

Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für
Psychiatrie, Psychotherapie und Psychosomatik
der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

(Direktor: Prof. Dr. med. Dan Rujescu)

**Assoziationsstudie zum Einfluss von 37 Polymorphismen
auf die Schizophrenie und das verbale Gedächtnis**

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt
der Medizinischen Fakultät
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Marilena Möller
geboren am 13.10.1990 in Oberhausen

Betreuer/in: Prof. Dr. med. Dan Rujescu
PD Dr. rer. biol. hum. Ina Giegling (Dipl.-Psych.)

Gutachter: Univ.-Prof. Dr. med. Jürgen Gallinat (Hamburg)
Univ.-Prof. Dr. med. Christoph Mulert (Hamburg)

02.05.2015

28.11.2017

Meiner Familie gewidmet

Referat

Die Schizophrenie ist eine schwere psychiatrische Erkrankung multifaktorieller Genese, die unter anderem auf Grund von Gedächtnisdefiziten mit schweren Einschränkungen im alltäglichen Leben einhergeht.

Ihre Ätiologie ist noch ungeklärt. Allerdings scheinen neben Umweltfaktoren auch genetische Faktoren eine entscheidende Rolle zu spielen.

Um genetische Varianten schizophrener Patienten im Vergleich zu Kontrollpersonen zu identifizieren, werden Genomweite Assoziationsstudien (GWAS) eingesetzt.

In einer Stichprobe bestehend aus 1296 gesunden Kontrollprobanden und 604 Schizophreniepatienten überprüften wir 37 Polymorphismen aus der bislang größten Fall-Kontrollstudie zur Schizophrenie (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014) auf ihre Assoziation mit dem verbalen Gedächtnis, ermittelt durch den verbalen Lern- und Merkfähigkeitstest (VLMT), um mehr über die Funktion dieser Polymorphismen zu erfahren. Die Genotypisierung erfolgte mittels iPLEX Technologie und *MALDI-TOF Massenspektrometrie*.

Es zeigten sich signifikante Unterschiede in der Genotypverteilung zwischen Kontroll- und Patientengruppe, sowie eine signifikante Assoziation von 11 SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) mit Leistungen im VLMT. Eine verschlechterte Gedächtnisleistung in mindestens einem der drei überprüften Testphänotypen (Lernleistung, Wortverlust nach Interferenz, Wortverlust nach zeitlicher Verzögerung) ließ sich für sechs dieser SNPs feststellen.

Für den SNP rs11682175 konnte eine signifikante positive Assoziation mit der Schizophrenie beobachtet werden. Zudem war der SNP mehrfach mit signifikant verschlechterten Testleistungen assoziiert. Dieser SNP liegt 286kb vom VRK2-Gen, das Einfluss auf die Hirnentwicklung nimmt, entfernt und könnte durch dessen Beeinflussung seine Effekte vermitteln.

Für den SNP rs4702 ließ sich ebenfalls eine signifikante positive Assoziation mit der Schizophrenie feststellen. Dieser SNP zeigte zudem heterogene signifikante Ergebnisse im VLMT. Möglicherweise vermittelt dieser SNP, in 3'-UTR des FURIN-Gens lokalisiert, seine Effekte durch eine Beeinflussung der BDNF-Funktion.

Die Ergebnisse lassen vermuten, dass der Schizophrenie genetische Ursachen zu Grunde liegen könnten, die zugleich mit Beeinträchtigungen kognitiver Fähigkeiten assoziiert sind.

Möller, Marilena: Assoziationsstudie zum Einfluss von 37 Polymorphismen auf die Schizophrenie und das verbale Gedächtnis, Halle (Saale), Univ., Med. Fak., Diss., 80 Seiten, 2017

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|-----------|
| Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole..... | III |
| 1 Einleitung..... | 1 |
| 1.1 Die Schizophrenie | 1 |
| 1.1.1 Definition | 1 |
| 1.1.2 Ätiologie..... | 2 |
| 1.1.3 Neurobiologie..... | 7 |
| 1.2 Endophänotypen..... | 8 |
| 1.3 Gedächtnis..... | 9 |
| 1.3.1 Aufbau des Gedächtnisses..... | 10 |
| 1.3.2 Gedächtnis- und Lernprozesse | 11 |
| 1.4 Gedächtnis und Schizophrenie | 12 |
| 2 Zielstellung..... | 16 |
| 3 Material und Methodik..... | 17 |
| 3.1 Studienteilnehmer..... | 17 |
| 3.1.1 Zusammensetzung der Studienteilnehmer..... | 17 |
| 3.1.2 Rekrutierung der Kontrollen | 19 |
| 3.1.3 Rekrutierung der Patienten..... | 20 |
| 3.2 Neuropsychologische Testung | 20 |
| 3.2.1 Testaufbau | 21 |
| 3.2.2 Testdurchführung | 21 |
| 3.2.3 Testauswertung..... | 21 |
| 3.2.4 Gütekriterien | 22 |
| 3.3 Genotypisierung | 23 |
| 3.3.1 DNA-Extraktion..... | 23 |
| 3.3.2 DNA-Konzentrationseinstellung..... | 24 |
| 3.3.3 Auswahl der SNPs..... | 25 |
| 3.3.4 Assay Design..... | 25 |
| 3.3.5 Multiplex-Polymerase Kettenreaktion | 25 |

| | | |
|-----------|---|-------------|
| 3.3.6 | iPLEX-Reaktion..... | 28 |
| 3.3.7 | MALDI-TOF Massenspektrometrie..... | 29 |
| 3.3.8 | Qualitätskontrolle..... | 30 |
| 3.4 | Statistische Auswertung..... | 31 |
| 4 | Ergebnisse..... | 32 |
| 4.1 | Fall-Kontroll-Studie..... | 32 |
| 4.2 | Endophänotypenstudie..... | 34 |
| 5 | Diskussion..... | 41 |
| 5.1 | Zusammenfassung der Ergebnisse..... | 41 |
| 5.1.1 | Fall-Kontrollstudie..... | 41 |
| 5.1.2 | Endophänotypenstudie..... | 41 |
| 5.2 | Diskussion der Ergebnisse..... | 42 |
| 5.2.1 | Fall-Kontrollstudie..... | 42 |
| 5.2.2 | Endophänotypenstudie..... | 50 |
| 5.3 | Limitationen..... | 62 |
| 6 | Zusammenfassung..... | 63 |
| 7 | Literaturverzeichnis..... | 66 |
| 8 | Thesen..... | 78 |
| 9 | Anlagen..... | 79 |
| 10 | Selbstständigkeitserklärung..... | V |
| 11 | Erklärung über frühere Promotionsversuche..... | VI |
| 12 | Lebenslauf..... | VII |
| 13 | Danksagung..... | VIII |

Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole

| Abkürzung | Bedeutung |
|-------------------|--|
| 3'-UTR | Three prime untranslated region |
| A | Adenin |
| ADHS | Aufmerksamkeitsdefizit-/Hyperaktivitätsstörung |
| APOPT1 | Mitochondrial apoptogenic 1 |
| BDNF | Brain-derived neurotrophic factor |
| C | Cytosin |
| CACN1I | Calcium channel, voltage-dependent, T type, alpha 1I subunit |
| CACNA1C | Calcium channel, voltage-dependent, L type, alpha 1C subunit |
| CACNB2 | Calcium channel, voltage-dependent, beta 2 subunit |
| COMT | Catechol-O-Methyltransferase |
| DAT | Dopamintransporter |
| ddNTP | Didesoxyribonukleosidtriphosphat |
| dNTP | Desoxyribonukleosidtriphosphat |
| DSM IV | Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders IV |
| DTI | Diffusion Tensor Imaging |
| EDTA | Ethylendiamintetraacetat |
| FANCL | Fanconi anemia complementation group L |
| FA-Wert | Fraktionaler Anisotropie-Wert |
| FES | Feline sarcoma oncogene, tyrosin kinase |
| FHAM | Family History Assessment Module |
| fMRI | Functional Magnetic Resonance Imaging |
| FURIN | Paired basic amino acid cleaving enzyme |
| G | Guanin |
| GABA | γ -Aminobuttersäure |
| GRM3 | Metabotroper Glutamatrezeptor 3 |
| GWAS | Genomweite Assoziationsstudie |
| HWE | Hardy-Weinberg-Equilibrium |
| IMMP2L | IMP2 inner mitochondrial membrane peptidase-like |
| JIP1 | Jun NH ₂ -terminal kinase interacting protein 1 |
| kb | Kilobasen |
| LD | Linkage disequilibrium |
| LTP | Long-term potentiation |
| MAF | Minore Allelfrequenz |
| MALDI-TOF MS | Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation Time of Flight Mass Spectrometry |
| mb | Megabasen |
| MgCl ₂ | Magnesiumchlorid |

| Abkürzung | Bedeutung |
|------------------|--|
| MHC | Haupthistokompatibilitätskomplex |
| miR-137 | microRNA 137 |
| MRI | Magnetic Resonance Imaging |
| mRNA | messenger Ribonukleinsäure |
| NGF | Nerve growth factor (beta polypeptide) |
| NMDA | N-Methyl-D-Aspartat |
| Nogo | s. RTN4 |
| NRGN | Neurogranin |
| PCR | Polymerasekettenreaktion |
| PET-MRI | Positron Emission Tomography-Magnetic Resonance Imaging |
| PKC | Proteinkinase C |
| rpm | Umdrehungen pro Minute |
| RTN4 | Reticulon 4 |
| SAP | Shrimp Alkalische Phosphatase |
| SKID I | Strukturiertes klinisches Interview für DSM IV, Achse I |
| SKID II | Strukturiertes klinisches Interview für DSM IV, Achse II |
| SNP | Single Nucleotide Polymorphism |
| T | Thymin |
| TCF4 | Transkriptionsfaktor 4 |
| TRIS | Trishydroxymethyl-Aminomethan |
| TSNARE1 | t-SNARE domain containing 1 |
| U | Unit |
| VLMT | Verbaler Lern-und Merkfähigkeitstest |
| VRK2 | Vaccinia related kinase 2 |
| ZNF804A | Zinkfingerprotein 804A |

1 Einleitung

1.1 Die Schizophrenie

Die Schizophrenie ist eine der häufigsten psychiatrischen Erkrankungen, die zu schweren Einschränkungen im alltäglichen Leben führen kann und deshalb mit hohen Kosten für die Gesellschaft verbunden ist (World Health Organization, 2001).

Das Risiko der Allgemeinbevölkerung im Laufe des Lebens an Schizophrenie zu erkranken beträgt etwa 1% (Saß, 2003). Die Krankheit beginnt in der Regel in der Adoleszenz beziehungsweise im jungen Erwachsenenalter. Frauen erkranken häufig später als Männer und haben eine bessere Prognose. Es ist davon auszugehen, dass beide Geschlechter etwa gleich häufig betroffen sind (World Health Organization, 2001), wenn auch einige Studien ein höheres Erkrankungsrisiko für Männer ermittelten (Aleman et al., 2003).

Die Lebenserwartung der Schizophreniepatienten liegt im Mittel etwa 10 Jahre unter dem Bevölkerungsdurchschnitt, mitbedingt durch das erhöhte Suizidrisiko (World Health Organization, 2001; Saß, 2003).

Da die Ätiologie dieses heterogenen Krankheitsbildes noch nicht abschließend geklärt werden konnte, stehen bisher lediglich symptomorientierte Therapiemöglichkeiten zur Verfügung (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014). Die Aufklärung der Pathogenese stellt also einen wichtigen Schritt dar, um eine bessere Diagnostik und Behandlung der Schizophrenie zu ermöglichen.

Auf Grund der derzeitigen Forschungslage ist davon auszugehen, dass dieser Erkrankung genetische Faktoren und/oder Umwelteinflüsse zu Grunde liegen, die zerebrale Auffälligkeiten zur Folge haben (Tandon et al., 2008).

1.1.1 Definition

Das Diagnostische und Statistische Manual Psychischer Störungen (DSM IV) (Saß, 2003) fordert für die Diagnose Schizophrenie das Vorliegen von mindestens zwei der charakteristischen Symptome Wahn, Halluzinationen, desorganisierte Sprechweise, desorganisiertes Verhalten, und negative Symptome (flacher Affekt, Alogie, Willensschwäche) (Kriterium A). Treten besonders charakteristische Halluzinationen, wie kommentierende oder

sich unterhaltende Stimmen auf, ist dieses Symptom ausreichend, um das oben genannte Kriterium A zu erfüllen; ebenso, wenn das Wahnphänomen als bizarr eingestuft wird.

Die Störung muss mit sozialen und/oder beruflichen Beeinträchtigungen einhergehen, die den Patienten zum Beispiel in zwischenmenschlichen Beziehungen oder bei der Ausübung seines Berufs einschränken (Kriterium B). Auf Grund von kognitiven und emotionalen Einbußen liegt das Leistungsniveau häufig unter demjenigen vor Beginn der Symptomatik. So können unter anderem Konzentration und Aufmerksamkeit, schlussfolgerndes Denken, Sprache und Kommunikation beeinträchtigt sein.

Das Zeitkriterium (Kriterium C) fordert eine Dauer der Symptomatik von mindestens sechs Monaten, von denen mindestens einen Monat lang die charakteristischen Symptome nach Kriterium A vorliegen müssen.

Die beobachtete Symptomatik darf nicht besser durch eine affektive Störung mit psychotischen Merkmalen oder durch eine schizoaffective Störung zu erklären sein (Kriterium D). Ebenso darf die Störung weder durch einen medizinischen Krankheitsfaktor, noch durch Substanzgebrauch bedingt sein (Kriterium E).

1.1.2 Ätiologie

Es ist davon auszugehen, dass der Schizophrenie ein polyätiologisches Geschehen zu Grunde liegt (Fallon et al., 2003; Davis et al., 2016). Zum einen konnten bei Schizophreniepatienten genetische Veränderungen festgestellt werden, zum anderen wurde ein Zusammenhang mit Umweltfaktoren beobachtet (Tsuang et al., 2004).

So konnte ein erhöhtes Schizophrenierisiko für Kinder ermittelt werden, deren Mütter während der Schwangerschaft an einer Infektionskrankheit, wie Influenza oder Röteln erkrankten (Penner und Brown, 2007).

Erwachsene Patienten mit der Diagnose einer schizophreniformen Erkrankung zeigten bereits im Kindesalter Entwicklungsverzögerungen, zum Beispiel beim Spracherwerb (Cannon et al., 2002). Allerdings ist unklar, ob diese Einschränkungen Risikofaktoren für die Erkrankung darstellen oder bereits frühe Symptome der Schizophreniemanifestation sind (Tandon et al., 2008).

Es konnte eine Assoziation zwischen Geburt und Aufwachsen in einer urbanisierten Region und Schizophrenierisiko festgestellt werden (Pedersen und Mortensen, 2001; Vassos et al., 2016). Je länger eine Person in einer Region mit hohem Urbanisierungsgrad lebt, desto höher ist das Schizophrenierisiko.

Aber auch die Migration zwischen verschiedenen Kulturen stellt einen Risikofaktor dar. So konnte gezeigt werden, dass das Schizophrenierisiko bei Personen, die in einem Umfeld leben, das vorwiegend von einer anderen Kultur und Ethnizität geprägt ist, steigt (Veling et al., 2008).

Auch für Cannabiskonsum während der Adoleszenz konnte ein erhöhtes Risiko eine Schizophrenie zu entwickeln beobachtet werden (Casadio et al., 2011; Davis et al., 2016).

Die Schizophrenie weist eine hohe Erblichkeit auf. Anhand von Zwillings- und Adoptionsstudien konnte eine Heritabilität von bis zu 80% ermittelt werden (Cannon et al., 1998).

Durch Kopplungsstudien war es möglich grobe Chromosomenregionen einzugrenzen, die eine Rolle in der Pathogenese der Schizophrenie spielen könnten (Rujescu, 2007).

Mit Hilfe von genomweiten Assoziationsstudien (GWAS) kann der Zusammenhang zwischen Genvarianten und dem Schizophrenierisiko überprüft werden, indem die Häufigkeit der genetischen Varianten in Patienten- und Kontrollgruppe ermittelt wird (Hunter und Kraft, 2007). Der Vorteil dieses Studiendesigns ist die hypothesenfreie Betrachtung des gesamten Genoms, sodass keine vorhergehende Identifizierung möglicher Risikogene notwendig ist, wie sie bei den Kandidatengenstudien (nicht-genomweite Assoziationsstudien) gegeben war (Rujescu, 2007).

Mittels GWAS konnten verschiedene SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) in unterschiedlichen Genloci identifiziert werden, für die zuvor kein Zusammenhang mit der Schizophrenie bekannt war (z.B. O'Donovan et al., 2008; Stefansson et al., 2009; Ripke et al., 2011; Ripke et al., 2013; Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014).

SNPs sind als ein erblicher Basenaustausch an willkürlicher Stelle im Genom definiert (Genetics Home Reference, 2015). Von diesen Varianten finden sich innerhalb des menschlichen Genoms etwa 10 Millionen. Häufig liegen die SNPs in nicht codierenden Regionen eines Gens, sodass das Genprodukt unverändert bleibt. Allerdings können sie, je nach Lokalisation, die Genregulation und -funktion beeinflussen (Genetics Home Reference, 2015) und auf diese Weise auch in der Pathogenese der Schizophrenie eine wichtige Rolle spielen.

Bisher war es noch nicht möglich spezifische Genvarianten zu identifizieren, die mit Sicherheit das Schizophrenierisiko modifizieren (Tandon et al., 2008). Stattdessen ist davon auszugehen, dass mehrere verschiedene SNPs zusammenwirken müssen, um die Vulnerabilität im Sinne des „*common disease- common variant* Models“ zu erhöhen (Chakravarti, 1999).

Von den durch die GWAS identifizierten SNPs lässt sich auf Genloci schließen, die mit der Schizophrenie assoziiert sind. Eine Auswahl signifikanter positiver Assoziationsbefunde der auf diese Weise identifizierten Loci zeigt Tabelle 1.

Tabelle 1 Auswahl signifikanter positiver Assoziationsergebnisse

| Gen | Beschreibung | Lokalisation | Studien |
|------------|--|---------------------|--|
| miR-137 | microRNA 137 | 1p21.3 | Ripke et al. (2011) Ripke et al. (2013) |
| ZNF804A | Zinkfingerprotein 804A | 2q32.1 | O'Donovan et al. (2008) Donnelly et al. (2012) |
| MHC | Haupthistokompatibilitätskomplex | 6p21.3-22.1 | Stefansson et al. (2009) Ripke et al. (2011) Steinberg et al. (2011) Donnelly et al. (2012) Ripke et al. (2013) Ripke et al. (2014) |
| GRM3 | Metabotroper Glutamatrezeptor 3 | 7q21.1-21.2 | Fujii et al. (2003) Ripke et al. (2014) |
| IMMP2L | IMP2 inner mitochondrial membrane peptidase-like | 7q31 | Donnelly et al. (2012) Ripke et al. (2014) |
| TSNARE1 | t-SNARE domain containing 1 | 8q24.3 | Ripke et al. (2013) Ripke et al. (2014) |
| CACNB2 | β 2 Untereinheit des spannungsabhängigen Calciumkanals | 10p12 | Ripke et al. (2014) |
| NRGN | Neurogranin | 11q24.2 | Stefansson et al. (2009)* Steinberg et al. (2011)* |
| CACNA1C | α 1C Untereinheit des spannungsabhängigen L-Typ Calciumkanals | 12p13.3 | Ripke et al. (2013) |
| APOPT1 | Mitochondrial apoptogenic 1 | 14q32.33 | Ripke et al. (2014) |
| TCF4 | Transkriptionsfaktor 4 | 18q21.1 | Stefansson et al. (2009) Ripke et al. (2011) Steinberg et al. (2011) Donnelly et al. (2012) Ripke et al. (2013)* |

*= Assoziation für einen dem Gen benachbarten Locus

So lassen sich verschiedene Hypothesen zur Ätiologie der Schizophrenie ableiten.

O'Donovan und Kollegen konnten drei Loci identifizieren, die stark mit der Schizophrenie assoziiert sind. Neben einem Locus in ZNF804A zeigten zwei Loci in nicht codierenden Regionen auf 11p14.1 und 16p13.12 genomweite Signifikanz (O'Donovan et al., 2008).

ZNF804A codiert für ein Zinkfingerprotein, dessen genaue Funktion unbekannt ist. Da es eine DNA-bindende Region enthält, könnte es eine Rolle in der Regulation der Genexpression spielen (O'Donovan et al., 2008).

Auch TCF4 nimmt als Transkriptionsfaktor Einfluss auf die Regulation der Genexpression (Flora et al., 2007). Dieses Gen konnte bereits mehrfach als Risikogen identifiziert werden (Tabelle 1). TCF4 scheint zudem in die Entwicklung des Nervensystems involviert zu sein (Flora et al., 2007). Diese Beobachtung stützt die These einer neuronalen Entwicklungsstörung als Grundlage der Schizophrenie, und nicht, wie zuvor angenommen, einer neurodegenerativen Ätiologie (Fallon et al., 2003).

Neben TCF4 konnte auch für MHC und NRG1 eine signifikante positive Assoziation mit der Schizophrenie ermittelt werden (Stefansson et al., 2009). Für die MHC-Region konnten mittlerweile bereits mehrfach signifikante positive Assoziationen verschiedener Loci nachgewiesen werden (Tabelle 1). Die MHC-Region codiert für Oberflächenmoleküle, die eine wichtige Rolle für die Regulation der Immunantwort spielen (Aumüller et al., 2010). Diese Beobachtung stützt die These einer immunologischen Beteiligung an der Pathogenese der Schizophrenie, wenn auch eine klare Assoziation zwischen Infektion und Schizophrenie bisher nicht aufgezeigt werden konnte (Stefansson et al., 2009).

Auch für einen Locus in der Nähe des NRG1-Gens konnte eine signifikante positive Assoziation mit der Schizophrenie ermittelt (Stefansson et al., 2009) und ein weiterer assoziierter Locus identifiziert werden (Steinberg et al., 2011).

NRG1 nimmt über Calmodulin Einfluss auf durch Calcium vermittelte intrazerebrale Signalwege (Baudier et al., 1991). Die NRG1-Aktivität wird wiederum durch die Glutamat induzierte Stimulation des NMDA (N-Methyl-D-Aspartat)-Rezeptors beeinflusst (Stefansson et al., 2009). Diese NMDA-Rezeptoren scheinen in der Pathophysiologie der Schizophrenie eine wichtige Rolle zu spielen (Stefansson et al., 2009).

Die Besetzung der Synapsen mit NMDA-Rezeptoren wird durch GRM3 über Aktivierung der calciumabhängigen Proteinkinase C (PKC) im Präfrontalkortex modifiziert (Tyszkiewicz et al., 2004). Auf diese Weise bewirkt GRM3 eine verbesserte Signalüberleitung.

GRM3 konnte mittels GWAS als Risikogen identifiziert werden (Tabelle 1).

Einfluss auf die Signalüberleitung nimmt auch ein weiteres Gen, TSNARE1, für das ebenfalls eine signifikante positive Assoziation mit der Schizophrenie festgestellt wurde (Ripke et al., 2013; Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014). Es ist anzunehmen, dass TSNARE1 in den intrazellulären Transport von Proteinen und in die Vesikelfusion an Synapsen involviert ist (Sleiman et al., 2013). Diese Beobachtung stützt die Annahme, dass der Schizophrenie eine beeinträchtigte Signalüberleitung zu Grunde liegt.

Für verschiedene Untereinheiten (α_{1C} und β_2) spannungsabhängiger Calciumkanäle konnte eine signifikante positive Assoziation mit der Schizophrenie ermittelt werden (Tabelle 1). Spannungsabhängige L-Typ Calciumkanäle werden in weiten Bereichen des Gehirns exprimiert

und spielen eine wichtige Rolle für intrazerebrale Signalkaskaden und der Synapsenplastizität, sowie bei Gedächtnisprozessen (Moosmang et al., 2005).

So könnte eine Calciumkanaldysfunktion durch eine Veränderung von Neuronenkreisen eine Rolle in der Pathogenese der Schizophrenie spielen (Bigos et al., 2010).

Ein Interaktionspartner der calciumassoziierten Risikogene ist miR-137. Für einen Locus dieses Gens konnte eine signifikante Assoziation mit der Schizophrenie ermittelt werden (Ripke et al., 2011). miR-137 ist eine nicht codierende RNA, die die Zellexpression durch Modifikation der mRNA reguliert (NCBI, 2015). Es ist davon auszugehen, dass miR-137 verschiedene Signalwege beeinflusst, die für die Schizophrenie entscheidend sind (Kwon et al., 2013; Ripke et al., 2013), indem es in Reifung und Funktion der Neuronen eingreift (Smrt et al., 2010). Diese Effekte werden durch die Interaktion mit anderen bereits identifizierten Risikogenen (z.B. CACNA1C, TCF4) vermittelt (Ripke et al., 2011; Kwon et al., 2013; Hill et al., 2014).

Es zeigte sich, dass mitochondriale Proteine eine Rolle in der Pathogenese der Schizophrenie spielen könnten (Prabakaran et al., 2004). Ein großer Teil dieser Proteine ist entscheidend für die Funktion der Mitochondrien oder ist mit oxidativem Stress assoziiert.

IMMP2L ist ein mitochondriales Protein, das an der inneren Mitochondrienmembran lokalisiert ist und dort als katalytische Untereinheit eines Peptidasekomplexes fungiert, der die für das Mitochondrium bestimmten Proteine aktiviert, indem er deren Zielbestimmungssequenz entfernt (Burri et al., 2005). Die erste GWAS, die eine signifikante positive Assoziation dieses Gens anhand des SNPs rs4730488 nachweisen konnte, wurde 2012 durchgeführt (Donnelly et al., 2012). So konnte ein Genlocus, der das IMMP2L-Gen umfasst, als Risikolocus für die Schizophrenie identifiziert und eine signifikante positive Assoziation mit der Erkrankung nachgewiesen werden (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014).

Für ein weiteres mitochondriales Protein codiert APOPT1, das anhand des SNPs rs12887734 eine signifikante positive Assoziation mit Schizophrenie zeigte (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014). Die genaue Funktion dieses Proteins ist unbekannt. Es wird vermutet, dass es eine Rolle in Apoptosevorgängen spielt (Yasuda et al., 2006).

Eine Assoziation von Apoptosevorgängen und deren Veränderungen mit der Schizophrenie konnte bereits mehrfach festgestellt werden (Glantz et al., 2006; Monsalve et al., 2013).

Die bisher größte GWAS wurde 2014 von der Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium 2014 durchgeführt. Es konnten 108 unabhängige Loci identifiziert werden, in welchen sich bereits bekannte Risikogene, wie MHC und TCF4, befinden.

Für 83 dieser Loci war bisher keine signifikante Assoziation mit der Schizophrenie bekannt.

1.1.3 Neurobiologie

Mittels bildgebender Untersuchungsmethoden konnten strukturelle und funktionelle Hirnveränderungen bei Schizophreniepatienten festgestellt werden.

Eine der wichtigsten Beobachtungen sind Veränderungen der weißen Hirnsubstanz (Keshavan et al., 2008). Diese Veränderungen scheinen mit Denkstörungen und kognitiven Defiziten einherzugehen (Kubicki et al., 2007; Pérez-Iglesias et al., 2010; Rimol et al., 2010; Seitz et al., 2016).

Es konnte bei schizophrenen Patienten im Vergleich zu den Kontrollprobanden eine signifikante Verringerung des weißen Hirnvolumens festgestellt werden, darunter auch der Hippocampus und die parahippocampale Region (Fallon et al., 2003; Rimol et al., 2010).

Mittels DTI (Diffusion Tensor Imaging) konnten Interaktionsstörungen für Projektionen zwischen Temporal- und Frontallappen, sowie Hippocampus und Thalamus nachgewiesen werden (Kubicki et al., 2007). Sie betreffen den Fasciculus uncinatus, den Fasciculus arcuatus, das Corpus callosum und das Cingulum (Kubicki et al., 2007; Seitz et al., 2016).

Neben der Verringerung der weißen Hirnsubstanz konnte auch eine Verringerung der grauen Substanz beobachtet werden.

So zeigte eine MRI (Magnetic Resonance Imaging)-Untersuchung, dass mit der Schizophrenie eine signifikant verringerte Kortexdicke in vielen Hirnregionen, wie dem medialen und lateralen Frontallappen, dem Temporallappen, und in geringerem Ausmaß auch mit Regionen im Okzipital- und Parietallappen, assoziiert ist (Rimol et al., 2010).

Einige dieser bei Schizophreniepatienten festgestellten Veränderungen der Hirnsubstanz scheinen nicht spezifisch für die Schizophrenie, sondern auch mit anderen schweren psychiatrischen Erkrankungen assoziiert zu sein (Rimol et al., 2010; Li et al., 2012). Diese Hirnveränderungen könnten einen unspezifischen Risikofaktor für solche Erkrankungen darstellen (Keshavan et al., 2008; Rimol et al., 2010) oder durch mit der Erkrankung assoziierte genetische Varianten hervorgerufen werden.

Bedeutsamer als die Veränderungen des Hirnvolumens im Hippocampus scheint eine veränderte, zumeist verminderte, Synapsenanzahl zu sein (Fallon et al., 2003).

Die dysfunktionale Plastizität, unter anderem durch eine verringerte Expression von Synapsenproteinen verursacht, ist je nach Hirnregion unterschiedlich stark ausgeprägt. Insbesondere scheint aber der mediale Temporallappen betroffen zu sein (Fallon et al., 2003).

Möglicherweise könnte eine bei Schizophreniepatienten beobachtete veränderte Apoptosefunktion die Synapsenplastizität und -konnektivität beeinflussen und zu Defiziten in der Signalübertragung führen (Glantz et al., 2006). In Zusammenschau mit den Veränderungen

der weißen Hirnsubstanz könnte die Schizophrenie daher als Deafferenzierungs- bzw. Diskonnektionssyndrom bezeichnet werden (Friston und Frith, 1995; Fallon et al., 2003).

Die fehlerhafte Signalübertragung könnte zudem durch verschiedene Veränderungen im Transmitterhaushalt schizophrener Patienten verursacht werden.

Zum einen ist das glutamaterge System betroffen (Harrison und Weinberger, 2005). Es konnten sowohl eine verringerte Glutamatausschüttung, besonders bei älteren Patienten (Marsman et al., 2013), und damit eine reduzierte Aktivierung des NMDA-Rezeptors, als auch eine verringerte Expression einer glutamatabhängigen Untereinheit des NMDA-Rezeptors, vor allem im Hippocampus und im Präfrontalkortex, beobachtet werden (Harrison et al., 2003). Allerdings ist unklar, in wie weit sich diese Prozesse gegenseitig bedingen (Marsman et al., 2013).

