

Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie
der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. J. Deckert

**Haplotypenbasierte Assoziationsanalyse der COMT-Gen-Region bei
schizophrenen Psychosen in einem polydiagnostischen Ansatz**

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

vorgelegt von
Putz Evelyn
aus Würzburg

Würzburg, Mai 2008

Referent: Prof. Dr. med. Stöber
Koreferent: Prof. Dr. med. Riederer
Dekan: Prof. Dr. med. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 27.05.2008

Die Promovendin ist Ärztin

“The magnitude of the problem of schizophrenia is matched by our ignorance about it” (Matthysse & Kety, 1975)

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1	Einführung 1
1.1	Einteilung schizophrener Erkrankungen 1
1.1.1	ICD und DSM 2
1.1.2	Klassifikation nach Leonhard 3
1.2	Ätiologie schizophrener Erkrankungen 5
1.2.1	Dopaminhypothese 9
1.2.2	Das COMT-Gen 11
1.2.3	Struktur und Funktion der Catechol-O-Methyltransferase 12
1.2.4	Befunde zum Val ^{108/158} Met-Polymorphismus im COMT-Gen 14
1.2.5	Weitere Polymorphismen am COMT-Locus 19
2	Fragestellung 24
3	Material und Methoden 25
3.1	Auswahl des Patientenkollektivs 25
3.2	Auswahl der SNPs 26
3.3	DNA-Extraktion 27
3.4	Bestimmung der Genotyp- und Allelverteilungen der SNPs 27
3.4.1	Polymerasekettenreaktion 27
3.4.2	RFLP-Gelelektrophorese 28
4	Auswertung 31
5	Ergebnisse 33
5.1	Einzelmarkeranalyse und LD-Struktur 33
5.2	Haplotypanalysen 43
6	Diskussion 47
7	Zusammenfassung 55
8	Literaturverzeichnis 57

ANHANG

DANKSAGUNG

LEBENS LAUF

1 Einführung

Schizophrenien gehören für Betroffene und deren Angehörige zu den schwerwiegendsten Krankheiten überhaupt. Die Erfahrungen klinischer Forschungsarbeiten der letzten Jahre lassen vermuten, dass ein frühzeitiges Erkennen einen besseren Verlauf begünstigen kann (Simon et al., 2001). Aufgrund einer postulierten und zwischenzeitlich belegten genetischen Komponente bei der Auslösung der Erkrankung, soll die folgende Arbeit einen Beitrag zur Identifizierung schizophrenierelevanter Genabschnitte leisten.

1.1 Einteilung schizophrener Erkrankungen

Bereits zu Beginn des 19. Jahrhunderts bestanden große Meinungsunterschiede hinsichtlich einer Differenzierung schizophrener Zustandbilder. Während Autoren wie Heinrich Neumann (1814 - 1884) und Wilhelm Griesinger (1817 – 1868) von einer Einheitspsychose sprachen, postulierten Forscher wie Kahlbaum (1828 - 1899) hinsichtlich der endogenen Psychosen eine Vielzahl nosologischer Entitäten. Erst Kraepelin erstellte 1896 ein diagnostisch-nosologisches Klassifikationsschema, in dem er den grossen Kreis der Dementia praecox mit ungünstiger vom manisch-depressiven Formenkreis mit günstiger Prognose abgrenzte. Die Dementia praecox verstand er dabei als noch unbekannte Stoffwechselstörung, die unausweichlich zum Verlust psychischer Fähigkeiten führen soll. Den Begriff der manisch-depressiven Krankheit fasste er dagegen sehr weit; er sah darin eine aus einer gemeinsamen Wurzel erwachsene Krankheitsgruppe mit fließenden Übergängen zwischen den einzelnen Formen.

Kraepelins bidimensionales Konzept wurde 15 Jahre später von Eugen Bleuler durch die Einführung eines umfassenderen Schizophreniekonzepts und ausgeprägter theoretischer Arbeit verlassen. Im Gegensatz zu Kraepelin glaubte er weder an den durchgängig frühen Beginn der Störung, noch an deren unumgängliches Fortschreiten bis zum vollständigen Intelligenzverlust und schlug 1908 den Begriff der „Schizophrenie“ vor, um damit das eigentliche Wesen der Störung, eine Aufspaltung des „Geistes“ (schizo = ich spalte, phren = Geist) gezielt zu erfassen. Bleuler

differenzierte zwischen dem primären Symptom der Lockerung und Nivellierung assoziativer Zusammenhänge in einem Gedankengang und sekundären Symptomen, die er in Grund- (u.a. Störungen des Denkens, der Affektivität und der Ambivalenz) und akzessorische Symptome (wie Sinnestäuschungen, Wahnideen, funktionelle Gedächtnisstörungen und katatone Symptome) unterteilte. Bleuler's Konzept hat die amerikanische Auffassung der Schizophrenie stark beeinflusst und erfuhr zahlreiche Erweiterungen von Autoren wie Adolf Meyer (1866 – 1950) und Jacob Kasanin (1897 – 1946). Nach Leonhard ist die wissenschaftliche Auseinandersetzung mit dem Krankheitsbild Schizophrenie in den folgenden Jahrzehnten ohne den Einfluss von Kraepelin und Bleuler undenkbar (Leonhard, 1995).

1.1.1 ICD und DSM

In den letzten Jahren hat man versucht, das Dilemma unterschiedlicher theoretischer Ansätze durch eine atheoretische, operationalisierte Diagnostik zu lösen, bei der ausschliesslich auf der Syndromebene klassifiziert wird. Eines der heute international gebräuchlichsten Diagnosesysteme ist die „International Classification of Diseases“ der WHO. Sie geht auf Kurt Schneider (1887 – 1967) zurück, der zu den Symptomen der Schizophrenie einerseits die „abnormen Erlebnisweisen“, nämlich die Symptome ersten und zweiten Ranges, wie akustische Halluzinationen, Leibhalluzinationen, Halluzinationen auf anderen Sinnesgebieten, schizophrene Ich-Störungen und Wahn zählte, andererseits den „abnormen Ausdruck“, unter dem er (akute) Denkstörungen, schizophrene Affekt- und Kontaktstörungen, katatone Symptome und Ausdrucksstörungen im eigentlichen Sinne subsummierte.

Alternativ zur ICD wurde in den USA von der „American Psychiatric Association“ das „Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders“ entwickelt, das die definierten Merkmale eines Patienten auf fünf voneinander unabhängigen Achsen kodiert. Die Achsen umfassen das klinische Syndrom, Persönlichkeitsstörungen, körperliche Erkrankungen oder Bedingungen, die Schwere und das Ausmass psychosozialer Stressoren, sowie das höchste Niveau adaptiver Anpassung im vergangenen Jahr.

Die beiden atheoretischen, auf „Expertenkonsens“ basierenden, operationalisierten Klassifikationssysteme haben sich international weitgehend durchgesetzt, so dass die Diagnose Schizophrenie in der Klinik überwiegend nach einem der beiden Modelle erfolgt (Rey & Thum, 1994).

1.1.2 Klassifikation nach Leonhard

Unabhängig von diesen Entwicklungen führte Leonhard (1904 - 1988) die klinisch-empirische Forschungsrichtung weiter, indem er, ausgehend von der physiologisch-pathologischen Sichtweise Wernickes (1848 - 1905) und den neuro- und psychopathologischen Vorstellungen Kleists (1879 - 1960), Kraepelins Konzept integrierte und eine höchst differenzierte Nosologie der endogenen Psychosen schuf (Leonhard, 1956, 1995). Im Gegensatz zu Bleuler behielt er Kraepelins prognostische Dichotomie bei, unterteilte die grossen Formenkreise aber unter Berücksichtigung von Querschnittsbild, Verlauf und Ausgang in verschiedene eigenständige Krankheitseinheiten (siehe Tab. 1.1.2). So fand der ehemals manisch-depressive Formenkreis eine Unterteilung in monopolar phasische Psychosen, bipolar phasische Psychosen und zyklische Psychosen. Die Dementia praecox zerfiel in die nach Kleist wie auch Leonhard nosologisch eigenständigen unsystematischen und systematischen Schizophrenien.

Als besonders zukunftsweisend gilt die Prognoseorientiertheit seiner Klassifikation (Bochnik, 2004). Bei den zyklischen Psychosen, die eine Differenzierung in die Angst-Glücks-Psychose, Verwirrtheitspsychose und Motilitätspsychose findet, beschreibt Leonhard, ähnlich dem manisch-depressiven Krankheitsbild, eine gute Prognose. Im Gegensatz zur letztgenannten ist die familiäre Belastung mit homotypischen Psychosen allerdings gering.

Bei den unsystematischen Schizophrenien unterschied Leonard ebenfalls drei Formen: Die periodische Katatonie, die affektvolle Paraphrenie und die Kataphasie. Sie verlaufen zumeist schubförmig und (teil-)remittierend mit psychischen Residuen unterschiedlicher Ausprägung im Langzeitverlauf. Leonhard ging hier von einer überwiegend genetischen Ursache aus, da er eine hohe familiäre Belastung mit gleichartigen Erkrankungen fand (Leonhard, 1975).

Die systematischen Schizophrenien unterteilte er in die systematischen Hebephrenien, die systematischen Katatonien und die systematischen Paraphrenien. Sie zeigen nach Leonhard einen meist schleichenden Beginn, verlaufen chronisch ohne Remission und führen durchwegs zu schweren, stabilen psychischen Defektzuständen. Im Gegensatz zu den unsystematischen Schizophrenien übertrifft das familiäre Risiko kaum das Erkrankungsrisiko der Allgemeinbevölkerung, hier scheinen prä-, peri- oder postnatale Umwelteinflüsse die grössere Rolle zu spielen.

Das Konzept der zykliden Psychosen ließ sich zwischenzeitlich in verschiedenen Untersuchungen bestätigen und validieren (Brockington et al., 1982, Beckmann et al., 1990, Pfuhlmann et al., 2004). Ebenso die unterschiedliche genetische Belastung der systematischen und unsystematischen Schizophrenien, die durch Untersuchungen von Stöber, Franzek und Beckmann (Franzek & Beckmann, 1991; Franzek & Beckmann, 1998; Stöber et al., 1995; Beckmann et al., 1996; Stöber et al., 1998; Stöber, 2001), vor allem hinsichtlich der katatonen Unterformen, mehrfach bestätigt werden konnte. Unter der Voraussetzung methodisch sorgfältiger Einübung erwies sich Leonhards differenzierte Klassifikation zudem als hoch reliabel (Franzek & Beckmann, 1991).

Tab. 1.1.2: Einteilung schizophrener Psychosen nach Leonhard

Einteilung schizophrener Psychosen nach Leonhard			
Form	Zykloide Psychosen	Unsystematische Schizophrenien	Systematische Schizophrenien
Unterformen	Angst-Glücks-Psychose Verwirrtheitspsychose Motilitätspsychose	Periodische Katatonie Affektvolle Paraphrenie Kataphasie	Systematische Hebephrenien Systematische Katatonien Systematische Paraphrenien
Prognose	Gut	Psychische Residualzustände unterschiedl. Schweregrads	Schwere stabile psychische Defekte
Familiäre Belastung	Gering	Hoch	Sehr gering

1.2 Ätiologie schizophrener Erkrankungen

Suchte man in früheren Jahren nach der einen Ursache von schizophrenen Erkrankungen, so geht man heute von einer multifaktoriellen Genese aus, bei der genetisch-biologische und psychosoziale Faktoren gemeinsam für Ausbruch und Aufrechterhaltung der Erkrankung verantwortlich sind. Als Ursachen werden Vererbung, morphologische und biochemische Veränderungen des Gehirns, Störungen des Neurodevelopments und psychosoziale Faktoren vermutet.

Die Vorstellungen über Natur und Ätiologie der Schizophrenie wurden nicht nur vom wissenschaftlichen Fortschritt beeinflusst, sondern auch von den politischen und sozialen Veränderungen des 20. Jahrhunderts. Während in den frühen Jahrzehnten Übereinstimmung darin bestand, dass es sich um eine erbliche Erkrankung handelt, liesen die Unmässigkeiten der eugenischen Bewegung in den 30er und 40er Jahren, zusammen mit der in Nordamerika aufgekommenen Popularität psychoanalytischer Theorien, sowie der um 1960 stattgefundenen Verbreitung antipsychiatrischer Einstellungen, die psychiatrische Genetik äusserst unmodern erscheinen. Die Häufung schizophrener Erkrankungen in bestimmten Familien wurde allerdings nicht ernsthaft bestritten, so dass sich das Forschungsinteresse seit Mitte der 1980er Jahre, auch aufgrund der dramatischen Fortschritte in der molekularen Diagnostik, wieder vermehrt auf genetischen Faktoren gerichtet hat.

Heute geht man davon aus, dass das Erkrankungsrisiko in der weltweiten Bevölkerung bei etwa 1 % liegt. Familienstudien haben gezeigt, dass Verwandte schizophrener Patienten eine signifikant höhere Erkrankungswahrscheinlichkeit aufweisen, die in Abhängigkeit von der Enge der verwandtschaftlichen Beziehung steigt. So beschrieb Gottesman (1991) in einer Zusammenfassung von 40 Familienstudien ein Risiko von 48 % bei eineiigen Zwillingen und 46 % bei den Nachkommen von zwei schizophrenen Elternteilen. Das Schizophrenierisiko zweieiiger Zwillinge und das von Geschwistern mit einem schizophrenen Elternteil lag dagegen nur bei ca. 17 %. Im Gegensatz zu Familienstudien, erlauben Untersuchungen mono-/dizygoter Zwillinge auch die Trennung von gen- und umweltbedingten Effekten. Trotz zu machender Einschränkungen, die darauf beruhen, dass die Unterbringung von Adoptivkindern nicht

zufallsverteilt ist und Vermittlungsstellen auf die Auswahl gut passender Familien achten, sprechen auch Adoptivstudien für einen genetischen Beitrag. Die früheste Studie (Heston, 1966) untersuchte 47 Adoptivpersonen, die innerhalb der ersten drei postnatalen Tage von ihren schizophrenen Müttern getrennt wurden. Verglichen mit der Kontrollgruppe, in der es zu keinem Erkrankungsfall kam, entwickelten fünf Personen der Fallgruppe eine Schizophrenie. Die Ergebnisse bestätigten sich auch in späteren Studien von Rosenthal (Rosenthal et al., 1968) und Tienari (1991).

Obwohl die gerade angesprochenen Methoden überzeugende Belege für die familiäre Häufung schizophrener Erkrankungen liefern, stellen sie doch nur einen indirekten Beweis für die genetische Übertragung dieser Krankheit dar. Untersuchungen, die sich mit genetischen Markern beschäftigen, ermöglichen dagegen einen direkten Zugang zur Identifizierung und Lokalisierung von Genen.

Seit 1985 wurden weltweit eine Vielzahl von Assoziations- und Kopplungsstudien durchgeführt, die sich u. a. mit Genorten auf den Chromosomen 1, 2, 3, 5, 6, 8, 10, 13, 15 und 22 beschäftigen (Blouin et al., 1998; Kaufmann et al., 1998; Wildenauer & Schwab, 2004).

Bei sogenannten Kopplungsuntersuchungen wird nach einer überzufällig häufigen gemeinsamen Vererbung von Allelen eines polymorphen Markergens oder eines Markergenorts und eines Krankheitsgenorts innerhalb von Familien gesucht (Deister und Möller, 1998). Mit ihrer Hilfe konnten auf den Chromosomenabschnitten 1q, 2, 18p, im wesentlichen aber auf den Chromosomen 5q, 6p, 8p, 10p, 13q und 22q Kandidatengenregionen für schizophrene Psychosen angenommen werden (Bahn, 2002). Bei Betrachtung der einzelnen Kandidatenregionen ergibt sich jedoch ein uneinheitliches Bild. Während Brzustowicz et al. (2000) aufgrund eines Lod-Scores von 6.5 in betroffenen kanadischen Familien ein Kandidatengen auf dem langen Arm des Chromosoms 1 (1q21-22) vermuteten, ergaben sich in einer isländischen Familienuntersuchung Hinweise darauf, dass der Chromosomenabschnitt 2q12-13 eine Rolle spielen könnte. In Folgeuntersuchung ließen sich die beiden Befunde jedoch nicht durchgehend bestätigen (Waterworth et al., 2002). Ein positives Resultat für eine Kopplung im Chromosomenabschnitt 5q22-q31 zeigte sich in einer irischen Kohorte.

Auch wenn sich der Zusammenhang in einer breiter angelegten Studie unter Einschluß dieser Kohorte nicht replizieren ließ, sprechen irische, isländische und finnische Studien für eine Kandidatenregion auf Chromosom 5q (Levinson et al., 2000). Widersprüchliche Ergebnisse ergeben sich auch für den Chromosomenabschnitt 6p, auf dem Marker des NOTCH4-Gens unter Einbeziehung eines SNPs in der Promotorregion und ein Trinucleotid-Repeat gehäuft bei schizophrenen Patienten auftraten, ebenso ein funktioneller SNP im Gen für TNF- α (Waterworth et al., 2002). In einem irischen, amerikanischen, kanadischen und britischen Kollektiv ließ sich dagegen eine Assoziation der Erkrankung mit dem Chromosomenabschnitt 8p21-22 finden. Gestützt wird dieser Befund durch eine weitere Studie, in der in betroffenen Familien ein Zusammenhang zwischen Chromosom 8p und dem Auftreten formaler Denkstörungen, einem schlechteren Verlauf und einer geringeren depressiven Symptomatik bestand (Kendler et al., 2000). Eine Reihe von Regionen auf Chromosom 10 wurden ebenfalls für ein erhöhtes Schizophrenierisiko verantwortlich gemacht, wobei nur für 10p11-15 eine Replikation in mehreren Studien gelang (Waterworth et al., 2002). Eine Assoziation konnte auch für den Chromosomenabschnitt 13q gezeigt werden, die Ergebnisse sind hier jedoch auch uneinheitlich (Bailer et al., 2002). Weiterhin ließ sich in Familien mit einer Häufung von Schizophreniekranken ein Polymorphismus am Genort des Alpha-7-Nikotinrezeptors (CHRNA7) auf Chromosom 15 finden, der mit einer Störung der P50-vermittelten Informationsverarbeitung einhergeht (Freedman et al., 1997). Parallel hierzu konnte in post-mortem Gewebe eine verminderte Expression des Nikotinrezeptors auf Interneuronen des Hippocampus nachgewiesen werden. Zudem ergaben sich Anhaltspunkte für einen Locus auf Chromosom 15 und der periodischen Katatonie, einer Unterform der Schizophrenie nach der Leonhard Klassifikation (Stöber et al., 2000). Besondere Bedeutung hat in den vergangenen Jahren auch das Chromosomen 22 erlangt, da bei Bassett et al. (2000) bei 26 % der Erwachsenen mit einer Mikrodeletion auf Chromosomenabschnitt 22q11.2 eine organische schizophrenieartige oder bipolare Psychose gefunden werden konnte, und ca. 1 % der schizophrenen Patienten bzw. 6 % derer mit einer in der Kindheit beginnenden Schizophrenie eine solche Mikrodeletion aufweisen. Die Ergebnisse sind jedoch auch hier widersprüchlich (Arinami et al., 2001). Zudem weisen Untersuchungen vermehrt auf eine Assoziation zwischen dem Auftreten verschiedener Polymorphismen

auf dem Chromosomenabschnitt 22q11-12 und schizophrenen Störungsbildern hin. Da dieser Chromosomenabschnitt im Mittelpunkt der vorliegenden Arbeit steht, wird er in Kapitel 1.2.2 gesondert behandelt.

