

**Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie  
der Universität Würzburg  
Direktor: Prof. Dr. med. J. Deckert**

**Assoziationsuntersuchungen zu schizophrenen und affektiven Psychosen im  
Bereich des EphA4 Gens**

**Inaugural – Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde der  
Medizinischen Fakultät  
der  
Julius-Maximilians-Universität Würzburg**

**vorgelegt von  
Stefan Böhnlein  
aus Tschirn**

**Würzburg, März 2018**

**Referent:** Prof. Dr. med. J. Deckert  
**Koreferent:** Prof. Dr. med. M. Romanos  
**Dekan:** Prof. Dr. med. M. Frosch

**Tag der mündlichen Prüfung: 20.11.2018**

**Der Promovend ist Zahnarzt**

# Inhaltsverzeichnis

|  |    |
|--|----|
| <b>1. Einleitung</b> .....   | 1  |
| <b>1.1 Klassifikation und Differenzierung endogener Psychosen</b> .....        | 2  |
| <b>1.1.1 Klassifikation nach ICD-10</b> .....                                  | 2  |
| <b>1.1.2 Klassifikation nach Leonhard</b> .....                                | 5  |
| <b>1.2 Ätiologie schizophrener und affektiver Psychosen</b> .....              | 8  |
| <b>1.2.1 Neurochemische Hypothesen</b> .....                                   | 8  |
| <b>1.2.2 Störung der neuronalen Synapsenfunktion</b> .....                     | 9  |
| <b>1.2.3 Neurobiologische Entwicklungshypothese</b> .....                      | 10 |
| <b>1.3 Genetische Befunde – klinische Epidemiologie</b> .....                  | 11 |
| <b>1.3.1 Hypothesengeleitete Analysetechniken</b> .....                        | 12 |
| <b>1.3.2 Nicht hypothesengeleitete Analysetechniken</b> .....                  | 12 |
| <b>1.4 Kandidatengen EphA4</b> .....   | 15 |
| <b>1.4.1 Genetische Daten und Befunde zu EphA4</b> .....                       | 15 |
| <b>1.4.2 Genetische Befunde zu Chromosom 2q36.1</b> .....                      | 21 |
| <b>1.4.3 Protein</b> .....   | 22 |
| <b>1.5 Fragestellung</b> .....   | 26 |
| <br>   |    |
| <b>2. Material und Methoden</b> .....  | 28 |
| <b>2.1 Probandenkollektiv</b> .....  | 28 |
| <b>2.2 Verwendete SNPs, Enzyme, Puffer und PCR-Reagenzien</b> .....            | 30 |
| <b>2.2.1 SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms)</b> .....                      | 30 |
| <b>2.2.2 Puffer, Enzyme, Lösungen, verwendete Materialien und Geräte</b> ..... | 31 |
| <b>2.3 Methodischer Überblick</b> .....  | 34 |
| <b>2.3.1 DNA-Extraktion aus EDTA-Blut</b> .....                                | 34 |
| <b>2.3.2 Theoretische Grundlagen der TaqMan-PCR</b> .....                      | 34 |
| <b>2.3.3 Genotypisierung mit TaqMan® Assay</b> .....                           | 36 |
| <b>2.3.4 Statistische Berechnung</b> .....                                     | 36 |
| <b>2.3.5 Statistische Power</b> .....  | 38 |

|  |    |
|--|----|
| <b>3. Ergebnisse</b> .....   | 39 |
| <b>3.1 Assoziationsbefunde für einzelne SNP-Varianten</b> .....          | 39 |
| <b>3.1.1 Einteilung nach ICD-10</b> .....                                | 39 |
| <b>3.1.2 Einteilung in die klinischen Phänotypen nach Leonhard</b> ..... | 43 |
| <b>3.2 Linkage Disequilibrium der untersuchten SNPs</b> .....            | 61 |
| <b>3.3 Haplotypanalysen</b> .....  | 62 |
| <b>3.3.1 Einteilung nach ICD-10</b> .....                                | 62 |
| <b>3.3.2 Einteilung in die klinischen Phänotypen nach Leonhard</b> ..... | 64 |
| <br>   |    |
| <b>4. Diskussion</b> .....   | 66 |
| <br>   |    |
| <b>5. Zusammenfassung</b> .....  | 70 |
| <br>   |    |
| <b>6. Literaturverzeichnis</b> .....                                     | 72 |
| <br>   |    |
| <b>7. Abkürzungsverzeichnis</b> .....                                    | 85 |

## **1. Einleitung**

Psychische Erkrankungen gehören in den modernen Industriegesellschaften zu den häufigsten Krankheiten. Ca. 43% der Bevölkerung entwickeln innerhalb ihres Lebens mindestens einmal eine psychische Störung (Jacobi et al. 2004). Eine Gruppe relativ häufiger psychischer Krankheitsbilder wird unter dem Terminus Schizophrenie zusammengefasst. Schizophrene Erkrankungen treten in allen Ländern, Kulturen und Klimazonen mit ähnlicher Häufigkeit auf. Die Gesamtlebenszeitprävalenz von schizophrenen Erkrankungen liegt bei etwa 1% (Häfner 1993). Demzufolge gibt es in Deutschland ca. 800.000 Menschen, welche mindestens einmal im Leben an einer schizophrenen Psychose erkranken oder erkrankt waren. Laut des Weltgesundheitsberichtes 2001 der Weltgesundheitsorganisation (WHO) litten zum Untersuchungszeitpunkt weltweit aktuell 24 Millionen Menschen an einer Form der Schizophrenie, was eine Punktprävalenz von ca. 0,4% ergibt (World Health Organisation 2011). Neuere Meta-Analysen gehen davon aus, dass ca. 7 von 1000 Personen im Laufe ihres Lebens mindestens einmal an einer Form der Schizophrenie erkranken (Saha et al. 2005). Männer und Frauen sind gleichermaßen betroffen, wobei der Krankheitsausbruch bei Männern statistisch gesehen meist in einem früheren Lebensalter als bei Frauen stattfindet – so liegt das durchschnittliche Erkrankungsalter bei Erstmanifestation bei Männern bei ca. 21 und bei Frauen bei ca. 26 Jahren (Häfner et al. 1991, Schultz 2007).

Schizophrene Psychosen schränken die Lebensqualität der Betroffenen erheblich ein. In schweren Fällen liegt krankheitsbedingt eine derart starke Einschränkung im Alltag der Patienten vor, die keine vollzeitliche Ausübung des Berufes ermöglicht und zudem eine regelmäßige Unterstützung durch dritte Personen erforderlich macht. Auch die Mortalitätsrate ist bei schizophrenen Krankheitsbildern im Vergleich zur gesunden Bevölkerung um ca. 10% erhöht, was sich hauptsächlich durch eine erhöhte Suizidrate erklären lässt (Falkai 2003).

Von schizophrenen Psychosen abzugrenzen sind sogenannte affektive Störungen, bei denen die Betroffenen unter willentlich nicht kontrollierbaren Schwankungen oder einseitigen Auslenkungen ihrer Stimmung oder Affektivität leiden, welche meist von einer Veränderung des allgemeinen Aktivitätsniveaus begleitet werden (WHO 1992).

## **1.1 Klassifikation und Differenzierung endogener Psychosen**

Schon früher wurden schizophrene Erkrankungen mit Begriffen wie Geisteskrankheit, Irresein, Wahnsinn oder Verrücktheit bezeichnet, wobei aufgrund der Vielfältigkeit der unterschiedlichen Phänotypen sich lange Zeit keine klare Klassifizierung und Differenzierung verschiedener Krankheitsformen etablieren konnte. Das Einheitskonzept psychischer Erkrankungen, das z. B. in der Midtown Manhattan Studie in den USA postuliert wurde, war entscheidend von der Lehre Adolf Meyers (1866-1950) an der Johns-Hopkins-Universität beeinflusst und machte in erster Linie soziale, ökonomische und persönliche Entwicklungsfaktoren für die Verursachung psychischer Erkrankungen verantwortlich. Nach diesem Konzept spielte die Differenzierung zwischen verschiedenen psychischen Erkrankungen keine große Rolle, da persönlichkeitsimmanente Züge, sozialer Stress und umweltbezogene Probleme generell als Ursache für alle Psychosen angenommen wurden (Fichter 1990).

### **1.1.1 Klassifikation nach ICD-10**

Das heute weltweit gebräuchlichste Klassifikationssystem International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems (ICD, WHO 1992) greift zur Einteilung der schizophrenen Erkrankungsformen im Wesentlichen auf die Erkenntnisse von Kurt Schneider (1887-1967) zurück. Schneider unterschied bei der Schizophrenie zwischen Symptomen ersten und zweiten Ranges. Im Vordergrund stehen hierbei nicht der Verlauf und die langfristige Prognose der Erkrankung, sondern die Diagnose erfolgt hauptsächlich aufgrund des phänomenologischen Querschnitts bestimmter Symptome. Beim Auftreten von wenigstens einem Symptom ersten Ranges gilt nach Schneiders Konzept die Diagnose einer schizophrenen Erkrankung als gesichert, sofern beim Patienten keine körperliche Grunderkrankung vorhanden ist. Das Fehlen eines Symptoms ersten Ranges schließt jedoch eine Erkrankung nicht aus (Schmauß 2006). Symptome zweiten Ranges treten bei einer Schizophrenie ebenfalls häufig auf, allerdings ist hier die Spezifität geringer als bei den Erstrangsymptomen, d. h. sie treten häufig auch als Begleiterscheinungen von anderen Erkrankungen auf und lassen damit keine sichere Diagnose einer Schizophrenie zu (Schneider 2007).

Das ICD-10 benennt neun verschiedene Symptomgruppen, wobei von den festgestellten Symptomen mindestens einen Monat lang ein Symptom der Gruppen a bis d und/oder mindestens zwei Symptome der Gruppen e bis h zur Diagnose einer Schizophrenie vorliegen müssen (Tab. 1).

**Tabelle 1: Leitlinien zur Diagnose einer Schizophrenie (WHO 1992)**

| <b>Symptome der Gruppen a-d</b>   |
|---|
| a) Gedankenlautwerden, Gedankeneingebung oder Gedankenentzug, Gedankenausbreitung   |
| b) Kontrollwahn, Beeinflussungswahn, Gefühl des Gemachten, Wahnwahrnehmungen  |
| c) Kommentierende oder dialogische Stimmen  |
| d) Anhaltender, kulturell unangemessener und völlig unrealistischer Wahn  |
| <b>Symptome der Gruppen e-h</b>   |
| e) Anhaltende Halluzinationen jeder Sinnesmodalität, begleitet von flüchtigen Wahngedanken oder überwertigen Ideen                |
| f) Gedankenabreißen oder Einschreibungen in den Gedankenfluss, was zu Zerfahrenheit, Danebenreden oder Neologismen führt          |
| g) Katatone Symptome wie Erregung, Haltungstereotypien oder wächserne Biagsamkeit, Negativismus, Mutismus und Stupor              |
| h) „Negative“ Symptome wie auffällige Apathie, verflachte oder inadäquate Affekte   |
| i) Deutliche und konstante Veränderung im persönlichen Verhalten (Interessensverlust, Ziellosigkeit, Müßigkeit, sozialer Rückzug) |

Die Schizophrenie wird gemäß klinischer Symptomatik weiter unterteilt in eine paranoide Schizophrenie (F20.0), eine hebephrene Schizophrenie (F20.1) und eine katatone Schizophrenie (F20.2). Sofern bei Erfüllung der diagnostischen Kriterien für Schizophrenie (F20) keines der klassischen Symptome prägnant hervortritt, kann eine Zuordnung zum Subtyp der undifferenzierten Schizophrenie (F20.3) erfolgen. Nach einer schizophrenen Psychose kann sich eine länger anhaltende depressive Episode entwickeln, wodurch eine postschizophrene Depression (F20.4) diagnostiziert werden kann. Ein chronisches Stadium in der Entwicklung einer schizophrenen Psychose mit eindeutiger Verschlechterung von einem früheren zu einem späteren Stadium, welches durch langandauernde, jedoch nicht zwingend irreversible „negative“ Symptome charakterisiert ist, wird als schizophres Residuum (F20.5) bezeichnet. Zusätzlich sind weitere Subtypen wie die Schizophrenia simplex (F20.6), die sonstigen Schizophrenien (F20.8) und die nicht näher bezeichnete Schizophrenie (F20.9) definiert (Dilling et al 2010).

Bei den affektiven Störungen werden unipolare von bipolaren Verlaufsformen unterschieden. Die hauptsächlichen Merkmale von affektiven Störungen liegen in erster Linie in klinisch auffälligen Veränderungen der Stimmungslage oder der Affektivität entweder zur Depression - mit oder ohne begleitende(r) Angst - oder zur gehobenen Stimmung, welche meist von einer Veränderung des allgemeinen Aktivitätsniveaus begleitet wird. Sie treten phasenhaft auf, d.h. zeitlich abgrenzbar (episodisch) innerhalb einer vorher und nachher normalen, ausgeglichenen affektiven Verfassung auf, wobei eine Episode häufig mit belastenden Ereignissen oder Situationen in Zusammenhang gebracht werden kann. Bei den meisten Formen sind Rezidive häufig.

Im aktuellen ICD-10-System werden affektive Störungen untergliedert in manische Episoden (F30), bipolare affektive Störungen (F31), depressive Episoden (F32), rezidivierende depressive Störungen (F33) und anhaltende affektive Störungen (F34). Daneben finden sich andere affektive Störungen (F38) und nicht näher bezeichnete affektive Störungen (F39). F30-38 werden dabei in weitere Subtypen untergliedert (WHO 1992).

Häufig sind aufgrund unscharfer Abgrenzungen der einzelnen Krankheitsformen bei ein und demselben Patienten im Laufe der Zeit unterschiedliche Diagnosen möglich,



weshalb sich eine genaue und eindeutige Zuordnung im Längsverlauf oft schwierig gestaltet.

### **1.1.2 Klassifikation nach Leonhard**

In dieser Arbeit findet bei den vorliegenden Untersuchungen zusätzlich auch das Klassifikationssystem von Karl Leonhard (1904-1988) Verwendung. Im Gegensatz zur ICD-10-Klassifikation berücksichtigt das Klassifikationssystem von Leonhard auch die Prognose und die Verlaufsform der jeweiligen Erkrankung. Durch die exakte Definition der einzelnen Krankheitsbilder ist auch im Krankheitsverlauf eine diagnostische Stabilität und Reliabilität gewährleistet (Leonhard 1957).

Karl Leonhard nahm basierend auf den Arbeiten von Wernicke (1848-1905) und Kleist (1879-1960) eine Differenzierung der Krankheitsbilder auf symptomatischer Ebene vor. Im Wesentlichen unterteilte er in drei verschiedene Gruppen, welche sich erheblich in Verlauf und Prognose unterscheiden. Die Erkrankungen des schizophrenen Formenkreises nach ICD-10 werden nach Leonhard in die Hauptgruppen der systematischen Schizophrenien, unsystematischen Schizophrenien und zykliden Psychosen aufgeteilt und nach der vorherrschend betroffenen psychopathologischen Grundebene (Psychomotorik, Affekt, Denken) unterschieden. Somit ergeben sich nach der weiteren Unterteilung auf symptomatischer Ebene die in Tabelle 2 genannten klinischen Phänotypen. Bei den systematischen Schizophrenien wird zwischen insgesamt sechs Subtypen der systematischen Katatonien, vier Subtypen der Hebephrenien und sechs Subtypen der Paraphrenien unterschieden (Leonhard 1991).

**Tabelle 2: Klassifikation schizophrener Psychosen nach Leonhard (Leonhard 1991)**

| <b>Psychopathologische Grundebene</b> | <b>Systematische Schizophrenien</b>    | <b>Unsystematische Schizophrenien</b> | <b>Zykloide Psychosen</b> |
|---------------------------------------|--|---------------------------------------|---------------------------|
| <b>Psychomotorik</b>                  | Systematische Katatonien<br>(6 Formen) | Periodische Katatonie                 | Motilitätspsychose        |
| <b>Affekt</b>                         | Hebephrenien<br>(4 Formen)             | Affektvolle Paraphrenie               | Angst-Glücks-Psychose     |
| <b>Denken</b>                         | Paraphrenien<br>(6 Formen)             | Kataphasie                            | Verwirrtheitspsychose     |

Die systematischen Schizophrenien beginnen in der Regel schleichend und zeichnen sich durch eine rasche Progredienz innerhalb weniger Jahre zu stabilen charakteristischen, genau definierten Residualsyndromen ohne abgrenzbare Krankheitsschübe aus. Sie werden weiter untergliedert in Katatonien, Hebephrenien und Paraphrenien. Der Zeitpunkt der Erstmanifestation von Katatonien und Hebephrenien liegt bei den meisten Patienten im 3. Lebensjahrzehnt, gelegentlich lässt sich auch ein Auftreten schon kurz nach der Pubertät feststellen. Im Gegensatz dazu treten Paraphrenien nur selten vor dem 25. Lebensjahr auf, in den häufigsten Fällen liegt der Zeitpunkt der Erstmanifestation um das 30. Lebensjahr (Leonhard 1991).

Die systematischen Katatonien sind hauptsächlich durch eine spezifische qualitative Veränderung der Psychomotorik charakterisiert. Leonhard unterschied im klinischen Bild 6 Formen: parakinetisch, maniert, proskinetisch, negativistisch, sprechbereit und sprachträge. Charakteristisch für jede Form der Hebephrenie ist eine Störung des Affekts. Systematische Hebephrenien werden weiterhin unterteilt in eine läppische, eine verschrobene, eine flache und eine autistische Form. Systematische Paraphrenien zeichnen sich vor allem durch spezifische Wahnvorstellungen und Halluzinationen aus. Leonhard unterschied dabei zwischen einer hypochondrischen, einer phonemischen,

einer inkohärenten, einer phantastischen, einer konfabulatorischen und einer expansiven Form (Leonhard 1991).

Im Vergleich zu den systematischen Schizophrenien verlaufen die unsystematischen Schizophrenien nicht schleichend, sondern in akuten Schüben und sind außerdem durch eine bipolare Anlage charakterisiert. Es besteht ebenfalls eine charakteristische Symptomatik mit Kernsymptomen, wobei der Schweregrad in der Symptomgestaltung unterschiedlich ist (Leonhard 2003). Die Langzeitprognose ist verglichen mit den systematischen Schizophrenien günstiger und Teilremissionen sind häufiger. Antipsychotika zeigen bei unsystematischen Schizophrenien eine bessere Wirksamkeit und können das Auftreten tiefgreifender Residualsyndrome durch Verkürzung der Krankheitsschübe reduzieren (Leonhard 1965). Jede Form der unsystematischen Schizophrenie kennzeichnet ein für die jeweilige Erkrankung charakteristisches Syndrom mit erregtem und gehemtem Pol. Man unterscheidet bei den unsystematischen Schizophrenien zwischen periodischer Katatonie, affektvoller Paraphrenie und Kataphasie. Die Variationsbreite beim Verlauf und vor allem bei der Schwere des Endzustandes ist wesentlich größer als bei den systematischen Schizophrenien.

Die zykliden Psychosen sind phasische Psychosen mit paranoid-halluzinatorischer Symptomatik und bilden die 3. Gruppe in der Einteilung der schizophrenen Psychosen. Sie werden unterteilt in akinetisch-hyperkinetische Motilitätspsychose, Angst-Glücks-Psychose und erregt-gehemmte Verwirrtheitspsychose. Bei den zykliden Psychosen liegt analog zu den unsystematischen Schizophrenien ebenfalls eine Bipolarität vor (Leonhard 1991). Die familiäre Häufung ist hierbei jedoch – anders als bei den unsystematischen Schizophrenien – gering (Pfulmann et al. 2004). Zyklide Psychosen sind remittierend im Verlauf und der bipolare Charakter ist noch stärker ausgeprägt als bei den unsystematischen Schizophrenien (Leonhard 1991).

Des Weiteren beschreibt Leonhard rein affektive Psychosen mit phasischem Verlauf: reine Manie, reine Melancholie, reine Depression (5 Subtypen), reine Euphorie (5 Subtypen) und manisch-depressive Erkrankung (Leonhard 1991).

## **1.2 Ätiologie schizophrener und affektiver Psychosen**

Der Entstehung von schizophrenen und affektiven Psychosen liegt eine multifaktorielle Genese, also ein Zusammenspiel aus verschiedenen biologischen und psychosozialen Faktoren, zugrunde. Einen Ansatz hierfür bietet das Vulnerabilitäts-Stress-Modell oder auch Diathese-Stress-Modell. Hierbei wird davon ausgegangen, dass eine individuelle primär unspezifische, neuropsychophysiologisch vorstellbare Verletzlichkeit vorliegt, welche unter dem Einfluss interner und externer Stressfaktoren zur Entstehung einer Psychose führen kann. Konkret bedeutet dies, dass Individuen mit geringer Vulnerabilität erst bei hoher Stressintensität erkranken, während bei Menschen mit hoher Vulnerabilität eine Erkrankung bereits bei niedriger Stressintensität auftreten kann (Zubin und Spring 1977). Wenngleich dieses Modell komplexe und multifaktorielle Ursachen darzustellen vermag und auch unterschiedliche Verläufe abbilden kann, so liefert es jedoch weder eine umfassende Begründung, noch trifft es eine Aussage über die Gewichtung der einzelnen Faktoren sowie deren gegenseitiger Interaktion.

### **1.2.1 Neurochemische Hypothesen**

Seit langer Zeit werden Störungen im Bereich verschiedener Neurotransmittersysteme als mögliche Ursachen für die Entstehung einer schizophrenen Erkrankung diskutiert (Snyder et al. 1974, Carlsson und Carlsson 1990, Carlsson et al. 1997, Reynolds et al. 2002). Nach der Dopaminhypothese beruht die Wirkung der Antipsychotika auf einer Verringerung der überschießenden Aktivierung von dopaminergen Neuronen des mesolimbischen Systems (Davis et al. 1991). Der Dopaminhypothese steht die Beobachtung entgegen, dass die klinische Wirkung klassischer Antipsychotika deutlich später als deren pharmakologische Wirkung eintritt und somit die antipsychotische Wirksamkeit der Dopaminantagonisten wahrscheinlich auf einem indirekten Mechanismus beruht (Grace 1992).

Ein weiteres Neurotransmittersystem, welches bei der Pathobiologie schizophrener Erkrankungen einen wichtigen neurochemischen Erklärungsansatz bietet, ist Glutamat. Glutamat ist der häufigste exzitatorische Neurotransmitter, der von ca. 70% aller Synapsen im ZNS verwendet wird. Bereits 1980 ergaben sich Hinweise auf eine

Unterfunktion des Glutamatsystems bei Schizophrenie, als in einer Untersuchung bei an Schizophrenie erkrankten Patienten die Glutamatkonzentration im Liquor um ca. 50% verringert war (Kim et al. 1980). In weiteren Studien konnte gezeigt werden, dass eine medikamenteninduzierte Unterfunktion, welche durch Anwendung von NMDA-Rezeptorantagonisten erzielt wurde, auch an gesunden Probanden Schizophrenie-ähnliche Symptome verursacht. Im Wesentlichen konnten Positivsymptome, Negativsymptome, kognitive Störungen (Newcomer et al. 1999) sowie Veränderungen der Hirnperfusion (Breier et al. 1997, Vollenweider et al. 1997) beobachtet werden. In einer kontrollierten Untersuchung wurde außerdem auch eine klinische Wirksamkeit von Glutamat-aktiven Substanzen bei schizophrenen Patienten postuliert (Patil et al. 2007). Weitere Untersuchungen zeigten jedoch keine nennenswerte Verbesserung der Symptomatik bei zusätzlicher Verabreichung von Glutamat-aktiven Substanzen zu klassischen Antipsychotika (Tuominen et al. 2006).

Bei affektiven Störungen konnte hingegen bereits in den 60er Jahren ein Zusammenhang zwischen Erkrankungsrisiko und einem Mangel an Katecholaminen von drei unabhängig voneinander arbeitenden Forschungsgruppen beschrieben werden (Schildkraut 1965, Bunney und Davis 1965, Matussek 1966). Insbesondere konnte ein absoluter oder relativer Mangel an Noradrenalin an den zentralen adrenergen Rezeptoren mit der Entstehung einer Depression in Verbindung gebracht werden, während hingegen ein Überschuss an Noradrenalin zu einer übersteigerten Stimmung führte (Schildkraut 1965).