Es ist davon auszugehen, dass Glutamat eine bedeutende Rolle in der Pathogenese der Schizophrenie spielt, da es durch Beeinflussung des NMDA-Rezeptors mit weiteren Signalwegen, wie den calciumabhängigen Signalwegen und NRG1 in Verbindung steht (Harrison und Weinberger, 2005).

Zum anderen scheint auch das GABAerge (γ -Aminobuttersäure) System eine wichtige Bedeutung zu haben, da es mit dem glutamatergen System interagiert und wiederum durch dieses beeinflusst wird (Marsman et al., 2013). So könnten verschiedene Mechanismen zu einer verringerten Aktivität von GABAergen Synapsen führen (Lewis et al., 2005) und durch diese Disinhibition exzitatorischer Neuronenkreise möglicherweise neuronale Schädigungen zur Folge haben (Olney et al., 1999).

Zudem interagiert auch Dopamin mit den zuvor beschriebenen Transmittersystemen (Weinberger, 1987; Olney et al., 1999; Harrison und Weinberger, 2005).

Eine Interaktion mit dem dopaminergen System konnte auch für das Serotoninsystem nachgewiesen werden. Auf eine Beteiligung des Serotoninsystems weisen Studien hin, in denen durch den Einsatz psychomimetischer Medikamente schizophrenieforme Symptome hervorgerufen wurden, die sich möglicherweise auf Veränderungen des Transmitterhaushalts und der Rezeptordichte zurückführen lassen (Fallon et al., 2003).

Die Schizophrenie könnte also auch durch eine Dysfunktion verschiedener Neuronenkreise, basierend auf einer Fehlregulation glutamaterger, GABAerger, dopaminerger und serotoninerger Synapsen, verursacht werden (Fallon et al., 2003).

1.2 Endophänotypen

Da sich psychiatrische Krankheiten häufig als heterogenes Bild verschiedener Symptome präsentieren, entwickelten Gottesman und Gould als Hilfskonstrukt das Konzept der Endophänotypen (Gottesman und Gould, 2003). Möglicherweise lassen sich mit Hilfe dieses Konzepts neue Einblicke in die Pathogenese der Schizophrenie erhalten.

Da mehrere Gene über unterschiedliche Mechanismen Einfluss auf einen Phänotyp nehmen können, stellen Endophänotypen Knotenpunkte verschiedener (patho)physiologischer Signalwege auf dem Weg vom Gen zum offensichtlichen Phänotyp dar (Keshavan et al., 2008). Diese Endophänotypen scheinen näher mit der Erkrankung assoziiert zu sein als der klinische Phänotyp. Zudem geht man davon aus, dass die Anzahl der Gene, die notwendig ist, um Veränderungen der Endophänotypen zu erreichen, geringer ist, als die, die zu der entsprechenden psychiatrischen Erkrankung führt (Rujescu, 2007).

Ein solcher Marker hat verschiedene Kriterien zu erfüllen. In erster Linie muss er mit der Erkrankung assoziiert sein. Zudem muss er durchgehend, sowohl in Krankheitsperioden, als auch in Remissionsphasen bestehen. Er muss erblich sein und in betroffenen Familien zusammen mit der Erkrankung vererbt werden. Bei gesunden Familienmitgliedern einer betroffenen Familie muss er häufiger nachzuweisen sein als in der Allgemeinbevölkerung (Gottesman und Gould, 2003).

Mögliche Endophänotypen für die Schizophrenie sind die sensomotorische Geschicklichkeit (*sensorimotor dexterity*), Abstraktionsvermögen und Flexibilität (*abstraction and mental flexibility*), das Gedächtnis für Gesichter (*face memory*) und Emotionen (*emotion recognition*), sowie verbale Informationen (*verbal memory*) (Light et al., 2012; Greenwood et al., 2013).

Mittels einer Kopplungsstudie ließ sich eine Assoziation zwischen der sensomotorischen Geschicklichkeit und der Chromosomenregion 2q32, in der auch ZNF804A lokalisiert ist, ermitteln (Greenwood et al., 2013). Das verbale Gedächtnis war mit der Chromosomenregion 8q24, in der auch TSNARE1 lokalisiert ist, assoziiert (Greenwood et al., 2013).

1.3 Gedächtnis

„Gedächtnis“ ist der physiologische Prozess des Aufnehmens, Abspeicherns und Abrufens persönlicher Erfahrungen (Shi, 2012) (p.384, eigene Übersetzung).

Psychiatrische und neurologische Erkrankungen gehen häufig mit Störungen in diesem Prozess einher. Meistens ist dabei das deklarative Gedächtnis betroffen (Helmstaedter et al., 2001).

Um die komplexen Verarbeitungsprozesse von neuen Informationen im Gehirn und deren Überführung in das Gedächtnis zu verstehen, wurden Gedächtnismodelle entwickelt, die dieses komplizierte Wechselspiel zwischen verschiedenen Hirnregionen veranschaulichen sollen. Allerdings ist dabei zu beachten, dass viele Fragen, besonders auf molekularer Ebene, noch nicht geklärt werden konnten.

1.3.1 Aufbau des Gedächtnisses

Atkinson und Shiffrin führten die Differenzierung des Gedächtnisses in das Kurz- und Langzeitgedächtnis ein.

Diesem Modell liegt die Annahme zu Grunde, dass Informationen zuerst zeitlich begrenzt im Kurzzeitgedächtnis gespeichert werden, bevor sie über Konsolidierungsprozesse in das Langzeitgedächtnis überführt werden (Atkinson und Shiffrin, 1968).

Neben der begrenzten Speicherdauer des Kurzzeitgedächtnisses ist auch der Umfang der gespeicherten Informationen begrenzt. So können 7 ± 2 Items im Kurzzeitgedächtnis abgespeichert werden (Miller, 1956).

Eine Komponente des Kurzzeitgedächtnisses stellt das Arbeitsgedächtnis (working memory) dar, das bereits erste Verarbeitungen der Informationen vornimmt (Baddeley und Hitch, 1974). Die entscheidende Struktur ist der präfrontale Kortex.

Der präfrontale Kortex, insbesondere der linken Hemisphäre, spielt auch für das verbale Arbeitsgedächtnis eine wichtige Rolle (Eriksson et al., 2015).

Das Langzeitgedächtnis lässt sich in das deklarative und das nondeklarative (implizite) Gedächtnis einteilen (Squire, 1982).

Im deklarativen Gedächtnis wird das Wissen über Fakten und Ereignisse abgespeichert, während das nondeklarative Gedächtnis unbewusste Lernprozesse, sowie motorische Fertigkeiten (prozedurales Gedächtnis) umfasst.

Nach Tulving besteht das deklarative Gedächtnis aus einem semantischen und einem episodischen Teil. Das episodische Gedächtnis beinhaltet Informationen über persönliche Erlebnisse, während das semantische Faktenwissen speichert (Tulving et al., 1972).

Die gesamten Gedächtnisinhalte des deklarativen Gedächtnisses können bewusst abgerufen werden (Eichenbaum, 2001).

Semantisches und episodisches Gedächtnis sind eng miteinander verknüpft, weil die Erfahrungen, die in das episodische Gedächtnis aufgenommen werden, nicht zwangsläufig als konkretes Ereignis abgerufen werden, sondern sich in den Pool von Faktenwissen des semantischen Gedächtnisses einfügen (Eichenbaum, 2001).

Als wichtigste Hirnregionen für ein funktionierendes deklaratives Gedächtnis werden intakte temporale Strukturen (Helmstaedter et al., 2001), insbesondere der Hippocampus, beschrieben (Eichenbaum, 2001). Der Hippocampus stellt einen zentralen Knotenpunkt dar, da er die Relevanz jeder eingesendeten Information bewertet (Shi, 2012).

Eine weitere wichtige Struktur für das episodische Gedächtnis ist der Frontallappen, da intakte präfrontale Strukturen eine wichtige Rolle für den Abruf episodischer Informationen aus dem Langzeitgedächtnis spielen (Fletcher et al., 1998).

1.3.2 Gedächtnis- und Lernprozesse

Nimmt ein Proband einen neuen Reiz wahr, der in das Gedächtnis überführt werden soll, werden verschiedene Prozesse aktiviert, die auf das Abspeichern und den bewussten Abruf dieser Information ausgerichtet sind.

Neue Informationen, die über die Sinnesorgane aufgenommen werden, werden in die entsprechenden Regionen des sensorischen Kortex projiziert (Aumüller et al., 2010). Dort wird die Information, abhängig von der Aufmerksamkeit des Probanden, wahrgenommen und encodiert (Shi, 2012).

Verbale Informationen werden in der Regel von der linken Hemisphäre verarbeitet (Helmstaedter et al., 2001). Sie erreichen über die Hörbahn den primären und sekundären auditorischen Kortex im Temporallappen. Im dort lokalisierten Wernicke-Sprachzentrum wird Sprache als solche erkannt und registriert (Aumüller et al., 2010). Dieser Umwandlungsvorgang der aufgenommenen Informationen, *Encodierung*, ermöglicht eine verbesserte Speicherung. Das Abspeichern und der spätere Abruf der Information sind also direkt abhängig von den *Encodierungsfähigkeiten* des Probanden (Shi, 2012).

Nach der *Encodierung* wird die neue Information in das Kurzzeitgedächtnis weitergeleitet und dort für 20-30 Sekunden gespeichert. Durch Wiederholungen kann diese Zeitspanne erweitert werden. Die gespeicherten Items werden zu sogenannten *Chunks* zusammengefasst, was das Abspeichern erleichtert, durch Interferenzen aber auch Verwechslungen begünstigt (Shi, 2012).

Durch Konsolidierung werden die im Kurzzeitgedächtnis zwischengespeicherten Informationen in das Langzeitgedächtnis überführt. Entscheidende Voraussetzung dafür ist der wiederholte Abruf der Informationen. Dadurch werden Veränderungen an den beteiligten Neuronen initiiert, sodass sowohl Dendritenanzahl und -länge steigen, als auch die Synapsen durch Verringerung des synaptischen Spalts effektiver arbeiten.

Durch einen erhöhten Calciumeinstrom wird die Öffnungswahrscheinlichkeit der Rezeptoren modifiziert und/oder mehr Transmitter freigesetzt, sodass die Überleitung intensiviert wird. Dieser Calciumeinstrom kann durch die Aktivierung des NMDA-Rezeptors durch Glutamat bewirkt werden (Aumüller et al., 2010; Kandel und Siegelbaum, 2012; Shi, 2012).

Diese Veränderungen werden Langzeit-Potenzierung (long-term potentiation; LTP) genannt, die als Grundlage der Gedächtniskonsolidierung verstanden werden (Kandel und Siegelbaum, 2012).

Das Abrufen der gespeicherten Informationen geschieht entweder durch Wiedererkennen oder durch freien Abruf. Der freie Abruf basiert auf Assoziationen, da die Informationen als *Chunks* gebündelt abgespeichert und entsprechend zusammen abgerufen werden. Allerdings können dadurch Interferenzfehler entstehen. Ebenso nehmen die mentale Verfassung, sowie Interessen des Probanden Einfluss auf die Abrufleistung (Shi, 2012).

1.4 Gedächtnis und Schizophrenie

Die Schizophrenie ist häufig mit Gedächtnisstörungen, besonders auf der Ebene des verbalen deklarativen Gedächtnisses verbunden (Heinrichs und Zakzanis, 1998; Aleman et al., 1999; Light et al., 2012). So konnte eine signifikante Assoziation zwischen der Schizophrenie und einer verringerten verbalen Gedächtnisleistung nachgewiesen werden (Aleman et al., 1999; Rushe et al., 1999; Jablensky et al., 2011; Manglam und Das, 2013).

Die beobachteten Gedächtnisstörungen scheinen in erster Linie auf einer Lernstörung begründet zu sein (Cirillo und Seidman, 2003).

Eine signifikante Beeinträchtigung der Lernleistung (Lernkurve) bei Schizophreniepatienten konnte mittels einer Metaanalyse (Aleman et al., 1999), sowie mittels einer Fall-Kontroll-Studie (Manglam und Das, 2013) nachgewiesen werden.

Beeinträchtigungen der Lernfähigkeit und des episodischen Gedächtnisses lassen sich auf Veränderungen im medialen Temporallappen zurückführen (Rushe et al., 1999), wie sie bei Schizophreniepatienten bereits mehrfach beobachtet werden konnten (Fallon et al., 2003; Rimol et al., 2010).

Durch Analyse der Lernkurve lässt sich die *Encodierungsfähigkeit* des Probanden überprüfen (Aleman et al., 1999). Aufgrund der hier beobachteten Auffälligkeiten lässt sich darauf schließen, dass die *Encodierungsprozesse* bei Schizophreniepatienten gestört sind. Neben Aleman und Kollegen machten auch Cirillo und Seidman in ihrem Review fehlerhafte *Encodierungsprozesse* für die Gedächtnisdefizite bei Schizophreniepatienten verantwortlich (Aleman et al., 1999; Cirillo und Seidman, 2003). Allerdings muss beachtet werden, dass die Lernkurve nur einen Teil der *Encodierungsprozesse* widerspiegelt (Aleman et al., 1999).

Encodierungsdefiziten liegt eine fehlerhafte Verarbeitung aufgenommener Informationen im Kurzzeitgedächtnis zu Grunde, die schließlich zu einer mangelhaften Abspeicherung der Informationen führt, obwohl die Konsolidierungsprozesse an sich intakt sind (Helmstaedter et al., 2001).

Die *Encodierungsfähigkeit* kann neben der Lernleistung auch anhand der Analyse von Abrufleistungen überprüft werden (Hurlemann et al., 2008).

Bei Schizophreniepatienten ist der freie Abruf, im Vergleich zum unterstützten Abruf, besonders stark eingeschränkt (Aleman et al., 1999). Dieser Parameter gibt Aufschluss über frontotemporale Verschaltungen und gilt als der sensitivste zur Ermittlung einer verbalen Gedächtnisstörung, hängt jedoch wiederum stark von der Lernleistung des Probanden ab (Helmstaedter et al., 2001).

Eine wichtige Rolle in der *Encodierung* spielt zudem der anteriore cinguläre Kortex, für den bereits mehrfach ein Zusammenhang mit der Schizophrenie beobachtet werden konnte (Krug et al., 2013). Diese Beobachtung legt eine Verknüpfung zwischen auf *Encodierungsstörungen* basierenden Gedächtnisdefiziten und der Schizophrenie nahe.

Bei Patienten in der späten Prodromalphase konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen schlechteren Leistungen im freien Abruf verbaler Informationen und vermindertem rechtsseitigen Hippocampusvolumen festgestellt werden (Hurlemann et al., 2008).

Histologie- und MRI-Untersuchungen zeigten, dass zwischen Zelldichte des linken Hippocampus und Gedächtnisleistungen eine Korrelation besteht. Je geringer die Zelldichte ist, desto schlechter sind die Abrufleistungen (Helmstaedter und Oertzen, 1999, zit. n. Helmstaedter et al., 2001; Zentner et al., 1999).

Mit Hilfe von fMRI (functional Magnetic Resonance Imaging)-Untersuchungen konnte bei Patienten mit Erstmanifestation einer schizophreniformen Störung eine veränderte Hippocampusaktivität während *Encodierungsprozessen* ermittelt werden (Achim et al., 2007). Eine erhöhte Aktivität ließ sich bei der *Encodierung* willkürlicher Bildpaare feststellen, während bei *Encodierungsprozessen* assoziativer und gedächtnisrelevanter Informationen keine Besonderheiten beobachtet wurden.

Die Veränderungen der Hippocampusaktivität können die Unfähigkeit der Patienten neue Assoziationen zwischen semantisch unabhängigen Informationen zu bilden zur Folge haben und als Ursache für die kognitiven Defizite, die mit psychotischen Erkrankungen, wie der Schizophrenie einhergehen, angenommen werden (Achim et al., 2007).

Eine weitere Studie entspricht den oben dargestellten Beobachtungen (Pirnia et al., 2015). So konnte neben einer Aktivitätserhöhung des Hippocampus, auch eine erhöhte Aktivität temporokzipitaler und parietaler Hirnregionen bei Schizophreniepatienten während *Encodierungsprozessen* festgestellt werden (Pirnia et al., 2015).

Eine PET-MRI (Positron Emission Tomography-Magnetic Resonance Imaging)-Studie zeigte, dass bei Schizophreniepatienten während des freien Abrufs zuvor gelernter Wörter statt der Aktivierung eines komplexen Netzwerkes zwischen Frontal- und Temporallappen eine übermäßige Aktivierung des Präfrontalkortex stattfand. Der Hippocampus hingegen blieb unerregt. Stattdessen wies dieser eine durchgängig erhöhte Aktivität auf, die mit der

physiologischen Rekrutierung während des Informationsabrufs interferieren könnte (Heckers et al., 1998).

Die erhöhte Aktivierung präfrontaler Strukturen könnte den Versuch darstellen, die fehlende Rekrutierung des Hippocampus zu kompensieren (Heckers et al., 1998).

Zudem könnte die zu Gunsten des präfrontalen Kortex verschobene Aktivierung auf eine ineffiziente Antwort des Frontalkortex hinweisen (Keshavan et al., 2008).

Mittels einer Metaanalyse wurde die Aktivierung der Hirnregionen schizophrener Patienten und gesunder Kontrollen während der Bearbeitung einer Aufgabe, durch die das episodische Gedächtnis überprüft wird, untersucht (Achim und Lepage, 2005). Die Autoren stellten bei Patienten, im Vergleich zur Kontrollgruppe, neben einer verringerten Aktivierung des Hippocampus während der *Encodierung* auch eine verringerte Aktivierung im Präfrontalkortex fest.

Die widersprüchlichen Beobachtungen (Achim und Lepage, 2005; Achim et al., 2007) könnten auf Durchführungsunterschiede in den verschiedenen Tests zurückzuführen sein (Keshavan et al., 2008).

Die beobachteten Veränderungen in Aktivierung und Interaktion verschiedener Hirnregionen könnten in Verbindung mit den strukturellen Auffälligkeiten und der genetisch bedingten Vulnerabilität stehen (Keshavan et al., 2008).

So konnte für die verringerte Aktivierung des Präfrontalkortex ein Zusammenhang mit genetischen Faktoren, wie genetischen Varianten von COMT (Catechol-O-Methyltransferase) und GRM3, ermittelt werden (Keshavan et al., 2008).

Bei Schizophreniepatienten sind auch die Wiedererkennensleistungen gelernter Wörter signifikant verringert. Allerdings ist diese Beeinträchtigung im Vergleich zum freien Abruf weniger stark ausgeprägt (Aleman et al., 1999). Diese Beobachtung könnte hinweisend auf ein Abrufdefizit, einhergehend mit einer ungenügenden Konsolidierung, sein (Aleman et al., 1999). Andererseits könnte auch eine Abrufstörung ohne Beeinträchtigung der Konsolidierungsprozesse ursächlich sein, da durch Hinweisreize und den Einsatz von Wiedererkennenslisten eine Verbesserung der Abrufleistungen erreicht werden konnte (Helmstaedter et al., 2001).

In einer weiteren Studie konnten hingegen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Wiedererkennensleistungen von Schizophreniepatienten und Kontrollprobanden ermittelt werden (Rushe et al., 1999). Auch die verbale Gedächtnisspanne war nicht beeinträchtigt. Da die Gedächtnisspanne als Indikator für die auditive Aufmerksamkeit gilt, lässt sich darauf schließen, dass die auditive Aufmerksamkeit bei Schizophreniepatienten intakt ist (Rushe et al., 1999) und die kognitiven Defizite der Patienten nicht durch eine reduzierte Aufmerksamkeit zu erklären sind. Diese Annahme stützen Aleman und Kollegen mit ihrer Metaanalyse, sowie Cirillo und Seidman mit ihrem Review (Aleman et al., 1999; Cirillo und Seidman, 2003).

Defizite im Bereich des verbalen und nicht-verbalen Langzeitgedächtnisses konnten zwar für die Patienten im Vergleich zu den Kontrollen ermittelt werden (Rushe et al., 1999), es gelang jedoch kein Nachweis eines signifikanten Unterschiedes zwischen verbalen und nicht-verbalen Testleistungen (Aleman et al., 1999; Rushe et al., 1999).

Dies lässt den Schluss eines unspezifischen Gedächtnisdefizites bei Schizophreniepatienten zu (Aleman et al., 1999; Rushe et al., 1999).

2 Zielstellung

Es wurde bereits mehrfach nachgewiesen, dass mit der Schizophrenie gehäuft genetische Auffälligkeiten einhergehen. Anhand einer Reihe von GWAS konnten Suszeptibilitätsgene identifiziert werden, die eine Rolle in der Pathogenese der Schizophrenie zu spielen scheinen.

Die Schizophrenie geht zudem häufig mit kognitiven Funktionseinschränkungen, wie Störungen im Gedächtnis, einher.

In dieser Studie sollen zunächst 37 SNPs auf ihre Assoziation mit Schizophrenie untersucht werden. Da ein Teil unserer Probanden ebenfalls an der GWAS des Psychiatric Genomics Consortium (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014) teilgenommen hat, handelt es sich hierbei nicht um gänzlich voneinander unabhängige Daten.

Weiterhin soll die Assoziation zwischen diesen 37 SNPs und der verbalen Gedächtnisleistung, ermittelt durch den Verbalen Lern- und Merkfähigkeitstest (VLMT), überprüft werden.

Es konnten bereits Gene identifiziert werden, die sowohl mit der Schizophrenie, als auch mit Gedächtnisleistungen assoziiert sind (Jablensky et al., 2011), und so auf eine gemeinsame genetische Basis hindeuten.

Ziel der Studie ist es genetische Varianten der Schizophrenie in Hinblick auf eine Assoziation mit verbalen Gedächtnisleistungen zu untersuchen.

3 Material und Methodik

3.1 Studienteilnehmer

Die Stichprobe der Fall-Kontroll-Studie setzte sich aus 2744 Kontrollen, bestehend aus zufällig ausgewählten gesunden Personen, und 950 schizophrenen Patienten zusammen (Tabelle 2).

Die Patientengruppe bestand aus an Schizophrenie erkrankten Personen, deren Diagnose mit Hilfe des Strukturierten Klinischen Interviews gemäß DSM IV für Achse I und II (SKID I und SKID II) (Wittchen et al., 1997) gesichert wurde.

Mittels SKID I können auf Achse I definierte psychische Störungen sowohl im Längs-, als auch im Querschnitt erfasst werden. Zudem werden zusätzliche Angaben über Beginn und Verlauf der Störung codiert. Durch Screeningfragen folgenden Sprungkriterien wird sichergestellt, dass der Untersucher möglichst nur die relevanten Störungen detailliert erfragt.

SKID II dient zur Diagnostik von auf Achse II definierten Persönlichkeitsstörungen.

Vor Beginn der Studie wurde die Zustimmung der Ethikkommission (Projekt-Nr. 275-06; 09.07.2008) eingeholt und die Teilnehmer über die Zielsetzung der Studie aufgeklärt. Alle erhobenen Daten wurden anonymisiert verwendet.

3.1.1 Zusammensetzung der Studienteilnehmer

Die Gesamtstichprobe bestand aus insgesamt 3694 Studienteilnehmern. Die Verteilung von Geschlecht und Alter zeigt Tabelle 2.

Tabelle 2 Zusammensetzung der Studienteilnehmer der Gesamtstichprobe

| | Geschlecht n (%) | | Alter in Jahren M (SD) | Gesamt n (%) |
|-------------------|------------------|-------------|---------------------------|--------------|
| | männlich | weiblich | | |
| Kontrollen | 1296 (47,2) | 1448 (52,8) | 48,96 (16,3) | 2744 (74,3) |
| Patienten | 604 (63,6) | 346 (36,4) | 37,62 (11,7) | 950 (25,7) |
| Gesamt | 1900 (51,4) | 1794 (48,6) | 46,05 (16,0) | 3694 (100,0) |

n= Anzahl; M= Mittelwert; SD= Standardabweichung

Mittels Kruskal-Wallis Test wurde überprüft, ob sich die Kontroll- und Patientengruppe hinsichtlich ihres Alters unterscheiden. Zur Überprüfung der Variablen Geschlecht und Bildung wurde der exakte Fisher-Test durchgeführt.

Kontroll- und Patientengruppe unterscheiden sich hinsichtlich Geschlecht

($p=2,601 \cdot 10^{-18}$; OR=0,513 (CI=0,439;0,598)) und Alter ($\chi^2=331,703$; df=1;

$p=4,092 \cdot 10^{-74}$) signifikant voneinander. Im Vergleich zur Kontrollgruppe sind mehr männliche Probanden in der Patientengruppe und die Patienten deutlich jünger.

Der Beginn der Schizophrenie manifestierte sich im Mittel mit $M=23,6$ Jahren ($SD=8,57$). Die Hospitalisierungsdauer der Patienten betrug etwa $M=12,9$ Monate ($SD=16,17$). Die bisherige Anzahl der Hospitalisationen wurde mit $M=5,7$ ($SD=6,14$) angegeben.

Es wurde der Schulabschluss der Probanden erfragt und eine Einteilung in niedrig (kein Abschluss oder Hauptschulabschluss), mittel (Real- oder Mittelschulabschluss) und hoch (Fachabitur oder Abitur) vorgenommen. Die Verteilung des Bildungsgrades der Probanden zeigt Tabelle 3.

Tabelle 3 Verteilung des Bildungsgrades der Gesamtstichprobe

| | Bildungsgrad n (%) | | | | | | Gesamt n (%) | |
|-------------------|--------------------|--------|--------|--------|------|--------|--------------|---------|
| | niedrig | | mittel | | hoch | | | |
| Kontrollen | 600 | (21,9) | 829 | (30,2) | 1315 | (47,9) | 2744 | (59,7) |
| Patienten | 399 | (42,0) | 242 | (25,5) | 309 | (32,5) | 950 | (40,3) |
| Gesamt | 999 | (27,0) | 1071 | (29,0) | 1624 | (44,0) | 3694 | (100,0) |

n= Anzahl

Auch in der Verteilung des Bildungsgrades zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen Kontroll- und Patientengruppe ($p=1,168 \cdot 10^{-31}$). Der Anteil der Probanden mit niedrigem Bildungsgrad war in der Patientengruppe größer als in der Kontrollgruppe.

An der Endophänotypenstudie (Überprüfung der Gedächtnisleistung) nahmen insgesamt 889 Probanden teil, darunter 531 Kontrollen und 358 Patienten. Die Teilnehmer an der Endophänotypenstudie rekrutieren sich aus der Gesamtstichprobe. Die Verteilung von Geschlecht und Alter zeigt Tabelle 4.

Tabelle 4 Zusammensetzung der Studienteilnehmer der Endophänotypenstudie

| | Geschlecht n (%) | | Alter in Jahren | Gesamt n (%) |
|-------------------|------------------|------------|-----------------|--------------|
| | männlich | weiblich | M (SD) | |
| Kontrollen | 260 (49,0) | 271 (51,0) | 50,59 (13,7) | 531 (59,7) |
| Patienten | 215 (60,1) | 143 (39,9) | 38,58 (10,9) | 358 (40,3) |
| Gesamt | 475 (53,4) | 414 (46,6) | 45,75 (14,0) | 889 (100,0) |

n= Anzahl; M= Mittelwert; SD= Standardabweichung

Kontroll- und Patientengruppe der Endophänotypenstichprobe unterscheiden sich hinsichtlich Geschlecht ($p=0,001$; $OR=0,638$ ($CI=0,482;0,845$)) und Alter ($\chi^2=158,212$; $df=1$; $p=2,782 \cdot 10^{-36}$) signifikant voneinander. Im Vergleich zur Kontrollgruppe sind mehr männliche Probanden in der Patientengruppe und die Patienten deutlich jünger.

Der Beginn der Erkrankung manifestierte sich im Mittel mit $M=23,2$ Jahren ($SD=7,56$). Die Hospitalisierungsdauer betrug etwa $M=12,1$ Jahre ($SD=11,73$). Die bisherige Anzahl der Hospitalisationen wurde mit $M=5,3$ ($SD=4,78$) angegeben.

Die Verteilung des Bildungsgrades unter den Probanden der Endophänotypenstudie zeigt Tabelle 5.

Tabelle 5 Verteilung des Bildungsgrades der Endophänotypenstudie

| | Bildungsgrad n (%) | | | Gesamt n (%) |
|-------------------|--------------------|------------|------------|--------------|
| | niedrig | mittel | hoch | |
| Kontrollen | 100 (18,8) | 196 (36,9) | 235 (44,3) | 531 (59,7) |
| Patienten | 125 (34,9) | 97 (27,1) | 136 (38,0) | 358 (40,3) |
| Gesamt | 225 (25,3) | 293 (33,0) | 371 (41,7) | 889 (100,0) |

n= Anzahl

Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen Kontroll- und Patientengruppe ($p=3,596 \cdot 10^{-07}$). Der Anteil der Probanden mit niedrigem Bildungsgrad war in der Patientengruppe größer als in der Kontrollgruppe.

3.1.2 Rekrutierung der Kontrollen

Eine Vorauswahl potenzieller Studienteilnehmer erfolgte mit Hilfe des Einwohnermeldeamts München nach dem Zufallsprinzip. Mögliche Probanden wurden durch ein Einladungsschreiben über die Studie aufgeklärt, bei Interesse folgte ein Telefonscreening zur Überprüfung der Studieneignung. Voraussetzung waren eine deutsche Abstammung bis zu den Großeltern und eine negative Eigen- und Familienanamnese in Hinblick auf psychiatrische, neurologische sowie hirnorganische Erkrankungen. Zudem wurde eine Medikamentenanamnese erhoben.

Bei Studieneignung wurden die Kontrollprobanden zu einem individuellen Termin eingeladen, um mittels SKID I und II die gesamte Psychopathologie zu erfassen und eine umfangreiche neuropsychologische Testbatterie zu durchlaufen.

Mit Hilfe zweier ausführlicher Anamnesebögen wurde die gesamte Kranken- und Lebensgeschichte der Probanden erfasst. Zudem wurden biografische Informationen wie Auffälligkeiten bei Schwangerschaft und Geburt, sowie Angaben zur Schul- und Berufslaufbahn und zur Lebenszufriedenheit erhoben. Die psychiatrische und somatische Krankengeschichte der Verwandten bis zur dritten Generation wurde mittels Family History Assessment Module (FHAM) (Rice et al., 1995) überprüft.

Eine klinische Untersuchung diente dem Ausschluss somatischer und neurologischer Erkrankungen. Es folgte eine Blutentnahme.

3.1.3 Rekrutierung der Patienten

Ehemalige stationäre Patienten der psychiatrischen Kliniken aus dem Großraum München mit der Diagnose Schizophrenie wurden telefonisch kontaktiert und bei Interesse in die Studie eingeschlossen. Es folgten eine klinische Untersuchung und eine ausführliche somatische und psychiatrische Krankheitsanamnese zum Ausschluss von organisch bedingten und substanzinduzierten Störungen. Mit Hilfe des SKID I und II wurden sowohl die Diagnose Schizophrenie gesichert, als auch andere psychotische Erkrankungen, sowie affektive Störungen mit psychotischen Symptomen ausgeschlossen. Die Patienten unterzogen sich einer neuropsychologischen Testung.

