnstamm-Hypothalamus-Septum und den entwicklungsgeschichtlich jüngeren Strukturen der kortikalen Assoziationsareale hinsichtlich der Entwicklung einer Schizophrenie eine besondere Rolle zugeschrieben. Läsionen limbischer Strukturen sowie frontaler und temporaler Assoziationsareale führen gehäuft zu schizophreniformer Symptomatik<sup>30</sup>. Auch im Thalamus, und hier im Besonderen in den Nuclei mediodorsalis und anterior, mit frontalen und limbischen Strukturen assoziierten Kerngebieten, konnten Volumenreduktionen nachgewiesen werden<sup>31,32</sup>.

Befunde von Gliareduktionen in verschiedenen Hirnarealen schizophrener Patienten sowie enzymatische Veränderungen, wie eine verminderte Aktivität der Glutaminsynthetase und anderer gliärer Enzyme in Astrozyten schizophrener Patienten<sup>33</sup>, geben Hinweise auf eine mögliche Rolle der Glia in der Pathogenese der Schizophrenie.

Es wird diesbezüglich auch eine Beteiligung von Oligodendrozyten im Sinne einer Myelinisierungsstörung an der Pathogenese diskutiert. So konnte gezeigt werden, dass deren Zahl bei Schizophrenen reduziert ist und dass Gene, welche die Myelinisierung beeinflussen, unterexprimiert werden<sup>34, 35</sup>. In diesem Zusammenhang wurden auch strukturelle Abweichungen im Aufbau der weißen Substanz beschrieben<sup>36</sup>. Hier konnten mittels DTI (diffusion tensor imaging) Veränderungen der Integrität der neuronalen Verbindungen bei Schizophrenen diagnostiziert werden<sup>37</sup>. Auch funktionell fanden sich Hinweise auf eingeschränkte Verbindungen zwischen verschiedenen Hirnregionen<sup>38</sup>. Hinsichtlich der Pathogenese der Schizophrenie spielt das Konzept der Konnektivitätsstörung zwischen funktionell miteinander assoziierten kortikalen Gebieten eine bedeutende Rolle. Es konnten insbesondere bezüglich sprachassoziierter Aufgaben, Arbeitsgedächtnis und Emotionsverarbeitung wesentliche Einschränkungen der interkortikalen Verbindungen mittels funktioneller Bildgebung deutlich gemacht werden<sup>39</sup>.

### **1.3. Einfluss der Transmittersysteme**

Dopamin spielt die zentrale Rolle in der ältesten und etabliertesten Transmitterhypothese der Schizophrenie. Diese hervorgehobene Bedeutung entstand historisch durch die ausgezeichnete pharmakologische Wirkung von Dopamin-Rezeptorantagonisten auf Positivsymptomatik schizophrener Patienten. Darüber hinaus führt die Anwendung von Agonisten am Dopaminrezeptor wie Amphetamin oder Überdosierungen von therapeutisch eingesetzten Dopaminabkömmlingen bei Parkinson-Erkrankten zu produktiv-psychotischen Symptomen, welche jenen einer Schizophrenie ähnlich sind. Einen wesentlichen Inhalt der Theorie bildet die Annahme, dass aus Kerngebieten des ventralen Mittelhirns, insbesondere der Substantia nigra, in unterschiedliche Hirnareale projizierende Neurone zu einem veränderten dopaminergen Tonus in den so innervierten Hirnbereichen führen. Belege für diese These finden sich neben den oben erwähnten pharmakologischen Effekten u.a. darin, dass in präsynaptischen Axonterminalen schizophrener Patienten höhere Dopaminmengen als in Gesunden mobilisierbar sind<sup>40, 41</sup>. Die Dopamin-Überfluss-Hypothese allein ist jedoch nicht in der Lage den Symptomenkomplex der Schizophrenie umfänglich zu beschreiben. Insbesondere hinsichtlich einer Unterdrückung von Negativsymptomatik zeigen klassische Dopamin-D2-Rezeptorantagonisten keine Wirkung. Für deren Entstehung werden sogar verminderte dopaminerge Wirkungen verantwortlich gemacht<sup>42, 43</sup>.

Ergänzend entwickelte sich später die Glutamathypothese, die immer mehr an Bedeutung gewinnt. Glutamat ist der häufigste exzitatorische Neurotransmitter des zentralen Nervensystems.

Er wirkt über insgesamt drei ionotrope (NMDA, AMPA, Kainat) und acht metabotrope Rezeptoren auf synaptischen Membranen. Die Glutamathypothese steht im Zentrum dieser Arbeit, so dass Aufbau und Funktion der verschiedenen Glutamatrezeptoren im folgenden Abschnitt näher erläutert werden. Eine typische, lang bekannte schizophreniforme Modellpsychose lässt sich durch die Anwendung der NMDA-Rezeptorantagonisten Phencyclidin (PCP, „angel dust“) bzw. Ketamin auslösen<sup>44</sup>. Im letzten Jahrzehnt wurden erstmals in einem bestimmten Subtyp einer Immun-Enzephalitis Autoantikörper gegen NMDA-Rezeptoren beschrieben, welche klinisch die Symptome einer Schizophrenie imitieren und namensgebend wirkten, die Anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis<sup>45</sup>. Bestimmte Subklassen von Anti-NMDA-Antikörpern finden sich allerdings sogar bei schizophrenen Patienten, wie jüngste Untersuchungen gezeigt haben<sup>46</sup>. Hinsichtlich des Glutamatpiegels in präfrontalen kortikalen Bereichen existieren widersprüchliche Studienergebnisse<sup>47, 48</sup>. Manche Autoren beschreiben eine generelle frontale hypoglutamaterge Lage<sup>49</sup>. Hinsichtlich der Aktivität Glutamat-synthetisierender bzw. -abbauender Enzyme in Astrogliazellen finden sich widersprüchliche Daten. Der Annahme einer generellen hypoglutamatergen Stoffwechsellage stehen neuere Ergebnisse entgegen, die zeigen, dass durch NMDA-Rezeptor-Antagonisten verursachte kognitive und motorische Störungen durch die Gabe von AMPA-Rezeptor-Antagonisten aufzuheben sind. Darüber hinaus konnte sogar nachgewiesen werden, dass Ketamin zu einer vermehrten Glutamat-Ausschüttung an Synapsen des präfrontalen Kortex führt<sup>50</sup>. Ursächlich wird hier eine durch fehlende Aktivität an NMDA-Rezeptoren verursachte Störung hemmender kortikaler Mechanismen diskutiert. Agonisten an metabotropen Gruppe-II-Glutamatrezeptor-Subtypen, welche zu einer negativen Rückkopplung der Glutamatausschüttung führen, zeigten in Modellen antipsychotische Wirkungen<sup>51</sup>. Belegt ist jedoch mit Sicherheit eine Veränderung der frontalen glutamatergen Abläufe bei schizophrenen Patienten.

Weitere Neurotransmitter wurden im Zusammenhang mit schizophrenen Symptomen untersucht. Einer dieser Kandidaten ist GABA ( $\gamma$ -Aminobuttersäure), der häufigste inhibitorische Transmitter des ZNS. In der Theorie wird eine Disinhibition durch Hemmung GABAerger Neurone als Ursache schizophrener Positivsymptomatik postuliert. In diesem Zusammenhang zeigen sich jedoch widersprüchliche Studienergebnisse. Einerseits findet sich eine verminderte Expression der Glutamatdecarboxylase, des GABA-synthetisierenden Enzyms, in Anteilen des dorsolateralen präfrontalen Kortex schizophrener Patienten<sup>52</sup>. Auch die bereits beschriebene Dysfunktion parvalbuminhaltiger GABAerger Interneurone stützt die Theorie einer GABA-medierten Störung. Andererseits lassen sich durch GABA-Rezeptor-Antagonisten, im Speziellen die Benzodiazepine, keine relevanten Modifikationen schizophrener Symptome erreichen.

Auch Serotonin wurde hinsichtlich einer möglichen Rolle in der Pathogenese schizophrener Symptome untersucht. Diesbezüglich wurden durch Serotonin-Rezeptor-Agonisten wie LSD oder Psilocybin verursachte Modellpsychosen herangeführt. Auch hinsichtlich dieses Neurotransmitters finden sich keine konsistenten Ergebnisse, so dass Serotonin, wie auch GABA, in den Transmitterhypothesen der Schizophrenie eine eher nachgeordnete Rolle spielt.

#### **1.4. Rolle des Immunsystems**

Wie oben beschrieben, lassen sich bei schizophrenen Patienten morphologisch keine entzündlichen Reaktionen im Gehirn nachweisen. Jedoch gab es bereits früh Hinweise darauf, dass das Immunsystem eine Bedeutung im Rahmen der Schizophrenie haben könnte. Bereits 1942 konnte nachgewiesen werden, dass schizophrene Patienten eine geringer ausgeprägte verzögerte Immunreaktion auf epikutan applizierte Antigene zeigen <sup>53</sup>.

Neuere Studien fanden bei Schizophrenen einen Shift der Immunantwort von einer TH1-medierten zellulären zu einer TH2-dominierten humoralen Reaktion <sup>54, 55</sup>. Durch eine antipsychotische Medikation konnte diese Verschiebung wieder umgekehrt werden <sup>56</sup>. Es ist anzunehmen, dass es während einer akuten schizophrenen Psychose zu einer Abschwächung T-Zell-abhängiger Immunprozesse und einer Verschiebung zu einer B-Zell-Antwort kommt. Blutanalysen bei symptomatischen Patienten fanden diesbezüglich zelluläre Veränderungen. Auch diese scheinen durch die dauerhafte Einnahme von Neuroleptika korrigierbar <sup>57</sup>. Darüber hinaus konnte nachgewiesen werden, dass es während akuter psychotischer Episoden im Rahmen einer schizophrenen Erkrankung zur Aktivierung von Zellen des angeborenen Immunsystems, den NK-Zellen kommt <sup>58</sup>. Genomweite Assoziationsstudien deuten auf einen Bereich des HLA-C-Lokus, welcher in bestimmten Varianten ein höheres Erkrankungsrisiko birgt, was als ein weiterer Hinweis auf eine immunologische Mitbeeinflussung in der Pathogenese der Schizophrenie interpretierbar ist <sup>59</sup>.

#### **1.5. Synthese der Ätiologie**

Aus den beschriebenen Auffälligkeiten in der Morphologie sowie der Funktion zentralnervöser Strukturen bei Schizophrenen ergeben sich verschiedene Implikationen in Bezug auf die Entstehung der Schizophrenie. Das typische Erkrankungsalter für die Schizophrenie ist die späte Adoleszenz sowie das frühe Erwachsenenalter.

Wie bereits beschrieben existieren genetische Variationen, welche die Wahrscheinlichkeit erhöhen an Schizophrenie zu erkranken. Hierzu gehören beispielsweise jene für Neuregulin-1, DISC-1 und -2 sowie Dysbindin. Darüber hinaus werden Umweltfaktoren beschrieben, welche mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung dieser Erkrankung einhergehen. Diese können bereits im Mutterleib bzw. in frühen Phasen der neuronalen Entwicklung einwirken, wie mütterliche Infektionen, geburtstraumatische Komplikationen oder ZNS-Entzündungen in der frühen Kindheit, aber auch beispielsweise Cannabis-Gebrauch in der frühen Adoleszenz<sup>60</sup>. Lange Zeit wurde die Schizophrenie als Erkrankung beschrieben, die als Folge einer angeborenen oder sehr früh erworbenen Störung auftritt, welche zu langsamen Veränderungen von Hirnstruktur und -funktion führt. Zu einem Zeitpunkt, in dem diese Störungen nicht mehr kompensiert werden können, beginnt die typische schizophrene Symptomatik. Dieser Zeitpunkt ist, wie beschrieben, das frühe Erwachsenenalter<sup>61</sup>.

Auch die strukturelle Bildgebung unterstützt die Hypothese einer frühen neuronalen Entwicklungsstörung. Es zeigte sich, dass bei Hochrisiko-Patienten für die Entwicklung einer Schizophrenie bereits MR-tomographisch Veränderungen der grauen Substanz im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen nachweisbar sind. So finden sich Volumenreduktionen im präfrontalen Kortex, im anterioren cingulären Kortex, in temporalen Kortexarealen und auch im Hippocampus<sup>62, 63</sup>. Die Ursachen für einen Krankheitsbeginn im frühen Erwachsenenalter sind spekulativ. Es ist jedoch offensichtlich, dass das Gehirn in der Phase der Adoleszenz noch starken Veränderungen ausgesetzt ist. Feinberg vermutete bereits 1982 eine Störung im Ablauf der synaptischen Reifung. Im Lauf der Hirnentwicklung kommt es aufgrund verschiedener Prozesse, darunter auch der nachfolgend beschriebenen synaptischen Plastizität, zu einer Reduktion der Anzahl synaptischer Verbindungen. Diese ist im Alter von ein bis zwei Jahren am ausgeprägtesten und wird dann, abhängig von ihrem Gebrauch, reduziert; ein Prozess der als „synaptic pruning“ (wörtlich: Stutzen, Auslauben) bezeichnet wird<sup>64, 65</sup>. Es wird im Rahmen der Schizophrenie von einigen Autoren ein vermehrtes „Pruning“, also eine überschießende Abschaltung von Synapsen angenommen. Als Hinweis darauf können die oben beschriebene Verminderung des Neuropils im dorsolateralen präfrontalen Kortex, aber auch die Veränderungen in der Integrität der weißen Substanz gelten. Auch ein erhöhter Nachweis freier Membranphospholipide in frühen Stadien der Schizophrenie kann als Zeichen eines ausgeprägten synaptischen Umbaus in dieser Krankheitsphase interpretiert werden<sup>66</sup>. Frühe Studien mittels bildgebender Verfahren unterstützten die Theorie der Schizophrenie als Störung der Hirnentwicklung, da hinsichtlich der beschriebenen morphologischen Veränderungen keine Progression während des Krankheitsverlaufs und auch keine Korrelation hinsichtlich der Krankheitsdauer beobachtet werden konnte.

Auch die oben genannte Aufhebung der kortikalen Asymmetrie sowie der veränderten limbischen Zytoarchitektonik durch eine zu vermutende Migrationsstörung scheinen auf eine früh erworbene Störung der Hirnstruktur hinzuweisen<sup>27</sup>. In neueren Studien konnte jedoch gezeigt werden, dass die pathologischen Auffälligkeiten in frühen Stadien der Schizophrenie durchaus schnell progressiv sein können<sup>67, 68</sup> und dass auch im chronischen Verlauf der Erkrankung eine fortschreitende Hirnatrophie zu verzeichnen ist, welche in etwa dem doppelten Ausmaß derjenigen einer gesunden Vergleichsperson entspricht<sup>69</sup>, jedoch nicht linear zu verlaufen scheint<sup>70</sup>. An dieser Stelle muss einschränkend ergänzt werden, dass in Tierstudien allein die Gabe von Neuroleptika zu Volumenreduktionen der grauen Substanz führen kann<sup>71</sup>. Dieser Medikationseffekt ist eventuell für einen Teil des beobachteten Hirnsubstanzverlustes verantwortlich zu machen. Die Schizophrenie ist jedoch nicht allein als eine Störung der neuronalen Entwicklung anzusehen, sondern darüber hinaus ein anhaltender neurodegenerativer Prozess.

## **1.6. Glutamatrezeptoren**

Wie bereits erwähnt lassen sich Glutamatrezeptoren in ionotrope (NMDA, AMPA, Kainat) und metabotrope (mGluR1-8) Unterformen klassifizieren. Die Benennung der ionotropen Typen erfolgt aufgrund synthetischer Agonisten. Aufgrund der entscheidenden Bedeutung in der Pathogenese der Schizophrenie erfolgt zunächst eine Beschreibung dieser Rezeptortypen.

### **1.6.1. Ionotrope Rezeptoren (iGluR)**

Beim NMDA (N-Methyl-D-Aspartat)-Rezeptor handelt es sich um einen Ionenkanal, welcher aus vier membranumspannenden Untereinheiten aufgebaut ist. Er setzt sich aus zwei NR1-Einheiten (in acht Splicing-Varianten) zusammen - mit Bindungsstellen für Glycin und D-Serin, sowie aus einer variablen Anzahl NR2/3-Einheiten, von denen mehrere Unterformen existieren (NR2A-D, NR3A-B). Die NR2-Untereinheit besitzt eine Bindungsstelle für den physiologischen Neurotransmitter Glutamat. Es existieren darüber hinaus spezifische Bindungsstellen für nicht-kompetitiv wirkende pharmakologische Substanzen (z.B. PCP)<sup>72</sup>. NMDA-Rezeptoren öffnen liganden- und spannungsabhängig. In Ruhe ist der Kanal durch ein Magnesium-Ion blockiert, welches bei Depolarisation und gleichzeitiger Bindung von Agonisten freigesetzt wird. Hierbei ist anzumerken, dass neben der Bindung von Glutamat eine gleichzeitige Aktivierung durch einen Co-Liganden an der Glycin-Bindungsstelle erfolgen muss. NMDA-Rezeptoren depolarisieren langsamer als AMPA-Rezeptoren und sind im Vergleich zu diesen deutlich länger refraktär für erneute Erregungen.

Der Kanal ist durchgängig für Kalium-, Natrium- und Calcium-Ionen<sup>73</sup>. Mutationen des NMDA-Rezeptors mit resultierender Unterfunktion werden bei Patienten mit Schizophrenie beschrieben<sup>74, 75</sup>.

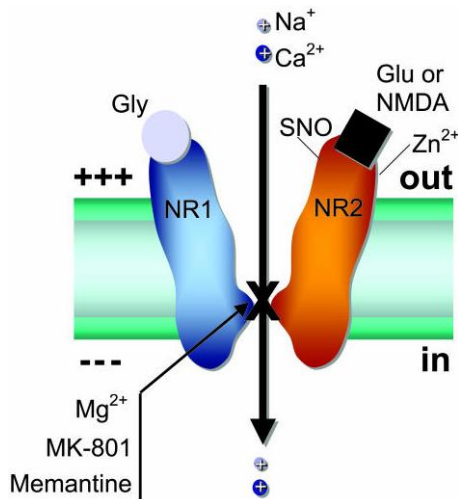


Abbildung 1: Aufbau des NMDA-Rezeptors mit Liganden-Bindungsstellen<sup>76</sup>

Der AMPA ( $\alpha$ -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazole-Propionic Acid)-Rezeptor ist der häufigste Glutamatrezeptor des ZNS. Wie der NMDA-Rezeptor ist er aus 4 membranumspannenden Untereinheiten zusammengesetzt, welche sich aus einer variablen Anzahl von vier möglichen Untereinheiten (GluR1-4) zusammensetzen. Jede Untereinheit besitzt eine Glutamat-Bindungsstelle. Der Ionenkanal ist durchgängig für einwertige Kationen (Kalium, Natrium) und bei Fehlen einer GluR2-Untereinheit auch für Calcium.

Der AMPA-Rezeptor depolarisiert sehr schnell und auch die Refraktärphase ist deutlich kürzer als beim NMDA-Rezeptor. Auch der dritte ionotrope Glutamatrezeptor, der Kainat-Rezeptor, besteht aus vier Untereinheiten. Diejenigen, die eine niedrige Affinität zum Agonisten Kainsäure besitzen (GluR5-7, GluK1-3) sind für den Rezeptoraufbau unabdingbar, wobei fakultativ Einheiten mit hoher Affinität (KA1-2, GluK4-5) hinzukommen können. Der Ionenkanal leitet vornehmlich einwertige Kationen<sup>77</sup>.

### 1.6.2. Metabotrope Rezeptoren (mGluR)

Diese lassen sich hinsichtlich unterschiedlicher intrazellulärer G-Protein-Prinzipien in drei Gruppen zusammenfassen. Gruppe I, hierzu gehören die Rezeptorsubtypen mGluR1 und mGluR5, erhöht über ein  $G_q$ -Protein die intrazelluläre Calciumkonzentration und ist auf diese Weise in der Lage die Proteinkinase C zu aktivieren. Gruppe II (mGluR2, mGluR3) und III (mGluR4, mGluR6-8) vermindern über einen  $G_i$ -Protein-Mechanismus die Aktivität der intrazellulären Adenylatcyclase und damit der Proteinkinase A, wobei Rezeptoren der Gruppe III vornehmlich präsynaptisch lokalisiert sind<sup>51</sup>.

## 1.7. AKAPs

AKAPs (A-kinase-anchoring-proteins) stellen eine Gruppe strukturell unterschiedlicher Proteine dar, deren gemeinsame Eigenschaft historisch in einer spezifischen Bindungsdomäne zur regulatorischen Untereinheit der Proteinkinase A zu finden ist <sup>78</sup>. Eine Klassifikation der bisher bekannten AKAPs erfolgt nach verschiedenen Genorten und Differenzen hinsichtlich des Proteinaufbaus, mit sich daraus ergebenden Bindungsmöglichkeiten weiterer Enzyme und zellulärer Strukturproteine. Die Aufgabe der Vertreter der AKAP-Familie kann als Gerüst bei der Allokation von Proteinkomplexen in verschiedene Zellkompartimente verstanden werden. Auf diese Weise spielen sie eine entscheidende Rolle in der Bereitstellung von Effektorproteinen bei der rezeptorvermittelten intrazellulären Signaltransduktion <sup>79</sup>. AKAPs sind wesentlich in sämtlichen Organsystemen, so z.B. für die Spermienmotilität, die Embryogenese oder die Herzfunktion <sup>80-82</sup>. In dieser Arbeit soll die Isoform AKAP5 betrachtet werden. Es handelt sich um das Produkt des akap5-Gens (lokalisiert auf Chromosom 14q 21-24). Dieses zeigt spezie-spezifische Unterschiede in der Molekularmasse und wird dementsprechend unterschiedlich bezeichnet (humane Isoform AKAP79 mit 79 kDa, in Mäusen AKAP150) <sup>83</sup>.

AKAP79 ist ein Protein, welches neben der Bindungsstelle für Proteinkinase A (PKA) weitere für verschiedene Adenylatcyclasen (AC), Calcineurin (Proteinphosphatase 2b, CaN), die Proteinkinase C, verschiedene Membranproteine (F-Actin, Cadherine, Phospho-Inositol-Bisphosphat) und Membran-assoziierte Guanylatkinasen (MAGuK) bereitstellt (Abbildung 2). Über letztere ist auch ein „cross-linking“ zum NMDA- und AMPA-Glutamat-Rezeptor möglich.

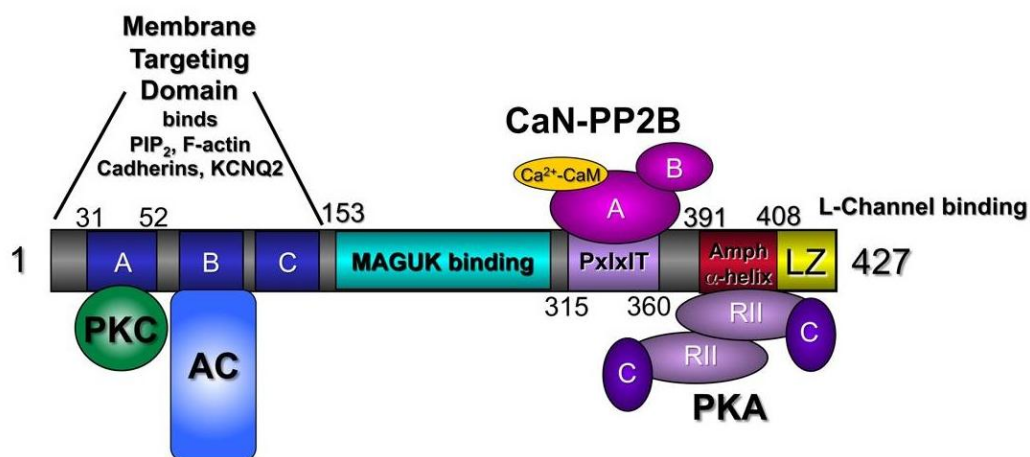


Abbildung 2: Aufbau und Bindungsstellen von AKAP79/150 <sup>84</sup>

Erwähnenswert ist, dass die Isoform AKAP79 zwar vor allem in Assoziation zu Glutamatrezeptoren vorkommt, jedoch nicht auf diese beschränkt bleibt (siehe Abbildung 3). Insgesamt ist es treffender AKAP79 nicht als isoliertes Protein darzustellen, sondern als einen Komplex damit assoziierter Struktur- und Enzymproteine, welche an diesem Gerüstbaustein gebunden vorkommen.