Assoziationsanalysen liefern einen alternativen Ansatz zur Identifizierung von Risikogenen. Ziel ist es, durch Vergleich einer Patienten- mit einer Kontrollstichprobe, ein mit der Erkrankung assoziiertes genetisches Merkmal nachzuweisen. Assoziationsuntersuchungen sind besonders anfällig für falsch-positive Befunde wenn Patienten- und Kontrollgruppen aus verschiedenen Bevölkerungsgruppen stammen, und erfordern eine große Anzahl geeigneter Marker, um das menschliche Genom systematisch zu durchsuchen, besitzen im Gegensatz zu Kopplungsstudien aber die Möglichkeit des Nachweises von Risikogenen mit geringem Beitrag zur Krankheitsentstehung (Bailer et al., 2002). Die meisten Assoziationsstudien beruhen auf pathobiologischen Modellen der Schizophrenie, wie dem der dopaminergen Dysfunktion. So wurden bei schizophrenen Patienten gehäuft Polymorphismen des DRD3-Gens (Dopaminrezeptor-3-Genvariante) auf Chromosom 3q13.3 beobachtet, welches in Hirnregionen exprimiert wird, die Bedeutung für die emotionale Kontrolle, Motivation und Belohnung besitzen (Davidson et al., 1999). Eine der möglichen Polymorphismen ist die Ser9Gly-Substitution, die sich in einer japanischen Stichprobe signifikant mit Schizophrenie assoziiert zeigte (Ishiguro et al., 2000). Die gleiche Veränderung des D3-Rezeptorgens stand in mehreren Untersuchungen in Zusammenhang mit der Häufigkeit tardiver Dyskinesien nach Neuroleptikabehandlung. Von der Arbeitsgruppe um Krebs wurde dagegen ein verstärkter Dinucleotid-Repeat des 172-176 Basenpaar-Allels im Brain Derived Neurotropic Factor (BDNF)-Gen auf Chromosom 11p13, einer für das Zustandekommen und die Aufrechterhaltung der DRD3-Expression verantwortlichen Stelle, mit einer späten, auf Neuroleptika besser respondierenden Form der Schizophrenie (late onset) in Zusammenhang gebracht (Krebs et al., 2000).

Genetische Studien des serotonergen Systems erbrachten ebenfalls widersprüchliche Befunde. So zeigten sich in einer Metaanalyse überdurchschnittlich häufig Mutationen der Serotonin (5-HT-2A)-Rezeptorgens (Exonvariante 102T>C) auf Chromosom

13q14.2 bei Schizophreniekranken, über verschiedene Länder hinweg ließ sich dies jedoch nicht sicher replizieren (Williams et al., 1997).

Insgesamt ist eine Identifikation der risikomodulierenden Gene im Rahmen der Entstehung schizophrener Erkrankungen bisher nicht gelungen. Da die Catechol-O-Methyltransferase (COMT) den ersten Schritt in einem der Hauptabbauwege von Katecholaminen katalysiert und die Dopaminhypothese nach wie vor eine der wichtigsten Erklärungsansätze für die Entstehung schizophrener Psychosen darstellt, wurde das COMT-Gen auf Chromosom 22 in den vergangenen Jahren vermehrt als Risikogen schizophrener Erkrankungen diskutiert. Aufgrund des bisher inkonsistenten Ergebnisse haben wir es uns im Rahmen der vorliegenden Arbeit zur Aufgabe gemacht, mehrere Marker dieses Chromosomenabschnitts auf einen Zusammenhang mit schizophrenen Störungsbildern hin zu prüfen. In den folgenden Kapiteln soll deshalb näher auf die Dopaminhypothese, das COMT-Gen, sowie die bisher vorliegenden Untersuchungsergebnisse zu diesem Chromosomenabschnitt eingegangen werden.

1.2.1 Dopaminhypothese

Die Dopaminhypothese stellt eine der bekanntesten und am meisten diskutierten pathophysiologischen Erklärungsansätze schizophrener Psychosen dar. In Anbetracht der Tatsache, dass Dopaminagonisten, wie Amphetamine, einen paranoid-halluzinatorischen Zustand erzeugen können, der eine bestehende Schizophrenie-Symptomatik verstärken kann, geht man davon aus, dass die mit der Schizophrenie assoziierten Symptome auf ein relatives Überwiegen der dopaminergen Synapsenaktivität, entweder durch vermehrte Dopamin-Ausschüttung oder durch erhöhte Empfindlichkeit der postsynaptischen Dopamin-Rezeptoren, zurückzuführen sind (Davison & Neale, 1996; Müller, 1999). Man nimmt an, dass die Wirkweise der Amphetamine dabei entweder auf einer Freisetzung von Katecholaminen im synaptischen Spalt oder auf deren Inaktivierung beruht.

Weitere Unterstützung erfährt die Theorie durch die Wirkweise antipsychotisch wirkender Medikamente. Phenothiazine, wie Chlorpromazin und Haloperidol, hemmen

die Dopaminaufnahme vor allem an D2-Rezeptoren im menschlichen Gehirn und führen zu einer Reduktion psychotischer Symptome, im Zuge einer Langzeitbehandlung aber auch zu extrapyramidalen Nebenwirkungen. Diese beruhen nach heutigem Kenntnisstand auf einer unklaren Degeneration melaninhaltiger dopaminproduzierender Zellen in der Substantia nigra mit konsekutivem Dopaminmangel in den Stammganglien (Davison & Neale, 1996; Poeck & Hacke, 2001).

Zwischenzeitlich wurde festgestellt, dass sich das Neurotransmitter-Ungleichgewicht regional unterschiedlich gestaltet. Während in präfrontalen Hirnregionen und im mesolimbischen System eine dopaminerge Unterfunktion vorliegt, welche die Negativsymptomatik erklärt, soll es in tieferen Hirnregionen des mesolimbischen Systems aufgrund verminderter Hemmfunktionen, zur dopaminergen Überaktivität kommen, woraus die positiven Symptome resultieren (Müller, 1999).

Zusätzlich mehren sich in post-mortem-Untersuchungen die Hinweise darauf, dass glutamaterge Parameter in Gehirnen Schizophrener vermindert sind. Ausserdem stellen die durch hochaffine NMDA-Antagonisten (PCP, Ketamin) induzierten schizophrenen Symptome die derzeit am besten verfügbaren Modellpsychosen dar, die im Gegensatz zur Amphetaminpsychose, schon nach kurzer Zeit und mittleren Dosen das Vollbild einer akuten schizophrenieartigen Psychose auslösen können (Hippius, 2004). Auch der Nachweis des atypischen Wirkungsprofils von Clozapin brachte neue Impulse, da Clozapin nicht nur eine hohe Affinität zu D2, sondern auch zu verschiedenen anderen Dopamin-Rezeptor-Subtypen sowie dem 5HT2-Rezeptor, alpha-adrenergen und muskarinergen Rezeptoren zeigt (Möller & Müller, 1998).

Die Dopaminhypothese kann zwar Fragen wie die nach der Diskrepanz zwischen der unmittelbar nach der Neuroleptika-Gabe einsetzenden Rezeptorblockade und der Latenz der antipsychotischen Wirkung, sowie die nach dem Auftreten von Residuen und Therapieresistenzen, nicht oder nur unzureichend beantworten, wurde bislang aber noch von keiner anderen Hypothese an Erklärungskraft übertroffen. Auch wenn dem Antagonismus an 5-HT2-Rezeptoren eine wichtige Rolle zugeschrieben wird, ist eine antipsychotische Wirkung nur im Zusammenhang mit einer Dopamin-Rezeptorblockade zu erreichen (z.B. durch das selektiv D2/D3-rezeptorantagonistische Amisulprid) und bedarf keines 5-HT2-Antagonismus (Machleidt, Garlipp & Haltenhof, 2004).

1.2.2 Das COMT-Gen

Seit den 90er Jahren haben sich die molekulargenetischen Studien aus zwei Gründen vermehrt auf die Chromosomenregion 22q11 konzentriert, in der das COMT-Gen kartiert ist. Erstens berichten Studien zum velokardialen Syndrom (VCSF), einem kongenitalen Malformationssyndrom mit erhöhter Prävalenz für Psychosen (Shprintzen et al., 1992), von einer Assoziation mit einer Mikrodeletion auf Chromosom 22q11 (Scambler et al., 1992; Kelly et al., 1993), die nach Ivanov und Karayiorgou bis zu 2 % der schizophrenen Patienten tragen (Karayiorgou et al., 1995; Ivanov et al., 2003). Zweitens unterstützen mehrere Kopplungsstudien aus dem Jahre 1995 die Annahme einer Verbindung zwischen genetischen Markern auf Chromosom 22q11-13 und Schizophrenie (Lasseter et al., 1995; Schwab et al., 1995; Vallada et al., 1995a).

Der strukturelle Aufbau des humanen COMT-Gens wurde ausführlich von Lundström et al. (1995) beschrieben. Menschen, aber auch Ratten, besitzen nur ein Gen für COMT, welches für zwei COMT-Formen, eine lösliche (S-COMT) und eine membrangebundene Form (MB-COMT) kodiert. Das menschliche COMT-Gen wurde auf Bande q11.2 des Chromosoms 22 lokalisiert und beinhaltet sechs Exone, von denen die ersten zwei nicht kodierend sind. Die für die Translationsinitiierung verantwortlichen Codone MB-ATG und S-ATG der membrangebundenen und löslichen Form sind auf Exon 3 lokalisiert. Die Expression des COMT-Gens wird durch zwei unterschiedliche Promotoren kontrolliert (Salminen et al., 1990, Lundström et al., 1991, Tenhunen et al., 1994). Der distale 5'-Promotor (P2) reguliert die Synthese der 1,9 kb mRNA in der Ratte und der 1,5 kb mRNA im Menschen, welches für das MB-COMT wie auch das S-COMT Protein kodiert. Die Expression des kürzeren mRNA-Transkripts (1,6 kb bei der Ratte, 1,3 kb beim Menschen) wird von Promotor 1 gesteuert, der sich zwischen den ATG-Startcodons von S-COMT und MB-COMT befindet und die kodierende Sequenz von MB-COMT teilweise überlappt. Da das Translations-Initiationscodon AUG von MB-COMT nicht innerhalb dieser Transkripte liegt, kann es nur für das S-COMT Polypeptid kodieren (Männistö & Kaakkola, 1999).

Beide mRNA-Transkripte sind in den meisten menschlichen Geweben zu finden, in den bisher untersuchten Hirnregionen allerdings nur das 1.5 kb Transkript. Die

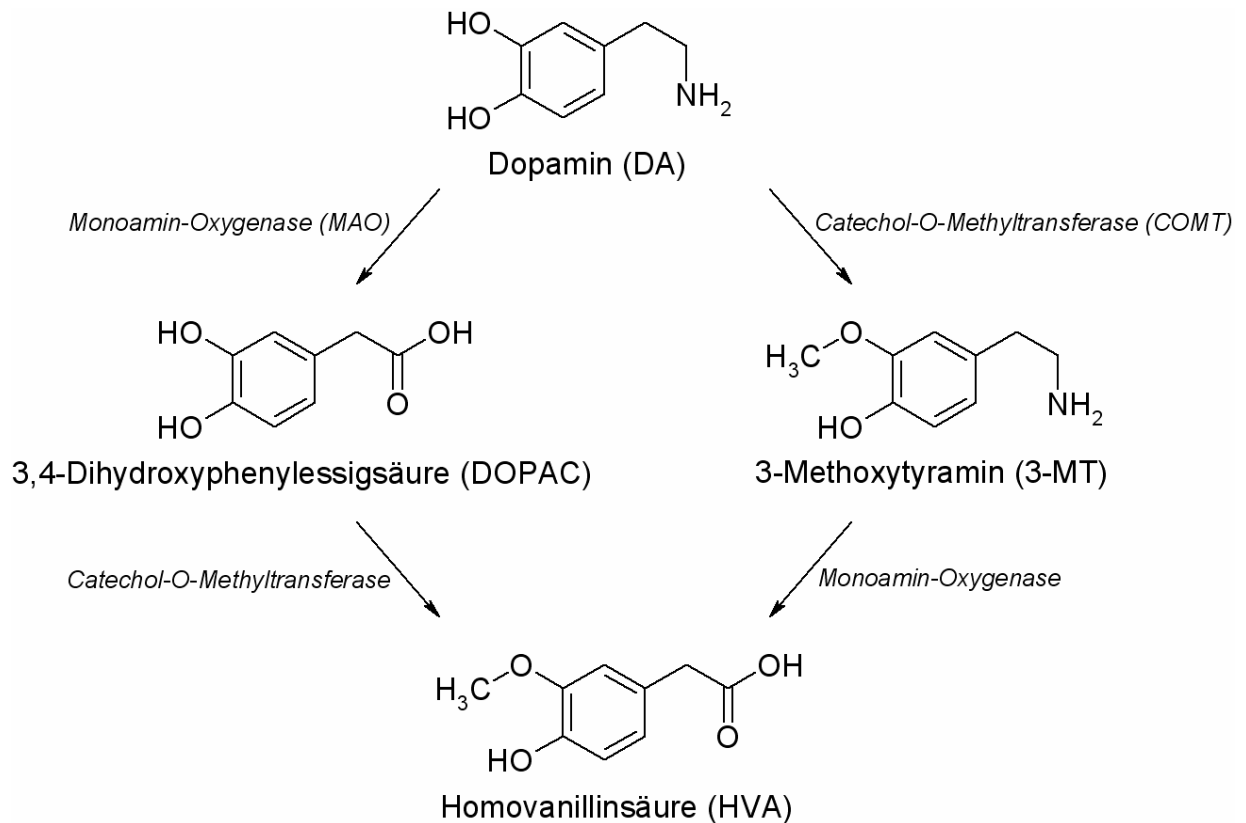
unterschiedliche Expression kurzer und langer Transkripte in den verschiedenen Geweben lässt sich durch eine Vielzahl regulatorischer Elemente erklären, welche im COMT-Gen entdeckt wurden. So beinhaltet das COMT-Gen zahlreiche östrogene Reaktionselemente (Xie et al., 1999), Östradiol wiederum senkt nachgewiesenermassen die COMT-Expression in Zellkulturen (Jiang et al., 2003).

Ergebnisse von in-situ-Hybridisierung belegen, dass sich COMT-mRNA konzentriert im präfrontalen Kortex befindet, hier vor allem in den Schichten II, III, und VI, mit signifikant niedrigeren Mengen im Striatum und äusserst geringen Konzentrationen im ventralen Tegmentum und der Substantia nigra. Daten am Rattenhirn sind konsistent mit dieser Verteilung und sprechen ausserdem für hohe COMT-mRNA-Mengen im Hippocampus und choroidalen Plexus. Auf zellulärer Ebene befindet sich COMT-mRNA bei beiden Spezies hauptsächlich in neuronalen und ependymalen, nicht aber in glialen Strukturen, im präfrontalen Kortex vor allem in den Pyramidenzellen (Matsumoto et al., 2003).

1.2.3 Struktur und Funktion der Catechol-O-Methyltransferase (COMT)

Catechol-O-Methyltransferase gilt als eine der enzymatischen Hauptinaktivatoren der Neurotransmitter Dopamin, Noradrenalin und Adrenalin. Ursprünglich wurde der Catechol-O-Methyltransferase hauptsächlich Bedeutung bei der Umwandlung von 3,4-Dihydroxyphenylelessigsäure (DOPAC) in Homovanillinsäure (HVA) zugeschrieben. Mittlerweile mehren sich jedoch die Belege dafür, dass COMT eine unerwartet wichtige Funktion beim Dopaminabbau, speziell im präfrontalen Kortex, einnimmt. Über O-Methylierung wird Dopamin dabei in 3-Methoxytyramin umgewandelt, welches im weiteren zu Homovanillinsäure abgebaut wird (Bohlen und Hallbach & Dermietzel, 2001). S-Adenosyl-l-Methionin (SAM) dient als Methyl-Donor. Alternativ dazu kann der catecholaminerge Neurotransmitter über die Monoaminoxidase (MAO) und Aldehyddehydrogenase zu DOPAC inaktiviert werden, welches, wie auch 3-Methoxytyramin, im weiteren zu Homovanillinsäure abgebaut wird (Abb. 1).

Abb. 1: Abbau von Dopamin zu Homovanillinessigsäure (Wikimedia, 2006)



Zusätzlich beeinflusst COMT die Aktivität dopaminerger Neurone im Mittelhirn über einen indirekten, über präfrontales Feedback vermittelten Effekt. Es wird dabei angenommen, dass die präfrontale Aktivität striatale dopaminerge Projektionen mittels inhibitorischer GABAerger Neurone im Mittelhirn oder Striatum hemmt (Carr & Sesack, 2001).