Zudem wurden mittels einer biografischen Anamnese Informationen wie Auffälligkeiten bei Schwangerschaft und Geburt sowie Angaben zur Schul- und Berufslaufbahn und zur Lebenszufriedenheit erhoben. Es wurde eine Blutentnahme durchgeführt.

An der Universitätsklinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychotherapie und Psychosomatik der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg konnten alle stationären Patienten, deren Diagnose sich mittels SKID I oder II sichern lässt, in die Studie eingeschlossen werden. Es wurde eine Blutentnahme durchgeführt und mit Hilfe eines ausführlichen Anamnesebogens Informationen über die Krankengeschichte der Patienten erhoben, sowie eine umfassende biografische Anamnese durchgeführt. Zusätzliche Informationen konnten aus den Krankenakten der Patienten entnommen werden. Es folgte die Durchführung von SKID I und II zur Sicherung der psychiatrischen Diagnose.

3.2 Neuropsychologische Testung

Die Probanden unterzogen sich im Rahmen einer neuropsychologischen Testbatterie dem verbalen Lern- und Merkfähigkeitstest (VLMT) von Helmstaedter et al. (2001).

Der VLMT dient zur Überprüfung des verbalen deklarativen episodischen Gedächtnisses (Helmstaedter et al., 2001). Es lassen sich Gedächtnisleistungen, die eine Überführung von Informationen in den Arbeitsspeicher, sowie Leistungen, die eine Konsolidierung von episodischen Informationen im Langzeitgedächtnis voraussetzen, durch das Vorlesen von Wortlisten und das Reproduzieren dieser durch den Probanden überprüfen.

Eine entscheidende Voraussetzung für die erfolgreiche Absolvierung des VLMT stellt eine uneingeschränkte auditive Aufmerksamkeit dar.

3.2.1 Testaufbau

Der Test besteht aus einer Lern- und einer Interferenzliste mit je 15 semantisch unabhängigen Wörtern und einer Wiedererkennensliste, die 20 zusätzliche Wörter enthält. Zehn von ihnen weisen eine semantische, weitere zehn eine phonetische Ähnlichkeit mit den Wörtern der Lern- und der Interferenzliste auf.

3.2.2 Testdurchführung

In der Lernphase wird zuerst die Lernliste vom Testleiter vorgelesen. Dabei ist darauf zu achten, dass jedes Wort die gleiche Betonung erfährt und ein Rhythmus von zwei Sekunden bei der Wortdarbietung eingehalten wird. Im Anschluss wird der Proband aufgefordert die Wörter in beliebiger Reihenfolge frei zu reproduzieren.

Dieser Ablauf wird fünfmal hintereinander durchgeführt.

Nach einmaliger Vorstellung der Interferenzliste auf dieselbe Art und Reproduktion dieser durch den Probanden, wird dem Probanden ein erneuter Abruf der zuvor gelernten Lernliste abverlangt und der Test scheinbar beendet.

Nach einer Verzögerung von ca. 30 Minuten wird ein weiteres Mal die Reproduktion der Wörter der Lernliste gefordert.

Abschließend werden dem Probanden die Wörter der Wiedererkennensliste vorgelesen und durch Ja/Nein Antworten überprüft, ob der Proband die Wörter der Lernliste wiedererkennt.

3.2.3 Testauswertung

Während der Reproduktion wird die Anzahl der richtig benannten Wörter protokolliert und aufsummiert. Die Fehler werden in „Falsch Positive“ (FP; Wörter, die weder in der Lern- noch in der Interferenzliste aufgelistet sind), „Perseverationen“ (P; Wiederholungen von Wörtern innerhalb eines Durchganges) und „Interferenzen“ (In; Nennung von Wörtern der aktuell nicht relevanten Liste) aufgeschlüsselt und protokolliert.

Zur Berechnung der drei Fehlerscores wird die Summe der falsch positiven Nennungen (ΣFP) bzw. der Perseverationen (ΣP) der ersten fünf Durchgänge, beziehungsweise der Interferenzfehler (ΣIn) der Durchgänge sechs und sieben ermittelt. Falsch positive Nennungen und Perseverationen in den Durchgängen sechs und sieben werden in der Auswertung nicht berücksichtigt.

Bei der Wiedererkennensleistung werden analog alle richtig erkannten Wörter, sowie die Summe der falsch positiven Nennungen (ΣFP) und Interferenzfehler (ΣIn) protokolliert.

Die Summe der richtig replizierten Wörter der fünf Lerndurchgänge ($\Sigma Dg1-Dg5$) gibt Aufschluss über die Lernfähigkeit des Probanden und prüft das Arbeitsgedächtnis.

Die Gesamtlernleistung als Indikator für die Funktion des Arbeitsgedächtnisses gibt Aufschluss über kortikale Funktionsstörungen.

Die Differenz zwischen der Lernleistung aus dem fünften Durchgang und den richtigen Reproduktionen nach Interferenz ($Dg5-Dg6$; „Wortverlust nach Interferenz“), sowie die Differenz zwischen Lernleistung aus dem fünften Durchgang und den richtigen Reproduktionen nach zeitlicher Verzögerung ($Dg5-Dg7$; „Wortverlust nach zeitlicher Verzögerung“) überprüft die Fähigkeit der Konsolidierung in das Langzeitgedächtnis.

Der Verlust nach zeitlicher Verzögerung gilt als wichtiger Indikator für die Funktion der Langzeitkonsolidierung und gibt Aufschluss über temporomesiale Funktionsstörungen.

Die freie Abrufleistung nach zeitlicher Verzögerung ($Dg7$) stellt den sensitivsten Indikator für eine verbale Gedächtnisstörung dar (Helmstaedter et al., 2001).

Abbildung 1 gibt eine Übersicht über Durchführung und Auswertung des VLMT.

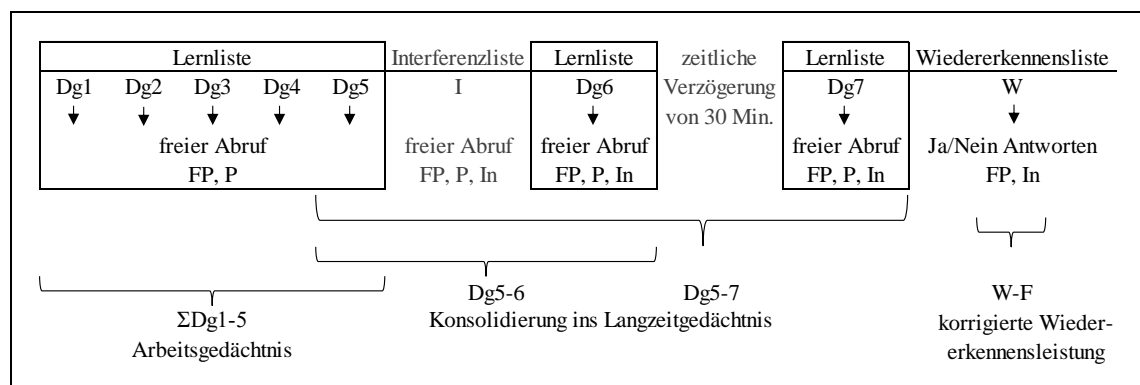


Abbildung 1 Übersicht über Durchführung und Auswertung des VLMT

Dg= Durchgang; FP= falsch Positive; P= Perseverationen, In= Interferenzen; I= Interferenz; W= Wiedererkennen; F= Fehler

Mit Hilfe von altersadaptierten Normtabellen können die erhobenen Rohwerte in Prozentränge umgewandelt werden.

3.2.4 Gütekriterien

Die Retestrelabilität liegt für den Testparameter „Verlust nach zeitlicher Verzögerung“ ($Dg5-Dg7$) bei $r_{tt}=0,68$ und für „Gesamtlernleistung“ ($\Sigma Dg1-5$) bei $r_{tt}=0,82$.

Es werden Maße des Kurz- und des Langzeitgedächtnisses erfasst, die eine Varianzaufklärung von 77% aufweisen.

Die klinische Validität ist eingeschränkt, da die Lern- und Abrufleistung nicht nur auf linkstemporale Schädigungen zurückzuführen ist, sondern auch von frontalen Läsionen

beeinflusst werden kann. Besonders auf die Lernleistung können zudem auch posteriore Läsionen Einfluss nehmen (Helmstaedter et al., 2001).

Nur 35% der Varianz können durch die temporalen Veränderungen erklärt werden.

Die Leistung im VLMT, vor allem die Lernleistung, ist altersabhängig. Zudem zeigen Frauen in der Regel bessere Ergebnisse, die sich allerdings erst durch zu Grunde liegende Ungleichverteilungen der Geschlechter in sehr großen Stichproben als signifikant erweisen. Lediglich die Lernleistung wird gering von der Intelligenz der Probanden beeinflusst, die Notwendigkeit zur Korrektur ist aber nicht gegeben (Helmstaedter et al., 2001).

3.3 Genotypisierung

3.3.1 DNA-Extraktion

Die für die Massenspektrometrie benötigte genomische DNA wurde gemäß dem Protokoll des Qiagen DNA *Blood Maxi Kits* (Qiagen, 2005) aus Leukozyten extrahiert.

Dazu wurde bei den Probanden eine venöse Vollblutentnahme (ca. 7ml) durchgeführt. Es wurden EDTA-Monovetten (Sarstedt, Nümbrecht) genutzt, um die Blutgerinnung zu unterbinden.

Um die Zellen zu lysieren und die DNA freizusetzen, wurden 500µl Qiagen Protease zugegeben. Nach Zugabe von 12ml Lysepuffer AL folgte ein gründliches Durchmischen in einer 50ml Zentrifugenröhre (Sarstedt, Nümbrecht) für 1min auf einem Vortex Genie (Scientific Industries, New York, USA) und eine Inkubation für 30min in einem 70°C heißen Wasserbad. Dieser Puffer enthält Guanidiniumhydrochlorid, das die Denaturierung von DNA-Bindeproteinen bewirkt und so die Freisetzung genomischer DNA erleichtert. Nach Zugabe von 10ml Ethanol (Carl Roth, Karlsruhe) zur Entfernung der Hydrathülle und 2minütigem Vortexen wurde die DNA-Lösung auf eine QIAamp *Maxi Spin Column* (Qiagen, Hilden) aufgebracht und für 3min bei 3000rpm bei Raumtemperatur zentrifugiert, um die DNA an die Silikagelmembran zu binden. Durch einen Waschschrift mit 5ml Puffer AW1 (Qiagen, Hilden) und 2minütiger Zentrifugation bei 4000rpm bei Raumtemperatur wurde eine Entfernung von Verunreinigungen der DNA durch Proteine oder RNA sichergestellt. Nach einem weiteren Waschschrift mit 5ml ethanolhaltigem, salzarmen Puffer AW2 (Qiagen, Hilden) und Zentrifugation für 15min bei 4000rpm, erfolgte die Elution der gebundenen DNA von der Silikagelmembran in das Medium durch das zweimalige Inkubieren der Säule mit insgesamt 1,5ml TRIS-haltigem Puffer AE (Qiagen, Hilden) für je 5min bei Raumtemperatur und folgender Zentrifugation für 2min bei 5000rpm.

3.3.2 DNA-Konzentrationseinstellung

Die resultierenden DNA-Lösungen lagen in unterschiedlichen Konzentrationen vor, sodass eine einheitliche Konzentrationseinstellung auf 50ng/μl vorgenommen werden musste. Die notwendige Konzentrationsmessung wurde mit der PicoGreen Methode (Invitrogen, Karlsruhe) durchgeführt. Bei diesem Verfahren wird ein Fluoreszenzfarbstoff selektiv an doppelsträngige DNA gebunden und mit Licht der Wellenlänge von 480nm angeregt. Durch die Emissionsmessung von Licht der Wellenlänge von 520nm kann die proportional zur Intensität vorliegende Menge der DNA durch Abgleich mit einer Eichkurve bestimmt werden (Invitrogen, 2008).

Die folgende Tabelle (Tabelle 6) stellt die für die DNA-Konzentrationseinstellung benötigten Materialien dar.

Tabelle 6 Materialien für die DNA-Konzentrationseinstellung

| Material, Reagenz, Gerät | Verwendungszweck | Hersteller |
|---|--|---------------------------------------|
| <i>96 well Flat Bottom Plate Black</i> | Vorlagenplatte für Standard- und Proben DNA | Greiner Bio-one, Frickenhausen |
| <i>Human genomic DNA 100ng/μl</i> | Standardverdünnungsreihe | Clontech, Mountain View, USA |
| <i>Janus Automated Workstation</i> | Durchführung aller Pipettierschritte | Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA |
| <i>Quant iT PicoGreen dsDNA reagent</i> | Fluoreszenzmessung der DNA | Invitrogen GmbH, Karlsruhe |
| <i>Thermo Fast 96 well Plate</i> | Vorverdünnung der Proben-DNA, Standardverdünnungsreihe | ABgene, Hamburg |
| <i>Victor 3 Multilabel Counter 1420</i> | Fluoreszenzmessung der DNA | Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA |

Mittels einer 1:2 Verdünnungsreihe eines 100ng/μl *Human genomic DNA*-Standards, bestehend aus acht Punkten mit 100; 50; 25; 12,5; 6,75; 3,125; 0ng/μl, wurde eine Eichkurve aus bekannten DNA-Konzentrationen erstellt. Die Proben-DNA wurde mit autoklaviertem, destilliertem Wasser 1:10 vorverdünnt und je 5μl der vorverdünnten DNA, sowie der DNA-Standardverdünnungsreihe in eine *96 well Flat Bottom Plate*, in der bereits je *well* 50μl autoklaviertes, destilliertes Wasser vorlag, einpipettiert. Nach 1:156 Verdünnung des *Quant iT PicoGreen dsDNA reagent* unter Lichtschutz mit autoklaviertem, destilliertem Wasser wurden 145μl des Farbstoffes pro *well* hinzugegeben, sodass eine Endverdünnung des *Quant iT PicoGreen* von 1:200 vorlag.

Alle Pipettierschritte erfolgten halbautomatisiert mittels Pipettierroboter. Durch den Greifarm des Roboters wurde die Platte automatisch in den *Victor 3 Multilabel Counter 1420* eingeführt.

Die Platte wurde im Messgerät für 30s in horizontaler Ebene in Doppellellipsen geschüttelt, um eine homogene Durchmischung der Lösungen zu erreichen.

Nach Anregung des PicoGreens mit Licht der Wellenlänge 485nm im Fluoreszenzmessgerät erfolgte die Emissionsmessung bei 520nm. Die ermittelten Fluoreszenzwerte wurden an einen Rechner übermittelt und die DNA-Konzentrationen der Proben durch einen Abgleich der Fluoreszenzwerte mit denen der Standardkurve ermittelt und die Menge des benötigten Wassers zur Konzentrationseinstellung auf 50ng/µl berechnet. Die Verdünnung erfolgte automatisch durch den Pipettierroboter.

3.3.3 Auswahl der SNPs

Die Auswahl unserer 37 Polymorphismen basiert auf vorläufigen Ergebnissen der Studie des Psychiatric Genomics Consortium von 2014 (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014). Aus den 100 Top-SNPs wählten wir eine Subgruppe aus.

Die endgültigen Ergebnisse, basierend auf 36989 Fällen und 113075 Kontrollen, zeigen eine starke Assoziation aller untersuchten Polymorphismen mit der Schizophrenie, deren Reihung sich im Vergleich zu den vorläufigen Ergebnissen geringfügig änderte. Für 34 der 37 SNPs konnte eine genomweite Signifikanz ermittelt werden. Die entsprechenden p-Werte und OR können der folgenden Webseite entnommen werden:

<http://www.med.unc.edu/pgc/files/resultfiles/scz2.snp.results.txt.gz%20%20>

3.3.4 Assay Design

Die zu genotypisierenden SNPs wurden mit der Software *AssayDesign* 3.1 (Sequenom, San Diego) zu Multiplexen zusammengestellt. Für jeden SNP wird so ein individuelles Primerset, bestehend aus zwei PCR-Primern und einem Extendprimer, der unmittelbar neben dem zu untersuchenden SNP bindet, entworfen und die optimale Plexzusammenstellung ermittelt.

Das Programm benötigt u.a. die rsNummer des SNPs, Angaben zu den SNP flankierenden Sequenzen in 5'- und 3'-Richtung, sowie die SNP-Allele. Diese Informationen wurden über die Datenbank des *National Centre of Biotechnology Information* (NCBI, 2014) und die *CHIP Bioinformatic* Datenbank (SNPer, 2014) eingeholt.

3.3.5 Multiplex-Polymerase Kettenreaktion

Um genügend DNA-Material für die Genotypisierung zur Verfügung zu haben, wurde zunächst eine Multiplex-PCR zur Vervielfältigung der SNP flankierenden genomischen Sequenzen

durchgeführt. Durch diese SNP *Capture* Reaktion kann ein gesamtes Set aus bis zu 36 SNPs zeitgleich in einer PCR amplifiziert werden.

Die folgende Tabelle (Tabelle 7) stellt die für die Multiplex-Polymerase Kettenreaktion benötigten Materialien dar.

Tabelle 7 Materialien für die Multiplex-Polymerase Kettenreaktion

| Material, Reagenz, Gerät | Hersteller |
|---|--------------------------------------|
| dNTP Set, 100mM | ABgene, Hamburg |
| <i>Gene Amp PCR System 9700</i> | Applied Biosystems, Foster City, USA |
| <i>HotStar Taq DNA Polymerase (5U/μl)</i> | Qiagen, Hilden |
| MgCl ₂ , 25mM | Qiagen, Hilden |
| Microlab MPH 96 | Hamilton, Reno, USA |
| PCR-Puffer 10x | Qiagen, Hilden |
| <i>Thermo Fast 96 well Plate</i> | ABgene, Hamburg |
| <i>Thermo Fast 384 well Plate</i> | ABgene, Hamburg |

Die eingesetzten Volumina und Konzentrationen der einzelnen Reagenzien der Multiplex-PCR lassen sich der folgenden Tabelle entnehmen (Tabelle 8).

Tabelle 8 Eingesetzte Volumina und Konzentrationen in der Multiplex-PCR

| Reagenz | Konzentration in einer 5μl Reaktion | Volumen in einer Reaktion* | Volumen für 384 Reaktionen* |
|--------------------------------------|--|-----------------------------------|------------------------------------|
| Wasser | | 1,850μl | 1368μl |
| 10xPCR-Puffer | 1,25x | 0,625μl | 300μl |
| MgCl ₂ 25mM | 1,625mM | 0,325μl | 156μl |
| dNTP Mix, 25mM | 500μM | 0,100μl | 48μl |
| Primer Mix, 500nM each | 100nM | 1,000μl | 480μl |
| <i>HotStar Taq Polymerase, 5U/μl</i> | 0,5U/Reaktion | 0,100μl | 48μl |
| Total | | 4,000μl | 2400μl |

*= inkl. 25% Überhang

Die vorliegenden DNA-Lösungen wurden mit destilliertem, sterilfiltriertem Wasser auf 5ng/μl verdünnt und in 96 *well* Platten einpipettiert, der Mastermix mit den Primern gemischt und die *HotStarTaq* DNA-Polymerase zugegeben. Mit Hilfe eines Pipettierroboters wurden je 4μl Mastermix auf eine *Thermo Fast 384 well* Platte überführt und jedes *well* mit je 2,5μl (12,5ng) DNA-Lösung versetzt. Die abzentrifugierten Reaktionsplatten wurden verschlossen in *Thermocyclern* (Applied Biosystems, Foster City) nach folgendem Schema weiter prozessiert.

Multiplex-PCR-Programm :

- | | |
|------------------|-------------|
| 1. 95°C für 5min | } 45 Zyklen |
| 2. 95°C für 20s | |
| 3. 56°C für 30s | |
| 4. 72°C für 1min | |
| 5. 72°C für 3min | |
| 6. 12°C forever | |

Um Messungenauigkeiten durch nicht inkorporierte Desoxyribonukleosidtriphosphate (dNTPs) zu minimieren, schloss sich eine Dephosphorylierung der Reaktionsprodukte mit *Shrimp Alkalischer Phosphatase* (SAP) (Sequenom, San Diego) an. Diese Phosphatase dephosphoryliert die zurückgebliebenen dNTPs, sodass diese in der folgenden Extensionsreaktion nicht anstatt der Didesoxyribonukleosidtriphosphate (ddNTPs) inkorporiert werden können (Oeth et al., 2005). Die verwendeten Materialien lassen sich Tabelle 9 entnehmen.

Tabelle 9 Materialien für die Dephosphorylierung der PCR-Produkte

| Material, Reagenz, Gerät | Verwendungszweck | Hersteller |
|---|---|--------------------------------------|
| <i>Gene Amp PCR System 9700</i> | Multiplex-PCR | Applied Biosystems, Foster City, USA |
| Multimek Pipettierroboter | Zugabe des Extend-Mastermix zum PCR-Produkt | Beckmann, Fullerton, USA |
| SAP-Buffer | Dephosphorylierung uninkorporierter dNTPs | Sequenom, San Diego, USA |
| <i>Shrimp Alkaline Phosphatase (SAP) Enzyme</i> | Dephosphorylierung uninkorporierter dNTPs | Sequenom, San Diego, USA |

Die Zusammensetzung des SAP Mastermix zeigt Tabelle 10.

Tabelle 10 Zusammensetzung des SAP Mastermix

| Reagenz | Volumen für 1 Reaktion (inkl. 25% Überhang) | Volumen für 384 Reaktionen |
|----------------|--|----------------------------|
| Wasser | 1,530µl | 734,4µl |
| 10x SAP Buffer | 0,170µl | 81,6µl |
| SAP-Enzym | 0,300µl | 144,0µl |
| Total | 2,000µl | 960,0µl |

2µl des Mastermix wurden mit Hilfe eines Pipettierroboters zu den PCR-Produkten gegeben, gemischt, abzentrifugiert und nach folgendem Schema in einem *Thermocycler* inkubiert:

1. 37°C für 40min
2. 85°C für 10min
3. 4°C unbegrenzt

Durch das Erhitzen auf 85°C wird das Enzym irreversibel inaktiviert.

3.3.6 iPLEX-Reaktion

Die Primerextensionsreaktion wurde mit dem *iPLEX-assay* durchgeführt. Dafür wurden MassEXTEND Primer eingesetzt, die sowohl an den Sinnstrang, als auch an den Gegensinnstrang an das 5'-Ende direkt neben den interessierenden SNP binden. Mit diesem Verfahren können die an die Amplifikationsprodukte gebundenen Primer um eine einzelne, zum SNP-Allel komplementäre Base, ergänzt werden (*Single Base Extension; SBE*). Dafür werden ddNTPs als Terminatoren verwendet. Es werden massenmodifizierte ddNTPs genutzt, um den geringen Massenunterschied zwischen herkömmlichen ddNTPs zu verstärken und so die Differenzierung zwischen den Basen zu erleichtern. Die Signalintensität im Spektrum nimmt proportional mit der Länge der Primer ab. Um eine Vergleichbarkeit zu erreichen, wurden die Primer ihrer Masse nach in vier Gruppen eingeteilt und hochmassige Primer in höheren Konzentrationen als niedrigmassige hinzugegeben (Oeth et al., 2005).

Die benötigten Reagenzien (*iPLEX Buffer Plus* (Sequenom, San Diego), *iPLEX Termination Mix* (Sequenom, San Diego)) sowie der Primer-Mix wurden gründlich gemischt und abzentrifugiert, das *iPLEX Enzym* (Sequenom, San Diego) erst kurz vor dem Start der Reaktion hinzugegeben. Die genaue Zusammensetzung des *iPLEX-Cocktails* zeigt Tabelle 11.

Tabelle 11 Eingesetzte Volumina und Konzentrationen für die iPLEX-Reaktion

| Reagenz | Konz./ 9µl | Volumen für eine Reaktion* | Volumen für 384 Reaktionen* |
|------------------------------|--------------------|----------------------------|-----------------------------|
| Wasser | | 0,755µl | 362,40µl |
| <i>iPLEX Buffer Plus</i> | 0,222x | 0,200µl | 96,00µl |
| <i>iPLEX Termination Mix</i> | 1x | 0,200µl | 96,00µl |
| Primer Mix (7µM bis 14µM) | 0,625µM bis 1,25µM | 0,804µl | 385,92µl |
| <i>iPLEX Enzym</i> | 1x | 0,041µl | 19,68µl |
| Total | | 2,000µl | 960,00µl |

*= inkl. Überhang

Je 2 μl des Reaktionscocktails wurden mit dem Multimek Pipettierroboter (Beckmann, Fullerton) zu den vorgelegten PCR-Reaktionsprodukten hinzugegeben und die *Thermo Fast 384 well Plate* (ABgene, Hamburg) nach folgendem Schema im *Thermocycler* prozessiert.

iPLEX Programm:

1. 94°C für 30s
 2. 94°C für 5s
 3. 52°C für 5s
 4. 80°C für 5s
 5. 72°C für 3min
 6. 4°C forever
-

Die Extensionsprodukte wurden entsalzt, indem sie mit *Clean Resin* (Sequenom, San Diego) behandelt wurden. Das *Clean Resin* ersetzt störende Natrium- und Kaliumionen durch Ammoniumionen, die als gasförmiger Ammoniak freigesetzt werden.

3.3.7 MALDI-TOF Massenspektrometrie

Die Genotypisierung wurde mittels der Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) durchgeführt.

Die Extensionsprodukte aus der iPLEX-Reaktion wurden in eine Matrix eingebaut und nach mehrfachem Beschuss mit einem gepulsten Laser im Hochvakuum verdampft und in ionisierter Form freigesetzt. Die freigesetzten Ionen werden in einen Massenanalysator überführt und dort beschleunigt. Anhand der Zeit, die jedes einzelne Ion für die Zurücklegung von der Beschleunigungselektrode zum Detektor benötigt, kann die Masse des Ions bestimmt werden (Kahl G, 2004). Dabei werden Ionen mit geringer Masse eher erfasst als Ionen hoher Masse, da jene die Strecke in kürzerer Zeit zurücklegen. Entsprechend der entstehenden Spektren kann auf das vorliegende Allel und die Genotypen zurückgeschlossen werden.

Für die Messung wurden je 0,5 μl der zu untersuchenden DNA unter Verwendung des MassARRAY POINT *Nanodispenser* (Sequenom, San Diego) mit Hilfe von Edelstahlnadeln auf einen Matrixpunkt des 384 aufpräparierte Matrixpunkte enthaltenden SpectroCHIP (Sequenom, San Diego) aufgetragen. Weitere acht Matrixpunkte wurden mit einem *3-Punkt Kalibranden* (Sequenom, San Diego), der Substanzen bekannter Massen enthält, versehen, um anhand von dessen Spektren eine Kalibrierung der Analytenspektren vornehmen zu können.

Vor der Messung im Autoflex Massenspektrometer (Bruker Daltonics, Bremen) müssen die Massen der Extensionsprimer sowie die zugehörigen Allele in eine Datenbank eingespeist

werden. Mit Hilfe des *AssayEditor* 3.4.0.7 (Sequenom, San Diego) konnten anhand der eingegebenen Informationen die erwarteten Massen der Extensionsprodukte ermittelt werden. Die Zuordnung der Genotypen zu ihren Spektren erfolgte mit der *TyperAnalyzer* Software 3.4.0.18 (Sequenom, San Diego). Die Spektren zeigten sowohl einen *peak* für den Extensionsprimer, als auch an der für ein bestimmtes Allel spezifischen Stelle.

3.3.8 Qualitätskontrolle

Mit Hilfe der *Typer Analyzer* Software wurden die Genotypen eines SNPs anhand ihrer Spektren auf ihre Qualität überprüft, indem *clusterplots*, bestehend aus gruppierten Genotypen, generiert wurden. Eine klare Abgrenzbarkeit der einzelnen Genotypen voneinander ließ auf eine valide und qualitativ hochwertige Genotypisierung schließen.

Jede prozessierte Platte enthielt vier Blindproben an für jede Platte spezifischen Positionen. Traten in diesen Blindproben neben dem Signal des Extensionsprimers andere unklare Signale auf, wurden die betreffenden SNPs nicht der weiteren Auswertung zugeführt.

Auf jede Platte wurde eine DNA-Kontrollprobe aufgetragen, deren Genotypen auf jeder Platte identisch sein mussten, um in der weiteren Auswertung beachtet zu werden. Durch die Kombination von Blind- und Kontrollproben entstand ein für jede Platte einzigartiges Muster, das vor Vertauschungen schützen sollte.

Zudem wurden je Plex die Referenzproben des *Centre d'Etude du Polymorphisme Humain* (CEPH) für den Großteil aller bisher bekannten SNPs genotypisiert. Stimmt mindestens 98,9% der ermittelten Genotypen dieser DNA-Sammlung mit denen der Hapmap-Datenbank (The International HapMap Consortium, 2003) überein, konnte von einer validen Genotypisierung ausgegangen werden.

Es wurde die Probanden *callrate* bestimmt, die die Rate von erfolgreich ermittelten Genotypen je Proband widerspiegelt. Nur diejenigen Probanden, die eine *callrate* von mindestens 0,8 aufwiesen, wurden in die Auswertung einbezogen.

Es wurde die SNP *callrate* bestimmt, die einen Aufschluss über die je SNP erfolgreich genotypisierten Polymorphismen im Verhältnis zur maximal möglichen Anzahl gibt. Nur SNPs mit einer *callrate* von mindestens 0,9 wurden in die weitere Auswertung eingeschlossen.

Der *cut-off* für die minore Allelfrequenz (MAF) wurde mit $>0,01$ definiert. Polymorphismen mit einer MAF von $>0,01$ wurden von der Auswertung ausgeschlossen.

Im Weiteren wurde für jeden SNP das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWE) überprüft, indem der exakte Test nach Fisher durchgeführt wurde. Polymorphismen mit einem $p < 10^{-5}$ in der Gesamtstichprobe wurden in der Auswertung nicht beachtet, da Genotypisierungsfehler nicht ausgeschlossen werden konnten. Das HWE wurde anschließend in jeder analysierten Substichprobe bzgl. eines stringenteren Grenzwerts evaluiert ($p < 0,05$).

3.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software *PLINK* v. 1.07 (Purcell et al., 2007) und *R* v.3.0.0 (R Development Core Team, 2011).

Die Assoziation zwischen den Polymorphismen und der Schizophrenie wurde mit Hilfe der logistischen Regression überprüft. Wir verwendeten ein additives SNP Modell, dem die Kodierung der Anzahl der Referenzallele mit 0, 1 und 2 zu Grunde liegt.