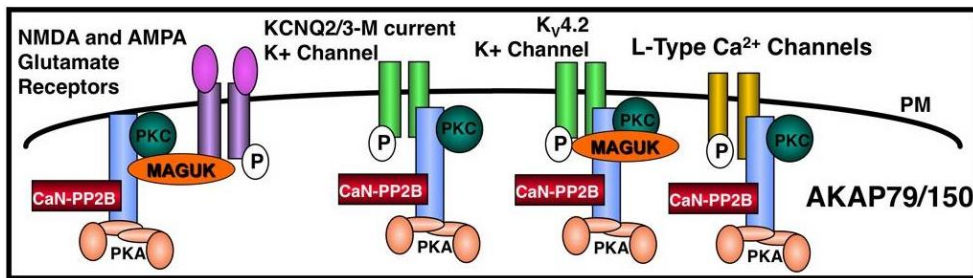


Abbildung 3: Interaktionen des AKAP79/150-Proteinkomplexes mit transmembranären Ionenkanälen<sup>84</sup>

## 1.8. Synaptische Plastizität

Unter synaptischer Plastizität ist eine Veränderung der Struktur der postsynaptischen Verdichtung („post synaptic density“, PSD) als Folge von synaptischen Übertragungsvorgängen zu verstehen. Es handelt sich um das synaptische Korrelat von Lernvorgängen im zentralen Nervensystem und wurde erstmals in den 70er Jahren des vergangenen Jahrhunderts beschrieben. Synaptische Plastizität wurde extensiv an Neuronen des Hippocampus untersucht, da diesem Phänomen eine wesentliche Bedeutung für das deklarative Gedächtnis zukommt<sup>85</sup>.

Zur Verstärkung (long term potentiation, LTP) bzw. Abschwächung (long term depression, LTD) synaptischer Übertragungsprozesse sind NMDA-Rezeptor-vermittelte Mechanismen von entscheidender Bedeutung. Durch gleichzeitige Depolarisation und Besetzung von Glutamat- und Co-Liganden-Bindungsstelle wird das blockierende Magnesium-Ion freigesetzt und der Ionenkanal durchgängig für ein- und zweiwertige Kationen, mit einer entscheidenden Rolle von Calcium. Dieses führt zur Aktivierung zahlreicher postsynaptischer Enzyme wie der Proteinkinase A, der Proteinkinase C, Calcineurin und weiteren Proteinen. Abhängig von der Art der Depolarisierung kommt es nun zu zwei divergenten Prozessen, LTP oder LTD (siehe Abbildung 4). Bei hochfrequenter Stimulation (HFS) werden Serin-Reste am AMPA-Glutamat-Rezeptor phosphoryliert und dieser auf diese Weise auf eine Art modifiziert, die zur Stabilisierung und zum Einbau desselben in die postsynaptische Verdichtung führt. Es kommt also zur Zunahme von AMPA-Rezeptoren in der PSD und demzufolge auch zur Verstärkung der postsynaptischen Übertragung auf einen synaptischen Reiz, also zur „long term potentiation“ (LTP). Niederfrequente Stimulation („low frequency stimulation“, LFS) des NMDA-Rezeptors dagegen führt zu langsamem Calcium-Einstrom und zur Dephosphorylierung von AMPA-Rezeptoren, welche auf diese Weise aus der postsynaptischen Verdichtung entfernt werden. Dieser Prozess wird als „long term depression“, LTD beschrieben<sup>86</sup>.

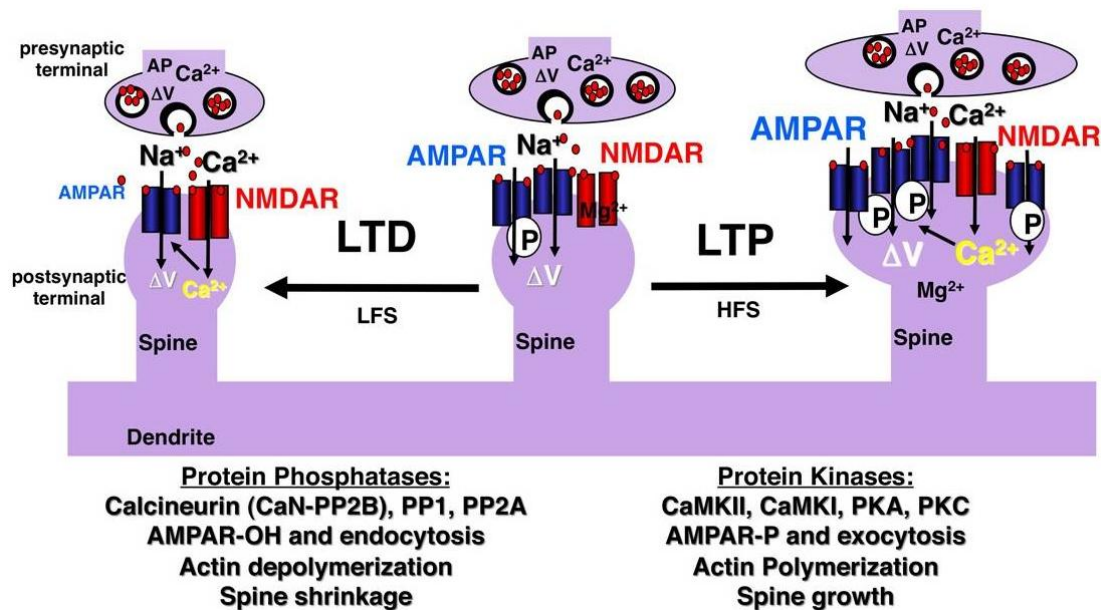


Abbildung 4: In der Mitte ist der Ausgangszustand beschrieben. Abhängig von der Art der Stimulation unterliegt die Postsynapse Veränderungen im Sinne von LTD und LTP <sup>84</sup>.

AKAP79 nimmt in diesem Zusammenhang eine zentrale Position hinsichtlich der Weichenstellung zwischen diesen gegensätzlichen Prozessen ein, indem es die notwendigen konträr wirksamen postsynaptischen Komponenten, welche allesamt daran gebunden sind, an den jeweiligen Ort des Geschehens zu transportieren in der Lage ist <sup>84, 87</sup>.

## 1.9. Hypothese und Fragestellung

Wie oben beschrieben, werden im Rahmen der Glutamathypothese der Schizophrenie verschiedene Mechanismen einer glutamatergen Dysfunktion diskutiert. Zum einen gilt die Annahme, dass es aufgrund einer NMDA-Rezeptor-Hypofunktion zu einem insgesamt verminderten glutamatergen Tonus in präfrontalen und limbischen Strukturen kommt. Dem entgegen steht zum anderen die Hypothese einer durch frontale NMDA-Rezeptor-Untererregung vermittelten Enthemmung des Glutamat-Transmittersystems in der Schizophrenie, welche zu einer verstärkten Desynchronisation in frontalen Kortexarealen führt. Beides ist als neurophysiologischer Ausdruck der klinischen Hypofrontalität interpretierbar <sup>88</sup>. Auf zellulärer Ebene wäre in glutamaterg dysfunktionellen Arealen auch eine veränderte Aktivität derjenigen postsynaptischen Proteine zu erwarten, die an der Signaltransduktion beteiligt sind.

In den einführenden Betrachtungen wird der enge Zusammenhang zwischen Glutamatrezeptoren und intrazellulärem AKAP-System evident; jedoch werden auch Assoziationen dieses Gerüstproteins mit Dopamin- und GABA-Rezeptoren beschrieben. Das AKAP-Signalosom ist auf diese Art in multiplen Prozesse involviert, welche als Schlüssel zum Verständnis der Schizophrenie gelten.

Hierbei ist allerdings anzumerken, dass trotz der nachgewiesenen zentralen Bedeutung von AKAP79 in normalen Signaltransduktions-Vorgängen seine Bedeutung hinsichtlich psychiatrischer Erkrankungen unklar ist. Mittels molekularbiologischer Methoden konnte bereits eine Amplifikation des akap5-Genproduktes bei einem Patienten mit klinisch manifester Schizophrenie, aber auch bei solchen mit bipolarer Störung, nachgewiesen werden<sup>89</sup>. Zielstellung dieser Arbeit ist nun der phänotypische Nachweis einer veränderten Expression von AKAP79 in den beschriebenen Hirnarealen mittels immunhistochemischer Methoden. Eine solche Untersuchung zeigte bereits bei Patienten mit bipolaren Störungen, bei denen ebenfalls Alterationen des Glutamatstoffwechsels beschrieben werden, Erhöhungen von AKAP79 in Neuronen des anterioren Gyrus cinguli<sup>83</sup>. In unserer Untersuchung liegt der Betrachtungsfokus auf im Zusammenhang mit der Schizophrenie bereits in multiplen Studien auffälligen Abschnitten des präfrontalen Assoziationskortex sowie limbischer Strukturen. Einschränkend muss gesagt werden, dass AKAP79 in einer ganzen Reihe von intrazellulären Prozessen eingebunden ist und dass Assoziationen mit zahlreichen Transmittersystemen bestehen. Eine Veränderung von AKAP79 muss in diesem Zusammenhang betrachtet werden und wird ausführlich diskutiert.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Untersuchungsmaterial

Untersucht wurden in Paraffin eingebettete Gehirne schizophrener sowie psychiatrisch gesunder Verstorbener. Alle Gehirne entstammen der Magdeburger Gehirnsammlung und wurden nach schriftlichem Einverständnis von Patienten oder Angehörigen entnommen. Die anamnestischen Angaben entstammen Patienteninterviews bzw. standardisierten Befragungen der Angehörigen. Die Gehirne der schizophrenen Patienten wurden nach im Mittel  $44 \pm 17,2$  Stunden Autolyse, die Kontrollen nach  $37 \pm 22,7$  Stunden entnommen und über mindestens zwei Monate in phosphat-gepufferter 10%iger Formaldehydlösung fixiert. Es folgte eine Entwässerung in aufsteigender Alkoholreihe (jeweils 1 Woche 50% - 60% - 70% - 80% - 90% - 96% - 100% - 100%) über 8 Wochen. Die Fixationsdauer der Gehirne betrug bei den Schizophrenen im Mittelwert  $216,1 \pm 106,7$  Tage, bei den gesunden Kontrollen  $232,7 \pm 165,3$  Tage. Anschließend wurden die Gehirne für 7 Tage in Chloroform getaucht, wobei dieses täglich gewechselt wurde. Es folgte eine Einbettung in Paraplast<sup>90</sup>.

Untersucht wurden 12 Gehirne schizophrener Patienten sowie 12 Gehirne von Kontrollpatienten. Das Alter der an Schizophrenie Erkrankten variierte von 48 – 62 Jahren (Durchschnittsalter  $56,3 \pm 4,7$  Jahre), das der Kontrollen von 33 – 65 Jahren (Durchschnittsalter  $55,3 \pm 9,1$  Jahre). Die Diagnose Schizophrenie wurde zu Lebzeiten anhand von Kriterien des ICD und des DSM gestellt. Das durchschnittliche Ersterkrankungsalter betrug  $32,9 \pm 13,8$  Jahre, die Krankheitsdauer im Mittel  $23,7 \pm 11,7$  Jahre. Bei den Diagnosen handelte es sich in 5 Fällen um den paranoid-halluzinatorischen Subtyp der Schizophrenie (ICD-10 F20.0), in 6 Fällen um ein schizophreses Residuum (ICD-10 F20.5) sowie in einem Fall um eine nicht näher differenzierte Form der Schizophrenie (ICD-10 F20.9). Es ist somit ein ausgewogener Anteil an Patienten mit einer Form der Schizophrenie, welche durch produktiv psychotische Symptome dominiert wird sowie einer Gruppe mit hauptsächlichlicher Negativsymptomatik vorhanden. Von den Patienten verstarb keiner an Suizid. Hinsichtlich der antipsychotischen Medikation ist bekannt, dass alle Patienten Neuroleptika, und hier im Speziellen vor allem klassische Neuroleptika erhielten. Bei den Kontrollpersonen lag zu keinem Zeitpunkt des Lebens eine psychiatrische Erkrankung vor, ebenso wenig eine Einnahme von Psychopharmaka. Primäre Hirnerkrankungen wie Morbus Alzheimer, Morbus Pick oder Hirntumoren wurden durch erfahrene Neuropathologen ausgeschlossen. Hinsichtlich der konfundierenden Variablen Alter, Geschlecht, Autolyse- bzw. Fixationsdauer des Gehirns ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Schizophrenen und Kontrollgruppe.

## 2.2. Konfundierende Variablen im Gruppenvergleich

Hinsichtlich der konfundierenden Variablen Geschlecht, Alter, Autolyse- und Fixationsdauer finden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen schizophrenen Patienten und Kontrollgruppe (siehe Tabelle 1).

ID	Geschlecht [m - männlich, w - weiblich]	Alter [Jahre]	Autolyse- dauer [h]	Fixierungs- dauer [Tage]	Krankheits- beginn [Jahre]	Krankheits- dauer [Jahre]
<b>Gesunde (n=12)</b>						
1	m	50	72	90	-	-
2	w	52	24	60	-	-
3	w	64	24	75	-	-
4	m	52	10	317	-	-
5	w	33	72	270	-	-
6	w	50	72	120	-	-
7	m	56	24	510	-	-
8	w	65	24	95	-	-
9	w	64	26	315	-	-
10	m	63	48	540	-	-
11	m	61	24	150	-	-
12	m	54	24	250	-	-
<b>6m / 6w</b>		<b>55,3 ± 9,1</b>	<b>37,0 ± 22,7</b>	<b>232,7 ± 165,3</b>	-	-
<b>Schizophrene (n=12)</b>						
1	m	51	48	300	23	28
2	m	57	72	150	34	23
3	w	61	24	67	58	3
4	m	48	48	210	16	32
5	m	61	24	k.A.	26	35
6	w	54	48	180	28	26
7	w	62	24	274	46	16
8	w	59	48	273	52	7
9	w	62	48	405	23	39
10	m	54	48	307	20	34
11	w	54	24	150	36	18
12	w	53	72	61	k.A.	k.A.
<b>5m / 7w</b>		<b>56,3 ± 4,7</b>	<b>44,0 ± 17,2</b>	<b>216,1 ± 106,7</b>	<b>32,9 ± 13,8</b>	<b>23,7 ± 11,7</b>
<b>Differenzstatistik</b>						
<b>rel. Differenz</b>		1,81%	18,92%	-7,12%		
<b>Test</b>	Chi <sup>2</sup>	t-Test	t-Test	t-Test	-	-
<b>KW</b>	χ <sup>2</sup> = 0,168	T = 0,338	T = 0,404	T = -0,283	-	-
<b>p-Wert</b>	0,682	0,739	0,851	0,780	-	-

Tabelle 1: Chi-Quadrat- und t-test zeigen hinsichtlich der konfundierenden Variablen Geschlecht, Alter, Autolyse- und Fixationsdauer keine signifikanten Unterschiede zwischen Schizophrenen und Kontrollpatienten (p > 0,05).

### 2.3. Hirnregionen

Wir untersuchten die Verteilung AKAP79-immunreaktiver Neurone in drei präfrontalen Regionen (dorsolateraler präfrontaler Kortex, orbitofrontaler Kortex und anteriorer Gyrus cinguli) jeweils beidseits (rechte und linke Hemisphäre). In allen genannten Bereichen wurden MR-tomographisch Volumenreduktionen bei Schizophrenen nachgewiesen<sup>22, 26</sup> bzw. anderweitige Schizophrenie-assoziierte Veränderungen gefunden (ausführliche Darstellung siehe Einleitung und Diskussion). In Abbildung 5 ist die coronare Schnittebene erkennbar. Die Identifikation der Hirnregion erfolgte nach dem Hirnatlas von Mai et al. (2004)<sup>91</sup> (siehe Abbildung 6).

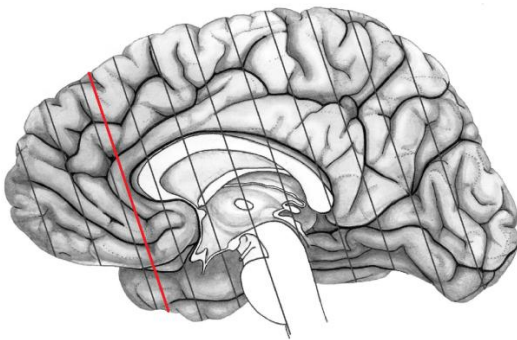


Abbildung 5: Mediane schematische Darstellung; coronare Schnittführung durch den prägenualen Abschnitt des Gyrus cinguli<sup>91</sup>

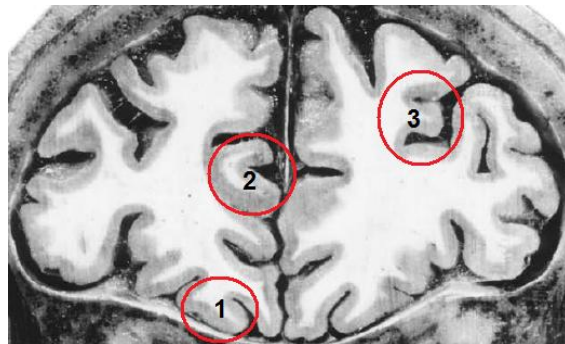


Abbildung 6: Coronare Darstellung; Schnittebene wie in Abbildung 5; 1 – Orbitofrontaler Kortex, 2 – Anteriorer Gyrus cinguli, 3 – Dorsolateraler präfrontaler Kortex<sup>91</sup>

## 2.4. Kortikale Schichtung

Zytoarchitektonisch besteht der Neokortex aus sechs Schichten (Lamina I – VI). In dieser Arbeit wurden die Schichten des Kortex getrennt gezählt. Allerdings wurden die Lamina I und II sowie die Lamina V und VI zusammengefasst, so dass aus jedem Kortexareal 4 Schichten erfasst wurden.

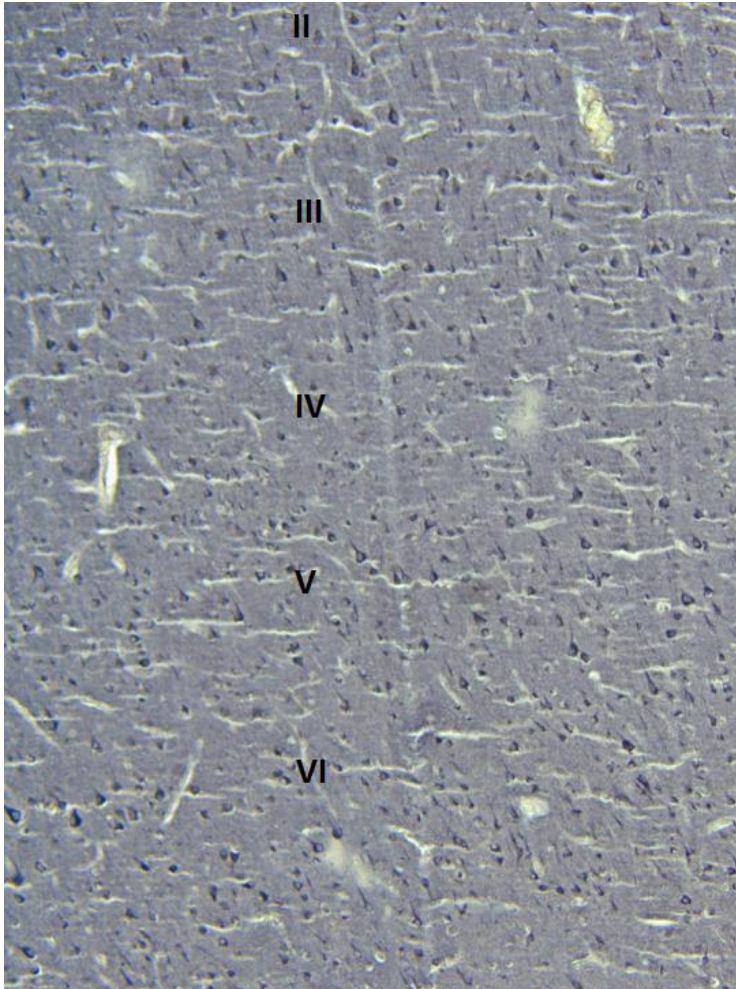


Abb. 7: Ausschnitt aus dem orbitofrontalen Kortex eines schizophrenen Patienten, Vergrößerung 100x, Kortexschichten mit römischen Ziffern beschriftet

## 2.5. Aufbereitung der Gehirnschnitte

Mittels Mikrotom (Polycut S, Jung) werden aus den Frontal- und Mittelblöcken der in Paraffin eingebetteten Gehirne Ganzhirnschnitte (eingestellte Schnittdicke 20 µm) gefertigt. Jeder fünfzigste Schnitt wird mit einer kombinierten Neuronenfärbung nach Nissl sowie einer Markscheidenfärbung nach Heidenhain-Woelcke behandelt. Dabei ist zu beachten, dass die Orientierung des Schnittes auf den Frontalblöcken umgekehrt zu den Mittelblöcken ist. Die jeweilige Seitenorientierung wird bei der Zählung berücksichtigt.



Zur weiteren Bearbeitung erfolgt zunächst die Entparaffinierung. Hierzu wird das Gewebe zunächst für 2 x 10 Minuten in Xylol getaucht und anschließend mittels einer absteigenden Ethanol-Reihe (100%-96%-70%-50%, jeweils 5 Minuten) rehydriert. Hierauf folgt eine zweimalige Spülung in aqua dest. über jeweils 5 Minuten. Nachfolgend erfolgt zur Demaskierung der Epitope für die Antigen-Antikörper-Reaktion eine Hitzebehandlung über 4 Minuten in 0,1 M Citratpuffer (pH 6,0). Dieser setzt sich zusammen aus Citronensäure-Monohydrat und Tri-Natrium-Dihydrat. Es folgen weitere Spülschritte mit aqua dest. (2 x 5 Minuten) und PBS-Puffer, einer phosphatgepufferten Natriumchlorid-Lösung mit physiologischem pH-Wert von 7,4 (Fa. Sigma). Zur Herabsetzung endogener Peroxidaseaktivität erfolgen hiernach eine Behandlung mittels 1,5%iger H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Lösung sowie zwei weitere Spülschritte (2 x 5 Minuten) in PBS-Puffer. Zur Blockierung unspezifischer Antikörper-Bindungsstellen schließt sich eine einstündige Inkubation mit Ziegennormalserum, 1:10 verdünnt, im Schüttler an.

## 2.6. Immunhistochemische Färbung

Die immunhistochemische Färbung erfolgt unter Verwendung eines monoklonalen Primärantikörpers aus der Maus gegen das humane AKAP79-Protein (Santa Cruz Biotechnology, USA) in einer Verdünnung von 1:100 mit PBS-Puffer. Nach einer Stunde auf dem Schüttler werden die Schnitte über 48 Stunden im Kühlschrank inkubiert. Es folgen zwei Spülschritte in PBS über jeweils 5 Minuten.