Das menschliche S-COMT Protein besitzt 221 Aminosäuren, 50 AS weniger als die membrangebundene Form, und dominiert in den meisten Geweben um den Faktor 3. MB-COMT besitzt einen Anteil von ca. 5 % an der COMT-Gesamtaktivität, übertrifft S-COMT aber mengenmässig mit einem Anteil von 70 % im ZNS (Zhu, 2002).

Ungeachtet der Tatsache, dass die beiden Formen einen Grossteil ihrer Sequenzen teilen, unterscheiden sich MB-COMT und S-COMT in ihrer Substratkapazität und –affinität. Obwohl die membrangebundene Form eine geringere Leistungsfähigkeit besitzt als S-COMT, zeigt sie eine zehnfach stärkere Affinität zu Dopamin und Noradrenalin (Lotta et al., 1995). MB-COMT gilt deshalb als effektiver bei der Metabolisierung von Katecholaminkonzentrationen, wie sie im ZNS gefunden werden, während sich S-COMT als wirkungsvoller bei höheren Konzentrationen in der Peripherie erweisen soll (Bohlen und Hallbach & Dermietzel, 2001; Roth, 1992). Neueste Untersuchungen (Tunbridge et al., 2006b) sprechen für zwei Varianten des MB-COMT-Proteins im menschlichen präfrontalen Kortex und der Möglichkeit, dass diese bei Schizophrenie und bipolarer Störung einer unterschiedlichen Steuerung unterliegen und in Assoziation zu einem speziellen Genotypen, dem Val^{108/158}Met-Genotypen stehen.

Die insgesamt höchsten COMT-Level sind in der Leber zu finden, gefolgt von Niere und Gastrointestinaltrakt. Auch in Milz, Pankreas, Lunge, Herz, Augen und Spinalmembran ist COMT vorhanden, wobei ihre Aktivität in einigen peripheren Geweben alters- und geschlechtsabhängig differiert. Verglichen mit Männern haben Frauen eine 20-30 % niedrigere COMT-Aktivität in Erythrozyten und in der Leber. Die zelluläre, wie auch die subzelluläre Lokalisation des COMT-Protein ist aufgrund des Mangels an Allozym-spezifischen Antikörpern allerdings noch unklar (Tunbridge et al., 2006a).

1.2.4 Befunde zum Val^{108/158}Met-Polymorphismus im COMT-Gen

Bereits in früheren Studien zur COMT-Enzymaktivität in Erythrozyten und der Leber fand man eine Übereinstimmung zwischen trimodaler Verteilung des Aktivitätslevels und der Vererbung zweier kodominanter Allele auf einem autosomalen Locus (Weinshilboum, 1978). Die Differenz in der Enzymaktivität wird dabei durch eine Aminosäuresubstitution verursacht. Wie weiter unten beschrieben, resultiert ein einfacher Basenpaar-Wechsel auf Exon 4 des COMT-Gens in einem Aminosäure-

austausch, welcher die Aktivität und Thermostabilität des COMT-Enzyms erniedrigt. Das COMT-H-Allel (bzw. Val-Allel) kodiert dabei das thermostabile Enzym mit hoher Aktivität, COMT-L (bzw. Met-Allel) das thermolabile Enzym mit niedriger Aktivität. Nach Lachman et al. (1997) führt eine Homozygotität des Met-Allels zu einer 3-4fachen Reduktion der Enzymaktivität, verglichen mit dem homozygoten Auftreten des Val-Allels, sowie einer mittleren Aktivität bei Heterozygotität. Ein äquivalenter Polymorphismus ließ sich, nichtmenschliche Primaten eingeschlossen, bisher bei keiner anderen Spezies finden (Palmatier et al., 1999). Die Met-Variante könnte somit spezifisch für den Menschen sein, und es scheint so, als habe sich die COMT-Aktivität im Laufe der Evolution verringert (Palmatier et al., 1999; Chen et al., 2004). Die Arbeitsgruppe um Palmatier wies zudem auf ethnische Unterschiede in der Enzymaktivität der COMT-Polymorphismus hin. In einer Studie (Palmatier et al., 1999) an 1314 Personen aus 30 unterschiedlichen Populationen untersuchten sie weltweit die Allelhäufigkeiten von COMT-L und COMT-H. Die Allelhäufigkeiten variierten signifikant zwischen den einzelnen geographischen Regionen und Populationen, aber auch signifikant innerhalb jeder Region mit Ausnahme von Ostasien. Während sich in den europäischen Populationen ein nahezu gleichstarkes Auftreten der beiden Allele fand, war das COMT-Allel mit hoher Enzymaktivität in allen anderen Populationen weltweit wesentlich häufiger vertreten.

Neben COMT ist auch die Expression der Tyrosinhydroxylase (TH), dem geschwindigkeitslimitierenden Enzym der Dopaminbiosynthese, in den dopaminergen Projektionskernen des Mittelhirns, mit dem Val^{108/158}Met-Genotypen assoziiert. Val-Homozygote, bei denen man eine relativ hohe COMT-Aktivität und damit niedrige präfrontale Dopaminlevel erwartet, zeigen eine stärkere TH mRNA-Expression im Mittelhirn und damit vermutlich eine höhere Dopaminbiosynthese als Val^{108/158}Met-Heterozygote (Akil et al., 2003). Der Val^{108/158}Met-Polymorphismus vermag die dopaminerge Funktion anderer Hirnregionen somit auch indirekt zu beeinflussen, wahrscheinlich im Sinne flussabwärtsgerichteter Manifestationen kortikaler Prozesse (Tunbridge et al., 2006).

Der genetische Polymorphismus des menschlichen COMT-Gens für thermolabile niedrige und thermostabile hohe Aktivität wird einer G-zu-A-Transition an Position 472

der langen und 322 der kurzen mRNA auf Exon 4 des COMT-Gens zugeschrieben, welche in einer Substitution von Valin, dem Allel mit hoher Aktivität, durch Methionin, dem Allel mit niedriger Aktivität, auf Codon 158 von MB-COMT und Codon 108 von S-COMT resultiert und eine NlaIII-Restriktionsstelle erzeugt, die die PCR-basierte RFLP-Genotypisierung erleichtert. Dabei führt das G-Allel in Abhängigkeit von den gewählten Primern zu DNA-Fragmenten, die sich von denen des A-Allel in ihrer Länge unterscheiden. Dieser funktionelle Polymorphismus vermag den Katecholamin-metabolismus zu beeinflussen, was ihn insbesondere im Hinblick auf die Dopamin- und Transmethylierungshypothese der Schizophrenie als genetischen Marker interessant erscheinen lässt. Einerseits könnte COMT als Bestandteil des Dopaminabbauwegs bei erniedrigter Aktivität zu einem Dopaminüberschuss führen, andererseits könnte auch ein Mangel der für die COMT-Aktivität nötigen Methylgruppen für die fehlende Dopaminreduktion und damit den hyperdopaminergen Zustand verantwortlich sein (Kety, 1967).

Entsprechend den Erwartungen ergab die Untersuchung von Ohmori et al. (1998) an 150 japanischen schizophrenen Patienten ein signifikant häufigeres Auftreten des Met-108-Allels in der Patienten-, als in der Kontrollgruppe. Auch in einer weiteren Assoziationsstudie von Kotler et al. (1999) bestätigte sich ein signifikant positiver Zusammenhang zwischen dem Auftreten des weniger aktiven Met-Allels und Schizophrenie. Insgesamt erweist sich die Datenlage im Bereich von Assoziationsstudien jedoch als äußerst inkonsistent. So berichten Strous et al. (1997) zwar über eine leicht erhöhte Frequenz des Met-Allels bei schizophrenen Patienten, statistische Signifikanz erreichte sie jedoch nicht. Auch in einer Replikationsstudie von Lachman et al. (1998) sowie in Studien von Liou et al. (2001) und Strous et al. (2006) zum Zusammenhang zwischen Polymorphismus und klinischen Symptomen, erwies sich der Polymorphismus auf Codon 158 nicht als spezifisch für die Gruppe der schizophrenen Patienten. In einer Fall-Kontroll-Studie von Herken und Erdal (2001) erwies sich der Zusammenhang zwischen dem COMT-Polymorphismus ebenfalls als nicht signifikant, dabei fand man aber innerhalb der schizophrenen Gruppe höhere Werte in der Brief Psychiatric Rating Scale (BPRS) und damit schwerere klinische Symptome sowie eine höhere Hospitalisierungsrate beim L/L-Genotypen.

Im Gegensatz dazu legen die Ergebnisse der Arbeitsgruppe um Malhotra (Malhotra et al., 2002) einen Zusammenhang zwischen dem Met-Allel und guter Gedächtnistestleistung nahe. Auch bei Goldberg et al. (2003) wurde die beste Arbeitsgedächtnisleistung bei Trägern des Met/Met-Genotypen gefunden, die schlechteste bei Probanden des Val/Val-Genotyps. Ähnlich zeigen COMT-Gen-Knockout-Mäuse unter Umweltstress bessere Gedächtnisleistungen (Kneavel et al., 2000). Auch klinische Versuchsdaten weisen darauf hin, dass die pharmakologische Hemmung von COMT mittels Tolcapon die kognitive Leistungsfähigkeit in Abhängigkeit vom Genotyp beeinflusst (Gasparini, 1997, Tunbridge et al., 2006a). Matthey et al. (2003) berichten in ihrer Assoziationsstudie von einer signifikanten Leistungssteigerung nach Einnahme des Dopamin-Agonisten bei Trägern des Val-Allels, während sich Met-Homozygote in einigen Gedächtnistests verschlechterten. Die Autoren erklären dies mit einem umgekehrt U-förmigen Zusammenhang zwischen Leistung und Dopaminlevel, bei dem das optimale Aktivierungsniveau bei Trägern des Met-Allels, aufgrund ihrer suboptimalen COMT- und damit höheren Dopaminaktivität, durch Aktivierung des Dopaminsystems mittels Gedächtnistestbelastung und Amphetamin überschritten wird.

Zusätzlich gibt es aber auch Studien, die keinen Zusammenhang zwischen dem Val^{108/158}Met-Polymorphismus und Gedächtnisleistung belegen konnten (Hywel et al., 2005; Syvänen et al., 1997; Thompson et al., 1997).

Als inkonsistent erweisen sich auch die Ergebnisse aus familienbasierten Assoziationsanalysen. Lie et al. (1996) fanden in ihrer Studie an chinesischen Familien zwar signifikante Ergebnisse hinsichtlich eines gehäufteten Auftretens des Met-Allels bei schizophrenen Patienten sowie eine Verstärkung des Effekts beim Einschluss von Daten aus einer Untersuchung mit kaukasischen und japanischen Familien von Kunugi et al. (1997), das Val-Allel wurde jedoch häufiger von den Eltern auf die betroffenen Nachkommen übertragen, als das Met-Allel. Egan et al. (2001) untersuchten die Beziehung zwischen dem Val^{108/158}Met-Polymorphismus und präfrontaler Gedächtnisleistung sowie der mittels MRT gemessenen präfrontalen Aktivität während eines Arbeitsgedächtnistests, und fanden einen positiven Zusammenhang zwischen dem Val-Allel und schizophreientypischen Charakteristika, wie schlechter Leistung im

Arbeitsgedächtnistest und ineffizienterer physiologischer Aktivität im präfrontalen Kortex. Die Vermutung, dass das COMT-Val-Allel über einen gesteigerten präfrontalen Dopaminkatabolismus zu einer leichten Steigerung des Schizophrenierisikos führt (Weinberger, 2005), ließ sich in weiteren Studien jedoch nicht durchgängig bestätigen. Weder in der familienbasierten Untersuchung von Fan et al. (2002) noch in der von Tsai et al. (2006) - beide mit chinesischen Probanden – fand sich eine Assoziation zwischen dem COMT-Val^{108/158}Met-Polymorphismus und Schizophrenie. Auch eine bevorzugte Übertragung eines bestimmten Allels von Eltern auf ihre Kinder liess sich nicht zeigen.

Die von Glatt et al. (2003) vorgelegte Metaanalyse von 18 zwischen 1996 und 2002 publizierten Fall-Kontroll- und familienbasierten Studien zur Rolle des Val^{108/158}Met-Polymorphismus bei Schizophrenie bestätigt die Inkonsistenz der Ergebnisse. Nur in zwei der insgesamt 14 Fall-Kontroll-Studien zeigte sich zwischen Patienten und Kontrollen eine signifikante Differenz in der Allel-Frequenz, beide Male im Sinne eines verstärkten Auftretens des Met-Allels in der Patientengruppe, wobei sich für das gepoolte Odds-Ratio über alle Studien kein signifikanter Wert ergab. Im Gegensatz dazu konnte in zwei der insgesamt fünf analysierten Familienuntersuchungen eine signifikant gehäufte Übertragung des Val-Alles von den Eltern auf ihre Betroffenen Nachkommen gefunden werden. Geschichtet nach ethnischer Herkunft zeigte sich in der europäischen Stichprobe, vor allem in den familienbasierten Studien, aber auch in den Fall-Kontroll-Studien, ein stärkerer Zusammenhang zwischen dem Val-Allel und der Gruppe der Schizophrenen. Für einen Einfluss des Polymorphismus auf das Risiko in asiatischen Populationen gab es in beiden Studiendesigns nur geringen Anhalt. Glatt und Kollegen schlussfolgern daraus, dass familienbasierte Untersuchungen für derartige Fragestellungen die präzisere Methode darstellen könnten, da sie das Risiko einer Populationsschichtung vermeiden.

Munafò et al. (2005), deren Metaanalyse sich auf 18 Fall-Kontroll-Studien aus den Jahren 1996 bis einschließlich 2003 bezieht, fanden nur dann einen Zusammenhang zwischen dem Val-Allel und Schizophrenie, wenn alle Fall-Kontroll-Studien in die Metaregressions-Analyse einbezogen wurden. Die Signifikanz verschwand jedoch, wenn nur Studien eingeschlossen wurden, die nicht signifikant vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht abwichen, so dass sich eine Assoziation zwischen dem COMT-Val-Allel

und einem erhöhten Schizophrenierisiko nicht halten ließ. Wie die Arbeitsgruppe um Glatt (2003) sehen aber auch Tsai et al. (2006) aufgrund des bei Fall-Kontroll-Studien erhöhten Risikos von Konfundierungseffekten durch Populationsschichtung familienbasierte Designs als die möglicherweise reliablere Methode zur Testung solcher Zusammenhänge.

1.2.5 Weitere Polymorphismen am COMT-Locus

Eine zunehmend akzeptierte Tatsache ist die des komplexen Zusammenspiels verschiedener genetischer Faktoren bei der Entstehung schizophrener Erkrankungen, was die Suche nach verantwortlichen Genomabschnitten erheblich erschwert (Levinson, 1999) und die Betrachtung mehrerer Polymorphismen und deren Interaktionen notwendig macht (Licinio, 2003). Im Jahr 2002 berichteten Shifman und Mitarbeiter in einer grossen israelischen Fall-Kontroll-Studie einer relativ gut definierten, homogenen Population von über 700 Patienten und 4000 Kontrollpersonen als Erste von einem hoch signifikanten Zusammenhang zwischen Schizophrenie und einem COMT-Haplotypen, der nicht nur den Val^{108/158}Met-Polymorphismus einschloss, sondern zusätzlich zwei nicht kodierende SNPs am Ende des COMT-Gens. Interessanterweise fanden sie einen nur mässigen Zusammenhang zwischen Schizophrenie und dem Val^{108/158}Met-Polymorphismus, aber eine extrem hohe statistische Signifikanz, wenn dieser als Teil eines Haplotypen untersucht wurde, der die SNPs rs737865 (im ersten Intron des MB-COMT-Transkripts) und rs165599 (welches sich neben 3'-UTR befindet) beinhaltete. Der G-G-G Haplotyp (rs4680-rs165599-rs737865) erreichte mit einem p von 9.5×10^{-8} den stärksten Zusammenhang mit Schizophrenie. Eine Erklärung dafür wäre die Existenz von mehr als nur einem funktionellen Polymorphismus, der die Anfälligkeit für Schizophrenie beeinflusst.

Im Gegensatz dazu ermittelten Chen et al. (2004) in einer irischen Population A-G-A (rs4680-rs165599-rs737865) als den risikobehafteten Haplotypen, wogegen Funke et al. (2005) von einer signifikanten Unterrepräsentation des Haplotypen G-A-A-A (rs2097603-rs737865-rs4680-rs165599) in einer Stichprobe von 394 psychotischen Personen berichteten.

In Anlehnung an Shifman et al. (2002) untersuchten Bray et al. (2003) die COMT-Expression des Haplotypen quantitativ mit Hilfe von mRNA aus dem menschlichen Kortex. Die Stichprobe wurde für die SNPs rs737865, rs165599, rs4680 (Val^{108/158}Met-Polymorphismus) und rs4633 genotypisiert, wobei sich SNP rs4680 und rs4633 im Kollektiv (n = 60) in komplettem LD befanden ($D' = 1$; $r^2 = 1$). Rs737865 und rs4680/rs4633 wiesen ein hohes LD auf ($D' = 0.84$; $r^2 = 0.24$), zwischen rs165599 und rs4680/rs4633 war LD weniger stark ausgeprägt ($D' = 0.46$; $r^2 = 0.12$). Die Autoren fanden für den G-G-G-Haplotypen eine niedrigere Expression von COMT-mRNA. Die Studie belegt ausserdem die Transkription von SNP rs165599 im menschlichen Gehirn, sowie signifikante Unterschiede in der Allelexpression; im Vergleich zum A-Allel zeigte das G-Allel (welches in der Studie von Shifman et al. bei Schizophrenen überrepräsentiert war) eine insgesamt signifikant niedrigere Expression.

Die Ergebnisse sprechen somit für eine funktionelle Bedeutung der COMT-Varianten für das menschliche Gehirn. Es ist wahrscheinlich, dass der genannte Haplotyp seine Wirkung dabei durch Herunterregulierung der COMT-Expression erzielt.