Die Überprüfung der Assoziation zwischen den Polymorphismen und den Leistungen im VLMT erfolgte mittels linearer Regression. Die Regression erfolgte getrennt nach Patienten- und Kontrollgruppe, sowie in der Gesamtstichprobe.

Als Kovariablen wurden Alter, Geschlecht und Bildung der Probanden in die Untersuchung einbezogen. In der Gesamtstichprobe wurde zusätzlich der Krankheitsstatus, Schizophrenie versus Gesundheit, beachtet.

Um normalverteilte Residuen zu erhalten, wurden die Testwerte für „Wortverlust nach Interferenz“ nach $\sqrt{3 + Dg5 - Dg6}$ transformiert.

Es wurde ein Signifikanzniveau von $\alpha=0,05$ zu Grunde gelegt, $0,05 \leq p \leq 0,1$ wurde als Trend gewertet.

4 Ergebnisse

4.1 Fall-Kontroll-Studie

11 SNPs zeigten signifikante Assoziationen mit der Schizophrenie (Tabelle 12), die restlichen SNPs wiesen keine signifikanten Assoziationen auf (Tabelle 16).

Alle signifikanten Polymorphismen der Fall-Kontroll-Studie lagen im HWE mit Ausnahme des SNPs rs5011218 (Kontrollen $p=4,92 \cdot 10^{-06}$, Patienten $p=4,29 \cdot 10^{-03}$, Gesamt $p=4,63 \cdot 10^{-08}$).

Tabelle 12 Signifikante Polymorphismen der Fall-Kontroll-Studie

| SNP | Chromosom | Position* | Gen |
|------------|-----------|-----------|---------------------------------------|
| rs11682175 | 2 | 57987593 | - |
| rs704367 | 3 | 63868777 | ATXN7 ^a |
| rs1233578 | 6 | 28712247 | - |
| rs12704290 | 7 | 86427626 | GRM3 ^a |
| rs11223651 | 11 | 133841034 | - |
| rs55661361 | 11 | 124613957 | NRGN ^a |
| rs4702 | 15 | 91426560 | FURIN ^b ; FES ^c |
| rs4788190 | 16 | 29948401 | - |
| rs11874716 | 18 | 52750688 | - |
| rs17512480 | 18 | 53173173 | TCF4 ^a |

*= NCBI build 37; ^a= Lage im Intron des Gens; ^b= Lage in 3'-UTR; ^c= Lage 5' nahe des Gens;
 -= Lage außerhalb eines Gens

Es wurde die Genotypverteilung der SNPs in Abhängigkeit von der Patienten- und Kontrollgruppe ermittelt, um die Assoziation zwischen den Polymorphismen und der Schizophrenie zu untersuchen (Tabelle 13).

Tabelle 13 Genotypverteilung der signifikanten Polymorphismen der Fall-Kontroll-Studie

| SNP | Allele | | Genotypen (n) | | p | OR (95% CI) |
|------------|--------|----|------------------|-------------|------------------|----------------------|
| | A1 | A2 | A1A1/ A1A2/ A2A2 | Kontrollen | | |
| rs11682175 | T | C | 753/1339/561 | 238/462/246 | 0,002 | 1,177 (1,06;1,31) |
| rs704367 | C | A | 1368/1104/259 | 436/402/103 | 0,037 | 1,126 (1,01;1,26) |
| rs1233578 | A | G | 2069/609/53 | 775/156/12 | <0,001 | 0,706 (0,60;0,84) |
| rs12704290 | G | A | 2071/596/40 | 756/183/7 | 0,016 | 0,812 (0,69;0,96) |
| rs11223651 | C | T | 1582/911/154 | 605/301/41 | 0,013 | 0,851 (0,75;0,97) |
| rs55661361 | G | A | 1185/1146/314 | 454/406/88 | 0,025 | 0,880 (0,79;0,98) |
| rs4702 | A | G | 866/1275/494 | 276/459/208 | 0,010 | 1,148 (1,03;1,27) |
| rs4788190 | A | G | 761/1313/632 | 232/473/239 | 0,041 | 1,114 (1,00;1,24) |
| rs11874716 | T | G | 937/1296/482 | 357/451/126 | 0,003 | 0,847 (0,76;0,94) |
| rs17512480 | T | A | 2548/157/1 | 870/70/2 | 0,035 | 1,354 (1,02;1,80) |

A2= Referenzallel

Tritt das Referenzallel signifikant häufiger bei den Patienten auf als bei den Kontrollen ($OR > 1$), ist davon auszugehen, dass dieses Allel mit der Schizophrenie positiv assoziiert ist. Die Träger dieses Allels sind häufiger von Schizophrenie betroffen als die Nicht-Träger.

Tritt das Referenzallel signifikant seltener bei den Patienten auf als bei den Kontrollen ($OR < 1$), besteht eine negative Assoziation mit der Schizophrenie. Die Träger dieses Allels sind seltener von Schizophrenie betroffen als die Nicht-Träger.

Bei den Polymorphismen rs10764493 und rs9636107 zeigte sich ein Trend ($p < 0,1$) (Tabelle 16). Die Referenzallelträger des rs10764493[G] sind seltener von Schizophrenie betroffen ($p = 0,062$; $OR = 0,844$ ($CI = 0,71; 1,01$)) als die Nicht-Träger. Die Referenzallelträger des rs9636107[G] sind häufiger von Schizophrenie betroffen ($p = 0,068$; $OR = 1,102$ ($CI = 0,99; 1,22$)) als die Nicht-Träger.

4.2 Endophänotypenstudie

Die 37 Polymorphismen der Fall-Kontroll-Studie wurden im Rahmen der Endophänotypenstudie auf eine Assoziation mit den Testleistungen im VLMT untersucht.

In der folgenden Tabelle (Tabelle 14) sind diejenigen SNPs, sowie deren Lokalisation dargestellt, die in mindestens einer der drei Gruppen Kontrollgruppe, Patientengruppe, Gesamtstichprobe und in mindestens einem der drei Tests des VLMT ein signifikantes Ergebnis aufwiesen.

Mit Ausnahme der SNPs rs5011218 (Gesamt $p=0,024$), rs1157931 (Gesamt $p=0,007$) und rs4766428 (Kontrollen $p=0,027$, Gesamt $p=0,012$) lagen alle signifikanten Polymorphismen der Endophänotypenstudie im HWE.

Tabelle 14 Signifikante Polymorphismen der Endophänotypenstudie

| SNP | Chromosom | Position* | Gen |
|------------|-----------|-----------|---------------------------------------|
| rs11682175 | 2 | 57987593 | - |
| rs11687313 | 2 | 201146399 | - |
| rs6704768 | 2 | 233592501 | GIGYF2 ^a |
| rs11717383 | 3 | 52287468 | - |
| rs6550435 | 3 | 36864489 | - |
| rs12532143 | 7 | 111025948 | IMMP2L ^a |
| rs10764493 | 10 | 18727999 | CACNB2 ^a |
| rs12887734 | 14 | 104046834 | APOPT1 ^a |
| rs4702 | 15 | 91426560 | FURIN ^b ; FES ^c |
| rs72930787 | 18 | 53163569 | TCF4 ^a |
| rs5995756 | 22 | 40000313 | CACNA1I ^a |

*= NCBI build 37; ^a= Lage im Intron des Gens; ^b= Lage in 3'-UTR; ^c= Lage 5' nahe des Gens; -= Lage außerhalb eines Gens

In unserer Studie sind 19 signifikante Assoziationen aufgetreten (Tabelle 15).

Es ließ sich kein Testphänotyp identifizieren, der besonders häufig eine signifikante Assoziation mit den untersuchten Polymorphismen aufwies.

Es ließ sich keine Gruppe identifizieren, die besonders häufig eine signifikante Assoziation aufwies. Für die Kontrollgruppe konnten sieben signifikante Assoziationen ermittelt werden. In der Patientengruppe traten sieben und in der Gesamtstichprobe fünf signifikante Assoziationen auf.

Für sieben SNPs ließ sich eine Assoziation mit lediglich jeweils einem Testphänotypen ermitteln, vier SNPs waren mit jeweils zwei Testphänotypen assoziiert.

Mit insgesamt vier bzw. drei assoziierten Phänotypen ragten die SNPs rs11682175[C] und rs4702[G] heraus.

In der folgenden Tabelle (Tabelle 15) sind die Testergebnisse (Wortanzahl) der in dieser Untersuchung signifikant gewordenen Polymorphismen, die innerhalb des HWE lagen, dargestellt.

Es ist je SNP der Testphänotyp aufgelistet, in dem eine signifikante Assoziation aufgetreten ist. Innerhalb dieses Phänotyps sind die Testergebnisse getrennt nach Kontroll- und Patientengruppe, sowie Gesamtstichprobe abgebildet.

Tabelle 15 Assoziationen zwischen Polymorphismen und Testphänotypen

| SNP | Allele | | Testphänotyp | Gruppe | Testergebnisse in Wörtern M (SER) | | | p | B (SER) |
|-------------------|--------|----|-------------------------------------|------------|-----------------------------------|--------------|--------------|--------------------|---------------|
| | A1 | A2 | | | A1/A1 | A1/A2 | A2/A2 | | |
| rs11682175 | T | C | Gesamtlernleistung | Kontrollen | 55,40 (0,56) | 54,15 (0,34) | 52,90 (0,61) | 0,009 | -1,250 (0,48) |
| | | | | Patienten | 49,25 (0,93) | 47,56 (0,57) | 45,87 (1,03) | 0,034 | -1,690 (0,80) |
| | | | | Gesamt | 52,92 (0,50) | 51,49 (0,31) | 50,06 (0,55) | 0,001 | -1,428 (0,43) |
| | | | Verlust nach zeitlicher Verzögerung | Kontrollen | 1,73 (0,14) | 2,01 (0,09) | 2,29 (0,16) | 0,022 | 0,283 (0,12) |
| | | | | Patienten | 2,27 (0,19) | 2,50 (0,12) | 2,73 (0,22) | 0,172 | 0,228 (0,17) |
| | | | | Gesamt | 1,95 (0,12) | 2,21 (0,07) | 2,47 (0,13) | 0,009 | 0,259 (0,10) |
| rs11687313 | G | A | Gesamtlernleistung | Kontrollen | 54,62 (0,37) | 52,67 (0,68) | 50,71 (1,38) | 0,009 | -1,958 (0,75) |
| | | | | Patienten | 47,50 (0,66) | 48,72 (1,11) | 49,93 (2,29) | 0,340 | 1,215 (1,27) |
| | | | | Gesamt | 51,77 (0,34) | 51,19 (0,61) | 50,61 (1,25) | 0,398 | -0,578 (0,68) |
| | | | Verlust nach zeitlicher Verzögerung | Kontrollen | 1,92 (0,10) | 2,27 (0,17) | 2,62 (0,35) | 0,071 ^t | 0,349 (0,19) |
| | | | | Patienten | 2,41 (0,14) | 2,65 (0,23) | 2,89 (0,48) | 0,362 | 0,240 (0,26) |
| | | | | Gesamt | 2,11 (0,08) | 2,42 (0,14) | 2,73 (0,28) | 0,049 | 0,308 (0,16) |
| rs6704768 | A | G | Verlust nach zeitlicher Verzögerung | Kontrollen | 1,91 (0,14) | 2,01 (0,09) | 2,11 (0,16) | 0,405 | 0,101 (0,12) |
| | | | | Patienten | 2,80 (0,20) | 2,45 (0,12) | 2,09 (0,22) | 0,039 | -0,357 (0,17) |
| | | | | Gesamt | 2,25 (0,12) | 2,18 (0,07) | 2,11 (0,13) | 0,488 | -0,069 (0,10) |

Fortsetzung nächste Seite

| SNP | Allele | | Testphänotyp | Gruppe | Testergebnisse in Wörtern M (SER) | | | p | B (SER) |
|------------|--------|----|-------------------------------------|------------|-----------------------------------|--------------|--------------|--------------------|---------------|
| | A1 | A2 | | | A1/A1 | A1/A2 | A2/A2 | | |
| rs11717383 | T | G | Gesamtlernleistung | Kontrollen | 53,22 (0,55) | 54,31 (0,34) | 55,40 (0,61) | 0,021 | 1,091 (0,47) |
| | | | | Patienten | 47,61 (0,96) | 47,82 (0,57) | 48,03 (1,04) | 0,797 | 0,212 (0,82) |
| | | | | Gesamt | 50,95 (0,50) | 51,70 (0,31) | 52,45 (0,55) | 0,084 ^t | 0,749 (0,43) |
| | | | | | | | | | |
| rs6550435 | T | G | Verlust nach zeitlicher Verzögerung | Kontrollen | 1,80 (0,12) | 2,07 (0,09) | 2,33 (0,18) | 0,030 | 0,266 (0,12) |
| | | | | Patienten | 2,50 (0,18) | 2,46 (0,12) | 2,41 (0,24) | 0,799 | -0,044 (0,17) |
| | | | | Gesamt | 2,08 (0,10) | 2,22 (0,07) | 2,36 (0,14) | 0,163 | 0,140 (0,10) |
| | | | | | | | | | |
| rs12532143 | T | C | Gesamtlernleistung | Kontrollen | 54,62 (0,48) | 54,04 (0,38) | 53,47 (0,75) | 0,251 | -0,577 (0,50) |
| | | | | Patienten | 48,74 (0,81) | 47,22 (0,65) | 45,71 (1,31) | 0,083 ^t | -1,517 (0,87) |
| | | | | Gesamt | 52,27 (0,43) | 51,32 (0,34) | 50,36 (0,69) | 0,039 | -0,954 (0,46) |
| | | | | | | | | | |
| | | | Verlust nach zeitlicher Verzögerung | Kontrollen | 1,78 (0,12) | 2,10 (0,10) | 2,42 (0,19) | 0,014 | 0,317 (0,13) |
| | | | | Patienten | 2,45 (0,17) | 2,46 (0,14) | 2,47 (0,27) | 0,965 | 0,008 (0,18) |
| | | | | Gesamt | 2,05 (0,10) | 2,25 (0,08) | 2,45 (0,16) | 0,061 ^t | 0,198 (0,11) |
| | | | | | | | | | |
| rs10764493 | A | G | Verlust nach Interferenz | Kontrollen | 2,12 (0,02) | 2,11 (0,04) | 2,10 (0,08) | 0,744 | -0,013 (0,04) |
| | | | | Patienten | 2,17 (0,03) | 2,01 (0,05) | 1,86 (0,11) | 0,010 | -0,155 (0,06) |
| | | | | Gesamt | 2,14 (0,02) | 2,08 (0,03) | 2,01 (0,06) | 0,053 ^t | -0,066 (0,03) |
| | | | | | | | | | |

Fortsetzung nächste Seite

| SNP | Allele | | Testphänotyp | Gruppe | Testergebnisse in Wörtern M (SER) | | | p | B (SER) |
|------------|--------|----|--------------------------|------------|-----------------------------------|--------------|--------------|--------------|---------------|
| | A1 | A2 | | | A1/A1 | A1/A2 | A2/A2 | | |
| rs12887734 | G | T | Verlust nach Interferenz | Kontrollen | 2,12 (0,02) | 2,13 (0,02) | 2,13 (0,04) | 0,969 | 0,001 (0,03) |
| | | | | Patienten | 2,09 (0,03) | 2,17 (0,03) | 2,24 (0,06) | 0,038 | 0,078 (0,04) |
| | | | | Gesamt | 2,11 (0,02) | 2,14 (0,02) | 2,18 (0,04) | 0,127 | 0,035 (0,02) |
| | | | | | | | | | |
| rs4702 | A | G | Gesamtlernleistung | Kontrollen | 54,79 (0,52) | 54,09 (0,35) | 53,39 (0,66) | 0,143 | -0,703 (0,48) |
| | | | | Patienten | 46,10 (0,93) | 47,82 (0,57) | 49,54 (0,99) | 0,027 | 1,720 (0,78) |
| | | | | Gesamt | 51,34 (0,48) | 51,64 (0,31) | 51,94 (0,57) | 0,486 | 0,298 (0,43) |
| | | | Verlust nach Interferenz | Kontrollen | 2,08 (0,03) | 2,13 (0,02) | 2,19 (0,04) | 0,026 | 0,058 (0,03) |
| | | | | Patienten | 2,13 (0,04) | 2,15 (0,02) | 2,16 (0,04) | 0,648 | 0,015 (0,03) |
| | | | | Gesamt | 2,10 (0,02) | 2,14 (0,01) | 2,18 (0,03) | 0,048 | 0,040 (0,02) |
| rs72930787 | C | T | Verlust nach Interferenz | Kontrollen | 2,12 (0,02) | 2,12 (0,05) | 2,11 (0,11) | 0,936 | -0,005 (0,06) |
| | | | | Patienten | 2,15 (0,03) | 1,97 (0,09) | 1,79 (0,17) | 0,042 | -0,183 (0,09) |
| | | | | Gesamt | 2,14 (0,02) | 2,07 (0,05) | 2,01 (0,09) | 0,193 | -0,064 (0,05) |
| | | | | | | | | | |
| rs5995756 | C | T | Verlust nach Interferenz | Kontrollen | 2,11 (0,03) | 2,12 (0,02) | 2,14 (0,03) | 0,535 | 0,016 (0,03) |
| | | | | Patienten | 2,22 (0,04) | 2,13 (0,02) | 2,05 (0,05) | 0,014 | -0,085 (0,03) |
| | | | | Gesamt | 2,15 (0,02) | 2,13 (0,01) | 2,10 (0,03) | 0,239 | -0,024 (0,02) |
| | | | | | | | | | |

A2= Referenzallel; M= Mittelwert; SER= Standardabweichung; †= Trend

Für den Polymorphismus rs11682175 konnten die meisten signifikanten Assoziationen festgestellt werden.

Die Gesamtlernleistung war in allen drei Gruppen mit signifikant schlechteren Leistungen bei den Referenzallelträgern als bei den Nicht-Trägern assoziiert.

Mit zunehmender Anzahl des Referenzallels konnte ein signifikanter Leistungsabfall in allen Gruppen beobachtet werden (Abbildung 2).

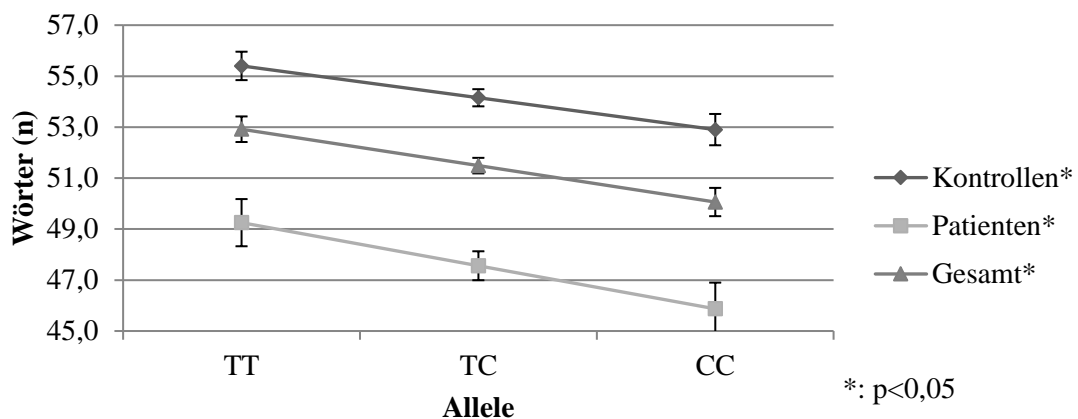


Abbildung 2 Gesamtlernleistung in Abhängigkeit vom Genotyp des SNPs rs11682175

Zudem konnte für diesen SNP ein erhöhter Wortverlust nach zeitlicher Verzögerung für die Referenzallelträger im Vergleich zu den Nicht-Trägern in der Kontrollgruppe und in der Gesamtstichprobe ermittelt werden. Die Leistungen der Patienten zeigten eine nicht signifikante Tendenz in die gleiche Richtung (Abbildung 3).

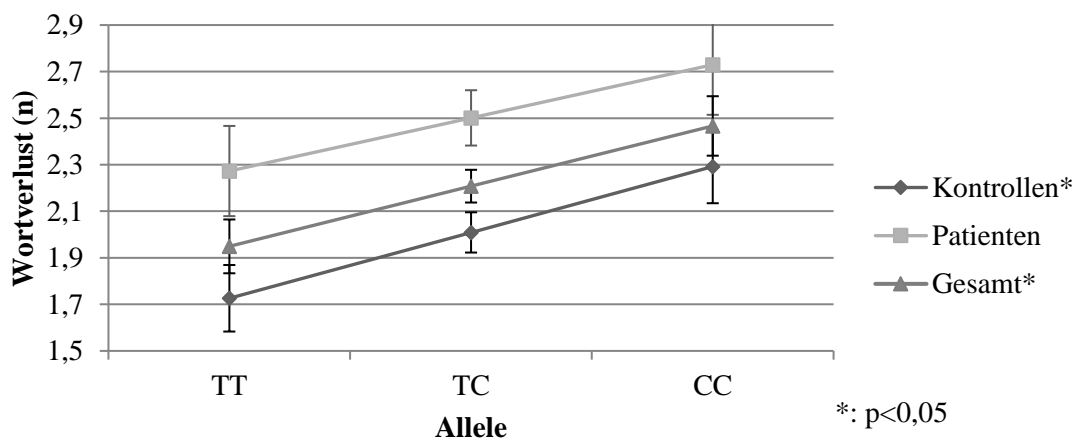


Abbildung 3 Wortverlust nach zeitlicher Verzögerung in Abhängigkeit vom Genotyp des SNPs rs11682175

Für den Polymorphismus rs4702 konnten drei signifikante Assoziationen festgestellt werden. Allerdings sind diese inkonsistent hinsichtlich ihres Effektes. In der Patientengruppe konnte eine signifikant bessere Lernleistung für die Referenzallelträger im Vergleich zu den Nicht-Trägern ermittelt werden. In der Kontrollgruppe und der Gesamtstichprobe ließ sich eine signifikante Assoziation mit einem erhöhten Wortverlust nach Interferenz für die Referenzallelträger feststellen.

Für die Polymorphismen rs12532143[C] und rs11687313[A] konnten jeweils zwei signifikante Assoziationen, sowie zwei Trends bzw. ein Trend festgestellt werden.

Für beide SNPs ließ sich eine signifikante Assoziation mit schlechteren Gesamtlernleistungen bei den Referenzallelträgern im Vergleich zu den Nicht-Trägern ermitteln. Der Verlust nach zeitlicher Verzögerung war bei den Referenzallelträgern beider SNPs im Vergleich zu den Nicht-Trägern erhöht. Für den SNP rs12532143 ließ sich eine signifikante Assoziation in der Kontrollgruppe und ein Trend in der Gesamtstichprobe ermitteln. Für den SNP rs11687313 war die Signifikanz in der Gesamtstichprobe, der Trend in der Kontrollgruppe festzustellen.

Die Polymorphismen rs11717383[G] und rs6550435[G] zeigten die signifikanten Assoziationen in der Kontrollgruppe; zum einen für die Gesamtlernleistung (rs11717383), zum anderen für den Verlust nach zeitlicher Verzögerung (rs6550435).

Für die weiteren SNPs ließen sich die signifikanten Assoziationen lediglich in der Patientengruppe, vorwiegend für den Phänotyp „Verlust nach Interferenz“ feststellen.

5 Diskussion

5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Zwei SNPs, rs11682175 und rs4702, zeigten sowohl in der Fall-Kontrollstudie, als auch in der Endophänotypenstudie eine signifikante Assoziation.

5.1.1 Fall-Kontrollstudie

Die für das Referenzallel homo- oder heterozygoten Genotypen der Polymorphismen rs11682175[C], rs704367[A], rs4702[G], rs4788190[G] und rs17512480[A] sind positiv mit der Schizophrenie assoziiert. In der Patientengruppe kamen diese Genotypen signifikant häufiger vor als in der Kontrollgruppe.

Bei den Polymorphismen rs1233578[G], rs12704290[A], rs11223651[T], rs55661361[A], rs11874716[G] hingegen sind die für das Referenzallel homo- oder heterozygoten Genotypen negativ mit der Schizophrenie assoziiert. Diese Genotypen kamen signifikant seltener in der Patientengruppe vor als in der Kontrollgruppe, was die Schlussfolgerung zulässt, dass in diesem Fall das Referenzallel einen protektiven Effekt haben könnte.

Von den oben genannten SNPs lagen fünf im Intron eines Gens. Für vier dieser Gene (FURIN, TCF4, GRM3, NRG1) ist bereits eine Assoziation mit der Schizophrenie vorbeschrieben (z.B. Stefansson et al., 2009; Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014).

5.1.2 Endophänotypenstudie

Das jeweilige Referenzallel der Polymorphismen rs11682175[C], rs12532143[C], rs11687313[A], rs6550435[G] und rs12887734[T] ist ausschließlich mit schlechteren Testleistungen assoziiert.

Das jeweilige Referenzallel der Polymorphismen rs11717383[G], rs10764493[G], rs5995756[T], rs72930787[T] und rs6704768[G] ist ausschließlich mit besseren Testleistungen assoziiert.

Für den Polymorphismus rs4702[G] war das Referenzallel sowohl mit schlechteren Leistungen in der Kontrollgruppe und der Gesamtstichprobe, als auch mit besseren Leistungen in der Patientengruppe assoziiert.

Von diesen SNPs lagen acht im Intron eines Gens. Für vier dieser Gene (FURIN, CACNB2, CACNA1I, TCF4) ist ein möglicher Einfluss auf Gedächtnisprozesse, zum Teil über

Mediatoren vermittelt, bekannt (Pragnell et al., 1994; Seidah et al., 1996; Moosmang et al., 2005; Lennertz et al., 2011; Miranda et al., 2011; Nurjono et al., 2012).

5.2 Diskussion der Ergebnisse

Sowohl in der Fall-Kontroll-Studie, als auch in der Endophänotypenstudie wurden zum Teil heterogene Ergebnisse ermittelt. Diese sollen nun vor dem Hintergrund der bisherigen Forschungslage diskutiert und eingeordnet werden.

Da alle untersuchten Polymorphismen in nicht-codierenden Regionen eines Gens liegen und die Funktionen dieser Regionen noch unbekannt sind, ist unklar auf welche Weise diese genetischen Varianten ihre Effekte hinsichtlich Schizophrenie und Gedächtnisleistungen vermitteln. Es ist anzunehmen, dass dies nicht durch eine veränderte Proteinstruktur, sondern durch eine modifizierte Genexpression geschieht (Nicolae et al., 2010).

5.2.1 Fall-Kontrollstudie

Der SNP rs11682175[C] ist in einer nicht codierenden Region auf dem kurzen Arm des Chromosoms 2 lokalisiert.

In unserer Stichprobe zeigte sich eine signifikante positive Assoziation dieses SNPs mit der Schizophrenie. Es könnte sich um einen Risiko-SNP handeln.

So konnte ebenfalls eine positive Assoziation des rs11682175[C] mit der Schizophrenie ermittelt werden ($p=1,2*10^{-5}$), allerdings erreichte dieser SNP nicht das geforderte Signifikanzniveau von $p<1*10^{-5}$, um in die Follow-up-Analyse miteinbezogen zu werden (Stefansson et al., 2009).

Weiterhin wurde das T-Allel des rs11682175 untersucht und zeigte eine signifikante negative Assoziation, in der Replikation eine signifikante positive Assoziation mit der Schizophrenie (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014). Die negative Assoziation des T-Allels stützt unsere Schlussfolgerung, dass das C-Allel des rs11682175 mit einem erhöhten Schizophrenierisiko einhergehen könnte. Der untersuchte Marker liegt ca. 286kb vom VRK2-Gen entfernt.

Für einen weiteren Locus mit dem Index-SNP rs75575209[A], der sowohl das VRK2-Gen (Vaccinia related kinase 2), als auch das FANCL-Gen (Fanconi anemia complementation group L) umfasst, konnte ebenfalls eine signifikante negative Assoziation, in der Replikation eine signifikante positive Assoziation mit der Schizophrenie nachgewiesen werden (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014).

Für den SNP rs2312147[C] in der Nähe des VRK2-Gens konnte eine signifikante positive Assoziation mit der Schizophrenie für eine kaukasische Stichprobe belegt werden (Steinberg et al., 2011). Eine entsprechende Beobachtung konnte für eine Stichprobe europäischer Herkunft (Donnelly et al., 2012), sowie für eine Stichprobe asiatischer Herkunft (Xiao et al., 2016) gemacht werden. In einer weiteren Studie konnten sowohl für das asiatische *sample* der Stichprobe, als auch für die zusammengefassten *samples*, bestehend aus europäischen und asiatischen Stichproben, ein signifikant häufigeres Auftreten des C-Allels des SNPs rs2312147 bei Schizophreniepatienten als bei gesunden Kontrollen nachgewiesen werden (Li et al., 2012). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass es sich bei VRK2 um ein populationsübergreifendes Risikogen für die Schizophrenie handeln könnte.

Das VRK2-Gen codiert für eine Serin-Threonin-Kinase (Li et al., 2012) und scheint durch eine Beeinflussung des Axonwachstums über JIP1 (Jun NH₂-terminal kinase interacting protein 1) die Gehirnentwicklung zu beeinflussen (Blanco et al., 2008; Dajas-Bailador et al., 2008). Auch ein Einfluss auf die Signaltransduktion konnte ermittelt werden (Blanco et al., 2008).

Für gesunde Risikoallelträger des SNPs rs2312147[C] konnte eine signifikante Assoziation mit einer Verringerung des Gesamthirnvolumens und der weißen Substanz beobachtet werden (Li et al., 2012). Zudem konnten gezeigt werden, dass in der Patientengruppe der SNP rs2312147 mit einer veränderten Konnektivität der weißen Hirnsubstanz assoziiert ist (Sohn et al., 2014).

Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Konnektivität bei Schizophreniepatienten durch eine veränderte Apoptosefunktion beeinflusst wird (Glanz et al., 2006). So könnten durch eine erhöhte Vulnerabilität für Apoptosevorgänge an Synapsen Defizite in der Signalübertragung verursacht werden. Entsprechend konnte für VRK2, insbesondere für die VRK2A-Isoform ein über Mitochondrien vermittelter, anti-apoptotischer Effekt ermittelt werden (Monsalve et al., 2013). Möglicherweise bewirken die mit der Schizophrenie assoziierten SNPs dieser Genregion Veränderungen, die zu einer Aufhebung der anti-apoptotischen Funktion führen. Auf diese Weise könnte die erhöhte Apoptoseaktivität eine gestörte beziehungsweise eingeschränkte Synapsenplastizität und -konnektivität induzieren.