Für den weiteren Färbeprozess wird ein Biotin-Streptavidin-System verwendet. Hierzu wird als Sekundärantikörper ein 1:100 verdünnter biotinylierter Anti-Maus-Antikörper (GE Healthcare, RPN 1177, Amersham, UK) eingesetzt und die Schnitte über 2 Stunden auf dem Schüttler inkubiert. Nach zwei weiteren 5-minütigen Spülschritten in PBS-Puffer erfolgt die Behandlung mit dem Streptavidin-Meerrettichperoxidase-Komplex (GE Healthcare, RPN 1051, Amersham, UK), 1:100 in PBS-Puffer über eine Stunde auf dem Schüttler. Es schließen sich zwei Spülschritte in PBS an.

Danach erfolgt die Färbung mittels einer vorher bereiteten Gesamtfärbelösung. Diese setzt sich zusammen aus 0,5 g Ammonium-Nickel(II)-Sulfat-Hexahydrat, aufgelöst in PBS, und 0,0125 g DAB (3,3-Diaminobenzidine-Tetrahydrochlorid), ebenfalls in PBS gelöst<sup>90</sup>. Nach dem Lösen werden die beiden Substanzen zusammengeführt und filtriert. Das Filtrat wird auf ein Gesamtvolumen von 25 ml mit PBS-Puffer aufgefüllt. Direkt vor dem Färben werden 250 µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1%) hinzugefügt und damit die Schnitte für 10 Minuten auf dem Schüttler inkubiert. Abschließend folgt die Entwässerung in aufsteigender Ethanol-Reihe (50%-70%-96%-100%, jeweils 5 Minuten) und Xylol für 2 x 10 Minuten. Die Schnitte werden dann erneut eingebettet, hierzu verwenden wir Eukitt (Fa. O. Kindler, Freiburg).



## 2.7. Qualitative Differenzierung der Neurone

Es folgt eine Übersicht zur zellulären und regionalen Verteilung AKAP79 immunpositiver Neurone in den untersuchten Hirnarealen unter Berücksichtigung der jeweiligen Besonderheiten bei schizophrenen Patienten und Kontrollen.



Abb. 8: Darstellung zweier Neurone im DLPFC mit initialem Axonsegment, Vergrößerung 400x, schizophrener Patient

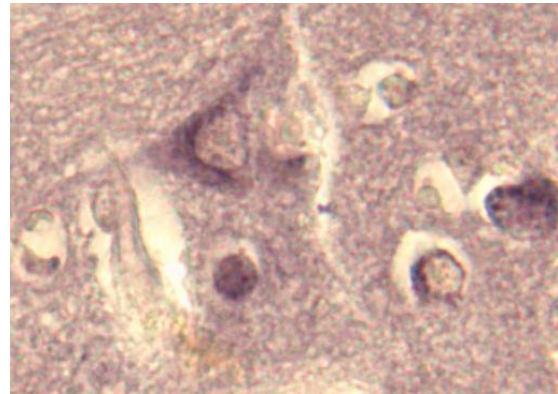


Abb. 9: Neurone im DLPFC, Vergrößerung 400x, Kontrollpatient

In den Abbildungen wird deutlich, dass mittels des Antikörpers eine ausgeprägte Anfärbung des Zytoplasmas unter Aussparung des Zellkerns erfolgt. Die Färbung erfasste Perikaryon sowie Neuropil (siehe Abbildungen). Auch der Beginn des initialen Axonsegments eines Neurons ist im linken Bild angedeutet erkennbar (Pfeil, Abb. 8).

Es ist darüber hinaus ersichtlich, dass die intrazelluläre Tingierung der Neurone in den Gehirnen der an Schizophrenie Erkrankten deutlicher ausfällt als in den Kontrollpatienten.

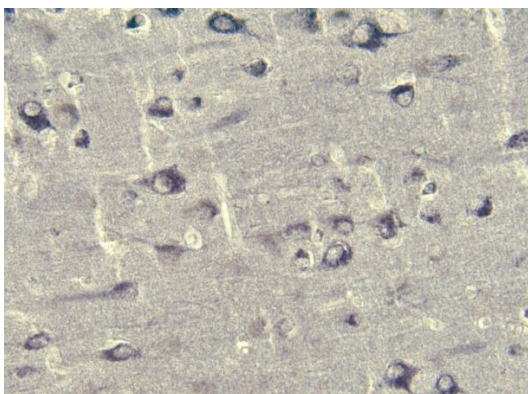


Abb. 10: Neurone im GC, Vergrößerung 400x, schizophrener Patient, gut sichtbar hier Anfärbung der Dendriten

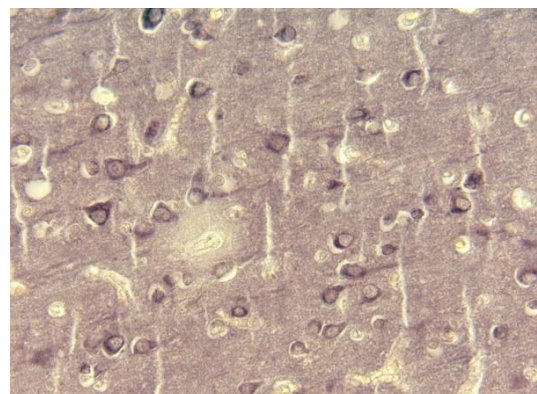


Abb. 11: Neurone im GC, Vergrößerung 400x, Kontrolle

Die Verteilung der Neurone war klar schichtabhängig. In den Schichten I/II gab es nur wenige und auch hauptsächlich schwach angefärbte Neurone. In den Schichten III sowie V/VI waren viele kräftig angefärbte Pyramidenzellen und auch Interneurone abgrenzbar. In Schicht IV wiederum waren deutlich weniger und schlechter abgrenzbare Neurone als in den benachbarten Schichten zu finden (siehe Abbildung 7).

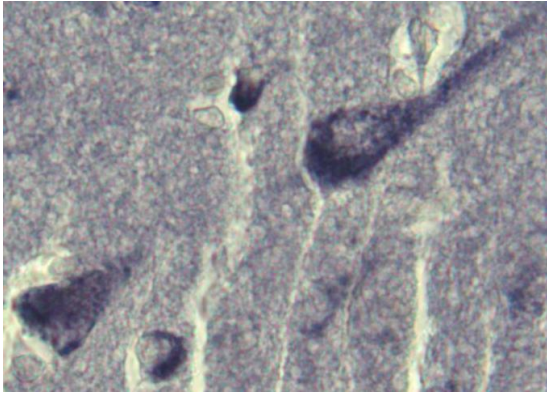


Abb. 12: Neurone im OFC, Vergrößerung 400x, schizophrener Patient



Abb. 13: Neurone im OFC, Vergrößerung 400x, Kontrolle

## 2.8. Zellzählung

Die Zählung erfolgte regions- und schichtspezifisch (siehe oben). Hierbei wurde bei einer Vergrößerung von 400fach (Okular 10 x, Objektiv 40 x) an einem Mikroskop der Firma Olympus vom Typ BX60 gezählt. Es wurden jeweils 15 Zählfelder mit einer Dimension von  $25 \times 25 \mu\text{m}$  je Region und Schicht erfasst. Diese waren in den Okularen des Mikroskops eingebettet. Die Schnittdicke betrug  $17,2 \pm 2,1 \mu\text{m}$ . Die Zellzahl wurde über die 15 Zählfelder gemittelt und eine auf das Volumen von Zählfeldgröße x Schichtdicke bezogene neuronale Dichte bestimmt. Hierbei wurde ein durch vorhergehende Untersuchungen ermittelter Gewebeschrumpfungsfaktor von 2,15 zu Grunde gelegt. Vor der Zählung wurden die relevanten Regionen (siehe oben) mittels wasserfesten Stifts (Fa. Dakro) auf dem Schnitt markiert.

Zur genauen Schichtzuordnung lagen Nissl-gefärbte Schnitte aus derselben Hirnregion zum Vergleich bereit. Eine Identifikation der Schicht erfolgte bei einer Vergrößerung von 40- bis 100fach, wobei zwischen den Objektiven gewechselt wurde bis eine genaue Schichtzuordnung möglich war. Die Zählung erfolgte blind, d.h. dem Zählenden war unbekannt, ob es sich bei dem zu erfassenden Gehirn um das eines schizophrenen Patienten oder einer psychiatrisch gesunden Kontrollperson handelte.

Es wurden nur Neurone gezählt bei denen die Zellgrenzen und der Zellkörper klar abgrenzbar waren.

## **2.9. Statistische Analyse**

Zur Prüfung der Verteilung der Zählergebnisse erfolgte die Durchführung eines Tests nach Kolmogorov-Smirnow. Hier ergab sich eine Normalverteilung der Messwerte. Aus diesem Grund war zur statistischen Auswertung die Durchführung parametrischer t-Tests möglich. Die computerbasierte statistische Auswertung erfolgte mittels des Statistikprogrammes SPSS (Statistical Product and Service Solutions, Chicago, IL, USA) 15.0 (IBM). Signifikanz wird definiert als  $p < 0,05$ .

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Numerische Zelldichte der Neurone

Es zeigen sich signifikante Zelldichteerhöhungen bei schizophrenen Patienten im linken dorsolateralen präfrontalen Kortex, Lamina III ( $p = 0,011$ ) und Lamina V/VI ( $p = 0,01$ ); im linken Gyrus cinguli, Lamina IV ( $p = 0,001$ ) und Lamina V/VI ( $p = 0,001$ ) sowie im rechten Gyrus cinguli, Lamina IV ( $p = 0,019$ ) (siehe Tabelle 2). Signifikante Veränderungen sind somit in zwei von drei untersuchten Regionen nachweisbar, mit einer Betonung der linken Hemisphäre.

Hinsichtlich der numerischen Zelldichte der AKAP79-immunreaktiven Neurone findet sich eine generalisierte Tendenz zu einer Zelldichteerhöhung bei schizophrenen Patienten. Diese ist für beide Hemisphären in allen 3 untersuchten Regionen sowie in allen Schichten, mit einer Ausnahme im rechten dorsolateralen präfrontalen Kortex, Lamina I/II, nachweisbar (siehe Tabelle 2).

Region	Hemisphäre	Schicht	Deskriptive Statistik		Differenzstatistik		
			Schizophrene n=12 MW ± SD [Zellen/mm <sup>3</sup> ]	Gesunde n=12 MW ± SD [Zellen/mm <sup>3</sup> ]	Rel. Differenz	T-Wert	p-Wert
<b>DLPFC</b>							
	<i>links</i>	<i>I/II</i>	2334 ± 403	2267 ± 234	2,85%	0,495	0,625
	<i>links</i>	<i>III</i>	6252 ± 966	5375 ± 520	14,03%	2,771	<b>0,011</b>
	<i>links</i>	<i>IV</i>	3843 ± 657	3762 ± 407	2,09%	0,360	0,722
	<i>links</i>	<i>V/VI</i>	6002 ± 640	5359 ± 456	10,73%	2,837	<b>0,010</b>
	<i>rechts</i>	<i>I/II</i>	2224 ± 402	2299 ± 200	-3,40%	-0,583	0,566
	<i>rechts</i>	<i>III</i>	5857 ± 677	5549 ± 488	5,25%	1,277	0,215
	<i>rechts</i>	<i>IV</i>	3892 ± 541	3618 ± 316	7,05%	1,516	0,144
	<i>rechts</i>	<i>V/VI</i>	5782 ± 558	5375 ± 472	7,05%	1,931	0,066
<b>GC</b>							
	<i>links</i>	<i>I/II</i>	2501 ± 435	2368 ± 454	5,33%	0,734	0,471
	<i>links</i>	<i>III</i>	5928 ± 610	5494 ± 562	7,32%	1,811	0,084
	<i>links</i>	<i>IV</i>	4189 ± 463	3567 ± 323	14,86%	3,818	<b>0,001</b>
	<i>links</i>	<i>V/VI</i>	6137 ± 588	5269 ± 504	14,14%	3,882	<b>0,001</b>
	<i>rechts</i>	<i>I/II</i>	2540 ± 638	2272 ± 296	10,58%	1,324	0,199
	<i>rechts</i>	<i>III</i>	5682 ± 611	5577 ± 346	1,84%	0,516	0,611
	<i>rechts</i>	<i>IV</i>	4052 ± 592	3569 ± 293	11,90%	2,528	<b>0,019</b>
	<i>rechts</i>	<i>V/VI</i>	5663 ± 647	5285 ± 385	6,67%	1,739	0,096

## OFC

<i>links</i>	<i>I/II</i>	2017 ± 427	1769 ± 355	12,30%	1,548	0,136
<i>links</i>	<i>III</i>	5845 ± 717	5313 ± 569	9,11%	2,013	0,056
<i>links</i>	<i>IV</i>	3735 ± 504	3491 ± 374	6,52%	1,343	0,193
<i>links</i>	<i>V/VI</i>	5981 ± 553	5790 ± 549	3,19%	0,847	0,406
<i>rechts</i>	<i>I/II</i>	2118 ± 336	1925 ± 356	9,11%	1,365	0,186
<i>rechts</i>	<i>III</i>	5866 ± 782	5322 ± 520	9,28%	2,006	0,057
<i>rechts</i>	<i>IV</i>	3792 ± 403	3572 ± 368	5,82%	1,401	0,175
<i>rechts</i>	<i>V/VI</i>	5708 ± 491	5531 ± 439	3,11%	0,933	0,361

Tabelle 2: Die deskriptive Statistik erfasst jeweils die absolute neuronale Dichte in der jeweiligen Regionen, die Differenzstatistik gibt den Unterschied zwischen den jeweiligen Gruppen in Prozent an. Dahinter jeweils t-Wert und Signifikanzniveau p, **fettgedruckt** jeweils signifikante Veränderungen der neuronalen Dichte.

## 3.2. Einfluss konfundierender Variablen auf die numerische Dichte

Mögliche Zusammenhänge zwischen der Dichte AKAP79-positiver Neurone und den konfundierenden Variablen Alter, Autolyse und Fixationsdauer, Krankheitsbeginn und –dauer wurden geprüft. Eine zusammenfassende Darstellung ergibt sich aus Tabelle 3.

### Korrelationen

	Alter[J.]			Autolyse[h]			Fixation[Tage]			BeginnDerKrankheit			Krankheitsdauer			
	Region			Region			Region			Region			Region			
	DLPFC	CC	OFC	DLPFC	CC	OFC	DLPFC	CC	OFC	DLPFC	CC	OFC	DLPFC	CC	OFC	
li I/II [Zellen/mm <sup>3</sup> ]	r <sup>a</sup>	,296	,185	,379	-,401	-,196	-,328	,346	,066	,200	-,152	-,090	-,001	,294	,001	,054
	p <sup>b</sup>	,161	,387	,068	,052	,358	,118	,106	,765	,361	,656	,793	,997	,381	,999	,876
	N	24	24	24	24	24	24	23	23	23	11	11	11	11	11	11
li III [Zellen/mm <sup>3</sup> ]	r <sup>a</sup>	,073	,268	,232	,106	-,285	-,238	-,177	,124	,274	,486	,611*	,231	-,470	-,631*	-,079
	p <sup>b</sup>	,734	,206	,274	,623	,178	,263	,418	,572	,205	,130	,046	,495	,145	,037	,818
	N	24	24	24	24	24	24	23	23	23	11	11	11	11	11	11
li IV [Zellen/mm <sup>3</sup> ]	r <sup>a</sup>	,060	,167	-,377	,189	-,140	,145	,258	,116	,061	-,242	,180	-,310	,197	-,087	,191
	p <sup>b</sup>	,779	,435	,069	,377	,515	,500	,234	,599	,784	,473	,596	,353	,561	,800	,574
	N	24	24	24	24	24	24	23	23	23	11	11	11	11	11	11
li V/VI [Zellen/mm <sup>3</sup> ]	r <sup>a</sup>	,218	,204	-,086	,008	-,163	-,335	-,211	,029	-,125	,466	,772**	,181	-,481	-,727*	-,206
	p <sup>b</sup>	,306	,338	,689	,969	,446	,109	,333	,897	,571	,148	,005	,594	,134	,011	,543
	N	24	24	24	24	24	24	23	23	23	11	11	11	11	11	11
re I/II [Zellen/mm <sup>3</sup> ]	r <sup>a</sup>	,074	-,085	,410*	,041	-,055	-,332	,302	,235	,119	-,529	-,491	,321	,590	,437	-,229
	p <sup>b</sup>	,733	,692	,047	,848	,797	,113	,161	,281	,587	,094	,125	,335	,056	,179	,498
	N	24	24	24	24	24	24	23	23	23	11	11	11	11	11	11
re III [Zellen/mm <sup>3</sup> ]	r <sup>a</sup>	,116	,161	,316	-,062	-,463*	-,239	,015	,152	-,045	-,160	,611*	,681*	,102	-,496	-,649*
	p <sup>b</sup>	,590	,451	,133	,775	,023	,261	,946	,490	,838	,638	,046	,021	,765	,121	,031
	N	24	24	24	24	24	24	23	23	23	11	11	11	11	11	11
re IV [Zellen/mm <sup>3</sup> ]	r <sup>a</sup>	,143	-,099	-,089	,138	,166	-,075	,129	-,180	-,148	-,051	,419	,493	,070	-,450	-,587
	p <sup>b</sup>	,506	,646	,678	,519	,439	,729	,558	,410	,501	,881	,200	,124	,837	,165	,058
	N	24	24	24	24	24	24	23	23	23	11	11	11	11	11	11
re V/VI [Zellen/mm <sup>3</sup> ]	r <sup>a</sup>	,370	,193	,061	-,336	-,306	-,245	-,045	-,293	-,305	,708*	,713*	,524	-,669*	-,720*	-,551
	p <sup>b</sup>	,075	,367	,777	,109	,146	,249	,839	,175	,157	,015	,014	,098	,024	,013	,079
	N	24	24	24	24	24	24	23	23	23	11	11	11	11	11	11

\*. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant.

\*\*.. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant.

Tabelle 3: Korrelationen zwischen Confoundern und numerischer Zelldichte; a Korrelationskoeffizient nach Pearson, p Signifikanzniveau, N Stichprobengröße

### **3.2.1. Alter**

Hinsichtlich des Alters der Patienten findet sich in einer Region ein signifikanter Zusammenhang mit der numerischen Dichte der Neurone, im rechten orbitofrontalen Kortex Lamina I/II ( $p = 0,023$ ). Hier gehen Gehirne älterer Patienten mit einer signifikant höheren numerischen Dichte einher. In sämtlichen anderen Regionen findet sich kein signifikanter Zusammenhang. In 8 von 24 Regionen zeigt sich eine negative Korrelation zwischen Alter und Zelldichte (siehe Tabelle 3).

### **3.2.2. Autolysedauer**

In Bezug auf die Autolysedauer der Gehirne ergibt sich ein signifikanter Zusammenhang zur Neuronendichte in einer Region, dem rechten anterioren cingulären Kortex, Lamina III ( $p = 0,023$ ). Hier findet sich eine negative Korrelation, wie in insgesamt 17 von 24 gezählten Regionen.

### **3.2.3. Fixationsdauer**

Zwischen Fixationsdauer und neuronaler Dichte ergibt sich in keiner untersuchten Hirnregion eine signifikante Korrelation.

### **3.2.4. Krankheitsbeginn, Erkrankungsalter**

Bezüglich des Erkrankungsalters finden sich signifikante positive Korrelationen in sechs untersuchten Regionen, so im rechten dorsolateralen präfrontalen Kortex, Lamina V/VI ( $p = 0,015$ ), im linken anterioren cingulären Kortex, Lamina III ( $p = 0,046$ ) und Lamina V/VI ( $p = 0,005$ ), im rechten anterioren Cingulum, Lamina III ( $p = 0,046$ ) und Lamina V/VI ( $p = 0,014$ ) sowie im rechten orbitofrontalen Kortex, Lamina III ( $p = 0,021$ ).

In den genannten Regionen geht ein höheres Erkrankungsalter mit einer signifikant höheren Dichte AKAP79-positiver Neurone einher.

### **3.2.5. Krankheitsdauer**

Auch hinsichtlich der Krankheitsdauer lässt sich eine signifikante, in diesem Fall negative Korrelation zur neuronalen Dichte in fünf verschiedenen Regionen feststellen. Diese finden sich im rechten dorsolateralen präfrontalen Kortex, Lamina V/VI ( $p = 0,024$ ), im linken anterioren cingulären Kortex, Lamina III ( $p = 0,037$ ) und V/VI ( $p = 0,011$ ), im rechten ACC, Lamina V/VI ( $p = 0,013$ ) sowie im rechten orbitofrontalen Kortex, Lamina III ( $p = 0,031$ ). Es sind somit signifikante Unterschiede nur in Regionen auffällig, welche auch hinsichtlich des Erkrankungsalters eine signifikante Korrelation zeigten.

### 3.3. Validität

Hinsichtlich der Validitätskriterien erfolgte die Bestimmung der Intrarater- und Interrater-Reliabilität. Bezüglich des erstgenannten Kriteriums führten wir eine erneute schichtspezifische Zählung einer Region, des orbitofrontalen Kortex, jeweils einseitig in vier zufällig ausgewählten Gehirnen aus dem Gesamtkollektiv durch. Hierbei wurden jeweils fünf Zählfelder in jeder kortikalen Schicht erfasst. Diesbezüglich ergab sich ein hervorragender Korrelationskoeffizient nach Pearson von 0,96.

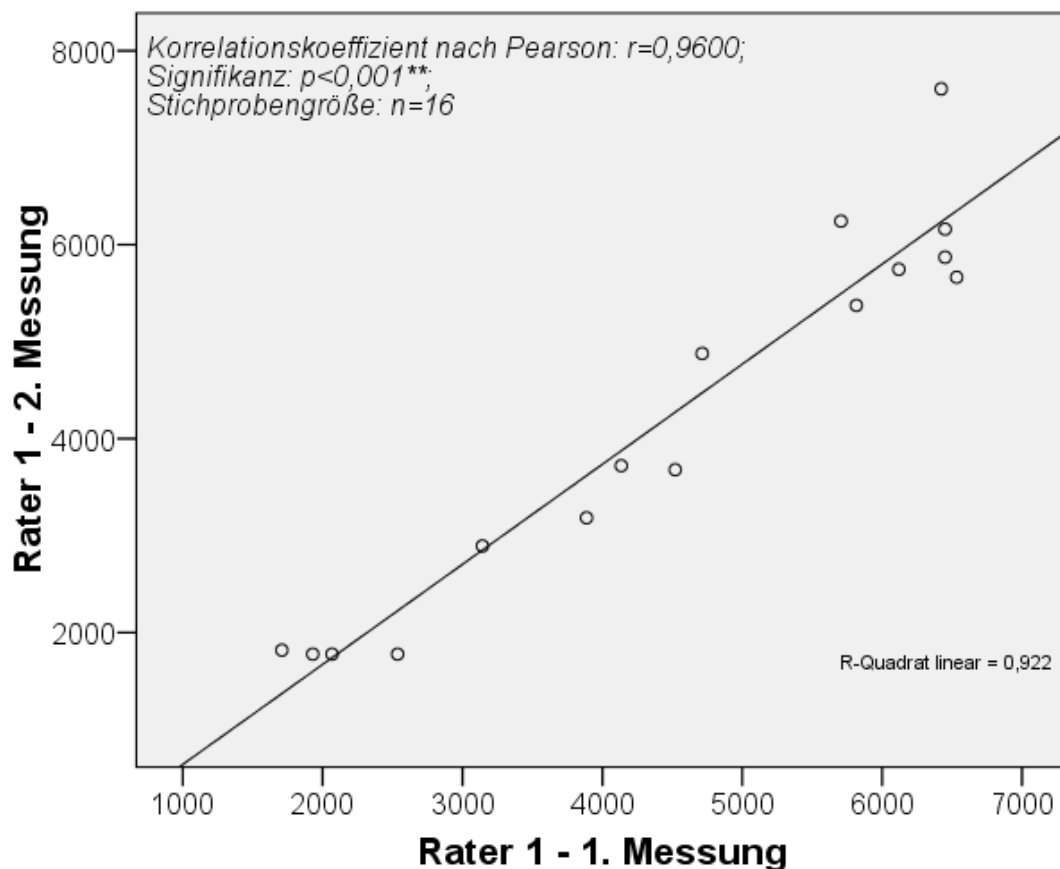


Diagramm 1: Korrelation der Einzelmessungen bei wiederholter Messung durch denselben Rater (Intrarating)

Bezüglich der Interrater-Reliabilität erfolgte die schichtspezifische Zählung einer Region, ebenfalls des orbitofrontalen Kortex, in vier Gehirnen jeweils einseitig durch einen unabhängigen zweiten Untersucher. Es wurden ebenfalls fünf Zählfelder pro Kortexschicht erfasst. Auch hier fand sich ein sehr hoher Korrelationskoeffizient von 0,9604.