### **1.2.2 Störung der neuronalen Synapsenfunktion**

Bei der Pathogenese schizophrener Erkrankungen konnten außerdem auch Veränderungen der Synapsenfunktion und des postsynaptischen Signalkomplexes als mögliche Ursachen festgestellt werden. Sowohl durch genomweite Assoziationsstudien als auch mittels CNV-Analysen und Sequenzierungen konnten Hinweise auf Störungen der Synapsenfunktion bei Erkrankten gefunden werden. Beispielsweise ergab eine genomweite Assoziationsstudie mit knapp 10.000 Probanden eine Assoziation für eine Gruppe von 1.026 synaptischen Genen mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko für Schizophrenie (Lips et al. 2012). Mittels einer de novo CNV-Analyse wurde

nachgewiesen, dass Schädigungen des postsynaptischen Signalpfades und insbesondere des N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptors (NMDAR), welcher eine wichtige Rolle in der synaptischen Plastizität und Kognition spielt, einen Einfluss auf die Entstehung einer Schizophrenie ausüben (Kirov et al. 2012). Weiterhin ergaben sich Hinweise, dass der Calcium-Signalweg im Zusammenhang mit der Entstehung schizophrener Erkrankungen stehen könnte, wobei hierbei insbesondere eine Beteiligung des Rezeptors CACNA1 vermutet wird (Hertzberg et al. 2015, Lipscombe et al. 2013).

### **1.2.3 Neurobiologische Entwicklungshypothese**

In den letzten beiden Jahrzehnten werden schizophrene Erkrankungen zunehmend auch als Folge einer gestörten Hirnentwicklung betrachtet, da v. a. Teile des zerebralen Cortex bei an Schizophrenie Erkrankten eine veränderte Entwicklung durchlaufen (Alexander-Bloch et al. 2014). Zahlreiche Studien deuten darauf hin, dass bei an Schizophrenie erkrankten Personen Veränderungen in der Struktur des Gehirns vorliegen, wobei ein insgesamt verkleinertes Gehirnvolumen bei gleichzeitiger Vergrößerung der zerebralen Ventrikel festgestellt werden konnte (Nelson et al. 1998, Wright et al. 2000, Steen et al. 2006). Insbesondere die temporalen Ventrikel zeigten in einer weiteren Studie bei Erkrankten eine signifikante Vergrößerung (Vita et al. 2000). Mittels bildgebender Verfahren wie beispielsweise der Magnetresonanztomographie (MRT) konnten in den letzten Jahren auch in vivo detaillierte Befunde über strukturelle Gehirnanomalien an Erkrankten erhoben werden. So konnte eine deutliche Volumenreduktion der grauen Substanz bei schizophrenen Patienten mesiotemporal, temporal und frontal, insbesondere vor allem im Gyrus temporalis superior und Gyrus frontalis inferior jeweils links, festgestellt werden (Shenton et al. 2001). Möglicherweise ist eine Volumenreduktion des Thalamus ein entscheidender Faktor für diese Volumenzunahme der Ventrikel (Gaser et al. 2004). Mithilfe von neurohistopathologischen Untersuchungen konnten außerdem cytoarchitektonische Störungen in der rostralen entorhinalen Region bei Patienten mit schizophrenen Psychosen post mortem aufgezeigt werden (Beckmann 1999). Auch die Struktur des Hippocampus unterliegt bei schizophrenen Patienten gewissen Veränderungen. Eine Volumenabnahme des Hippocampus ist eine der häufigsten Strukturanomalien bei

schizophrenen Psychosen, welche in geringerem Ausmaß sogar oftmals auch bei Verwandten ersten Grades der Erkrankten gefunden werden kann (Nelson et al. 1998, Sim et al. 2006, Adriano et al. 2012, Arnold et al. 2015, Heckers 2001).

### **1.3 Genetische Befunde – klinische Epidemiologie**

Auf Basis neuerer Metaanalysen (Sullivan et al. 2003) und analytischer Reviews (Cardno und Gottesman 2000) wird die erbliche Komponente bei der Entstehung einer schizophrenen Erkrankung auf 60-80% geschätzt. Während die Wahrscheinlichkeit für eine Erkrankung für ein familiär nicht vorbelastetes Individuum bei ca. 1% liegt, hat ein Verwandter ersten Grades eines Betroffenen eine Erkrankungswahrscheinlichkeit von 6% bis 17%. Ein zweieiiger Zwilling eines schizophrenen Erkrankten hat eine 17-prozentige Erkrankungswahrscheinlichkeit; bei eineiigen Zwillingen liegt diese bei ca. 50% (Gottesman und Shields 1982). Diese hohe Heritabilität gibt Anlass zu der Schlussfolgerung, dass genetische Faktoren bei der Ätiopathogenese schizophrener Erkrankungen eine erhebliche Rolle spielen, es wird jedoch ein Zusammenspiel von genetischer Disposition und gewissen Umwelteinflüssen vermutet (Tsuang 2000). Es treten jedoch auch Krankheitsfälle auf, bei denen keine positive Familienanamnese für Sekundärfälle vorliegt. Für mehr als 50% dieser sporadisch auftretenden Schizophrenien wurden sogenannte *de novo*-Mutationen postuliert (Xu et al. 2011). *De novo*-Mutationen sind neu entstandene Mutationen, welche nicht von einem Elternteil geerbt wurden. Bereits 1995 beschrieb eine amerikanische Forschungsgruppe erstmals eine seltene *de-novo*-Deletion im Bereich 22q11, welche 1-2% der sporadisch auftretenden Krankheitsfälle verursachen könnte (Karayiorgou et al. 1995). Zur Identifizierung bestimmter genetischer Risikofaktoren haben sich vom Konzept her unterschiedliche Analysetechniken bewährt. Einerseits können in Bezug auf bestimmte pathophysiologische Erkrankungsmodelle, z. B. Einflüsse auf die Neurotransmission, hypothesengeleitete Untersuchungen durchgeführt werden. Andererseits können auch hypothesenfreie Untersuchungen durchgeführt werden, wie beispielsweise genomweite Kopplungsanalysen, um Kandidatenregionen bzw. -gene zu identifizieren. Die dadurch identifizierten Gene können anschließend in erweiterten Kollektiven auf Assoziation mit Erkrankungen untersucht werden.

### **1.3.1 Hypothesengeleitete Analysetechniken**

Fall-Kontroll-Assoziationsstudien sind retrospektive Studien und dienen dazu, den Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer Erkrankung und krankheitsassoziierten Risikofaktoren zu erforschen. Es handelt sich um einen Häufigkeitsvergleich, bei dem die Auftrittswahrscheinlichkeit bestimmter zu untersuchender Merkmale bei Probanden und einer Kontrollgruppe verglichen wird.

Bei genetischen Analysen fanden Fall-Kontroll-Studien zunächst bei der Untersuchung von sogenannten Kandidatengen Verwendung und beruhten auf einer bereits bestehenden pathophysiologischen Hypothese. Hierbei wurden Varianten in den Kandidatengen auf eine mögliche Assoziation mit einem bestimmten Phänotyp untersucht. Die Untersuchungen erfolgen mithilfe sogenannter Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs). Ein SNP ist eine geerbte bzw. vererbare Variation eines einzelnen Basenpaares an einer bestimmten zu untersuchenden Position im Genom. SNPs stellen beim Menschen ca. 90% der genetischen Variabilität des Genoms dar. Per Definition ist ein SNP eine Variation in der DNA, welche mit einer Häufigkeit von mindestens 1% auftritt. Bei Variationen mit Auftrittshäufigkeiten unter 1% handelt es sich definitionsgemäß um Mutationen. SNPs können als genetische Marker dienen, um Gene zu lokalisieren, welche mit einer bestimmten Erkrankung assoziiert sind (Genetics Home Reference 2013).

### **1.3.2 Nicht hypothesengeleitete Analysetechniken**

Linkage-Studien untersuchen in der Regel Familienstammbäume mit mehreren erkrankten Personen auf gemeinsame Vererbung chromosomaler Abschnitte. Klassische parametrische Kopplungsanalysen sind jedoch insofern fehleranfällig, als für eine genaue Berechnung das jeweilige Vererbungsmuster (dominant oder rezessiv), die Penetranz sowie die Genfrequenz bekannt sein müssen. Da schizophrenen und affektiven Psychosen eine multifaktorielle Genese zugrunde liegt, können diese Werte nicht genau bestimmt, sondern lediglich abgeschätzt werden, was zu falsch-positiven oder falsch-negativen Ergebnissen führen kann. 2009 wurde eine Meta-Analyse durchgeführt, welcher die Ergebnisse 32 verschiedener genomweiter Linkage-Studien zugrunde lag. Ein genomweiter Nachweis für Linkage gelang im Bereich 2q (118,7-152



Mb). Eine frühere Meta-Analyse von Badner und Gershon untersuchte alle zuvor veröffentlichten Genomscans auf Suszeptibilitätsloci für Schizophrenie und bipolare Störung, wobei sich die stärksten Hinweise für einen möglichen Zusammenhang mit Schizophrenie in den Regionen 8p, 13q und 22q finden ließen (Badner und Gershon 2002).

Fortschritte in der Analytik machten in den letzten Jahren kandidatengenunabhängige genomweite Assoziationsstudien (GWAS) möglich. Genomweit wird dabei das Auftreten bestimmter Allele oder Haplotypen bei Gesunden und Erkrankten miteinander verglichen. Als Haplotyp wird eine Variante der Nukleotidsequenz auf einem bestimmten Chromosom, beispielsweise eine Kombination verschiedener SNPs, bezeichnet. Eine Assoziation mit einem Phänotyp liegt dann vor, wenn bestimmte Allele oder Haplotypen bei Erkrankten häufiger auftreten als dies statistisch gesehen bei einer zufälligen unabhängigen Verteilung zu erwarten wäre, was auf eine Beeinflussung des Erkrankungsrisikos durch das jeweilige Allel bzw. den jeweiligen Haplotyp schließen lässt. Da sich GWAS häufig über unterschiedliche Populationen erstrecken, können sie jedoch aufgrund einer heterogenen Samplezusammensetzung zwischen Fällen und Kontrollen falsch positive Ergebnisse liefern.

In der bisher größten Studie mit 36.989 Fällen und 113.075 Kontrollpersonen konnte das Psychiatric Genomics Consortium 108 Genloci identifizieren, welche signifikant mit schizophrenen Psychosen assoziiert sind. Beispielsweise konnte eine Assoziation mit dem Dopamin D2 Rezeptor (DRD2) gefunden werden, welcher als Bindungsstelle für die klassischen Antipsychotika fungiert (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium 2014). Vor allem die in DRD2 lokalisierten SNPs rs1801028 und rs6277 zeigten bereits in mehreren Studien eine Assoziation mit schizophrenen Psychosen (Yao et al. 2014, Monakhov et al. 2008, Ramsay et al. 2015, Betcheva et al. 2009). Weitere assoziierte Gene sind GRM3, GRIN2A, SRR und GRIA1, welche sowohl die glutamaterge Neurotransmission als auch die synaptische Plastizität beeinflussen (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium 2014). Zusätzlich konnten auch bei den Genen CACNA1C, CACNB2 und CACNA1 Assoziationen festgestellt werden (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium 2014). Letztere regulieren spannungsgesteuerte

Calciumkanäle und wurden ebenfalls bereits in mehreren anderen Studien als Risikofaktoren in Bezug auf schizophrene Erkrankungen identifiziert (Ripke et al. 2013, Hamshere et al. 2013, Ferreira et al. 2008, Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium 2013).

Bei einer Reihe von Studien konnte mittlerweile nachgewiesen werden, dass auch Copy number variations (CNVs) einen genetischen Beitrag an der Entstehung schizophrener Erkrankungen leisten (Bassett et al. 2010, Kirov et al. 2014). Copy number variations sind eine Form struktureller Variation des Erbguts, welche durch Verlust oder Vervielfachung eines chromosomalen Abschnitts im Genom entsteht. Die Länge von CNVs kann dabei mehrere 100 Basen bis einige Megabasen betragen. Bis vor wenigen Jahren herrschte die Annahme, dass jedes Allel normalerweise in zwei Kopien im Genom vorliegt. Mittlerweile stellte sich heraus, dass bestimmte Gene bei unterschiedlichen Individuen in einer unterschiedlichen Anzahl von Kopien vorliegen können, was für die Prädisposition für gewisse Erkrankungen eine Rolle spielen kann (Stankiewicz und Lupski 2010, Redon et al. 2006, Conrad et al. 2010). Bei einer 2014 veröffentlichten CNV-Meta-Analyse gelangte man zum Ergebnis, dass bei 11 der untersuchten Loci ein deutlich signifikanter Nachweis für eine Assoziation mit Schizophrenie erbracht wurde. Die stärkste Signifikanz ergab sich dabei für eine Deletion im Bereich 22q11.2. Als weitere hoch signifikante CNVs konnten beispielsweise eine Duplikation in der Region 16p11.2, eine Deletion in der Region 1q21.1 und eine Deletion im Bereich des Gens NRXN1 identifiziert werden (Rees et al. 2014). Eine 2017 erschienene CNV-Analyse fand zudem weitere statistisch signifikante Loci in den Bereichen 1q21.1, 2p16.3 (NRXN1), 3q29, 7q11.2, 15q13.3, distal 16p11.2, proximal 16p11.2 und 22q11.2 (Marshall et al. 2017).

Da mittlerweile die Sequenzinformation des gesamten menschlichen Genoms verfügbar ist, liegen somit auch die Sequenzen sämtlicher Gene vor. Wenngleich die Funktion vieler Gene noch weitgehend unbekannt ist, erleichtert und beschleunigt die Verfügbarkeit der jeweiligen DNA-Sequenzen trotzdem den Erkenntnisgewinn, da beispielsweise mittels Vergleichsstudien verschiedener Individuen Genvarianten entdeckt werden können, welche zum Teil veränderte Funktionen besitzen und gegebenenfalls zur Kartierung von Krankheitsgenen verwendet werden können (Wink

2011). Mittels Sequenzierung kann die exakte Nukleotid-Abfolge in der DNA bestimmt werden, was folglich auch Untersuchungen genetisch bedingter Erkrankungen durch Analyse einzelner Basen ermöglicht. Durch Automatisierung und Verbesserung der Sequenzierungstechniken wurden neue Analyseverfahren ermöglicht, wie z. B. das sogenannte next generation sequencing. Diese Technologie wird untergliedert in whole-genome sequencing (WGS), bei dem eine Sequenzierung des gesamten Genoms stattfindet, und whole-exome sequencing (WES), bei dem die Sequenzierung auf Protein-codierende Sequenzen beschränkt ist. Next generation sequencing ermöglichte deutliche Fortschritte im Bereich der genetischen Untersuchungen. So ergaben sich beispielsweise Hinweise für ein gehäuftes Auftreten von kleineren de novo-Mutationen, welche nur ein einziges oder einige wenige Nukleotide betreffen, bei bestimmten glutamergen postsynaptischen Proteinen. Als besonders interessant erwiesen sich hierbei Proteine, welche aus Komplexen des aktivitätsregulierten Cytoskeleton-assoziierten Proteins (ARC) sowie des N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptors (NMDAR) bestehen (Fromer et al. 2014). Eine Studie, welche sich der Analyse exomischer Sequenzen widmete, postulierte eine polygene Belastung, welche primär aus seltenen (<0,01%), über vielen Genen verteilten Mutationen entsteht. Dies deutet darauf hin, dass die populationsbasierte Exom-Sequenzierung Risiko-Allele entdecken und die etablierten Gen-Mapping-Paradigmen bei neuropsychiatrischen Erkrankungen ergänzen kann (Purcell et al. 2014).

## **1.4 Kandidatengen EphA4**

### **1.4.1 Genetische Daten und Befunde zu EphA4**

Die vorliegende Arbeit untersucht Varianten im Genbereich EphA4. Eph-Rezeptoren stellen die größte Untergruppe der Rezeptortyrosinkinasen dar und konnten in den letzten Jahren mit einer Vielzahl von zellulären Prozessen in Verbindung gebracht werden. Benannt wurden Eph-Rezeptoren aufgrund ihrer Expression in einer Zelllinie eines Erythropoietin-produzierenden hepatozellulären Karzinoms (Eph Nomenclature Committee 1997). Nach derzeitigem Stand sind 16 verschiedene Eph-Rezeptoren und 9 verschiedene Liganden (Ephrine) bekannt. Eph-Rezeptoren werden in die beiden Subklassen EphA und EphB unterteilt, gemäß ihrer Bindungsaffinität bezüglich

Glykosylphosphatidylinositol-verankerter Ephrin-A-Liganden oder transmembranen Ephrin-B-Liganden (Eph Nomenclature Committee 1997). Beim Menschen sind derzeit 9 EphA- (EphA1-8 und EphA10) und 5 EphB-Rezeptoren (EphB1-4 und EphB6) bekannt (Pitulescu und Adams 2010).

**Tabelle 3: Übersicht der Eph-Rezeptoren beim Menschen**

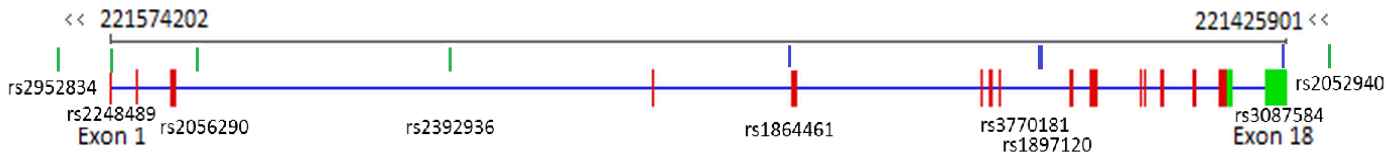
| <b>Eph-Rezeptor</b> | <b>Lage (Homo sapiens) (Chr.)</b> | <b>Ligand (Ephrin)</b>             |
|---------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| EphA1               | 7: 143.39 – 143.41 Mb             | ephrin-A1                          |
| EphA2               | 1: 16.12 – 16.16 Mb               | ephrin-A3, -A1, -A5, -A4           |
| EphA3               | 3: 89.11 – 89.48 Mb               | ephrin-A5, -A2, -A3, -A1           |
| EphA4               | 2: 221.42 – 221.57 Mb             | ephrin-A5, -A1, -A3, -A2, -B2, -B3 |
| EphA5               | 4: 65.32 – 65.67 Mb               | ephrin-A5, -A1, -A2, -A3, -A4      |
| EphA6               | 3: 96.81 – 97.75 Mb               | ephrin-A2, -A1, -A3, -A4, -A5      |
| EphA7               | 6: 93.24 – 93.42 Mb               | ephrin-A2, -A3, -A1                |
| EphA8               | 1: 22.56 – 22.6 Mb                | ephrin-A5, -A3, -A2                |
| EphA10              | 1: 37.71 – 37.77 Mb               | unbekannt                          |
| EphB1               | 3: 134.6 – 135.26 Mb              | ephrin-B2, -B1, -A3                |
| EphB2               | 1: 22.71 – 22.92 Mb               | ephrin-B1, -B2, -B3                |
| EphB3               | 3: 184.56 – 184.58 Mb             | ephrin-B1, -B2, -B3                |
| EphB4               | 7: 100.8 – 100.83 Mb              | ephrin-B2, -B1                     |
| EphB6               | 7: 142.86 – 142.87 Mb             | unbekannt                          |

erstellt nach: Pasquale 1997, Aasheim et al. 2005, UCSC Genome Browser

Das Gen EphA4 liegt beim Menschen auf dem langen Arm von Chromosom 2 in der Region 2q36.1 (221.418.027-221.574.202 bp) und umfasst somit ca. 156 kbp (Human Protein Reference Database). Die molekulare Variabilität von EphA4 wird durch alternatives Spleißen erhöht. Innerhalb von EphA4 wurden verschiedene alternative Spleißstellen identifiziert, aus denen 14 Transkriptvarianten resultieren (Tab. 4). Davon sind acht proteincodierend, zwei dienen vermutlich Nonsense-mediated Decay (Kontrollmechanismus, welcher unerwünschte Stoppcodons in der mRNA identifiziert

und deren Expression als verkürzte Proteine unterbindet) (Frischmeyer und Dietz 1999), und zwei beinhalten vermutlich eine intronische Sequenz (Ensembl Genome Browser).

**Abbildung 1: Übersicht über Lage der Exone, Introne und nicht-codierenden Regionen (UTR) von EphA4 beim menschlichen Organismus auf Chromosom 2 (2q36.1)**



Leserichtung von 5' nach 3'

**rot:** Exone  
**blau:** Introne  
**hellgrün:** nicht-translatierte Regionen  
**violett:** im Rahmen dieser Arbeit analysierte SNPs  
**dunkelgrün:** für die Haplotypanalysen eingeschlossene SNPs

modifiziert nach: <http://refgene.com/gene/2043>

Der Promoterbereich von EphA4 erstreckt sich von bp 222.418.027 bis 222.426.028 und besitzt mehrere DNase-Cluster, welche in den Regionen 221.420.201 bis 221.420.630, 221.422.601 bis 221.422.830, 221.423.261 bis 221.423.450 sowie 221.425.441 bis 221.425.630 beheimatet sind. Es finden sich zwei Peaks mit konservierten regulatorischen Bereichen von bp 222.418.027 bis bp 222.420.553 sowie von bp 222.425.209 bis bp 222.426.143 (UCSC Genome Browser 2016).

**Tabelle 4: Spleißvarianten von EphA4**

| <b>Transkript</b> | <b>Länge [bp]</b> | <b>Protein [aa]</b> | <b>Biotyp</b>                  |
|-------------------|-------------------|---------------------|--------------------------------|
| 1                 | 6346              | 986                 | proteincodierend               |
| 2                 | 3363              | 986                 | proteincodierend               |
| 3                 | 3454              | 949                 | proteincodierend               |
| 4                 | 617               | 91                  | proteincodierend               |
| 5                 | 584               | 177                 | proteincodierend               |
| 6                 | 565               | 188                 | proteincodierend               |
| 7                 | 558               | 149                 | proteincodierend               |
| 8                 | 552               | 126                 | proteincodierend               |
| 9                 | 545               | 38                  | Nonsense-mediated Decay        |
| 10                | 492               | 37                  | Nonsense-mediated Decay        |
| 11                | 2893              | -                   | prozessiertes Transkript       |
| 12                | 531               | -                   | prozessiertes Transkript       |
| 13                | 588               | -                   | beinhaltet intronische Sequenz |
| 14                | 579               | -                   | beinhaltet intronische Sequenz |

erstellt nach: Ensembl Genome Browser

Im Folgenden wird der chromosomale Aufbau von EphA4 mit der jeweiligen Position und Länge aller Exonen und Intronen tabellarisch dargestellt (Tab. 5):

**Tabelle 5: Überblick über den chromosomalen Aufbau von EphA4**

|          | <b>Position</b>             | <b>Länge [bp]</b> |           | <b>Position</b>             | <b>Länge [bp]</b> |
|----------|-----------------------------|-------------------|-----------|-----------------------------|-------------------|
| 5' UTR   |                             |                   |           |                             |                   |
| Exon 1   | 221.574.202-<br>221.573.961 | 242               | Exon 10   | 221.446.181-<br>221.446.123 | 59                |
| Intron 1 |                             | 1.679             | Intron 10 |                             | 2.516             |
| Exon 2   | 221.572.281-<br>221.572.158 | 124               | Exon 11   | 221.443.606-<br>221.443.493 | 114               |
| Intron 2 |                             | 3.372             | Intron 11 |                             | 478               |
| Exon 3   | 221.568.785-<br>221.568.718 | 68                | Exon 12   | 221.443.014-<br>221.442.829 | 186               |
| Intron 3 |                             | 4.323             | Intron 12 |                             | 5.706             |
| Exon 4   | 221.564.394-<br>221.563.731 | 664               | Exon 13   | 221.437.122-<br>221.437.061 | 62                |
| Intron 4 |                             | 62.558            | Intron 13 |                             | 452               |
| Exon 5   | 221.501.172-<br>221.501.017 | 156               | Exon 14   | 221.436.608-<br>221.436.399 | 210               |
| Intron 5 |                             | 18.326            | Intron 14 |                             | 2.107             |
| Exon 6   | 221.482.690-<br>221.482.352 | 339               | Exon 15   | 221.434.291-<br>221.434.142 | 150               |
| Intron 6 |                             | 24.361            | Intron 15 |                             | 3.990             |
| Exon 7   | 221.457.990-<br>221.457.866 | 125               | Exon 16   | 221.430.151-<br>221.429.958 | 194               |
| Intron 7 |                             | 1.093             | Intron 16 |                             | 3.338             |
| Exon 8   | 221.456.772-<br>221.456.613 | 160               | Exon 17   | 221.426.619-<br>221.426.464 | 156               |
| Intron 8 |                             | 954               | Intron 17 |                             | 321               |
| Exon 9   | 221.455.658-<br>221.455.547 | 112               | Exon 18   | 221.426.142-<br>221.425.901 | 242               |
| Intron 9 |                             | 9.365             | 3' UTR    |                             |                   |

Exon-Intron-Struktur von EphA4: Chromosomale Positionen sowie Längen der Exone und Introne sind in bp dargestellt

erstellt nach: Ensembl Genome Browser

In der folgenden Tabelle werden die Exone von EphA4 bezüglich ihrer Länge und Position auf dem Gen dargestellt (Tab. 6):

**Tabelle 6: Exone von EphA4 und codierte Aminosäuren**

| <b>Position auf Gen</b> | <b>Länge [bp]</b> | <b>Aminosäuren</b> |
|-------------------------|-------------------|--------------------|
| 1 - 242                 | 242               |                    |
| 1922 - 2045             | 124               | Met 1 - Val 31     |
| 5418 - 5485             | 68                | Val 31 - Gly 53    |
| 9809 - 10472            | 664               | Trp 54 - Ala 275   |
| 73031 - 73186           | 156               | Ala 275 - Arg 327  |
| 91513 - 91851           | 339               | Arg 327 - Ala 440  |
| 116213 - 116337         | 125               | Ala 440 - Lys 481  |
| 117431 - 117590         | 160               | Asp 482 - Val 535  |
| 118545 - 118656         | 112               | Val 535 - Arg 572  |
| 128022 - 128080         | 59                | Arg 572 - Gly 592  |
| 130597 - 130710         | 114               | Gly 592 - Gly 630  |
| 131189 - 131374         | 186               | Gly 630 - Cys 692  |
| 137081 - 137142         | 62                | Cys 692 - Arg 712  |
| 137595 - 137804         | 210               | Lys 713 - Arg 782  |
| 139912 - 140061         | 150               | Gly 783 - Asp 832  |
| 144052 - 144245         | 194               | Val 833 - Arg 897  |
| 147584 - 147739         | 156               | Arg 897 - Glu 949  |
| 148061 - 148302         | 242               | Glu 949 - Val 986  |

erstellt nach: neXtProt



Beim Spleißen der prä-mRNA werden lediglich die Exone in die reife mRNA eingebaut und miteinander verknüpft, während hingegen die Introne sich in der mRNA nicht wiederfinden. Der Vorgang des Spleißens selbst kann jedoch durch Mutationen im Bereich der Introne verändert werden und ein falsches Prozessieren der prä-mRNA zur Folge haben.