Zudem konnten eine erhöhte mRNA-Expression von VRK2 in der Patientengruppe ermittelt werden (Li et al., 2012). Ein erhöhter VRK2-Protein Spiegel führt zu einer erniedrigten Aktivierung von JIP1 (Blanco et al., 2008), sodass die Förderung des Axonwachstums ausbleibt. Dies könnte die beobachtete Verringerung des Hirnvolumens der Patienten erklären. Allerdings konnte eine signifikant erniedrigte mRNA-Expression von VRK2 in der Patientengruppe im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe und einer Gruppe von Patienten mit bipolarer Störung ermittelt werden (Tesli et al., 2016). Durch den erniedrigten VRK2-Spiegel

könnte der anti-apoptische Effekt verringert und die neuronale Entwicklung durch eine erhöhte Apoptoseaktivität gestört werden.

Diese Ergebnisse stützen die These einer Beteiligung neuronaler Entwicklungsstörungen in der Pathogenese der Schizophrenie.

Einen weiteren Anhaltspunkt dafür liefert eine weitere Studie, da eine signifikante Assoziation zwischen zwei SNPs (rs13026414 und rs2717068) und hereditären Epilepsien festgestellt werden konnte (EPICURE Consortium et al., 2012). Diese SNPs liegen ebenfalls benachbart zum VRK2-Gen, für den SNP rs2717068 konnte ein starkes linkage-disequilibrium (LD) mit dem SNP rs2312147 ermittelt werden.

Aus diesem Grund gehen die Autoren davon aus, dass die Schizophrenie und hereditäre Epilepsien gemeinsame genetische Risikofaktoren teilen, die Veränderungen im VRK2-Gen bedingen, die wiederum Einfluss auf die Gehirnentwicklung nehmen (EPICURE Consortium et al., 2012).

Einen weiteren Hinweis für die Beteiligung dieses Locus an der Pathogenese psychiatrisch-neurologischer Erkrankungen liefern die Ergebnisse von Smith und Kollegen (Smith et al., 2009). Die Autoren beobachteten eine Assoziation von je drei SNPs innerhalb des VRK2-Gens und des FANCL-Gens mit der bipolaren Störung. Obwohl in dieser Studie keiner der untersuchten SNPs das notwendige Signifikanzniveau erreichte, zeigten diese Polymorphismen deutliche, vorwiegend negative, aber auch positive Assoziationen mit der bipolaren Störung (Smith et al., 2009).

Eine mögliche Verwendung des VRK2-Spiegels als Biomarker für Schizophrenie wird diskutiert, da der erniedrigte Spiegel spezifisch für die Schizophrenie zu sein scheint (Tesli et al., 2016).

Auf Grund der beobachteten Assoziation mit verschiedenen psychiatrisch-neurologischen Erkrankungen sollte die Erforschung des VRK2, sowie seiner umliegenden Regionen weiter fortgeführt werden. Dabei sollte der Focus besonders auf der vermuteten Beeinflussung von Hirnfunktion und -entwicklung durch VRK2 liegen, um damit die Ätiologie dieser Erkrankungen, insbesondere die der Schizophrenie, weiter zu klären.

Es wurde ein Locus untersucht, der neben dem von Smith und Kollegen (Smith et al., 2009) beschriebenen, weitere benachbarte SNPs umfasste (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014). Darunter auch der rs11682175, für den auch wir in unserer Stichprobe eine signifikante Assoziation mit der Schizophrenie ermitteln konnten.

Allerdings deuten die Ergebnisse dieser GWAS darauf hin, dass es sich bei rs11682175 nicht um einen unabhängigen Risiko-SNP für die Schizophrenie handelt. Stattdessen konnte nachgewiesen werden, dass der SNP rs11682175 mit dem SNP rs2312147 im schwachen LD liegt, sodass es nicht möglich ist die beobachtete Assoziation auf einen konkreten SNP

zurückzuführen. Aus diesem Grund erscheint es sinnvoll durch weitere Studien zu belegen, dass es sich bei dem oben beschriebenen Locus, inklusive des VRK2 und rs11682175, um einen LD-*cluster* handelt.

Die neuronale Entwicklung kann auch über den SNP rs4702 beeinflusst werden.

Der rs4702 ist in einer nicht codierenden Region des FURIN-Gens (paired basic amino acid cleaving enzyme) lokalisiert. Diese schließt sich in Richtung 3'-Ende an eine für das Stoppcodon codierende Region an. Es handelt sich hierbei um einen 3'-untranslatierten Bereich (three prime untranslated region; 3'-UTR). Die Transkription zu mRNA findet statt, allerdings wird dieser Bereich nicht translatiert, da er nicht für Proteine codiert. Stattdessen befinden sich hier regulatorische Sequenzen, die einen Einfluss auf die Genexpression nehmen (Barrett et al., 2012).

In unserer Stichprobe zeigte sich ein signifikant häufigeres Auftreten des Referenzallels des SNPs rs4702[G] in der Patientengruppe als in der Kontrollgruppe. Es könnte sich um einen Risiko-SNP handeln.

Es konnte eine negative Assoziation des rs4702[A] mit der Schizophrenie festgestellt werden, die allerdings das Signifikanzniveau nicht erreichte (Stefansson et al., 2009). Eine signifikante negative Assoziation für das A-Allel konnte 2014 ermittelt werden (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014). Die negative Assoziation des A-Allels entspricht unserer Beobachtung einer positiven Assoziation des G-Allels mit der Schizophrenie.

Das FURIN-Gen codiert für eine membranassoziierte Protease des Golgiapparats (Bresnahan et al., 1990). Einen Angriffspunkt dieser Protease stellt Pro-BDNF (brain-derived neurotrophic factor) dar, der durch die Protease zum aktiven BDNF prozessiert wird (Seidah et al., 1996). BDNF gehört zur Familie der Nervenwachstumsfaktoren und erfüllt neben seiner Aufgabe als trophischer Faktor auch eine neuroprotektive Funktion (Ghosh et al., 1994).

Bereits in mehreren Studien konnte für BDNF eine signifikante Assoziation mit der Schizophrenie ermittelt werden (Nurjono et al., 2012). So ist davon auszugehen, dass BDNF mit dem dopaminergen, glutamatergen und serotonergen Transmittersystem interagiert (Nurjono et al., 2012) und möglicherweise dadurch zu den bei Schizophreniepatienten beobachteten Störungen der Signaltransduktion beiträgt.

Obwohl kein Unterschied im Serum-BDNF-Spiegel zwischen Patienten und Kontrollgruppe festgestellt werden konnte (Hori et al., 2016), wurde zuvor mehrfach bei schizophrenen Patienten ein im Vergleich zur Kontrollgruppe verminderter BDNF-Spiegel nachgewiesen (Rizos et al., 2011; Zhang et al., 2012), der sich auf eine verminderte Aktivierung von BDNF durch FURIN zurückführen lassen könnte.

Damit lassen diese Beobachtungen die Vermutung zu, dass unsere beobachtete Assoziation des FURIN-Gens mit der Schizophrenie durch BDNF vermittelt sein könnte.

Da BDNF als Wachstumsfaktor das Neuronenwachstum stimuliert, nimmt er Einfluss auf die synaptische Plastizität und könnte so Veränderungen von Hirnstruktur und -volumen bei Schizophreniepatienten bewirken. Diese Veränderungen könnten auf ein verringertes Neuronenwachstum, hervorgerufen durch einen herabgesetzten BDNF-Spiegel, zurückzuführen sein. Da FURIN eine entscheidende Rolle in der Prozessierung des Pro-BDNF zum aktiven BDNF spielt, könnte eine durch den SNP rs4702 ausgelöste verringerte FURIN-Aktivität die beobachtete Absenkung des BDNF-Spiegels erklären. So konnte bereits eine signifikante Assoziation zwischen dem SNP rs4702 und einer verminderten FURIN Aktivität festgestellt werden (Turpeinen et al., 2015).

Da der SNP rs4702 in 3'-UTR lokalisiert ist, könnte diese genetische Variante einen Einfluss auf die Genexpression des FURIN nehmen, indem zum Beispiel die Bindungsstellen für regulatorische Proteine oder micro-RNAs verändert werden, sodass sowohl die Translation, als auch die Modifikation des Transkriptionsproduktes beeinflusst werden. Einen Hinweis auf eine Beteiligung von micro-RNAs an der Pathogenese der Schizophrenie liefert die mehrfach beobachtete Assoziation von miR-137 mit der Schizophrenie (Ripke et al., 2011; Ripke et al., 2013).

Zudem konnte für eine genetische Variante in 3'-UTR im Nogo-Gen (Reticulon 4; RTN4) und eine daraus resultierende Überexpression der mRNA eine Assoziation mit der Schizophrenie festgestellt werden (Novak et al., 2002). Diese Beobachtung stützt unsere Vermutung, dass Polymorphismen innerhalb einer 3'-UTR, wie der rs4702, über eine Veränderung der Genexpression in der Pathogenese der Schizophrenie eine wichtige Rolle spielen könnten.

Da allerdings bisher wenig über die genaue Funktionsweise der 3'-UTR bekannt ist, sollten diese Regionen in weiteren Studien erforscht werden. Es gilt herauszufinden, ob FURIN selbst oder seine Interaktion mit BDNF die entscheidende Rolle in der Pathogenese der Schizophrenie spielt. Das Ziel weiterer Assoziationsstudien sollte daher eine Replikation des vermuteten Zusammenhangs von FURIN beziehungsweise BDNF, sowie unseres SNPs rs4702 mit der Schizophrenie sein.

Ein weiteres Gen, das eine Rolle in der Hirnentwicklung zu spielen scheint, ist TCF4, das bereits mehrfach als Risikogen für die Schizophrenie identifiziert wurde (Stefansson et al., 2009; Ripke et al., 2011; Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014).

In unserer Studie untersuchten wir drei SNPs dieses Gens. Für den SNP rs9636107[A] konnte bereits eine signifikante negative Assoziation mit der Schizophrenie nachgewiesen werden (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014). In unserer

Stichprobe erreichte dieser SNP, ebenso wie rs72930787[T], keine genomweite Signifikanz. Hingegen konnte ein Locus mit dem Index-SNP rs78322266[T] identifiziert werden, der den SNP rs72930787[T] umfasst, und eine positive Assoziation dieses Locus mit der Schizophrenie nachgewiesen werden (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014). In unserer Studie hingegen konnten wir für den SNP rs17512480[A], der im starken LD mit dem SNP rs78322266 liegt, ein signifikant häufigeres Auftreten des A-Allels in der Patientengruppe als in der Kontrollgruppe feststellen.

TCF4 reguliert die Genexpression und scheint eine wichtige Rolle in der Entwicklung des Nervensystems zu spielen (Flora et al., 2007). So wurde eine Mutation im TCF4 identifiziert, die verantwortlich für die Pathogenese des Pitt-Hopkins-Syndrom, einer neurologischen Entwicklungsstörung, zu sein scheint (Brockschmidt et al., 2007).

Auch die Schizophrenie weist Merkmale einer Entwicklungsstörung auf, die durch genetische Varianten im TCF4 verursacht werden könnten (Stefansson et al., 2009). Diese Ergebnisse stützen die These, dass TCF4 eine wichtige Rolle in der Hirnentwicklung spielt.

Eine neurophysiologische Studie mit Schizophrenie- und bipolaren Patienten konnte eine Assoziation des Risikoallels von rs17512836[G] mit Veränderungen von Amplitude und Latenz der auditorischen P300 Welle nachweisen (Hall et al., 2014). Diese Ergebnisse lassen eine Beeinflussung der Hirnfunktion, insbesondere hinsichtlich Aufmerksamkeit und Arbeitsgedächtnis, durch TCF4 Varianten vermuten (Hall et al., 2014).

Da TCF4 eine Angriffsstelle für miR-137 besitzt, könnte dessen Funktion auch durch miR-137 gestört werden und dadurch eine Dysregulation in der Gehirnentwicklung hervorrufen. So konnte in vitro eine durch miR-137 vermittelte Veränderung der Expression von TCF4 festgestellt werden (Kwon et al., 2013).

In unserer Studie konnte nur für einen der drei untersuchten SNPs des TCF4 (rs17512480) eine signifikante Assoziation mit der Schizophrenie ermittelt werden. Ursächlich dafür könnte eine zu geringe Stichprobengröße sein.

Da allerdings bereits in verschiedenen anderen Studien mehrere Polymorphismen des TCF4 eine signifikante Assoziation mit der Schizophrenie gezeigt haben (Stefansson et al., 2009; Lennertz et al., 2011; Ripke et al., 2011; Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014; Hui et al., 2015), ist davon auszugehen, dass Varianten dieses Gens möglicherweise Entwicklungsprozesse des Nervensystems beeinflussen und so eine Rolle in der Pathophysiologie der Schizophrenie spielen.

Neben den Genen, die die Hirnentwicklung zu beeinflussen scheinen, konnte festgestellt werden, dass auch Gene, die Einfluss auf calciumabhängige Signalwege nehmen, mit der Schizophrenie assoziiert sind.

Darunter auch das GRM3-Gen. Dieses ist bereits mehrfach als Risikogen identifiziert worden (Fujii et al., 2003; Harrison und Weinberger, 2005).

Wir untersuchten den SNP rs12704290[A] in einem Intron des GRM3. Für das gleiche Allel des SNPs rs12704290 konnte eine signifikante Assoziation mit der Schizophrenie nachgewiesen werden (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014). Die Ergebnisse der Replikation zeigten eine signifikante positive Assoziation, während die weiteren Ergebnisse mit den unseren, die eine negative Assoziation aufwiesen, übereinstimmten. Dementsprechend könnte dieser Polymorphismus einen protektiven Effekt ausüben.

GRM3 modifiziert durch Aktivierung der calciumabhängigen PKC die Besetzung der Synapsen mit NMDA-Rezeptoren im Präfrontalkortex und bewirkt so eine verbesserte Signalüberleitung (Tyszkiewicz et al., 2004). Diese durch Glutamat erhöhte Neurotransmission wurde in Präfrontalkortex und Hippocampus beobachtet (Harrison und Weinberger, 2005).

Es zeigte sich, dass das minore Allel des Polymorphismus rs7808623[G] im GRM3 bei Schizophreniepatienten mit einer erhöhten Integrität der weißen Hirnsubstanz in der anterioren Thalamustrahlung assoziiert ist (Mounce et al., 2014). Die Autoren schlussfolgern, dass auch eine geringere Axonanzahl oder erhöhte axonale Schädigung bei Trägern des majoren Allels ursächlich für die signifikante Assoziation sein könnte.

Darüber hinaus fanden sie Hinweise dafür, dass eine verringerte Funktionsaktivität des GRM3 eine reflektorisch gesteigerte Glutamatausschüttung bedingen und dadurch wiederum neuronale Schädigungen zur Folge haben könnte (Mounce et al., 2014).

In Folge einer Aktivierung des GRM3 könnte andererseits eine erniedrigte Glutamatausschüttung zu einer verminderten Aktivierung und Besetzung der Synapsen mit NMDA-Rezeptoren führen (Tyszkiewicz et al., 2004) und damit die bei Schizophreniepatienten beobachtete Hypofunktion dieser Rezeptoren vermitteln.

Entsprechend könnten Polymorphismen im GRM3 Veränderungen bewirken, die zu einer Modulation der Glutamatausschüttung führen, sodass der NMDA-Rezeptor keine Funktionseinschränkung erfährt. Da das Referenzallel unseres rs12704290[A] seltener bei Schizophreniepatienten auftritt als bei gesunden Kontrollen, könnte es auf diese Weise einen protektiven Effekt auf die Schizophrenievulnerabilität haben.

Ein weiteres Gen, das mit calciumabhängigen Signalwegen in Verbindung steht, ist NRG1. Wir untersuchten den SNP rs55661361 in einem Intron dieses Gens und stellten eine signifikante

negative Assoziation des Referenzallels (A) mit der Schizophrenie fest. Eine entsprechende Beobachtung konnte für diesen Polymorphismus bereits gemacht werden (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014).

Zudem wurde für einen weiteren Polymorphismus des NRGN eine signifikante Assoziation mit der Schizophrenie bei portugiesischen Männern festgestellt (Ruano et al., 2008). Für den dem NRGN benachbarten SNP rs12807809[T] konnte eine signifikante positive Assoziation ermittelt (Stefansson et al., 2009) und repliziert werden (Steinberg et al., 2011).

NRGN spielt durch Beeinflussung der Synaptogenese (Higo et al., 2006) eine Rolle in der Hirnentwicklung (Higo et al., 2006; Walton et al., 2013).

Die Stimulation des NMDA-Rezeptors durch Glutamat führt neben einem Calciumeinstrom in das Neuron zu einer Freisetzung von Calmodulin und Oxidation von NRGN (Li et al., 1999). Der Oxidationszustand von NRGN ist wiederum entscheidend für nachgeschaltete calciumabhängige Signalkaskaden (Li et al., 1999).

Eine NRGN-Dysfunktion hingegen könnte ein Ungleichgewicht von Glutamatkanälen nach sich ziehen (Walton et al., 2013).

Entsprechend könnte neben GRM3 auch NRGN die Effekte der bei Schizophreniepatienten beobachteten Hypofunktion des NMDA-Rezeptors vermitteln (Stefansson et al., 2009).

Für Träger des Nicht-Risikoallels des rs12807809 im NRGN konnte im Vergleich zu den homozygoten Referenzallelträgern eine Assoziation mit verringertem Hirnvolumen in okzipitalen Hirnregionen und im Cingulum festgestellt werden (Walton et al., 2013).

Zudem konnten die Autoren bei homozygoten Risikoallelträgern des rs12541[T] eine erhöhte Aktivierung des dorsolateralen Präfrontalkortex beobachten, wenn auch andere Studien heterogene Ergebnisse erbrachten. Eine erhöhte Aktivierung des Präfrontalkortex könnte den Versuch darstellen, eine Ineffektivität des Frontalkortex (Keshavan et al., 2008) oder eine fehlende Rekrutierung des Hippocampus (Heckers et al., 1998) zu kompensieren.

So wurde geschlussfolgert, dass die beschriebenen Veränderungen eine Rolle in der Pathogenese der Schizophrenie spielen könnten (Walton et al., 2013), obwohl diese Beobachtungen nicht ausschließlich bei Schizophreniepatienten, sondern auch bei gesunden Risikoallelträgern gemacht wurden.

So deutet die aktuelle Forschungslage darauf hin, dass NRGN durch Beeinflussung der Hirnentwicklung zerebrale Strukturveränderungen bewirken könnte und so eine wichtige Rolle in der Pathogenese der Schizophrenie spielt.

Möglicherweise könnte das Referenzallel des rs55661361[A] auf Grund seiner ermittelten negativen Assoziation eine protektive Wirkung auf die Schizophrenievulnerabilität haben, indem der Polymorphismus Veränderungen bewirkt, die die Genfunktion des NRGN erhalten.

So könnte eine erhöhte Resistenz des NRGN gegen eine veränderte Funktion des NMDA-Rezeptors positive Auswirkungen auf das Erkrankungsrisiko haben.

Ebenso zeigten Polymorphismen in CACNA1C und CACNB2, die für verschiedene Untereinheiten (α_{1C} , β_2) von spannungsabhängigen L-Typ Calciumkanälen codieren, bereits in mehreren Studien signifikante Assoziationen mit der Schizophrenie (Ripke et al., 2013; Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014). Auch für die α_{1I} -Untereinheit eines T-Typ Calciumkanals (CACN1I), konnte eine signifikante Assoziation mit der Schizophrenie nachgewiesen werden (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014).

In unserer Studie konnten wir für keinen der drei untersuchten intronischen SNPs dieser Gene eine signifikante Assoziation ermitteln.

So konnte der SNP rs2799573 des CACNB2 unter anderem als Risiko-SNP für die Schizophrenie identifiziert werden (Smoller et al., 2013). Für den SNP rs17691888 konnte eine signifikante negative Assoziation mit der Schizophrenie festgestellt werden (Ripke et al., 2013). Für einen Locus des CACNB2 mit dem Index-SNP rs7893279[T], der auch unseren rs10764493[G] umfasst, wurde eine signifikante positive Assoziation mit der Schizophrenie ermittelt (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014), während wir einen Trend für eine negative Assoziation feststellen konnten ($p=0,062$).

Eine signifikante positive Assoziation mit der Schizophrenie für CACNA1C konnte anhand des rs1006737 nachgewiesen werden (Green et al., 2010), die anhand des rs4765905 bestätigt werden konnte (Hamshere et al., 2013).

Dieser Nachweis gelang ebenfalls für das CACN1I-Gen. Der betrachtete Locus, der auch unseren SNP rs5995756[T] umfasst, zeigte eine negative Assoziation mit der Schizophrenie (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014).

Die beschriebenen Assoziationen weisen zwar auf eine Beteiligung dieser Gene in der Pathogenese der Schizophrenie hin, scheinen aber nicht spezifisch für die Schizophrenie zu sein, da ebenfalls Assoziationen mit anderen psychiatrischen Erkrankungen, wie der bipolaren Störung, beobachtet werden konnten (Hamshere et al., 2013; Smoller et al., 2013).

5.2.2 Endophänotypenstudie

Der Polymorphismus rs11682175 zeigte fünf signifikante Assoziationen im VLMT. Dabei war der SNP mit ausschließlich schlechteren VLMT-Leistungen assoziiert.

Es ließ sich für die Referenzallelträger des rs11682175[C] sowohl in der Patientengruppe, als auch in der Kontrollgruppe, sowie in der Gesamtstichprobe eine signifikante Assoziation mit schlechteren Gesamtlernleistungen im Vergleich zu den Nicht-Trägern ermitteln.

Die Leistungen fallen gruppenunabhängig bei den homozygoten Referenzallelträgern (CC) am schlechtesten aus, bei den heterozygoten (CT) liegen sie im Mittelmaß, während die Probanden, die das Referenzallel nicht aufweisen (TT), die besten Leistungen erbringen.

Da zusätzlich zu den Patienten auch die Kontrollen eine Assoziation von Lerndefiziten mit dem Referenzallel zeigten, ist davon auszugehen, dass dieser SNP unabhängig von der Schizophrenie einen negativen Einfluss auf die Lernleistung nimmt.

Ein ähnlicher Zusammenhang ließ sich für den Wortverlust nach zeitlicher Verzögerung beobachten: Das Referenzallel des SNPs rs11682175 ist mit einem erhöhten Wortverlust, also schlechteren Leistungen, in der Kontrollgruppe und in der Gesamtstichprobe assoziiert. Auch hier geht der CC-Genotyp mit schlechteren Leistungen einher als der CT- und der TT-Genotyp. Für die Patientengruppe ließ sich keine signifikante Assoziation ermitteln ($p=0,172$), was womöglich auf eine zu geringe Stichprobengröße zurückzuführen ist.

Die Beobachtungen, dass die Testergebnisse mit zunehmender Dosis des Referenzallels schlechter werden, lassen auf einen Allel-Dosiseffekt des rs11682175 schließen.

In der Literatur ist für diesen SNP bisher keine Assoziation mit Kognition oder verbalen Gedächtnisleistungen vorbeschrieben.

Allerdings könnten die beobachteten kognitiven Defizite auf Veränderungen des VRK2-Gens, dessen Marker wahrscheinlich im LD mit dem SNP rs11682175 liegen, zurückzuführen sein.

Da VRK2 in das Axonwachstum involviert ist und damit Einfluss auf die Signaltransduktion nimmt (Blanco et al., 2008), ist eine Beteiligung an Gedächtnisprozessen naheliegend.

So konnte eine Assoziation des mit der Schizophrenie assoziierten SNPs rs2312147[C] in der Nähe des VRK2-Gens mit dem Hirnvolumen der Probanden ermittelt werden (Li et al., 2012). Dabei zeigte sich in der gesunden Kontrollgruppe eine signifikante Assoziation des Referenzallels mit verringertem Gesamthirnvolumen und einer Reduktion des weißen Hirnvolumens. Für die graue Hirnsubstanz konnte nur eine sehr geringe Signifikanz ermittelt werden (Li et al., 2012).

Diese Beobachtung lässt darauf schließen, dass Risiko-SNPs für Schizophrenie auch bei gesunden Probanden Veränderungen der weißen Hirnsubstanz hervorrufen können. Da ein Zusammenhang zwischen Veränderungen der weißen Substanz und Gedächtnisdefiziten vermutet wird (Kubicki et al., 2007), könnten Gedächtnisstörungen auf Hirnveränderungen, die durch Schizophrenie-assoziierte SNPs bedingt werden, zurückzuführen sein. Entsprechend könnte das in unserer Studie beobachtete schlechte Abschneiden der Kontrollprobanden in der Kategorie Gesamtlernleistung im VLMT zu erklären sein.

Die Gesamtlernleistung als Indikator für das Arbeitsgedächtnis gibt Aufschluss über kortikale Funktionsstörungen (Helmstaedter, 2007), denen Veränderungen der grauen Hirnsubstanz zu Grunde liegen.

Allerdings konnte bisher keine deutliche signifikante Assoziation des VPK2 beziehungsweise des SNPs rs11682175 mit Veränderungen der grauen Substanz nachgewiesen werden.

Womöglich könnte VPK2 Veränderungen der Signaltransduktion hervorrufen und dadurch die Verarbeitung von Informationen im Arbeitsgedächtnis erschweren, sodass die Lernleistung negativ beeinflusst wird.

Da eine starke gruppenübergreifende Assoziation des SNPs rs11682175 mit der Gesamtlernleistung beobachtet werden konnte, ist ein Einfluss dieser Genregion auf das verbale Gedächtnis, unabhängig von der Schizophrenie, sehr wahrscheinlich.

Es konnte festgestellt werden, dass der SNP rs2312147 Einfluss auf die Konnektivität der weißen Hirnsubstanz bei Schizophreniepatienten nimmt (Sohn et al., 2014). Die homozygoten Referenzallelträger (CC) zeigten im Vergleich zum TC- und TT-Genotyp erhöhte FA-Werte (Fraktionaler Anisotropie-Wert), die auf eine intakte Konnektivität der weißen Hirnsubstanz hinweisen. Für die heterozygoten Referenzallelträger und die homozygoten Nicht-Träger konnten hingegen verringerte FA-Werte ermittelt werden, die auf eine eingeschränkte Konnektivität der weißen Hirnsubstanz hinweisen und positiv mit Leistungen im Digit Symbol Test (DST) korreliert waren. Betroffene Hirnregionen waren unter anderem der Temporal- und Frontallappen, sowie das Cingulum. Es konnte allerdings kein signifikanter Unterschied in der Konnektivität der weißen Hirnsubstanz zwischen Patienten und Kontrollen ermittelt werden (Sohn et al., 2014).

Die veränderte Konnektivität zwischen Temporal- und Frontallappen, wie auch die Reduktion der weißen Hirnsubstanz (Li et al., 2012), hervorgerufen durch rs2312147, könnten ursächlich für die von Sohn und Kollegen (Sohn et al., 2014) beobachteten kognitiven Defizite sein. Entsprechende Veränderungen der Hirnstruktur könnten auch durch den SNP rs11682175 bewirkt werden und eine mögliche Erklärung für den von uns beobachteten erhöhten Wortverlust nach zeitlicher Verzögerung im VLMT in der Kontrollgruppe und in der Gesamtstichprobe darstellen. Auch der bei den homozygoten Referenzallelträgern des rs2312147[C] in der Patientengruppe beobachtete Erhalt der Konnektivität (Sohn et al., 2014) könnte auf rs11682175 übertragbar sein und der Grund dafür sein, dass die Patienten keinen signifikant erhöhten Wortverlust im VLMT aufwiesen. Da dieser Testphänotyp die Fähigkeit der Konsolidierung ins Langzeitgedächtnis überprüft und mit temporalen Veränderungen assoziiert ist (Helmstaedter, 2007), ist davon auszugehen, dass die beobachteten Veränderungen der Konnektivität im Temporalappen zu Konsolidierungsstörungen führen können.

Möglicherweise wären Sohn und Kollegen (Sohn et al., 2014) bei Betrachtung der homozygoten Nicht-Referenzallelträger (TT) versus der homo- und heterozygoten Referenzallelträger, wie sie von Li und Kollegen vorgenommen wurde (Li et al., 2012), zu anderen Ergebnissen gekommen, die die Vermutung einer Verringerung der Konnektivität in der Patientengruppe gestützt hätten.

Zudem wurde ein Mikrodeletionssyndrom in einem 4,5mb großen Bereich auf 2p15-2p16.1, der auch rs11682175 und das VRK2-Gen umfasst, beschrieben. Die beiden untersuchten Patienten wiesen neben weiteren Auffälligkeiten eine neuronale Entwicklungsverzögerung mit autistischen Merkmalen und geistiger Behinderung, sowie kortikale Hirnveränderungen auf (Rajcan-Separovic et al., 2007).

Diese Beobachtung stützt die Vermutung, dass die beschriebene Genregion eine wichtige Rolle in kognitiven Prozessen spielt und legt eine genetische Beteiligung an diesen Vorgängen nahe.

Die diskutierten Ergebnisse sind jedoch kritisch zu hinterfragen, da sich diese nicht auf den von uns untersuchten rs11682175 beziehen. Es ist ein LD dieser Genregion mit anderen Markern, unter anderem rs2312147, beschrieben, sodass eine eindeutige Zuordnung einzelner SNPs zu bestimmten Effekten nicht möglich ist.

Zusammenfassend lässt sich schlussfolgern, dass die Genregion 2p16, in der sowohl rs11682175, als auch VRK2 lokalisiert sind, eine wichtige Rolle in der Hirnentwicklung spielt und SNPs nahe des VRK2-Gens entwicklungsbedingte Veränderungen im Gehirn bewirken, die kognitive Prozesse beeinflussen könnten.

Unklar bleibt jedoch, ob rs11682175 oder andere im LD liegende SNPs für die Assoziation mit den Gedächtnisleistungen verantwortlich sind. Möglicherweise geht unsere beobachtete Assoziation des rs11682175 auf rs2312147 oder andere SNPs des VRK2-Gens zurück.

Allerdings könnte unser SNP einen unabhängigen Risiko-SNP für verbale Gedächtnisdefizite darstellen, da er eine deutliche gruppen- und phänotypübergreifende Assoziation mit schlechteren Testleistungen im VLMT zeigte. Aus diesem Grund sollte die Assoziation des rs11682175 mit den Testleistungen im VLMT mittels Replikation überprüft werden, um die tatsächliche Bedeutung dieses SNPs für die Hirnentwicklung und das verbale Gedächtnis zu ermitteln.

Der Polymorphismus rs4702 innerhalb von 3'-UTR des FURIN-Gens zeigte drei signifikante Assoziationen im VLMT. Für die Patientengruppe konnte eine signifikante Assoziation des Referenzallels mit besseren Gesamtlernleistungen im Vergleich zum Nicht-Referenzallel ermittelt werden. Ein erhöhter Wortverlust nach Interferenz, also eine schlechtere Gedächtnisleistung, war mit dem Referenzallel in der Kontrollgruppe und in der Gesamtstichprobe assoziiert.

Für FURIN ist bisher keine Assoziation mit kognitiven Leistungen beschrieben worden. Allerdings konnte eine Assoziation von Gedächtnisleistungen mit BDNF, einem von der FURIN-Protease aktivierten Nervenwachstumsfaktor, ermittelt werden (Nurjono et al., 2012).