Die Arbeitsgruppe um Handoko (2005) untersuchte die vier SNPs in einer hochselektiven Gruppe australisch-kaukasischer Familien mit 107 schizophrenen Patienten. Während rs4680 und rs4633 in nominal signifikantem Zusammenhang mit Schizophrenie standen, war dies für die übrigen einzelnen SNPs nicht der Fall. Anders in der Haplotypenanalyse, wo sich starke Hinweise auf einen Zusammenhang ergaben. Mit einem p von 0.0022 war der A-G-A Haplotyp (rs737865-rs4680-rs165599) der signifikanteste. Konditionsanalysen wiesen dabei auf zwei getrennte und interagierende Effekte innerhalb des Haplotypen hin (einer in strengem LD mit rs737865 und ein weiterer in strengem LD mit rs4633/rs4680). Die Autoren schliessen daraus, dass der Val^{108/158}Met-Polymorphismus selbst nicht krankheitsverursachend ist, aber in starkem Kopplungsungleichgewicht zu einem verursachenden Effekt steht, der mit einer weiteren, bisher unbekanntem Variante ca. 20kb davon entfernt, interagiert. Wie Shifman et al. (2002) fanden auch sie geschlechtsspezifische Effekte. Rs737865 war hauptsächlich bei Frauen, rs4633, rs4680 und rs165599 bei Männern mit Schizophrenie assoziiert. Während der G-C-G-G Haplotyp (rs737865-rs4633-rs4680-rs165599) bei Frauen überzufällig häufig übertragen wurde ($p = 0.0027$), war dies bei den Männern der Haplotyp A-T-A-A ($p = 0.0071$).

Von einem weiteren Haplotypen berichten Li und Kollegen bereits im Jahre 2000 in einer familienbasierten Untersuchung an 198 schizophrenen Patienten und deren Eltern aus Süd-West-China. Sie genotypisierten sechs SNP-Polymorphismen auf dem COMT-Gen sowie zwei Mikrosatellitenmarker auf dem benachbarten ARVCF-Gen und unterzogen sie einer TDT-Analyse (transmission disequilibrium test). Zwischen einem Grossteil der SNP-Marker bestand ein signifikantes Kopplungsungleichgewicht, dagegen nicht zwischen dem Val^{108/158}Met-Polymorphismus und den Mikrosatellitenmarkern, bzw. zwischen den beiden Mikrosatellitenmarkern untereinander. Als signifikant erwies sich die Übertragung der gepaarten SNP-Marker Val^{108/158}Met und rs4633, sowie Val^{108/158}Met und 900Ins/DelC, wobei Haplotypen, welche das Val- und das 900Ins-Allel besaßen, in fast allen Haplotypen auftraten, die gehäuft übertragen wurden. Im Gegensatz dazu waren Met158 und 900DelC vermehrt in den Haplotypen zu finden, die ein Übertragungsdefizit aufwiesen. Da der SNP-Marker rs4818 nicht zur Signifikanz des Multi-Marker-Haplotypen beitrug, könnte der Fünf-Marker-Haplotyp G-C-G-InsC-C (rs2097603-rs4633-rs4680-900Ins/DelC-ARCVF930) in Zusammenhang mit der Übertragung eines schizophrenieempfindlichen Allels stehen.

In einer Folgestudie von Fan et al. (2002) zur Testung der SNP-Marker rs2097603, rs4633, rs4818, rs4680 und 900Ins/DelC an 155 chinesischen Familientrios ließ sich allerdings für keinen der Marker ein signifikantes Übertragungs-Ungleichgewicht finden.

Um die NlaIII-Region zu einem genumfassenden Haplotypen zu erweitern, untersuchten DeMille et al. (2002) an 32 Populationen aus Afrika, Amerika, Süd- und Ostasien, Europa, dem Pazifik und Nordostsibirien (n = 1727) den -1217 HindIII-Polymorphismus am 5'-Ende von COMT, den Bgl-RFLP auf Exon 6 und ein Tetranucleotid-STRP (short tandem repeat polymorphism) in Intron 1. Der HindIII-RSP liegt in der östrogensensitiven P2-Promotor-Region und steuert die Transkription der membrangebundenen COMT-Form. Unabhängig davon, dass der NlaIII-Polymorphismus in den meisten nicht-afrikanischen Populationen mittleres bis starkes Ungleichgewicht aufwies, zeigen die Ergebnisse, dass dieser nicht immer als reliabler Prädiktor der allelischen Variation an den anderen Stellen herangezogen werden kann; bei 15 von 32 Populationen ergab sich bei einem p von ≤ 0.01 kein signifikanter LD-

Wert zwischen dem NlaIII- und HindIII-SNP. Unter den nicht-afrikanischen Populationen mit signifikanten LD war das COMT-L-Allel des NlaIII-SNPs zudem nur unvollständig mit dem Vorhandensein der HindIII-Stelle gekoppelt ($0.35 < |D| < 0.9$).

Auch Palmatier et al. (2004) untersuchten die Häufigkeitsverteilung des von der Arbeitsgruppe um Shifman (2002) berichteten COMT-Haplotypen in 38 weltweit verteilten Populationen. Ihre Ergebnisse zeigen eine signifikant unterschiedliche Auftretenshäufigkeit des schizophreneassoziierten Haplotypen in den einzelnen Populationen und unterstützen die Relevanz des COMT-P2-Promotors für Schizophrenie.

Wie oben bereits erwähnt, wurden auch Mikrosatellitenmarker des COMT-Gens im Rahmen von Kopplungs- oder Assoziationsstudien auf ihren Zusammenhang mit dem Auftreten schizophrener Erkrankungen hin untersucht. Vorteil ist deren höherer Heterozygotitätsgrad. In einer Studie von Varilo et al. (2003) erwiesen sich hochpolymorphe Mikrosatellitenmarker sogar als stärker bei der Ermittlung des LD als einzelne SNPs oder SNP-Haplotypen. Allerdings sind die Ergebnisse auch hier äusserst inkonsistent. Während einige Studien für einen Zusammenhang zwischen dem Marker D22S278 und Schizophrenie sprechen (Polymeropoulos et al., 1994; Moises et al., 1995; Vallada, et al., 1995b; Gill et al., 1996) wurde von anderen Forschungsgruppen eine Assoziation zwischen D22S283 und Schizophrenie berichtet (Vallada et al., 1995a; Shaw et al., 1998; DeLisi et al., 2002). Takahashi et al. (2003) erhielten dagegen signifikante Resultate für D22S683, einem Mikrosatellitenmarker, der sich zwischen D22S278 und D22S283 befindet. Sie vermuten deshalb, dass ein Gen, welches sich im Kopplungsungleichgewicht mit den Markern befindet, die Auftretenswahrscheinlichkeit von Schizophrenie beeinflusst. Eine Assoziationsstudie von Horowitz et al. (2005) untersuchte 15 Mikrosatellitenmarker in einer 600 kb Region beidseits des COMT-Gens. Nur zwei der getesteten Marker (D22S944, BV079567) zeigten mässige Signifikanz für eine Assoziation mit Schizophrenie. Nach der Korrektur für multiple Testung erreichte jedoch keiner der Marker statistische Signifikanz. Zusätzlich benutzten die Autoren die Genotypisierungen aus der Studie von Shifman et al. (2002) um das LD zwischen den Mikrosatellitenmarkern und den schizophreneassoziierten SNPs rs737865, rs4680 und rs165599 zu evaluieren. Auch hier ergab sich nur für D22S944 ein gering signifikantes LD mit den drei SNPs, so dass der Einbezug von

Mikrosatellitenmarkern auf dem COMT-Locus nicht zur Klärung der Datenlage beizutragen scheint.

2 Fragestellung

Nachdem der COMT-Genlocus auf Chromosom 22q11 aufgrund seiner Schlüssel-funktion beim Katecholaminabbau im menschlichen präfrontalen Cortex als starker Marker für die Vorhersagbarkeit schizophrener Störungen diskutiert wird, untersuchten wir fünf SNPs der COMT-Gen-Region hinsichtlich eines Zusammenhangs mit dem Auftreten schizophrener Psychosen.

Fragestellung war, ob sich für eine Gruppe von 459 schizophren erkrankter Personen aus dem deutschsprachigen Raum eine Assoziation zwischen den ausgewählten Polymorphismen und der Erkrankung finden läßt.

Weiterhin wurde untersucht, ob die Zuordnung dieser Personen zu den von Leonhard vorgeschlagenen Formen und Unterformen zu einem gehäuften Auftreten einzelner oder mehrerer Polymorphismen in diesen Gruppen und Subgruppen führt.

Neben einer getrennten Betrachtung männlicher und weiblicher Untersuchungs-teilnehmer wurde auch die Allel- und Genotypverteilung der SNPs bei den sporadisch bedingten Schizophrenien im Vergleich zu den familiär gehäuft auftretenden Schizophrenien untersucht.

Letztendlich veranlaßten uns die bisher publizierten Untersuchungen anderer Forscher-gruppen zu der Fragestellung, ob sich auch in einer deutschen Population für die Gesamtgruppe der Schizophrenen oder für nach Leonhard klassifizierte klinische Phänotypen Haplotypen ermitteln lassen, die als risikorelevant erachtet werden können.

3 Material und Methoden

Die in der Untersuchung verwendeten Geräte und Chemikalien sind in Tab. 3 des Anhangs aufgeführt.

Die Fall-Kontroll-Assoziationsstudie basiert auf 459 Indexfällen, die die DSM IV-Kriterien (American Psychiatric Association) für Schizophrenie erfüllen, sowie auf 150 Blutspendekontrollen. Von beiden Gruppen wurde die Genotypverteilung der fünf systematisch ausgewählten Polymorphismen im Bereich des COMT-Gens mittels PCR und RFLP-Gelelektrophorese bestimmt. Anschliessend wurden die beobachteten Genotyp- und Allelverteilungen für die einzelnen Polymorphismen statistisch ermittelt und Haplotypanalysen durchgeführt.

3.1 Auswahl des Patientenkollektivs

Als Stichprobe wurden Patienten aus dem Krankengut der Klinik für Psychiatrie der Universität Würzburg herangezogen. Die diagnostische Einschätzung erfolgte anhand der DSM IV-Kriterien für schizophrene Psychosen der American Psychiatric Association. Von den insgesamt 459 Patienten erfüllten 142 die Einschlusskriterien für die Gruppe der systematischen Schizophrenien, 170 für die Gruppe der unsystematischen Schizophrenien und 147 Personen für die der zykliden Psychosen. Die Indexfälle hatten zum Zeitpunkt der Ersthospitalisation ein mittleres Alter von 28.0 Jahren (SD 10.4) und bei Rekrutierung ein Alter von durchschnittlich 37.8 Jahren (SD 13.3). In 20 % der Fälle befand sich ein weiterer Verwandter ersten Grades aufgrund einer Psychose in stationärer Behandlung (Tab. 3.1.1).

Tab. 3.1.1: Alter bei Ersthospitalisierung in der Gesamtstichprobe und den diagnostischen Untergruppen, getrennt nach Geschlecht

	Geschlecht	Anzahl	Alter bei Ersthospitalisierung		Familienanamnese	
			M ¹	SD ²	Positiv (%)	Negativ (%)
Gesamt	Frauen	120	29.6	11.7	23 (19.2)	97 (80.8)
	Männer	339	27.4	9.9	69 (20.4)	270 (79.7)
	Gesamt	459	28.0	10.4	92 (20.1)	367 (80.0)
Zykloide Psychosen	Frauen	53	28.7	11.2	8 (15.1)	45 (84.9)
	Männer	94	26.6	7.9	7 (7.5)	87 (92.6)
	Gesamt	147	27.3	9.2	15 (10.2)	132 (89.8)
Unsystematische Schizophrenien	Frauen	39	35.3	13.0	12 (30.8)	27 (69.2)
	Männer	130	30.8	11.1	56 (43.1)	74 (56.9)
	Gesamt	169	31.8	11.7	68 (40.2)	101 (59.8)
Systematische Schizophrenien	Frauen	26	23.4	5.6	1 (3.9)	25 (96.2)
	Männer	115	24.3	8.8	6 (5.2)	109 (94.8)
	Gesamt	141	24.1	8.3	7 (5.0)	134 (95.0)

¹ M: Mittelwert; ² SD: Standardabweichung

Die Kontrollpersonen (n= 150; 87 Männer) wurden bei einem durchschnittlichen Alter von 29.2 Jahren (SD 8.9) über das Blutspendezentrum der Universität Würzburg rekrutiert. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universität Würzburg genehmigt. Alle Probanden wurden schriftlich über die Untersuchung aufgeklärt und erteilten in schriftlicher Form ihr Einverständnis.

3.2 Auswahl der SNPs

Die Auswahl der SNPs erfolgte anhand der öffentlichen Datenbanken UCSC und dbSNP Home Page. Einschlusskriterium war eine MAF (minor allele frequency) von über 0.3. Da sich die SNPs rs769223 (Exon 4), rs769224 (Exon 5) und rs165631 (Exon 5) in einer Screeningstichprobe von 46 deutschen Kontrollpersonen als nicht polymorph erwiesen, wurden diese aus weiteren Analysen ausgeschlossen und die SNP rs2097603 (5'-UTR), rs740603 (Intron 1), rs4818 (Exon 4) und rs4680 (aktualisierter dbSNP ID des ehemaligen rs165688, Exon 4) und rs165599 (3'-UTR) ausgewählt.

3.3 DNA-Extraktion

Zur DNA-Analyse wurde allen Probanden EDTA-Blut entnommen. Erster Schritt zur Aufreinigung der DNA stellt die Präparation der Leukozyten dar. Dazu wurde das in EDTA-Lösung befindliche Blut in ein 50 ml Eppendorfröhrchen gebracht, zur Lyse der Erythrozyten mit Lysispuffer auf 40 ml aufgefüllt und für 10 Minuten in Eis gekühlt. Durch Zentrifugation bei 4 °C und 1500 rpm über 15 Minuten wurden die Erythrozytenbestandteile von den verbliebenen Zellen getrennt. Der Überstand wurde verworfen und das Zentrifugat für 10 Minuten luftgetrocknet. Zum Aufschluss der Leukozyten wurde dem Überstand anschließend 500 µl Pronase, 10 ml Kernlysispuffer und 660 µl 10 % SDS zugefügt und die Lösung bei 37 °C für 12 Stunden im Wasserbad inkubiert. Zum Ausfällen der Proteine wurde der Ansatz nach Zugabe von 3,5 ml 6 M NaCl vermischt und erneut zentrifugiert (über 20 Minuten bei Raumtemperatur und 4000 rpm). Der Überstand wurde in Eppendorfröhrchen gefüllt, der Bodensatz verworfen. Danach wurde der Überstand mit 70 % Isopropanol auf 25 ml aufgefüllt und die DNA zur Ausfällung gebracht. Die DNA-Pelets wurden schliesslich mittels einer Glas-Pipette in ein NUNC-Röhrchen gebracht, in 500 µl TE⁻⁴ gelöst und drei Tage mittels Schüttler durchmischt. Für die weitere Verwendung wurde die gelöste DNA tiefgekühlt aufbewahrt. Die Reinheit der DNA wurde mit Hilfe eines Spektrometers bestimmt.

3.4 Bestimmung der Genotyp- und Allelverteilungen der SNPs

3.4.1 Polymerasekettenreaktion

Die Polymerasekettenreaktion ist ein Verfahren zur direkten Amplifizierung kurzer Genomabschnitte. Durch neu entwickelte Modifikationen, wie die Verwendung einer DNA-Polymerase aus einem thermophilen Bakterium, ist es mittlerweile möglich, eine bestimmte Sequenz in 25 Zyklen um den Faktor 4×10^6 zu vervielfachen (Lewin, 2002).

Pro Primerpaar wurde für jede DNA-Probe der insgesamt 601 Probanden eine PCR durchgeführt. Dazu wurden 40 ng (4 µl) genomische DNA und 21 µl MasterMix-Ansatz

unter Eiskühlung in einen der PCR 8er-Soft- und Capstrips gegeben, zentrifugiert und im Thermocycler unter definierten Bedingungen zur Reaktion gebracht. Der MasterMix setzte sich aus 200 μM jedes dNTP, 0,5 U Taq-DNA-Polymerase, je 20 pmol Vorwärts- und Rückwärtsprimer, 75 mM Tris-HCL (pH 8.8 bei 25 °C), 20 mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.01 % (v/v) Tween 20 und 1.5 mM Magnesiumchlorid zusammen. Zur Auftrennung der zu amplifizierenden Genabschnitte in Einzelstränge startete die PCR mit einer Denaturierungsphase von 5 Minuten bei 95 °C, gefolgt von einer 30sekündigen Denaturierung bei 94 °C. Nach einer 30sekündigen Abkühlung auf 57 °C und Hybridisierung mit den Oligonucleotiden schloss sich die Elongationsphase zur DNA-Synthese mittels Taq-Polymerase und den vier Desoxyribonucleotid-Triphosphaten an. Sie erfolgte in 30 Sekunden bei 72 °C. Dieser Zyklus wurde insgesamt 36 mal durchlaufen. Mit der abschliessenden 7minütigen Extension bei 72 °C wurde das Programm beendet und das PCR-Produkt auf 4 °C abgekühlt.

Die erfolgreiche Amplifizierung der DNA-Abschnitte wurde mit Gelelektrophorese überprüft.

3.4.2 RFLP-Gelelektrophorese

Das Prinzip der RFLP-Analyse besteht in der Herstellung unterschiedlich grosser DNA-Fragmente mittels Restriktionsenzymen, die spezifische Sequenzen von Nukleotiden erkennen und die DNA je nach Vorhandensein dieser Schnittstellen in Fragmente unterschiedlicher Grösse schneiden. Die Länge eines Restriktionsfragments wird durch Mutationen beeinflusst, bei denen eine Erkennungssequenz für ein Restriktionsenzym entsteht oder verloren geht. Das Verfahren ermöglicht somit die Erkennung veränderter Basenabfolgen bekannter DNA-Abschnitte und folglich die Bestimmung der Verteilungsmuster der Polymorphismen im Patienten- und Kontrollkollektiv.