EphA4 ist ein hochkonserviertes Gen, dessen Protein eine bedeutende funktionelle Relevanz besitzt. Bei der Wanderratte (*Rattus norvegicus*) liegt EphA4 auf Chromosom 9q33 und umfasst 142.237 bp. Bei der Hausmaus (*Mus musculus*) ist EphA4 auf Chromosom 1 lokalisiert und umfasst 147.904 bp. Wie beim Menschen besteht das ungekürzte Protein bei Maus und Ratte ebenfalls aus 986 Aminosäuren. Vergleiche der Orthologen ergaben 90% Übereinstimmung bei der cDNA zwischen *Homo sapiens* und *Rattus norvegicus* sowie 91% zwischen *Homo sapiens* und *Mus musculus*, das Protein stimmt im Interspeziesvergleich jeweils zu 99% überein (Tab. 7).

**Tabelle 7: Orthologen von EphA4 (Interspeziesvergleich)**

| Spezies                  | Lokalisation                  | Länge des Gens [bp] | cDNA Übereinstimmung [%] | Länge des Proteins [aa] | Protein Übereinstimmung [%] |
|--------------------------|-------------------------------|---------------------|--------------------------|-------------------------|-----------------------------|
| <i>Homo sapiens</i>      | Chr2: 221.418.027-221.574.202 | 156.176             | 91                       | 986                     | 99                          |
| <i>Rattus norvegicus</i> | Chr9: 83.111.222-83.253.458   | 142.237             |                          | 96                      |                             |
| <i>Mus musculus</i>      | Chr1: 77.367.185-77.515.088   | 147.904             |                          | 96                      |                             |

erstellt nach: Ensembl, HomoloGene

#### 1.4.2 Genetische Befunde zu Chromosom 2q36.1

Mehrere Studien aus den letzten Jahren deuten darauf hin, dass das Kandidatengen EphA4 in einer chromosomalen Region liegt, in der Suszeptibilitätsloci für schizophrene Erkrankungen vermutet werden. In einer landesweiten finnischen Studie konnte ein Suszeptibilitätsloкус im Bereich 2q37 mithilfe des polymorphen Markers

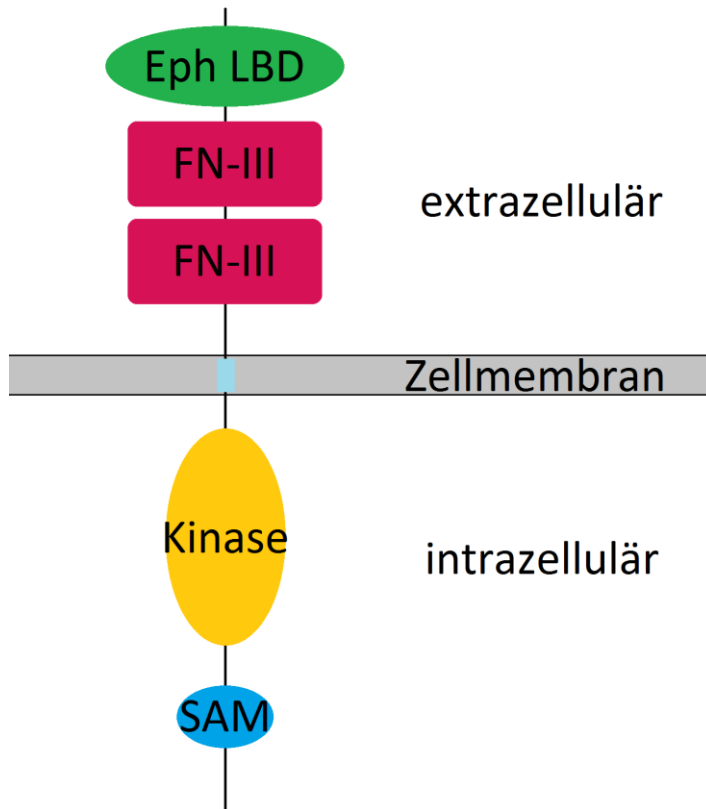
D2S427 nachgewiesen werden (Paunio et al. 2001). Diese Erkenntnisse wurden in einer Familienstudie mit 174 Probanden eines sehr homogenen Patientenkollektivs aus Bewohnern der Pazifikinsel Kosrae bestätigt (Wijsman et al. 2003). In einer Linkage-Studie mit einem Probandenkollektiv einer weitgehend isolierten mikronesischen Insel zeigten sich ebenfalls Hinweise für das Vorhandensein genetischer Varianten in 2q37.2, welche die Erkrankungswahrscheinlichkeit für psychische Erkrankungen beeinflussen (Klei et al. 2005). Auch eine genomweite Linkage-Studie an arabisch-palästinensischen Israelis gelangte zum Ergebnis, dass im Bereich 2q36.1-37.3 ein Suszeptibilitätsloкус für Schizophrenie liegt. Nach Ausweitung der Untersuchungen mittels einer familienbasierten genomweiten Assoziationsstudie in einem ethnisch homogenen Probandenkollektiv derselben Bevölkerungsgruppe fand man eine genomweite signifikante Assoziation bei 8 SNPs, von denen 7 im Bereich 2q36.1-37.3 liegen (Alkelai et al. 2011). Eine weitere Studie, welche sich auf bisher vorhandene Untersuchungen stützte und sämtliche Daten, welche dem National Institute of Mental Health-funded Center for Collaborative Genomic Studies on Mental Disorders (HGI) bis 2011 vorlagen, statistisch auswertete, identifizierte ebenfalls eine Suszeptibilitätsregion (230 cM) für schizophrene Erkrankungen in der Region 2q36.1, in welcher auch EphA4 lokalisiert ist (Vieland et al. 2014).

### **1.4.3 Protein**

Das Protein von EphA4 besteht beim Menschen aus 986 Aminosäuren und weist eine molekulare Masse von 109.860 Da auf. Vor der Bindung an den Liganden liegt ein Heterotetramer vor, welches aus einem Ephrin-Dimer und einem Rezeptor-Dimer besteht. Um biologische Antworten hervorzurufen, ist wahrscheinlich eine Oligomerisierung erforderlich. Das Protein interagiert mit FYN durch eine Phosphorylierung an der Position Tyr-602 sowie mit CDK5, CDK5R1 und NGEF, wobei vor der Aktivierung durch EFNA1 eine Phosphorylierung von NGEF durch die Kinase CDK5 erfolgt. Weitere Interaktionen erfolgen mit CHN1, was für die axonale Wegfindung mittels Regulierung von RAC1 eine Rolle spielt und via PDZ-Domäne mit SIPA1L1, was die neuronale Morphologie mittels Regulierung der GTPasen RAP1 (RAP1A oder RAP1B) und RAP2 (RAP2A, RAP2B oder RAP2C) steuert (Genecards

Human Gene Database 2016). Im Folgenden wird die Domänenstruktur des Proteins grafisch veranschaulicht (Abb. 2):

**Abbildung 2: Domänenstruktur von EphA4**



erstellt nach: GeneCards® Human Gene Database

Im Gegensatz zu anderen Rezeptortyrosinkinasen ergaben sich bei den Eph-Rezeptoren Hinweise, dass sie hauptsächlich der Steuerung von Zellform und -bewegung dienen. Bezüglich der Zellproliferation spielen Eph-Rezeptoren nur eine untergeordnete Rolle (Murai und Pasquale 2003). In der Entwicklung des Nervensystems steuert das Eph-Signalsystem eine Vielzahl von Vorgängen, wie z. B. kontaktvermittelte Anziehung oder Abstoßung, Anheftung oder Ablösung sowie Migration. Die Übertragung kann hierbei sowohl uni- als auch bidirektional erfolgen (Egea und Klein 2007). Vorwärts gerichtete Signale werden dabei von der Eph-Zytoplasmaregion einschließlich der Tyrosinkinasedomäne generiert, während hingegen rückwärts gerichtete Signale durch zytoplasmische Signalmoleküle erfolgen. Die Veränderungen von Zellform

und -bewegung, welche durch Eph-Rezeptoren und ihre Liganden erfolgen, werden mittels Umbauvorgängen am Aktinzytoskelett realisiert (Bourgin et al. 2007).

Sowohl EphA- als auch EphB-Rezeptoren sind dazu befähigt, strukturelle und funktionelle Eigenschaften von Synapsen zu beeinflussen. Eph-Rezeptoren und ihre Liganden spielen auch bei der Entwicklung und der Funktion zentraler Synapsen eine Rolle (Gerlai 2001). Im Tiermodell sind Eph-Rezeptoren während der Synaptogenese sowohl an der Entstehung (Dalva et al. 2000) als auch an der Modifizierung postsynaptischer Signale beteiligt (Ethell et al. 2001). Beispielsweise verbinden sich EphB-Rezeptoren mit NDMA-Rezeptoren und phosphorylieren Syndecan-2. Eine Anhäufung von Syndecan-2 führt schließlich zur Umwandlung unreifer dendritischer Dornfortsätze in reife pilzförmige Spines (Murai und Pasquale 2002).

Während die Gruppe der EphB-Rezeptoren die Morphogenese dendritischer Dornfortsätze steuert (Ethell et al. 2001, Henkemeyer et al. 2003, Penzes et al. 2003, Yamaguchi und Pasquale 2004), ist EphA4 für die Regulierung der morphologischen Plastizität von dendritischen Dornfortsätzen im erwachsenen Hippocampus verantwortlich. Anomalien bei der Struktur und Funktion des Hippocampus gelten als Risikofaktor für die Entstehung einer schizophrenen Erkrankung (Heckers 2001, Harrison 2004, Tamminga et al. 2010). Im Tiermodell ergaben sich Hinweise, dass die EphA4-Rezeptortyrosinkinase die Morphologie von Dornfortsätzen in den Pyramidenzellen des Hippocampus reguliert, da nach Inaktivierung des EphA4-Rezeptors an Labormäusen sowohl die Form als auch die Anordnung der Dornfortsätze verändert waren (Murai et al. 2003). Die Inaktivierung von Ephrin-A3 an Versuchstieren führte ebenfalls zu Fehlbildungen der dendritischen Dornfortsätze im Hippocampus, die den von Murai beschriebenen Störungen stark ähneln. Während Dichte und Breite der Dornfortsätze weitgehend unverändert waren, zeigten sich eine ungeordnete Erscheinung und eine erhebliche Verlängerung der Fortsätze und vor allem am Dendritenhals, welche auch in fortschreitendem Alter oder durch Verwendung anderer EphA4-Liganden bestehen blieb (Carmona et al. 2009).

Ephrine und ihre Rezeptoren sind Teil eines Signalnetzes, welches eine maßgebliche Rolle bei der Neurogenese spielt (Laussu et al. 2014). Speziell EphA4 wurde dabei als Regulator der Neurogenese identifiziert. Im postnatalen Gehirn entstehen Neurone

sowohl in der subventrikulären Zone der Seitenventrikel als auch in der subgranulären Zone des Hippocampus. Mittels Immunhistochemie konnte nachgewiesen werden, dass EphA4 in den neuronalen Nischen bei Erwachsenen nur durch neurale humane Stammzellen exprimiert wird. Sowohl bei neugeborenen als auch erwachsenen EphA4-Knockdown-Versuchstieren konnte eine Verringerung der Anzahl sich langsam teilender Zellen in der subventrikulären Zone um 50% festgestellt werden. Somit liegt nahe, dass die Expression von EphA4 gewährleistet, dass die neuralen Stammzellen in einem undifferenzierten Zustand verbleiben. Folglich hat ein Ausfall von EphA4 eine verfrühte Differenzierung von neuronalen Stammzellen zur Folge, was zu einer deutlich verminderten Anzahl an postnatal erzeugten Neuroblasten führen würde (Khodosevich et al. 2011). Nach traumatischem Hirnschaden findet eine Expression und Aktivierung von EphA4 im menschlichen Gehirn statt, was eine Retraktion corticospinaler Axone und überdies eine Hemmung der axonalen Regeneration auslöst, was in einer Post-mortem-Studie mit Gewebeproben von 19 Patienten, die an akuten geschlossenen Kopfverletzungen verstorben waren und Anzeichen diffuser axonaler Schädigung aufwiesen, aufgezeigt wurde. Nach traumatischem Hirnschaden erfolgt eine Hochregulierung der EphA4-Expression, welche sich sofort nach Auftreten der Verletzung ereignet und über mehrere Tage bestehen bleibt. Die Hemmung der Aktivierung von EphA4 durch einen EphA4-Liganden stellt möglicherweise einen Therapieansatz gegen Folgen eines SHT und verschiedener anderer Hirnverletzungen dar (Frugier et al. 2012).

Bei Astrozyten ergaben sich Hinweise, dass EphA4 die Langzeit-Potenzierung an der CA3-CA1-Synapse in der postsynaptischen CA1-Zelle moduliert. Eine Modulation findet zusätzlich durch Ephrin-A3 statt, welcher ein Ligand von EphA4 ist und in Astrozyten anzutreffen ist. Ein Mangel an EphA4 führte zu einem Überschuss glialer Glutamattransporter und eine Überexpression von Ephrin-A3 in Astrozyten verringerte die Anzahl der Glutamattransporter und verursachte außerdem Schwellungen der Dendriten. Der EphA4/Ephrin-A3-Signalweg stellt somit einen wichtigen regulatorischen Mechanismus für Astrozyten dar, die synaptische Funktion und Plastizität zu beeinflussen (Filosa et al. 2009).

Durch die Beeinflussung des  $\beta$ 1-Integrin-Signalweges reguliert der EphA4-Rezeptor die Remodellation dendritischer Dornfortsätze und beeinflusst damit maßgeblich die Funktion von exzitatorischen Synapsen (Bourgin et al. 2007). Die Aktivierung von EphA4 führt dabei zu einer Blockade des Integrintransports. Dies geschieht durch eine Verringerung der Tyrosinphosphorylierung des Proteins Crk-asoziiertes Substrat (Cas) sowie der PTK2-Protein-Tyrosinkinase (PTA2), welche auch als Focal Adhesion Kinase (FAK) bekannt ist, und der Prolinreichen Tyrosinkinase 2 (Pyk2). Zusätzlich führt die Aktivierung von EphA4 zu einer Verringerung der Assoziation von Cas mit der Tyrosinkinase Fyn, welche der Src-Familie angehört, und dem Crk-Adapterprotein. Damit im Einklang steht auch, dass EphA4 die Aktivität von  $\beta$ 1-Integrin in neuronalen Zellen blockiert. Zusätzlich blockiert das Verhindern der  $\beta$ 1-Inaktivierung den Effekt von EphA4, der auf Dornfortsätze ausgeübt wird. Wahrscheinlich hemmt EphA4 Integrin-Signalfade, welche eine stabilisierende Wirkung auf dendritische Dornfortsätze ausüben und somit synaptische Wechselwirkungen mit der extrazellulären Umgebung regulieren (Bourgin et al. 2007). Somit spielt EphA4 eine wichtige Rolle bei Neuroplastizität und Hirnentwicklung, was die Grundlage für die in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen darstellt.

### **1.5 Fragestellung**

Es gilt als gesichert, dass genetische Komponenten einen bedeutenden Einfluss auf die Entstehung und den Verlauf schizophrener und affektiver Psychosen haben. Weiterhin existieren bereits Vorbefunde, welche auf eine mögliche Relevanz des chromosomalen Locus von EphA4 für die Entstehung schizophrener Erkrankungen hinweisen (Alkelai et al. 2011, Vieland et al. 2014). EphA4 beeinflusst eine Vielzahl von Stoffwechselfvorgängen, die mit schizophrenen Erkrankungen in Verbindung gebracht wurden (Bourgin et al. 2007, Filosa et al. 2009). Sowohl bei schizophrenen Erkrankungen als auch bei affektiven Psychosen findet man häufig eine Störung der Neurotransmitter, ebenso wird eine Veränderung der Neurogenese bzw. Neuroplastizität postuliert (Toro und Deakin 2007, Thome und Eisch 2005, McCullumsmith 2015). Das Kandidatengen EphA4 spielt sowohl bei der Neuroplastizität als auch bei Neurotransmittersystemen wie etwa Glutamat eine wichtige Rolle (Khodosevich et al. 2011, Shu et al. 2016, Batista et al. 2014) und stellte dadurch ein vielversprechendes

Kandidatengen für schizophrene Erkrankungen dar. Da in den letzten Jahren zudem eine Überlappung von genetischen Risikofaktoren für schizophrene Psychosen und bipolar affektiven Psychosen nach ICD-10 diskutiert wurde (Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium 2013), wurden in der vorliegenden Arbeit auch an affektiven Psychosen erkrankte Patienten in die Untersuchungen einbezogen. Ziel der Arbeit war es, eine mögliche Beteiligung von EphA4 an der Entstehung schizophrener und affektiver Psychosen zu untersuchen. Hierbei wurde eine Fall-Kontroll-Studie durchgeführt mit der Fragestellung, ob sich innerhalb des untersuchten Kollektivs eine Assoziation zwischen den getesteten Polymorphismen und der jeweiligen Erkrankung auffinden lässt. In einem polydiagnostischen Ansatz wurden hierbei die ICD-10-Klassifikation und die Klassifikation von Leonhard verwendet, um zu prüfen, ob innerhalb bestimmter klinischer Phänotypen eine Assoziation von Einzelmarkern oder Haplotypen auftritt.

## **2. Material und Methoden**

### **2.1 Probandenkollektiv**

Alle Patienten wurden an der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Universität Würzburg rekrutiert. Die diagnostische Einordnung erfolgte anhand der ICD-10-Kriterien und der differenzierten Psychopathologie von Karl Leonhard durch Prof. Dr. G. Stöber, PD Dr. B. Pfuhlmann und Dr. M. Gawlik. Abschließend erfolgte eine klinische Zuordnung durch Prof. G. Stöber. Kontrollpersonen wurden über das Blutspendezentrum der Universität Würzburg herangezogen. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universität Würzburg genehmigt (Az. 135/05) und für sämtliche durchgeführten Untersuchungen und Datenerhebungen liegt eine schriftliche Einverständniserklärung aller Patienten vor, welche vorher entsprechend den Vorgaben aufgeklärt wurden. Das Patientenkollektiv umfasst 1.555 Personen kaukasischer Abstammung (davon 63,2% männlich und 36,8% weiblich). Das Durchschnittsalter der erkrankten Probanden bei Ersthospitalisierung lag bei 30,0 Jahren mit einer Standardabweichung von 13,2, das Durchschnittsalter bei Rekrutierung für die vorliegende Studie lag bei 42,9 Jahren (SD  $\pm$  15,7). Als Kontrollgruppe diente ein Kollektiv von 384 Probanden mit einem Durchschnittsalter von 29,7 Jahren (davon 61,2% männlich und 38,8% weiblich) und einer SD von 10,0 (Tab. 8).



**Tabelle 8: Einteilung des Probandenkollektivs nach ICD-10 und Leonhard**

| Diagnose                              | Anzahl | davon männlich | Durchschnittliches Alter bei Ersthospitalisierung in Jahren |      | Durchschnittliches Alter bei Studieneinschluss in Jahren |      |
|---------------------------------------|--------|----------------|---|------|--|------|
|                                       |        |                | MW  | SD   | MW   | SD   |
| Schizophrene Erkrankungen (F20-25)    | 929    | 68,2%          | 26,4  | 10,2 | 41,2   | 15,5 |
| Bipolare affektive Störungen (F30-31) | 404    | 55,7%          | 31,4  | 12,2 | 42,5   | 13,9 |
| Unipolare Depressionen (F32-33)       | 222    | 55,4%          | 42,9  | 17,0 | 50,7   | 17,5 |
| Systematische Katatonie               | 62     | 80,6%          | 21,0  | 8,3  | 33,8   | 14,1 |
| Hebephrenie                           | 116    | 83,6%          | 23,4  | 6,3  | 33,1   | 11,5 |
| Systematische Paraphrenie             | 49     | 85,7%          | 26,7  | 10,0 | 36,0   | 11,7 |
| Periodische Katatonie                 | 342    | 53,5%          | 25,0  | 9,9  | 48,0   | 16,8 |
| Affektvolle Paraphrenie               | 151    | 61,6%          | 32,4  | 11,6 | 44,3   | 15,0 |
| Kataphasie                            | 143    | 81,1%          | 28,3  | 9,2  | 39,4   | 12,1 |
| Motilitätspsychose                    | 99     | 39,4%          | 25,5  | 8,2  | 38,1   | 13,6 |
| Angst-Glücks-Psychose                 | 120    | 66,7%          | 28,9  | 12,2 | 37,8   | 11,0 |
| Verwirrtheitspsychose                 | 98     | 65,3%          | 30,4  | 10,4 | 37,0   | 12,9 |
| Manisch-depressive Erkrankung         | 285    | 57,2%          | 36,4  | 14,0 | 46,2   | 15,3 |
| Monopolare affektive Psychosen        | 90     | 61,1%          | 50,4  | 17,3 | 56,8   | 16,2 |

## 2.2 Verwendete SNPs, Enzyme, Puffer und PCR-Reagenzien

Um eine Assoziation von einzelnen Varianten im Bereich EphA4 zu ergründen, wurden vier Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) genotypisiert. Die Genotypisierungsrate lag zwischen 97,6% für den SNP rs1897120 und 99,9% für den SNP rs3087584. Für die statistischen Haplotypuntersuchungen wurden Genotypisierungsdaten von fünf weiteren SNPs im Bereich EphA4 eingeschlossen, welche im molekulargenetischen Labor Prof. G. Stöber, Universität Würzburg, von M. Segura Castell erhoben wurden. Die Auswahl der SNPs richtete sich nach Aussagekraft, Minor Allele Frequency (MAF), chromosomaler Position und Assay-Verfügbarkeit.

### 2.2.1 SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms)

**Tabelle 9: genotypisierte SNPs im Bereich EphA4**

| <b>rs-<br/>Nummer</b> | <b>chr. Position</b> | <b>Allele<br/>(major/minor)</b> | <b>Lage</b> |
|-----------------------|----------------------|---------------------------------|-------------|
| rs3087584             | 221418561            | C/T                             | 3'-UTR      |
| rs1897120             | 221449136            | A/C                             | Intron 9    |
| rs3770181             | 221449622            | A/G                             | Intron 9    |
| rs1864461             | 221482895            | A/G                             | Intron 5    |

erstellt nach: Thermo Fisher Scientific

Alle verwendeten SNPs befinden sich auf dem langen Arm des Chromosom 2 im Bereich des Gens EphA4. Während rs3087584 im 3'-untranslatierten Bereich lokalisiert ist, befinden sich rs1897120, rs3770181 und rs1864461 in intronischen Bereichen (Tab. 9).