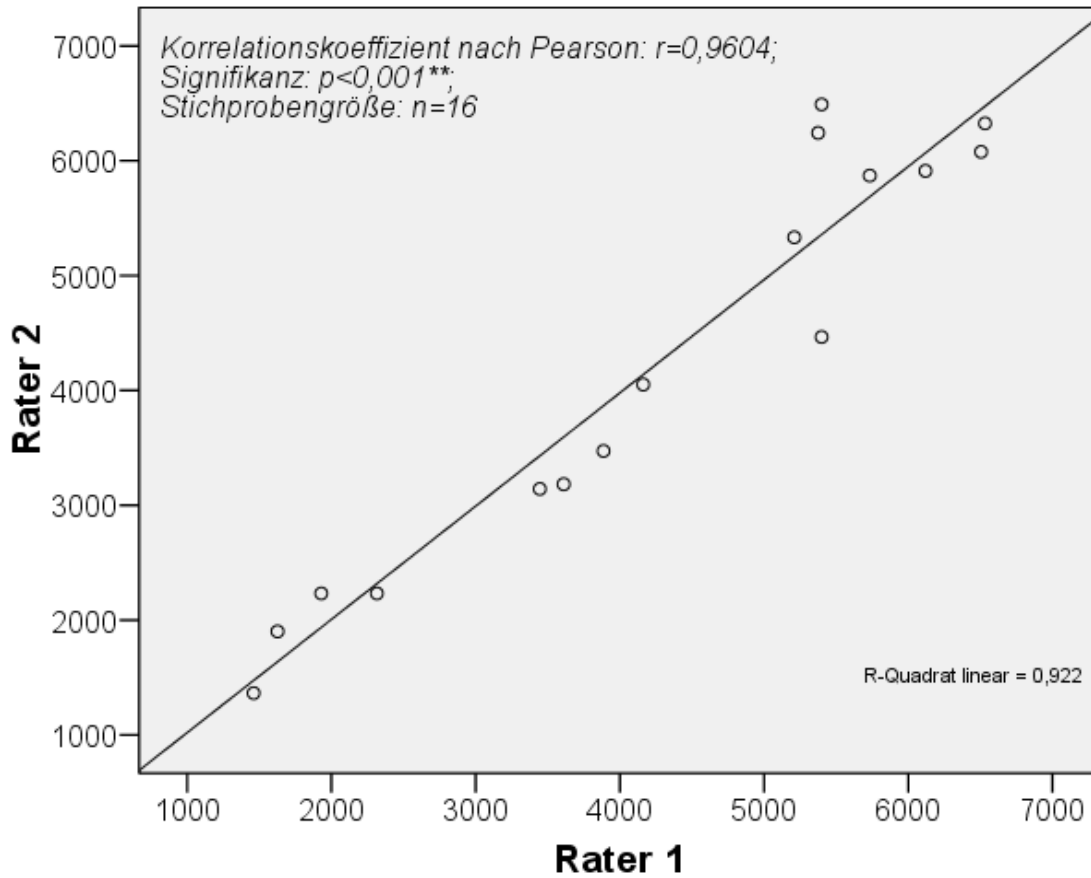


Diagramm 2: Korrelation der Messungen zwischen verschiedenen Ratern (Interrating)



## 4. Diskussion

Ein wesentliches Ergebnis unserer Untersuchung ist die signifikante Erhöhung der Anzahl an AKAP79-immunpositiven Neuronen im dorsolateralen präfrontalen Kortex links (Lamina III und V/VI) sowie im Gyrus cinguli (Lamina IV beidseits, Lamina V/VI nur links) bei schizophrenen Patienten im Vergleich zu psychiatrisch gesunden Kontrollpersonen. In sämtlichen übrigen untersuchten Schichten der drei beschriebenen Hirnregionen (Ausnahme DLPFC rechts, Lamina I/II) fand sich beidseits eine Tendenz zur Erhöhung der Anzahl AKAP79-positiver Neurone.

Ein Zusammenhang zwischen einer Veränderung von AKAP79 und Schizophrenie ist naheliegend. Das gilt insbesondere aufgrund der Vielzahl der mit diesem Gerüstprotein assoziierten Proteine und Rezeptoren, hinsichtlich derer zahlreiche Auffälligkeiten bei Schizophrenen gefunden wurden. In der folgenden Diskussion werden diese mit AKAP79 interagierenden zellulären Funktionsbausteine einzeln beschrieben und im Zusammenhang mit der in unserer Studie gefundenen Erhöhung der numerischen Dichte AKAP79-immunreaktiver Neurone interpretiert. Bezüglich direkter Veränderungen von AKAP79 im Rahmen der Schizophrenie gibt es bisher wenig Evidenz. Wie bereits einführend beschrieben konnten Wilson et al. (2006) in einem Fall eine Amplifikation des akap5-Gens bei einem schizophrenen Patienten nachweisen. Dies gelang auch in Fällen von bipolarer Störung<sup>89</sup>. Dabei scheinen Überlappungen zwischen diesen Subtypen der Psychose zu existieren, affektiv auf der einen Seite, schizophren auf der anderen. Diese betreffen sowohl bestimmte Risikogene, kognitive und elektrophysiologische Störungen als auch strukturelle Hirnveränderungen. Einzelne Autoren propagieren gar ein Psychose-Kontinuum, ohne strikte Trennung zwischen bipolarer und schizophrener Psychose<sup>92</sup>. Diesbezüglich ist neben der Amplifikation des akap5-Gens auch bereits immunhistochemisch der Nachweis einer erhöhten numerischen Dichte AKAP79-immunpositiver Neurone im anterioren cingulären Kortex von Patienten mit bipolarer Störung erbracht worden<sup>83</sup>. Aufgrund der gleichsinnigen Veränderungen von AKAP79 stellt unsere Arbeit somit einen weiteren Anknüpfungspunkt zwischen den Unterformen der Psychose auf zellulärer Ebene her.

### 4.1. Erhöhung von AKAP79 als Folge veränderter Transmitteraktivität

#### 4.1.1. AKAP79 und Glutamat

Die immunhistochemisch nachgewiesene Häufung von AKAP79-positiven Neuronen in den Gehirnen Schizophrener gegenüber gesunden Kontrollpersonen impliziert zunächst ein vermehrtes Vorkommen dieses Gerüstproteins in den untersuchten Regionen.

Ursächlich könnte ein vermehrtes Vorhandensein von AKAP79 aufgrund synaptischer Mechanismen sein, welche zur Akkumulation des Proteins führen. Hier konzentrieren wir uns im Rahmen dieser Arbeit insbesondere auf die Assoziation von AKAP79 mit Glutamatrezeptoren, mit welchen es in der großen Mehrheit aller Fälle interagiert. Es sollte jedoch nicht ausgelassen werden, dass AKAP79 auch mit anderen Rezeptoren bzw. Ionenkanälen strukturell und funktionell verbunden sein kann, wie beispielsweise dem  $\beta$ 1-Adrenozeptor<sup>93</sup> oder wie weiter unten beschrieben dem Dopaminrezeptor. Neben dem erhöhten Bedarf an Aktivität durch vermehrte Rezeptorerregung lässt sich aus einer vermehrten Färbung AKAP79-positiver Neurone auch eine nachgeschaltete erhöhte Aktivität von mit AKAP79 assoziierten Enzymen ableiten. Dieser Aspekt wird im anschließenden Kapitel diskutiert.

Der erste Punkt, also ein Überschießen synaptischer Mechanismen, welches zu vermehrtem postsynaptischem Auftreten von AKAP79 führt, bedeutet hinsichtlich glutamaterger Mechanismen entweder eine Aktivierung ionotroper Glutamatrezeptoren oder eine Aktivität an metabotropen Rezeptoren, welche die Aktivität von mit AKAP79 assoziierten Proteinen zu erhöhen in der Lage sind. Wie einleitend beschrieben besitzt AKAP79 neben Bindungsstellen für Proteinkinase A, Calmodulin, Calcineurin (Proteinphosphatase 2B) und Elemente des Zytoskeletts (F-Actin, Cadherine) auch jene für Membran-assoziierte Guanylatkinasen (MAGuK). Über die MAGuK-Subtypen PSD-95 und SAP-97 ist es in der Lage eine Verbindung zur C-terminalen Domäne des AMPA- und NMDA-Glutamat-Rezeptors aufzubauen. Hierbei ist aufgrund der bereits ausführlich diskutierten NMDA-Hypofunktion als zentralem Ausgangspunkt der Glutamathypothese eine Hochregulation dieser Rezeptorkaskade in Gehirnen schizophrener Patienten auszuschließen. Aufgrund der starken Assoziation von AKAP79 mit AMPA-Rezeptoren<sup>94</sup> ist eine erhöhte AMPA-Aktivität in den beschriebenen präfrontalen und limbischen Arealen ein möglicher Grund für eine AKAP79-Erhöhung. Beim AMPA-Rezeptor handelt es sich um den zahlenmäßig häufigsten Neurotransmitter des ZNS<sup>77</sup>. Der Hypothese entgegen steht allerdings der klinisch beobachtete und einleitend beschriebene Befund der Hypofrontalität, welcher als Folge einer glutamatergen Unterfunktion interpretiert wurde. So wurden Reduktionen der AMPA-Rezeptor-Dichte an, allerdings hippocampalen, Neuronen schizophrener Patienten nachgewiesen<sup>95</sup>. Auf dieser Basis wurden insbesondere mit dem Ziel einer Verbesserung kognitiver Symptome im vergangenen Jahrzehnt sogenannte AMPAkin entwickelt und auch an Schizophrenen getestet. Hier zeigten sich widersprüchliche Ergebnisse. Einerseits sollen sie einen einsparenden Effekt bezüglich geläufiger Neuroleptika besitzen<sup>96</sup>, auf der anderen Seite konnten positive Effekte auf kognitive Funktionen bei Schizophrenen bisher nicht nachgewiesen werden<sup>97</sup>. In diesem Zusammenhang ist eine Interpretation der Erhöhung von AKAP79 als Kompensationsmechanismus bei vermindertem glutamatergem Tonus denkbar.

Tierexperimente zeigten jedoch, dass nach Gabe von NMDA-Rezeptor-Antagonisten in Dosen, welche kognitive und motorische Beeinträchtigungen verursachten, eine erhöhte Ausschüttung von Glutamat in präfrontalen Kortexarealen zu verzeichnen war. Die Gabe von AMPA-Rezeptor-Antagonisten führte zur Abschwächung der beschriebenen kognitiven und motorischen Defizite<sup>50</sup>. Funktionelle MRT-Studien ergaben darüber hinaus eine erhöhte Aktivität in präfrontalen Kortexarealen nach Gabe von NMDA-Rezeptor-Antagonisten<sup>98</sup>. Auch die Gabe von Agonisten an metabotropen Gruppe-II-Glutamatrezeptoren, welche teilweise präsynaptisch lokalisiert sind und nachweislich zu einer Verminderung der Glutamatausschüttung führen<sup>99</sup>, konnte durch Ketamin verursachte psychotische Symptome reduzieren<sup>100</sup>. Zusammenfassend finden sich somit verschiedene Hinweise auf eine durch NMDA-Rezeptor-Hypofunktion verursachte Überaktivierung bzw. Disinhibition konkurrierender glutamaterger Übertragungsmechanismen, im Speziellen am AMPA-Rezeptor<sup>88</sup>. Die klinisch imponierende Hypofrontalität wird hier als Folge einer erhöhten, jedoch unkoordinierten Aktivität der AMPA-Rezeptor-assoziierten Erregung interpretiert. In diesem Fall könnten oben beschriebene kortikale Volumenabnahmen bei schizophrenen Patienten Folge einer glutamatergen Exzitotoxizität sein<sup>101</sup>. Dem entgegen steht der Befund, dass es sich bei den Volumenverlusten weniger um Neuronenschwund als um einen Verlust dendritischer und axonaler Fortsätze, dem sogenannten Neuropil, handelt<sup>23</sup>. Dennoch ist diese Beobachtung einer Verstärkung unkoordinierter glutamaterger Aktivität in präfrontalen kortikalen Arealen schizophrener Patienten in unmittelbarem Zusammenhang mit einer Erhöhung der numerischen Dichte AKAP79-immunpositiver Neurone zu bringen. Hier würde eine vermehrte Aktivität am AMPA-Rezeptor als eine stärkere Aktivierung postsynaptischer Signalkaskaden mit an AKAP79 gebundenen Aktionspartnern zu interpretieren sein.

Weitere Unterstützung erfährt die Glutamathypothese durch den Nachweis einer verminderten Expression der Glutaminsynthetase, eines astrozytären Enzyms, welches für das Recycling von Glutamat von Bedeutung ist<sup>33</sup>. Auch hinsichtlich des mehrheitlich in Gliazellen synthetisierten Membranproteins Glutamatcarboxypeptidase II fanden sich Verminderungen, sowohl molekularbiologisch als auch bildgebend<sup>102, 103</sup>. Hier handelt es sich um ein Enzym, welches in der Lage ist, die Spaltung von N-Acetyl-Aspartyl-Glutamat (NAAG) in N-Acetyl-Aspartat (NAA) und Glutamat zu katalysieren. Auf diese Weise trägt es zum Glutamatstoffwechsel bei. Seine MR-tomographisch beschriebene verminderte Aktivität in präfrontalen Arealen Schizophrener kann Ausdruck eines hypoglutamatergen Tonus oder eines Kompensationsmechanismus sein. Zusammenfassend steht jedoch fest, dass auch astrozytäre Stoffwechseleränderungen neben den beschriebenen neuronalen Alterationen die komplexen Veränderungen des Glutamatsystems in der Schizophrenie mitbedingen.

### 4.1.2. AKAP79 und Dopamin

An dieser Stelle soll noch einmal auf aktuelle Aspekte der Dopaminhypothese und ihre Einbettung in ein Gesamtkonzept der Schizophrenie eingegangen werden. Diese stellt weiterhin, bei allen Fortschritten hinsichtlich der Betrachtung konkurrierender Transmitter-Mechanismen, die klassische Hypothese der schizophrenen Psychose dar. Bereits früh konnte gezeigt werden, dass der antipsychotische Effekt von Neuroleptika mit der Bindungsaffinität zum Dopamin-D2-Rezeptor korrelierte<sup>104</sup>. Regions-spezifische Untersuchungen führten zur Hypothese, dass es sich bei diesem Dopamin-Überschuss um eine selektive Übererregung subkortikaler Strukturen handele und dass diese das Ausmaß an Positivsymptomen bedinge. Hinsichtlich der Negativsymptomatik ergab sich der Verdacht einer dopaminergen Unterfunktion in präfrontalen Arealen, Ausdruck der bekannten Hypofrontalität<sup>105</sup>. Weitere Argumente dafür liefern neuere Arbeiten, die eine Assoziation der Wirkung von Antipsychotika mit der Besetzung striataler, jedoch nicht extrastrialer, D2-Rezeptoren korrelieren konnten<sup>106</sup>. Darüber hinaus findet sich in präfrontalen Arealen eine erhöhte Dichte dopaminergener D1-Rezeptoren, was als Hinweis auf einen Kompensationsmechanismus bei hypodopaminergem Tonus interpretiert wird<sup>107, 108</sup>. An dieser Stelle wurden immer wieder Versuche zur Integration der bestehenden Neurotransmitterhypothesen vorgenommen<sup>109, 110</sup>, eine befriedigende Synthese ist jedoch auch aufgrund der enormen Komplexität noch im Entstehen begriffen. Es wird vermutet, dass frontale Hypoaktivität, NMDA-Rezeptor vermittelt, zu einer Enthemmung kortikaler Neurone mit Projektionen in mesolimbische Strukturen führt.

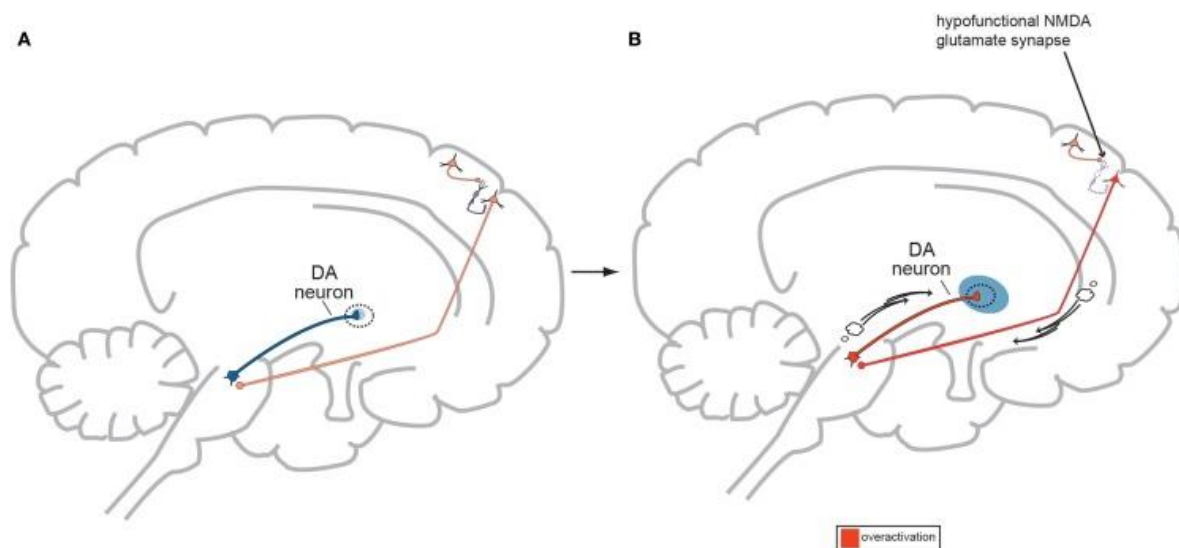


Abbildung 14: Integration von Glutamat-, GABA- und Dopaminhypothese in starker Vereinfachung. Darstellung der physiologischen Funktion in A: Ein glutamaterges Neuron erregt über NMDA-Rezeptoren ein GABAerges Interneuron, welches wiederum absteigende glutamaterge Bahnen ins mesolimbische System hemmt. Konsequenz ist ein normaler dopaminerges Tonus der mesostriatalen Projektion. In B dargestellt NMDA-Hypofunktion bei Schizophrenie. Hierdurch Disinhibition der kortikomesenzephalen Bahn mit konsekutiver Übererregung der mesostriatalen dopaminergen Projektion. Variiert nach<sup>110</sup>.

Hierdurch soll es zu Alterationen des dopaminergen Tonus kommen, welche durch Erregung striataler Neurone zu Positivsymptomen führen (Abbildung 14). Das Vorkommen von Negativsymptomen wird sowohl mit einem verminderten dopaminergen Tonus als auch ineffizienter glutamaterger Aktivität in präfrontalen Kortexarealen, der klinischen Hypofrontalität, in Verbindung gebracht (siehe oben). Es ist ersichtlich, dass die komplexen Interaktionen zwischen verschiedenen Kortexarealen klinisch auch im Sinne einer gestörten Konnektivität der betroffenen Hirnbereiche interpretierbar sind, ein Aspekt, der bereits einleitend besprochen wurde.

Auch AKAP79 kann durch Aktivierung dopaminergere D1-Rezeptoren in seiner Funktion beeinflusst werden. So zeigte sich eine durch Erregung dieser Rezeptoren mediierte Phosphorylierung von AMPA-Rezeptoren, die auf diese Art modifiziert werden, um stabil in die postsynaptische Membran integriert werden zu können. Durch funktionell beeinträchtigende AKAP-Mutationen konnte dieser Effekt aufgehoben werden <sup>111</sup>.

Erwähnenswert ist in diesem Zusammenhang, dass eine Aktivierung der beschriebenen D1-Rezeptoren im Tiermodell in der Lage war neuronale Schäden durch den NMDA-Antagonisten PCP abzumildern <sup>112</sup>.

Auch eine Aktivierung des Dopamin-D2-Rezeptors in der Area tegmentalis ventralis der Ratte vermag das AKAP79/150-System zu aktivieren und führt auf diese Weise zu einer „long term depression“ (LTD) GABAerger inhibitorischer Neurone <sup>113</sup>. Aufgrund der postulierten verminderten dopaminergen Aktivität in den untersuchten präfrontalen Regionen, kann eine Überexpression von AKAP79 in diesem Zusammenhang nicht als Folge einer übermäßigen Aktivierung von Dopaminrezeptoren interpretiert werden.

Wahrscheinlicher ist ein Überwiegen anderer, wahrscheinlich glutamaterger Mechanismen, welche zum beobachteten Effekt führen. Eine kompensatorische Erhöhung bei hypodopaminergem Einfluss ist allerdings prinzipiell denkbar.

#### **4.1.3. AKAP79 und GABA**

Hinsichtlich des GABA-Neurotransmitter-Systems bestehen mehrere Hypothesen. So wurde die oben beschriebene Entthemmung präfrontaler AMPA-Glutamat-Mechanismen durch eine fehlende NMDA-Rezeptor-vermittelte Erregung hemmender GABAerger Interneurone beschrieben (siehe Abbildung 14)<sup>88</sup>. Auch die strukturellen Veränderungen des dorsolateralen präfrontalen Kortex im Sinne von Funktionsstörungen parvalbuminhaltiger GABAerger Interneurone sind eine Beobachtung, welche hiermit im Zusammenhang steht. Hierzu zählt, dass eines der am häufigsten reproduzierten Ergebnisse der Transmitterforschung in der Schizophrenie eine Unterexpression des 67-kDa-Isoenzym der Glutamatdecarboxylase (GAD67), einem Schlüsselenzym der GABA-Synthese, ist <sup>114</sup>.

Es wird diskutiert, ob Störungen des Arbeitsgedächtnisses bei Schizophrenen eine Folge gestörter  $\gamma$ -Band-Oszillationen aufgrund der reduzierten GABAergen Aktivität o.g. Interneurone darstellen <sup>115, 24</sup>. So konnten verschiedene Mutationen an Untereinheiten des GABA-A-Rezeptors mit einem erhöhten Risiko für eine Erkrankung an Schizophrenie in Verbindung gebracht werden <sup>116</sup>. Auch war es möglich durch einen GABA-A-Rezeptor-Antagonisten produktiv-psychotische Symptome in schizophrenen Patienten auszulösen <sup>117</sup>. Im dorsolateralen präfrontalen Kortex schizophrener Patienten ließen sich vermehrt  $\alpha 2$ -Untereinheiten des GABA-A-Rezeptors im initialen Axonsegment nachweisen, ein Hinweis auf eine Kompensation bei vermindertem GABAergen Tonus <sup>118</sup>. Wie im vorigen Absatz beschrieben, ist AKAP79 auch an Mechanismen der synaptischen Plastizität GABAerger Neurone beteiligt. Eine funktionelle Bedeutung des AKAP79/150-Proteinkinase-A-Komplexes bei der Phosphorylierung und damit Modifikation der  $\beta 3$ -Untereinheit des GABA-A-Rezeptors konnte im Tiermodell nachgewiesen werden <sup>119</sup>. Eine Erhöhung von AKAP79 im Sinne einer LTD GABAerger Interneurone ist eine mögliche Interpretation der vermehrten Expression des Proteins.