Nach erfolgreicher Amplifizierung wurde dazu für jedes Enzym ein Verdauansatz hergestellt, in einem Capstrip mit einer definierten Menge PCR-Produkt vermischt und für einige Stunden bei der für das jeweilige Enzym vorgegebenen optimalen Temperatur im Wärmeschrank inkubiert. Die eingesetzten Enzymkonzentrationen, deren Restriktionsschnittstellen sowie die jeweils zugefügten Mengen an PCR-Produkt sind

Tab. 3.4.2.1 zu entnehmen. Pro Ansatz wurden 1.5 µl des zugehörigen NEB-Puffers, für PmlI und NlaIII zusätzlich 0.15 µl BSA zugefügt und bei einberechneter PCR-Produkt-Menge mit doppeltdestilliertem Wasser auf 15 µl aufgefüllt.

Tab. 3.4.2.1: Enzymkonzentrationen und Restriktionsschnittstellen der eingesetzten Restriktionsenzyme sowie Menge an zugefügtem PCR-Produkt

Enzym	Enzymkonzentration (units/ml)	PCR-Produktmenge (µl)	Restriktionsschnittstelle
HindIII	20000	5	▼ 5'... AAGCTT ...3' 3'... TTCGAA ...5' ▲
PmlI	20000	1	▼ 5'... CACGTG ...3' 3'... GTGCAC ...5' ▲
BclI	15000	5	▼ 5'... TGATCA ...3' 3'... ACTAGT ...5' ▲
NlaIII	10000	2	▼ 5'... CATG ...3' 3'... GTAC ...5' ▲
MspI	20000	5	▼ 5'... CCGG ...3' 3'... GGCC ...5' ▲

Zur Herstellung der RFLP-Gele wurden pro Gel 18,75 ml 10 % PAA mit 178,5 µl APS unter einem Abzug gemischt, zwischen die dafür vorgesehenen Glasplatten gegossen, mit den zugehörigen Kämmen bestückt und trocknen lassen.

Im Anschluss an den Verdau wurden die Gelkammern und einzelnen Proben zur Gel-Elektrophorese vorbereitet. Dazu wurden die Kammern mit 5 x TBE-Puffer gefüllt, je zwei der zwischen Glasplatten befindlichen Gele eingesetzt und je eine der Taschen mit 7 µl einer 100 bp Leiter versehen. Daraufhin wurde in die freien Taschen eine Mischung aus 5 µl Verdauprodukt und 5 µl Blau-Puffer eingebracht und die Elektrophorese bei einer Spannung von 15V/cm gestartet.

Zur Darstellung der Banden wurden die RFLP-Gele nach ca. 2 Stunden aus den Kammern entfernt und einer Silbernitratfärbung unterzogen. Dazu wurden jeweils 4 Gele für 10 Minuten in 300 ml 10 %iges Ethanol gelegt, danach für 5 Minuten in 300 ml 1 %iger Salpetersäure und anschliessend für 20 Minuten in einer Mischung aus 300 ml Silbernitrat und 300 µl 37 %ige Formaldehydlösung geschwenkt. Zum Auswaschen der Silbernitratlösung wurden die Gele mehrfach in einfachdestilliertem Wasser geschwenkt, um die entstandenen Banden danach in einer Lösung aus Natriumbicarbonat (75 g in 2,5 l ddH₂O) und Formaldehyd (3 Mal 300 ml Natriumbicarbonat plus 300 µl Formaldehyd) sichtbar zu machen. Am Ende des Färbevorgangs wurden die Gele in 10 %iger Essigsäure fixiert, auf Gel-Blotting-Papier gelegt und für 3 Stunden bei 78 °C auf dem Geltrockner getrocknet.

Zur Auswertung wurden entsprechend der Tabelle 3.4.2.2 die Bandenmuster aller Probanden kodiert. Dabei entspricht 11 dem Wildtyp, 12 den heterozygoten Individuen und 22 den homozygoten Mutanten. Die Tabelle enthält die für Wildtyp und Mutante zu erwartenden Fragmentlängen der eingesetzten Verdauenzymen.

Tab. 3.4.2.2: Fragmentlängen der mit den Restriktionsenzymen erzeugten Bandenmuster für Wildtyp und Mutante

Enzym	DNA-Fragmentlängen (bp)	
	Wildtyp (11)	Mutante (22)
HindIII	96 108	204
PmlI	63 128	191
BclI	115 184	299
NlaIII	18 26 29 96	26 29 114
MspI	218	54 164

4 Auswertung

Die statistische Auswertung umfasste eine Prüfung der Fälle und Kontrollen auf Hardy-Weinberg-Gleichgewicht, einen Vergleich der beobachteten Genotyp- und Allelverteilungen für die einzelnen Polymorphismen, sowie die Ermittlung des paarweisen Kopplungsungleichgewichts der SNPs bei Fall- und Kontrollgruppe. Weiterhin wurden Maximum-Likelihood-Schätzungen für die Haplotypanalyse durchgeführt.

Für den Vergleich der Allel- und Genotypverteilungen zwischen Fällen und Kontrollen wurde Fisher's exakter Test und der Trend Test von Armitage herangezogen. Die Signifikanz-Berechnungen für den Armitage Trend Test basierten dabei auf den von Jackson et al. (2002) beschriebenen Näherungen. Verglichen wurden jeweils die Allel- und Genotyphäufigkeiten der Gesamtgruppe der Indexfälle sowie der einzelnen Untergruppen der Leonhard-Klassifikation (zykloide Psychosen, unsystematische Schizophrenien und systematische Schizophrenien) mit denen der Kontrollen getrennt nach Geschlecht. Neben den P-Werten für den Genotyp- und Allelvergleich, wurden auch die P-Werte der χ^2 -Tests für die Vierfeldertafeln ermittelt, die man durch Zusammenlegung der Genotypen A/G und A/A bzw. durch Zusammenlegung der Genotypen G/G und A/G erhält.

Zusätzlich wurde ein Vergleich von Männer und Frauen, der sporadischen und familiär auftretenden Krankheitsbilder, sowie der schizophrenen Unterformen innerhalb der Indexfälle vorgenommen.

Die Schätzung der Haplotyphäufigkeiten und die Berechnung des paarweisen Kopplungsungleichgewichts wurde mit dem Programm FAMHAP (Becker & Knapp, 2004) durchgeführt. Das Programm ermöglicht für alle möglichen Markerkombinationen ($2^5 - 1 = 31$) einen Vergleich der Haplotypfrequenzen von Fällen und Kontrollen (Becker et al., 2005). Unter Annahme der Nullhypothese, dass keine der Markerkombinationen eine Assoziation zur Krankheit aufweist, wurde für jede Markerkombination durch 100.000fache Replikation der beobachteten Daten ein unkorrigierter und ein für multiple Vergleiche korrigierter p-Wert ermittelt. Zusätzlich

wurden für die auffälligsten Markerkombinationen („beste Kombination“) und den auffälligsten Marker die unkorrigierten P-Werte berechnet.

5 Ergebnisse

Um den Zusammenhang zwischen dem COMT-Gen-Locus und Schizophrenie zu überprüfen, untersuchten wir fünf die COMT-Region umspannende SNPs bei 459 Schizophrenen und 150 Kontrollpersonen (siehe Abb. 2).

5.1 Einzelmarkeranalyse und LD-Struktur

Mit Ausnahme von SNP5 sind alle Forderungen nach Unabhängigkeit der Allelkombinationen erfüllt, in den ersten vier SNPs somit Genotyp-Verteilungen, wie sie nach dem Hardy-Weinberg-Gesetz für in sich geschlossene Populationen zu erwarten sind (Tab. 5.1.1 im Anhang). Genlocus SNP5 weist mit einem p von 0.0008 eine hochsignifikante Häufung heterozygoter Individuen in der Fallgruppe auf.

Unter den Kontrollen (Tab. 5.1.2 im Anhang) befanden sich die SNPs in einem mässigen paarweisen Kopplungsungleichgewicht (LD) mit $D' = 0.17$ zwischen rs4818 und rs165599 und $D' = 0.70$ zwischen rs2097603 und rs740603. Rs4818 und rs4680, die, 64 Basenpaare voneinander entfernt, beide auf Exon 4 lokalisiert sind, waren in annähernd vollständigem LD ($D' = 0.96$).

Ein ähnliches Ergebnis zeigte sich bei den Index-Fällen (Tab. 5.1.3 im Anhang). Hier lag das paarweise Kopplungsungleichgewicht zwischen rs4818 und rs165599 bei $D' = .20$ und zwischen rs2097603 und rs740603 bei $D' = 0.58$. Das höchste LD ergab sich für rs4818 und rs4680 mit einem D' von 0.81.

Als stärkster Marker beim Vergleich der Gesamtstichprobe der Schizophrenen mit den Kontrollen (Tab. 5.1.4) präsentierte sich rs 740603. Für den auf Intron 1 lokalisierten Marker ergab sich in der Allel- ($p_{\text{Allel}} = 0.0071$) wie auch in der Genotypverteilung ($p_{\text{Genotyp}} = 0.0053$) ein signifikanter Zusammenhang zwischen schizophrenen Psychosen und Allel bzw. Genotyp.

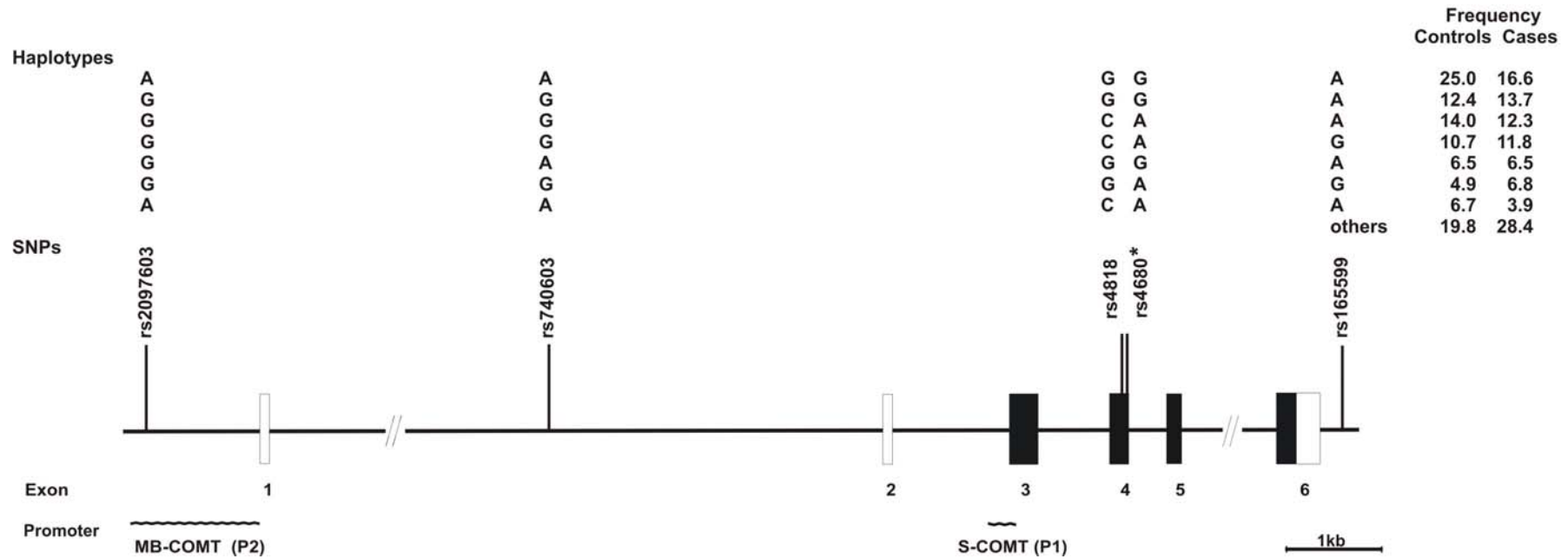


Abb. 2: Lokalisation der untersuchten SNPs auf dem COMT-Gen-Locus von Chromosom 22q11 und geschätzte Haplotyphäufigkeiten von beobachteten schizophrenen Patienten und Kontrollpersonen (schwarze Balken: Exons; weiße Balken: Nichttranslatierte Exons und 3'-UTR; die mutmaßlichen Promotorregionen von P1 und P2 sind durch eine Wellenlinie dargestellt).

*dbSNP rs4680 (G/A) kodiert die Val^{108/158}Met-Substitution.

Abstände sind in exaktem Verhältnis wiedergegeben, mit Ausnahme von Intron 1 mit einer Spanne von 19.3 kb und Intron 5 mit 4.2 kb.

Die geschätzten Haplotyphäufigkeiten für Fälle (n = 459) und Kontrollen (n = 150) sind für die sieben häufigsten Haplotypen angegeben (> 5 % bei Fällen und Kontrollen).

Tab. 5.1.4: Allel- und Genotypverteilung bei Schizophrenen (n = 459) und Kontrollen (n = 150)

SNP		Allel		p-Wert ¹	Genotyp			p-Wert ²	HWE ³
		1	2		11	12	22		
rs2097603	Fälle	332 (36.17%)	586 (63.83%)	0.0744	67 (14.60%)	198 (43.14%)	194 (42.27%)	0.0729	0.15906
	Kontrollen	126 (42.00%)	174 (58.00%)		22 (14.67%)	82 (54.67%)	46 (30.67%)		
rs740603	Fälle	373 (40.63%)	545 (59.37%)	0.0071	73 (15.90%)	227 (49.46%)	159 (34.64%)	0.0053	0.59086
	Kontrollen	149 (49.67%)	151 (50.33%)		34 (22.67%)	81 (54.00%)	35 (23.33%)		
rs4818	Fälle	359 (39.11%)	559 (60.89%)	0.7850	50 (10.89%)	259 (56.43%)	150 (32.68%)	0.7153	0.00008
	Kontrollen	114 (38.00%)	186 (62.00%)		24 (16.00%)	66 (44.00%)	60 (40.00%)		
rs4680	Fälle	457 (49.78%)	461 (50.22%)	0.8943	106 (23.09%)	245 (53.38%)	108 (23.53%)	0.8630	0.14779
	Kontrollen	151 (50.33%)	149 (49.67%)		34 (22.67%)	83 (55.33%)	33 (22.00%)		
rs165599	Fälle	634 (69.06%)	284 (30.94%)	0.1098	212 (46.19%)	210 (45.75%)	37 (8.06%)	0.0909	0.13003
	Kontrollen	222 (74.00%)	78 (26.00%)		79 (52.67%)	64 (42.67%)	7 (4.67%)		

¹ Fisher's Exakter Test; ² Armitage's Trend Test; ³ HWE: Hardy-Weinberg-Gleichgewicht

In Tabelle 5.1.5 sind, analog der Tabelle bei Shifman et al. (2002), die Einzelmarkeranalysen für die 5 SNPs zusammengefasst. Ausser den χ^2 -Werten für den Allel- und Genotypvergleich sind die P-Werte der χ^2 -Tests aufgeführt, die man durch Zusammenlegung der Genotypen A/G und A/A („G/G“) bzw. der Genotypen G/G und A/G („G/G, A/G“) erhält. Der stärkste Zusammenhang ergab sich auch hier für den Marker rs740603, mit einem p von 0.0099 (OR 1.74; 95 % CI 1.14-2.66, Tab. 5.1.6) unter Annahme eines rezessiven Modells (G/G versus A/G und A/A).

Der getrennte Vergleich beider Geschlechter zeigt, dass dies nur für die männlichen Studienteilnehmer (339 Fälle, 63 Kontrollen) zutrifft ($p_{\text{Allel}} = 0.0100$, $p_{\text{Genotyp}} = 0.0083$, Tab. 5.1.7), in der 120 Personen umfassenden Gruppe der Frauen mit schizophrener Psychose und den 63 weiblichen Kontrollen erreichte rs740603 keine Signifikanz (Tab. 5.1.8). Entsprechend den Ergebnissen des Allel- und Genotypvergleichs fand sich dieser Effekt auch unter Annahme eines rezessiven Modells mit einem $p = 0.0021$ (OR 2.46; 95 % CI 1.37-4.43, Tab. 5.1.5 und 5.1.6) nur in der männlichen Stichprobe.