## 2.2.2 Puffer, Enzyme, Lösungen, verwendete Materialien und Geräte

Kernlysispuffer:

10 ml 1M Tris-HCl pH 8 (AppliChem), 80 ml 5M NaCl (Merck), 4 ml 0,5M EDTA (AppliChem)

ad. 1000 ml doppelt destilliertes Wasser (AppliChem)

Lysispuffer:

155 ml 1M NH<sub>4</sub>Cl (AppliChem), 10 ml 1M KHCO<sub>3</sub> (AppliChem), 200 µl 0,5M EDTA pH 7 (AppliChem)

ad. 1000 ml doppelt destilliertes Wasser (AppliChem)

pH mit HCl auf 7,4 eingestellt

TE-Puffer:

2 ml 1M Tris-HCl pH 8 (AppliChem), 40 µl 0,5M EDTA (AppliChem)

ad. 200 ml doppelt destilliertes Wasser (AppliChem)

Pronase E aus *Streptomyces griseus* (Serva)

TaqMan® Genotyping Master Mix (Applied Biosystems, ref. 4371357)

Isopropylalkohol, 2- Propanol CH<sub>3</sub>CH(OH)CH<sub>3</sub> (Sigma)

Water Molecular biology grade (AppliChem)

Kaliumchlorid KCl (AppliChem)

Kaliumhydrogencarbonat KHCO<sub>3</sub> (AppliChem)

**Geräte:**

ABI PRISM 7000

Automatische Eismaschine Scotsman AF100

Biophotometer Eppendorf

Elektronische Mehrkanalpipette

Magnetrührgerät mit Heizplatte M32 GLW, A. Hartenstein

Megafuge 1.0R Heraeus Instruments

Mikroliterpipetten (0,5 – 10 µl, 10 – 100 µl, 100 – 1000 µl), pipet4u

Nanopure Diamond™, Barnstead

PCR-Maschine, Biometra Gradient Thermal Cycler

Rotary-Mischer digital (5-50 U/min), A. Hartenstein

Trockenschrank, Heraeus

Tuttnauer 3850 ELV Autoclave Systec

Waage SAS 62 Scaltec

Wasserbad GFL

Vortex Genie 2, Scientific Industries

**Material:**

10 µl Pipettenspitzen, Eppendorf

100 µl Pipettenspitzen, Gilson

1000 µl Pipettenspitzen, Eppendorf

10, 50, 100, 250, 1000, 2000 ml Messzylinder Superior

3 ml Pasteurpipetten, A. Hartenstein

1,5 ml micro tubes, Sarstedt

2 ml serological pipettes, Sarstedt

10 ml serological pipettes Cellstar®, Greiner bio-one

25 ml serological pipettes, Sarstedt

15 ml Zentrifugenröhrchen Cellstar® Tubes, Greiner bio-one

UVete 220-1600 nm, Eppendorf

96-Multiplate™ PCR-Platten

Thermo-Fast® 96 PCR Detection Plate, Thermo Fisher Scientific

Parafilm M® 4 IN. X 125 FT, Pechiney Plastic Packaging PM996

MicroAmp™ Optical Adhesive Covers, Applied Biosystems®

Latexhandschuhe Gentle Skin®, Meditrade®

Nunc Cryo Tube Vials, Thermo Fisher Scientific

S-Monovetten® La/A/L 9 ml KE, 1,6 mg EDTA / ml Blut, Sarstedt

Messbecher Ilabor TH

Messzylinder Brand

Pasteurpipetten aus Glas ca. 150 mm, A. Hartenstein

## **2.3 Methodischer Überblick**

### **2.3.1 DNA-Extraktion aus EDTA-Blut**

Die DNA-Extraktion wurde bei allen Proben normiert nach der modifizierten Aussalzmethode nach Miller (1988) durchgeführt. Kurz zusammengefasst besteht die Extraktion aus folgenden Schritten. Zunächst wurde das EDTA-Blut in S-Monovetten® durchmischt und in 50 ml Polypropylen (PP)-Röhrchen (Cellstar® Tubes) überführt. Anschließend wurden die Monovetten mit Lysispuffer gespült und die Flüssigkeit zum Blut in die PP-Röhrchen überführt. Die PP-Röhrchen wurden anschließend mit Lysispuffer auf 40 ml aufgefüllt und nach Durchmischung der Flüssigkeit 15 Minuten lang bei -4°C auf Eis inkubiert. Als Nächstes wurde der Inhalt der PP-Röhrchen bei 1500 U/min und 4°C 15 Minuten lang zentrifugiert und der Überstand dekantiert. Den verbleibenden Zellbestandteilen wurden 500 µl Pronase E, 660 µl 10% SDS und 10 ml Kernlysispuffer zugeführt. Die entstandene Suspension wurde nun mit einer Kunststoff-Pasteurpipette resuspendiert und für 12 Stunden in ein 37°C warmes Wasserbad gestellt. Am darauffolgenden Tag wurden 3,5 ml 6M NaCl zugeführt und der Inhalt ca. 15 Sekunden lang kräftig durchmischt. Anschließend erfolgte eine weitere Zentrifugation 20 Minuten lang bei 4000 U/min und Raumtemperatur. Der gebildete Überstand wurde in ein neues PP-Röhrchen dekantiert und das Pellet verworfen, das PP-Röhrchen wurde mit Isopropanol auf 25 ml aufgefüllt und invertiert. In ein Nunc Cryo Tube® wurden 500 µl TE-Puffer vorgelegt. Mithilfe einer Glas-Pasteurpipette wurde die DNA aus dem PP-Röhrchen entfernt und in das Nunc Cryo Tube® überführt, welches zur vollständigen Homogenisierung der DNA über Nacht auf einen Rotator gestellt wurde. Abschließend erfolgte die Extinktionsmessung mithilfe eines Eppendorf BioPhotometers™.

### **2.3.2 Theoretische Grundlagen der TaqMan-PCR**

Die Genotypisierung wurde mittels TaqMan®-SNP Genotyping Assays von Applied Biosystems (Tab. 9) durchgeführt. Bei der Polymerase Chain Reaction (PCR) handelt es sich um eine schnelle und sehr sensitive Methode in der DNA-Analytik. Sie ist eine Primer-definierte enzymatische in vitro-Replikation, welche in sich wiederholenden Zyklen abläuft und eine nahezu exponentielle Amplifikation der Zielsequenz

ermöglicht. Bei der TaqMan-PCR handelt es sich um eine PCR-basierte Methode, bei welcher mittels Fluoreszenzmarkierungen die Allele eines vordefinierten SNP bestimmt werden können.

Verwendet werden hierbei zwei sog. Real-time-PCR Quantitative Hydrolyse-Sonden (fluoreszenzmarkierte Oligonukleotide). Diese tragen einen allelspezifischen Reporter-Farbstoff am 5'-Ende und einen „Quencher“-Molekül am 3'-Ende. Mittels Fluoreszenz-Energie-Transfer (FET) erfolgt bei der intakten Sonde eine Unterdrückung der Fluoreszenz des Reporter-Farbstoffes aufgrund der räumlichen Nähe zum Quencher. Zu Beginn jedes PCR-Zyklus erfolgt eine Denaturierung der DNA-Doppelhelix, die Sonde hybridisiert mit den Primern an den komplementären DNA-Strang. Vom Primer aus erfolgt eine Replikation der DNA mittels AmpliTaq Gold® Polymerase. Beim Auftreffen der Polymerase auf die Sonde entsteht eine Y-förmige Sekundärstruktur, woraufhin eine Aktivierung der 5'-3'-Exonukleaseaktivität der AmpliTaq Gold® Polymerase erfolgt, was eine Hydrolyse der Sonde bewirkt. Die räumliche Nähe (und damit auch der FET) zwischen Quencher-Farbstoff und Reporter werden aufgelöst, was in einer Freisetzung von Fluoreszenz-Farbstoff resultiert. Mit jedem PCR-Zyklus erfolgt somit ein Anstieg der Fluoreszenz. Das gebildete Signal ist strikt sequenzspezifisch, da nur bei exakter spezifischer Kopplung an die DNA eine Hydrolyse der TaqMan®-Sonden durch die AmpliTaq Gold® Polymerase stattfindet. Die Struktur der Sonden ermöglicht eine sequenzspezifische Codierung der beiden Farbstoffe FAM™ und VIC® im Bereich des Markers. Bei Homozygotie erfolgt also eine erhebliche Verstärkung entweder des Farbstoffes FAM™ oder VIC®, abhängig davon, für welches Allel die Homozygotie vorliegt. Beim Auftreten einer erheblichen Verstärkung beider Fluoreszenzfarbstoffe liegt folglich eine Heterozygotie vor (Schild 1998).

### **2.3.3 Genotypisierung mit TaqMan® Assay**

Zu Beginn wurde ein Reaktionsmix aus 12,5 µl TaqMan® Genotyping Master Mix, 7,0 µl hochreinem Wasser und 0,5 µl TaqMan SNP Genotyping Assay (Tab. 9), bestehend aus Primern und spezifischen Fluoreszenzmarkern, hergestellt. Pro Reaktionsansatz wurden 5 µl DNA mit einer Konzentration von 4 ng/µl verwendet. Der Reaktionsansatz wurde in eine Thermo-Fast® 96 PCR Detection Plate mit 96 Samples á 25 µl pipettiert. Jede Platte enthielt mindestens zwei Wells, welche als Negativkontrollen dienten. Die PCR-Platte wurde anschließend zur Vermeidung von Verunreinigungen und Verdunstungseffekten mit einem MicroAmp™ Optical Adhesive Cover abgedeckt, in den Biometra Gradient Thermal Cycler eingelegt und mit einem Kompressionspad bedeckt. Die PCR startet mit einer Inkubation bei 95 °C für 10 Minuten, um die AmpliTaq Gold® Polymerase irreversibel zu aktivieren. Danach werden 61 Zyklen durchlaufen, welche aus jeweils zwei Phasen bestehen. In der ersten Phase findet eine Denaturierung bei 92 °C für eine Dauer von 15 Sekunden statt, in welcher die Wasserstoffbrücken der DNA-Doppelhelix zerstört werden. In der zweiten Phase findet 60 Sekunden lang bei 60 °C die Polymerasereaktion statt. Nach Ablauf des Programms wird die Thermo-Fast® 96 PCR Detection Plate bis zur photometrischen Messung vorübergehend eingefroren und im Gefrierschrank aufbewahrt.

Für die Fluoreszenzmessungen wurden das Gerät ABI PRISM® 7000 von Applied Biosystems und die dazugehörige Software ABI PRISM® 7000 Sequence Detection System verwendet. Im Falle nicht eindeutiger Messergebnisse erfolgte für die betroffene Probe nach erneuter Genotypisierung ein weiterer Messversuch. Proben, welche auch bei der zweiten Fluoreszenzmessung nicht eindeutig auszuwerten waren, wurden nicht in die Auswertungen einbezogen.

### **2.3.4 Statistische Berechnung**

Im Rahmen der Auswertung der Ergebnisse wurde zur Qualitätskontrolle das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWG) untersucht. Das von G. H. Hardy (1877-1947) und W. Weinberg (1862-1937) beschriebene Prinzip geht von einer idealen, in der Realität nicht vorzufindenden Population mit zufälliger Paarung, einer Gleichverteilung der Geschlechter und ohne Evolutionsfaktoren aus. Das HWG besagt, dass in einer



derartigen idealen Population über Generationen hinweg die Verteilung der Genotypen konstant bleibt (Hardy 1908, Weinberg 1908).

Ein SNP liegt dann im HWG, wenn die in den Ergebnissen gefundenen Genotyphäufigkeiten nicht signifikant von den zu erwartenden (errechneten) Genotyphäufigkeiten abweichen. Das Signifikanzniveau (P), also die Wahrscheinlichkeit, mit der die Nullhypothese fälschlicherweise verworfen werden kann, obwohl sie eigentlich richtig ist, wird dabei auf 0,05 festgelegt. Eine signifikante Abweichung vom HWG innerhalb der Kontrollgruppe kann dabei auf mögliche Genotypisierungsfehler oder auf enge verwandtschaftliche Beziehungen oder eine hohe Homogenität innerhalb des Kollektivs hindeuten (Bickeböller und Fischer 2007).

Für den Test auf Assoziation der Single-SNPs wurden eine zweifache Varianzanalyse und der Armitage's Trend Test errechnet.

Die Berechnung der Haplotyphäufigkeiten erfolgte für sämtliche möglichen Markerkombinationen ( $2^g-1$ ). Beim Vergleich der Haplotyphäufigkeit der Markerkombinationen von Fällen und Kontrollen wurde ein korrigierter P-Wert mittels eines Permutationstestes errechnet, um das Ausmaß der Evidenz gegen die Nullhypothese zu bestimmen. Bei einem festgelegten Signifikanzniveau von 0,05 wird die Nullhypothese verworfen, sofern  $P < 0,05$  ist. Sämtliche Einzelmarker- sowie Haplotypenanalysen wurden mit dem Programm FAMHAP Haplotype Association Analysis durchgeführt (Becker und Knapp 2004, Herold und Becker 2009). Alle P-Werte der untersuchten Allele wurden mit dem Programm Haploview nach Fisher's exact test berechnet (Barrett et al. 2005).

Die Odds Ratio (OR bzw. Quotenverhältnis) ist ein Maß dafür, um wie viel höher das Erkrankungsrisiko in der Gruppe mit Risikofaktor liegt (verglichen mit dem Erkrankungsrisiko in der Gruppe ohne Risikofaktor). Die Odds Ratio liegt zwischen 0 und  $\infty$ , wobei ein Wert  $< 1$  ein verringertes Erkrankungsrisiko und ein Wert  $> 1$  ein erhöhtes Erkrankungsrisiko darstellt. Zum Ausschluss eines zufälligen Befundes sollte deren 95-prozentiges Konfidenzintervall ebenfalls  $> 1$  liegen.

### **2.3.5 Statistische Power**

Zur Bestimmung der Aussagekraft der durchgeführten Studie wurde eine Power-Analyse durchgeführt. Mit einem Gesamtkollektiv von knapp 2.000 Kontrollen und Fällen erreicht die durchgeführte Studie bei einer konservativen Herangehensweise eine statistische Power von 72% unter der Annahme, dass das krankheitsverursachende Gen rezessiv vererbt wird. Für die Berechnung der statistischen Power wurde die Software Genetic Power Calculator verwendet ( $\alpha = 0,05$ , two-tail) (Purcell et al. 2003).

### **3. Ergebnisse**

#### **3.1 Assoziationsbefunde für einzelne SNP-Varianten**

##### **3.1.1 Einteilung nach ICD-10**

Nach ICD-10 wurden die Fälle in schizophrene Erkrankungen, bipolare affektive Störungen sowie unipolare Depressionen eingeteilt. Eine rechnerische Assoziation ergab sich hierbei für den SNP rs1864461 bei den unipolaren Depressionen ( $P=0,0376$ ) (Tab. 12). Beim Kollektiv der schizophrenen Erkrankungen konnte für keinen der getesteten Polymorphismen eine statistische Signifikanz festgestellt werden (Tab. 10), ebenso wenig für die bipolaren Depressionen (Tab. 11). Es ergab sich in den untersuchten Kontrollen keine Abweichung im HWE.

**Tabelle 10:**

**Allel- und Genotypverteilung einzelner SNP-Varianten (F20-25: schizophrene Erkrankungen [n=929] und Kontrollen [n=384])**

| SNP<br>1/2           |                                   | Allelverteilung           |                           |                 | Genotypverteilung        |                          |                          |                 |                      |
|----------------------|-----------------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------|----------------------|
|                      |                                   | 1<br>(%)                  | 2<br>(%)                  | P-Wert<br>(HWE) | 11<br>(%)                | 12<br>(%)                | 22<br>(%)                | P-Wert<br>(2df) | P-Wert<br>(Armitage) |
| rs1864461<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 1120 (60,3)<br>492 (64,1) | 738 (39,7)<br>276 (35,9)  | 0,76            | 344 (37,0)<br>159 (41,4) | 432 (46,5)<br>174 (45,3) | 153 (16,5)<br>51 (13,3)  | 0,20            | 0,07                 |
| rs1897120<br>(A / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 600 (33,3)<br>268 (35,3)  | 1204 (66,7)<br>492 (64,7) | 0,40            | 94 (10,4)<br>51 (13,4)   | 412 (45,7)<br>166 (43,7) | 396 (43,9)<br>163 (42,9) | 0,30            | 0,33                 |
| rs3087584<br>(T / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 849 (46,8)<br>332 (43,7)  | 965 (53,2)<br>428 (56,3)  | 0,60            | 193 (21,3)<br>70 (18,4)  | 463 (51,0)<br>192 (50,5) | 251 (27,7)<br>118 (31,1) | 0,34            | 0,14                 |
| rs3770181<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 610 (32,8)<br>267 (34,8)  | 1248 (67,2)<br>501 (65,2) | 0,56            | 97 (10,4)<br>49 (12,8)   | 416 (44,8)<br>169 (44,0) | 416 (44,8)<br>166 (43,2) | 0,47            | 0,34                 |

1: Allel 1 (major); 2: Allel 2 (minor); Signifikanz: P-Wert (HWE): allelbasierter P-Wert der Kontrollen (Hardy-Weinberg-Gleichgewicht); genotypbasierter P-Wert (2df) nach FAMHAP; P-Wert (Armitage) nach Armitage's Trend Test

**Tabelle 11:**

**Allel- und Genotypverteilung einzelner SNP-Varianten (F30-31: bipolare affektive Störungen [n=404] und Kontrollen [n=384])**

| SNP<br>1/2           |                                   | Allelverteilung          |                          |                 | Genotypverteilung        |                          |                          |                 |                      |
|----------------------|-----------------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------|----------------------|
|                      |                                   | 1<br>(%)                 | 2<br>(%)                 | P-Wert<br>(HWE) | 11<br>(%)                | 12<br>(%)                | 22<br>(%)                | P-Wert<br>(2df) | P-Wert<br>(Armitage) |
| rs1864461<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 502 (62,3)<br>492 (64,1) | 304 (37,7)<br>276 (35,9) | 0,76            | 157 (39,0)<br>159 (41,4) | 188 (46,7)<br>174 (45,3) | 58 (14,4)<br>51 (13,3)   | 0,76            | 0,47                 |
| rs1897120<br>(A / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 258 (32,7)<br>268 (35,3) | 530 (67,3)<br>492 (64,7) | 0,40            | 48 (12,2)<br>51 (13,4)   | 162 (41,1)<br>166 (43,7) | 184 (46,7)<br>163 (42,9) | 0,56            | 0,31                 |
| rs3087584<br>(C / T) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 384 (48,5)<br>332 (43,7) | 408 (51,5)<br>428 (56,3) | 0,60            | 99 (25,0)<br>70 (18,4)   | 186 (47,0)<br>192 (50,5) | 111 (28,0)<br>118 (31,1) | 0,08            | 0,06                 |
| rs3770181<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 256 (31,8)<br>267 (34,8) | 550 (68,2)<br>501 (65,2) | 0,56            | 51 (12,7)<br>49 (12,8)   | 154 (38,2)<br>169 (44,0) | 198 (49,1)<br>166 (43,2) | 0,21            | 0,22                 |

1: Allel 1 (major); 2: Allel 2 (minor); Signifikanz: P-Wert (HWE): allelbasierter P-Wert der Kontrollen (Hardy-Weinberg-Gleichgewicht); genotypbasierter P-Wert (2df) nach FAMHAP; P-Wert (Armitage) nach Armitage's Trend Test

**Tabelle 12:**

**Allel- und Genotypverteilung einzelner SNP-Varianten (F32-33: unipolare Depressionen [n=222] und Kontrollen [n=384])**

| SNP<br>1/2           |                                   | Allelverteilung          |                          |                 | Genotypverteilung       |                          |                         |                 | P-Wert<br>(Armitage) |
|----------------------|-----------------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|-----------------|----------------------|
|                      |                                   | 1<br>(%)                 | 2<br>(%)                 | P-Wert<br>(HWE) | 11<br>(%)               | 12<br>(%)                | 22<br>(%)               | P-Wert<br>(2df) |                      |
| rs1864461<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 259 (58,3)<br>492 (64,1) | 185 (41,7)<br>276 (35,9) | 0,76            | 69 (31,1)<br>159 (41,4) | 121 (54,5)<br>174 (45,3) | 32 (14,4)<br>51 (13,3)  | <b>0,04</b>     | 0,04                 |
| rs1897120<br>(A / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 146 (33,6)<br>268 (35,3) | 288 (66,4)<br>492 (64,7) | 0,40            | 24 (11,1)<br>51 (13,4)  | 98 (45,2)<br>166 (43,7)  | 95 (43,8)<br>163 (42,9) | 0,70            | 0,58                 |
| rs3087584<br>(C / T) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 188 (43,7)<br>332 (43,7) | 242 (56,3)<br>428 (56,3) | 0,60            | 39 (18,1)<br>70 (18,4)  | 110 (51,2)<br>192 (50,5) | 66 (30,7)<br>118 (31,1) | 0,99            | 0,99                 |
| rs3770181<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 147 (33,1)<br>267 (34,8) | 297 (66,9)<br>501 (65,2) | 0,56            | 22 (9,91)<br>49 (12,8)  | 103 (46,4)<br>169 (44,0) | 97 (43,7)<br>166 (43,2) | 0,56            | 0,56                 |

1: Allel 1 (major); 2: Allel 2 (minor); Signifikanz: P-Wert (HWE): allelbasierter P-Wert der Kontrollen (Hardy-Weinberg-Gleichgewicht); genotypbasierter P-Wert (2df) nach FAMHAP; P-Wert (Armitage) nach Armitage's Trend Test

### **3.1.2 Einteilung in die Phänotypen nach Leonhard**

Das Gesamtkollektiv der zykliden Psychosen bestand aus 317 Probanden. Hierbei ergab sich eine nominale Assoziation beim SNP rs3087584 ( $P=0,015$ ) (Tab. 13). Bei der Unterteilung in die drei Unterformen nach Leonhard zeigte sich dies insbesondere für die Motilitätspsychose ( $P=0,03$ ) (Tab. 14). Bei der Angst-Glücks-Psychose könnte außerdem auch eine Assoziation mit Schizophrenie beim SNP rs3770181 vorliegen ( $P=0,04$ ) (Tab. 15). Für die Verwirrtheitspsychose zeigte sich keine Assoziation für die getesteten Polymorphismen (Tab. 16).