## **4.2. Erhöhung von AKAP79 bei Veränderung nachgeschalteter Effektoren**

AKAP79 interagiert mit einer ganzen Reihe postsynaptischer Effektorproteine. Das sind neben Elementen des Zytoskeletts wie F-Actin, Cadherin oder PIP2 insbesondere Enzyme der Phosphoregulation, also Kinasen und Phosphatasen. Wir werden nachfolgend die Bedeutung dieser assoziierten Enzyme im Rahmen der physiologischen neuronalen Funktion sowie bekannte pathologische Veränderungen bei schizophrenen Patienten bzw. Tiermodellen der Schizophrenie beschreiben. In diesem Rahmen folgt eine Analyse der Erhöhung von AKAP79 in Zusammenhang mit dem entsprechenden Enzym. Hierzu zählen im speziellen Calcineurin, Adenylatcyclasen, Proteinkinase A und C.

Daneben hat AKAP79 Bindungsstellen für regulatorische Proteine wie Calmodulin und Caldendrin <sup>120, 121</sup>. Bei letzterem konnte eine reduzierte Anzahl immunreaktiver Neurone im linken DLPFC bei gleichzeitig erhöhter Expression des Proteins bei schizophrenen Patienten nachgewiesen werden <sup>83</sup>.

#### 4.2.1. Calcineurin

Bei Calcineurin (CaN, Proteinphosphatase 2B, PP2B) handelt es sich um eine Serin-Threonin-Proteinphosphatase. Sie ist aufgebaut aus zwei Bestandteilen, einer katalytischen Untereinheit (CNA), deren Funktion in einer Dephosphorylierung von Proteinen an oben genannten Aminosäure-Resten besteht, sowie einer regulatorischen Untereinheit (CNB) mit Bindungsstellen für die Liganden Calcium und Calmodulin (CaM). Eine Bindung dieser Regulatoren führt zur Aktivierung des Enzyms<sup>122</sup>. Coghlan et al. konnten 1995 zeigen, dass AKAP79 die Funktion von Calcineurin in vitro zu hemmen in der Lage ist<sup>123</sup>. Calcineurin kommt in dendritischen Spines, gebunden an AKAP79, vor und ist entscheidend in der Initiierung von Dephosphorylierungen im Rahmen der „long term depression“ (LTD) beteiligt. So führen Funktionsstörungen von Calcineurin zu einer deutlichen Beeinträchtigung der hippocampalen LTD<sup>124</sup>. Darüber hinaus führt eine Aktivierung der Calcineurin-Signalkaskade durch NMDA-Glutamat-Rezeptoren zu einer Reorganisation des Zytoskeletts und einer Verschiebung des AKAP79-PKA-Komplexes aus dendritischen Strukturen heraus<sup>87</sup>. Studien mit einer Knock-Out-Maus, deren Calcineurin-Funktion in präfrontalen Kortexarealen defekt war, fanden Verhaltensauffälligkeiten, die als Modell einer Schizophrenie gelten können. Diese verstärkten sich durch Gabe synthetischer NMDA-Rezeptor-Antagonisten<sup>125</sup>. Darüber hinaus führen bestimmte Polymorphismen des PPP3CC-Gens auf Chromosom 8p21.3, welches eine Form der katalytischen Untereinheit des Calcineurins (CNA $\gamma$ ) kodiert, zu einem erhöhten Risiko an einer Schizophrenie zu erkranken<sup>126, 127</sup>. Klinisch finden sich Hinweise, dass der Calcineurin-Inhibitor Cyclosporin A zur Exazerbation schizophrener Symptome führen kann<sup>128</sup>. Einschränkend muss jedoch ergänzt werden, dass quantitative Messungen in Hippocampus und DLPFC Verstorbener keine Unterschiede im Calcineurin-Level zwischen schizophrenen Patienten und psychiatrisch gesunden Kontrollpatienten feststellen konnten<sup>129</sup>. Aus dem Tiermodell der Calcineurin-defizienten Maus und der Potenz zur Bindung von Calcineurin durch AKAP79 kann ein möglicher Zusammenhang einer AKAP79-Erhöhung mit einer Verminderung der Funktion von Calcineurin und damit einer gestörten LTD abgeleitet werden. Diese Ergebnisse führten dazu, dass aktuell Substanzen in der Entwicklung sind, welche zu einer Verstärkung der Calcineurin-Signaltransduktion führen und auf diese Weise seine eingeschränkte Funktion im Rahmen der Schizophrenie kompensieren sollen<sup>130</sup>.

#### 4.2.2. Adenylatcyclasen

Bei den Adenylatcyclasen (AC) handelt es sich um eine Enzymgruppe, deren gemeinsame Funktion in der Katalyse der Reaktion von ATP zu cAMP besteht. Es konnte nachgewiesen werden, dass die Isoformen 5, 6, 8 und 9 an AKAP79 gebunden vorkommen und dass die unmittelbare räumliche Nähe zur cAMP-abhängigen Proteinkinase A zu einem negativen Feedback durch Phosphorylierung des Enzyms und damit Überführung in eine inaktive Form führt<sup>131</sup>. Assoziation von AC-5 mit AKAP79 ist unabdingbar für postsynaptische Signalübertragungsmechanismen an AMPA-Glutamat-Rezeptoren<sup>132</sup>. Darüber hinaus ist die Bindung der AC-5 ein wesentlicher Faktor in der PKA-abhängigen Phosphorylierung von Ser845 im Rahmen der LTP<sup>133</sup>. Bezüglich einer Hemmung von Adenylatcyclasen über G<sub>i</sub>-Protein-medierte Mechanismen durch Agonisten an mGlu2/3-Rezeptoren als möglichem therapeutischem Anknüpfungspunkt zur Behandlung der Schizophrenie soll auf das Kapitel „Therapeutische Implikationen der Glutamathypothese“ verwiesen werden. Wie in diesem Kapitel beschrieben können Agonisten an diesen metabotropen Glutamatrezeptoren im Tiermodell psychotische Symptome hemmen<sup>134</sup>. Eine Erhöhung von AKAP79 kann somit eine erhöhte Aktivität von Adenylatcyclasen in subsynaptischen Strukturen anzeigen und eine Hemmung dieser Enzyme möglicherweise als therapeutische Option zur Behandlung schizophrener Symptome in Frage kommen.

#### 4.2.3. Proteinkinase A

Bei der Proteinkinase A (PKA) handelt es sich um eine ubiquitär vorkommende Serin-Threonin-Proteinkinase, deren Aktivität durch die Bindung des durch Adenylatcyclasen synthetisierten cyclischen Adenosinmonophosphats (cAMP) reguliert wird. AKAPs sind nach der Existenz einer Bindungsdomäne zur regulatorischen Untereinheit dieser Proteinkinase benannt (A-kinase anchoring proteins). Im Rahmen von Vorgängen bei der Ausbildung synaptischer Plastizität spielt die PKA eine entscheidende Rolle. So ist für Stabilisierung und synaptischen Einbau von AMPA-Glutamat-Rezeptoren bei der „long term potentiation“ (LTP) eine Phosphorylierung dieser Rezeptoren an einem Serin-Rest (Ser845) unabdingbar<sup>135, 136</sup>. Mutationen in der PKA-Bindungsdomäne von AKAP150 in Mäusen führen zu einer deutlich verminderten Expression des Enzyms in synaptischen Strukturen und zu einer Störung des Ablaufs der LTP in hippocampalen Neuronen während bestimmter Entwicklungsstadien der Tiere<sup>137</sup>. Darüber hinaus konnte nachgewiesen werden, dass eine Mutation der Phosphorylierungsstelle Ser845 am AMPA-Glutamat-Rezeptor zu einer deutlichen Beeinträchtigung auch der „long term depression“ führt, so dass eine Phosphorylierung dieser durch die Proteinkinase A auch hier von wesentlicher Bedeutung ist<sup>138, 139</sup>.



Hinsichtlich der Schizophrenie konnte bereits 1993 gezeigt werden, dass die Aktivität der PKA bei Patienten mit dieser Erkrankung in linksseitigen temporalen Kortexarealen erhöht zu sein scheint<sup>140</sup>. Eine solche linksseitige Dominanz ist auch mit dem Ergebnis unserer Arbeit vereinbar, da die Erhöhung von AKAP79 auch durch ein Linksüberwiegen gekennzeichnet ist. Darüber hinaus besteht die Funktion des bekannten Schizophrenie-Suszeptibilitätsgens DISC-1 in einer Regulation intrazellulärer cAMP-Spiegel und auf diese Weise auch der Proteinkinase A<sup>141</sup>. Es scheint also eine Störung PKA-medierter Mechanismen bei der molekularen Pathogenese der Schizophrenie von Bedeutung zu sein. Wie im vorigen Abschnitt erwähnt, ist eine Hemmung der Aktivität der Adenylatcyclase-cAMP-PKA-Signalkaskade eine Möglichkeit zur Beeinflussung schizophrener Symptome. Zur genaueren Veranschaulichung verweisen wir auf die Kapitel „Therapeutische Implikationen der Glutamathypothese“ sowie „Adenylatcyclasen“.

#### **4.2.4. Proteinkinase C**

Diese ist, wie auch die PKA, eine Serin-Threonin-Proteinkinase, deren Funktion jedoch abhängig von Calcium/Calmodulin und Diacylglycerin (DAG) reguliert wird. Klauck et al. entdeckten 1996, dass dieses Enzym in subsynaptischen Strukturen ebenfalls an AKAP79 gebunden vorliegt<sup>142</sup>. Darüber hinaus kann eine Bindung an AKAP79 das Enzym in seiner Aktivität hemmen<sup>143</sup>. Dem gegenüber ist es der Proteinkinase C möglich, durch Phosphorylierung von AKAP79 zu einer Lösung des Gerüstproteins von synaptischen Zellmembranbestandteilen zu führen. Sie ist somit ein wichtiger Regulator des Signalkomplexes<sup>144, 145</sup>. Bezüglich der synaptischen Plastizität ist die PKC neben der Calcium-Calmodulin-abhängigen Proteinkinase II (CaMKII) in der Lage eine Phosphorylierung des Serin-Restes 831 (Ser831) der GluR1-Untereinheit des AMPA-Glutamat-Rezeptors herbeizuführen. Auf diese Weise trägt sie zur „long term potentiation“ bei<sup>146</sup>. Hinsichtlich der Aktivität der Proteinkinase C in Gehirnen schizophrener Patienten konnten verschiedene Autoren keine Veränderungen feststellen<sup>140, 147</sup>. Es gibt jedoch Ergebnisse, welche über eine Dysfunktion des G<sub>q</sub>-Protein hemmenden Regulatorproteins RGS4 eine Enthemmung PKC-medierter intrazellulärer Mechanismen im Rahmen der Schizophrenie propagieren<sup>148, 149</sup>. Passend dazu fanden sich auch im Rattenmodell erhöhte basale PKC-Aktivitätslevel bei Tieren mit neonatalen Hippocampusläsionen, einem Verhaltensmodell der Schizophrenie<sup>150</sup>. Hier ist jedoch einzuwenden, dass Agonisten am mGlu5-Rezeptor via G<sub>q</sub>-Protein-Mechanismen und somit über eine Erhöhung der Aktivität der Proteinkinase C zu einer Verstärkung NMDA-Rezeptor-medierter Abläufe führen und dass dieser Effekt bereits therapeutische Wirkung in Tiermodellen der Schizophrenie zeigen konnte (siehe „Therapeutische Implikationen der Glutamathypothese“).

Es ist denkbar, dass eine Erhöhung von AKAP79 mit einem vermehrten Vorkommen von Proteinkinase C in dendritischen Endigungen assoziiert ist. Ob dies auch als Ursache einer vermehrten Aktivität des Enzyms zu interpretieren ist, muss aufgrund der Fähigkeit von AKAP79 diese Aktivität zu hemmen offen bleiben.

### **4.3. Therapeutische Implikationen der Glutamathypothese**

Therapeutisch erscheint zur Korrektur der NMDA-Hypofunktion eine direkte Erregung des NMDA-Rezeptors durch pharmakologische Substanzen denkbar. Studien haben bereits in den 90er Jahren ergeben, dass eine solche unselektive Aktivierung von Glutamatrezeptoren multiple neurotoxische Effekte zur Folge hat und damit unpraktikabel ist <sup>151</sup>. Ziel aktueller pharmakologischer Überlegungen sind demzufolge Substanzen, welche die Reaktion von NMDA-Rezeptoren auf einen physiologischen glutamatergen Stimulus zu verstärken in der Lage sind. Ein Weg ist die Stimulation der Glycin-Bindungsstelle am NMDA-Rezeptor. Eine Aktivierung dessen ist durch die alleinige Bindung von Glutamat nicht möglich. Das Vorhandensein von Co-Aktivatoren an der Glycin-Bindungsdomäne ist obligat <sup>152</sup>. Bekannte physiologische Co-Liganden an dieser sind neben dem Glycin Aktivatoren wie D-Serin. Direkte Applikationen dieser Substanzen zeigten widersprüchliche Ergebnisse, wobei pharmakokinetische Limitationen ein zentrales Problem darstellen. Neuere Studien zeigen jedoch positive Effekte von Glycintransporter (GlyT)-Antagonisten, einem astrozytären Transportprotein, durch dessen Hemmung die Entfernung des physiologisch vorhandenen Glycins aus dem synaptischen Spalt verzögert wird (siehe Abbildung 15) <sup>153</sup>.

Eine weitere therapeutische Möglichkeit ergibt sich durch die Beobachtung, dass ein bestimmter Subtyp metabotroper Glutamatrezeptoren, im Speziellen der Gruppe-I-Rezeptor mGluR5 in starker räumlicher und funktioneller Assoziation mit dem NMDA-Rezeptor vorkommt <sup>154</sup>. Es fand sich eine Verstärkung von durch NMDA-Rezeptoren ausgelösten Lernmechanismen durch gleichzeitige Gabe eines Agonisten am mGluR5-Rezeptor <sup>155</sup>. Mutationen an diesem Rezeptor führen im Tiermodell zu schizophreniformen Symptomen und auch in Familienstudien konnten Risikomutationen nachgewiesen werden, die zum Ausbruch der Schizophrenie führen <sup>156</sup>. Ebenso scheinen Antagonisten am mGluR5, wie auch am NMDA-Rezeptor, in Nagetieren einen negativen Einfluss auf „long term potentiation“ (LTP), einen Mechanismus der synaptischen Plastizität, auszuüben <sup>157</sup>. Hier ist zu beachten, dass selektive Agonisten an der Glutamat-Bindungsstelle aufgrund der stark konservierten Rezeptorstruktur bisher nicht zu synthetisieren waren ohne gleichzeitig eine unselektive Aktivierung anderer Glutamatrezeptoren in Kauf zu nehmen. Allosterische Modulatoren des mGluR5 zeigen jedoch in Tiermodellen vielversprechende Wirkungen.

Es ließ sich nachweisen, dass agonistisch wirkende Substanzen am mGluR5 in der Lage waren Verhaltensstörungen durch NMDA-Rezeptor-Antagonisten erheblich abzuschwächen<sup>158</sup>. Ebenso fand sich ein positiver Einfluss auf die oben beschriebene LTP<sup>157</sup>.

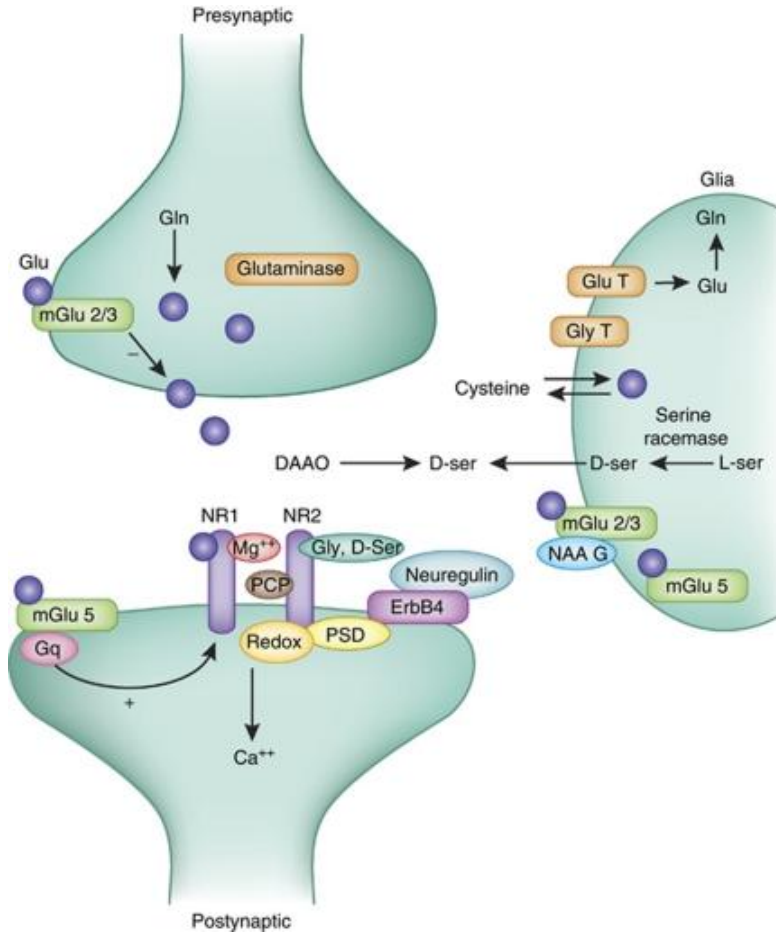


Abbildung 15: Darstellung der Glutamatsynapse mit NMDA-Rezeptor (NR1/2). Im Text beschriebene Angriffspunkte an der Glycin-Bindungsstelle (Gly), am Glycintransporter (GlyT) sowie an den metabotropen Glutamatrezeptoren mGlu2/3 und mGlu5<sup>88</sup>.

Weitere Subtypen metabotroper Glutamatrezeptoren, die in der Pathogenese oder Therapie der Schizophrenie eine Rolle spielen können, umfassen die Gruppe-II-Rezeptoren (mGluR2-3). Wie oben erwähnt sind Agonisten an diesen Rezeptoren in der Lage sowohl durch NMDA-Rezeptor-Antagonisten auftretende vermehrte synaptische Aktivität an frontalen kortikalen Neuronen als auch psychotische Symptome im Tiermodell zu hemmen<sup>134</sup>. Eine mögliche These aus den Ergebnissen dieser Arbeit besagt, dass die vermehrte Expression von AKAP79 eine Folge höherer Utilisation von mit diesem Gerüstprotein assoziierten Enzymen ist. Hier spielt die Proteinkinase A eine zentrale, sogar namensgebende Rolle. Das vermehrte Auftreten von AKAP79 in den Gehirnen schizophrener Patienten impliziert somit auch eine erhöhte Aktivität der Proteinkinase A.

Wie oben erwähnt wirken metabotrope Glutamatrezeptoren der Gruppe II über einen intrazellulären G<sub>i</sub>-Protein-Mechanismus, welcher die Aktivität der cAMP-abhängigen Proteinkinase A zu hemmen vermag. Somit liegt in einer erhöhten Aktivität dieser und damit auch von AKAP79 eventuell ein Schlüssel der Entstehung schizophrener Symptome. Bisherige Einsätze von mGluR2/3-Agonisten an schizophrenen Patienten ergaben jedoch keinen über eine Placebo-Wirkung hinausgehenden Effekt <sup>159</sup>. Neuere positive allosterische Modulatoren (PAMs) an Gruppe-II-Rezeptoren hatten jedoch Wirkungen hinsichtlich einer Besserung von Negativsymptomen bei Schizophrenen gezeigt <sup>160</sup>.

#### **4.4. AKAP79 und synaptische Plastizität bei Schizophrenie**

Der AKAP79-Komplex spielt eine zentrale Rolle im intrazellulären Ablauf von synaptischen Lernvorgängen, der sogenannten synaptischen Plastizität. Die wesentliche Funktion im Rahmen der synaptischen Plastizität besteht darin, Proteine der Phosphoregulation an die postsynaptische Verdichtung (post synaptic density, PSD) zu transportieren. In Mäusen mit einer Knock-Out-Mutation des akap5-Gens bzw. mit einer defekten Bindungsdomäne zur Proteinkinase A zeigten sich massive Beeinträchtigungen von Lernabläufen <sup>161</sup>. Es konnte gezeigt werden, dass während des Ablaufs der „long term potentiation“ (LTP), welche eine Depolarisation von NMDA-Rezeptoren mit hoher Frequenz zur Voraussetzung hat, eine Phosphorylierung des AMPA-Rezeptors an Serin-Resten erfolgt. Diese sorgt für eine Stabilisierung des Rezeptors im Verbund der PSD bzw. zu einem Einbau von AMPA-Rezeptoren in diese und wird durch die AKAP79-assoziierte Proteinkinase A katalysiert. Weiterhin kommt es in diesem Rahmen zur Ausbildung synaptischer Dornen („spines“).

Im Zusammenhang mit der „long term depression“, also der Herabregulierung der synaptischen Verbindung, erfolgt eine Dephosphorylierung. Diese setzt eine Aktivität von Calcineurin/Proteinphosphatase 2B voraus und ist somit auch AKAP79 abhängig. Tierstudien an Mäusen, welche defizient für das homologe Protein AKAP150 waren, zeigten eine Verschiebung der Lokalisation der Proteinkinase A von dendritischen Strukturen ins Perikaryon hinein. Es kam zu deutlichen Beeinträchtigungen der LTD und abhängig vom Entwicklungsstadium der Maus auch der LTP <sup>84</sup>. Manche Autoren grenzen die LTD an dieser Stelle von der Depotenzierung ab, erstere beschreibt eine aktive Abschwächung synaptischer Übertragungsmechanismen, zweitere eine Umkehrung der LTP <sup>162</sup>. Die beschriebenen Studien wurden an Neuronen aus Hippocampi durchgeführt, es ist jedoch evident, dass gleichartige Mechanismen an jeder glutamatergen Synapse vorkommen können.

Die bedeutende Stellung des Glutamatstoffwechsels im Rahmen der Pathophysiologie der Schizophrenie impliziert Veränderungen von intrazellulären Signalmolekülen, welche eine Rolle in LTP oder LTD spielen. Es gibt verschiedene Hinweise auf Störungen der synaptischen Plastizität im Rahmen der Schizophrenie. So scheint das Protein Neuregulin-1 eine Rolle bei der Regulation von LTP in hippocampalen Neuronen zu spielen. Das diesem zu Grunde liegende Gen ist bereits seit längerem als Risikogen für Schizophrenie bekannt<sup>163, 11</sup>. Hiermit einher gehen Ergebnisse aus einem Tiermodell, bei denen es sowohl für den Fall einer Herabregulierung von Neuregulin 1, seines Rezeptors ErbB4 als auch von parvalbuminhaltigen GABAergen Interneuronen, einem histologisch nachgewiesenen Befund bei Schizophrenen, zu Störungen in der hippocampalen Regulation der LTP kommt<sup>164</sup>. Folge ist jeweils eine Störung der Depotenzierung, also eine vermehrte LTP.