Tab. 5.1.5: Allel- und Genotypverteilung, P-Werte (alle Schizophrenien)

Häufigkeit (%)														
SNP	Stichprobe		G		G/G		A/G ^a		A/A ^b		P ¹			
	Kontr	Fälle	Kontr	Fälle	Kontr	Fälle	Kontr	Fälle	Kontr	Fälle	Genotyp	Allel	G/G	G/G, A/G ^a
rs2097603														
Frauen	63	120	59.5	63.3	30.2	43.3	58.7	40.0	11.1	16.7	.054	.48	.082	.31
Männer	87	339	56.9	64.0	31.0	41.9	51.7	44.2	17.2	13.9	.18	.084	.065	.43
Gesamt	150	459	58.0	63.8	30.7	42.3	54.7	43.1	14.7	14.6	.028	.070	.012	.98
rs740603														
Frauen	63	120	52.4	58.3	30.2	31.7	44.4	53.3	25.4	15.0	.21	.28	.83	.086
Männer	87	339	48.9	59.7	18.4	35.7	60.9	48.1	20.7	16.2	.0086	.0096	.0021	.32
Gesamt	150	459	50.3	59.4	23.3	34.6	54.0	49.5	22.7	15.9	.019	.0060	.0099	.059
rs4818														
Frauen	63	120	63.5	60.8	42.9	31.7	41.3	58.3	15.9	10.0	.085	.62	.13	.25
Männer	87	339	60.9	60.9	37.9	33.0	46.0	55.8	16.1	11.2	.22	1.0	.39	.21
Gesamt	150	459	62.0	60.9	40.0	32.7	44.0	56.4	16.0	10.9	.024	.73	.10	.097
rs4680														
Frauen	63	120	49.2	53.8	20.6	24.2	57.1	59.2	22.2	16.7	.63	.41	.59	.36
Männer	87	339	51.1	48.4	24.1	22.7	54.0	51.3	21.8	26.0	.73	.51	.78	.43
Gesamt	150	459	50.3	49.8	22.7	23.1	55.3	53.4	22.0	23.5	.90	.87	.91	.70
rs165599														
Frauen	63	120	19.0	34.6	3.2	9.2	31.7	50.8	65.1	40.0	.0044	.0019	.13	.0013
Männer	87	339	31.0	29.6	5.7	7.7	50.6	44.0	43.7	48.4	.51	.72	.54	.43
Gesamt	150	459	26.0	30.9	4.7	8.1	42.7	45.8	52.7	46.2	.22	.10	.16	.17

^a C/G für rs4818; ^b C/C für rs4818; ¹ χ^2 -Test

Tab. 5.1.6: Odds ratios (OR) und 95 %-Konfidenzintervalle (CI) (alle Schizophrenien)

SNP	G/G vs. A/G ^a , A/A ^b		G/G, A/G ^a vs. A/A ^b	
	OR	95 % CI	OR	95 % CI
rs2097603				
Frauen	1.77	0.93-3.39	0.63	0.25-1.57
Männer	1.60	0.97-2.65	1.29	0.25-1.57
Gesamt	1.66	1.12-2.45	1.01	0.69-2.44
rs740603				
Frauen	1.07	0.55-2.08	1.93	0.90-4.11
Männer	2.46	1.37-4.43	1.35	0.74-2.44
Gesamt	1.74	1.14-2.66	1.55	0.98-2.45
rs4818				
Frauen	0.62	0.33-1.16	1.70	0.69-4.18
Männer	0.81	0.50-1.32	1.52	0.78-2.95
Gesamt	0.73	0.50-1.07	1.56	0.92-2.64
rs4680				
Frauen	1.23	0.59-2.57	1.43	0.67-3.07
Männer	0.92	0.53-1.61	0.80	0.45-1.40
Gesamt	1.02	0.66-1.59	0.92	0.59-1.43
rs165599				
Frauen	3.08	0.66-14.34	2.80	1.48-5.27
Männer	1.36	0.51-3.66	0.83	0.52-1.33
Gesamt	1.79	0.78-4.11	1.30	0.90-1.88

^a C/G für rs4818; ^b C/C für rs4818

Tab. 5.1.7: Vergleich der Allel- und Genotypverteilung bei den männlichen Schizophrenen (n = 339) und männlichen Kontrollen (n = 87)

SNP		Allel		p-Wert ¹	Genotyp			p-Wert ²
		1	2		11	12	22	
rs2097603	Fälle	244 (35.99%)	434 (64.01%)	0.0952	47 (13.86%)	150 (44.25%)	142 (41.89%)	0.0872
	Kontrollen	75 (43.10%)	99 (56.90%)		15 (17.24%)	45 (51.72%)	27 (31.03%)	
rs740603	Fälle	273 (40.27%)	405 (59.73%)	0.0100	55 (16.22%)	163 (48.08%)	121 (35.69%)	0.0083
	Kontrollen	89 (51.15%)	85 (48.85%)		18 (20.69%)	53 (60.92%)	16 (18.39%)	
rs4818	Fälle	265 (39.09%)	413 (60.91%)	1.0000	38 (11.21%)	189 (55.75%)	112 (33.04%)	0.9990
	Kontrollen	68 (39.08%)	106 (60.92%)		14 (16.09%)	40 (45.98%)	33 (37.93%)	
rs4680	Fälle	328 (48.38%)	350 (51.62%)	0.5521	77 (22.71%)	174 (51.33%)	88 (25.96%)	0.5059
	Kontrollen	89 (51.15%)	85 (48.85%)		21 (24.14%)	47 (54.02%)	19 (21.84%)	
rs165599	Fälle	477 (70.35%)	201 (29.65%)	0.7116	164 (48.38%)	149 (43.95%)	26 (7.67%)	0.7099
	Kontrollen	120 (68.97%)	54 (31.03%)		38 (43.68%)	44 (50.57%)	5 (5.75%)	

¹ Fisher's Exakter Test; ² Armitage's Trend Test

Tab. 5.1.8: Vergleich der Allel- und Genotypverteilung bei den weiblichen Schizophrenen (n = 120) and weiblichen Kontrollen (n = 63)

SNP		Allel		p-Wert ¹	Genotyp			p-Wert ²
		1	2		11	12	22	
rs2097603	Fälle	88 (36.67%)	152 (63.33%)	0.4977	20 (16.67%)	48 (40.00%)	52 (43.33%)	0.4786
	Kontrollen	51 (40.48%)	75 (59.52%)		7 (11.11%)	37 (58.73%)	19 (30.16%)	
rs740603	Fälle	100 (41.67%)	140 (58.33%)	0.3183	18 (15.00%)	64 (53.33%)	38 (31.67%)	0.2701
	Kontrollen	60 (47.62%)	66 (52.38%)		16 (25.40%)	28 (44.44%)	19 (30.16%)	
rs4818	Fälle	94 (39.17%)	146 (60.83%)	0.6518	12 (10.00%)	70 (58.33%)	38 (31.67%)	0.5980
	Kontrollen	46 (36.51%)	80 (63.49%)		10 (15.87%)	26 (41.27%)	27 (42.86%)	
rs4680	Fälle	129 (53.75%)	111 (46.25%)	0.4415	29 (24.17%)	71 (59.17%)	20 (16.67%)	0.3637
	Kontrollen	62 (49.21%)	64 (50.79%)		13 (20.63%)	36 (57.14%)	14 (22.22%)	
rs165599	Fälle	157 (65.42%)	83 (34.58%)	0.0024	48 (40.00%)	61 (50.83%)	11 (9.17%)	0.0013
	Kontrollen	102 (80.95%)	24 (19.05%)		41 (65.08%)	20 (31.75%)	2 (3.17%)	

¹ Fisher's Exakter Test; ² Armitage's Trend Test

Der Polymorphismus weist vor allem in der Untergruppe der zykliden Psychosen ($p_{\text{Allel}} = 0.0105$, $p_{\text{Genotyp}} = 0.0067$) und der systematischen Schizophrenien ($p_{\text{Allel}} = 0.0197$, $p_{\text{Genotyp}} = 0.0124$) signifikante Unterschiede in der Allel- und Genotypverteilung auf, in der Gruppe der unsystematischen Schizophrenien erreichte er keine Signifikanz (Tab. 5.1.9, 5.1.10 und 5.1.11 im Anhang). Bei den zykliden Psychosen lies sich unter Annahme eines dominanten Modells ein hoch signifikanter Effekt mit einem p vom 0.0014 (OR 8.68; 95 % CI 1.89-39.79) in der weiblichen Stichprobe finden (Tab. 5.1.12 und 5.1.13 im Anhang), der Vergleich des Genotypen G/G mit A/G und A/A ($p = 0.042$; OR 1.69; 95 % CI 1.02-2.82) erreichte vor allem unter den Männern Signifikanz ($p = 0.025$; OR 2.18; CI 95 % 1.09-4.36). Auch in der Gruppe der unsystematischen Schizophrenien (Tab. 5.1.14 und 5.1.15 im Anhang) ergab sich für rs740603 bei rezessivem Modell ein signifikanter Zusammenhang ($p = 0.015$; OR 1.84; 95 % CI 1.13-3.01), der in der männlichen Stichprobe hohe Signifikanz erreichte ($p = 0.0016$; OR 2.77; 95 % CI 1.45-5.30). Bei den systematischen Schizophrenien (Tab. 5.1.16 und 5.1.17 im Anhang) kam es durch Zusammenlegung der Genotypen G/A und A/A zu einem schwachen Zusammenhang ($p = .047$; OR 1.68; 95 % CI 1.00-2.80) der nur in der männlichen Gruppe signifikant wurde ($p = 0.01$; OR 2.37; 95 % CI 1.22-4.60).

Im Gegensatz dazu, erhielten wir für den vieldiskutierten Val^{108/158}Met-Polymorphismus (rs4680) kein positives Ergebnis (Tab. 5.1.4, 5.1.5 und 5.1.6). Weder die Testung des Genotypen G/G (welcher für das hoch aktive Protein kodiert) gegen die Genotypen A/G und A/A ($p = 0.91$; OR 1.02; 95 % CI 0.66-1.59), noch der Vergleich der Genotypen G/G und A/G gegen A/A im dominanten Modell ($p = 0.70$; OR 0.92; 95 % CI 0.59-1.43) ergab einen Zusammenhang zwischen schizophrenen Psychosen und untersuchtem genetischen Marker.

Unter der Annahme, dass das krankheitsassoziierte Allel eine Populationshäufigkeit von 0.5 besitzt und ein dominanter Effekt des Allels mit einem relativen Risiko von 2.4 sowie eine Krankheitsprävalenz von 1 % vorliegt, besaß unsere Stichprobe bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 0.05$ eine Stärke von 80% eine Assoziation zu entdecken.

Exon 6 (rs165599) zeigte dagegen einen hoch signifikanten, auf die Gruppe der Frauen beschränkten Zusammenhang in der Genotyp- und Allelverteilung ($p_{\text{Allel}} = 0.0024$, $p_{\text{Genotyp}} = 0.0013$, Tab. 5.1.8), der unter der Annahme eines dominanten Modells ein p von 0.0013 (OR 2.80; 95 % CI 1.48-5.27) erreichte (Tab. 5.1.5). In der Gruppe der Frauen mit zykliden Psychosen (Tabelle 5.1.12 und 5.1.13 im Anhang) führte die Zusammenlegung der Genotypen G/G und A/G zu einen signifikanten Effekt mit einem p von .0033 (OR 3.08; 95% CI 1.44-6.57), die Zusammenlegung der Genotypen A/G und AA wurde ebenfalls signifikant, allerdings mit einem p von nur .044 (OR 4.64; 95 % CI 0.92-23.39). Bei getrennter Betrachtung der systematischen Schizophrenien (Tabelle 5.1.16 und 5.1.17 im Anhang) kam es unter Annahme eines rezessiven Modells ebenfalls zu einem auf die Gruppe der Frauen beschränkten Effekt mit einem $p = .042$ (OR 5.30; 95 % CI 0.91-30.95) im rezessiven, sowie einem $p = 0.002$ (OR 4.43; 95 % CI 1.67-11.73) im dominanten Modell.

Bei dem in der MB-COMT-Promotor-Region lokalisierten Marker rs2097603 ergab sich nur für den homozygoten Genotypen G/G ein schwacher Zusammenhang mit der Erkrankung ($p = 0.012$; OR 1.66; 95 % CI 1.12-2.45, Tab. 5.1.5). Bei getrennter Betrachtung der Untergruppen ließ sich für die zykliden Psychosen unter Annahme eines rezessiven Modells ein signifikanter Effekt mit einem $p = 0.011$ (OR 1.84; 95 % CI 1.15-2.96, Tab. 5.1.12 und 5.1.13 im Anhang) ermitteln, bei den unsystematischen Schizophrenien zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang mit einem $p = 0.0333$ in der Allel- und $p = 0.0232$ in der Genotypverteilung (Tabelle 5.1.11 im Anhang). Der Vergleich der Genotypen G/G versus A/G und A/A im rezessiven Modell führte zu einem p von 0.013 (OR 1.78; 95 % CI 1.13-2.83; Tab. 5.1.14 und 5.1.15 im Anhang).

Für den SNP rs4818 kam es lediglich in der Gruppe der Frauen mit zyklider Psychose zu einem schwach signifikanten Effekt für den Genotypen G/G vs. A/G und A/A ($p = .022$; OR 0.39; 95 % CI 0.17-0.88, Tab. 5.1.12 und 5.1.13 im Anhang).

Zwischen den Untergruppen, zwischen den Geschlechtern sowie zwischen den sporadisch und familiär aufgetretenen Schizophrenien war die Allel- und

Genotyphäufigkeit für keinen der SNPs signifikant unterschiedlich (Tab. 5.1.18, 5.1.19 und 5.1.20 im Anhang).

5.2 Haplotypanalysen

Die Maximum-Likelihood-Schätzung von 5-Locus-Haplotypen ergab für 29 der 31 theoretisch möglichen Haplotypen eine geschätzte Frequenz über null (Tab. 5.2.1 im Anhang).

Dabei weisen die ersten sieben aufgeführten Haplotypen bei den Fällen eine Frequenz von insgesamt 71.6 %, bei den Kontrollen eine Häufigkeit von 80.1 % auf. Der häufigste Haplotyp stellte in beiden Gruppen der Haplotyp rs2097603A-rs740603A-rs4818G-rs4680G-rs165599A mit einer Häufigkeit von 25 % bei den Kontrollen und 16.6 % bei den Fällen dar. Die sieben häufigsten Haplotypen können durch die SNPs rs2097603, rs740603, rs4818 und rs165599 eindeutig identifiziert werden. Zugleich sind die vier SNPs ausreichend, um die ersten neun Haplotypen aus der Tabelle eindeutig zu identifizieren. Mit einer kumulierten Frequenz von 80.1 % stellen sie die häufigsten Haplotypen in der Gesamtgruppe dar. Die genannten neun Haplotypen sowie Haplotyp A-G-C-A-G sind die häufigsten Haplotypen bei den Fällen mit einer Frequenz von insgesamt 81.16 %. Auch sie sind durch die SNPs rs2097603, rs740603, rs4818 und rs165599 eindeutig identifizierbar.

Tab. 5.2.2: 5-Locus-Genotypfrequenzen bei Fällen und Kontrollen

5-Locus-Genotypen rs2097603/rs740603/rs4818/rs4680/rs165599	Kontrollen		Fälle	
	Absolut	%	Absolut	%
12/12/12/12/11	13	8.67	32	6.97
12/12/12/12/12	9	6.00	28	6.10
12/12/22/11/11	12	8.00	22	4.79
22/22/12/12/12	7	4.67	26	5.66
12/12/22/12/12	7	4.67	13	2.83
22/22/12/22/12	1	0.67	19	4.14
11/11/12/12/11	7	4.67	8	1.74
22/22/11/22/11	7	4.67	6	1.31
12/12/11/22/12	6	4.00	4	0.87
Andere	81	54.00	301	65.58

In der Gesamtgruppe der Schizophrenien ergab sich für keine der Markerkombinationen ein Hinweis auf einen signifikanten Zusammenhang mit Schizophrenie. Die Betrachtung von Haplotypen führte zu keiner stärkeren Evidenz für eine Assoziation der SNPs mit der Krankheit, als die Betrachtung der einzelnen Marker. Allein in der Gruppe der Frauen kam es zu einer signifikanten Assoziation ($p = 0.00069$) der Markerkombination rs165599 und rs4680 mit der Erkrankung. Als bester Marker erwies sich dabei rs165599 mit einem unkorrigierten p-Wert von 0.015 (Tab. 5.2.3).

Tab. 5.2.3: Haplotypanalysen (alle Schizophrenien) für Männer und Frauen

Gruppe	Test ¹	Globales P	Beste Kombination ²	Unkorr. P	Bester Marker	Unkorr. P
Gesamt	hapcc	.054	SNP4	.0060		
	hapccmax	.073	SNP4	.0060		
	htr	.072	SNP4	.0060		
Frauen	hapcc	.0068	SNP2- SNP3	.00069	SNP2	.0015
	hapccmax	.018	SNP2	.0015		
	htr	.019	SNP2	.0015		
Männer	hapcc	.073	SNP4	.0088		
	hapccmax	.097	SNP4	.0088		
	htr	.095	SNP4	.0088		

¹Permutationstests des Programms FAMHAP für Fall-Kontroll-Studien (ausführliche Beschreibung in Becker et al., 2005)

²SNP1: rs2097603; SNP2: rs165599; SNP3: rs4680; SNP4: rs740603; SNP5: rs4818

Tendenziell anders stellte sich dies für die Subgruppe der systematischen Schizophrenien (Tab. 5.2.5) und in noch stärkerem Maße für die Subgruppe der zykliden Psychosen (Tab. 5.2.4) dar. Auch hier scheinen die Haplotypen jedoch am ehesten von Bedeutung zu sein, wenn zusätzlich eine Differenzierung nach dem Geschlecht stattfindet, während für die gesamte Subgruppe ein Haplotyp kaum bzw. nicht ersichtlich ist.

Bei den zykliden Psychosen war die 4-Marker-Kombination rs740603-rs4818-rs4680-rs165599 mit einem p von 0.031 mit der Erkrankung assoziiert. Dabei stellte rs740603 bezüglich der Allel- ($p = 0.0097$) und Genotypverteilung ($p = 0.023$) der stärkste Einzelmarker dar. Während in der weiblichen Stichprobe die günstigste Markerkombination bereits in dem Einzelmarker rs165599 ($p = .0018$) bestand, kam es

bei den männlichen Probanden zu rs2097603-rs740603-rs4818-rs4680 als günstigste Markerkombination ($p = 0.024$) mit rs740603 als bestem Marker ($p = 0.074$).

Tab. 5.2.4: Haplotypanalysen (zykloide Psychosen) für Männer und Frauen

Gruppe	Test ¹	Globales P	Beste Kombination ²	Unkorr. P	Bester Marker	Unkorr. P
Gesamt	hapcc	.031	SNP2-SNP3-SNP4-SNP5	.0033	SNP4	.0076
	hapccmax	.084	SNP4	.0067		
	htr	.036	SNP3-SNP4-SNP5	.0028	SNP4	.0076
Frauen	hapcc	.017	SNP2	.0018		
	hapccmax	.0024	SNP2-SNP4-SNP5	.00018	SNP2	.0018
	htr	.021	SNP2	.0018		
Männer	hapcc	.024	SNP1-SNP3-SNP4-SNP5	.0025	SNP4	.074
	hapccmax	.064	SNP4-SNP5	.0057	SNP4	.074
	htr	.0058	SNP1-SNP3-SNP4-SNP5	.00043	SNP4	.074

¹Permutationstests des Programms FAMHAP für Fall-Kontroll-Studien (ausführliche Beschreibung in Becker et al., 2005)

²SNP1: rs2097603; SNP2: rs165599; SNP3: rs4680; SNP4: rs740603; SNP5: rs4818

In der Untergruppe der systematischen Schizophrenien (Tab. 5.2.5) bestand die beste Markerkombination in der Gesamtgruppe in dem Einzelmarker rs740603 ($p = 0.011$). Die getrennte Betrachtung der Geschlechter führte bei den Frauen zu dem signifikanteren 3-Marker-Haplotypen rs4818-rs4680-rs165599 ($p = 0.0044$) mit rs165599 als stärkstem Genabschnitt.