**Tabelle 13:**

**Allel- und Genotypverteilung einzelner SNP-Varianten (zykloide Psychosen [n=317] und Kontrollen [n=384])**

| SNP<br>1/2           |                                   | Allelverteilung          |                          |                 | Genotypverteilung        |                          |                          |                 |                      |
|----------------------|-----------------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------|----------------------|
|                      |                                   | 1<br>(%)                 | 2<br>(%)                 | P-Wert<br>(HWE) | 11<br>(%)                | 12<br>(%)                | 22<br>(%)                | P-Wert<br>(2df) | P-Wert<br>(Armitage) |
| rs1864461<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 390 (61,5)<br>492 (64,1) | 244 (38,5)<br>276 (35,9) | 0,76            | 119 (37,5)<br>159 (41,4) | 152 (47,9)<br>174 (45,3) | 46 (14,5)<br>51 (13,3)   | 0,58            | 0,33                 |
| rs1897120<br>(A / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 196 (31,0)<br>268 (35,3) | 436 (69,0)<br>492 (64,7) | 0,40            | 36 (11,4)<br>51 (13,4)   | 124 (39,2)<br>166 (43,7) | 156 (49,4)<br>163 (42,9) | 0,23            | 0,10                 |
| rs3087584<br>(C / T) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 325 (51,4)<br>332 (43,7) | 307 (48,6)<br>428 (56,3) | 0,60            | 82 (25,9)<br>70 (18,4)   | 161 (50,9)<br>192 (50,5) | 73 (23,1)<br>118 (31,1)  | <b>0,015</b>    | 0,0037               |
| rs3770181<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 191 (30,1)<br>267 (34,8) | 443 (69,9)<br>501 (65,2) | 0,56            | 37 (11,7)<br>49 (12,8)   | 117 (36,9)<br>169 (44,0) | 163 (51,4)<br>166 (43,2) | 0,091           | 0,075                |

1: Allel 1 (major); 2: Allel 2 (minor); Signifikanz: P-Wert (HWE): allelbasierter P-Wert der Kontrollen (Hardy-Weinberg-Gleichgewicht); genotypbasierter P-Wert (2df) nach FAMHAP; P-Wert (Armitage) nach Armitage's Trend Test



**Tabelle 14:**

**Allel- und Genotypverteilung einzelner SNP-Varianten (Motilitätspsychose [n=99] und Kontrollen [n=384])**

| SNP<br>1/2           |                                   | Allelverteilung          |                          |                 | Genotypverteilung       |                         |                         |                 | P-Wert<br>(Armitage) |
|----------------------|-----------------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------|----------------------|
|                      |                                   | 1<br>(%)                 | 2<br>(%)                 | P-Wert<br>(HWE) | 11<br>(%)               | 12<br>(%)               | 22<br>(%)               | P-Wert<br>(2df) |                      |
| rs1864461<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 128 (64,6)<br>492 (64,1) | 70 (35,4)<br>276 (35,9)  | 0,76            | 39 (39,4)<br>159 (41,4) | 50 (50,5)<br>174 (45,3) | 10 (10,1)<br>51 (13,3)  | 0,56            | 0,88                 |
| rs1897120<br>(A / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 67 (33,8)<br>268 (35,3)  | 131 (66,2)<br>492 (64,7) | 0,40            | 15 (15,2)<br>51 (13,4)  | 37 (37,4)<br>166 (43,7) | 47 (47,5)<br>163 (42,9) | 0,53            | 0,72                 |
| rs3087584<br>(T / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 106 (53,5)<br>332 (43,7) | 92 (46,5)<br>428 (56,3)  | 0,60            | 25 (25,3)<br>70 (18,4)  | 56 (56,6)<br>192 (50,5) | 18 (18,2)<br>118 (31,1) | <b>0,030</b>    | 0,011                |
| rs3770181<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 66 (33,3)<br>267 (34,8)  | 132 (66,7)<br>501 (65,2) | 0,56            | 15 (15,2)<br>49 (12,8)  | 36 (36,4)<br>169 (44,0) | 48 (48,5)<br>166 (43,2) | 0,38            | 0,71                 |

1: Allel 1 (major); 2: Allel 2 (minor); Signifikanz: P-Wert (HWE): allelbasierter P-Wert der Kontrollen (Hardy-Weinberg-Gleichgewicht); genotypbasierter P-Wert (2df) nach FAMHAP; P-Wert (Armitage) nach Armitage's Trend Test

**Tabelle 15:**

**Allel- und Genotypverteilung einzelner SNP-Varianten (Angst-Glücks-Psychose [n=120] und Kontrollen [n=384])**

| SNP<br>1/2           |                                   | Allelverteilung          |                          |                 | Genotypverteilung       |                         |                         |                 |                      |
|----------------------|-----------------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------|----------------------|
|                      |                                   | 1<br>(%)                 | 2<br>(%)                 | P-Wert<br>(HWE) | 11<br>(%)               | 12<br>(%)               | 22<br>(%)               | P-Wert<br>(2df) | P-Wert<br>(Armitage) |
| rs1864461<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 144 (60,0)<br>492 (64,1) | 96 (40,0)<br>276 (35,9)  | 0,76            | 46 (38,3)<br>159 (41,4) | 52 (43,3)<br>174 (45,3) | 22 (18,3)<br>51 (13,3)  | 0,39            | 0,26                 |
| rs1897120<br>(A / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 69 (28,7)<br>268 (35,3)  | 171 (71,3)<br>492 (64,7) | 0,40            | 11 (9,17)<br>51 (13,4)  | 47 (39,2)<br>166 (43,7) | 62 (51,7)<br>163 (42,9) | 0,19            | 0,069                |
| rs3087584<br>(T / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 122 (50,8)<br>332 (43,7) | 118 (49,2)<br>428 (56,3) | 0,60            | 31 (25,8)<br>70 (18,4)  | 60 (50,0)<br>192 (50,5) | 29 (24,2)<br>118 (31,1) | 0,15            | 0,051                |
| rs3770181<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 63 (26,3)<br>267 (34,8)  | 177 (73,8)<br>501 (65,2) | 0,56            | 11 (9,17)<br>49 (12,8)  | 41 (34,2)<br>169 (44,0) | 68 (56,7)<br>166 (43,2) | <b>0,036</b>    | 0,017                |

1: Allel 1 (major); 2: Allel 2 (minor); Signifikanz: P-Wert (HWE): allelbasierter P-Wert der Kontrollen (Hardy-Weinberg-Gleichgewicht); genotypbasierter P-Wert (2df) nach FAMHAP; P-Wert (Armitage) nach Armitage's Trend Test

**Tabelle 16:**

**Allel- und Genotypverteilung einzelner SNP-Varianten (Verwirrtheitspsychose [n=98] und Kontrollen [n=384])**

| SNP<br>1/2           |                                   | Allelverteilung          |                          |                 | Genotypverteilung       |                         |                         |                 | P-Wert<br>(Armitage) |
|----------------------|-----------------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------|----------------------|
|                      |                                   | 1<br>(%)                 | 2<br>(%)                 | P-Wert<br>(HWE) | 11<br>(%)               | 12<br>(%)               | 22<br>(%)               | P-Wert<br>(2df) |                      |
| rs1864461<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 118 (60,2)<br>492 (64,1) | 78 (39,8)<br>276 (35,9)  | 0,76            | 34 (34,7)<br>159 (41,4) | 50 (51,0)<br>174 (45,3) | 14 (14,3)<br>51 (13,3)  | 0,48            | 0,32                 |
| rs1897120<br>(A / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 60 (30,9)<br>268 (35,3)  | 134 (69,1)<br>492 (64,7) | 0,40            | 10 (10,3)<br>51 (13,4)  | 40 (41,2)<br>166 (43,7) | 47 (48,5)<br>163 (42,9) | 0,54            | 0,27                 |
| rs3087584<br>(T / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 97 (50,0)<br>332 (43,7)  | 97 (50,0)<br>428 (56,3)  | 0,60            | 26 (26,8)<br>70 (18,4)  | 45 (46,4)<br>192 (50,5) | 26 (26,8)<br>118 (31,1) | 0,18            | 0,11                 |
| rs3770181<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 62 (31,6)<br>267 (34,8)  | 134 (68,4)<br>501 (65,2) | 0,56            | 11 (11,2)<br>49 (12,8)  | 40 (40,8)<br>169 (44,0) | 47 (48,0)<br>166 (43,2) | 0,70            | 0,42                 |

1: Allel 1 (major); 2: Allel 2 (minor); Signifikanz: P-Wert (HWE): allelbasierter P-Wert der Kontrollen (Hardy-Weinberg-Gleichgewicht); genotypbasierter P-Wert (2df) nach FAMHAP; P-Wert (Armitage) nach Armitage's Trend Test

Das Gesamtkollektiv der unsystematischen Schizophrenien bestand aus 636 Probanden. Hierbei lag weder bei der Auswertung des Gesamtkollektivs noch bei der Auswertung der drei Untergruppen eine Assoziation der getesteten SNPs vor. Annähernd signifikant zeigte sich beim Gesamtkollektiv der unsystematischen Schizophrenien nur der SNP rs1864461 (Tab. 17). Bei getrennter Betrachtung der periodischen Katatonie zeigten sich keine signifikanten statistischen Auffälligkeiten (Tab. 18). Bei der Kataphasie verfehlte der SNP rs1897120 ( $P=0,0861$ ) knapp eine statistische Signifikanz (Tab. 19). Selbiges gilt für den SNP rs1864461 bei getrennter Betrachtung der Krankheitsgruppe der affektvollen Paraphrenie ( $P=0,0823$ ) (Tab. 20).

**Tabelle 17:**

**Allel- und Genotypverteilung einzelner SNP-Varianten (unsystematische Schizophrenien [n=636] und Kontrollen [n=384])**

| SNP<br>1/2           |                                   | Allelverteilung          |                          |                 | Genotypverteilung        |                          |                          |                 | P-Wert<br>(Armitage) |
|----------------------|-----------------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------|----------------------|
|                      |                                   | 1<br>(%)                 | 2<br>(%)                 | P-Wert<br>(HWE) | 11<br>(%)                | 12<br>(%)                | 22<br>(%)                | P-Wert<br>(2df) |                      |
| rs1864461<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 749 (58,9)<br>492 (64,1) | 523 (41,1)<br>276 (35,9) | 0,76            | 224 (35,2)<br>159 (41,4) | 301 (47,3)<br>174 (45,3) | 111 (17,5)<br>51 (13,3)  | 0,072           | 0,022                |
| rs1897120<br>(A / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 415 (34,5)<br>268 (35,3) | 787 (65,5)<br>492 (64,7) | 0,40            | 75 (12,5)<br>51 (13,4)   | 265 (44,1)<br>166 (43,7) | 261 (43,4)<br>163 (42,9) | 0,91            | 0,74                 |
| rs3087584<br>(C / T) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 541 (44,6)<br>332 (18,4) | 671 (55,4)<br>428 (50,5) | 0,60            | 116 (19,1)<br>70 (18,4)  | 309 (51,0)<br>192 (50,5) | 181 (29,9)<br>118 (31,1) | 0,91            | 0,67                 |
| rs3770181<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 436 (34,3)<br>267 (34,8) | 836 (65,7)<br>501 (65,2) | 0,56            | 78 (12,3)<br>49 (12,8)   | 280 (44,0)<br>169 (44,0) | 278 (43,7)<br>166 (43,2) | 0,97            | 0,82                 |

1: Allel 1 (major); 2: Allel 2 (minor); Signifikanz: P-Wert (HWE): allelbasierter P-Wert der Kontrollen (Hardy-Weinberg-Gleichgewicht); genotypbasierter P-Wert (2df) nach FAMHAP; P-Wert (Armitage) nach Armitage's Trend Test

**Tabelle 18:**

**Allel- und Genotypverteilung einzelner SNP-Varianten (periodische Katatonie [n=342] und Kontrollen [n=384])**

| SNP<br>1/2           |                                   | Allelverteilung          |                          |                 | Genotypverteilung        |                          |                          |                 |                      |
|----------------------|-----------------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------|----------------------|
|                      |                                   | 1<br>(%)                 | 2<br>(%)                 | P-Wert<br>(HWE) | 11<br>(%)                | 12<br>(%)                | 22<br>(%)                | P-Wert<br>(2df) | P-Wert<br>(Armitage) |
| rs1864461<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 413 (60,4)<br>492 (64,1) | 271 (39,6)<br>276 (35,9) | 0,76            | 126 (36,8)<br>159 (41,4) | 161 (47,1)<br>174 (45,3) | 55 (16,1)<br>51 (13,3)   | 0,36            | 0,15                 |
| rs1897120<br>(A / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 219 (35,1)<br>268 (35,3) | 405 (64,9)<br>492 (64,7) | 0,40            | 40 (12,8)<br>51 (13,4)   | 139 (44,6)<br>166 (43,7) | 133 (42,6)<br>163 (42,9) | 0,96            | 0,95                 |
| rs3087584<br>(T / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 278 (44,0)<br>332 (43,7) | 354 (56,0)<br>428 (56,3) | 0,60            | 59 (18,7)<br>70 (18,4)   | 160 (50,6)<br>192 (50,5) | 97 (30,7)<br>118 (31,1)  | 0,99            | 0,91                 |
| rs3770181<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 238 (34,8)<br>267 (34,8) | 446 (65,2)<br>501 (65,2) | 0,56            | 43 (12,6)<br>49 (12,8)   | 152 (44,4)<br>169 (44,0) | 147 (43,0)<br>166 (43,2) | 0,99            | 0,99                 |

1: Allel 1 (major); 2: Allel 2 (minor); Signifikanz: P-Wert (HWE): allelbasierter P-Wert der Kontrollen (Hardy-Weinberg-Gleichgewicht); genotypbasierter P-Wert (2df) nach FAMHAP; P-Wert (Armitage) nach Armitage's Trend Test

**Tabelle 19:**

**Allel- und Genotypverteilung einzelner SNP-Varianten (Kataphasie [n=143] und Kontrollen [n=384])**

| SNP<br>1/2           |                                   | Allelverteilung          |                          |                 | Genotypverteilung       |                         |                         |                 | P-Wert<br>(Armitage) |
|----------------------|-----------------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------|----------------------|
|                      |                                   | 1<br>(%)                 | 2<br>(%)                 | P-Wert<br>(HWE) | 11<br>(%)               | 12<br>(%)               | 22<br>(%)               | P-Wert<br>(2df) |                      |
| rs1864461<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 165 (57,7)<br>492 (64,1) | 121 (42,3)<br>276 (35,9) | 0,76            | 49 (34,3)<br>159 (41,4) | 67 (46,9)<br>174 (45,3) | 27 (18,9)<br>51 (13,3)  | 0,17            | 0,061                |
| rs1897120<br>(A / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 92 (33,1)<br>268 (35,3)  | 186 (66,9)<br>492 (64,7) | 0,40            | 10 (7,19)<br>51 (13,4)  | 72 (51,8)<br>166 (43,7) | 57 (41,0)<br>163 (42,9) | 0,086           | 0,51                 |
| rs3087584<br>(T / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 128 (45,7)<br>332 (43,7) | 152 (54,3)<br>428 (56,3) | 0,60            | 28 (20,0)<br>70 (18,4)  | 72 (51,4)<br>192 (50,5) | 40 (28,6)<br>118 (31,1) | 0,84            | 0,55                 |
| rs3770181<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 93 (32,5)<br>267 (34,8)  | 193 (67,5)<br>501 (65,2) | 0,56            | 10 (6,99)<br>49 (12,8)  | 73 (51,0)<br>169 (44,0) | 60 (42,0)<br>166 (43,2) | 0,12            | 0,49                 |

1: Allel 1 (major); 2: Allel 2 (minor); Signifikanz: P-Wert (HWE): allelbasierter P-Wert der Fälle (Hardy-Weinberg-Gleichgewicht); genotypbasierter P-Wert (2df) nach FAMHAP; P-Wert (Armitage) nach Armitage's Trend Test

**Tabelle 20:**

**Allel- und Genotypverteilung einzelner SNP-Varianten (affektvolle Paraphrenie [n=151] und Kontrollen [n=384])**

| SNP<br>1/2           |                                   | Allelverteilung          |                          |                 | Genotypverteilung       |                         |                         |                 | P-Wert<br>(Armitage) |
|----------------------|-----------------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------|----------------------|
|                      |                                   | 1<br>(%)                 | 2<br>(%)                 | P-Wert<br>(HWE) | 11<br>(%)               | 12<br>(%)               | 22<br>(%)               | P-Wert<br>(2df) |                      |
| rs1864461<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 171 (56,6)<br>492 (64,1) | 131 (43,4)<br>276 (35,9) | 0,76            | 49 (32,5)<br>159 (41,4) | 73 (48,3)<br>174 (45,3) | 29 (19,2)<br>51 (13,3)  | 0,082           | 0,026                |
| rs1897120<br>(A / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 104 (34,7)<br>268 (35,3) | 196 (65,3)<br>492 (64,7) | 0,40            | 25 (16,7)<br>51 (13,4)  | 54 (36,0)<br>166 (43,7) | 71 (47,3)<br>163 (42,9) | 0,25            | 0,86                 |
| rs3087584<br>(T / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 135(45,0)<br>332 (43,7)  | 165 (55,0)<br>428 (56,3) | 0,60            | 29 (19,3)<br>70 (18,4)  | 77 (51,3)<br>192 (50,5) | 44 (29,3)<br>118 (31,1) | 0,92            | 0,69                 |
| rs3770181<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 105 (34,8)<br>267 (34,8) | 197 (65,2)<br>501 (65,2) | 0,56            | 25 (16,6)<br>49 (12,8)  | 55 (36,4)<br>169 (44,0) | 71 (47,0)<br>166 (43,2) | 0,23            | 1,00                 |

1: Allel 1 (major); 2: Allel 2 (minor); Signifikanz: P-Wert (HWE): allelbasierter P-Wert der Kontrollen (Hardy-Weinberg-Gleichgewicht); genotypbasierter P-Wert (2df) nach FAMHAP; P-Wert (Armitage) nach Armitage's Trend Test



Das Gesamtkollektiv der systematischen Schizophrenien bestand aus 227 Probanden. Die Auswertung des Gesamtkollektivs zeigte für den SNP rs1897120 eine nominell signifikante Assoziation ( $P=0,02$ ) mit der Krankheitsgruppe (Tab. 21). Bei getrennter Betrachtung der einzelnen Unterformen nach Leonhard ergab sich jedoch kein signifikanter Nachweis für einen Zusammenhang der getesteten Polymorphismen mit den jeweiligen Unterformen. Bei den Hebephrenien verfehlte der genannte SNP die Grenze für eine signifikante Assoziation nur knapp (Tab. 22). Bei den Katatonien (Tab. 23) sowie bei den Paraphrenien (Tab. 24) zeigte ebenfalls keiner der getesteten Marker eine signifikante Assoziation. Der stärkste Befund zeigte sich bei den Katatonien für den SNP rs3770181 ( $P=0,0740$ ), welcher die Schwelle für eine statistische Signifikanz jedoch nicht erreicht (Tab. 23).

**Tabelle 21:**

**Allel- und Genotypverteilung einzelner SNP-Varianten (systematische Schizophrenien [n=227] und Kontrollen [n=384])**

| SNP<br>1/2           |                                   | Allelverteilung          |                          |                 | Genotypverteilung       |                          |                          |                 | P-Wert<br>(Armitage) |
|----------------------|-----------------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------|----------------------|
|                      |                                   | 1<br>(%)                 | 2<br>(%)                 | P-Wert<br>(HWE) | 11<br>(%)               | 12<br>(%)                | 22<br>(%)                | P-Wert<br>(2df) |                      |
| rs1864461<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 289 (63,7)<br>492 (64,1) | 165 (36,3)<br>276 (35,9) | 0,76            | 92 (40,5)<br>159 (41,4) | 105 (46,3)<br>174 (45,3) | 30 (13,2)<br>51 (13,3)   | 0,97            | 0,89                 |
| rs1897120<br>(A / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 142 (31,4)<br>268 (35,3) | 310 (68,6)<br>492 (64,7) | 0,40            | 14 (6,19)<br>51 (13,4)  | 114 (50,4)<br>166 (43,7) | 98 (43,4)<br>163 (42,9)  | <b>0,016</b>    | 0,16                 |
| rs3087584<br>(C / T) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 225 (49,8)<br>332 (43,7) | 227 (50,2)<br>428 (56,3) | 0,60            | 53 (23,5)<br>70 (18,4)  | 119 (52,7)<br>192 (50,5) | 54 (23,9)<br>118 (31,1)  | 0,11            | 0,036                |
| rs3770181<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 139 (30,6)<br>267 (34,8) | 315 (69,4)<br>501 (65,2) | 0,56            | 16 (7,05)<br>49 (12,8)  | 107 (47,1)<br>169 (44,0) | 104 (45,8)<br>166 (43,2) | 0,086           | 0,13                 |

1: Allel 1 (major); 2: Allel 2 (minor); Signifikanz: P-Wert (HWE): allelbasierter P-Wert der Kontrollen (Hardy-Weinberg-Gleichgewicht); genotypbasierter P-Wert (2df) nach FAMHAP; P-Wert (Armitage) nach Armitage's Trend Test

**Tabelle 22:**

**Allel- und Genotypverteilung einzelner SNP-Varianten (Hebephrenien [n=116] und Kontrollen [n=384])**

| SNP<br>1/2           |                                   | Allelverteilung          |                          |                 | Genotypverteilung       |                         |                         |                 | P-Wert<br>(Armitage) |
|----------------------|-----------------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------|----------------------|
|                      |                                   | 1<br>(%)                 | 2<br>(%)                 | P-Wert<br>(HWE) | 11<br>(%)               | 12<br>(%)               | 22<br>(%)               | P-Wert<br>(2df) |                      |
| rs1864461<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 155 (66,8)<br>492 (64,1) | 77 (33,2)<br>276 (35,9)  | 0,76            | 50 (43,1)<br>159 (41,4) | 55 (47,4)<br>174 (45,3) | 11 (9,48)<br>51 (13,3)  | 0,55            | 0,44                 |
| rs1897120<br>(A / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 75 (32,6)<br>268 (35,3)  | 155 (67,4)<br>492 (64,7) | 0,40            | 7 (6,09)<br>51 (13,4)   | 61 (53,0)<br>166 (43,7) | 47 (40,9)<br>163 (42,9) | 0,054           | 0,46                 |
| rs3087584<br>(T / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 113 (49,1)<br>332 (43,7) | 117 (50,9)<br>428 (56,3) | 0,60            | 24 (20,9)<br>70 (18,4)  | 65 (56,5)<br>192 (50,5) | 26 (22,6)<br>118 (31,1) | 0,22            | 0,14                 |
| rs3770181<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 76 (32,8)<br>267 (34,8)  | 156 (67,2)<br>50 (65,2)  | 0,56            | 9 (7,76)<br>49 (12,8)   | 58 (50,0)<br>169 (44,0) | 49 (42,2)<br>166 (43,2) | 0,27            | 0,57                 |

1: Allel 1 (major); 2: Allel 2 (minor); Signifikanz: P-Wert (HWE): allelbasierter P-Wert der Kontrollen (Hardy-Weinberg-Gleichgewicht); genotypbasierter P-Wert (2df) nach FAMHAP; P-Wert (Armitage) nach Armitage's Trend Test

**Tabelle 23:**

**Allel- und Genotypverteilung einzelner SNP-Varianten (Katatonien [n=62] und Kontrollen [n=384])**

| SNP<br>1/2           |                                   | Allelverteilung         |                         |                 | Genotypverteilung       |                         |                         |                 | P-Wert<br>(Armitage) |
|----------------------|-----------------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------|----------------------|
|                      |                                   | 1<br>(%)                | 2<br>(%)                | P-Wert<br>(HWE) | 11<br>(%)               | 12<br>(%)               | 22<br>(%)               | P-Wert<br>(2df) |                      |
| rs1864461<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 74 (61,7)<br>492 (38,3) | 46 (64,1)<br>276 (35,9) | 0,76            | 23 (38,3)<br>159 (41,4) | 28 (46,7)<br>174 (45,3) | 9 (15,0)<br>51 (13,3)   | 0,88            | 0,61                 |
| rs1897120<br>(A / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 33 (27,5)<br>268 (35,3) | 87 (72,5)<br>492 (64,7) | 0,40            | 2 (3,33)<br>51 (13,4)   | 29 (48,3)<br>166 (43,7) | 29 (48,3)<br>163 (42,9) | 0,083           | 0,098                |
| rs3087584<br>(T / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 64 (53,3)<br>332 (43,7) | 56 (46,7)<br>428 (56,3) | 0,60            | 17 (28,3)<br>70 (18,4)  | 30 (50,0)<br>192 (50,5) | 13 (21,7)<br>118 (31,3) | 0,13            | 0,046                |
| rs3770181<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 30 (25,0)<br>267 (34,8) | 90 (75,0)<br>501 (65,2) | 0,56            | 2 (3,33)<br>49 (12,8)   | 26 (43,3)<br>169 (44,0) | 32 (53,3)<br>166 (43,2) | 0,074           | 0,036                |

1: Allel 1 (major); 2: Allel 2 (minor); Signifikanz: P-Wert (HWE): allelbasierter P-Wert der Kontrollen (Hardy-Weinberg-Gleichgewicht); genotypbasierter P-Wert (2df) nach FAMHAP; P-Wert (Armitage) nach Armitage's Trend Test

**Tabelle 24:**

**Allel- und Genotypverteilung einzelner SNP-Varianten (Paraphrenien [n=49] und Kontrollen [n=384])**

| SNP<br>1/2           |                                   | Allelverteilung         |                         |                 | Genotypverteilung       |                         |                         |                 | P-Wert<br>(Armitage) |
|----------------------|-----------------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------|----------------------|
|                      |                                   | 1<br>(%)                | 2<br>(%)                | P-Wert<br>(HWE) | 11<br>(%)               | 12<br>(%)               | 22<br>(%)               | P-Wert<br>(2df) |                      |
| rs1864461<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 60 (58,8)<br>492 (64,1) | 42 (41,2)<br>276 (35,9) | 0,76            | 19 (37,3)<br>159 (41,4) | 22 (43,1)<br>174 (45,3) | 10 (19,6)<br>51 (13,3)  | 0,47            | 0,31                 |
| rs1897120<br>(A / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 34 (33,3)<br>268 (35,3) | 68 (66,7)<br>492 (64,7) | 0,40            | 5 (9,80)<br>51 (13,4)   | 24 (47,1)<br>166 (43,7) | 22 (43,1)<br>163 (42,9) | 0,75            | 0,71                 |
| rs3087584<br>(T / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 48 (47,1)<br>332 (43,7) | 54 (52,9)<br>428 (56,3) | 0,60            | 12 (23,5)<br>70 (18,4)  | 24 (47,1)<br>192 (50,5) | 15 (29,4)<br>118 (31,1) | 0,68            | 0,52                 |
| rs3770181<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 33 (32,4)<br>267 (34,8) | 69 (67,6)<br>501 (65,2) | 0,56            | 5 (9,80)<br>49 (12,8)   | 23 (45,1)<br>169 (44,0) | 23 (45,1)<br>166 (43,2) | 0,83            | 0,63                 |

1: Allel 1 (major); 2: Allel 2 (minor); Signifikanz: P-Wert (HWE): allelbasierter P-Wert der Kontrollen (Hardy-Weinberg-Gleichgewicht); genotypbasierter P-Wert (2df) nach FAMHAP; P-Wert (Armitage) nach Armitage's Trend Test

Bei der Auswertung eines Kollektivs von 285 Probanden mit manisch-depressiver Erkrankung bzw. 90 Probanden mit monopolen Depressionen zeigte keiner der getesteten SNPs eine Assoziation. Der p-Wert liegt bei allen getesteten SNPs zwischen 0,212 und 0,780 (Tab. 25 und 26). Somit konnte hier kein signifikanter Wert gefunden werden.