Da BDNF das Neuronenwachstum beeinflusst, könnte aus einer verminderten Aktivität eine Hirnvolumenverringering resultieren, die wiederum zu kognitiven Defiziten führen könnte.

Bei Schizophreniepatienten konnte ein verminderter BDNF-Spiegel beobachtet werden (Rizos et al., 2011; Zhang et al., 2012). Zudem konnte eine signifikante positive Assoziation zwischen BDNF-Spiegel und Hippocampusvolumen, sowohl bei Patienten, als auch bei gesunden Kontrollen ermittelt werden (Rizos et al., 2011).

Es zeigte sich in einer chinesischen Stichprobe für die Patientengruppe eine signifikante positive Assoziation zwischen BDNF-Spiegel und kognitiven Leistungen (Lernen einer Wortliste) (Zhang et al., 2012). Auch eine signifikante positive Assoziation zwischen BDNF-Spiegel und verbalen Gedächtnisleistungen konnte nachgewiesen werden (Hori et al., 2016).

Allerdings konnte keine Assoziation zwischen kognitiven Fähigkeiten und BDNF-Spiegel in der Patientengruppe ermittelt werden, die Kontrollen jedoch zeigten eine signifikante negative Assoziation zwischen BDNF-Spiegel und Leistungen des verbalen Arbeitsgedächtnisses (Niitsu et al., 2011).

Ein verringerter BDNF-Spiegel könnte neben der veränderten Prozessierung und Aktivierung durch die Protease FURIN auch durch eine veränderte Transkription des BDNF-Gens verursacht werden.

Die Transkription von BDNF kann durch einen Calciumeinstrom in die Zelle durch L-Typ-Calciumkanäle, zum Beispiel CACNA1C, sowie weitere nachgeschaltete calciumabhängige Signalkaskaden aktiviert werden (Ghosh et al., 1994).

Sowohl für BDNF, als auch für CACNA1C konnte eine Beteiligung an der LTP im Hippocampus nachgewiesen werden (Korte et al., 1995; Moosmang et al., 2005).

Es konnte anhand eines Mausmodells gezeigt werden, dass BDNF eine essentielle Rolle in der LTP im Hippocampus spielt und auf diese Art Gedächtnisprozesse beeinflusst. Mäuse mit einem *knockout* dieses Gens zeigten eine schlechtere LTP (Korte et al., 1995).

Da die LTP einen entscheidenden Prozess für die Konsolidierung von Informationen darstellt, könnten LTP-Defizite zu Konsolidierungsdefiziten führen, die sich mittels VLMT überprüfen lassen. In unserer Stichprobe konnte ein erhöhter Wortverlust nach Interferenz, der als Indikator für Konsolidierungsstörungen gilt, für die Referenzallelträger des rs4702[G] in der Kontrollgruppe und der Gesamtstichprobe ermittelt werden.

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass der rs4702 über seine Interaktion mit BDNF zu Störungen der LTP im Hippocampus führen und dadurch das schlechte Abschneiden der Probanden erklären könnte. Allerdings konnten wir diese Beobachtung, wider Erwarten, für die Patientengruppe nicht machen ($p=0,648$), was auf eine zu geringe Stichprobengröße oder auf von der Schizophrenie unabhängige kognitive Defizite zurückzuführen sein könnte. Für die Patientengruppe hingegen konnte eine signifikante Assoziation mit einer verbesserten

Lernleistung, einem Indikator für das Arbeitsgedächtnis, ermittelt werden. So könnte das Referenzallel des rs4702[G] einen protektiven Einfluss auf die kognitiven Leistungen der Patienten, vermittelt über BDNF, nehmen.

Unsere Ergebnisse decken sich mit den zum Teil widersprüchlichen Beobachtungen von Zhang und Kollegen, sowie von Niitsu und Kollegen (Niitsu et al., 2011; Zhang et al., 2012). So liegt die Vermutung nahe, dass eine defekte Prozessierung des pro-BDNF zum BDNF durch FURIN bei Risikoallelträgern des rs4702[G] kognitive Defizite bedingt. Ein entsprechender Zusammenhang zwischen FURIN und BDNF wurde bereits beschrieben (Niitsu et al., 2011).

Unter der Annahme, dass dieser Mechanismus einen verringerten BDNF-Spiegel bewirkt, konnten wir, im Gegensatz zu Zhang und Kollegen (Zhang et al., 2012), eine negative Assoziation zwischen BDNF-Spiegel und Arbeitsgedächtnisleistungen in der Patientengruppe feststellen.

Eine mögliche Erklärung für die heterogenen Ergebnisse könnte ein umgekehrt U-förmiger Zusammenhang zwischen BDNF-Spiegel und Gedächtnisleistungen sein. Eine entsprechende Hypothese ist bereits für TCF4 aufgestellt worden (Zhu et al., 2013), die analog für den BDNF-Spiegel formulierbar wäre.

So könnte sowohl ein verringerter, als auch ein erhöhter BDNF-Spiegel zu kognitiven Beeinträchtigungen führen. Das Risikoallel des rs4702[G] könnte die BDNF-Expression dahingehend beeinflussen, dass der BDNF-Spiegel der Patienten auf ein normales Niveau angehoben wird und daraus verbesserte Testleistungen resultieren. Andererseits könnte in der Kontrollgruppe eine überschießende BDNF-Expression stattfinden, die wiederum kognitive Defizite zur Folge hat.

Allerdings muss jedoch beachtet werden, dass wir durch den rs4702 nur indirekt BDNF-Spiegel und -funktion überprüfen können. Daher scheint eine weitere Überprüfung von rs4702 und BDNF angezeigt.

Zudem könnte das FURIN-Gen auch BDNF-unabhängige Signalwege beeinflussen, die ebenfalls einen Einfluss auf Schizophrenie-assoziierte Gedächtnisdefizite nehmen.

Eine Möglichkeit stellt der Pro-Nervenwachstumsfaktor (NGF) dar (Bresnahan et al., 1990), der nach Abspaltung einer spezifischen Peptidsequenz durch FURIN zum aktiven Nervenwachstumsfaktor prozessiert wird (NCBI, 2015).

Anhand eines Mausmodells konnte gezeigt werden, dass Mäuse, die eine gegenüber FURIN resistente Variante des Pro-NGF exprimieren, Lern- und Gedächtnisdefizite aufweisen (Tiveron et al., 2013). Dies lässt darauf schließen, dass ein verändertes FURIN auf den intakten Pro-NGF, welcher Neuronenwachstum und -differenzierung reguliert (NCBI, 2015), eine ähnliche Wirkung haben könnte.

In diesem Zusammenhang ist das Synapsennetzwerk des Hippocampus untersucht und die LTP überprüft worden, jedoch konnten keine signifikanten Veränderungen festgestellt werden (Tiveron et al., 2013).

Allerdings muss beachtet werden, dass einige der Beobachtungen bisher nur an Mäusen gemacht wurden und deren Übertragbarkeit auf den Menschen in weiteren Studien überprüft werden muss.

Anhand der Forschungslage lässt sich vermuten, dass die Gedächtnisleistungen durch eine veränderte Prozessierung des pro-BDNF (Nurjono et al., 2012) oder des Pro-NGF beeinflusst werden, die wiederum auf ein verändertes FURIN-Gen zurückzuführen sein könnten. Die Veränderungen der Funktion des FURIN-Gens könnten zum einen durch eine Beeinflussung der Gentranskription ausgelöst werden. Zum anderen ist eine Beeinflussung der Genexpression naheliegend, da unser Polymorphismus in 3'-UTR lokalisiert ist. So gibt es Hinweise darauf, dass eine veränderte FURIN-Expression zu neuroanatomischen Auffälligkeiten in verschiedenen Hirnregionen führen kann (Fromer et al., 2016). Für eine genetische Variante innerhalb 3'-UTR des DAT (Dopamintransporter)-Gens konnte eine Assoziation mit Hirnstrukturveränderungen und kognitiven Defiziten schizophrener Patienten ermittelt werden (Prata et al., 2009).

Diese Ergebnisse untermauern die Vermutung, dass genetische Varianten innerhalb von 3'-UTR einen Einfluss auf kognitive Prozesse nehmen könnten.

Aus diesem Grund sollte die Funktion von 3'-UTR hinsichtlich Gedächtnisfunktion, insbesondere im FURIN-Gen, weiter überprüft werden.

Etwa 1,1kb genaufwärts von unserem SNP rs4702 liegt das FES-Gen. Möglicherweise könnte der SNP auch mit Markern des Gens im LD liegen und auf diese Art seine Effekte vermitteln. Da jedoch für dieses Gen weder eine Assoziation mit der Schizophrenie, noch mit kognitiven Funktionen nachgewiesen wurde, ist diese Vermutung eher unwahrscheinlich.

Für SNPs in Genen, die für mitochondriale Proteine codieren, IMMP2L und APOPT1, konnten signifikante Assoziationen mit VLMT-Leistungen ermittelt werden.

So zeigte der Polymorphismus rs12532143[C] innerhalb des IMMP2L-Gens zwei signifikante Assoziationen. Für die Referenzallelträger in der Gesamtstichprobe konnte eine signifikante Assoziation mit schlechteren Gesamtlernleistungen, in der Patientengruppe ein entsprechender Trend ($p=0,083$) ermittelt werden. Der Wortverlust nach Interferenz war für die Referenzallelträger in der Kontrollgruppe signifikant höher, in der Gesamtstichprobe konnte ein entsprechender Trend ($p=0,061$) festgestellt werden.

Da signifikant verschlechterte Testleistungen der Referenzallelträger in der Gesamtstichprobe und in der Kontrollgruppe ermittelt wurden, ist davon auszugehen, dass das Referenzallel des rs12532143[C] unabhängig von der Schizophrenie einen Einfluss auf kognitive Fähigkeiten nehmen könnte.

Neben einer Assoziation mit der Schizophrenie konnte IMMP2L bisher als Risikogen für das Tourette-Syndrom (Petek et al., 2001) und Risiko-SNPs dieses Gens für Autismus (Maestrini et al., 2010) identifiziert werden. Diese neuropsychiatrischen Entwicklungsstörungen können mit Störungen der Informationsverarbeitung einhergehen. Möglicherweise liegen diesen Störungen und den von uns beobachteten Defiziten im VLMT ähnliche Ursachen zu Grunde.

Für den Polymorphismus rs12887734 in APOPT1 konnte eine signifikante Assoziation mit einem erhöhten Wortverlust nach Interferenz in der Patientengruppe festgestellt werden.

Mutationen im APOPT1-Gen sind mit kavitationenbildender Leukenzephalopathie assoziiert (Melchionda et al., 2014). Die Leukenzephalopathie kann, ebenso wie die Schizophrenie (Aleman et al., 1999), mit kognitiven Defiziten unterschiedlich starker Ausprägung einhergehen (Melchionda et al., 2014).

In diesem Zusammenhang konnten durch MRI-Untersuchungen Veränderungen der weißen Hirnsubstanz (zahlreiche Zystenbildungen) im Corpus callosum und den posterioren Anteilen der Hemisphären, sowie im Temporal- und Frontallappen beobachtet werden. Diese Ergebnisse deuten auf eine Beeinflussung zerebraler Prozesse durch das APOPT1-Gen hin. Möglicherweise bewirken mit der Schizophrenie assoziierte Polymorphismen im APOPT1-Gen Veränderungen, die zu einer erhöhten Apoptoseaktivität und dadurch zu einer Hirnvolumenreduktion führen. So könnte eine veränderte Apoptosefunktion die Synapsenkonnektivität beeinflussen und dadurch Defizite in der Signalübertragung verursachen (Glantz et al., 2006). Entsprechend könnte eine defizitäre Signalübertragung zu Gedächtnisdefiziten führen.

Bei Schizophreniepatienten konnten bereits Hinweise für eine mitochondriale Dysfunktion und daraus resultierenden erhöhten oxidativen Stress im Präfrontalkortex ermittelt werden (Prabakaran et al., 2004). Diese Beobachtungen könnten auf einem veränderten Energiemetabolismus im Sinne einer beeinträchtigten Mikrozirkulation oder eines beeinträchtigten Glucose-/Sauerstoffgebrauches beruhen, der eine Reduktion der weißen Hirnsubstanz im Präfrontalkortex der Patienten nach sich zieht (Prabakaran et al., 2004).

Der Präfrontalkortex ist entscheidend für ein funktionierendes Arbeitsgedächtnis, dessen Funktion durch den Phänotyp „Gesamtlernleistung“ im VLMT überprüft werden kann. Das schlechte Abschneiden der Referenzallelträger des SNPs rs12532143[C] in dieser Kategorie könnte also auf die oben beschriebenen mitochondrialen Veränderungen und deren Auswirkungen zurückzuführen sein.

Veränderungen im präfrontalen Kortex können auch einen Einfluss auf die Abrufleistungen episodischer Informationen nehmen (Fletcher et al., 1998), sodass auch der erhöhte Wortverlust

nach zeitlicher Verzögerung, der mit beiden SNPs assoziiert ist, durch entsprechende Veränderungen begründet sein könnte.

Das Schizophrenie-Risikoallel des SNPs rs12532143[C] könnte auch bei gesunden Probanden ähnliche Struktur- und Volumenveränderungen verursachen, wie sie bei Schizophreniepatienten nachgewiesen werden konnten. Entsprechend könnte das Referenzallel unabhängig von der Schizophrenie mitochondriale Veränderungen mit Auswirkungen auf die Hirnfunktion verursachen, die wiederum zu kognitiven Defiziten führen können. So ist davon auszugehen, dass Schizophrenie und Gedächtnisstörungen eine gemeinsame genetische und funktionelle Basis teilen.

Für zwei der drei untersuchten Calciumkanaluntereinheiten konnten wir eine signifikante Assoziation mit Leistungen im VLMT ermitteln.

Das Risikoallel des SNPs rs10764493[G] des CACNB2-Gen war in unserer Stichprobe mit signifikant besseren Testleistungen im Vergleich zu den Nicht-Trägern für den Phänotyp „Verlust nach Interferenz“ in der Patientengruppe assoziiert, für die Gesamtstichprobe konnte ein Trend ($p=0,053$) hin zu besseren Leistungen beobachtet werden.

Auch das Risikoallel des SNPs rs5995756[T] des CACNA1I-Gen war im Vergleich zu den Nicht-Trägern mit signifikant besseren Testleistungen (geringerer Wortverlust nach Interferenz) in der Patientengruppe assoziiert.

Für einen dem rs10764493 des CACNB2 benachbarten SNP (rs2799573) konnte eine Assoziation mit Entwicklungsstörungen, die mit variablen kognitiven Defiziten einhergehen können, wie Autismus, ADHS, sowie Lernbehinderung festgestellt werden (Kim und State, 2014).

CACNB2 codiert für eine Calciumkanaluntereinheit, die eine Rolle in der Synapsenorganisation und -funktion der Verknüpfung des Hippocampus mit dem präfrontalen Kortex spielt (Dixson et al., 2014).

Diese Calciumkanaluntereinheit interagiert unter anderem mit CACNA1C, für den wir keine signifikante Assoziation ermitteln konnten, und beeinflusst dessen Funktion (Pragnell et al., 1994).

Im Mausmodell konnte eine Assoziation zwischen CACNA1C und der Plastizität im Hippocampus, verbunden mit Gedächtnisdefiziten, festgestellt und gestörte Lern- und Gedächtnisprozesse auf Veränderungen der α_{1C} -Untereinheit des Calciumkanals im Bereich des Hippocampus und des Neokortex zurückgeführt werden (Moosmang et al., 2005). Weiterhin konnten die Autoren feststellen, dass Veränderungen des CACNA1C Einfluss auf die vom NMDA-Rezeptor unabhängige Plastizität und die LTP im Hippocampus nehmen können.

Zudem wurde der Risiko-SNP rs1006737[A] in einer Stichprobe bestehend aus gesunden Probanden sowohl auf eine Assoziation mit Leistungen im VLMT, als auch auf eine

Assoziation mit der weißen Hirnsubstanz des Hippocampus untersucht (Dietsche et al., 2014). Die Risikoallelträger zeigten eine schlechtere Lernkurve. Zudem konnte mittels DTI ein Bereich im rechten Hippocampus ermittelt werden, der bei den Referenzallelträgern geringere FA-Werte aufwies, was auf eine Funktionsstörung der Projektionsfasern hinweist. Diese Werte waren mit den anfänglichen Leistungen in der Lernkurve assoziiert. Die Autoren schlussfolgern, dass eine veränderte CACNA1C-Funktion Veränderungen in der weißen Hirnsubstanz des Hippocampus herbeiführen und auf diese Art die Lernleistungen beeinflussen kann (Dietsche et al., 2014).

Andere Forschungsgruppen konnten für den SNP rs10063737[A] eine veränderte Hippocampusaktivität bei den Risikoallel-Trägern ermitteln. Auf der einen Seite konnte eine erhöhte Hippocampusaktivität für homozygote Risikoallelträger während der *Encodierung* von emotionalen Bildern beobachtet werden (Bigos et al., 2010). Auf der anderen Seite konnte eine verringerte Hippocampusaktivität bei Risikoallelträgern während des Abrufs im Rahmen einer visuellen Testaufgabe ermittelt werden (Erk et al., 2010). Zudem zeigte sich eine verringerte funktionelle Verknüpfung zwischen linkem und rechtem Hippocampus der Risikoallel-Träger.

Da CACNB2 mit CACNA1C interagiert, könnten die verbesserten Testleistungen für die Referenzallelträger des CACNB2 in der Patientengruppe durch eine verbesserte CACNA1C-Funktion vermittelt werden. Andererseits könnte CACNB2 unabhängig von anderen Genen durch eine modifizierte Verknüpfung der Hirnareale untereinander zu einer Verbesserung der Gedächtnisleistungen führen.

Die in unserer Studie nur in der Patientengruppe beobachtete Leistungsverbesserung lässt darauf schließen, dass der SNP rs10764493 einen protektiven Einfluss auf die Gedächtnisleistungen schizophrener Patienten nehmen könnte.

Die Ergebnisse dieses SNPs im CACNB2 decken sich mit denen des SNPs rs5995756 im CACNA1I.

Für CACNA1I konnte gezeigt werden, dass diese Untereinheit eine Schrittmacheraufgabe in Neuronen des Thalamus erfüllt und so in die intrazerebrale Signaltransduktion involviert ist (Chemin et al., 2002). Auf diese Weise könnte es auch in Gedächtnisprozesse eingreifen.

Auf Grund der sich entsprechenden Beobachtungen im VLMT liegt auch für dieses Gen eine ähnliche Beeinflussung der oben beschriebenen Prozesse nahe.

In unserer Stichprobe untersuchten wir drei SNPs des TCF4-Gens. Lediglich der SNP rs72930787[T] zeigte eine signifikante Assoziation mit Testleistungen im VLMT. Die Referenzallelträger der Patientengruppe erzielten einen signifikant geringeren Wortverlust nach Interferenz als die Nicht-Träger.

Mit Hilfe des VLMT wurde der Zusammenhang zwischen einem Polymorphismus des TCF4-Gens und Gedächtnisleistungen schizophrener Patienten untersucht (Lennertz et al., 2011). Es zeigte sich, dass Patienten, die das Risikoallel des SNPs rs9960767[C] tragen, signifikant

bessere Wiedererkennensleistungen erzielen. Für den Abruf nach zeitlicher Verzögerung konnte ein Trend hin zu besseren Leistungen ermittelt werden. Diese Ergebnisse stimmen mit den unseren überein (Lennertz et al., 2011).

Eine ähnliche Beobachtung wurde anhand des SNPs rs2958182[T], der in der Nähe des SNP rs72930787 liegt, in einer Studie mit Han Chinesen gemacht, die darüber hinaus schlechtere Testleistungen in der Kontrollgruppe beinhaltete (Zhu et al., 2013). Dies wurde darauf zurückgeführt, dass sowohl ein erhöhter, als auch ein erniedrigter TCF4-Spiegel kognitive Defizite bewirken könnte.

Es ist davon auszugehen, dass TCF4 als Transkriptionsfaktor in die Entwicklung von gedächtnisassoziierten neuronalen Strukturen involviert ist (Lennertz et al., 2011), möglicherweise auf Entwicklungsebene (Flora et al., 2007).

Polymorphismen in diesem Gen könnten dessen Aktivität verändern, sodass die Transkription anderer Gene beeinflusst wird, was eine mögliche Erklärung für assoziierte Gedächtnisdefizite darstellen könnte.

Das Risikoallel unseres SNPs rs72930787[T] scheint allerdings einen protektiven Einfluss auf Gedächtnisleistungen bei Schizophreniepatienten zu nehmen. Diese Vermutung wird durch die Beobachtung gestützt, dass das Risikoallel eines mit der Schizophrenie assoziierten SNPs (rs2958182[T]) des TCF4 die Gedächtnisleistungen der Patienten verbessert (Zhu et al., 2013). Obwohl in einer weiteren Studie das A-Allel als Risikoallel ermittelt wurde, konnte ebenfalls eine Assoziation des T-Allels mit verschlechterten Gedächtnisleistungen in Patienten- und Kontrollgruppe beobachtet werden (Hui et al., 2015).

Die Leistungsverbesserung könnte unter der Annahme, dass das Referenzallel zu einer Steigerung des TCF4-Spiegels führt, auf eine Anhebung des erniedrigten Spiegels in einen normalen Bereich zurückzuführen sein. Bei gesunden Kontrollen hingegen könnte daraus eine überschießende Erhöhung resultieren. Dadurch könnte wiederum die Transkription von entscheidenden Genen dahingehend beeinflusst werden, dass kognitive Defizite entstehen, die in der Kontrollgruppe festgestellt wurden.

Entsprechende Prozesse könnten auch durch unseren SNP rs72930787 bewirkt werden.

Der von Zhu und Kollegen, sowie von Hui und Kollegen untersuchte Marker (rs2958182) (Zhu et al., 2013; Hui et al., 2015) liegt neben dem von Lennertz und Kollegen, sowie von Steinberg und Kollegen beschriebenen SNP rs9960767[C] (Lennertz et al., 2011; Steinberg et al., 2011) auch zu den drei von uns untersuchten SNPs eng benachbart, sodass die beobachteten Assoziationen mit Gedächtnisleistungen nicht zweifelsfrei auf einzelne Polymorphismen zurückgeführt werden können.

Polymorphismen des TCF4 scheinen jedoch keine Veränderungen des Hirnvolumens hervorzurufen, da bei gesunden Probanden weder makroskopische Veränderungen der weißen oder grauen Substanz, noch des hippocampalen Hirnvolumens ermittelt werden konnten (Cousijn et al., 2014). Die Autoren schlussfolgern, dass die SNPs des TCF4 ihre Effekte über eine veränderte Regulation der Hirnfunktion und der Konnektivität, möglicherweise über Beeinflussung der Transkription anderer Gene, bewirken könnten (Cousijn et al., 2014).

In unserer Studie konnten wir keine Assoziation des SNPs rs55661361[A] im NRG1-Gen mit VLMT-Leistungen feststellen, während hingegen vermutet wird, dass NRG1 einen Einfluss auf Signalwege nimmt, die mit Lern- und Gedächtnisprozessen (Huang et al., 2007) sowie mit der Synaptogenese während der Gehirnentwicklung (Higo et al., 2006) assoziiert sind. So konnte anhand eines Mausmodells eine hohe Expression von NRG1 in Gehirnregionen, die eine wichtige Rolle bei kognitiven Prozessen spielen, nachgewiesen werden, darunter der Hippocampus (Huang et al., 2007). Dies lässt darauf schließen, dass genetische Varianten morphologische Veränderungen bewirken und dadurch Einfluss auf Signalwege des episodischen Gedächtnisses nehmen könnten (Krug et al., 2013).

Allerdings sind die beobachteten Veränderungen des Hirnvolumens und der Kortexdicke, die mit dem untersuchten Polymorphismus des NRG1-Gens assoziiert sind, nicht spezifisch für Schizophreniepatienten (Walton et al., 2013). Daher lässt sich darauf schließen, dass Polymorphismen des NRG1-Gens unabhängig von der Schizophrenie kognitive Funktionen beeinflussen könnten.

Auch für den SNP rs12704290[A] im GRM3-Gen konnten wir keine signifikante Assoziation mit kognitiven Leistungen nachweisen.

Es konnte jedoch beobachtet werden, dass GRM3 Einfluss auf kognitive Fähigkeiten nimmt. So zeigten ausgewählte SNPs, unter anderem solche des GRM3-Gens, sowohl von Schizophreniepatienten mit und ohne bekannte kognitive Defizite, als auch von Kontrollen eine signifikante Assoziation des SNPs rs2189814[C] mit verbalen Testleistungen (Jablensky et al., 2011).

Zudem zeigten in einer fMRI-Studie SNPs im GRM3 signifikante Assoziationen mit gedächtnisrelevanten Hirnstrukturen, wie dem medialen Temporallappen und dem Hippocampus, sowie einer erhöhten Aktivierung dieser Areale während der Bearbeitung von Gedächtnisaufgaben (de Quervain und Papassotiropoulos, 2006).

Somit lässt sich davon ausgehen, dass Varianten im GRM3 durch eine Veränderung von Signaltransduktion und Hirnaktivierung einen Einfluss auf kognitive Fähigkeiten nehmen könnten.

5.3 Limitationen

Bei der Suche nach der Ätiologie der Schizophrenie stellt die genetische Heterogenität eine besondere Herausforderung dar. Dabei kann die Untersuchung von Endophänotypen ein hilfreiches Verfahren zur Identifizierung von Risikogenen darstellen. Es ist jedoch von einem komplexen Zusammenspiel verschiedener genetischer Varianten und Effekte auszugehen, sodass das Modell der Endophänotypen lediglich als Hilfskonstrukt fungieren kann.

In unserer Studie konzentrierten wir uns auf diejenigen SNPs, für die bereits eine Assoziation mit der Schizophrenie vorbeschrieben ist. Möglicherweise vermitteln nicht diese SNPs selbst, sondern andere im LD liegende genetische Varianten die beschriebenen Effekte.

Die Ein- und Ausschlusskriterien für unsere Studie wurden mit Hilfe von Methoden überprüft, die auf subjektiven Einschätzungen und Aussagen der Probanden beruhen, sodass es zu *Confoundingeffekten* kommen kann.

Im Vergleich zu anderen GWAS war unsere Stichprobe relativ klein, sodass die Ergebnisse durch *Confoundingeffekte*, besonders in der kleinsten Untergruppe, der Patientengruppe, beeinflusst werden könnten. Zudem geht eine kleine Stichprobengröße mit einer geringen Power einher, sodass die Wahrscheinlichkeit geringe Effekte einzelner SNPs aufzudecken sinkt. Trotz umfangreicher Maßnahmen zur Qualitätskontrolle der Genotypisierung könnten Genotypisierungsfehler dazu beitragen, dass wir beschriebene Assoziationen nicht replizieren konnten.

Die Zusammensetzung der Studienteilnehmer sowohl in der Fall-Kontroll-Studie, als auch in der Endophänotypenstudie unterscheidet sich signifikant zwischen Kontroll- und Patientengruppe. Im Vergleich zur Kontrollgruppe sind signifikant mehr männliche Probanden in der Patientengruppe und die Patienten signifikant jünger. Das signifikant höhere Alter der Kontrollgruppe im Vergleich zur Patientengruppe erhöht die Sicherheit, dass die Kontrollen tatsächlich gesund sind, und nicht im weiteren Verlauf an Schizophrenie erkranken.

Der Bildungsgrad lässt Rückschlüsse auf die Intelligenz der Probanden zu. Der Anteil der Probanden mit niedrigem Bildungsgrad ist in der Patientengruppe signifikant größer als in der Kontrollgruppe, sodass wir eine Korrektur der Werte vornahmen.

Neben Abweichungen der Untersucher vom Testmanual können auch Motivation und Aufmerksamkeit der Probanden Einfluss auf die VLMT-Ergebnisse nehmen.

All diese Faktoren können dazu beitragen, dass die Ergebnisse im VLMT nicht zweifelsfrei auf die beobachteten genetischen Varianten zurückgeführt und bestehende Assoziationen nicht erfasst werden können.

6 Zusammenfassung

Die These, dass eine neuronale Entwicklungsstörung ursächlich für die Schizophrenie sein könnte (Fallon et al., 2003), wird neben verschiedenen GWAS auch durch unsere Ergebnisse gestützt. Mittels dieser GWAS ließen sich unter anderem Gene, deren Einfluss auf Gehirnstrukturen und -prozesse bekannt ist, als Risikogene identifizieren. So konnte für verschiedene Risikogene eine Beteiligung an Plastizität, Synaptogenese und Signaltransduktion nachgewiesen werden (Harrison und Weinberger, 2005). Zu diesen Risikogenen gehören allerdings auch solche, für die kein Einfluss auf Gehirnstrukturen und -prozesse bekannt ist oder deren Funktion noch weitgehend ungeklärt ist.

Auch in unserer Studie konnten für SNPs dieser Risikogene signifikante Assoziationen mit der Schizophrenie ermittelt werden. Darunter solche, die ihre Wirkung auf molekulargenetischer Ebene entfalten. So fungiert TCF4 als Transkriptionsfaktor und kann über eine Regulation der Transkription verschiedener Gene die Entwicklung des Nervensystems beeinflussen (Flora et al., 2007).

Ein weiterer SNP (rs4702) ist in 3'-UTR des FURIN lokalisiert und kann somit Einfluss auf die Genexpression nehmen. FURIN wiederum interagiert mit BDNF (Seidah et al., 1996), der als Nervenwachstumsfaktor sowohl eine trophische, als auch eine neuroprotektive Aufgabe erfüllt (Ghosh et al., 1994).

Von weiteren Risikogenen ist eine direkte Wirkung auf die Entwicklung von Hirnstrukturen bekannt. So konnte nachgewiesen werden, dass NRG1 eine wichtige Rolle in der Synaptogenese spielt (Higo et al., 2006) und VEGF das Axonwachstum beeinflusst (Blanco et al., 2008).

Entsprechend können diese Gene in die Signaltransduktion eingreifen und dadurch auf der einen Seite Einfluss auf die Hirnentwicklung nehmen, auf der anderen Seite zu Veränderungen von Hirnvolumen und Konnektivität führen.

In diesem Sinne könnte die Schizophrenie als Deafferenzierungs- bzw. Diskonnektionssyndrom angesehen werden (Friston und Frith, 1995).

Die bei Schizophreniepatienten beobachteten Hirnstrukturveränderungen könnten das neuroanatomische Korrelat einer gestörten Hirnentwicklung und -ausreifung darstellen, wobei beachtet werden muss, dass der Schizophrenie vermutlich auch weitere Veränderungen zu Grunde liegen, die keine sichtbaren hirmorphologischen Auffälligkeiten bewirken.