Tab. 5.2.5: Haplotypenanalysen (systematische Schizophrenien) für Männer und Frauen

Gruppe	Test ¹	Globales P	Beste Kombination ²	Unkorr. P	Bester Marker	Unkorr. P
Gesamt	hapcc	.011	SNP4	.015		
	hapccmax	.14	SNP4	.015		
	htr	.14	SNP4	.015		
Frauen	hapcc	.0044	SNP2- SNP3-SNP5	.0004	SNP2	.0015
	hapccmax	.018	SNP2	.0015		
	htr	.0060	SNP1-SNP2	.00044	SNP2	.0015
Männer	hapcc	.13	SNP4	.018		
	hapccmax	.15	SNP4	.018		
	htr	.15	SNP4	.018		

¹Permutationstests des Programms FAMHAP für Fall-Kontroll-Studien (ausführliche Beschreibung in Becker et al., 2005)

²SNP1: rs2097603; SNP2: rs165599; SNP3: rs4680; SNP4: rs740603; SNP5: rs4818

In der Gruppe der unsystematischen Schizophrenien (Tab. 5.2.6) konnten keine assoziierten Haplotypen definiert werden.

Tab. 5.2.6: Haplotypenanalysen (unsystematische Schizophrenien) für Männer und Frauen

Gruppe	Test ¹	Globales P	Beste Kombination ²	Unkorr. P	Bester Marker	Unkorr. P
Gesamt	hapcc	.19	SNP1	.029		
	hapccmax	.23	SNP1	.029		
	htr	.24	SNP1	.029		
Frauen	hapcc	.37	SNP3- SNP4	.070	SNP3	.125
	hapccmax	.45	SNP2-SNP3-SNP4	.082	SNP3	.125
	htr	.32	SNP3-SNP4	.046	SNP3	.125
Männer	hapcc	.09	SNP1	.012		
	hapccmax	.11	SNP1-SNP4	.011	SNP1	.012
	htr	.12	SNP1	.012		

¹Permutationstests des Programms FAMHAP für Fall-Kontroll-Studien (ausführliche Beschreibung in Becker et al., 2005)

²SNP1: rs2097603; SNP2: rs165599; SNP3: rs4680; SNP4: rs740603; SNP5: rs4818

6 Diskussion

Aufgrund vielfältiger Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien, die für einen wesentlichen Einfluss genetischer Faktoren bei der Entstehung schizophrener Psychosen sprechen, hat sich in den vergangenen Jahrzehnten eine grosse Zahl an Studien mit den genetischen Grundlagen des Erkrankungsbildes beschäftigt (McGuffin et al., 1995; Owen & Cardno, 1999). Im Hinblick auf die Dopaminhypothese als eine der pathophysiologischen Überlegungen zur Ätiopathogenese schizophrener Erkrankungen von besonderem Interesse ist das COMT-Gen, da es für ein Enzym kodiert, welches eine zentrale Rolle in einem der Hauptabbauwege von Dopamin einnimmt. Neben zahlreichen Regulatoreinheiten findet sich eine trimodale Verteilung der COMT-Aktivität, die auf einem funktionellen Polymorphismus in der kodierenden Sequenz beruht. Der Polymorphismus auf Position 472 von Exon 4 beinhaltet eine G/A-Substitution, die zu einem Aminosäureaustausch (Valin durch Methionin) auf Codon 108/158 in der S-COMT-/MB-COMT-Peptidsequenz führt und mit einer deutlichen Reduktion der Thermostabilität und Enzymaktivität von COMT einhergeht. In neueren Studien zeigte sich, dass dieser Polymorphismus auch die Gedächtnisleistung und -aktivität im präfrontalen Kortex während Arbeitsgedächtnisleistungen beeinflussen könnte, eine Funktion, für die sich die Dopaminkonzentration im präfrontalen Kortex als wichtig herausgestellt hat. Trotz des viel diskutierten Zusammenhangs zwischen dem Val^{108/158}Met-Polymorphismus und schizophrenen Psychosen ist die Datenlage inkonsistent. Neben Geschlecht und ethnischer Herkunft scheint auch die Art des schizophrenen Krankheitsbildes zur Variabilität der Ergebnisse beizutragen.

Untersuchungsgegenstand dieser Arbeit waren fünf SNPs auf dem COMT-Genabschnitt, die den Bereich zwischen der P2-Promotorregion und 3'-UTR umfassen und an einer Stichprobe von 459 schizophrenen Patienten und 150 Kontrollpersonen - getrennt nach Alter, Geschlecht und schizophrenen Untergruppen nach Leonhard - untersucht wurden.

Wie bereits in früheren Fall-Kontroll- und familienbasierten Untersuchungen (Lachmann et al., 1998; Herken & Erdal, 2001; Liou et al., 2001; Fan et al., 2005; Munafò et al., 2005) ließ sich ein Zusammenhang zwischen dem funktionellen

Val^{108/158}Met-Polymorphismus und der Erkrankung weder in der Allel- ($p = 0.8943$) noch in der Genotypverteilung ($p = 0.8630$) replizieren. Auch eine differenzierte Betrachtung schizophrener Subgruppen, wie von Strous et al. (2006) vorgeschlagen, erbrachte keine signifikanten Gruppenunterschiede.

Bei der von Glatt et al. (2003) vorgelegten Metaanalyse zeigte sich nur bei zwei der insgesamt 14 Fall-Kontroll-Studien eine signifikante Differenz in der Allel-Frequenz zwischen Patienten und Kontrollen, beide Male im Sinne eines verstärkten Auftretens des Met-Allels in der Patientengruppe, wobei sich für die gepoolte Odds-ratio über alle Studien kein signifikanter Wert ergab. Im Gegensatz dazu lies sich aber bei Schichtung nach ethnischer Herkunft in der europäischen Stichprobe ein stärkerer Zusammenhang zwischen dem Val-Allel und Schizophrenie finden, als in den asiatischen Populationen, wo es in beiden Studiendesigns nur geringen Anhalt für eine Assoziation zwischen dem Polymorphismus und der Erkrankung gab. Ein solcher Zusammenhang ließ sich in unserer Stichprobe nicht bestätigen.

Auch für den ebenfalls auf Exon 4 befindlichen SNP rs4818 liesen sich weder in der Allel- noch in der Genotypverteilung signifikante Unterschiede zwischen schizophrenen und gesunden Probanden ermitteln.

Lee et al. (2005) berichteten kürzlich von einem positiven Zusammenhang zwischen Schizophrenie und einem kodierenden SNP (rs6267) auf Codon 72/22 (membran-gebundene/lösliche Form) in einer koreanischen Population, welcher eine Ala-zu-Ser-Substitution (A72S) bewirkt. Mit dem Ala/Ala-Genotyp als Referenzgruppe fanden sie eine kombinierte genotypspezifisch (Ala/Ser und Ser/Ser) korrigierte Odds-ratio von 1.82, was für das Ser-Allel als Risiko-Allel spricht. Die A72S-Substitution war dabei korreliert mit einer reduzierten COMT-Enzymaktivität und unterstützt damit vorausgehende Berichte, die einen Zusammenhang zwischen den für schizophrene Psychosen verantwortlichen Haplotypen und niedrigerer COMT-Expression sehen (Lee et al., 2005).

Auch die von Palmatier et al. (2004) hervorgehobene Relevanz der P2-Promotor-Region aufgrund der Steuerung des MB-COMT-Transkripts durch den distalen P2-Promotor sowie der in mehreren Studien belegten Assoziation des SNP rs2797603 (Lie et al., 2000; DeMille et al., 2002) mit erhöhtem Schizophrenierisiko lies sich in unserer Studie nicht eindeutig belegen. Rs2097603 erreichte nur in der Untergruppe der

unsystematischen Schizophrenien schwach signifikante Werte in der Allel- ($p = 0.0333$) und Genotypverteilung ($p = 0.0232$) und konnte nicht als Teil eines schizophrenie-relevanten Haplotypen identifiziert werden.

Nachdem von mehreren Autoren (Shifman et al., 2002; Chen et al., 2004; Funke et al., 2005; Handoko et al., 2005; Lee et al., 2005) Intron 1 als für die COMT-Expression interessante Genregion hervorgehoben wurde, der SNP rs737865 jedoch zu kontroversen Ergebnissen hinsichtlich einer Assoziation des G- oder A-Allels mit der Erkrankung führte, entschieden wir uns für rs740603 als Kandidaten für diesen Genabschnitt. Interessanterweise ergab sich für ihn der insgesamt stärkste Zusammenhang im Allel- und Genotypvergleich, mit dem grössten Effekt unter Annahme eines rezessiven Modells. Für ihn fand sich nicht nur bei der Betrachtung der Gesamtgruppe der Schizophrenen, sondern auch bei getrennter Berechnung der Allel- und Genotypverteilung für die Gruppe der systematischen und unsystematischen Schizophrenen ein signifikant positiver Zusammenhang mit der Erkrankung.

Dagegen konnte für den von verschiedenen Arbeitsgruppen (Shifman et al., 2002; Chen et al., 2005; Funke et al., 2005) als Teil eines Haplotypen untersuchten SNP rs165599 auf Exon 6 nur für die Gruppe der Frauen unter dem dominanten Modell ($p = 0.0013$; OR 2.80; 95 % KI 1.48-5.27) eine Assoziation zwischen Allel G und Schizophrenie ermittelt werden. Damit ist unser Ergebnis in Übereinstimmung mit dem bei Shifman et al. (2002) gefundenen geschlechtsspezifischen Effekt für rs165599. Der Marker war dort auf Allel- ($p = 1 \times 10^{-6}$) sowie auf Genotypniveau ($p = 1 \times 10^{-5}$) hochsignifikant. Während bei Shifman et al. (2002) das G-Allel Teil des hochsignifikanten Haplotypen G-G-G (rs4680-rs165599-rs737865) war, fanden Chen et al. (2004) in einer irischen Population A-G-A (rs4680-rs165599-rs737865) als den risikobehafteten Haplotypen, wogegen Funke et al. (2005) von einer signifikanten Unterrepräsentation des Haplotypen G-A-A-A (rs2097603-rs737865-rs4680-rs165599) in einer Stichprobe von 394 psychotischen Personen berichteten.

In unserer Studie lies sich für die Gesamtgruppe der Schizophrenen dagegen kein Hinweis auf eine Markerkombination mit einem signifikanten Zusammenhang zu schizophrenen Psychosen finden. Die beste Markerkombination bestand, mit einem globalen p von 0.054, in dem Einzelmarker rs740603, so dass die Haplotypanalyse zu

keiner stärkeren Evidenz für eine Assoziation der SNPs mit der Krankheit führte, als die Betrachtung dieses Markers allein.

Nur innerhalb der Gruppe der Frauen kam es zu einer signifikanten Assoziation ($p = 0.00069$) der Markerkombination rs165599 und rs4680 mit der Erkrankung. Damit lassen sich auch in unserer Stichprobe geschlechtsspezifische Effekte finden, deren Wertigkeit derzeit ungeklärt bleibt.

Anders stellt sich dies für die Subgruppe der zykliden Psychosen dar. Hier fanden wir mit einem $p = 0.031$ die 4-Marker-Kombination rs740603-rs4818-rs4680-rs165599, welche die Region zwischen Intron 1 und 3'-UTR überspannt. Dabei stellte rs740603 bezüglich der Allel- ($p = 0.0076$) und Genotypverteilung ($p = 0.015$) der stärkste Einzelmarker dar. Der Haplotyp beinhaltet Allel rs4680, welches für die Val^{108/158}Met - Variante kodiert, nicht aber rs2097603 in der MB-COMT-Promotor-Region. Unter der Annahme eines Einflusses dieser Region auf die COMT-Expression, bleibt die Frage, ob nicht, wie u.a. von Handoko et al. (2005) vermutet, ein weiterer Polymorphismus oder eine regulatorische Einheit zwischen Intron 1 und 3'-UTR involviert ist, der oder die sich in hohem LD mit den schizophrenierelevanten Markern befindet bzw. befinden. Nachdem der P2-Promotor für die Steuerung der Synthese des 1,5 kb mRNA-Transkripts verantwortlich gemacht wird und in verschiedenen Geweben eine unterschiedliche Promotoraktivität vorliegt, kann angenommen werden, dass gewebsspezifische Transkriptionsfaktoren an der COMT-Promotor-Regulation beteiligt sind. So besitzen Promotoren im menschlichen Genom mehrere mutmassliche Sp1-Faktor-Bindungsstellen, die für die Basislevel der menschlichen COMT-Promotor-Aktivität verantwortlich sein könnten (Tenhunen et al., 1994). Zusätzlich beinhalten Promotoren im Humangenom multiple potentielle Bindungsstellen für AP-2 und andere Faktoren, welche möglicherweise zur Variabilität der COMT-Expression in den unterschiedlichen Geweben beitragen (Tenhunen et al., 1994). Imagawa und Mitarbeiter berichteten bereits 1987 von Adenylatzyklase-aktivierenden Substanzen, die die Expression des AP-2 Faktors induzieren (Imagawa et al., 1987), allerdings gibt es zum jetzigen Zeitpunkt noch keine Befunde, wie sich diese Verbindungen auf die Expression des menschlichen COMT-Proteins auswirken.

Wie eingangs erwähnt, sind die Charakteristika der zykliden Psychosen ein phasenhafter Verlauf mit bipolarer und polymorpher aber dennoch typischer Struktur der Symptomatik. Innerhalb der zykliden Psychosen beschrieb Leonhard drei Subgruppen, die von der Angst-Glücks-Psychose über die Verwirrtheitspsychose bis zur Motilitätspsychose reichen und eine durchweg gute Prognose zeigen (Franzek & Beckmann, 1998). Wie bereits in der Zwillingsstudie von Franzek und Beckmann (Franzek und Beckmann, 1998) fand sich auch in der Familienuntersuchung von Jabs und Mitarbeitern (Jabs et al., 2006) eine nur geringe Hereditabilität. Zwillings- und Familienuntersuchungen deuten übereinstimmend darauf hin, daß es vorwiegend nichtgenetische Faktoren sein müssen, die in der Ätiologie zyklider Psychosen eine Rolle spielen. So zeigten sich bei Stöber und Mitarbeitern (1997) eine Häufung von Schwangerschaftsdelikten im ersten Trimenon bei Müttern von Patienten mit zykliden Psychosen, bei Franzek und Beckmann (Franzek und Beckmann, 1998) hatten die erkrankten Zwillinge signifikant häufiger und signifikant schwerwiegendere Geburtskomplikationen erlitten als die gesunden Ko-Zwillinge. Im Gegensatz zu Kontrollen zeigen zyklide Psychosen in evozierten Potentialen zudem signifikant höhere P300-Amplituden, und eine Abweichung der P300-Spitzen von der Mittellinie in Richtung linke Hemisphäre (Strik et al., 1996). Während akuter Phasen fanden Warkentin et al. (1992) mittels Xenon-Inhalations-Cerebrographie, v.a. rechts okzipital, eine globale Hyperperfusion auf Kosten der frontalen Durchblutung, die sich unter neuroleptischer Behandlung wieder auf ein Normalmaß verringerte (Jabs et al., 2002). Das Konzept der zykliden Psychosen konnte zwischenzeitlich mehrfach bestätigt und validiert werden (Brockington et al. 1982, Beckmann et al. 1990, Strik et al. 1993, Pfuhlmann et al., 2004) und besitzt gegenüber der ICD10-Klassifikation den Vorteil einer wesentlich präziseren Differenzierung von Symptomclustern und klarer prognostischer Aussagen. Was den therapeutischen Aspekt angeht, hat die klinische Erfahrung demonstriert, dass die spezifische Subform eine erhebliche Rolle spielt und die phasischen, vollständig remittierenden Störungsbilder keiner neuroleptischen Dauermedikation bedürfen, aufgrund deren langfristiger Nebeneffekte sogar als ungeeignet gelten. Um so wichtiger und interessanter gestaltet sich die Frage nach zuverlässigen diagnostischen Möglichkeiten, bei der, trotz des im Vergleich zu anderen

schizophrenen Untergruppen geringeren Beitrags genetischer Faktoren, die Haplotypenanalyse einen wertvollen Beitrag leisten könnte.

Während sich in der Untergruppe der unsystematischen Schizophrenien kein signifikanter Haplotyp finden lässt, scheint eine Assoziation mit Haplotypen bei den systematischen Schizophrenien am ehesten von Bedeutung zu sein, wenn zusätzlich eine Differenzierung nach dem Geschlecht stattfindet. Während die beste Markerkombination in der gesamten Untergruppe ($p = 0.11$) und bei den männlichen Probanden ($p = 0.13$) in dem Einzelmarker rs740603 bestand, führte die getrennte Betrachtung der Frauen zu der signifikanten 3-Marker-Kombination rs4818-rs4680-rs165599 ($p = .0044$) mit rs165599 als stärkstem Genabschnitt. Damit bestätigt sich das Ergebnis von Shifman et al. (2002), die ebenfalls einen spezifischen Zusammenhang zwischen dem Marker rs165599 und der Gruppe der Frauen mit schizophrener Psychose fanden. Bei Handoko et al. (2005) waren die Marker rs4633, rs4680 und rs165599 hauptsächlich bei den männlichen Probanden, rs737865 bei den Frauen mit schizophrenen Erkrankungen assoziiert. Einschränkend muss jedoch auf die geringe Stichprobengröße unserer Fallgruppe ($n = 27$) hingewiesen werden, die eine weiterführende Interpretation dieses Befundes nicht zulässt.