**Tabelle 25:**

**Allel- und Genotypverteilung einzelner SNP-Varianten (manisch-depressive Erkrankungen [n=285] und Kontrollen [n=384])**

| SNP<br>1/2           |                                   | Allelverteilung          |                          |                 | Genotypverteilung        |                          |                          |                 | P-Wert<br>(Armitage) |
|----------------------|-----------------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------|----------------------|
|                      |                                   | 1<br>(%)                 | 2<br>(%)                 | P-Wert<br>(HWE) | 11<br>(%)                | 12<br>(%)                | 22<br>(%)                | P-Wert<br>(2df) |                      |
| rs1864461<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 343 (60,4)<br>492 (64,1) | 225 (39,6)<br>276 (35,9) | 0,76            | 103 (36,3)<br>159 (41,4) | 137 (48,2)<br>174 (45,3) | 44 (15,5)<br>51 (13,3)   | 0,38            | 0,17                 |
| rs1897120<br>(A / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 186 (33,2)<br>268 (35,3) | 374 (66,8)<br>492 (64,7) | 0,40            | 30 (10,7)<br>51 (13,4)   | 126 (45,0)<br>166 (43,7) | 124 (44,3)<br>163 (42,9) | 0,58            | 0,44                 |
| rs3087584<br>(T / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 258 (46,1)<br>332 (43,7) | 302 (53,9)<br>428 (56,3) | 0,60            | 66 (23,6)<br>70 (18,4)   | 126 (45,0)<br>192 (50,5) | 88 (31,4)<br>118 (31,1)  | 0,21            | 0,40                 |
| rs3770181<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 184 (32,4)<br>267 (34,8) | 384 (67,6)<br>501 (65,2) | 0,56            | 30 (10,6)<br>49 (12,8)   | 124 (43,7)<br>169 (44,0) | 130 (45,8)<br>166 (43,2) | 0,64            | 0,37                 |

1: Allel 1 (major); 2: Allel 2 (minor); Signifikanz: P-Wert (HWE): allelbasierter P-Wert der Kontrollen (Hardy-Weinberg-Gleichgewicht); genotypbasierter P-Wert (2df) nach FAMHAP; P-Wert (Armitage) nach Armitage's Trend Test

**Tabelle 26:**

**Allel- und Genotypverteilung einzelner SNP-Varianten (monopolare Depressionen [n=90] und Kontrollen [n=384])**

| SNP<br>1/2           |                                   | Allelverteilung          |                          |                 | Genotypverteilung       |                         |                         |                 |                      |
|----------------------|-----------------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------|----------------------|
|                      |                                   | 1<br>(%)                 | 2<br>(%)                 | P-Wert<br>(HWE) | 11<br>(%)               | 12<br>(%)               | 22<br>(%)               | P-Wert<br>(2df) | P-Wert<br>(Armitage) |
| rs1864461<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 110 (61,1)<br>492 (64,1) | 70 (38,9)<br>276 (35,9)  | 0,76            | 32 (35,6)<br>159 (41,4) | 46 (51,1)<br>174 (45,3) | 12 (13,3)<br>51 (13,3)  | 0,56            | 0,46                 |
| rs1897120<br>(A / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 65 (36,1)<br>268 (35,3)  | 115 (63,9)<br>492 (64,7) | 0,40            | 11 (12,2)<br>51 (13,4)  | 43 (47,8)<br>166 (43,7) | 36 (40,0)<br>163 (42,9) | 0,78            | 0,83                 |
| rs3087584<br>(T / C) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 72 (40,0)<br>332 (43,7)  | 108 (60,0)<br>428 (56,3) | 0,60            | 14 (15,6)<br>70 (18,4)  | 44 (48,9)<br>192 (50,5) | 32 (35,6)<br>118 (31,1) | 0,66            | 0,36                 |
| rs3770181<br>(A / G) | <b>Fälle</b><br><b>Kontrollen</b> | 63 (35,0)<br>267 (34,8)  | 117 (65,0)<br>501 (65,2) | 0,56            | 9 (10,0)<br>49 (12,8)   | 45 (50,0)<br>169 (44,0) | 36 (40,0)<br>166 (43,2) | 0,55            | 0,95                 |

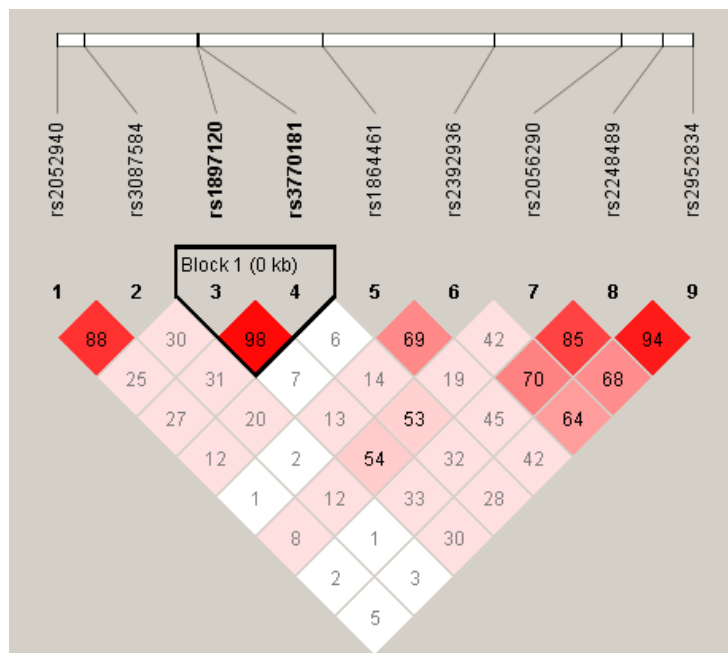
1: Allel 1 (major); 2: Allel 2 (minor); Signifikanz: P-Wert (HWE): allelbasierter P-Wert der Kontrollen (Hardy-Weinberg-Gleichgewicht); genotypbasierter P-Wert (2df) nach FAMHAP; P-Wert (Armitage) nach Armitage's Trend Test



### 3.2 Linkage Disequilibrium der untersuchten SNPs

Für die Haplotypenanalysen wurde außerdem das Linkage Disequilibrium (LD) der untersuchten SNPs bestimmt (Abb. 3). Das Linkage Disequilibrium ist ein Maß für die Assoziation bestimmter Varianten benachbarter Genorte bzw. SNPs auf einem Chromosom. Falls zwei Allele an zwei oder mehr Genorten häufiger bzw. weniger häufig verknüpft sind als nach ihren individuellen Frequenzen zu erwarten wäre, so befinden sie sich im Kopplungsungleichgewicht (LD). Bei den untersuchten SNPs konnte für den Bereich rs1897120 – rs3770181 ein LD-Block gefunden werden, welcher im intronischen Bereich zwischen Exon 9 und Exon 10 lokalisiert ist. Für  $D'$  ergab sich ein Wert von 0,98; d.h. die Marker rs1897120 und rs3770181 werden in 98% der Fälle zusammen transmittiert. Die folgende Grafik veranschaulicht das Linkage Disequilibrium aller Polymorphismen, welche in dieser Arbeit für die Haplotypenanalysen berücksichtigt wurden.

**Abbildung 3: Linkage Disequilibrium (LD) der untersuchten SNPs**



oben: relative Positionen der SNPs (vertikale Streifen innerhalb des weißen Balkens)

darunter: paarweise Werte von  $D'$  in Prozent (innerhalb der Quadrate). Farbänderung von weiß nach rot mit zunehmender Stärke von  $D'$

Die grafische Darstellung des Linkage Disequilibriums wurde mit Hilfe des Programms HaploView erstellt (Barrett et al. 2005).

### 3.3 Haplotypanalysen

Zusätzlich zu den für die Einzelmarker-Analysen verwendeten SNPs wurden die SNPs rs2052940, rs2392936, rs2056290, rs2248489 und rs2952834, deren Daten von Fr. Segura-Castell erhoben wurden, in die Haplotypanalysen eingeschlossen.

#### 3.3.1 Einteilung nach ICD-10

Für schizophrene Erkrankungen nach ICD-10 ergab sich für die Allelkombinationen rs2052940T – rs3087584T ein statistisch signifikanter Befund (Tab. 27). Beide Marker liegen im regulatorischen Bereich von EphA4 (3'-UTR).

**Tabelle 27: Haplotyp rs2052940 – rs3087584 für schizophrene Erkrankungen nach ICD-10**

| Haplotyp rs2052940 – rs3087584 (P-Wert=0,006) |        |            |                     |            |                            |
|---|--------|------------|---------------------|------------|----------------------------|
| Allel-kombination                             | Anzahl |            | relative Häufigkeit |            | Odds Ratio                 |
|   | Fälle  | Kontrollen | Fälle               | Kontrollen |                            |
| AC  | 64,9   | 9,8        | 0,036               | 0,013      | 2,85 (1,45 - 5,62)         |
| AT  | 875,1  | 421,2      | 0,483               | 0,554      | 0,75 (0,63 - 0,89)         |
| TC  | 783,1  | 322,2      | 0,432               | 0,424      | 1,03 (0,87 - 1,23)         |
| TT  | 88,9   | 6,8        | 0,049               | 0,009      | <b>5,74</b> (2,61 - 12,59) |

Anzahl: rechnerische Anzahl nach Permutations-Analyse (FAMHAP)

P-Wert: Signifikanzniveau nach Anwendung der Bonferroni-Korrektur (signifikant bei Werten < 0,05)

OR: Odds Ratio bzw. Quotenverhältnis

*Fälle mit zu untersuchendem Haplotyp\* Kontrollen ohne zu untersuchendem Haplotyp*

*Fälle ohne zu untersuchenden Haplotyp\*Kontrollen mit zu untersuchendem Haplotyp*

Für die bipolaren affektiven Störungen ergaben sich für alle ausgewerteten Haplotypen Odds Ratios zwischen 0,85 (bei rs2302936T – rs2248489G – rs2056290C) und 6,58 (bei rs2392936T – rs2248489A – rs2056290T) (Tab. 28). Dabei befindet sich rs2392936 an Position 221.529.008 und rs2056290 an Position 221.563.151, also jeweils im intronischen Bereich zwischen Exon 4 und 5, während rs2248489 an bp 221.574.248 (stromaufwärts von Exon 1) lokalisiert ist.

Für die unipolaren Depressionen konnte der stärkste Befund beim Haplotyp rs2248489A – rs2056290T festgestellt werden, welcher bei den Fällen mit einer relativen Häufigkeit von 0,063 und bei den Kontrollen lediglich mit einer relativen Häufigkeit von 0,012 auftrat (Odds Ratio 5,46) (Tab. 29).

**Tabelle 28: Auswertung des Haplotyp rs2392936 – rs2248489 – rs2056290 für F30-31 (bipolare affektive Störungen)**

| Haplotyp rs2392936 – rs2248489 – rs2056290 (P-Wert=0,0475) |        |            |                     |            |                            |
|--|--------|------------|---------------------|------------|----------------------------|
| Allel-kombination  | Anzahl |            | relative Häufigkeit |            | Odds Ratio                 |
|  | Fälle  | Kontrollen | Fälle               | Kontrollen |                            |
| CAC  | 37,9   | 25,6       | 0,047               | 0,033      | 1,43 (0,86 - 2,38)         |
| CAT  | 9,8    | 5,7        | 0,012               | 0,007      | 1,65 (0,58 - 4,67)         |
| CGC  | 83     | 71,1       | 0,103               | 0,093      | 1,12 (0,80 - 1,56)         |
| CGT  | 231,2  | 227,6      | 0,286               | 0,297      | 0,95 (0,76 - 1,18)         |
| TAC  | 273,6  | 281,9      | 0,339               | 0,368      | 0,88 (0,72 - 1,08)         |
| TAT  | 19,6   | 2,9        | 0,024               | 0,004      | <b>6,58</b> (1,90 - 22,74) |
| TGC  | 39,4   | 43,4       | 0,049               | 0,057      | 0,85 (0,55 - 1,33)         |
| TGT  | 113,4  | 107,8      | 0,14                | 0,141      | 1,00 (0,75 - 1,32)         |

**Tabelle 29: Auswertung des Haplotyp rs2248489 – rs2056290 für F32-33 (unipolare Depressionen)**

| Haplotyp rs2248489 – rs2056290 (P-Wert=0,006) |        |            |                     |            |                            |
|---|--------|------------|---------------------|------------|----------------------------|
| Allel-kombination                             | Anzahl |            | relative Häufigkeit |            | Odds Ratio                 |
|   | Fälle  | Kontrollen | Fälle               | Kontrollen |                            |
| AC  | 155,8  | 306,6      | 0,351               | 0,4        | 0,81 (0,64 - 1,03)         |
| AT  | 28,2   | 9,4        | 0,063               | 0,012      | <b>5,46</b> (2,59 - 11,55) |
| GC  | 93,2   | 115,4      | 0,21                | 0,151      | 1,50 (1,11 - 2,03)         |
| GT  | 166,8  | 334,6      | 0,376               | 0,437      | 0,78 (0,61 - 0,99)         |

Anzahl: rechnerische Anzahl nach Permutations-Analyse (FAMHAP)

P-Wert: Signifikanzniveau nach Anwendung der Bonferroni-Korrektur (signifikant bei Werten < 0,05)

OR: Odds Ratio bzw. Quotenverhältnis

*Fälle mit zu untersuchendem Haplotyp\* Kontrollen ohne zu untersuchendem Haplotyp*

*Fälle ohne zu untersuchenden Haplotyp\* Kontrollen mit zu untersuchendem Haplotyp*

Die weiteren Haplotypen zeigten in der Einteilung nach ICD-10 keine Signifikanz und sind daher nicht gesondert aufgeführt.

### 3.3.2 Einteilung in die klinischen Phänotypen nach Leonhard

Bei den Haplotypenanalysen ergab sich für die affektvolle Paraphrenie rechnerisch eine Assoziation bei der Allelkombination TT der beiden SNPs rs2052940 und rs3087584 (Tab. 30). Die relative Häufigkeit dieser Allelkombination liegt bei den Erkrankten bei 0,144 und bei der gesunden Kontrollgruppe bei 0,009, was einer Odds Ratio von 18,85 entspricht. Weitere Untersuchungen beim Patientenkollektiv mit affektvoller Paraphrenie zeigten zudem einen Haplotyp rs2392936T – rs2052940T – rs3087584C, welcher die bisher gefundene Assoziation bestätigt und außerdem das Erkrankungsrisiko zusätzlich erhöht (Odds Ratio 30,21) (siehe Tabelle 31). Das Auftreten dieses Haplotyp ist jedoch deutlich seltener als beim zuvor genannten Haplotyp, da er nur bei 7,9% der Fälle und lediglich bei 0,3% der Kontrollen vorzufinden ist.

**Tabelle 30: Auswertung des Haplotyp rs2052940-rs3087584 für affektvolle Paraphrenie nach Leonhard**

| Haplotyp rs2052940 – rs3087584 (P-Wert=0,0028) |        |            |                     |            |                             |
|--|--------|------------|---------------------|------------|-----------------------------|
| Allel-kombination                              | Anzahl |            | relative Häufigkeit |            | Odds Ratio                  |
|  | Fälle  | Kontrollen | Fälle               | Kontrollen |                             |
| AC   | 17,3   | 9,7        | 0,058               | 0,013      | 4,71 (2,12 - 10,46)         |
| AT   | 121,7  | 421,3      | 0,406               | 0,554      | 0,55 (0,42 - 0,72)          |
| TC   | 117,7  | 322,3      | 0,392               | 0,424      | 0,88 (0,67 - 1,15)          |
| TT   | 43,3   | 6,7        | 0,144               | 0,009      | <b>18,85</b> (8,27 - 42,97) |

Anzahl: rechnerische Anzahl nach Permutations-Analyse (FAMHAP)

P-Wert: Signifikanzniveau nach Anwendung der Bonferroni-Korrektur (signifikant bei Werten < 0,05)

OR: Odds Ratio bzw. Quotenverhältnis

*Fälle mit zu untersuchendem Haplotyp\* Kontrollen ohne zu untersuchendem Haplotyp*

*Fälle ohne zu untersuchenden Haplotyp\*Kontrollen mit zu untersuchendem Haplotyp*

**Tabelle 31: Auswertung des Haplotyp rs2392936 – rs2052940 – rs3087584 für affektvolle Paraphrenie nach Leonhard**

| <b>Haplotyp rs2392936 – rs2052940 – rs3087584 (P-Wert=0,0028)</b> |               |                   |                            |                   |                              |
|---|---------------|-------------------|----------------------------|-------------------|------------------------------|
| <b>Allel-kombination</b>  | <b>Anzahl</b> |                   | <b>relative Häufigkeit</b> |                   | <b>Odds Ratio</b>            |
|   | <b>Fälle</b>  | <b>Kontrollen</b> | <b>Fälle</b>               | <b>Kontrollen</b> |                              |
| CAT   | 10,01         | 3,5               | 0,034                      | 0,005             | 7,54 (2,22 - 25,63)          |
| CAC   | 66,2          | 179,9             | 0,221                      | 0,237             | 0,91 (0,66 - 1,26)           |
| CTT   | 58,2          | 139               | 0,194                      | 0,183             | 1,07 (0,76 - 1,51)           |
| CTC   | 19,6          | 4,6               | 0,065                      | 0,006             | 11,49 (4,12 - 32,07)         |
| TAT   | 7,2           | 6,2               | 0,024                      | 0,008             | 2,97 (1,01 - 8,74)           |
| TAC   | 55,5          | 241,4             | 0,185                      | 0,318             | 0,49 (0,35 - 0,68)           |
| TTT   | 59,5          | 183,2             | 0,198                      | 0,241             | 0,78 (0,56 - 1,08)           |
| TTC   | 23,7          | 2,2               | 0,079                      | 0,003             | <b>30,21</b> (7,44 - 122,62) |

Anzahl: rechnerische Anzahl nach Permutations-Analyse (FAMHAP)

P-Wert: Signifikanzniveau nach Anwendung der Bonferroni-Korrektur (signifikant bei Werten < 0,05)

OR: Odds Ratio bzw. Quotenverhältnis

*Fälle mit zu untersuchendem Haplotyp\* Kontrollen ohne zu untersuchendem Haplotyp*

*Fälle ohne zu untersuchenden Haplotyp\*Kontrollen mit zu untersuchendem Haplotyp*

Die weiteren Haplotypen zeigten in der Einteilung nach Leonhard keine Signifikanz und sind daher nicht gesondert aufgeführt.

#### **4. Diskussion**

Nach aktuellem Stand der Forschung wird von einem wesentlichen Beitrag genetischer Faktoren bei der Ätiogenese schizophrener und affektiver Erkrankungen ausgegangen, die sich pathophysiologisch z.B. in einer Störung der Hirnentwicklung, der Synapsenfunktion oder des Glutamatstoffwechsels auswirken. Das in der chromosomalen Region 2q36.1 lokalisierte EphA4 besitzt wichtige Funktionen in den mit schizophrenen Psychosen assoziierten Stoffwechselfvorgängen (Murai et al. 2003) und ist daher ein vielversprechendes Kandidatengen.

In dieser Arbeit wurden mehrere SNPs in EphA4 mittels einer Fall-Kontroll-Studie auf einen möglichen genetischen Beitrag zur Erkrankungswahrscheinlichkeit schizophrener und affektiver Psychosen untersucht.

Zur Untersuchung des Einflusses von EphA4 auf das Erkrankungsrisiko für schizophrene Psychosen wurden in dieser Studie sowohl Einzelmarker- als auch Haplotypenanalysen durchgeführt. Zusätzlich sollte geprüft werden, ob Varianten im Bereich EphA4 nicht nur einen Beitrag zur Risikoerhöhung für die Entstehung schizophrener Psychosen leisten, sondern als unspezifische Risikofaktoren ebenfalls die Erkrankungswahrscheinlichkeit für affektive Psychosen erhöhen. Für das untersuchte Patientenkollektiv mit monopolarer Depressionen sowie mit manisch-depressiver Erkrankung ergab sich bei keiner der in dieser Arbeit durchgeführten Analysen ein Anhaltspunkt für eine Assoziation der getesteten Allele und Haplotypen mit der jeweiligen Erkrankung. Somit gibt es in dieser Studie keine Hinweise auf einen gemeinsamen Risikofaktor für affektive und schizophrene Psychosen, vielmehr scheint eine getrennte Betrachtung der verschiedenen Krankheitsgruppen erforderlich. Aufgrund der genauen klinischen Charakterisierung wurde neben der ICD10-Klassifikation auch die Einteilung nach Leonhard verwendet.

Der Hauptbefund der vorliegenden Arbeit ergab sich beim Haplotyp rs2052940T – rs3087584T, welcher für das Probandenkollektiv Schizophrenie nach ICD-10 (F20-25) eine signifikante Assoziation aufwies und bei 4,9% der Erkrankten auftrat. Für diesen Haplotyp ließ sich für das Patientenkollektiv F20-25 eine Odds Ratio von 5,74 (P-Wert 0,006) errechnen. Durch die Verwendung klinischer Phänotypen gemäß der Klassifikation nach Leonhard lässt sich dieser genetische Befund klinisch noch genauer

spezifizieren. Hierbei zeigte sich vor allem bei der spezifischen Unterform affektvolle Paraphrenie eine deutliche Anreicherung dieses Risikofaktors. Beim Krankheitsbild der affektvollen Paraphrenie trat der bereits mit schizophrenen Psychosen nach ICD-10 assoziierte Haplotyp rs2052940T – rs3087584T bei 14,4% der Fälle im Vergleich zu 0,9% der Kontrollen auf, womit hier eine nominale Assoziation vorliegt. Das klinische Bild der affektvollen Paraphrenie zeigt typischerweise ein gereiztes Beziehungssyndrom, in dem die Umwelt krankhaft im Sinne von Bedrohungserleben uminterpretiert wird, welches sich im Krankheitsverlauf häufig zu einem systematisierten, affektbesetzten Verfolgungswahn entwickelt. Der Verlauf der Erkrankung ist schubförmig mit bipolaren ängstlich-misstrauischen und ekstatischen Phasen (Leonhard 1991).

Der SNP rs3087584 liegt im 3'-untranslatierten Bereich (3'-UTR) des Gens EphA4 (bp 221.418.561), während der SNP rs2052940 im intergenischen Bereich proximal von EphA4 (bp 221.411.246) nahe am 3'-UTR lokalisiert ist (UCSC Genome Browser 2016). Als UTR gelten die Randbereiche der mRNA, die nicht translatiert werden und somit nicht für Proteine codieren (Lodish et al. 2004). Die assoziierten Varianten liegen im genregulatorischen Bereich. Veränderungen von Basen in diesen Bereichen verursachen keine Änderungen der Proteinsequenz, können jedoch einen Einfluss auf die Genexpression, d.h. die Umsetzung der Information eines Gens in das jeweilige Protein, ausüben. Durch die Genexpression wird ein Dosiseffekt auf Proteinebene ausgeübt, das Produkt ist somit stärker oder schwächer aktiv, was wiederum in einer veränderten Funktion auf Zellebene resultiert (Stryer 1996). Die Relevanz genetischer Varianten in nichtcodierenden Bereichen für die Ätiogenese schizophrener Psychosen konnte bereits durch Studien belegt werden (Prata et al. 2009). So wurden in einer Fall-Kontroll-Studie mit 41 Patienten und 44 gesunden Kontrollen Variationen im 3'-UTR des Dopamintransporter-Gens als ursächlich für eine Veränderung der Dopaminfunktion in insulären, cingulären und striatalen Bereichen postuliert (Prata et al. 2009). Die Arbeitsgruppe von Roussos postulierte, dass verschiedene SNPs, welche mit Schizophrenie in Verbindung gebracht werden konnten, mit eQTLs (expression quantitative trait loci) und cis-regulatorischen Elementen angereichert sind und sich an weiträumigen Promoter-Enhancer-Wechselwirkungen beteiligen (Roussos et al. 2014).