Wir konnten mit unserer Studie weitere Belege dafür liefern, dass einzelne SNPs dieser Risikogene eine wichtige Rolle in der Pathogenese der Schizophrenie spielen. Obwohl wir bereits beschriebene Assoziationen nicht replizieren konnten oder für zuvor positiv assoziierte SNPs eine negative Assoziation ermittelten, lassen sich unsere Ergebnisse gut in die aktuelle Forschungslage einordnen.

Zukünftig sollten weitere umfangreiche GWAS durchgeführt werden, um neue Risiko-SNPs für die Schizophrenie zu ermitteln und bereits bekannte Assoziationen zu replizieren. Die so ermittelten Erkenntnisse könnten wiederum Hinweise auf die der Schizophrenie zu Grunde liegenden pathophysiologischen Prozesse geben.

Da viele der Risikogene eine wichtige Rolle für Signalwege im Gehirn spielen, könnten deren Veränderungen ursächlich für die mit der Schizophrenie einhergehenden kognitiven Defizite sein.

So konnten wir Schizophrenie-assoziierte SNPs identifizieren, die eine signifikante Assoziation mit Leistungen im VLMT aufwiesen; sowohl bei Schizophreniepatienten, als auch bei gesunden Probanden. Darunter war jedoch kein SNP, der bereits in einer vorhergehenden Studie auf eine Assoziation mit VLMT-Leistungen untersucht worden ist. Allerdings ließen sich für andere SNPs, die zum Teil in dem gleichen Gen wie unsere SNPs oder im LD mit weiteren SNPs dieses Gens lagen, signifikante Assoziationen mit VLMT-Leistungen ermitteln.

Unsere Studie erbrachte Hinweise darauf, dass der SNP rs11682175[C] unabhängig von der Schizophrenie Einfluss auf das verbale Gedächtnis nimmt und hier sowohl Lern-, als auch Abrufdefizite bewirken kann. Die signifikante gruppen- und phänotypübergreifende Assoziation stützt die Vermutung der Beteiligung dieses SNPs an Gedächtnisprozessen. Andere Marker des VRK2-Gens könnten mit dem SNP rs11682175 im LD liegen, sodass Veränderungen dieses Gens, das eine Rolle für das Axonwachstum spielt (Blanco et al., 2008), die beobachteten kognitiven Defizite zur Folge haben könnten. Ebenso wie APOPT1 nimmt auch VRK2 Einfluss auf Apoptoseprozesse (Yasuda et al., 2006; Monsalve et al., 2013), die durch Veränderung der Hirnstruktur kognitive Defizite bewirken könnten.

Die ermittelte Assoziation des SNPs rs4702[G] in 3'-UTR des FURIN-Gens mit VLMT-Leistungen liefert Anhaltspunkte für eine Beeinflussung des verbalen Gedächtnisses. Ob diese Beobachtung auf das FURIN-Gen selbst oder seine Interaktion mit BDNF, für den bereits eine Assoziation mit dem verbalen Arbeitsgedächtnis (Niitsu et al., 2011) und der LTP (Korte et al., 1995) beschrieben wurde, zurückzuführen ist, sollte in weiteren Studien überprüft werden.

So stellen beispielsweise Hori und Kollegen die Verwendung des BDNF-Spiegels als neurokognitiven Biomarker für Schizophrenie in Frage (Hori et al., 2016).

Der LTP liegen calciumabhängige Signalwege zu Grunde, deren Störungen ursächlich für kognitive Defizite sein können (Moosmang et al., 2005; Eckel-Mahan et al., 2008; Miranda et al., 2011). So deuten Forschungsergebnisse, die wir zum Teil bestätigen konnten, darauf hin, dass Veränderungen in Genen für Calciumkanaluntereinheiten über verschiedene Mechanismen Einfluss auf Lern- und Gedächtnisleistungen nehmen können. Gedächtnisprozessen scheinen auf den verschiedenen Ebenen von Plastizität und Signaltransduktion weitere calciumabhängige Signalwege, zum Beispiel über GRM3 und NRG1, für die wir keine Assoziation ermitteln

konnten, zu Grunde zu liegen. Ebenfalls ließ sich in unserer Studie die Assoziation zwischen verbalem Gedächtnis und TSNARE1 anhand des SNPs rs4129585 (Greenwood et al., 2013) nicht replizieren.

Um die von uns ermittelten Assoziationen zwischen den Polymorphismen und den verbalen Gedächtnisleistungen zu untermauern, sollten mittels weiterer Studien diese Assoziationen erneut überprüft werden. Zudem könnten die Ergebnisse durch weitere Tests, die das verbale Gedächtnis überprüfen, wie zum Beispiel der Verbale Gedächtnistest (VGT) oder der Rey Auditory Verbal Learning Test (RAVLT), bestätigt werden.

Mit Hilfe des VLMT kann nur ein kleiner Bereich des Gedächtnisses erfasst werden, sodass zur Überprüfung des gesamten Gedächtnissystems zusätzliche Gedächtnistests durchgeführt werden müssten (Helmstaedter et al., 2001).

Im Rahmen unserer Studie wurde von den Probanden eine umfangreiche Testbatterie durchlaufen. In weitergehenden Studien könnte die Auswertung der gesamten Testbatterie weitere Hinweise für eine Beeinflussung der Funktionsfähigkeit des Gedächtnisses der Probanden durch die Polymorphismen liefern.

7 Literaturverzeichnis

- Achim A, Bertrand M-C, Sutton H, Montoya A, Czechowska Y, Malla A, Joobor R, Pruessner J, Lepage M (2007) Selective abnormal modulation of hippocampal activity during memory formation in First-Episode Psychosis. *Arch Gen Psychiatry* 64(9): 999–1014.
- Achim A und Lepage M (2005) Episodic memory-related activation in schizophrenia: meta-analysis. *Br J Psychiatry* 187: 500–509.
- Aleman A, Hijman R, de Haan EH, Kahn R (1999) Memory impairment in schizophrenia: a meta-analysis. *Am J Psychiatry* 156(9): 1358–1366.
- Aleman A, Kahn R, Selten J-P (2003) Sex differences in the risk of schizophrenia: evidence from meta-analysis. *Arch Gen Psychiatry* 60(6): 565–571.
- Atkinson R und Shiffrin R Human Memory: A Proposed System and its Control Processes. In: Spence KW. und Spence JT (ed): *The Psychology of Learning and Motivation: Advances in Research and Theory*. New York: Academic Press, 1968, pp. 89–195.
- Aumüller G; Aust G; Doll A; Engele J; Kirsch J; Mense S; Reißig D; Salvetter J; Schmidt W; Schmitz F; Schulte E; Spanel-Borowski K; Wolff W; Wurzinger L; Zilch H *Anatomie*. 2. überarb. Aufl. Thieme, Stuttgart (2010).
- Barrett L, Fletcher S, Wilton S (2012) Regulation of eukaryotic gene expression by the untranslated gene regions and other non-coding elements. *Cell Mol Life Sci* 69(21): 3613–3634.
- Baudier J, Deloulme J, van Dorsselaer A, Black D, Matthes H (1991) Purification and characterization of a brain-specific protein kinase C substrate, neurogranin (p17). Identification of a consensus amino acid sequence between neurogranin and neuromodulin (GAP43) that corresponds to the protein kinase C phosphorylation site and the calmodulin-binding domain. *J Biol Chem* 266(1): 229–237.
- Bigos K, Mattay V, Callicott J, Straub R, Vakkalanka R, Kolachana B, Hyde T, Lipska B, Kleinman J, Weinberger D (2010) Genetic variation in CACNA1C affects brain circuitries related to mental illness. *Arch Gen Psychiatry* 67(9): 939–945.
- Blanco S, Sanz-García M, Santos C, Lazo P (2008) Modulation of interleukin-1 transcriptional response by the interaction between VRK2 and the JIP1 scaffold protein. *PLoS one* 3(2):e1660.
- Bresnahan P, Leduc R, Thomas L, Thorner J, Gibson H, Brake A, Barr P, Thomas G (1990) Human fur gene encodes a yeast KEX2-like endoprotease that cleaves pro-beta-NGF in vivo. *J Cell Biol* 111(6 Pt 2): 2851–2859.
- Brockschmidt A, Todt U, Ryu S, Hoischen A, Landwehr C, Birnbaum S, Frenck W, Radlwimmer B, Lichter P, Engels H, Driever W, Kubisch C, Weber R (2007) Severe mental retardation with breathing abnormalities (Pitt-Hopkins syndrome) is caused by haploinsufficiency of the neuronal bHLH transcription factor TCF4. *Hum Mol Genet* 16(12): 1488–1494.
- Burri L, Strahm Y, Hawkins C, Gentle I, Puryer M, Verhagen A, Callus B, Vaux D, Lithgow T (2005) Mature DIABLO/Smac is produced by the IMP protease complex on the mitochondrial inner membrane. *Mol Biol Cell* 16(6): 2926–2933.

- Cannon M, Caspi A, Moffitt T, Harrington H, Taylor A, Murray R, Poulton R (2002) Evidence for early-childhood, pan-developmental impairment specific to schizophreniform disorder. *Arch Gen Psychiatry* 59(5): 449.
- Cannon T, Kaprio J, Lönnqvist J, Huttunen M, Koskenvuo M (1998) The genetic epidemiology of schizophrenia in a Finnish twin cohort. A population-based modeling study. *Arch Gen Psychiatry* 55(1): 67–74.
- Casadio P, Fernandes C, Murray R, Di Forti M (2011) Cannabis use in young people: the risk for schizophrenia. *Neurosci Biobehav Rev* 35(8): 1779–1787.
- Chakravarti A (1999) Population genetics-making sense out of sequence. *Nat Genet* 21(1 Suppl): 56–60.
- Chemin J, Monteil A, Perez-Reyes E, Bourinet E, Nargeot J, Lory P (2002) Specific contribution of human T-type calcium channel isotypes (1G, 1H and 1I) to neuronal excitability. *J Physiol Sci* 540(1): 3–14.
- Cirillo M und Seidman L (2003) Verbal declarative memory dysfunction in schizophrenia: from clinical assessment to genetics and brain mechanisms. *Neuropsychol Rev* 13(2): 43–77.
- Cousijn H, Eissing M, Fernández G, Fisher S, Franke B, Zwiers M, Harrison P, Arias-Vásquez A (2014) No effect of schizophrenia risk genes MIR137, TCF4, and ZNF804A on macroscopic brain structure. *Schizophr Res* 159(2-3): 329–332.
- Dajas-Bailador F, Jones E, Whitmarsh A (2008) The JIP1 scaffold protein regulates axonal development in cortical neurons. *Curr Biol* 18(3): 221–226.
- Davis J, Eyre H, Jacka F, Dodd S, Dean O, McEwen S, Debnath M, McGrath J, Maes M, Amminger P, McGorry P, Pantelis C, Berk M (2016) A review of vulnerability and risks for schizophrenia: Beyond the two hit hypothesis. *Neurosci Biobehav Rev* 65: 185–194.
- de Quervain D und Papassotiropoulos A (2006) Identification of a genetic cluster influencing memory performance and hippocampal activity in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 103(11): 4270–4274.
- Dietsche B, Backes H, Laneri D, Weikert T, Witt S, Rietschel M, Sommer J, Kircher T, Krug A (2014) The impact of a CACNA1C gene polymorphism on learning and hippocampal formation in healthy individuals: a diffusion tensor imaging study. *NeuroImage* 89: 256–261.
- Dixson L, Walter H, Schneider M, Erk S, Schäfer A, Haddad L, Grimm O, Mattheisen M, Nöthen M, Cichon S, Witt S, Rietschel M, Mohnke S, Seiferth N, Heinz A, Tost H, Meyer-Lindenberg A (2014) Identification of gene ontologies linked to prefrontal-hippocampal functional coupling in the human brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 111(26): 9657–9662.
- Donnelly P, Barroso I, Blackwell J, Bramon E, Brown M, Casas J, Corvin A, Deloukas P, Duncanson A, Jankowski J, Markus H, Mathew C, Palmer C, Plomin R, Rautanen A, Sawcer S, Trembath R, Viswanathan A, Wood N, Spencer C, Band G, Bellenguez C, Dilthey A, Freeman C, Hellenthal G, Giannoulatou E, McVean G, Moutsianas L, Pirinen M, Pearson R, Strange A, Su Z, Tashakkori-Ghanbaria A, Vukcevic D, Langford C, Hunt S, Edkins S, Gwilliam R, Blackburn H, Bumpstead S, Dronov S, Gillman M, Gray E, Hammond N, Jayakumar A, McCann O, Liddle J, Potter S, Ravindrarajah R, Ricketts M, Waller M, Weston P, Widaa S, Whittaker P, Riley B, Morris D, O'Dushlaine T, Maher B, Cormican P, Kenny E, Wormley B, Donohoe G, Quinn E, Judge R, Coleman K, Tropea D, Roche S, Cummings L, Kelleher E, McKeon P, Dinan T, McDonald C, Murphy K, O'Callaghan E, O'Neill F, Waddington J, Walsh

D, Stone J, Scolnick E, Purcell S, Sklar P, Ripke S, Walters J, Owen M, O'Donovan M, Kendler K, Gill M (2012) Genome-wide association study implicates HLA-C*01:02 as a risk factor at the major histocompatibility complex locus in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 72(8): 620–628.

Eckel-Mahan K, Phan T, Han S, Wang H, Chan G, Scheiner Z, Storm D (2008) Circadian oscillation of hippocampal MAPK activity and cAMP: implications for memory persistence. *Nat Neurosci* 11(9): 1074–1082.

Eichenbaum H (2001) The hippocampus and declarative memory: cognitive mechanisms and neural codes. *Behav Brain Res* 127(1-2): 199–207.

EPICURE Consortium, EMINet Consortium, Steffens M, Leu C, Ruppert A-K, Zara F, Striano P, Robbiano A, Capovilla G, Tinuper P, Gambardella A, Bianchi A, La Neve A, Cricchiutti G, de Kovel, Carolien G F, Kasteleijn-Nolst Trenite D, Haan G-J de, Lindhout D, Gaus V, Schmitz B, Janz D, Weber Y, Becker F, Lerche H, Steinhoff B, Kleefuss-Lie A, Kunz W, Surges R, Elger C, Muhle H, Spiczak S von, Ostertag P, Helbig I, Stephani U, Moller R, Hjalgrim H, Dibbens L, Bellows S, Oliver K, Mullen S, Scheffer I, Berkovic S, Everett K, Gardiner M, Marini C, Guerrini R, Lehesjoki A-E, Siren A, Guipponi M, Malafosse A, Thomas P, Nabbout R, Baulac S, Leguern E, Guerrero R, Serratos J, Reif P, Rosenow F, Morzinger M, Feucht M, Zimprich F, Kapser C, Schankin C, Suls A, Smets K, Jonghe P de, Jordanova A, Caglayan H, Yapici Z, Yalcin D, Baykan B, Bebek N, Ozbek U, Gieger C, Wichmann H-E, Balschun T, Ellinghaus D, Franke A, Meesters C, Becker T, Wienker T, Hempelmann A, Schulz H, Ruschendorf F, Leber M, Pauck S, Trucks H, Toliat M, Nurnberg P, Avanzini G, Koeleman B, Sander T (2012) Genome-wide association analysis of genetic generalized epilepsies implicates susceptibility loci at 1q43, 2p16.1, 2q22.3 and 17q21.32. *Hum Mol Genet* 21(24): 5359–5372.

Eriksson J, Vogel E, Lansner A, Bergstrom F, Nyberg L (2015) Neurocognitive architecture of working memory. *Neuron* 88(1): 33–46.

Erk S, Meyer-Lindenberg A, Schnell K, Opitz von Boberfeld, Carola, Esslinger C, Kirsch P, Grimm O, Arnold C, Haddad L, Witt S, Cichon S, Nöthen M, Rietschel M, Walter H (2010) Brain function in carriers of a genome-wide supported bipolar disorder variant. *Arch Gen Psychiatry* 67(8): 803–811.

Fallon J, Opole I, Potkin S (2003) The neuroanatomy of schizophrenia: circuitry and neurotransmitter systems. *Clin Neurosci Res* 3(1-2): 77–107.

Fletcher P, Shallice T, Frith C, Frackowiak R, Dolan R (1998) The functional roles of prefrontal cortex in episodic memory. II. Retrieval. *Brain* 121 (Pt 7): 1249–1256.

Flora A, Garcia J, Thaller C, Zoghbi H (2007) The E-protein Tcf4 interacts with Math1 to regulate differentiation of a specific subset of neuronal progenitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 104(39): 15382–15387.

Friston K und Frith C (1995) Schizophrenia: a disconnection syndrome? *Clin Neurosci* 3(2): 89–97.

Fromer M, Roussos P, Sieberts S, Johnson J, Kavanagh D, Perumal T, Ruderfer D, Oh E, Topol A, Shah H, Klei L, Kramer R, Pinto D, Gumus Z, Cicek A, Dang K, Browne A, Lu C, Xie L, Readhead B, Stahl E, Xiao J, Parvizi M, Hamamsy T, Fullard J, Wang Y-C, Mahajan M, Derry J, Dudley J, Hemby S, Logsdon B, Talbot K, Raj T, Bennett D, Jager P de, Zhu J, Zhang B, Sullivan P, Chess A, Purcell S, Shinobu L, Mangravite L, Toyoshiba H, Gur R, Hahn C-G, Lewis D, Haroutunian V, Peters M, Lipska B, Buxbaum J, Schadt E, Hirai K, Roeder K, Brennand K, Katsanis N, Domenici E, Devlin B, Sklar P (2016) Gene expression elucidates functional impact of polygenic risk for schizophrenia. *Nat Neurosci* 19(11): 1442–1453.

- Fujii Y, Shibata H, Kikuta R, Makino C, Tani A, Hirata N, Shibata A, Ninomiya H, Tashiro N, Fukumaki Y (2003) Positive associations of polymorphisms in the metabotropic glutamate receptor type 3 gene (GRM3) with schizophrenia. *Psychiatr Genet* 13(2): 71–76.
- Genetics Home Reference (2015/02/02) Handbook. Genomic Research, 02.02.2015. Online verfügbar unter <http://ghr.nlm.nih.gov>.
- Ghosh A, Carnahan J, Greenberg M (1994) Requirement for BDNF in activity-dependent survival of cortical neurons. *Science* 263(5153): 1618–1623.
- Glantz L, Gilmore J, Lieberman J, Jarskog L (2006) Apoptotic mechanisms and the synaptic pathology of schizophrenia. *Schizophr Res* 81(1): 47–63.
- Gottesman I und Gould T (2003) The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *Am J Psychiatry* 160(4): 636–645.
- Green E, Grozeva D, Jones I, Jones L, Kirov G, Caesar S, Gordon-Smith K, Fraser C, Forty L, Russell E, Hamshere M, Moskvina V, Nikolov I, Farmer A, McGuffin P, Holmans P, Owen M, O'Donovan M, Craddock N (2010) The bipolar disorder risk allele at CACNA1C also confers risk of recurrent major depression and of schizophrenia. *Mol Psychiatry* 15(10): 1016–1022.
- Greenwood T, Swerdlow N, Gur R, Cadenhead K, Calkins M, Dobie D, Freedman R, Green M, Gur R, Lazzeroni L, Nuechterlein K, Olincy A, Radant A, Ray A, Schork N, Seidman L, Siever L, Silverman J, Stone W, Sugar C, Tsuang D, Tsuang M, Turetsky B, Light G, Braff D (2013) Genome-wide linkage analyses of 12 endophenotypes for schizophrenia from the Consortium on the Genetics of Schizophrenia. *Am J Psychiatry* 170(5): 521–532.
- Hall M-H, Levy D, Salisbury D, Haddad S, Gallagher P, Lohan M, Cohen B, Ongür D, Smoller J (2014) Neurophysiologic effect of GWAS derived schizophrenia and bipolar risk variants. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 165B(1): 9–18.
- Hamshere M, Walters, J T R, Smith R, Richards A, Green E, Grozeva D, Jones I, Forty L, Jones L, Gordon-Smith K, Riley B, O'Neill F, O'Neill T, Kendler K, Sklar P, Purcell S, Kranz J, Morris D, Gill M, Holmans P, Craddock N, Corvin A, Owen M, O'Donovan M (2013) Genome-wide significant associations in schizophrenia to ITIH3/4, CACNA1C and SDCCAG8, and extensive replication of associations reported by the Schizophrenia PGC. *Mol Psychiatry* 18(6): 708–712.
- Harrison P, Law A, Eastwood S (2003) Glutamate receptors and transporters in the hippocampus in schizophrenia. *Ann N Y Acad Sci* 1003(1): 94–101.
- Harrison P und Weinberger D (2005) Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Mol Psychiatry* 10(1):40–68.
- Heckers S, Rauch S, Goff D, Savage C, Schacter D, Fischman A, Alpert N (1998) Impaired recruitment of the hippocampus during conscious recollection in schizophrenia. *Nat Neurosci* 1(4): 318–323.
- Heinrichs R und Zakzanis K (1998) Neurocognitive deficit in schizophrenia: a quantitative review of the evidence. *Neuropsychology* 12(3): 426–445.
- Helmstaedter C (2007) Kognitive Teilleistungsstörungen bei Temporallappenepilepsie. Habilitationsschrift, Bonn.
- Helmstaedter C, Lendt M, Lux S (2001) Verbaler Lern- und Merkfähigkeitstest. Manual.

- Helmstaedter C und Oertzen J von (1999) unveröffentlichte Daten der Klinik für Epileptologie, Bonn.
- Higo N, Oishi T, Yamashita A, Murata Y, Matsuda K, Hayashi M (2006) Northern blot and in situ hybridization analyses for the neurogranin mRNA in the developing monkey cerebral cortex. *Brain Res* 1078(1): 35–48.
- Hill M, Donocik J, Nuamah R, Mein C, Sainz-Fuertes R, Bray N (2014) Transcriptional consequences of schizophrenia candidate miR-137 manipulation in human neural progenitor cells. *Schizophr Res* 153(1-3): 225–230.
- Hori H, Yoshimura R, Katsuki A, Atake K, Igata R, Konishi Y, Nakamura J (2016) Relationships between serum brain-derived neurotrophic factor, plasma catecholamine metabolites, cytokines, cognitive function and clinical symptoms in Japanese patients with chronic schizophrenia treated with atypical antipsychotic monotherapy. *World J Biol Psychiatry*: 1–8.
- Huang F, Huang K-P, Boucheron C (2007) Long-term enrichment enhances the cognitive behavior of the aging neurogranin null mice without affecting their hippocampal LTP. *Learn Mem* 14(8): 512–519.
- Hui L, Rao W-W, Yu Q, Kou C, Wu J, He J, Ye M, Liu J, Xu X, Zheng K, Ruan L, Liu H, Hu W, Shao T, AngRabanes M, Soares J, Zhang X (2015) TCF4 gene polymorphism is associated with cognition in patients with schizophrenia and healthy controls. *J Psychiatr Res* 69: 95–101.
- Hunter D und Kraft P (2007) Drinking from the fire hose--statistical issues in genomewide association studies. *N Engl J Med* 357(5): 436–439.
- Hurlemann R, Jessen F, Wagner M, Frommann I, Ruhrmann S, Brockhaus A, Pickler H, Scheef L, Block W, Schild H, Moller-Hartmann W, Krug B, Falkai P, Klosterkötter J, Maier W (2008) Interrelated neuropsychological and anatomical evidence of hippocampal pathology in the at-risk mental state. *Psychol Med* 38(6): 843–851.
- Invitrogen (2008) Quant-iT™ PicoGreen® dsDNA Reagent and Kits. Molecular Probes invitrogen detection technologies.
- Jablensky A, Morar B, Wiltshire S, Carter K, Dragovic M, Badcock J, Chandler D, Peters K, Kalaydjieva L (2011) Polymorphisms associated with normal memory variation also affect memory impairment in schizophrenia. *Genes Brain Behav* 10(4): 410–417.
- Kahl G The dictionary of gene technology. Genomics, Transcriptomics, Proteomics. 3. ed. Wiley-VCH, Weinheim (2004).
- Kandel E und Siegelbaum S Part IX. Language, Thought, Affect and Learning. In: Kandel ER (ed): Principles of Neural Science. Eine Einführung. 5th ed. New York: McGraw-Hill, 2012.
- Keshavan M, Tandon R, Boutros N, Nasrallah H (2008) Schizophrenia, "just the facts": what we know in 2008 Part 3: neurobiology. *Schizophr Res* 106(2-3): 89–107.
- Kim Y und State M (2014) Recent challenges to the psychiatric diagnostic nosology: a focus on the genetics and genomics of neurodevelopmental disorders. *Int J Epidemiol* 43(2): 465–475.
- Korte M, Carroll P, Wolf E, Brem G, Thoenen H, Bonhoeffer T (1995) Hippocampal long-term potentiation is impaired in mice lacking brain-derived neurotrophic factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 92(19): 8856–8860.

- Krug A, Krach S, Jansen A, Nieratschker V, Witt S, Shah N, Nöthen M, Rietschel M, Kircher T (2013) The effect of neurogranin on neural correlates of episodic memory encoding and retrieval. *Schizophr Bull* 39(1): 141–150.
- Kubicki M, McCarley R, Westin C-F, Park H-J, Maier S, Kikinis R, Jolesz F, Shenton M (2007) A review of diffusion tensor imaging studies in schizophrenia. *J Psychiatr Res* 41(1-2): 15–30.
- Kwon E, Wang W, Tsai L-H (2013) Validation of schizophrenia-associated genes CSMD1, C10orf26, CACNA1C and TCF4 as miR-137 targets. *Mol Psychiatry* 18(1): 11–12.
- Lennertz L, Rujescu D, Wagner M, Frommann I, Schulze-Rauschenbach S, Schuhmacher A, Landsberg M, Franke P, Möller H-J, Wölwer W, Gaebel W, Häfner H, Maier W, Mössner R (2011) Novel schizophrenia risk gene TCF4 influences verbal learning and memory functioning in schizophrenia patients. *Neuropsychobiology* 63(3): 131–136.
- Lewis D, Hashimoto T, Volk D (2005) Cortical inhibitory neurons and schizophrenia. *Nat Rev Neurosci* 6(4): 312–324.
- Li J, Pak J, Huang F, Huang K-P (1999) N-Methyl-D-aspartate induces neurogranin/RC3 oxidation in rat brain slices. *J Biol Chem* 274(3): 1294–1300.
- Li M, Wang Y, Zheng X-b, Ikeda M, Iwata N, Luo X-j, Chong S-A, Lee J, Rietschel M, Zhang F, Müller-Myhsok B, Cichon S, Weinberger D, Mattheisen M, Schulze T, Martin N, Mitchell P, Schofield P, Liu J-j, Su B (2012) Meta-analysis and brain imaging data support the involvement of VRK2 (rs2312147) in schizophrenia susceptibility. *Schizophr Res* 142(1-3): 200–205.
- Light G, Swerdlow N, Rissling A, Radant A, Sugar C, Sprock J, Pela M, Geyer M, Braff D (2012) Characterization of neurophysiologic and neurocognitive biomarkers for use in genomic and clinical outcome studies of schizophrenia. *PloS one* 7(7):e39434.
- Maestrini E, Pagnamenta A, Lamb J, Bacchelli E, Sykes N, Sousa I, Toma C, Barnby G, Butler H, Winchester L, Scerri T, Minopoli F, Reichert J, Cai G, Buxbaum J, Korvatska O, Schellenberg G, Dawson G, Bildt A de, Minderaa R, Mulder E, Morris A, Bailey A, Monaco A (2010) High-density SNP association study and copy number variation analysis of the AUTS1 and AUTS5 loci implicate the IMMP2L-DOCK4 gene region in autism susceptibility. *Mol Psychiatry* 15(9): 954–968.
- Manglam M und Das A (2013) Verbal learning and memory and psychopathology in schizophrenia. *Asian J Psychiatr* 6(5): 417–420.
- Marsman A, van den Heuvel, Martijn P, Klomp, Dennis W J, Kahn R, Luijten P, Hulshoff Pol, Hilleke E (2013) Glutamate in schizophrenia: a focused review and meta-analysis of ¹H-MRS studies. *Schizophr Bull* 39(1): 120–129.
- Melchionda L, Haack T, Hardy S, Abbink, Truus E M, Fernandez-Vizarra E, Lamantea E, Marchet S, Morandi L, Moggio M, Carozzo R, Torracco A, Diodato D, Strom T, Meitinger T, Tekturk P, Yapici Z, Al-Murshedi F, Stevens R, Rodenburg R, Lamperti C, Ardisson A, Moroni I, Uziel G, Prokisch H, Taylor R, Bertini E, van der Knaap, Marjo S, Ghezzi D, Zeviani M (2014) Mutations in APOPT1, encoding a mitochondrial protein, cause cavitating leukoencephalopathy with cytochrome c oxidase deficiency. *Am J Hum Genet* 95(3): 315–325.
- Miller G (1956) The magical Number seven, plus or minus two: Some Limits on our Capacity for processing Information. *Psychol Rev*(63): 81–97.