Demgegenüber fand sich neurophysiologisch eine verminderte LTP-ähnliche Reaktion auf externe Stimuli im motorischen Kortex Schizophrener gegenüber Gesunden<sup>165</sup>. Es ergibt sich nun daraus die Frage, ob diese gegensätzliche Reaktion aufgrund der Untersuchung verschiedener Kortexareale zu erklären ist. Es wurden jedoch, auch im Tiermodell, nach Gabe von NMDA-Rezeptorantagonisten Verminderungen der hippocampalen LTP nachgewiesen<sup>166</sup>. Diese Beobachtungen bestätigten vorhergehende Untersuchungen, bei denen daneben auch durch Antagonisten am metabotropen Glutamatrezeptor 5, der durch Aktivierung Mechanismen des NMDA-Rezeptors positiv moduliert und auf diese Weise Aktionen am NMDA-Rezeptor selbst funktionell imitieren kann, ein gleichsamer Effekt beschrieben wurde<sup>157</sup>. Als gesichert kann gelten, dass es im Rahmen der Schizophrenie zu Störungen der synaptischen Plastizität und damit auch mit dieser assoziierter intrazellulärer Proteine kommt. Eventuell ist dies der Ausgangspunkt, der eine Verbindung zwischen den Transmitterhypothesen, der überschießenden synaptischen Degeneration („Pruning“), der Verminderung grauer Substanz in verschiedenen Hirnarealen und der Diskonnektivität zwischen diesen Arealen zu schaffen in der Lage ist.

Bei der Interpretation ist jedoch zu berücksichtigen, dass es hinsichtlich der Funktion von AKAP79 und mit diesem assoziierten Proteinen lokalisationsabhängige Differenzen gibt (siehe „Methodenkritische Aspekte“). Es ist zu erwähnen, dass LTD zu einer Lösung des AKAP79-Proteinkomplexes von Zellmembranmolekülen in dendritischen Spines führt<sup>145</sup>. Ob sich daraus allerdings ein vermehrtes Auftreten im Perikaryon, wie es in unserer Studie festgestellt wurde, ableitet, ist unklar. Sollte eine allgemeine Erhöhung von AKAP79 im Zellkörper gleichbedeutend mit einer Erhöhung desselben auch an dendritischen Strukturen sein, ist auch dies hinsichtlich der synaptischen Plastizität mehrdeutig.

Da AKAP79-assoziierte Proteine sowohl für LTD als auch für LTP von zentraler Bedeutung sind, kann es ein Hinweis darauf sein, dass Veränderungen der synaptischen Plastizität bei Schizophrenen auftreten und diese nicht auf Neurone des Hippocampus beschränkt zu sein scheinen. Darüber hinaus konnte eine neue Studie an Ratten zeigen, dass Erregung von Dopamin-D2-Rezeptoren in der Area tegmentalis ventralis des Mittelhirns, dem Ausgangspunkt des mesolimbischen Dopaminsystems via AKAP150-medierte Mechanismen zu einer LTD GABAerger Interneurone und somit zu einer Entthemmung des dopaminergen Feedback führt <sup>113</sup>. Dieses Ergebnis wird in Zusammenhang mit Suchtentwicklung gebracht, aufgrund der wesentlichen Bedeutung der mesolimbischen Projektionen im Rahmen der Schizophrenie (siehe „AKAP79 und Dopamin“) ist eine Assoziation jedoch durchaus auch in diesem Zusammenhang erklärbar. Insgesamt gibt es also Hinweise auf eine gestörte LTD an glutamatergen Neuronen sowie eine verminderte LTD an GABAergen Interneuronen, die mit einer Erhöhung von AKAP79 in Verbindung stehen können.

#### **4.5. Pathologisch-morphologische Veränderungen bei Schizophrenie**

An dieser Stelle werden wir einen Blick auf die Gehirnareale werfen, welche in unserer Studie hinsichtlich der Expression von AKAP79 untersucht wurden und im Mittelpunkt der Schizophrenieforschung stehen. Wir wollen auf diese Art den kurzen Einblick in die pathologischen Veränderungen vertiefen, welcher zum besseren Verständnis bereits in der Einleitung abgehandelt wurde. Ein besonderes Augenmerk liegt dabei in der Interpretation der Erhöhung AKAP79-positiver Neurone in den diskutierten Hirnarealen.

Die Region, die aufgrund morphologischer und funktioneller Assoziationen mit der Schizophrenie seit jeher das größte Interesse weckt, ist der dorsolaterale präfrontale Kortex. Funktionelle MRT-Studien beschreiben eine wesentliche Bedeutung dieser Kortexregion in Prozessen des Arbeitsgedächtnisses, der kognitiven Organisation und des Selbstbezuges <sup>167</sup>, Eigenschaften hinsichtlich derer in der Schizophrenie ausgeprägte Störungen vorliegen. Funktionell finden sich Veränderungen in der Aktivierung dieser Hirnregion während einer Prüfung des Arbeitsgedächtnisses <sup>168</sup>. Es zeigte sich in diesem Zusammenhang, dass die anforderungsabhängige Aktivierung des dorsolateralen präfrontalen Kortex bei Schizophrenen invers zur Ausprägung von Negativsymptomen korreliert <sup>169</sup>. Weitere Auffälligkeiten im dorsolateralen präfrontalen Kortex betreffen eine Reduktion der Aktivität parvalbuminhaltiger GABAerger Interneurone, was eine Desynchronisation dieses Hirnareals zur Folge hat (siehe „AKAP79 und GABA“) <sup>24</sup>.

Oben beschriebene Volumenreduktionen in den Gehirnen schizophrener Patienten waren in diesem kortikalen Areal besonders ausgeprägt<sup>22</sup>. Histologisch ergaben sich widersprüchliche Ergebnisse. So wurden der Volumenverlust und eine in einigen Studien ebenfalls festgestellte erhöhte neuronale Dichte als Folge eines Verlustes an Neuropil propagiert. Hierunter sind sowohl Axone und Dendriten, und hier insbesondere dendritische Fortsätze kortikaler Interneurone, als auch Glia zu subsummieren<sup>23</sup>. Diese Hypothese wird unterstützt durch eine Verminderung der Dichte dendritischer Fortsätze in präfrontalen Kortexarealen schizophrener Patienten<sup>170</sup>. Gemeinsam betrachtet kann dieser Verlust an Neuropil auch als Hinweis auf die oben diskutierte Diskonnektivitäts-Hypothese betrachtet werden.

Der Befund einer erhöhten neuronalen Dichte ist jedoch nicht unwidersprochen, andere Studien fanden diesbezüglich keine Auffälligkeiten<sup>52</sup>. Eine AKAP79-Erhöhung wie im Rahmen unserer Studie beschrieben wäre in diesem Zusammenhang auch als Folge einer allgemeinen Erhöhung der neuronalen Dichte bei Schizophrenen denkbar, auch wenn, wie oben erwähnt, die Studienlage uneinheitlich ist.

Auch im orbitofrontalen Kortex finden sich MR-tomographisch Volumenminderungen bei denjenigen schizophrenen Patienten, die an formalen Denkstörungen leiden<sup>171</sup>. Bei Arbeitsgedächtnis-bezogenen Aufgaben zeigte sich eine Überaktivierung dieser Kortexregion bei Erkrankten<sup>172</sup>. Dem gegenüber ist die kortikale Stoffwechselaktivität in diesem Areal bei Patienten mit dominierenden Negativsymptomen vermindert<sup>173</sup>. Immunhistochemisch ließ sich eine verminderte numerische Dichte glutamaterger Neurone im orbitofrontalen Kortex schizophrener Patienten nachweisen<sup>174</sup>. Eine AKAP79-Erhöhung, die tendenziell, wenn auch nicht signifikant in unserer Studie nachzuweisen war, ist somit nicht als Folge einer allgemeinen Erhöhung der neuronalen Dichte in diesem Kortexareal zu interpretieren, sondern durch ein tatsächliches vermehrtes Vorkommen AKAP79-positiver Neurone begründet.

Der anteriore cinguläre Kortex ist Teil des limbischen Systems und für die Integration von kognitiven und emotionalen Funktionen verantwortlich<sup>175</sup>. Metaanalysen zeigten auch in diesem Kortexareal Volumenverminderungen<sup>176</sup>. Diese sollen nach Szeszko et al. mit dem Ausmaß an exekutiven Störungen männlicher schizophrener Patienten korrelieren<sup>177</sup>. Auch Faltungsanomalien sind beschrieben<sup>178</sup>. Funktionell fanden sich Stoffwechselverminderungen, die unter antipsychotischer Therapie reversibel sind<sup>179</sup>. Änderungen der neuronalen oder auch der Gliazellichte fanden sich nicht<sup>180, 176</sup>. Eine AKAP79-Erhöhung, wie sie in unserer Studie in Schicht IV beidseits und in Schicht V/VI links gefunden werden konnte, ist somit nicht als Folge einer allgemeinen Erhöhung der neuronalen Dichte zu deuten.

Weitere morphologische Veränderungen bei Schizophrenen finden sich in Hippocampus, Thalamus, temporalen kortikalen Arealen, Amygdala, Inselkortex, fronto-polaren Abschnitten sowie auch im primären visuellen Kortex. Bezüglich dieser Auffälligkeiten verweisen wir auf einleitende Beschreibungen sowie die einschlägige Literatur <sup>181, 182</sup>.

## **4.6. Methodenkritische Aspekte**

### **4.6.1. Konfundierende Variablen**

Wie im Abschnitt „Material und Methoden“ bereits ausführlich dargestellt, konnten hinsichtlich der konfundierenden Variablen Alter, Geschlecht, Autolyse- und Fixationsdauer keine signifikanten Unterschiede zwischen schizophrenen Patienten und Kontrollgruppe in unserem Kollektiv beobachtet werden. Es ist auch anzumerken, dass in beiden Gruppen keine Todesfälle durch Suizid auftraten, sondern alle Patienten eines natürlichen Todes starben.

#### **4.6.1.1. Alter, Autolyse- und Fixationsdauer**

Hinsichtlich des Alters fand sich in einer Hirnregion, dem rechten OFC, Lamina I/II, ein signifikanter Zusammenhang zur numerischen Neuronendichte. In sämtlichen anderen Regionen waren keine Signifikanzen zu erheben, in einem Drittel der untersuchten Hirnareale war sogar eine negative Korrelation mit dem Alter zu finden. Diesbezüglich sind die Daten uneindeutig. Eine Interpretation bezüglich einer Erhöhung von AKAP79 allein abhängig vom Alter des Verstorbenen ist ohne Mitbeurteilung von Erkrankungsalter, -dauer und Medikation nur sehr eingeschränkt vorzunehmen. Eine solche integrative Betrachtung erfolgt in den nächsten Abschnitten.

Darüber hinaus ließ sich eine negative Korrelation in 17 von 24 untersuchten Hirnregionen zwischen Autolysedauer und neuronaler Dichte feststellen, auch wenn auch hier nur in einer Region ein signifikanter Zusammenhang zu verzeichnen war (ACC rechts, Lamina III). Dieser Effekt ist bekannt, da es während des Ablaufs der Autolyse post mortem zu einer Degradation für die Immunhistochemie benötigter Antigene kommt und eine Färbung auf diese Weise erschwert wird <sup>183</sup>. Eine Korrelation mit der Fixationsdauer der Gehirne war nicht feststellbar.



#### 4.6.1.2. Krankheitsbeginn und –dauer

Auffällig ist eine signifikante positive Korrelation von Erkrankungsalter und neuronaler Zelldichte in sechs verschiedenen Hirnarealen (DLPFC rechts, Lamina V/VI; ACC beidseits, Lamina III und V/VI; rechter OFC, Lamina III) sowie ein negativer Zusammenhang mit der Krankheitsdauer in fünf dieser sechs Regionen. Dies bedeutet, dass eine hohe neuronale Dichte in diesen kortikalen Abschnitten mit einem späten Erkrankungsalter und einer kurzen Krankheitsdauer korreliert. Eine Erhöhung von AKAP79-positiven Neuronen bei Schizophrenen war im Vergleich zu Gesunden tendenziell in allen Regionen, die einen solchen Zusammenhang zeigten, zu verzeichnen. Es findet sich sogar eine signifikante Erhöhung in zwei der beschriebenen Regionen, dem jeweils linksseitigen dorsolateralen präfrontalen Kortex und Gyrus cinguli, Lamina V/VI. Es scheint somit eine besonders starke AKAP79-Ausprägung in frühen Krankheitsstadien vorhanden zu sein, da in unserem Patientenkollektiv ein hohes Erkrankungsalter mit einer kürzeren Krankheitsdauer korreliert ist ( $r = -0,943$ ,  $p < 0,001$ ) und somit beides frühe Krankheitsstadien anzeigt.

Es ist nun zu berücksichtigen, wodurch sich frühe Krankheitsstadien von späteren unterscheiden. Für eine ausführlichere Betrachtung hinsichtlich der morphologischen Unterschiede wird an dieser Stelle auf Kapitel 1.5. verwiesen. Einen weiteren wesentlichen Unterschied macht hier jedoch die Medikationsdauer aus.

#### 4.6.1.3. Medikation

Bezüglich der Medikation ist es leider nicht möglich genauere Angaben zu machen, als dass alle schizophrenen Patienten mit klassischen und, in geringerem Ausmaß, auch mit atypischen Neuroleptika behandelt wurden. Das ist insofern kritisch anzumerken, da medikamentöse Effekte nachgewiesen zu Veränderungen struktureller, enzymatischer bzw. immunologischer Natur bei Schizophrenen führen können. Beispielsweise konnte der zu beobachtende Shift einer immunologischen TH1-Antwort in eine TH2-dominierte Reaktion durch den Einsatz von Antipsychotika aufgehoben werden<sup>56</sup>. Außerdem zeigten sich kortikale Volumenreduktionen in Affen, welche dauerhaft mit Neuroleptika behandelt wurden.

In dieser Arbeit wurden auch Zunahmen der neuronalen Dichte in präfrontalen Kortexarealen beschrieben<sup>71</sup>. Inwiefern dies eine Verzerrung darstellen kann, wird im nächsten Abschnitt ausführlich diskutiert. Es ist jedoch von großer Bedeutung, dass in unserer Studie eine negative Korrelation zwischen Krankheits- und somit auch Medikationsdauer auf der einen Seite und der zellulären Dichte AKAP79-positiver Neurone zu verzeichnen ist. Hier ist ein Medikationseffekt zu vermuten. Leider existieren im Schrifttum keinerlei Angaben darüber, ob Neuroleptika die Expression von AKAP79 direkt zu beeinflussen vermögen.

#### **4.6.2. Färbung und Zellzählung**

Mittels der Zählmethode kann die Absolutzahl an immunhistochemisch positiven Neuronen der jeweiligen Hirnregion nicht erfasst werden. Vielmehr ergibt sich eine Neuronenzahl bezogen auf Ausmaß des Zählquadrates in Breite und Höhe und durch Fokussierung auch bezüglich der Schichtdicke als dritter Dimension. Es findet sich also eine Neuronenzahl bezogen auf ein Zählvolumen, also eine neuronale Dichte.

Dennoch ist es zentrale Annahme dieser Arbeit, die durch immunhistochemische Anfärbung und Zählung bestimmte neuronale Dichte als Ausdruck der Aktivität des AKAP79-Proteins zu interpretieren. Ein wesentlicher möglicher Fehlerpunkt ist dabei eine Änderung der neuronalen Dichte schizophrener Patienten in den untersuchten Hirnregionen per se. Aufgrund signifikanter Zunahmen der AKAP79-positiven-Neurone in den Gehirnen Schizophrener in unserer Studie ist hier insbesondere eine Zunahme der neuronalen Dichte ein Fehler, welcher die Interpretation dieser Veränderung als echt oder unecht unmöglich machen würde. Im Gegensatz dazu würde eine Abnahme der allgemeinen neuronalen Dichte in den beschriebenen Kortexarealen schizophrener Gehirne den Bias abmildern und somit in unserer Zählung bestimmte Dichtezunahmen hinsichtlich ihrer Signifikanz verstärken, unser Ergebnis in der Interpretation somit noch deutlicher machen. In der Diskussion wurden für die einzeln untersuchten Hirnareale Studien beschrieben, welche die neuronale Dichte in diesen im Speziellen untersuchten. Eine Beurteilung unseres Ergebnisses erfolgte in diesem Kontext. Hier fanden sich lediglich Schwierigkeiten in der Interpretation einer Zelldichteerhöhung im dorsolateralen präfrontalen Kortex (siehe Abschnitt 4.5.).

Eine Interpretation der in unserer Studie nachgewiesenen AKAP79-Erhöhung bezüglich seiner Rolle in intrazellulären Prozessen ist auch aufgrund der möglichen Lokalisation dieses Proteins mehrdimensional vorzunehmen. Hier ist zu berücksichtigen, dass prinzipiell nur Neurone als positiv betrachtet wurden, bei denen die Zellkörper ausreichend gefärbt waren. AKAP79 ist jedoch an seinem Wirkungsort in Dendriten lokalisiert und es ist unklar, ob ein vermehrtes Auftreten im Perikaryon auch mit einer Überexpression in dendritischen Strukturen einhergeht. Wir gehen in unseren Betrachtungen davon aus.

#### **4.6.3. Interpretation**

Zu bedenken ist weiterhin die Vielschichtigkeit der Interpretation einer immunhistochemisch nachgewiesenen Veränderung von AKAP79. Wie bei allen biologischen Parametern ist das Protein AKAP79 nur ein Partner in einem komplexen Geflecht zellulärer Interaktionen. Somit kann eine Veränderung dessen die Ursache weiterer intrazellulärer Prozesse sein.

So kann beispielsweise eine Erhöhung von AKAP79 die Bedingung für eine vermehrte Aktivität Proteinkinase-A-abhängiger Eiweißmodifikationen darstellen. Gleichzeitig ist eine AKAP79-Erhöhung auch als Folge eines Prozesses denkbar, so hier beispielsweise die Aktivierung von AMPA-Rezeptoren, welche über Bindung von MAGuK eine Aggregation von AKAP79 bedingt. Aber auch das Gegenteil ist möglich, also die Erhöhung des Proteins als Kompensationsmechanismus, wie es beispielsweise bei Opiatanwendung im Sinne einer Herabregulierung zentraler Opiatrezeptoren als Antwort auf ein erhöhtes Substratangebot vorkommt <sup>184</sup>. Zu beachten ist, dass in einem biologischen Modell häufig gleichzeitig mehrere dieser Interpretationen zutreffend sein können.

## 5. Zusammenfassung

Eine Unterfunktion glutamaterger Übertragungsmechanismen an NMDA-Rezeptoren ist ein wesentlicher Anknüpfungspunkt in der Pathogenese der Schizophrenie. Aufgrund seiner hervorzuhebenden Rolle in glutamatergen synaptischen Prozessen ist von einer Veränderung der Anzahl AKAP79-positiver Neurone ein Rückschluss auf veränderte glutamaterge Übertragungsmechanismen im Rahmen der Schizophrenie zulässig. In der vorliegenden Arbeit ermittelten wir mittels immunhistochemischer Färbung die neuronale Dichte AKAP79-exprimierender Neurone in den Gehirnen schizophrener Erkrankter im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen. Die Zählung erfolgte schichtenspezifisch und beidseits im dorsolateralen präfrontalen Kortex, im anterioren cingulären Kortex sowie im orbitofrontalen Kortex. Die untersuchten kortikalen Areale stellen einen Schwerpunkt pathologischer Veränderungen bei Schizophrenen dar.

Es wurden Ganzhirnschnitte aus Gehirnen von 12 schizophrenen Patienten und 12 Kontrollfällen verglichen. Hierbei fanden sich signifikante Zelldichteerhöhungen beim Kollektiv der schizophrenen Patienten im Vergleich zu den Kontrollen im linken dorsolateralen präfrontalen Kortex, Lamina III und V/VI, im linken anterioren Cingulum, Lamina IV und V/VI sowie im rechten anterioren Cingulum, Lamina IV. In sämtlichen anderen untersuchten Regionen bzw. kortikalen Schichten, mit einer Ausnahme im rechten DLPFC, Lamina I/II, fand sich eine Tendenz zur Erhöhung der Zelldichte AKAP79-gefärbter Neurone bei Schizophrenen.

Auffällig ist darüber hinaus eine inverse Korrelation der neuronalen Dichte mit der Krankheitsdauer, eine stärkere Expression von AKAP79 also in früheren Krankheitsstadien. Dies ist mit hoher Wahrscheinlichkeit als Medikationseffekt zu interpretieren.

Eine Deutung dieses Befundes muss aufgrund der Bedeutung von AKAP79 in multiplen intrazellulären Prozessen vielschichtig erfolgen. Es muss an dieser Stelle jedoch offen bleiben, welche exakte Funktion der vermehrten Anfärbung AKAP79-positiver Neurone in den oben beschriebenen Regionen zukommt. Das Ergebnis fügt sich in die aktuelle Forschungslage hinsichtlich der hervorragenden Bedeutung der Alteration glutamaterger Vorgänge, insbesondere einer Untererregung von NMDA-Rezeptoren, ein. Auch für die Ausbildung synaptischer Plastizität und damit von Lernvorgängen ist das AKAP79-Signalosom unabdingbar. Hier wurden hinsichtlich der Schizophrenie bereits verschiedene Beeinträchtigungen beschrieben, die zu einer veränderten Expression dieses subsynaptischen Gerüstproteins führen können. Eine Erhöhung von AKAP79 ist jedoch nicht nur als Folge synaptischer Prozesse zu betrachten, sondern auch aufgrund der Vielzahl von mit diesem Protein assoziierten Interaktionspartnern Ursache zahlreicher intrazellulärer Veränderungen in der Signalverarbeitung.

## 6.Literaturverzeichnis

1. ICD-10-GM 2013 Systematisches Verzeichnis: Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme 10. Revision - German Modification Version 2011 - Stand 24.09.2010 Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme 10. Revision - German Modification. 1st ed. Köln: Deutscher Ärzte-Verlag; 2012.
2. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-IV-TR. 4th ed. Washington, DC: American Psychiatric Association; 2000.
3. Keefe RSE. Should cognitive impairment be included in the diagnostic criteria for schizophrenia? *World Psychiatry*. 2008;7(1):22–28.
4. Jablensky A. The diagnostic concept of schizophrenia: its history, evolution, and future prospects. *Dialogues Clin Neurosci*. 2010;12(3):271–287.
5. Kyziridis TC. Notes on the history of schizophrenia. *German Journal of Psychiatry*. 2005(8):42–48.
6. McGrath J, Saha S, Chant D, Welham J. Schizophrenia: a concise overview of incidence, prevalence, and mortality. *Epidemiol Rev*. 2008;30:67–76.
7. Messias EL, Chen C, Eaton WW. Epidemiology of schizophrenia: review of findings and myths. *Psychiatr. Clin. North Am*. 2007;30(3):323–338.
8. Tiihonen J, Lönnqvist J, Wahlbeck K, Klaukka T, Niskanen L, Tanskanen A, Haukka J. 11-year follow-up of mortality in patients with schizophrenia: a population-based cohort study (FIN11 study). *Lancet*. 2009;374(9690):620–627.
9. Harris EC, Barraclough B. Suicide as an outcome for mental disorders. A meta-analysis. *Br J Psychiatry*. 1997;170:205–228.
10. Cardno AG, Gottesman II. Twin studies of schizophrenia: from bow-and-arrow concordances to star wars Mx and functional genomics. *Am. J. Med. Genet*. 2000;97(1):12–17.
11. Stefansson H, Sigurdsson E, Steinthorsdottir V, Bjornsdottir S, Sigmundsson T, Ghosh S, Brynjolfsson J, Gunnarsdottir S, Ivarsson O, Chou TT, Hjaltason O, Birgisdottir B, Jonsson H, Gudnadottir VG, Gudmundsdottir E, Bjornsson A, Ingvarsson B, Ingason A, Sigfusson S, Hardardottir H, Harvey RP, Lai D, Zhou M, Brunner D, Mutel V, Gonzalo A, Lemke G, Sainz J, Johannesson G, Andresson T, Gudbjartsson D, Manolescu A, Frigge ML, Gurney ME, Kong A, Gulcher JR, Petursson H, Stefansson K. Neuregulin 1 and susceptibility to schizophrenia. *Am. J. Hum. Genet*. 2002;71(4):877–892.
12. Williams NM, O'Donovan MC, Owen MJ. Is the dysbindin gene (DTNBP1) a susceptibility gene for schizophrenia? *Schizophr Bull*. 2005;31(4):800–805.
13. Blackwood DH, Fordyce A, Walker MT, St Clair DM, Porteous DJ, Muir WJ. Schizophrenia and affective disorders--cosegregation with a translocation at chromosome 1q42 that directly disrupts brain-expressed genes: clinical and P300 findings in a family. *Am. J. Hum. Genet*. 2001;69(2):428–433.