Bei den Analysen der Einzelmarker nach ICD-10 ergab sich kein signifikanter Befund, welcher einer Korrektur für multiples Testen nach Bonferroni standhalten konnte. Ebenso wenig konnten Assoziationen in codierenden Bereichen festgestellt werden. Wenngleich der untranslatierte Bereich regulatorische Funktionen besitzt und die Genexpression beeinflusst, so ist dennoch bei einem dort lokalisierten Assoziationsbefund von einem möglicherweise geringeren biologischen Effekt auszugehen als bei einer Lokalisation in einem codierenden Abschnitt. Dennoch erscheinen funktionelle Auswirkungen in für Schizophrenie assoziierten „pathways“ wie Hippocampus-Neuroplastizität möglich und können ein biologisches Korrelat für die genetischen Befunde darstellen. Da EphA4 unter anderem die Hirnentwicklung, die Synapsenfunktion und die glutamaterge Neurotransmission maßgeblich beeinflusst, könnten diese Stoffwechselfvorgänge auch bei den positiv assoziierten Fällen eine grundlegende Rolle spielen. Genetische Varianten im Bereich des Gens EphA4 könnten somit einen Beitrag zur schizophrenen Erkrankung leisten.

Für die weiteren durchgeführten Haplotypenanalysen sowie auch für die Analysen einzelner SNP-Varianten bei schizophrenen Erkrankungen nach Leonhard ergaben sich zwar einige weitere nominell signifikante Befunde, welche jedoch einer Korrektur auf multiples Testen nach Bonferroni nicht standhielten. Auch hier gilt, dass eine Ausweitung der Untersuchungen auf ein größeres Probandenkollektiv möglicherweise zu signifikanten Befunden führen könnte.

Berücksichtigt werden müssen hierbei auch die Limitationen, denen diese Studie unterliegt. Fall-Kontroll-Studien weisen generell eine Anfälligkeit für falsch positive Befunde auf. Der untersuchte Personenkreis dieser Studie stammt zwar größtenteils aus der Würzburger Region, was das Risiko für Zufallsbefunde aufgrund zu hoher genetischer Heterogenität des untersuchten Kollektivs minimiert. Dennoch ergibt sich eine Limitation der Aussagekraft dieser Studie durch die Anzahl der untersuchten Probanden. Zusätzlich führte die Aufteilung in die Untergruppen nach der Leonhard-Klassifikation zu einer geringeren Anzahl von Fällen bei den jeweiligen Untersuchungen. Aus diesem Grund wäre es wünschenswert, wenn sämtliche Befunde, welche bei den vorliegenden Auswertungen eine Signifikanz zeigten, mittels weiterer Untersuchungen auf ein erweitertes Kollektiv mit einer höheren Anzahl von Patienten



oder Kontrollen ausgeweitet werden, um die Resultate in dieser Studie zu verifizieren und Zufallsbefunde auszuschließen. Mithilfe eines größeren Probandenkollektivs lassen sich zufällige Abweichungen bei der Allelverteilung minimieren, was das Risiko für falsch positive Befunde verringert. Trotz aller Limitationen gibt die signifikante Assoziation des Haplotypen rs2052940T – rs3087584T mit der Krankheitsgruppe Schizophrenie nach ICD-10 sowie mit der affektvollen Paraphrenie nach Leonhard aufgrund der hohen Odds Ratio die Möglichkeit einer Genotyp-Phänotyp-Korrelation für ein spezifisches paranoides Syndrom.

Zusammenfassend ist davon auszugehen, dass das Gen EphA4 einen Beitrag zur Entstehung schizophrener Erkrankungen leistet, was speziell für die klinische Unterform affektvolle Paraphrenie nach der Leonhard-Klassifikation gilt. Da sich bei den weiteren untersuchten Krankheitsgruppen keine weiteren signifikanten Befunde zeigten, ist bei EphA4 lediglich von einem sehr spezifischen Krankheitsbeitrag für schizophrene Psychosen auszugehen. Für das Vorliegen eines gemeinsamen Risikofaktors für affektive und schizophrene Psychosen ergaben sich in Bezug auf EphA4 keine Hinweise.

## 5. Zusammenfassung

Die Schizophrenie ist eine schwerwiegende Erkrankung, deren Gesamtlebenszeitprävalenz ca. 1% beträgt. Da bei schizophrenen Erkrankungen die genetische Komponente eine erhebliche Rolle spielt und es außerdem in bisherigen Studien Hinweise für einen Zusammenhang von EphA4 mit diversen neuronalen Krankheitsformen gibt, ist dieser mögliche Zusammenhang Gegenstand der durchgeführten Untersuchungen. In der vorliegenden Arbeit sollte die Rolle des Eph receptor A4 bei der Ätiopathogenese von schizophrenen und affektiven Psychosen untersucht werden, da besonders zur Rolle der Eph- und Ephrin A-Familie bei schizophrenen Erkrankungen derzeit noch grundlegendes Wissen fehlt. Dabei wurde ein Patientenkollektiv von mehr als 1000 Probanden sowohl nach der ICD-10-Klassifikation als auch der Klassifikation von Leonhard in Unterformen eingeteilt und diese getrennt untersucht und mit einer gesunden Kontrollgruppe verglichen. Es wurden sowohl SNP-Analysen als auch Haplotypanalysen durchgeführt. Das Kandidatengen EphA4 liegt beim Menschen auf dem Chromosom 2 (Basenpaar 221.418.027 bis 221.574.202), besteht aus insgesamt 156.176 Basenpaaren und dient vor allem der Steuerung der Zellform und -bewegung durch Veränderungen am Aktinoskelett. Insgesamt wurden 9 SNPs auf Assoziation mit schizophrenen Psychosen und zykliden Psychosen untersucht, um einen möglichen Einfluss von EphA4 bei der Ätiopathogenese oder im Krankheitsverlauf zu diagnostizieren. Zum einen wurden 4 Single SNP-Analysen durchgeführt, um einzelne SNPs auf Assoziation mit dem erkrankten Phänotyp zu untersuchen. Weiterhin wurden Haplotypanalysen für 9 SNPs durchgeführt, um die Vererbung von gemeinsamen Polymorphismen miteinander auf benachbarten Bereichen der DNA zu untersuchen. Hierbei stellte sich als Hauptbefund der durchgeführten Studie ein Haplotyp rs2052940T – rs3087584T als möglicher Risikofaktor für die Entstehung schizophrener Erkrankungsformen heraus, welcher wahrscheinlich über einen Zufallsbefund hinausgeht und nach der Leonhard-Klassifikation vor allem Patienten mit dem Phänotyp affektvolle Paraphrenie betrifft. Für die Single-SNP-Analysen ergaben sich einige nominell positive Befunde, die jedoch einer Korrektur auf multiples Testen nach Bonferroni nicht standhalten konnten, womit folglich nicht klar ist, ob es sich hierbei möglicherweise um Zufallsbefunde handelt.

Es ist nach Auswertung der vorliegenden Ergebnisse davon auszugehen, dass EphA4 zwar keinen gemeinsamen Risikofaktor für endogene Psychosen darstellt, jedoch einen Beitrag als spezifischer Risikofaktor für spezielle Unterformen schizophrener Psychosen leisten könnte. Dies konnte vor allem für die Unterform der affektvollen Paraphrenie nach Leonhard aufgezeigt werden. Um die Resultate dieser Studie zu verifizieren, wären weitere Untersuchungen wünschenswert, welche auf ein erweitertes Kollektiv mit einer höheren Anzahl von Fällen und Kontrollen zurückgreifen.

## 6. Literaturverzeichnis

Aasheim HC, Patzke S, Hjorthaug HS, Finne EF (2005). Characterization of a novel Eph receptor tyrosine kinase, EphA10, expressed in testis. *Biochim Biophys Acta*; 1723: 1-7.

Adriano F, Caltagirone C, Spalletta G (2012). Hippocampal volume reduction in first-episode and chronic schizophrenia: a review and meta-analysis. *Neuroscientist*; 18: 180-200.

Alexander-Bloch AF, Reiss PT, Rapoport J, McAdams H, Giedd JN, Bullmore ET, Gogtay N (2014). Abnormal cortical growth in schizophrenia targets normative modules of synchronized development. *Biol Psychiatry*; 76: 438-46.

Alkelai A, Lupoli S, Greenbaum L, Giegling I, Kohn Y, Sarnier-Kanyas K, Ben-Asher E, Lancet D, Rujescu D, Macciardi F, Lerer B (2011). Identification of new schizophrenia susceptibility loci in an ethnically homogenous, family-based, Arab-Israeli sample. *FASEB J*; 25: 4011-23.

Arnold SJ, Ivleva EI, Gopal TA, Reddy AP, Jeon-Slaughter H, Sacco CB, Francis AN, Tandon N, Bidesi AS, Witte B, Poudyal G, Pearlson GD, Sweeney JA, Clementz BA, Keshavan MS, Tamminga CA (2015). Hippocampal volume is reduced in schizophrenia and schizoaffective disorder but not in psychotic bipolar I disorder demonstrated by both manual tracing and automated parcellation (FreeSurfer). *Schizophr Bull*; 41: 233-49.

Badner JA, Gershon ES (2002). Meta-analysis of whole-genome linkage scans of bipolar disorder and schizophrenia. *Mol Psychiatry*; 7: 405-11.

Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ (2005). Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics*; 21: 263-5.

Bassett AS, Scherer SW, Brzustowicz LM (2010). Copy number variations in schizophrenia: critical review and new perspectives on concepts of genetics and disease. *Am J Psychiatry*; 167: 899-914.

Batista CM, Bianqui LL, Zanon BB, Ivo MM, Oliveira GP, Maximino JR, Chadi G (2014). Behavioral improvement and regulation of molecules related to neuroplasticity in ischemic rat spinal cord treated with PEDF. *Neural Plast*; 2014: 451639.

Becker T, Knapp M (2004): Maximum-likelihood estimation of haplotype frequencies in nuclear families. *Genet Epidemiol*; 27: 21-32.

Beckmann H (1999). Developmental malformations in cerebral structures of schizophrenic patients. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*; 249: 44-7.

Betcheva ET, Mushiroda T, Takahashi A, Kubo M, Karachanak SK, Zaharieva IT, Vazharova RV, Dimova II, Milanova VK, Tolev T, Kirov G, Owen MJ, O'Donovan MC, Kamatani N, Nakamura Y, Toncheva DI (2009). Case-control association study of 59 candidate genes reveals the DRD2 SNP rs6277 (C957T) as the only susceptibility factor for schizophrenia in the Bulgarian population. *J Hum Genet*; 54: 98-107.

Bickeböller H, Fischer C (2007). Einführung in die genetische Epidemiologie. Springer-Verlag. Berlin – Heidelberg.

Breier A, Malhotra AK, Pinals DA, Weisenfeld NI, Pickar D (1997). Association of ketamine-induced psychosis with focal activation of the prefrontal cortex in healthy volunteers. *Am J Psychiatry*; 154: 805-11.

Bunney WE Jr, Davis JM (1965). Norepinephrine in depressive reactions. A review. *Arch Gen Psychiatry*; 13: 483-94.

Carlsson A, Hansson LO, Waters N, Carlsson ML (1997). Neurotransmitter aberrations in schizophrenia: new perspectives and therapeutic implications. *Life Sci*; 61: 75-94.

Carlsson M, Carlsson A (1990). Schizophrenia: a subcortical neurotransmitter imbalance syndrome?. *Schizophr Bull*; 16: 425-32.

Carmona MA, Murai KK, Wang L, Roberts AJ, Pasquale EB (2009). Glial ephrine-A3 regulates hippocampal dendritic spine morphology and glutamate transport. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 106: 12524-9.

Cardno AG, Gottesman II (2000). Twin studies of schizophrenia: from bow-and-arrow concordances to star wars Mx and functional genomics. *Am J Med Genet*; 97: 12-7.

Conrad DF, Pinto D, Redon R, Feuk L, Gokcumen O, Zhang Y, Aerts J, Andrews TD, Barnes C, Campbell P, Fitzgerald T, Hu M, Ihm CH, Kristiansson K, Macarthur DG, Macdonald JR, Onyiah I, Pang AW, Robson S, Stirrups K, Valsesia A, Walter K, Wei J; Wellcome Trust Case Control Consortium, Tyler-Smith C, Carter NP, Lee C, Scherer SW, Hurles ME (2010). Origins and functional impact of copy number variation in the human genome. *Nature*; 464: 704-12.

Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium (2013). Identification of risk loci with shared effects on five major psychiatric disorders: a genome-wide analysis. *Lancet*; 381: 1371-9.

Dalva MB, Takasu MA, Lin MZ, Shamah SM, Hu L, Gale NW, Greenberg ME (2000). EphB receptors interact with NMDA receptors and regulate excitatory synapse formation. *Cell*; 103: 945-56.

Davis KL, Kahn RS, Ko G, Davidson M (1991). Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *Am J Psychiatry*; 148: 1474-86.

Dilling H; Mombour W; Schmidt MH (2010). Internationale Klassifikation psychischer Störungen. ICD-10 Kapitel V (F). Klinisch-diagnostische Leitlinien. 7. vollständig überarbeitete Auflage Verlag Hans Huber, Bern.

Egea J, Klein R (2007). Bidirectional Eph-ephrin signaling during axon guidance. *Trends Cell Biol*; 17: 230-8.

Ensembl Genome Browser: <http://www.ensembl.org/index.html>.

Eph Nomenclature Committee (1997). Unified nomenclature for Eph family receptors and their ligands, the ephrins. *Cell*; 90: 403-4.

Ethell IM, Irie F, Kalo MS, Couchman JR, Pasquale EB, Yamaguchi Y (2001). EphB/syndecan-2 signaling in dendritic spine morphogenesis. *Neuron*; 31: 1001-13.

Falkai P (2003). Schizophrenie auf einen Blick. 1. Auflage Blackwell Verlag, Berlin. 13

Ferreira MA, O'Donovan MC, Meng YA, Jones IR, Ruderfer DM, Jones L, Fan J, Kirov G, Perlis RH, Green EK, Smoller JW, Grozeva D, Stone J, Nikolov I, Chambert K, Hamshere ML, Nimgaonkar VL, Moskvina V, Thase ME, Caesar S, Sachs GS, Franklin J, Gordon-Smith K, Ardlie KG, Gabriel SB, Fraser C, Blumenstiel B, Defelice M, Breen G, Gill M, Morris DW, Elkin A, Muir WJ, McGhee KA, Williamson R, MacIntyre DJ, MacLean AW, St CD, Robinson M, Van Beck M, Pereira AC, Kandaswamy R, McQuillin A, Collier DA, Bass NJ, Young AH, Lawrence J, Ferrier IN, Anjorin A, Farmer A, Curtis D, Scolnick EM, McGuffin P, Daly MJ, Corvin AP, Holmans PA, Blackwood DH, Gurling HM, Owen MJ, Purcell SM, Sklar P, Craddock N; Wellcome Trust Case Control Consortium (2008). Collaborative genome-wide association analysis supports a role for ANK3 and CACNA1C in bipolar disorder. *Nat Genet*; 40: 1056-8.

Fichter MM (1990). Verlauf psychischer Erkrankungen in der Bevölkerung. Springer-Verlag, Berlin – Heidelberg.

Filosa A, Paixão S, Honsek SD, Carmona MA, Becker L, Feddersen B, Gaitanos L, Rudhard Y, Schoepfer R, Klopstock T, Kullander K, Rose CR, Pasquale EB, Klein R (2009). Neuron-glia communication via EphA4/ephrin-A3 modulates LTP through glial glutamate transport. *Nat Neurosci* 2009; 12: 1285-92.

Frischmeyer PA, Dietz HC (1999). Nonsense-mediated mRNA decay in health and disease. *Hum Mol Genet*; 8: 1893-900.

Fromer M, Pocklington AJ, Kavanagh DH, Williams HJ, Dwyer S, Gormley P, Georgieva L, Rees E, Palta P, Ruderfer DM, Carrera N, Humphreys I, Johnson JS, Roussos P, Barker DD, Banks E, Milanova V, Grant SG, Hannon E, Rose SA, Chambert K, Mahajan M, Scolnick EM, Moran JL, Kirov G, Palotie A, McCarroll SA,

Holmans P, Sklar P, Owen MJ, Purcell SM, O'Donovan MC (2014). De novo mutations in schizophrenia implicate synaptic networks. *Nature*; 506: 179-84.

Frugier T, Conquest A, McLean C, Currie P, Moses D, Goldshmit Y (2012). Expression and activation of EphA4 in the human brain after traumatic injury. *J Neuropathol Exp Neurol*; 71: 242-50.

Gaser C, Nenadic I, Buchsbaum BR, Hazlett EA, Buchsbaum MS (2004). Ventricular enlargement in schizophrenia related to volume reduction of the thalamus, striatum, and superior temporal cortex. *Am J Psychiatry*; 161: 154-6.

Genetics Home Reference – What are single nucleotide polymorphisms (SNPs)? (2013). <http://ghr.nlm.nih.gov/handbook/genomicresearch/snp>.

Gerlai R (2001). Eph receptors and neural plasticity. *Nat Rev Neurosci*; 2: 205-9.

Gottesman I, Shields J (1982). *Schizophrenia: The Epigenetic Puzzle*. Cambridge University Press, Cambridge.

Grace AA (1992). The depolarization block hypothesis of neuroleptic action: implications for the etiology and treatment of schizophrenia. *J Neural Transm Suppl*; 36: 91-131.

Häfner H, Riecher A, Maurer K, Munk-Jørgensen P, Strömngren E. (1991). Geschlechtsunterschiede bei schizophrenen Erkrankungen. *Fortschr Neurol Psychiatr*. 59: 343-360.

Häfner H. (1993). What is schizophrenia? *Neurologie, Psychopharmacology and Brain Research*. 2: 36-52.

Hamshere ML, Walters JT, Smith R, Richards AL, Green E, Grozeva D, Jones I, Forty L, Jones L, Gordon-Smith K, Riley B, O'Neill FA, Kendler KS, Sklar P, Purcell S, Kranz J; Schizophrenia Psychiatric Genome-wide Association Study Consortium; Wellcome Trust Case Control Consortium; Wellcome Trust Case Control Consortium 2, Morris D, Gill M, Holmans P, Craddock N, Corvin A, Owen MJ, O'Donovan MC (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: 708-12.

Hardy GH (1908). MENDELIAN PROPORTIONS IN A MIXED POPULATION. *Science*; 28: 49-50.

Harrison PJ (2004). The hippocampus in schizophrenia: a review of the neuropathological evidence and its pathophysiological implications. *Psychopharmacology (Berl)*; 174: 151-62.

- Heckers S (2001). Neuroimaging studies of the hippocampus in schizophrenia. *Hippocampus*; 11: 520-8.
- Henkemeyer M, Itkis OS, Ngo M, Hickmott PW, Ethell IM (2003). Multiple EphB receptor tyrosine kinases shape dendritic spines in the hippocampus. *J Cell Biol*; 163: 1313-26.
- Herold C, Becker T (2009). Genetic association analysis with FAMHAP: a major program update. *Bioinformatics*; 25: 134-6.
- Hertzberg L, Katsel P, Roussos P, Haroutunian V, Domany E (2015). Integration of gene expression and GWAS results supports involvement of calcium signaling in Schizophrenia. *Schizophr Res*; 194: 62-9.
- Human Protein Reference Database. <http://www.hprd.org/>.
- Jacobi F, Wittchen H-U, Holting C, Höfler M, Pfister H, Müller N, Lieb R (2004). Prevalence, co-morbidity and correlates of mental disorders in the general population: results from the German Health Interview and Examination Survey (GHS). *Psychol Med*; 34: 597-611.
- Karayiorgou M, Morris MA, Morrow B, Shprintzen RJ, Goldberg R, Borrow J, Gos A, Nestadt G, Wolyniec PS, Lasseter VK, et al. (1995). Schizophrenia susceptibility associated with interstitial deletions of chromosome 22q11. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 72: 7612-6.
- Khodosevich K, Watanabe Y, Monyer H (2011). EphA4 preserves postnatal and adult neural stem cells in an undifferentiated state in vivo. *J Cell Sci*; 124: 1268-79.
- Kim JS, Kornhuber HH, Schmid-Burgk W, Holzmüller B (1980). Low cerebrospinal fluid glutamate in schizophrenic patients and a new hypothesis on schizophrenia. *Neurosci Lett*; 20: 379-82.
- Kirov G, Pocklington AJ, Holmans P, Ivanov D, Ikeda M, Ruderfer D, Moran J, Chambert K, Toncheva D, Georgieva L, Grozeva D, Fjodorova M, Wollerton R, Rees E, Nikolov I, van de Lagemaat LN, Bayés A, Fernandez E, Olason PI, Böttcher Y, Komiyama NH, Collins MO, Choudhary J, Stefansson K, Stefansson H, Grant SG, Purcell S, Sklar P, O'Donovan MC, Owen MJ (2012). De novo CNV analysis implicates specific abnormalities of postsynaptic signalling complexes in the pathogenesis of schizophrenia. *Mol Psychiatry*; 17: 142-53.
- Kirov G, Rees E, Walters JT, Escott-Price V, Georgieva L, Richards AL, Chambert KD, Davies G, Legge SE, Moran JL, McCarroll SA, O'Donovan MC, Owen MJ (2014). The penetrance of copy number variations for schizophrenia and developmental delay. *Biol Psychiatry*; 75: 378-85.



Klei L, Bacanu SA, Myles-Worsley M, Galke B, Xie W, Tiobech J, Otto C, Roeder K, Devlin B, Byerley W (2005). Linkage analysis of a completely ascertained sample of familial schizophrenics and bipolars from Palau, Micronesia. *Hum Genet*; 117: 349-56.

Laussu J, Khuong A, Gautrais J, Davy A (2014). Beyond boundaries—Eph:ephrin signaling in neurogenesis. *Cell Adh Migr*; 8: 349-59.

Leonhard K (2003). Aufteilung der endogenen Psychosen und ihre differenzierte Ätiologie. 8. Auflage Thieme, Stuttgart.

Leonhard K (1957). Aufteilung der endogenen Psychosen und ihre differenzierte Nosologie. 1. Auflage Akademie Verlag, Berlin.

Leonhard K (1965). Diagnose der endogenen Psychosen von der Prognose her gesehen. *Nervenarzt*; 36: 202-207.

Leonhard K (1991). Differenzierte Diagnostik der endogenen Psychosen, abnormen Persönlichkeitsstrukturen und neurotischen Entwicklungen. 4. Auflage Verlag Gesundheit GmbH, Berlin.

Lips ES, Cornelisse LN, Toonen RF, Min JL, Hultman CM; International Schizophrenia Consortium, Holmans PA, O'Donovan MC, Purcell SM, Smit AB, Verhage M, Sullivan PF, Visscher PM, Posthuma D (2012). Functional gene group analysis identifies synaptic gene groups as risk factor for schizophrenia. *Mol Psychiatry*; 17: 996-1006.

Lipscombe D, Andrade A, Allen SE (2013). Alternative splicing: functional diversity among voltage-gated calcium channels and behavioral consequences. *Biochim Biophys Acta*; 1828: 1522-9.

Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J (2004). *Molecular Cell Biology*. 5. Auflage W. H. Freeman, New York.