- Miranda M, González-Cedillo F, Díaz-Muñoz M (2011) Intracellular calcium chelation and pharmacological SERCA inhibition of Ca²⁺ pump in the insular cortex differentially affect taste aversive memory formation and retrieval. *Neurobiol Learn Mem* 96(2): 192–198.
- Monsalve D, Merced T, Fernandez I, Blanco S, Vazquez-Cedeira M, Lazo P (2013) Human VRK2 modulates apoptosis by interaction with Bcl-xL and regulation of BAX gene expression. *Cell Death Dis* 4:e513.
- Moosmang S, Haider N, Klugbauer N, Adelsberger H, Langwieser N, Müller J, Stiess M, Marais E, Schulla V, Lacinova L, Goebbels S, Nave K-A, Storm D, Hofmann F, Kleppisch T (2005) Role of hippocampal Cav1.2 Ca²⁺ channels in NMDA receptor-independent synaptic plasticity and spatial memory. *J Neurosci* 25(43): 9883–9892.
- Mounce J, Luo L, Caprihan A, Liu J, Perrone-Bizzozero N, Calhoun V (2014) Association of GRM3 polymorphism with white matter integrity in schizophrenia. *Schizophr Res* 155(1-3): 8–14.
- NCBI, 2015. Online verfügbar unter <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>, zuletzt geprüft am 12.12.2015.
- Nicolae D, Gamazon E, Zhang W, Duan S, Dolan M, Cox N (2010) Trait-associated SNPs are more likely to be eQTLs: annotation to enhance discovery from GWAS. *PLoS Genet* 6(4):e1000888.
- Niitsu T, Shirayama Y, Matsuzawa D, Hasegawa T, Kanahara N, Hashimoto T, Shiraishi T, Shiina A, Fukami G, Fujisaki M, Watanabe H, Nakazato M, Asano M, Kimura S, Hashimoto K, Iyo M (2011) Associations of serum brain-derived neurotrophic factor with cognitive impairments and negative symptoms in schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 35(8): 1836–1840.
- Novak G, Kim D, Seeman P, Talerico T (2002) Schizophrenia and Nogo: elevated mRNA in cortex, and high prevalence of a homozygous CAA insert. *Brain Res Mol Brain Res* 107(2): 183–189.
- Nurjono M, Lee J, Chong S-A (2012) A review of brain-derived neurotrophic factor as a candidate biomarker in schizophrenia. *Clin Psychopharmacol Neurosci* 10(2): 61–70.
- O'Donovan M, Craddock N, Norton N, Williams H, Peirce T, Moskvina V, Nikolov I, Hamshere M, Carroll L, Georgieva L, Dwyer S, Holmans P, Marchini J, Spencer, Chris C A, Howie B, Leung H-T, Hartmann A, Möller H-J, Morris D, Shi Y, Feng G, Hoffmann P, Propping P, Vasilescu C, Maier W, Rietschel M, Zammit S, Schumacher J, Quinn E, Schulze T, Williams N, Giegling I, Iwata N, Ikeda M, Darvasi A, Shifman S, He L, Duan J, Sanders A, Levinson D, Gejman P, Cichon S, Nöthen M, Gill M, Corvin A, Rujescu D, Kirov G, Owen M, Buccola N, Mowry B, Freedman R, Amin F, Black D, Silverman J, Byerley W, Cloninger C (2008) Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up. *Nat Genet* 40(9): 1053–1055.
- Oeth P, Beaulieu M, Park C, Kosman D, del Mistro G, van den Boom, D., Jurinke C (2005) iPLEX Assay: Increased Plexing Efficiency and Flexibility for MassARRAY System Through Single Base Primer Extension with Mass-Modified Terminators. *Sequenom Application Note*.
- Olney J, Newcomer J, Farber N (1999) NMDA receptor hypofunction model of schizophrenia. *J Psychiatr Res* 33(6): 523–533.

- Pedersen C und Mortensen P (2001) Evidence of a dose-response relationship between urbanicity during upbringing and schizophrenia risk. *Arch Gen Psychiatry* 58(11): 1039–1046.
- Penner J und Brown A (2007) Prenatal infectious and nutritional factors and risk of adult schizophrenia. *Expert Rev Neurother* 7(7): 797–805.
- Pérez-Iglesias R, Tordesillas-Gutiérrez D, McGuire P, Barker G, Roiz-Santiañez R, Mata I, de Lucas, Enrique Marco, Rodríguez-Sánchez J, Ayesa-Arriola R, Vazquez-Barquero J, Crespo-Facorro B (2010) White matter integrity and cognitive impairment in first-episode psychosis. *Am J Psychiatry* 167(4): 451–458.
- Petek E, Windpassinger C, Vincent J, Cheung J, Boright A, Scherer S, Kroisel P, Wagner K (2001) Disruption of a novel gene (IMMP2L) by a breakpoint in 7q31 associated with Tourette syndrome. *Am J Hum Genet* 68(4): 848–858.
- Pirnia T, Woods R, Hamilton L, Lyden H, Joshi S, Asarnow R, Nuechterlein K, Narr K (2015) Hippocampal dysfunction during declarative memory encoding in schizophrenia and effects of genetic liability. *Schizophr Res* 161(2-3): 357–366.
- Prabakaran S, Swatton J, Ryan M, Huffaker S, Huang J, Griffin J, Wayland M, Freeman T, Dudbridge F, Lilley K, Karp N, Hester S, Tkachev D, Mimmack M, Yolken R, Webster M, Torrey E, Bahn S (2004) Mitochondrial dysfunction in schizophrenia: evidence for compromised brain metabolism and oxidative stress. *Mol Psychiatry* 9(7):684-97, 643.
- Pragnell M, Waard M de, Mori Y, Tanabe T, Snutch T, Campbell K (1994) Calcium channel beta-subunit binds to a conserved motif in the I-II cytoplasmic linker of the alpha 1-subunit. *Nature* 368(6466): 67–70.
- Prata D, Mechelli A, Fu, Cynthia H Y, Picchioni M, Touloupoulou T, Bramon E, Walshe M, Murray R, Collier D, McGuire P (2009) Epistasis between the DAT 3' UTR VNTR and the COMT Val158Met SNP on cortical function in healthy subjects and patients with schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA* 106(32): 13600–13605.
- Psychiatric Genomics Consortium. Online verfügbar unter <http://www.med.unc.edu/pgc/files/resultfiles/scz2.snp.results.txt.gz%20%20>, zuletzt geprüft am 22.10.2015.
- Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira, Manuel A R, Bender D, Maller J, Sklar P, de Bakker, Paul I W, Daly MJ, Sham P (2007) PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet* 81(3): 559–575.
- R Development Core Team R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria (2011). Online verfügbar unter www.R-project.org, zuletzt geprüft am 05.04.2014.
- Rajcan-Separovic E, Harvard C, Liu X, McGillivray B, Hall J, Qiao Y, Hurlburt J, Hildebrand J, Mickelson, E C R, Holden, J J A, Lewis, M E S (2007) Clinical and molecular cytogenetic characterisation of a newly recognised microdeletion syndrome involving 2p15-16.1. *J Med Genet* 44(4): 269–276.
- Rice J, Reich T, Bucholz K, Neuman R, Fishman R, Rochberg N, Hesselbrock V, Nurnberger J, Schuckit M, Begleiter H (1995) Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res* 19(4): 1018–1023.

Rimol L, Hartberg C, Nesvåg R, Fennema-Notestine C, Hagler D, Pung C, Jennings R, Haukvik U, Lange E, Nakstad P, Melle I, Andreassen O, Dale A, Agartz I (2010) Cortical thickness and subcortical volumes in schizophrenia and bipolar disorder. *Biol Psychiatry* 68(1): 41–50.

Ripke S, O'Dushlaine C, Chambert K, Moran J, Kähler A, Akterin S, Bergen S, Collins A, Crowley J, Fromer M, Kim Y, Lee S, Magnusson, Patrik K E, Sanchez N, Stahl E, Williams S, Wray N, Xia K, Bettella F, Borglum A, Bulik-Sullivan B, Cormican P, Craddock N, Leeuw C de, Durmishi N, Gill M, Golimbet V, Hamshere M, Holmans P, Hougaard D, Kendler K, Lin K, Morris D, Mors O, Mortensen P, Neale B, O'Neill F, Owen M, Milovancevic M, Posthuma D, Powell J, Richards A, Riley B, Ruderfer D, Rujescu D, Sigurdsson E, Silagadze T, Smit A, Stefansson H, Steinberg S, Suvisaari J, Tosato S, Verhage M, Walters J, Levinson D, Gejman P, Laurent C, Mowry B, O'Donovan M, Pulver A, Schwab S, Wildenauer D, Dudbridge F, Shi J, Albus M, Alexander M, Champion D, Cohen D, Dikeos D, Duan J, Eichhammer P, Godard S, Hansen M, Lerer F, Liang K-Y, Maier W, Mallet J, Nertney D, Nestadt G, Norton N, Papadimitriou G, Ribble R, Sanders A, Silverman J, Walsh D, Williams N, Wormley B, Arranz M, Bakker S, Bender S, Bramon E, Collier D, Crespo-Facorro B, Hall J, Iyegbe C, Jablensky A, Kahn R, Kalaydjieva L, Lawrie S, Lewis C, et al. (2013) Genome-wide association analysis identifies 13 new risk loci for schizophrenia. *Nat Genet* 45(10): 1150–1159.

Ripke S, Sanders A, Kendler K, Levinson D, Sklar P, Holmans P, Lin D, Duan J, Ophoff R, Andreassen O, Scolnick E, Cichon S, St Clair D, Corvin A, Gurling H, Werge T, Rujescu D, Blackwood D, Pato C, Malhotra A, Purcell S, Dudbridge F, Neale B, Rossin L, Visscher P, Posthuma D, Ruderfer D, Fanous A, Stefansson H, Steinberg S, Mowry B, Golimbet V, Hert M de, Jönsson E, Bitter I, Pietiläinen O, Collier D, Tosato S, Agartz I, Albus M, Alexander M, Amdur R, Amin F, Bass N, Bergen S, Black D, Børglum A, Brown M, Bruggeman R, Buccola N, Byerley W, Cahn W, Cantor R, Carr V, Catts S, Choudhury K, Cloninger C, Cormican P, Craddock N, Danoy P, Datta S, Hann L de, Demontis D, Dikeos D, Djurovic S, Donnelly P, Donohoe G, Duong L, Dwyer S, Fink-Jensen A, Freedman R, Freimer N, Friedl M, Georgieva L, Giegling I, Gill M, Glenthøj B, Godard S, Hamshere M, Hansen M, Hansen T, Hartmann A, Henskens F, Hougaard D, Hultman C, Ingason A, Jablensky A, Jakobsen K, Jay M, Jürgens G, Kahn R, Keller M, Kenis G, Kenny E, Kim Y, Kirov G, Konnerth H, Konte B, Krabbendam L, Krausnick R, et al. (2011) Genome-wide association study identifies five new schizophrenia loci. *Nat Genet* 43(10): 969–976.

Rizos E, Papathanasiou M, Michalopoulou P, Mazioti A, Douzenis A, Kastania A, Nikolaidou P, Laskos E, Vasilopoulou K, Lykouras L (2011) Association of serum BDNF levels with hippocampal volumes in first psychotic episode drug-naive schizophrenic patients. *Schizophr Res* 129(2-3): 201–204.

Ruano D, Aulchenko Y, Macedo A, Soares M, Valente J, Azevedo M, Hutz M, Gama C, Lobato M, Belmonte-de-Abreu P, Goodman A, Pato C, Heutink P, Palha J (2008) Association of the gene encoding neurogranin with schizophrenia in males. *J Psychiatr Res* 42(2): 125–133.

Rujescu D (2007) Genetik der Schizophrenie. *BIOspektrum* 13(07): 727–729.

Rushe T, Woodruff P, Murray R, Morris R (1999) Episodic memory and learning in patients with chronic schizophrenia. *Schizophr Res* 35(1): 85–96.

Saß H (Hrsg) Diagnostisches und statistisches Manual psychischer Störungen. Textrevision - DSM-IV-TR ; übersetzt nach der Textrevision der 4. Aufl. Hogrefe, Verl. für Psychologie, Göttingen, Bern, Toronto, Seattle (2003).

Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium (2014) Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature* 511(7510): 421–427.

- Seidah N, Benjannet S, Pareek S, Chrétien M, Murphy R (1996) Cellular processing of the neurotrophin precursors of NT3 and BDNF by the mammalian proprotein convertases. *FEBS Lett* 379(3): 247–250.
- Seitz J, Zuo J, Lyall A, Makris N, Kikinis Z, Bouix S, Pasternak O, Fredman E, Duskin J, Goldstein J, Petryshen T, Meshulam-Gately R, Wojcik J, McCarley R, Seidman L, Shenton M, Koerte I, Kubicki M (2016) Tractography analysis of 5 white matter bundles and their clinical and cognitive correlates in early-course schizophrenia. *Schizophr Bull* 42(3): 762–771.
- Shi Z (2012) *Intelligence Science*. World Scientific, Singapore: 378–432.
- Sleiman P, Wang D, Glessner J, Hadley D, Gur R, Cohen N, Li Q, Hakonarson H (2013) GWAS meta analysis identifies TSNARE1 as a novel Schizophrenia / Bipolar susceptibility locus. *Sci Rep* 3: 3075.
- Smith E, Bloss C, Badner J, Barrett T, Belmonte P, Berrettini W, Byerley W, Coryell W, Craig D, Edenberg H, Eskin E, Foroud T, Gershon E, Greenwood T, Hipolito M, Koller D, Lawson W, Liu C, Lohoff F, McInnis M, McMahon F, Mirel D, Murray S, Nievergelt C, Nurnberger J, Nwulia E, Paschall J, Potash J, Rice J, Schulze T, Scheftner W, Panganiban C, Zaitlen N, Zandi P, Zöllner S, Schork N, Kelsoe J (2009) Genome-wide association study of bipolar disorder in European American and African American individuals. *Mol Psychiatry* 14(8): 755–763.
- Smoller J, Ripke S, Lee P, Neale B, Nurnberger J, Santangelo S, Sullivan P, Perlis R, Purcell S, Fanous A, Neale M, Rietschel M, Schulze T, Thapar A, Anney R, Buitelaar J, Farone S, Hoogendijk W, Levinson D, Lesch K, Riley B, Schachar R, Sonuga-Barke E, Absher D, Agartz I, Akil H, Amin F, Andreassen O, Anjorin A, Arking D, Asherson P, Azevedo M, Backlund L, Badner J, Banaschewski T, Barchas J, Barnes, Bass N, Bauer M, Bellivier F, Bergen S, Berrettini W, Bettecken T, Biederman J, Binder E, Black D, Blackwood D, Bloss C, Boehnke M, Di Boomsma, Breen G, Breuer R, Buccola N, Bunner W, Burmeister M, Buxbaum J, Byerley W, Sian C, Cantor R, Chakravarti A, Chambert K, Chicon S, Cloniger C, Collier D, Cook E, Coon H, Corvin A, Coryell W, Craig D, Craig I, Curtis D, Czamara D, Daly M, Datta S, Day R, Geus E de, Degenhardt F, Devlin B, Srdjan D, Doyle A, Duan J, Dudbridge F, Edenberg H, Elkin A, Etain B, Farmer A, Ferreira M, Ferrier I, Flickinger M, Foroud T, Frank J, Franke B, Fraser C, Freedman R, Freimer N, Friedl M, Frisén L, Gejman P, Georgieva L, Gershon E, et al. (2013) Identification of risk loci with shared effects on five major psychiatric disorders: a genome-wide analysis. *Lancet* 381(9875): 1371–1379.
- Smrt R, Szulwach K, Pfeiffer R, Li X, Guo W, Pathania M, Teng Z-Q, Luo Y, Peng J, Bordey A, Jin P, Zhao X (2010) MicroRNA miR-137 regulates neuronal maturation by targeting ubiquitin ligase mind bomb-1. *Stem cells* 28(6): 1060–1070.
- Sohn H, Kim B, Kim K, Kim M-K, Choi T, Lee S-H (2014) Effects of VRK2 (rs2312147) on white matter connectivity in patients with schizophrenia. *PloS one* 9(7):e103519.
- Squire L (1982) The neuropsychology of human memory. *Annu Rev Neurosci* 5: 241–273.
- Stefansson H, Ophoff R, Steinberg S, Andreassen O, Cichon S, Rujescu D, Werge T, Pietiläinen, Olli P. H., Mors O, Mortensen P, Sigurdsson E, Gustafsson O, Nyegaard M, Tuulio-Henriksson A, Ingason A, Hansen T, Suvisaari J, Lonnqvist J, Paunio T, Børglum A, Hartmann A, Fink-Jensen A, Nordentoft M, Hougaard D, Norgaard-Pedersen B, Böttcher Y, Olesen J, Breuer R, Möller H-J, Giegling I, Rasmussen H, Timm S, Mattheisen M, Bitter I, Réthelyi J, Magnusdottir B, Sigmundsson T, Olason P, Masson G, Gulcher J, Haraldsson M, Fossdal R, Thorgeirsson T, Thorsteinsdottir U, Ruggeri M, Tosato S, Franke B, Strengman E, Kiemeny L, GROUP†, Melle I, Djurovic S, Abramova L, Kaleda V, Sanjuan J, Frutos R de, Bramon E, Vassos E, Fraser G, Ettinger U, Picchioni M, Walker N, Toulopoulou T, Need A, Ge D, Lim

- Yoon J, Shianna K, Freimer N, Cantor R, Murray R, Kong A, Golimbet V, Carracedo A, Arango C, Costas J, Jönsson E, Terenius L, Agartz I, Petursson H, Nöthen M, Rietschel M, Matthews P, Muglia P, Peltonen L, St Clair D, Goldstein D, Stefansson K, Collier D, Kahn R, Linszen D, van Os J, Wiersma D, Bruggeman R, Cahn W, Haan L de, Krabbendam L, Myin-Germeys I (2009) Common variants conferring risk of schizophrenia. *Nature*.
- Steinberg S, Jong S de, Andreassen O, Werge T, Borglum A, Mors O, Mortensen P, Gustafsson O, Costas J, Pietilainen, O. P. H., Demontis D, Papiol S, Huttenlocher J, Mattheisen M, Breuer R, Vassos E, Giegling I, Fraser G, Walker N, Tuulio-Henriksson A, Suvisaari J, Lonnqvist J, Paunio T, Agartz I, Melle I, Djurovic S, Strengman E, Jurgens G, Glenthøj B, Terenius L, Hougaard D, Orntoft T, Wiuf C, Didriksen M, Hollegaard M, Nordentoft M, van Winkel R, Kenis G, Abramova L, Kaleda V, Arrojo M, Sanjuan J, Arango C, Sperling S, Rossner M, Ribolsi M, Magni V, Siracusano A, Christiansen C, Kiemenev L, Veldink J, van den Berg, L., Ingason A, Muglia P, Murray R, Nothen M, Sigurdsson E, Petursson H, Thorsteinsdottir U, Kong A, Rubino I, Hert M de, Rethelyi J, Bitter I, Jonsson E, Golimbet V, Carracedo A, Ehrenreich H, Craddock N, Owen M, O'Donovan M, Ruggeri M, Tosato S, Peltonen L, Ophoff R, Collier D, St Clair D, Rietschel M, Cichon S, Stefansson H, Rujescu D, Stefansson K (2011) Common variants at VRK2 and TCF4 conferring risk of schizophrenia. *Hum Mol Genet* 20(20): 4076–4081.
- Tandon R, Keshavan M, Nasrallah H (2008) Schizophrenia, "Just the Facts": what we know in 2008 part 1: overview. *Schizophr Res* 100(1-3): 4–19.
- Tesli M, Wirgenes K, Hughes T, Bettella F, Athanasiu L, Hoseth E, Nerhus M, Lagerberg T, Steen N, Agartz I, Melle I, Dieset I, Djurovic S, Andreassen O (2016) VRK2 gene expression in schizophrenia, bipolar disorder and healthy controls. *Br J Psychiatry* 209(2): 114–120.
- The International HapMap Consortium (2003) The International HapMap Project. *Nature* 426(6968): 789–796.
- Tiveron C, Fasulo L, Capsoni S, Malerba F, Marinelli S, Paoletti F, Piccinin S, Scardigli R, Amato G, Brandi R, Capelli P, D'Aguzzo S, Florenzano F, La Regina F, Lecci A, Manca A, Meli G, Pistillo L, Berretta N, Nisticò R, Pavone F, Cattaneo A (2013) ProNGF\NGF imbalance triggers learning and memory deficits, neurodegeneration and spontaneous epileptic-like discharges in transgenic mice. *Cell Death Differ* 20(8): 1017–1030.
- Tsuang M, Bar J, Stone W, Faraone S (2004) Gene-environment interactions in mental disorders. *World Psychiatry* 3(2): 73–83.
- Tulving E, Donaldson W, Bower GH (ed) Organization of memory. Academic Press, New York (1972).
- Turpeinen H, Seppälä I, Lyytikäinen L-P, Raitoharju E, Hutri-Kähönen N, Levula M, Oksala N, Waldenberger M, Klopp N, Illig T, Mononen N, Laaksonen R, Raitakari O, Kähönen M, Lehtimäki T, Pesu M (2015) A genome-wide expression quantitative trait loci analysis of proprotein convertase subtilisin/kexin enzymes identifies a novel regulatory gene variant for FURIN expression and blood pressure. *Hum Genet* 134(6): 627–636.
- Tyszkiewicz J, Gu Z, Wang X, Cai X, Yan Z (2004) Group II metabotropic glutamate receptors enhance NMDA receptor currents via a protein kinase C-dependent mechanism in pyramidal neurones of rat prefrontal cortex. *J Physiol* 554(Pt 3): 765–777.
- Vassos E, Agerbo E, Mors O, Pedersen C (2016) Urban-rural differences in incidence rates of psychiatric disorders in Denmark. *Br J Psychiatry* 208(5): 435–440.

Veling W, Susser E, van Os J, Mackenbach J, Selten J-P, Hoek H (2008) Ethnic density of neighborhoods and incidence of psychotic disorders among immigrants. *Am J Psychiatry* 165(1): 66–73.

Walton E, Geisler D, Hass J, Liu J, Turner J, Yendiki A, Smolka M, Ho B-C, Manoach D, Gollub R, Roessner V, Calhoun V, Ehrlich S (2013) The impact of genome-wide supported schizophrenia risk variants in the neurogranin gene on brain structure and function. *PLoS one* 8(10):e76815.

Weinberger D (1987) Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 44(7): 660–669.

Wittchen H, Zaudig M, Fydrich T (1997) *Strukturiertes Klinisches Interview für DSM IV. Manual zum SKID I und SKID II.*

World Health Organization (2001) *Mental Health Report 2001. Mental Health: New Understanding, New Hope.* World Health Organization, Geneva.

Xiao X, Luo X-j, Chang H, Liu Z, Li M (2016) Evaluation of European schizophrenia GWAS loci in Asian populations via comprehensive meta-analyses. *Mol Neurobiol.*

Yasuda O, Fukuo K, Sun X, Nishitani M, Yotsui T, Higuchi M, Suzuki T, Rakugi H, Smithies O, Maeda N, Ogihara T (2006) Apop-1, a novel protein inducing cyclophilin D-dependent but Bax/Bak-related channel-independent apoptosis. *J Biol Chem* 281(33): 23899–23907.

Zentner J, Wolf H, Helmstaedter C, Grunwald T, Aliashkevich A, Wiestler O, Elger C, Schramm J (1999) Clinical relevance of amygdala sclerosis in temporal lobe epilepsy. *J Neurosurg* 91(1): 59–67.

Zhang X, Liang J, Chen D, Xiu M, Yang F, Kosten T, Kosten T (2012) Low BDNF is associated with cognitive impairment in chronic patients with schizophrenia. *Psychopharmacology* 222(2): 277–284.

Zhu X, Gu H, Liu Z, Xu Z, Chen X, Sun X, Zhai J, Zhang Q, Chen M, Wang K, Deng X, Ji F, Liu C, Li J, Dong Q, Chen C (2013) Associations between TCF4 gene polymorphism and cognitive functions in schizophrenia patients and healthy controls. *Neuropsychopharmacology* 38(4): 683–689.

8 Thesen

1. Die Schizophrenie ist eine Erkrankung multifaktorieller Genese, die eine hohe Heritabilität aufweist. Vermutlich liegt ein polygener Erbgang zu Grunde.
2. Die Schizophrenie ist mit genetischen Varianten (Single Nucleotide Polymorphisms; SNPs) assoziiert. Dabei kann die Assoziation sowohl positiv, als auch negativ sein.
3. Ist ein SNP positiv mit der Schizophrenie assoziiert, kann dieser als Risiko-SNP fungieren. Ist er negativ assoziiert, kann er einen protektiven Einfluss auf das Erkrankungsrisiko nehmen.
4. Bei Schizophreniepatienten konnten eingeschränkte Gedächtnisleistungen ermittelt werden, die auf mit der Erkrankung assoziierte genetische Auffälligkeiten zurückzuführen sein könnten.
5. Die Schizophrenie-assoziierten SNPs sind mit Leistungen des verbalen Gedächtnisses, erhoben mittels des verbalen Lern- und Merkfähigkeitstests (VLMT), assoziiert. Dabei kann eine Assoziation sowohl mit verbesserten, als auch mit verschlechterten Testergebnissen beobachtet werden.
6. Eine Assoziation mit den VLMT-Leistungen lässt sich sowohl für die Kontrollgruppe, als auch für die Patientengruppe, sowie für die Gesamtstichprobe feststellen.
7. Die Assoziation eines SNPs mit schlechteren oder besseren Testleistungen in der Gesamtstichprobe und der Kontrollgruppe kann auf einen krankheitsunabhängigen Einfluss dieses Polymorphismus auf das verbale Gedächtnis hinweisen.
8. Möglicherweise teilen die Schizophrenie und verbale Gedächtnisstörungen trotz heterogener Studienergebnisse eine gemeinsame genetische Basis.
9. Die identifizierten SNPs könnten Hirnveränderungen bewirken, die ursächlich für die Schizophrenie und verbale Gedächtnisstörungen sind.
10. Diesen hirmorphologischen Auffälligkeiten könnten sowohl in Bezug auf die Schizophrenie, als auch in Bezug auf das verbale Gedächtnis ähnliche genetische Veränderungen zu Grunde liegen.

9 Anlagen

Tabelle 16 Nicht signifikante Polymorphismen der Fall-Kontroll-Studie

| SNP | Allele | | Chr. | Position ^a | Gen | p | OR (95% CI) |
|------------------|--------|----|------|-----------------------|--------------|-------|-----------------------|
| | A1 | A2 | | | | | |
| <i>rs1198588</i> | T | A | 1 | 98552832 | - | NA | NA |
| rs77149735 | G | A | 1 | 243555105 | SDCCAG8* | 0,633 | 1,080 (0,79; 1,48) |
| rs11687313 | G | A | 2 | 201146399 | - | 0,298 | 1,087 (0,93;1,27) |
| rs6704768 | A | G | 2 | 233592501 | GIGYF2* | 0,212 | 1,070 (0,96;1,19) |
| rs11717383 | T | G | 3 | 52287468 | - | 0,244 | 1,065 (0,96;1,18) |
| rs6550435 | T | G | 3 | 36864489 | - | 0,437 | 1,043 (0,94;1,16) |
| rs9845457 | A | G | 3 | 135914476 | MSL2* | 0,938 | 0,996 (0,89;1,11) |
| rs17504622 | C | T | 5 | 152654479 | - | 0,397 | 0,879 (0,65;1,19) |
| rs2910032 | T | C | 5 | 152540354 | - | 0,686 | 1,022 (0,92;1,14) |
| rs12532143 | T | C | 7 | 111025948 | IMMP2L* | 0,798 | 0,985 (0,88;1,10) |
| rs6461049 | T | C | 7 | 2017445 | MAD1L1* | 0,587 | 0,971 (0,87;1,08) |
| <i>rs4129585</i> | C | A | 8 | 143312933 | TSNARE1* | NA | NA |
| <i>rs6984242</i> | A | G | 8 | 60700469 | - | NA | NA |
| rs10764493 | A | G | 10 | 18727999 | CACNB2* | 0,062 | 0,844 (0,71;1,01) |
| rs10838601 | C | G | 11 | 46392825 | DGKZ* | 0,553 | 1,035 (0,92;1,16) |
| <i>rs1157931</i> | A | G | 11 | 24394101 | - | NA | NA |
| rs200520444 | T | G | 11 | 130718226 | LOC100507431 | 0,439 | 1,047 (0,93;1,18) |
| rs2514218 | C | T | 11 | 113392994 | - | 0,175 | 0,927 (0,83;1,03) |
| rs4298967 | G | A | 12 | 2408194 | CACNA1C* | 0,229 | 1,070 (0,96;1,19) |

Fortsetzung nächste Seite

| SNP | Allele | | Chr. | Position ^a | Gen | p | OR (95% CI) |
|-------------------|----------|----------|-----------|-----------------------|----------------|-------|----------------------|
| | A1 | A2 | | | | | |
| rs4766428 | C | T | 12 | 110723245 | ATP2A2* | 0,173 | 1,077 (0,97;1,20) |
| <i>rs61937595</i> | <i>C</i> | <i>T</i> | <i>12</i> | <i>57682956</i> | <i>R3HDM2*</i> | NA | NA |
| <i>rs12887734</i> | <i>G</i> | <i>T</i> | <i>14</i> | <i>104046834</i> | <i>APOPT1*</i> | NA | NA |
| rs11857340 | T | C | 15 | 40572192 | - | 0,967 | 0,998 (0,90;1,11) |
| rs2414718 | A | G | 15 | 61863133 | - | 0,728 | 1,019 (0,92;1,13) |
| rs72930787 | C | T | 18 | 53163569 | TCF4* | 0,849 | 0,977 (0,77;1,24) |
| rs9636107 | A | G | 18 | 53200117 | TCF4* | 0,068 | 1,102 (0,99;1,22) |
| rs5995756 | C | T | 22 | 40000313 | CACNA1I* | 0,358 | 1,050 (0,95;1,17) |

Chr.= Chromosom; *= NCBI build 37; A2= Referenzallel; ^a= Lage im Intron des Gens; -= Lage außerhalb eines Gens; *kursiv*= nicht im HWE; NA= not available

10 Selbstständigkeitserklärung

Ich erkläre an Eides statt, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe. Alle Regeln der guten wissenschaftlichen Praxis wurden eingehalten; es wurden keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht.

Halle/ Saale, 11.12.2017

Marilena Möller

11 Erklärung über frühere Promotionsversuche

Ich erkläre, dass ich mich an keiner anderen Hochschule einem Promotionsverfahren unterzogen bzw. eine Promotion begonnen habe.

Halle/ Saale, 11.12.2017

Marilena Möller

12 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Marilena Möller
 Geburtsdatum: 13.10.1990
 Geburtsort: Oberhausen
 Familienstand: ledig
 Staatsangehörigkeit: deutsch

Ausbildung

11/2016 *Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung*

11/2015- 10/2016 **Studium der Humanmedizin**
 – **Praktisches Jahr** –
 1. Terial: BG Klinikum Bergmannstrost Halle (Chirurgie)
 2. Terial: Kantonsspital Nidwalden (CH) (Orthopädie)
 3. Terial: BG Klinikum Bergmannstrost Halle (Innere)

10/2015 *Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung*

10/2012- 07/2015 **Studium der Humanmedizin**
 – **Klinischer Abschnitt** –
 Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

09/2012 *Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung*

10/2010- 09/2012 **Studium der Humanmedizin**
 – **Vorklinischer Abschnitt** –
 Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

06/2010 *Allgemeine Hochschulreife*

08/2001- 06/2010 Gymnasium Stift Keppel, Hilchenbach

08/1997- 07/2001 Kardinal-von-Galen-Schule, Oberhausen

13 Danksagung

Mein Dank gilt allen, die mich die lange Zeit über bei meiner Promotion unterstützt haben und so - jeder auf seine Art und Weise - zum Gelingen beigetragen haben.

Ich möchte niemanden besonders hervorheben, sondern danke allen Mitarbeitern der Universitätsklinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychotherapie und Psychosomatik der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg unter der Leitung von Prof. Dr. med. Dan Rujescu.

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. Dan Rujescu und Frau PD Dr. rer. biol. hum. Ina Giegling, sowie der gesamten Arbeitsgruppe für die intensive Betreuung und Unterstützung. Jeder, der mir während dieser Zeit zur Seite gestanden hat, darf sich angesprochen fühlen.

Entgegen meiner obigen Ankündigung gilt ein besonderer Dank meiner Familie, die mich fortwährend unterstützt hat und dies sicherlich auch zukünftig tun wird.