14. Corvin AP. Two patients walk into a clinic...a genomics perspective on the future of schizophrenia. *BMC Biol.* 2011;9:77.
15. Mittal VA, Ellman LM, Cannon TD. Gene-environment interaction and covariation in schizophrenia: the role of obstetric complications. *Schizophr Bull.* 2008;34(6):1083–1094.
16. Torrey EF, Buka S, Cannon TD, Goldstein JM, Seidman LJ, Liu T, Hadley T, Rosso IM, Bearden C, Yolken RH. Paternal age as a risk factor for schizophrenia: how important is it? *Schizophr. Res.* 2009;114(1-3):1–5.
17. Bogerts B, Falkai P, Greve B, Schneider T, Pfeiffer U. The neuropathology of schizophrenia: past and present. *J Hirnforsch.* 1993;34(2):193–205.
18. Falkai P, Schneider T, Greve B, Klieser E, Bogerts B. Reduced frontal and occipital lobe asymmetry on the CT-scans of schizophrenic patients. Its specificity and clinical significance. *J. Neural Transm. Gen. Sect.* 1995;99(1-3):63–77.
19. Ingvar DH, Franzén G. Abnormalities of cerebral blood flow distribution in patients with chronic schizophrenia. *Acta Psychiatr Scand.* 1974;50(4):425–462.
20. Weinberger DR, Berman KF. Speculation on the meaning of cerebral metabolic hypofrontality in schizophrenia. *Schizophr Bull.* 1988;14(2):157–168.
21. Carter CS, Perlstein W, Ganguli R, Brar J, Mintun M, Cohen JD. Functional hypofrontality and working memory dysfunction in schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 1998;155(9):1285–1287.
22. Gur RE, Cowell PE, Latshaw A, Turetsky BI, Grossman RI, Arnold SE, Bilker WB, Gur RC. Reduced dorsal and orbital prefrontal gray matter volumes in schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry.* 2000;57(8):761–768.
23. Selemon LD, Goldman-Rakic PS. The reduced neuropil hypothesis: a circuit based model of schizophrenia. *Biol. Psychiatry.* 1999;45(1):17–25.
24. Lewis DA, Curley AA, Glausier JR, Volk DW. Cortical parvalbumin interneurons and cognitive dysfunction in schizophrenia. *Trends Neurosci.* 2012;35(1):57–67.
25. McCarley RW, Wible CG, Frumin M, Hirayasu Y, Levitt JJ, Fischer IA, Shenton ME. MRI anatomy of schizophrenia. *Biol. Psychiatry.* 1999;45(9):1099–1119.
26. Goldstein JM, Goodman JM, Seidman LJ, Kennedy DN, Makris N, Lee H, Tourville J, Caviness VS, Faraone SV, Tsuang MT. Cortical abnormalities in schizophrenia identified by structural magnetic resonance imaging. *Arch. Gen. Psychiatry.* 1999;56(6):537–547.
27. Kovalenko S, Bergmann A, Schneider-Axmann T, Ovary I, Majtenyi K, Havas L, Honer WG, Bogerts B, Falkai P. Regio entorhinalis in schizophrenia: more evidence for migrational disturbances and suggestions for a new biological hypothesis. *Pharmacopsychiatry.* 2003;36 Suppl 3:S158-61.
28. Heckers S. Neuroimaging studies of the hippocampus in schizophrenia. *Hippocampus.* 2001;11(5):520–528.

29. Floresco SB, Todd CL, Grace AA. Glutamatergic afferents from the hippocampus to the nucleus accumbens regulate activity of ventral tegmental area dopamine neurons. *J. Neurosci.* 2001;21(13):4915–4922.
30. Davison K. Schizophrenia-like psychoses associated with organic cerebral disorders: a review. *Psychiatr Dev.* 1983;1(1):1–33.
31. Danos P, Schmidt A, Baumann B, Bernstein H, Northoff G, Stauch R, Krell D, Bogerts B. Volume and neuron number of the mediodorsal thalamic nucleus in schizophrenia: a replication study. *Psychiatry Res.* 2005;140(3):281–289.
32. Byne W, Hazlett EA, Buchsbaum MS, Kemether E. The thalamus and schizophrenia: current status of research. *Acta Neuropathol.* 2009;117(4):347–368.
33. Steffek AE, McCullumsmith RE, Haroutunian V, Meador-Woodruff JH. Cortical expression of glial fibrillary acidic protein and glutamine synthetase is decreased in schizophrenia. *Schizophr. Res.* 2008;103(1-3):71–82.
34. Schmitt A, Steyskal C, Bernstein H, Schneider-Axmann T, Parlapani E, Schaeffer EL, Gattaz WF, Bogerts B, Schmitz C, Falkai P. Stereologic investigation of the posterior part of the hippocampus in schizophrenia. *Acta Neuropathol.* 2009;117(4):395–407.
35. Takahashi N, Sakurai T, Davis KL, Buxbaum JD. Linking oligodendrocyte and myelin dysfunction to neurocircuitry abnormalities in schizophrenia. *Prog. Neurobiol.* 2011;93(1):13–24.
36. Bernstein H, Steiner J, Bogerts B. Glial cells in schizophrenia: pathophysiological significance and possible consequences for therapy. *Expert Rev Neurother.* 2009;9(7):1059–1071.
37. Ardekani BA, Tabesh A, Sevy S, Robinson DG, Bilder RM, Szeszko PR. Diffusion tensor imaging reliably differentiates patients with schizophrenia from healthy volunteers. *Hum Brain Mapp.* 2011;32(1):1–9.
38. Uhlhaas PJ. Dysconnectivity, large-scale networks and neuronal dynamics in schizophrenia. *Curr. Opin. Neurobiol.* 2013;23(2):283–290.
39. Ruiz S, Birbaumer N, Sitaram R. Abnormal Neural Connectivity in Schizophrenia and fMRI-Brain-Computer Interface as a Potential Therapeutic Approach. *Front Psychiatry.* 2013;4:17.
40. Breier A, Su TP, Saunders R, Carson RE, Kolachana BS, Bartolomeis A de, Weinberger DR, Weisenfeld N, Malhotra AK, Eckelman WC, Pickar D. Schizophrenia is associated with elevated amphetamine-induced synaptic dopamine concentrations: evidence from a novel positron emission tomography method. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1997;94(6):2569–2574.
41. Laruelle M, Abi-Dargham A, van Dyck CH, Gil R, D'Souza CD, Erdos J, McCance E, Rosenblatt W, Fingado C, Zoghbi SS, Baldwin RM, Seibyl JP, Krystal JH, Charney DS, Innis RB. Single photon emission computerized tomography imaging of amphetamine-induced dopamine release in drug-free schizophrenic subjects. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1996;93(17):9235–9240.

42. Goldman-Rakic PS, Muly EC, Williams GV. D(1) receptors in prefrontal cells and circuits. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 2000;31(2-3):295–301.
43. Laruelle M, Kegeles LS, Abi-Dargham A. Glutamate, dopamine, and schizophrenia: from pathophysiology to treatment. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2003;1003:138–158.
44. Javitt DC. Glutamate and schizophrenia: phencyclidine, N-methyl-D-aspartate receptors, and dopamine-glutamate interactions. *Int. Rev. Neurobiol.* 2007;78:69–108.
45. Dalmau J, Lancaster E, Martinez-Hernandez E, Rosenfeld MR, Balice-Gordon R. Clinical experience and laboratory investigations in patients with anti-NMDAR encephalitis. *Lancet Neurol.* 2011;10(1):63–74.
46. Steiner J, Walter M, Glanz W, Sarnyai Z, Bernstein H, Vielhaber S, Kästner A, Skalej M, Jordan W, Schiltz K, Klingbeil C, Wandinger K, Bogerts B, Stoecker W. Increased prevalence of diverse N-methyl-D-aspartate glutamate receptor antibodies in patients with an initial diagnosis of schizophrenia: specific relevance of IgG NR1a antibodies for distinction from N-methyl-D-aspartate glutamate receptor encephalitis. *JAMA Psychiatry.* 2013;70(3):271–278.
47. Kim JS, Kornhuber HH, Schmid-Burgk W, Holzmüller B. Low cerebrospinal fluid glutamate in schizophrenic patients and a new hypothesis on schizophrenia. *Neurosci. Lett.* 1980;20(3):379–382.
48. Javitt DC, Zukin SR. Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 1991;148(10):1301–1308.
49. Tsai G, Passani LA, Slusher BS, Carter R, Baer L, Kleinman JE, Coyle JT. Abnormal excitatory neurotransmitter metabolism in schizophrenic brains. *Arch. Gen. Psychiatry.* 1995;52(10):829–836.
50. Moghaddam B, Adams B, Verma A, Daly D. Activation of glutamatergic neurotransmission by ketamine: a novel step in the pathway from NMDA receptor blockade to dopaminergic and cognitive disruptions associated with the prefrontal cortex. *J. Neurosci.* 1997;17(8):2921–2927.
51. Vinson PN, Conn PJ. Metabotropic glutamate receptors as therapeutic targets for schizophrenia. *Neuropharmacology.* 2012;62(3):1461–1472.
52. Akbarian S, Kim JJ, Potkin SG, Hagman JO, Tafazzoli A, Bunney WE, Jones EG. Gene expression for glutamic acid decarboxylase is reduced without loss of neurons in prefrontal cortex of schizophrenics. *Arch. Gen. Psychiatry.* 1995;52(4):258–266.
53. Molholm HB. Hyposensitivity to foreign protein in schizophrenic patients. *Psychiatric Quarterly.* 1942(16):565–571.
54. Müller N, Riedel M, Ackenheil M, Schwarz MJ. Cellular and humoral immune system in schizophrenia: a conceptual re-evaluation. *World J. Biol. Psychiatry.* 2000;1(4):173–179.
55. Mittleman BB, Castellanos FX, Jacobsen LK, Rapoport JL, Swedo SE, Shearer GM. Cerebrospinal fluid cytokines in pediatric neuropsychiatric disease. *J. Immunol.* 1997;159(6):2994–2999.



56. Schwarz MJ, Riedel M, Ackenheil M, Müller N. Decreased levels of soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) in unmedicated and medicated schizophrenic patients. *Biol. Psychiatry.* 2000;47(1):29–33.
57. Steiner J, Jacobs R, Panteli B, Brauner M, Schiltz K, Bahn S, Herberth M, Westphal S, Gos T, Walter M, Bernstein H, Myint AM, Bogerts B. Acute schizophrenia is accompanied by reduced T cell and increased B cell immunity. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2010;260(7):509–518.
58. Steiner J, Westphal S, Schroeter ML, Schiltz K, Jordan W, Müller UJ, Bernstein H, Bogerts B, Schmidt RE, Jacobs R. Increased S100B+ NK cell counts in acutely ill schizophrenia patients are correlated with the free cortisol index, but not with S100B serum levels. *Brain Behav. Immun.* 2012;26(4):564–567.
59. Genome-wide association study implicates HLA-C\*01:02 as a risk factor at the major histocompatibility complex locus in schizophrenia. *Biol. Psychiatry.* 2012;72(8):620–628.
60. van Os J, Kenis G, Rutten BPF. The environment and schizophrenia. *Nature.* 2010;468(7321):203–212.
61. Weinberger DR. Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry.* 1987;44(7):660–669.
62. Meisenzahl EM, Koutsouleris N, Gaser C, Bottlender R, Schmitt GJE, McGuire P, Decker P, Burgermeister B, Born C, Reiser M, Möller H. Structural brain alterations in subjects at high-risk of psychosis: a voxel-based morphometric study. *Schizophr. Res.* 2008;102(1-3):150–162.
63. Witthaus H, Kaufmann C, Böhner G, Özgürdal S, Gudlowski Y, Gallinat J, Ruhrmann S, Brüne M, Heinz A, Klingebiel R, Juckel G. Gray matter abnormalities in subjects at ultra-high risk for schizophrenia and first-episode schizophrenic patients compared to healthy controls. *Psychiatry Res.* 2009;173(3):163–169.
64. Huttenlocher PR. Synaptic density in human frontal cortex - developmental changes and effects of aging. *Brain Res.* 1979;163(2):195–205.
65. Feinberg I. Schizophrenia: caused by a fault in programmed synaptic elimination during adolescence? *J Psychiatr Res.* 1982;17(4):319–334.
66. Stanley JA, Williamson PC, Drost DJ, Carr TJ, Rylett RJ, Malla A, Thompson RT. An in vivo study of the prefrontal cortex of schizophrenic patients at different stages of illness via phosphorus magnetic resonance spectroscopy. *Arch. Gen. Psychiatry.* 1995;52(5):399–406.
67. Northoff G, Waters H, Mooren I, Schlüter U, Diekmann S, Falkai P, Bogerts B. Cortical sulcal enlargement in catatonic schizophrenia: a planimetric CT study. *Psychiatry Res.* 1999;91(1):45–54.
68. Wang L, Mamah D, Harms MP, Karnik M, Price JL, Gado MH, Thompson PA, Barch DM, Miller MI, Csernansky JG. Progressive deformation of deep brain nuclei and hippocampal-amygdala formation in schizophrenia. *Biol. Psychiatry.* 2008;64(12):1060–1068.

69. Hulshoff Pol HE, Kahn RS. What happens after the first episode? A review of progressive brain changes in chronically ill patients with schizophrenia. *Schizophr Bull.* 2008;34(2):354–366.
70. van Haren NEM, Hulshoff Pol HE, Schnack HG, Cahn W, Brans R, Carati I, Rais M, Kahn RS. Progressive brain volume loss in schizophrenia over the course of the illness: evidence of maturational abnormalities in early adulthood. *Biol. Psychiatry.* 2008;63(1):106–113.
71. Konopaske GT, Dorph-Petersen K, Pierri JN, Wu Q, Sampson AR, Lewis DA. Effect of chronic exposure to antipsychotic medication on cell numbers in the parietal cortex of macaque monkeys. *Neuropsychopharmacology.* 2007;32(6):1216–1223.
72. Petralia RS. Distribution of extrasynaptic NMDA receptors on neurons. *ScientificWorldJournal.* 2012;2012:267120.
73. Zhou H, Chen S, Pan H. Targeting N-methyl-D-aspartate receptors for treatment of neuropathic pain. *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2011;4(3):379–388.
74. Tarabeux J, Kebir O, Gauthier J, Hamdan FF, Xiong L, Piton A, Spiegelman D, Henrion É, Millet B, Fathalli F, Joober R, Rapoport JL, DeLisi LE, Fombonne É, Mottron L, Forget-Dubois N, Boivin M, Michaud JL, Drapeau P, Lafrenière RG, Rouleau GA, Krebs M. Rare mutations in N-methyl-D-aspartate glutamate receptors in autism spectrum disorders and schizophrenia. *Transl Psychiatry.* 2011;1:e55.
75. Ohtsuki T, Sakurai K, Dou H, Toru M, Yamakawa-Kobayashi K, Arinami T. Mutation analysis of the NMDAR2B (GRIN2B) gene in schizophrenia. *Mol. Psychiatry.* 2001;6(2):211–216.
76. Lipton SA. Failures and successes of NMDA receptor antagonists: molecular basis for the use of open-channel blockers like memantine in the treatment of acute and chronic neurologic insults. *NeuroRx.* 2004;1(1):101–110.
77. Swanson GT, Sakai R. Ligands for ionotropic glutamate receptors. *Prog. Mol. Subcell. Biol.* 2009;46:123–157.
78. Carr DW, Stofko-Hahn RE, Fraser ID, Bishop SM, Acott TS, Brennan RG, Scott JD. Interaction of the regulatory subunit (RII) of cAMP-dependent protein kinase with RII-anchoring proteins occurs through an amphipathic helix binding motif. *J. Biol. Chem.* 1991;266(22):14188–14192.
79. Carnegie GK, Means CK, Scott JD. A-kinase anchoring proteins: from protein complexes to physiology and disease. *IUBMB Life.* 2009;61(4):394–406.
80. Carr DW, Newell AEH. The role of A-kinase anchoring proteins (AKaps) in regulating sperm function. *Soc Reprod Fertil Suppl.* 2007;63:135–141.
81. Weiser DC, Pyati UJ, Kimelman D. Gravin regulates mesodermal cell behavior changes required for axis elongation during zebrafish gastrulation. *Genes Dev.* 2007;21(12):1559–1571.
82. Diviani D, Dodge-Kafka KL, Li J, Kapiloff MS. A-kinase anchoring proteins: scaffolding proteins in the heart. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2011;301(5):H1742-53.

83. Bernstein H, Dobrowolny H, Schott BH, Gorny X, Becker V, Steiner J, Seidenbecher CI, Bogerts B. Increased density of AKAP5-expressing neurons in the anterior cingulate cortex of subjects with bipolar disorder. *J Psychiatr Res.* 2013;47(6):699–705.
84. Sanderson JL, Dell'Acqua ML. AKAP signaling complexes in regulation of excitatory synaptic plasticity. *Neuroscientist.* 2011;17(3):321–336.
85. Bliss TV, Lomo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J. Physiol. (Lond.).* 1973;232(2):331–356.
86. Malenka RC, Bear MF. LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron.* 2004;44(1):5–21.
87. Dell'Acqua ML, Smith KE, Gorski JA, Horne EA, Gibson ES, Gomez LL. Regulation of neuronal PKA signaling through AKAP targeting dynamics. *Eur. J. Cell Biol.* 2006;85(7):627–633.
88. Moghaddam B, Javitt D. From revolution to evolution: the glutamate hypothesis of schizophrenia and its implication for treatment. *Neuropsychopharmacology.* 2012;37(1):4–15.
89. Wilson GM, Flibotte S, Chopra V, Melnyk BL, Honer WG, Holt RA. DNA copy-number analysis in bipolar disorder and schizophrenia reveals aberrations in genes involved in glutamate signaling. *Hum. Mol. Genet.* 2006;15(5):743–749.
90. 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.* 1999;28(8):655–662.
91. Mai JK, Assheuer J, Paxinos G. Atlas of the human brain. 2nd ed. Amsterdam, Boston: Elsevier Academic Press; 2004.
92. Ivleva EI, Morris DW, Moates AF, Suppes T, Thaker GK, Tamminga CA. Genetics and intermediate phenotypes of the schizophrenia--bipolar disorder boundary. *Neurosci Biobehav Rev.* 2010;34(6):897–921.
93. Gardner LA, Naren AP, Bahouth SW. Assembly of an SAP97-AKAP79-cAMP-dependent protein kinase scaffold at the type 1 PSD-95/DLG/ZO1 motif of the human beta(1)-adrenergic receptor generates a receptosome involved in receptor recycling and networking. *J. Biol. Chem.* 2007;282(7):5085–5099.
94. Brooks IM, Tavalin SJ. Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II inhibitors disrupt AKAP79-dependent PKC signaling to GluA1 AMPA receptors. *J. Biol. Chem.* 2011;286(8):6697–6706.
95. Meador-Woodruff JH, Healy DJ. Glutamate receptor expression in schizophrenic brain. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 2000;31(2-3):288–294.
96. Johnson SA, Luu NT, Herbst TA, Knapp R, Lutz D, Arai A, Rogers GA, Lynch G. Synergistic interactions between ampakines and antipsychotic drugs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1999;289(1):392–397.

97. Goff DC, Lamberti JS, Leon AC, Green MF, Miller AL, Patel J, Manschreck T, Freudenreich O, Johnson SA. A placebo-controlled add-on trial of the Ampakine, CX516, for cognitive deficits in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*. 2008;33(3):465–472.
98. Breier A, Malhotra AK, Pinals DA, Weisenfeld NI, Pickar D. Association of ketamine-induced psychosis with focal activation of the prefrontal cortex in healthy volunteers. *Am J Psychiatry*. 1997;154(6):805–811.
99. Battaglia G, Monn JA, Schoepp DD. In vivo inhibition of veratridine-evoked release of striatal excitatory amino acids by the group II metabotropic glutamate receptor agonist LY354740 in rats. *Neurosci. Lett*. 1997;229(3):161–164.
100. Krystal JH, Abi-Saab W, Perry E, D'Souza DC, Liu N, Gueorguieva R, McDougall L, Hunsberger T, Belger A, Levine L, Breier A. Preliminary evidence of attenuation of the disruptive effects of the NMDA glutamate receptor antagonist, ketamine, on working memory by pretreatment with the group II metabotropic glutamate receptor agonist, LY354740, in healthy human subjects. *Psychopharmacology (Berl.)*. 2005;179(1):303–309.
101. Stone JM, Morrison PD, Pilowsky LS. Glutamate and dopamine dysregulation in schizophrenia--a synthesis and selective review. *J. Psychopharmacol. (Oxford)*. 2007;21(4):440–452.
102. Hakak Y, Walker JR, Li C, Wong WH, Davis KL, Buxbaum JD, Haroutunian V, Fienberg AA. Genome-wide expression analysis reveals dysregulation of myelination-related genes in chronic schizophrenia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2001;98(8):4746–4751.
103. Guilarte TR, Hammoud DA, McGlothan JL, Caffo BS, Foss CA, Kozikowski AP, Pomper MG. Dysregulation of glutamate carboxypeptidase II in psychiatric disease. *Schizophr. Res.* 2008;99(1-3):324–332.
104. Seeman P, Lee T, Chau-Wong M, Wong K. Antipsychotic drug doses and neuroleptic/dopamine receptors. *Nature*. 1976;261(5562):717–719.
105. Davis KL, Kahn RS, Ko G, Davidson M. Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *Am J Psychiatry*. 1991;148(11):1474–1486.
106. Agid O, Mamo D, Ginovart N, Vitcu I, Wilson AA, Zipursky RB, Kapur S. Striatal vs extrastriatal dopamine D2 receptors in antipsychotic response--a double-blind PET study in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*. 2007;32(6):1209–1215.
107. Abi-Dargham A, Mawlawi O, Lombardo I, Gil R, Martinez D, Huang Y, Hwang D, Keilp J, Kochan L, van Heertum R, Gorman JM, Laruelle M. Prefrontal dopamine D1 receptors and working memory in schizophrenia. *J. Neurosci*. 2002;22(9):3708–3719.
108. Goldman-Rakic PS, Castner SA, Svensson TH, Siever LJ, Williams GV. Targeting the dopamine D1 receptor in schizophrenia: insights for cognitive dysfunction. *Psychopharmacology (Berl.)*. 2004;174(1):3–16.
109. Carlsson A, Waters N, Carlsson ML. Neurotransmitter interactions in schizophrenia--therapeutic implications. *Biol. Psychiatry*. 1999;46(10):1388–1395.
110. Schwartz TL, Sachdeva S, Stahl SM. Glutamate neurocircuitry: theoretical underpinnings in schizophrenia. *Front Pharmacol*. 2012;3:195.