Marshall CR, Howrigan DP, Merico D, Thiruvahindrapuram B, Wu W, Greer DS, Antaki D, Shetty A, Holmans PA, Pinto D, Gujral M, Brandler WM, Malhotra D, Wang Z, Fajardo KVF, Maile MS, Ripke S, Agartz I, Albus M, Alexander M, Amin F, Atkins J, Bacanu SA, Belliveau RA Jr, Bergen SE, Bertalan M, Bevilacqua E, Bigdeli TB, Black DW, Bruggeman R, Buccola NG, Buckner RL, Bulik-Sullivan B, Byerley W, Cahn W, Cai G, Cairns MJ, Champion D, Cantor RM, Carr VJ, Carrera N, Catts SV, Chambert KD, Cheng W, Cloninger CR, Cohen D, Cormican P, Craddock N, Crespo-Facorro B, Crowley JJ, Curtis D, Davidson M, Davis KL, Degenhardt F, Del Favero J, DeLisi LE, Dikeos D, Dinan T, Djurovic S, Donohoe G, Drapeau E, Duan J, Dudbridge F, Eichhammer P, Eriksson J, Escott-Price V, Essioux L, Fanous AH, Farh KH, Farrell MS, Frank J, Franke L, Freedman R, Freimer NB, Friedman JI, Forstner AJ, Fromer M, Genovese G, Georgieva L, Gershon ES, Giegling I, Giusti-Rodríguez P, Godard S, Goldstein JI, Gratten J, de Haan L, Hamshere ML, Hansen M, Hansen T, Haroutunian

V, Hartmann AM, Henskens FA, Herms S, Hirschhorn JN, Hoffmann P, Hofman A, Huang H, Ikeda M, Joa I, Kähler AK, Kahn RS, Kalaydjieva L, Karjalainen J, Kavanagh D, Keller MC, Kelly BJ, Kennedy JL, Kim Y, Knowles JA, Konte B, Laurent C, Lee P, Lee SH, Legge SE, Lerer B, Levy DL, Liang KY, Lieberman J, Lönnqvist J, Loughland CM, Magnusson PKE, Maher BS, Maier W, Mallet J, Mattheisen M, Mattingsdal M, McCarley RW, McDonald C, McIntosh AM, Meier S, Meijer CJ, Melle I, Mesholam-Gately RI, Metspalu A, Michie PT, Milani L, Milanova V, Mokraby Y, Morris DW, Müller-Myhsok B, Murphy KC, Murray RM, Myin-Germeys I, Nenadic I, Nertney DA, Nestadt G, Nicodemus KK, Nisenbaum L, Nordin A, O'Callaghan E, O'Dushlaine C, Oh SY, Olincy A, Olsen L, O'Neill FA, Van Os J, Pantelis C, Papadimitriou GN, Parkhomenko E, Pato MT, Paunio T; Psychosis Endophenotypes International Consortium, Perkins DO, Pers TH, Pietiläinen O, Pimm J, Pocklington AJ, Powell J, Price A, Pulver AE, Purcell SM, Quedstedt D, Rasmussen HB, Reichenberg A, Reimers MA, Richards AL, Roffman JL, Roussos P, Ruderfer DM, Salomaa V, Sanders AR, Savitz A, Schall U, Schulze TG, Schwab SG, Scolnick EM, Scott RJ, Seidman LJ, Shi J, Silverman JM, Smoller JW, Söderman E, Spencer CCA, Stahl EA, Strengman E, Strohmaier J, Stroup TS, Suvisaari J, Svrakic DM, Szatkiewicz JP, Thirumalai S, Tooney PA, Veijola J, Visscher PM, Waddington J, Walsh D, Webb BT, Weiser M, Wildenauer DB, Williams NM, Williams S, Witt SH, Wolen AR, Wormley BK, Wray NR, Wu JQ, Zai CC, Adolfsson R, Andreassen OA, Blackwood DHR, Bramon E, Buxbaum JD, Cichon S, Collier DA, Corvin A, Daly MJ, Darvasi A, Domenici E, Esko T, Gejman PV, Gill M, Gurling H, Hultman CM, Iwata N, Jablensky AV, Jönsson EG, Kendler KS, Kirov G, Knight J, Levinson DF, Li QS, McCarroll SA, McQuillin A, Moran JL, Mowry BJ, Nöthen MM, Ophoff RA, Owen MJ, Palotie A, Pato CN, Petryshen TL, Posthuma D, Rietschel M, Riley BP, Rujescu D, Sklar P, St Clair D, Walters JTR, Werge T, Sullivan PF, O'Donovan MC, Scherer SW, Neale BM, Sebat J; CNV and Schizophrenia Working Groups of the Psychiatric Genomics Consortium (2017). Contribution of copy number variants to schizophrenia from a genome-wide study of 41,321 subjects. *Nat Genet*; 49: 27-35.

Matussek N (1966). Neurobiologie und Depression. *Med Wochenschr*; 20: 109.

McCullumsmith RE (2015). Evidence for schizophrenia as a disorder of neuroplasticity. *Am J Psychiatry*; 172: 312-3.

Monakhov M, Golimbet V, Abramova L, Kaleda V, Karpov V (2008). Association study of three polymorphisms in the dopamine D2 receptor gene and schizophrenia in the Russian population. *Schizophr Res*; 100: 302-7.

Murai KK, Nguyen LN, Irie F, Yamaguchi Y, Pasquale EB (2003). Control of hippocampal dendritic spine morphology through ephrin-A3/EphA4 signaling. *Nat Neurosci*; 6: 153-60.

- Murai KK, Pasquale EB (2002). Can Eph receptors stimulate the mind? *Neuron*; 33: 159-62.
- Murai KK, Pasquale EB (2003). 'Eph'ective signaling: forward, reverse and crosstalk. *J Cell Sci*; 116: 2823-32.
- Nelson MD, Saykin AJ, Flashman LA, Riordan HJ (1998). Hippocampal volume reduction in schizophrenia as assessed by magnetic resonance imaging: a meta-analytic study. *Arch Gen Psychiatry*; 55: 433-40.
- Newcomer JW, Farber NB, Jevtovic-Todorovic V, Selke G, Melson AK, Hershey T, Craft S, Olney JW (1999). Ketamine-induced NMDA receptor hypofunction as a model of memory impairment and psychosis. *Neuropsychopharmacology*; 20: 106-18.
- Pasquale EB (1997). The Eph family of receptors. *Curr Opin Cell Biol*; 9: 608-15.
- Patil ST, Zhang L, Martenyi F, Lowe SL, Jackson KA, Andreev BV, Avedisova AS, Bardenstein LM, Gurovich IY, Morozova MA, Mosolov SN, Neznanov NG, Reznik AM, Smulevich AB, Tochilov VA, Johnson BG, Monn JA, Schoepp DD (2007). Activation of mGlu2/3 receptors as a new approach to treat schizophrenia: a randomized Phase 2 clinical trial. *Nat Med*; 13: 1002-7.
- Paunio T, Ekelund J, Varilo T, Parker A, Hovatta I, Turunen JA, Rinard K, Foti A, Terwilliger JD, Juvonen H, Suvisaari J, Arajärvi R, Suokas J, Partonen T, Lönngqvist J, Meyer J, Peltonen L (2001). Genome-wide scan in a nationwide study sample of schizophrenia families in Finland reveals susceptibility loci on chromosomes 2q and 5q. *Hum Mol Genet*; 10: 3037-48.
- Penzes P, Beeser A, Chernoff J, Schiller MR, Eipper BA, Mains RE, Huganir RL (2003). Rapid induction of dendritic spine morphogenesis by trans-synaptic ephrinB-EphB receptor activation of the Rho-GEF kalirin. *Neuron*; 37: 263-74.
- Pfuhlmann B, Jabs B, Althaus G, Schmidtke A, Bartsch A, Stöber G, Beckmann H, Franzek E (2004). Cycloid psychoses are not part of a bipolar affective spectrum: results of a controlled family study. *J Affect Disord*; 83:11-9.
- Pitulescu ME, Adams RH (2010). Eph/ephrin molecules--a hub for signaling and endocytosis. *Genes Dev*; 24: 2480-92.
- Prata DP, Mechelli A, Fu CH, Picchioni M, Touloupoulou T, Bramon E, Walshe M, Murray RM, Collier DA, 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 U S A.*; 106: 13600-5.
- Prata DP, Mechelli A, Picchioni MM, Fu CH, Touloupoulou T, Bramon E, Walshe M, Murray RM, Collier DA, McGuire P (2009). Altered effect of dopamine transporter

3'UTR VNTR genotype on prefrontal and striatal function in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*; 66: 1162-72.

Purcell S, Cherny SS, Sham PC (2003). Genetic Power Calculator: design of linkage and association genetic mapping studies of complex traits. *Bioinformatics*, 19: 149-150.

Purcell SM, Moran JL, Fromer M, Ruderfer D, Solovieff N, Roussos P, O'Dushlaine C, Chambert K, Bergen SE, Kähler A, Duncan L, Stahl E, Genovese G, Fernández E, Collins MO, Komiyama NH, Choudhary JS, Magnusson PK, Banks E, Shakir K, Garimella K, Fennell T, DePristo M, Grant SG, Haggarty SJ, Gabriel S, Scolnick EM, Lander ES, Hultman CM, Sullivan PF, McCarroll SA, Sklar P (2014). A polygenic burden of rare disruptive mutations in schizophrenia. *Nature*, 506: 185-90.

Ramsay H, Barnett JH, Miettunen J, Mikkola S, Mäki P, Liuhanen J, Murray GK, Jarvelin MR, Ollila H, Paunio T, Veijola J (2015). Association between Dopamine Receptor D2 (DRD2) Variations rs6277 and rs1800497 and Cognitive Performance According to Risk Type for Psychosis: A Nested Case Control Study in a Finnish Population Sample. *PLoS One*; 10: e0127602.

Reynolds GP, Beasley CL, Zhang ZJ (2002). Understanding the neurotransmitter pathology of schizophrenia: selective deficits of subtypes of cortical GABAergic neurons. *J Neural Transm*; 109: 881-9.

Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, Feuk L, Perry GH, Andrews TD, Fiegler H, Shapero MH, Carson AR, Chen W, Cho EK, Dallaire S, Freeman JL, González JR, Gratacòs M, Huang J, Kalaitzopoulos D, Komura D, MacDonald JR, Marshall CR, Mei R, Montgomery L, Nishimura K, Okamura K, Shen F, Somerville MJ, Tchinda J, Valsesia A, Woodwark C, Yang F, Zhang J, Zerjal T, Zhang J, Armengol L, Conrad DF, Estivill X, Tyler-Smith C, Carter NP, Aburatani H, Lee C, Jones KW, Scherer SW, Hurles ME (2006). Global variation in copy number in the human genome. *Nature*; 444-54.

Rees E, Walters JT, Chambert KD, O'Dushlaine C, Szatkiewicz J, Richards AL, Georgieva L, Mahoney-Davies G, Legge SE, Moran JL, Genovese G, Levinson D, Morris DW, Cormican P, Kendler KS, O'Neill FA, Riley B, Gill M, Corvin A; Wellcome Trust Case Control Consortium, Sklar P, Hultman C, Pato C, Pato M, Sullivan PF, Gejman PV, McCarroll SA, O'Donovan MC, Owen MJ, Kirov G (2014). CNV analysis in a large schizophrenia sample implicates deletions at 16p12.1 and SLC1A1 and duplications at 1p36.33 and CGNL1. *Hum Mol Genet*; 23: 1669-76.

Rees E, Walters JT, Georgieva LT, Isles AR, Chambert KD, Richards AL, Mahoney-Davies G, Legge SE, Moran JL, McCarroll SA, O'Donovan MC, Owen MJ, Kirov G (2014). Analysis of copy number variations at 15 schizophrenia-associated loci. *Br J Psychiatry*; 204: 108-14.

Ripke S, O'Dushlaine C, Chambert K, Moran JL, Kähler AK, Akterin S, Bergen SE, Collins AL, Crowley JJ, Fromer M, Kim Y, Lee SH, Magnusson PK, Sanchez N, Stahl EA, Williams S, Wray NR, Xia K, Bettella F, Borglum AD, Bulik-Sullivan BK, Cormican P, Craddock N, de Leeuw C, Durmishi N, Gill M, Golimbet V, Hamshere ML, Holmans P, Hougaard DM, Kendler KS, Lin K, Morris DW, Mors O, Mortensen PB, Neale BM, O'Neill FA, Owen MJ, Milovancevic MP, Posthuma D, Powell J, Richards AL, Riley BP, Ruderfer D, Rujescu D, Sigurdsson E, Silagadze T, Smit AB, Stefansson H, Steinberg S, Suvisaari J, Tosato S, Verhage M, Walters JT; Multicenter Genetic Studies of Schizophrenia Consortium, Levinson DF, Gejman PV, Kendler KS, Laurent C, Mowry BJ, O'Donovan MC, Owen MJ, Pulver AE, Riley BP, Schwab SG, Wildenauer DB, Dudbridge F, Holmans P, Shi J, Albus M, Alexander M, Campion D, Cohen D, Dikeos D, Duan J, Eichhammer P, Godard S, Hansen M, Lerer FB, Liang KY, Maier W, Mallet J, Nertney DA, Nestadt G, Norton N, O'Neill FA, Papadimitriou GN, Ribble R, Sanders AR, Silverman JM, Walsh D, Williams NM, Wormley B; Psychosis Endophenotypes International Consortium, Arranz MJ, Bakker S, Bender S, Bramon E, Collier D, Crespo-Facorro B, Hall J, Iyegbe C, Jablensky A, Kahn RS, Kalaydjieva L, Lawrie S, Lewis CM, Lin K, Linszen DH, Mata I, McIntosh A, Murray RM, Ophoff RA, Powell J, Rujescu D, Van Os J, Walshe M, Weisbrod M, Wiersma D; Wellcome Trust Case Control Consortium 2, Donnelly P, Barroso I, Blackwell JM, Bramon E, Brown MA, Casas JP, Corvin AP, Deloukas P, Duncanson A, Jankowski J, Markus HS, Mathew CG, Palmer CN, Plomin R, Rautanen A, Sawcer SJ, Trembath RC, Viswanathan AC, Wood NW, Spencer CC, Band G, Bellenguez C, Freeman C, Hellenthal G, Giannoulatou E, Pirinen M, Pearson RD, Strange A, Su Z, Vukcevic D, Donnelly P, Langford C, Hunt SE, Edkins S, Gwilliam R, Blackburn H, Bumpstead SJ, Dronov S, Gillman M, Gray E, Hammond N, Jayakumar A, McCann OT, Liddle J, Potter SC, Ravindrarajah R, Ricketts M, Tashakkori-Ghanbaria A, Waller MJ, Weston P, Widaa S, Whittaker P, Barroso I, Deloukas P, Mathew CG, Blackwell JM, Brown MA, Corvin AP, McCarthy MI, Spencer CC, Bramon E, Corvin AP, O'Donovan MC, Stefansson K, Scolnick E, Purcell S, McCarroll SA, Sklar P, Hultman CM, Sullivan PF (2013). Genome-wide association analysis identifies 13 new risk loci for schizophrenia. *Nat Genet*; 45: 1150-9.

Roussos P, Mitchell AC, Voloudakis G, Fullard JF, Pothula VM, Tsang J, Stahl EA, Georgakopoulos A, Ruderfer DM, Charney A, Okada Y6, Siminovitch KA, Worthington J, Padyukov L, Klareskog L, Gregersen PK, Plenge RM, Raychaudhuri S, Fromer M, Purcell SM, Brennand KJ, Robakis NK, Schadt EE, Akbarian S, Sklar P (2014). A role for noncoding variation in schizophrenia. *Cell Rep*; 9: 1417-29.

Saha S, Chant D, Welham J, McGrath J (2005). A systematic review of the prevalence of schizophrenia. *PLoS Med*; 2: e141.

Schild TA, Applied Biosystems GmbH (1998). 7700 SDS Workshop – Einführung in die Real-Time TaqMan™ PCR-Technologie. Vers. 2.1. Weiterstadt.

Schildkraut JJ (1965). The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am J Psychiatry*; 122: 509-22.

Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium (2014). Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature*; 511: 421-7.

Schmauß M (2006). Schizophrenie – Pathogenese, Diagnostik und Therapie. 2. Auflage UNI-MED Verlag AG, Bremen.

Schneider K (2007). Klinische Psychopathologie. 15. Auflage Thieme, Stuttgart.

Schultz S, North S, Shields C (2007). Schizophrenia: A Review. *Am Fam Physician*; 75: 1821-29.

Shenton ME, Dickey CC, Frumin M, McCarley RW (2001). A review of MRI findings in schizophrenia. *Schizophr Res*; 49: 1-52.

Shu Y, Xiao B, Wu Q, Liu T, Du Y, Tang H, Chen S, Feng L, Long L, Li Y (2016). The Ephrin-A5/EphA4 Interaction Modulates Neurogenesis and Angiogenesis by the p-Akt and p-ERK Pathways in a Mouse Model of TLE. *Mol Neurobiol*; 53: 561-76.

Sim K, DeWitt I, Ditman T, Zalesak M, Greenhouse I, Goff D, Weiss AP, Heckers S (2006). Hippocampal and parahippocampal volumes in schizophrenia: a structural MRI study. *Schizophr Bull*; 32: 332-40.

Snyder SH, Banerjee SP, Yamamura HI, Greenberg D (1974). Drugs, neurotransmitters, and schizophrenia. *Science*; 184: 1243-53.

Stankiewicz P, Lupski JR (2010). Structural variation in the human genome and its role in disease. *Annu Rev Med*; 61: 437-55.

Steen RG, Mull C, McClure R, Hamer RM, Lieberman JA (2006). Brain volume in first-episode schizophrenia: systematic review and meta-analysis of magnetic resonance imaging studies. *Br J Psychiatry*; 188: 510-8.

Stryer L (1996). Biochemie, 4. Auflage, Spektrum, Heidelberg - Berlin – Oxford; S. 825 ff.

Sullivan PF, Kendler KS, Neale MC (2003). Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. *Arch Gen Psychiatry*; 60: 1187-92.

Tamminga CA, Stan AD, Wagner AD (2010). The hippocampal formation in schizophrenia. *Am J Psychiatry*; 167: 1178-93.

Thermo Fisher Scientific: <https://www.thermofisher.com/order/genome-database/>

Thome J, Eisch AJ (2005). Neuroneogenese. Relevanz für pathophysiologie und pharmakotherapie psychiatrischer Erkrankungen. *Nervenarzt*; 76: 11-9.

- Toro CT, Deakin JF (2007). Adult neurogenesis and schizophrenia: a window on abnormal early brain development?. *Schizophr Res*; 90: 1-14.
- Tsuang M (2000). Schizophrenia: genes and environment. *Biol Psychiatry*; 47: 210-20.
- Tuominen HJ, Tiihonen J, Wahlbeck K (2006). Glutamergic drugs for schizophrenia. *Cochrane Database Syst Rev*; CD003730.
- UCSC Genome Browser: <http://genome.ucsc.edu/>
- Vieland VJ, Walters KA, Lehner T, Azaro M, Tobin K, Huang Y, Brzustowicz LM (2014). Revisiting schizophrenia linkage data in the NIMH Repository: reanalysis of regularized data across multiple studies. *Am J Psychiatry*; 171: 350-9.
- Vita A, Dieci M, Silenzi C, Tenconi F, Giobbio GM, Invernizzi G (2000). Cerebral ventricular enlargement as a generalized feature of schizophrenia: a distribution analysis on 502 subjects. *Schizophr Res*; 44: 25-34.
- Vollenweider FX, Leenders KL, Oye I, Hell D, Angst J (1997). Differential psychopathology and patterns of cerebral glucose utilisation produced by (S)- and (R)-ketamine in healthy volunteers using positron emission tomography (PET). *Eur Neuropsychopharmacol*; 7: 25-38.
- Weinberg W (1908). Über den Nachweis der Vererbung beim Menschen. *Jahreshefte des Vereins für vaterländische Naturkunde in Württemberg*; 24: 369-82.
- Wijsman EM, Rosenthal EA, Hall D, Blundell ML, Sobin C, Heath SC, Williams R, Brownstein MJ, Gogos JA, Karayiorgou M (2003). Genome-wide scan in a large complex pedigree with predominantly male schizophrenics from the island of Kosrae: evidence for linkage to chromosome 2q. *Mol Psychiatry*; 8: 695-705, 643.
- Wink M (2011). *Molekulare Biotechnologie: Konzepte, Methoden und Anwendungen*. 2. Auflage Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- World Health Organisation (1992). *The ICD-10 Classification of Mental and Behavioural Disorders. Clinical Descriptions and Diagnostic Guidelines*. 4. Auflage World Health Organisation, Genf.
- World Health Organization (2011). *Schizophrenia*. [http://www.who.int/mental\\_health/management/schizophrenia/en](http://www.who.int/mental_health/management/schizophrenia/en).
- Wright IC, Rabe-Hesketh S, Woodruff PW, David AS, Murray RM, Bullmore ET (2000). Meta-analysis of regional brain volumes in schizophrenia. *Am J Psychiatry*; 157: 16-25.

Xu B, Roos JL, Dexheimer P, Boone B, Plummer B, Levy S, Gogos JA, Karayiorgou M (2011). Exome sequencing supports a de novo mutational paradigm for schizophrenia. *Nat Genet*; 43: 864-8.

Yamaguchi Y, Pasquale EB (2004). Eph receptors in the adult brain. *Curr Opin Neurobiol*; 14: 288-96.

Yao J, Pan YQ, Ding M, Pang H, Wang BJ (2014). Association between DRD2 (rs1799732 and rs1801028) and ANKK1 (rs1800497) polymorphisms and schizophrenia: a meta-analysis. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*; 168: 1-13.

Zubin J, Spring B (1977). Vulnerability; a new view of Schizophrenia. *Journal of Abnormal Psychology*; 86: 103-126.



## 7. Abkürzungsverzeichnis

|          |  |
|----------|--|
| aa       | Aminosäure (engl. amino acid)                      |
| Abb.     | Abbildung  |
| Az.      | Aktenzeichen                                       |
| $\alpha$ | Signifikanzniveau                                  |
| bp       | Basenpaar(e)                                       |
| bzw.     | beziehungsweise                                    |
| °C       | Grad Celsius                                       |
| ca.      | circa  |
| CDK5     | cyclin-dependent kinase 5                          |
| cDNA     | komplementäre Desoxyribonucleinsäure               |
| CHN1     | chimerin 1   |
| chr.     | chromosomal  |
| CNV      | copy number variation                              |
| d. h.    | das heißt  |
| Da       | Dalton   |
| DNA      | Desoxyribonucleinsäure                             |
| EDTA     | Ethylendiamintetraacetat                           |
| engl.    | englisch   |
| Ex.      | Exon   |
| GTP      | Guanosintriphosphat                                |
| GWAS     | Genomweite Assoziationsstudie(n)                   |
| HWE      | Hardy-Weinberg-Gleichgewicht                       |
| ICD      | International Classification of Diseases           |
| LD       | Linkage Disequilibrium (=Kopplungsungleichgewicht) |
| MAF      | minor allele frequency                             |
| Mb       | Megabase(n)  |
| mg       | Milligramm   |
| min      | Minute(n)  |
| ml       | Milliliter   |
| $\mu$ l  | Mikroliter   |

|       |   |
|-------|---|
| mRNA  | messenger-Ribonucleinsäure                                      |
| MW    | Mittelwert  |
| n     | Anzahl  |
| ng    | Nanogramm   |
| NGEF  | neuronal guanine nucleotide exchange factor                     |
| nm    | Nanometer   |
| NMDA  | N-Methyl-D-Aspartat   |
| OR    | Odds Ratio  |
| P     | Wahrscheinlichkeit einer Übereinstimmung im Signifikanztest     |
| PCR   | Polymerasekettenreaktion (engl. polymerase chain reaction)      |
| pH    | potentia hydrogenii   |
| RAC1  | Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1                      |
| RAP1  | Ras-proximate-1 bzw. Ras-related protein 1                      |
| RAP2  | Ras-proximate-2 bzw. Ras-related protein 2                      |
| SD    | Standardabweichung  |
| SDS   | Natriumdodecylsulfat  |
| SHT   | Schädel-Hirn-Trauma   |
| SNP   | Single Nucleotide Polymorphism                                  |
| Tab.  | Tabelle   |
| USA   | Vereinigte Staaten von Amerika (engl. United States of America) |
| UTR   | untranslatierte Region  |
| v. a. | vor allem   |
| WHO   | Weltgesundheitsorganisation (engl. World Health Organisation)   |
| z. B. | zum Beispiel  |
| ZNS   | Zentrales Nervensystem  |
| %     | Prozent   |

## **Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich mich bei Herrn Prof. Stöber, welcher leider unerwartet und viel zu früh verstorben ist, für die freundliche Überlassung meines Promotionsthemas und jederzeit fachkompetente Betreuung bedanken.

Besonderer Dank gilt auch meinem Betreuer Herrn Dr. Gawlik für die herausragende Unterstützung und sein hohes Maß an Engagement und Geduld im gesamten Verlauf dieser Promotionsarbeit.

Außerdem herzlich danken möchte ich Frau N. Stövesand für ihre Hilfsbereitschaft und Unterstützung im Labor.

Ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Deckert, welcher mir nach dem Tod von Herrn Prof. Stöber eine Fortführung meiner Promotion ermöglichte. Ohne ihn wäre ein erfolgreicher Abschluss dieser Arbeit nicht möglich gewesen.

Ebenfalls besonderer Dank gilt meinen Eltern und meinem Freundeskreis, von welchen ich auf meinem Weg durch das Studium begleitet wurde, für die stetige Ermutigung, aufgebrauchte Geduld und vielen lieben Worte.