111. Swayze RD, Lisé M, Levinson JN, Phillips A, El-Husseini A. Modulation of dopamine mediated phosphorylation of AMPA receptors by PSD-95 and AKAP79/150. *Neuropharmacology*. 2004;47(5):764–778.
112. Lei G, Anastasio NC, Fu Y, Neugebauer V, Johnson KM. Activation of dopamine D1 receptors blocks phencyclidine-induced neurotoxicity by enhancing N-methyl-D-aspartate receptor-mediated synaptic strength. *J. Neurochem*. 2009;109(4):1017–1030.
113. Dacher M, Gouty S, Dash S, Cox BM, Nugent FS. A-kinase anchoring protein-calcineurin signaling in long-term depression of GABAergic synapses. *J. Neurosci*. 2013;33(6):2650–2660.
114. Gonzalez-Burgos G, Hashimoto T, Lewis DA. Alterations of cortical GABA neurons and network oscillations in schizophrenia. *Curr Psychiatry Rep*. 2010;12(4):335–344.
115. Sohal VS, Zhang F, Yizhar O, Deisseroth K. Parvalbumin neurons and gamma rhythms enhance cortical circuit performance. *Nature*. 2009;459(7247):698–702.
116. Petryshen TL, Middleton FA, Tahl AR, Rockwell GN, Purcell S, Aldinger KA, Kirby A, Morley CP, McGann L, Gentile KL, Waggoner SG, Medeiros HM, Carvalho C, Macedo A, Albus M, Maier W, Trixler M, Eichhammer P, Schwab SG, Wildenauer DB, Azevedo MH, Pato MT, Pato CN, Daly MJ, Sklar P. Genetic investigation of chromosome 5q GABAA receptor subunit genes in schizophrenia. *Mol. Psychiatry*. 2005;10(12):1074–88, 1057.
117. Ahn K, Gil R, Seibyl J, Sewell RA, D'Souza DC. Probing GABA receptor function in schizophrenia with iomazenil. *Neuropsychopharmacology*. 2011;36(3):677–683.
118. Lewis DA, Hashimoto T, Volk DW. Cortical inhibitory neurons and schizophrenia. *Nat. Rev. Neurosci*. 2005;6(4):312–324.
119. Brandon NJ, Jovanovic JN, Colledge M, Kittler JT, Brandon JM, Scott JD, Moss SJ. A-kinase anchoring protein 79/150 facilitates the phosphorylation of GABA(A) receptors by cAMP-dependent protein kinase via selective interaction with receptor beta subunits. *Mol. Cell. Neurosci*. 2003;22(1):87–97.
120. Faux MC, Scott JD. Regulation of the AKAP79-protein kinase C interaction by Ca<sup>2+</sup>/Calmodulin. *J. Biol. Chem*. 1997;272(27):17038–17044.
121. Gorny X, Mikhaylova M, Seeger C, Reddy PP, Reissner C, Schott BH, Helena Danielson U, Kreutz MR, Seidenbecher C. AKAP79/150 interacts with the neuronal calcium-binding protein caldendrin. *J. Neurochem*. 2012;122(4):714–726.
122. Rusnak F, Mertz P. Calcineurin: form and function. *Physiol. Rev*. 2000;80(4):1483–1521.
123. Coghlan VM, Perrino BA, Howard M, Langeberg LK, Hicks JB, Gallatin WM, Scott JD. Association of protein kinase A and protein phosphatase 2B with a common anchoring protein. *Science*. 1995;267(5194):108–111.
124. Zeng H, Chattarji S, Barbarosie M, Rondi-Reig L, Philpot BD, Miyakawa T, Bear MF, Tonegawa S. Forebrain-specific calcineurin knockout selectively impairs bidirectional synaptic plasticity and working/episodic-like memory. *Cell*. 2001;107(5):617–629.

125. Miyakawa T, Leiter LM, Gerber DJ, Gainetdinov RR, Sotnikova TD, Zeng H, Caron MG, Tonegawa S. Conditional calcineurin knockout mice exhibit multiple abnormal behaviors related to schizophrenia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2003;100(15):8987–8992.
126. Gerber DJ, Hall D, Miyakawa T, Demars S, Gogos JA, Karayiorgou M, Tonegawa S. Evidence for association of schizophrenia with genetic variation in the 8p21.3 gene, PPP3CC, encoding the calcineurin gamma subunit. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2003;100(15):8993–8998.
127. Sacchetti E, Scassellati C, Minelli A, Valsecchi P, Bonvicini C, Pasqualetti P, Galluzzo A, Pioli R, Gennarelli M. Schizophrenia susceptibility and NMDA-receptor mediated signalling: an association study involving 32 tagSNPs of DAO, DAOA, PPP3CC, and DTNBP1 genes. *BMC Med. Genet.* 2013;14:33.
128. Di Nuzzo S, Zanni M, Panfilis G de. Exacerbation of paranoid schizophrenia in a psoriatic patient after treatment with cyclosporine A, but not with etanercept. *J Drugs Dermatol.* 2007;6(10):1046–1047.
129. Kozlovsky N, Scarr E, Dean B, Agam G. Postmortem brain calcineurin protein levels in schizophrenia patients are not different from controls. *Schizophr. Res.* 2006;83(2-3):173–177.
130. Gerber DJ, Karayiorgou M, Miyakawa T, Tonegawa S. Identifying calcineurin activators for treatment of schizophrenia. 26.03.2003(US7935500 B2).
131. Bauman AL, Soughayer J, Nguyen BT, Willoughby D, Carnegie GK, Wong W, Hoshi N, Langeberg LK, Cooper DMF, Dessauer CW, Scott JD. Dynamic regulation of cAMP synthesis through anchored PKA-adenylyl cyclase V/VI complexes. *Mol. Cell.* 2006;23(6):925–931.
132. Efendiev R, Samelson BK, Nguyen BT, Phatarpekar PV, Baameur F, Scott JD, Dessauer CW. AKAP79 interacts with multiple adenylyl cyclase (AC) isoforms and scaffolds AC5 and -6 to alpha-amino-3-hydroxyl-5-methyl-4-isoxazole-propionate (AMPA) receptors. *J. Biol. Chem.* 2010;285(19):14450–14458.
133. Zhang M, Patriarchi T, Stein IS, Qian H, Matt L, Nguyen M, Xiang YK, Hell JW. Adenylyl Cyclase Anchoring by A kinase Anchor Protein AKAP5 (AKAP79/150) is Important for Postsynaptic  $\beta$ -Adrenergic Signaling. *J. Biol. Chem.* 2013.
134. Clark M, Johnson BG, Wright RA, Monn JA, Schoepp DD. Effects of the mGlu2/3 receptor agonist LY379268 on motor activity in phencyclidine-sensitized rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2002;73(2):339–346.
135. Esteban JA, Shi S, Wilson C, Nuriya M, Huganir RL, Malinow R. PKA phosphorylation of AMPA receptor subunits controls synaptic trafficking underlying plasticity. *Nat. Neurosci.* 2003;6(2):136–143.
136. Oh MC, Derkach VA, Guire ES, Soderling TR. Extrasynaptic membrane trafficking regulated by GluR1 serine 845 phosphorylation primes AMPA receptors for long-term potentiation. *J. Biol. Chem.* 2006;281(2):752–758.

137. Lu Y, Allen M, Halt AR, Weisenhaus M, Dallapiazza RF, Hall DD, Usachev YM, McKnight GS, Hell JW. Age-dependent requirement of AKAP150-anchored PKA and GluR2-lacking AMPA receptors in LTP. *EMBO J.* 2007;26(23):4879–4890.
138. Lee H, Takamiya K, Han J, Man H, Kim C, Rumbaugh G, Yu S, Ding L, He C, Petralia RS, Wenthold RJ, Gallagher M, Huganir RL. Phosphorylation of the AMPA receptor GluR1 subunit is required for synaptic plasticity and retention of spatial memory. *Cell.* 2003;112(5):631–643.
139. Lee H, Takamiya K, He K, Song L, Huganir RL. Specific roles of AMPA receptor subunit GluR1 (GluA1) phosphorylation sites in regulating synaptic plasticity in the CA1 region of hippocampus. *J. Neurophysiol.* 2010;103(1):479–489.
140. Nishino N, Kitamura N, Hashimoto T, Kajimoto Y, Shirai Y, Murakami N, Nakai T, Komure O, Shirakawa O, Mita T. Increase in [3H]cAMP binding sites and decrease in Gi alpha and Go alpha immunoreactivities in left temporal cortices from patients with schizophrenia. *Brain Res.* 1993;615(1):41–49.
141. Millar JK, Pickard BS, Mackie S, James R, Christie S, Buchanan SR, Malloy MP, Chubb JE, Huston E, Baillie GS, Thomson PA, Hill EV, Brandon NJ, Rain J, Camargo LM, Whiting PJ, Houslay MD, Blackwood DHR, Muir WJ, Porteous DJ. DISC1 and PDE4B are interacting genetic factors in schizophrenia that regulate cAMP signaling. *Science.* 2005;310(5751):1187–1191.
142. Klauck TM, Faux MC, Labudda K, Langeberg LK, Jaken S, Scott JD. Coordination of three signaling enzymes by AKAP79, a mammalian scaffold protein. *Science.* 1996;271(5255):1589–1592.
143. Faux MC, Rollins EN, Edwards AS, Langeberg LK, Newton AC, Scott JD. Mechanism of A-kinase-anchoring protein 79 (AKAP79) and protein kinase C interaction. *Biochem. J.* 1999;343 Pt 2:443–452.
144. Dell'Acqua ML, Faux MC, Thorburn J, Thorburn A, Scott JD. Membrane-targeting sequences on AKAP79 bind phosphatidylinositol-4, 5-bisphosphate. *EMBO J.* 1998;17(8):2246–2260.
145. Gomez LL, Alam S, Smith KE, Horne E, Dell'Acqua ML. Regulation of A-kinase anchoring protein 79/150-cAMP-dependent protein kinase postsynaptic targeting by NMDA receptor activation of calcineurin and remodeling of dendritic actin. *J. Neurosci.* 2002;22(16):7027–7044.
146. Tavalin SJ. AKAP79 selectively enhances protein kinase C regulation of GluR1 at a Ca<sup>2+</sup>-calmodulin-dependent protein kinase II/protein kinase C site. *J. Biol. Chem.* 2008;283(17):11445–11452.
147. Opeskin K, Dean B, Pavey G, Hill C, Keks N, Copolov D. Neither protein kinase C nor adenylate cyclase are altered in the striatum from subjects with schizophrenia. *Schizophr. Res.* 1996;22(2):159–164.
148. Hepler JR, Berman DM, Gilman AG, Kozasa T. RGS4 and GAIP are GTPase-activating proteins for Gq alpha and block activation of phospholipase C beta by gamma-thio-GTP-Gq alpha. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1997;94(2):428–432.

149. Mirnics K, Middleton FA, Stanwood GD, Lewis DA, Levitt P. Disease-specific changes in regulator of G-protein signaling 4 (RGS4) expression in schizophrenia. *Mol. Psychiatry*. 2001;6(3):293–301.
150. Al-Khairi I, Baharnoori M, Kamath A, Bhardwaj SK, Srivastava LK. Altered expression and alpha-1 adrenergic receptor mediated activity of protein kinase C in the prefrontal cortex of rats with neonatal ventral hippocampus lesions. *Synapse*. 2009;63(12):1051–1059.
151. Hirose K, Chan PH. Blockade of glutamate excitotoxicity and its clinical applications. *Neurochem. Res*. 1993;18(4):479–483.
152. Currás MC, Pallotta BS. Single-channel evidence for glycine and NMDA requirement in NMDA receptor activation. *Brain Res*. 1996;740(1-2):27–40.
153. D'Souza DC, Singh N, Elander J, Carbutto M, Pittman B, Udo de Haes J, Sjogren M, Peeters P, Ranganathan M, Schipper J. Glycine transporter inhibitor attenuates the psychotomimetic effects of ketamine in healthy males: preliminary evidence. *Neuropsychopharmacology*. 2012;37(4):1036–1046.
154. Ehlers MD. Synapse structure: glutamate receptors connected by the shanks. *Curr. Biol*. 1999;9(22):R848-50.
155. Ugolini A, Corsi M, Bordi F. Potentiation of NMDA and AMPA responses by the specific mGluR5 agonist CHPG in spinal cord motoneurons. *Neuropharmacology*. 1999;38(10):1569–1576.
156. Devon RS, Anderson S, Teague PW, Muir WJ, Murray V, Pelosi AJ, Blackwood DH, Porteous DJ. The genomic organisation of the metabotropic glutamate receptor subtype 5 gene, and its association with schizophrenia. *Mol. Psychiatry*. 2001;6(3):311–314.
157. Kwag J, Paulsen O. Gating of NMDA receptor-mediated hippocampal spike timing-dependent potentiation by mGluR5. *Neuropharmacology*. 2012;63(4):701–709.
158. Darrah JM, Stefani MR, Moghaddam B. Interaction of N-methyl-D-aspartate and group 5 metabotropic glutamate receptors on behavioral flexibility using a novel operant set-shift paradigm. *Behav Pharmacol*. 2008;19(3):225–234.
159. Patil ST, Zhang L, Martenyi F, Lowe SL, Jackson KA, Andreev BV, Avedisova AS, Bardenstein LM, Gurovich IY, Morozova MA, Mosolov SN, Neznanov NG, Reznik AM, Smulevich AB, Tochilov VA, Johnson BG, Monn JA, Schoepp DD. Activation of mGlu2/3 receptors as a new approach to treat schizophrenia: a randomized Phase 2 clinical trial. *Nat. Med*. 2007;13(9):1102–1107.
160. Hopkins CR. Is there a path forward for mGlu(2) positive allosteric modulators for the treatment of schizophrenia? *ACS Chem Neurosci*. 2013;4(2):211–213.
161. Weisenhaus M, Allen ML, Yang L, Lu Y, Nichols CB, Su T, Hell JW, McKnight GS. Mutations in AKAP5 disrupt dendritic signaling complexes and lead to electrophysiological and behavioral phenotypes in mice. *PLoS ONE*. 2010;5(4):e10325.
162. Sanderson TM. Molecular mechanisms involved in depotentiation and their relevance to schizophrenia. *Chonnam Med J*. 2012;48(1):1–6.



163. Kwon OB, Paredes D, Gonzalez CM, Neddens J, Hernandez L, Vullhorst D, Buonanno A. Neuregulin-1 regulates LTP at CA1 hippocampal synapses through activation of dopamine D4 receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2008;105(40):15587–15592.
164. Shamir A, Kwon O, Karavanova I, Vullhorst D, Leiva-Salcedo E, Janssen MJ, Buonanno A. The importance of the NRG-1/ErbB4 pathway for synaptic plasticity and behaviors associated with psychiatric disorders. *J. Neurosci.* 2012;32(9):2988–2997.
165. Hasan A, Nitsche MA, Rein B, Schneider-Axmann T, Guse B, Gruber O, Falkai P, Wobrock T. Dysfunctional long-term potentiation-like plasticity in schizophrenia revealed by transcranial direct current stimulation. *Behav. Brain Res.* 2011;224(1):15–22.
166. Wiescholleck V, Manahan-Vaughan D. Persistent deficits in hippocampal synaptic plasticity accompany losses of hippocampus-dependent memory in a rodent model of psychosis. *Front Integr Neurosci.* 2013;7:12.
167. Hartley AA, Speer NK. Locating and fractionating working memory using functional neuroimaging: storage, maintenance, and executive functions. *Microsc. Res. Tech.* 2000;51(1):45–53.
168. Karlsgodt KH, Sanz J, van Erp TGM, Bearden CE, Nuechterlein KH, Cannon TD. Re-evaluating dorsolateral prefrontal cortex activation during working memory in schizophrenia. *Schizophr. Res.* 2009;108(1-3):143–150.
169. Manoach DS, Press DZ, Thangaraj V, Searl MM, Goff DC, Halpern E, Saper CB, Warach S. Schizophrenic subjects activate dorsolateral prefrontal cortex during a working memory task, as measured by fMRI. *Biol. Psychiatry.* 1999;45(9):1128–1137.
170. Black JE, Kodish IM, Grossman AW, Klintsova AY, Orlovskaya D, Vostrikov V, Uranova N, Greenough WT. Pathology of layer V pyramidal neurons in the prefrontal cortex of patients with schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 2004;161(4):742–744.
171. Sans-Sansa B, McKenna PJ, Canales-Rodríguez EJ, Ortiz-Gil J, López-Araquistain L, Sarró S, Dueñas RM, Blanch J, Salvador R, Pomarol-Clotet E. Association of formal thought disorder in schizophrenia with structural brain abnormalities in language-related cortical regions. *Schizophr. Res.* 2013;146(1-3):308–313.
172. Ragland JD, Gur RC, Valdez J, Turetsky BI, Elliott M, Kohler C, Siegel S, Kanes S, Gur RE. Event-related fMRI of frontotemporal activity during word encoding and recognition in schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 2004;161(6):1004–1015.
173. Kanahara N, Sekine Y, Haraguchi T, Uchida Y, Hashimoto K, Shimizu E, Iyo M. Orbitofrontal cortex abnormality and deficit schizophrenia. *Schizophr. Res.* 2013;143(2-3):246–252.
174. Garey L. When cortical development goes wrong: schizophrenia as a neurodevelopmental disease of microcircuits. *J. Anat.* 2010;217(4):324–333.
175. Devinsky O, Morrell MJ, Vogt BA. Contributions of anterior cingulate cortex to behaviour. *Brain.* 1995;118 ( Pt 1):279–306.

176. Fornito A, Yücel M, Dean B, Wood SJ, Pantelis C. Anatomical abnormalities of the anterior cingulate cortex in schizophrenia: bridging the gap between neuroimaging and neuropathology. *Schizophr Bull.* 2009;35(5):973–993.
177. Szeszko PR, Bilder RM, Lencz T, Ashtari M, Goldman RS, Reiter G, Wu H, Lieberman JA. Reduced anterior cingulate gyrus volume correlates with executive dysfunction in men with first-episode schizophrenia. *Schizophr. Res.* 2000;43(2-3):97–108.
178. Yücel M, Wood SJ, Phillips LJ, Stuart GW, Smith DJ, Yung A, Velakoulis D, McGorry PD, Pantelis C. Morphology of the anterior cingulate cortex in young men at ultra-high risk of developing a psychotic illness. *Br J Psychiatry.* 2003;182:518–524.
179. Lahti AC, Holcomb HH, Weiler MA, Medoff DR, Frey KN, Hardin M, Tamminga CA. Clozapine but not haloperidol Re-establishes normal task-activated rCBF patterns in schizophrenia within the anterior cingulate cortex. *Neuropsychopharmacology.* 2004;29(1):171–178.
180. Benes FM. Evidence for neurodevelopment disturbances in anterior cingulate cortex of post-mortem schizophrenic brain. *Schizophr. Res.* 1991;5(3):187–188.
181. Selemon LD. Regionally diverse cortical pathology in schizophrenia: clues to the etiology of the disease. *Schizophr Bull.* 2001;27(3):349–377.
182. Shepherd AM, Laurens KR, Matheson SL, Carr VJ, Green MJ. Systematic meta-review and quality assessment of the structural brain alterations in schizophrenia. *Neurosci Biobehav Rev.* 2012;36(4):1342–1356.
183. Pelstring RJ, Allred DC, Esther RJ, Lampkin SR, Banks PM. Differential antigen preservation during tissue autolysis. *Hum. Pathol.* 1991;22(3):237–241.
184. Keith DE, Anton B, Murray SR, Zaki PA, Chu PC, Lissin DV, Monteillet-Agius G, Stewart PL, Evans CJ, Zastrow M von. mu-Opioid receptor internalization: opiate drugs have differential effects on a conserved endocytic mechanism in vitro and in the mammalian brain. *Mol. Pharmacol.* 1998;53(3):377–384.

## 7. Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

### Tabellen

- 1 Patientenkollektiv, konfundierende Variablen
- 2 Deskriptive und Differenzstatistik hinsichtlich numerischer Zelldichte
- 3 Korrelationen zwischen Confoundern und numerischer Zelldichte

### Diagramme

- 1 Regressionsgerade, Intra-Rating
- 2 Regressionsgerade, Inter-Rating

### Abbildungen

- 1 Aufbau des NMDA-Rezeptors <sup>76</sup>
- 2 Aufbau und Bindungsstellen von AKAP79/150 <sup>84</sup>
- 3 Interaktionen von AKAP79/150 mit Ionenkanälen <sup>84</sup>
- 4 Mechanismen der synaptischen Plastizität <sup>84</sup>
- 5 Medianschnitt des Gehirns, modifiziert nach <sup>91</sup>
- 6 Coronarer Schnitt durch das Frontalhirn, modifiziert nach <sup>91</sup>
- 7 Kortexschichtung, 100x
- 8 Neurone im DLPFC, 400x, schizophrener Patient
- 9 Neurone im DLPFC, 400x, Kontrolle
- 10 Neurone im ACC, 400x, schizophrener Patient
- 11 Neurone im ACC, 400x, Kontrolle
- 12 Neurone im OFC, 400x, schizophrener Patient
- 13 Neurone im OFC, 400x, Kontrolle
- 14 Integration der Transmitterhypothesen der Schizophrenie <sup>110</sup>
- 15 Aufbau und Interaktionspartner an der glutamatergen Synapse mit NMDA-Rezeptor <sup>88</sup>

# Ehrenerklärung

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

„Immunhistochemische Untersuchung zur numerischen Dichte AKAP79 exprimierender Neurone im präfrontalen Kortex schizophrener Patienten und gesunder Vergleichspersonen“

in der Abteilung Experimentelle Psychiatrie der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg mit Unterstützung durch Herrn Professor Dr. H.-G. Bernstein 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 28.05.2013

Sascha Schadwinkel

## Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. Hans-Gert Bernstein, meinem Doktorvater und dem Leiter der Abteilung Experimentelle Psychiatrie der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg. Er war mir eine große Hilfe, wenn Unklarheiten oder Fragen auftraten. Ich bedanke mich insbesondere für die wertvollen Ratschläge und Anregungen in der Umsetzung der Doktorarbeit sowie für das Engagement und Interesse an der gemeinsamen Arbeit.

Daneben möchte ich mich sehr herzlich bedanken bei Herrn Dipl.-Ing. Henrik Dobrowolny, dem Statistiker und Techniker der Abteilung für seine Mithilfe bei der Auswertung der Daten und bei der Erstellung und Formatierung der Tabellen und Diagramme. Darüber hinaus gilt mein Dank dem Team der Medizinisch Technischen Assistenten und hier im Besonderen Frau Bianca Jerzykiewicz für die Herstellung und Färbung der Gehirnschnitte.

Weiterhin möchte ich mich bedanken bei Herrn Professor Dr. Bernhard Bogerts, dem Leiter der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie für die Möglichkeit der Nutzung seiner Räume und Materialien.

# Bildungsweg

## Persönliches

Name	Sascha Schadwinkel
Geburtstag	11.05.1983 in Burg
Adresse	Adolfstraße 7, 39122 Magdeburg, Sachsen-Anhalt/Deutschland
E-Mail	sascha.schadwinkel@gmail.com

## Schullaufbahn

1989 – 1993	Grundschule Parey
1993 – 1998	Gymnasium Güsen
1998 – 2002	Gymnasium Genthin

## Studium

2003 – 2009	Studium der Humanmedizin Otto-von-Guericke Universität Magdeburg
	09/2005 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
	11/2009 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
11/2009	Approbation als Arzt

## Berufliche Laufbahn

12/2009 – 03/2013	Assistenzarzt in der Klinik für Neurologie der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg
ab 07/2013	Assistenzarzt in der Klinik für Neurologie des Klinikums Magdeburg

Sascha Schadwinkel