Vor kurzem wurde berichtet, dass auch epigenetische Faktoren eine Schlüsselrolle bei der Entwicklung der Schizophrenie spielen, und deren Prozesse die inkonsistenten Ergebnisse hinsichtlich der COMT-Gen-Varianten erklären könnten. Von besonderem Interesse war dabei das Phänomen der Cytosinmethylierung von CpG-Stellen, einem molekularen Prozess, der in indirekter Verbindung mit der Regulation der Genexpression steht. Die Methylierung von CpG-Stellen, die prinzipiell auf CpG-Inseln in den promotorregulierenden Regionen vieler Gene lokalisiert sind, unterbricht die Bindung von Transkriptionsfaktoren und zieht methylgruppenbindende Proteine an, die mit der Stilllegung von Genen und Chromatinkompaktierung verbunden sind (Dempster et al., 2006). Murphy et al. (2005) haben unlängst die Methylierung von sechs CpG-Stellen in der COMT-Promotorregion untersucht, indem sie die genomische DNA aus 31 Hirnregionen und 51 Blutproben Schizophrener und Gesunder vor der Sequenzierung einer Natrium-Bisulfit-Behandlung unterzogen. CpG-Inseln von

transkriptionell aktiven Genen besitzen unmethylierte Cytosine, während transkriptionell inaktive Gene methylierte Cytosine aufweisen, so dass eine abweichende Methylierung direkte Auswirkungen auf die Transkription haben könnte. Murphy et al. (2005) fanden in vier der untersuchten Stellen bei allen Individuen eine vollständige Methylierung, in zwei angrenzenden CpG-Stellen aber nur eine partielle Methylierung (Cytosin 23) und Abstufungen zwischen den einzelnen Personen (Cytosin 27). Das einzige komplett methylierte Cytosin 23 wurde bei einem schizophrenen Patienten beobachtet. Auch wenn der Einzelfall keine Ursache-Effekt-Beziehung rechtfertigt, könnte die vollständige Methylierung auf Cytosin 23 mit der Transkription und Expression von COMT im Sinne einer Reduktion der COMT-Gen Expression bei diesem Patienten interferieren. Damit könnte eine abweichende COMT-Promotor-Methylierung, zumindest für eine Teilgruppe der Schizophrenen, einen neuen Erklärungsansatz bieten, der sicher weiterer Forschung bedarf. Die Tatsache, dass das Methylierungsmuster im Gehirn und im Blut nahezu identisch war, stellt dabei eine wesentliche Erweiterung der Stichprobengröße in Aussicht.

Dempster et al. (2006), die die COMT-mRNA-Expression und Methylierung zweier COMT-Promotor CpG-Stellen (Cytosin 23 und 27) im Kleinhirngewebe psychiatrischer Patienten (davon 15 Patienten mit Schizophrenie, 15 mit bipolarer Störung, 15 mit Depression und 15 Kontrollpersonen) post mortem untersuchten, fanden in keiner der psychiatrischen Gruppen einen Hinweis auf eine veränderte COMT-Expression oder Methylierung. Dagegen fanden sie aber Hinweise darauf, dass Val-Homozygote niedrigere Methylierungsraten an den ausgewählten CpG-Stellen aufweisen, als Met-Homozygote. Zusätzlich korrelierten sie die COMT-mRNA-Expression mit den SNPs rs4680, rs737865 und rs165599. Dabei fand sich eine Assoziation zwischen den Genotypen aller drei SNPs und der COMT-Expression im Sinne eines positiven Zusammenhangs zwischen dem jeweiligen G-Allel und verminderter COMT-mRNA. Dies bestätigte sich auch in der Haplotypanalyse, in der der G-G-G Haplotyp mit signifikant niedrigerer COMT-mRNA korreliert war. Bei den Frauen zeigte sich eine insgesamt höhere COMT-mRNA-Expression.

Alternativ, wenn auch hinsichtlich des Analogieschlusses viel kritisiert, wäre das Mausmodell in Betracht zu ziehen. Als potentiell geeinigtes Tiermodell zum Studium

der funktionellen Bedeutung des COMT-Metabolismus beim Menschen gelang Gogos et al. (1998) die Herstellung einer neuen Linie der COMT-Knockout-Maus. Männliche Mäuse hatten in bestimmten Hirnregionen einen dreifach erhöhten Dopaminspiegel, der bei den weiblichen Tieren nicht gefunden werden konnte. Trotz des Fehlens des COMT-Gens und des entsprechenden Proteins konnten in mehreren Hirnregionen immer noch messbare Mengen an Homovanillinmandelsäure (HVA), und damit einem Methylierungsprodukt von Dopamin, ermittelt werden, was die Frage nach einem weiteren, noch unentdeckten Catechol-O-Methylierungsweg im Maushirn aufwirft. In zukünftigen Studien wird sich herausstellen müssen, inwieweit sich diese Linie der Knockout-Maus zum besseren Verständnis der COMT-Metabolismus als hilfreich erweist.

7 Zusammenfassung

Bei der Gruppe der schizophrenen Psychosen handelt es sich um eine klinisch und ätiologisch heterogene Krankheit endogener Psychosen, die weltweit ca. ein Prozent der Bevölkerung betrifft.

Die Beteiligung genetischer Faktoren an der Entstehung des Krankheitsbildes wurde durch Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien vielfach belegt. Bei der Mehrzahl dieser heterogenen Krankheitsgruppen geht man von einer multifaktoriellen Genese mit oligo- oder polygener Vererbung sowie starker Beteiligung von Umweltfaktoren aus (Gottesmann et al., 1991). Auch wenn die Bedeutung von Umwelteinflüssen, wie Virusinfektionen der Mutter, Geburtskomplikationen, Jahreszeit der Geburt und Infektionen mit Hilfe von epidemiologischen Studien nur schwer einzuordnen sind, machen die Fortschritte in der Molekulargenetik Arbeiten zur Identifizierung genetischer Faktoren aussichtsreich.

In den letzten Jahren wurde in der Schizophrenieforschung vermehrt das COMT-Gen auf Chromosom 22q11 in den Mittelpunkt des Forschungsinteresses gerückt. Grund dafür ist einerseits die Assoziation dieser Region mit dem Velokardiofazialen Syndrom, einem Mikrodeletionssyndrom mit heterogenem Malformationsmuster, welches ein erhöhtes Psychoserisiko aufweist und vermehrt mit einer Mikrodeletion auf Chromosom 22q11 einhergeht. Andererseits aber auch die zentrale Rolle der Catechol-O-Methyltransferase beim Katecholaminabbau sowie der Val/Met-Polymorphismus auf Exon 4 des menschlichen COMT-Gens, der für thermolabile niedrige oder thermostabile hohe Enzymaktivität kodiert. Der Val^{108/158}Met-Polymorphismus stellt einer der im Zusammenhang mit Schizophrenie am häufigsten diskutierten Marker dar, führte aber in Fall-Kontroll-, wie auch in Assoziationsstudien zu einer Vielfalt recht inkonsistenter Ergebnisse.

Aufgrund der zunehmend akzeptierten Tatsache, daß die singuläre Betrachtung einzelner Marker bei der komplexen genetischen Textur von Kandidatengen nur wenig zur Erhellung komplexer Erkrankungen beizutragen vermag (Licinio, 2003), untersuchten wir neben dem Val^{108/158}Met-Polymorphismus (rs4680) vier weitere, die COMT-Gen-Region umspannende SNPs (rs2097603, rs740603, rs4818, rs165599) an einer Stichprobe von 459 Schizophrenen und 150 Kontrollpersonen. Zwar ergab sich für

den Marker rs740603 auf Intron 1 eine signifikante Allel- ($p = 0.0060$) und Genotypassoziation ($p = 0.019$), der funktionelle Val^{108/158}Met-Polymorphismus (rs4680) zeigte aber keinen signifikanten Zusammenhang mit der Erkrankung. Zudem fand sich in unserer Haplotypanalyse keine Markerkombination, die in überdurchschnittlichem Zusammenhang mit schizophrenen Psychosen stand. Für die Untergruppe der zykliden Psychosen konnte allerdings bei einem p-Wert von 0.031 eine 4-Marker-Kombination ermittelt werden, die die SNPs rs740603, rs4818, rs4680 und rs165599 einschliesst und die Region von Intron 1 bis 3'-UTR umspannt. Zusätzlich ergab sich in der Subgruppe der zykliden Psychosen ein geschlechtsspezifischer Effekt im Sinne eines signifikanten 3-Marker-Haplotypen (rs4818-rs4680-rs165599) ($p = .0044$) in der Gruppe der Frauen ($n = 27$) mit rs165599 als stärkstem Einzelmarker.

Aufgrund des komplexen genetischen Zusammenhangs zwischen den untersuchten Markern und der Erkrankung sollte auch in der zukünftigen Forschung eine differenzierte Betrachtung der verschiedenen schizophrenen Zustandsbilder angestrebt werden, wie dies die Klassifikation nach Leonhard ermöglicht. Neben dem von Lee (Lee et al., 2005) an einer koreanischen Stichprobe untersuchten SNP rs6267 auf Codon 72/22 erscheint es sinnvoll, auch gewebsspezifische Transkriptionsfaktoren mit potentielltem Einfluss auf die COMT-Expression vermehrt in den Mittelpunkt des Forschungsinteresses zu rücken. Zudem könnte auch die von Murphy (Murphy et al., 2005) und Dempster (Dempster et al., 2006) angeregte Auseinandersetzung mit epigenetischen Faktoren, wie die Cytosinmethylierung von CpG-Stellen in promotorregulierenden Regionen, ein vielversprechender Ansatzpunkt für die zukünftige Erforschung schizophrenierelevanter Einflussfaktoren darstellen.

8 Literaturverzeichnis

Akil, M., Kolachana, B.S., Rothmond, D.A., Hyde, T.H., Weinberger, D.R. & Kleinman, J.E. (2003). Catechol-o-methyltransferase genotype and dopamine regulation in the human brain. *Journal of Neuroscience*, 23, 2008-2013.

Arinami, T., Ohtsuki, T., Takase, K., Shimizu, H., Yoshikawa, T., Horigome, H., Nakayama, J. & Toru, M. (2001). Screening for 22q11 deletions in a schizophrenia population. *Schizophrenia Research*, 52 (3), 167-170.

Bahn, S. (2002). Gene expression in bipolar disorder and schizophrenia. New approaches to old problems. *Bipolar Disorder*, 4, 70-72.

Bailer, U., Achauer, H.N. & Kasper, S. (2002). Genetik der Schizophrenie. *Journal für Neurologie / Neurochirurgie / Psychiatrie*, 3, 25-31.

Bassett, A.S., Chow, E.W. & Weksberg, R. (2000). Chromosomal abnormalities and schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics*, 97, 45-51.

Becker, T. & Knapp, M. (2004). Maximum-likelihood estimation of haplotype frequencies in nuclear families. *Genetic Epidemiology*, 27, 21-32.

Becker, T., Cichon, S., Jonson, E. & Knapp, M. (2005). Multiple testing in the context of haplotype analysis revisited: application to case-control data. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 68, 747-756.

Beckmann, H., Fritze, J. & Lanczik, M. (1990). Prognostic validity of the cycloid psychoses. A prospective follow-up study. *Psychopathology*, 23, 205-211.

Beckmann, H., Franzek, E. & Stöber, G. (1996). Genetic heterogeneity in catatonic schizophrenia: a family study. *American Journal of Medical Genetics*, 67, 289-300.

Blouin, J.-J., Dombroski, B.A., Nath, S.K., Lasseter, V.K., Wolyniec, P.S., Nestadt, G., Thornquist, M., Ullrich, G., McGrath, J., Kasch, L., Lamacz, M., Thomas, M.G., Gehring, C., Radhakrishna, U., Snyder, S.E., Balk, K.G., Neufeld, K., Swartz, K.L. et al. (1998). Schizophrenia susceptibility loci on chromosomes 13q32 and 8p21. *Nature Genetics*, 20 (1), 70-73.

Bochnik, H.J. (2004). Erinnerung an Professor Dr. med. Karl Leonhard. *Hessisches Ärzteblatt*, 3, 158-159.

Bohlen und Hallbach, O. v. & Dermietzel, R. (2001). Neurotransmitters and neuromodulators. Weinheim: Wiley-VCH.

Bray, N.J., Buckland, P.R., Williams, N.M., Norton, N., Owen, M.J. & O'Donovan, M.C. (2003). A haplotype implicated in schizophrenia susceptibility is associated with reduced COMT expression in human brain. *American Journal of Human Genetics*, 73, 152-161.

Brockington, I.F., Perris, C., Kendell, R.E., Hillier, V.E. & Wainwright, S. (1982). The course and outcome of cycloid psychosis. *Psychological Medicine*, 12, 97-105.

Brzustowicz, L.M., Hodgkinson, K.A., Chow, E.W., Honer, W.G. & Bassett, A.S. (2000). Location of major susceptibility locus for familial schizophrenia on chromosome 1q21-22. *Science*, 288, 678-682.

Carr, A.E. & Sesack, S.R. (2001). Projections from the rat prefrontal cortex to the ventral tegmental area: Target specificity in the synaptic associations with mesoaccumbens and mesocortical neurons. *Journal of Neuroscience*, 20, 3864-3873.

Chen, J., Lipska, B.K., Halim, N., Ma, Q.D., Matsumoto, M., Melhem, S., Kolachana, B.S., Hyde, T.M., Herman, M.M., Apud, J., Egan, M.F., Kleinman, J.E. & Weinberger, D.R. (2004). Functional analysis of genetic variation in catechol-O-methyltransferase

(COMT): Effects on mRNA, protein and enzyme activity in postmortem human brain. *American Journal of Human Genetics*, 75, 807-821.

Davidson, M., Reichenberg, A., Rabinowitz, J., Weiser, M., Kalan, Z. & Mark, M. (1999). Behavioral and intellectual markers for schizophrenia in apparently healthy male adolescents. *American Journal of Psychiatry*, 156, 1328-1335.

Davison, G.C. & Neale, M. (1996). *Klinische Psychologie*. (4. vollständig überarbeitete und aktualisierte Aufl.). Weinheim: Psychologie Verlags Union.

Deister, A. & Möller, H.-J. (1998). *Schizophrenie und verwandte Psychosen*. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH.

DeLisi, L.E., Shaw, S.H., Crow, T.J., Shields, G., Smith, A.B., Larach, V.W., Wellman, N., Loftus, J., Nanthakumar, B., Razi, K., Stewart, J., Comazzi, M., Vita, A., Heffner, T. & Sherrington, R. (2002). A genome-wide scan for linkage to chromosomal regions in 382 sibling pairs with schizophrenia or schizoaffective disorder. *American Journal of Psychiatry*, 159, 803-812.

DeMille, M.M.C., Kidd, J.R., Ruggeri, V., Palmatier, M.A., Goldman, D., Odunsi, A., Okonofua, F., Grigorenko, E., Schulz, L.O., Bonne-Tamir, B., Lu, R.-B., Parnas, J., Pakstis, A.J. & Kidd, K.K. (2002). Population variation in linkage disequilibrium across the COMT gene considering promoter region and coding region variation. *Human Genetics*, 111, 521-537.

Dempster, E.L., Mill, J., Craig, I.W. & Collier, D.A. (2006). The quantification of COMT mRNA in post mortem cerebellum tissue: diagnosis, genotype, methylation and expression. *BMC Medical Genetics*, 16, 7-10.

Egan, M.F., Goldberg, T.E., Kolachana, B.S., Callicott, J.H., Mazzanti, C.M., Straub, R.E., Goldman, D. & Weinberger, D.R. (2001). Effect of COMT Val^{108/158}Met genotype

on frontal lobe function and risk for schizophrenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98, 6917-6922.

Fan, J.B., Chen, W.Y., Tang, J.X., Li, S., Gu, N.F., Feng, G.Y., Breen, G., St Clair, D. & He, L. (2002). Family-based association studies of COMT gene polymorphisms and schizophrenia in the Chinese population. *Molecular Psychiatry*, 7, 446-447.

Fan, J.B., Zhang, C.S., Gu, N.F., Li, X.W., Sun, W.W., Wang, H.Y., Feng, G.Y., St Clair, D. & He, L. (2005). Catechol-O-methyltransferase gene Val/Met functional polymorphism and risk of schizophrenia: a large-scale association study plus meta-analysis. *Biological Psychiatry*, 57, 139-144.

Franzek, E. & Beckmann, H. (1991). Syndrom- und Symptomentwicklung schizophrener Langzeitverläufe. *Nervenarzt*, 62, 549-556.

Franzek, E. & Beckmann, H. (1998). The different genetic background of schizophrenic spectrum psychoses. A twin study. *American Journal of Psychiatry*, 155, 76-83.

Freedman, R., Coon, H., Myles-Worsly, M., Orr-Urtreger, A., Olincy, A., Davis, A., Polymropoulos, M., Holik, J., Hoff, M., Rosenthal, J., Waldo, M.C., Reimherr, F., Wander, P., Yaw, J., Young, D.A., Presse, C.R., Adams, C., Petterson, D. et al. (1997). Linkage of a neurophysiological deficit in schizophrenia to a chromosome 15 locus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94, 587-592.

Funke, B., Malhotra, A.K., Finn, C.T., Plocik, A.M., Lake, S.L., Lenez, T., DeRosse, P., Kane, J.M. & Kucherlapati, R. (2005). COMT genetic variation confers risk for psychotic and affective disorders: a case control study. *Behavioral and Brain Functions*, 18, 1-19.

Gasparini, M., Fabrizio, E., Bonifati, V. & Meco, G. (1997). Cognitive improvement during tolcapone treatment in parkinson's disease. *Journal of Neural Transmission*, 104, 887-894.

Gill, M., Vallada, H., Collier, D., Sham, P., Holmans, P., Murray, R., McGuffin, P., Nanko, S., Owen, M., Antonarakis, S., Housman, D., Kazazian, H., Nestadt, G., Pulver, A.E., Straub, R.E., MacLean, C.J., Walsh, D. & Kendler, K.S. (1996). A combined analysis of D22S278 marker alleles in affected sib-pairs: Support for a susceptibility locus for schizophrenia at chromosome 22q12. Schizophrenia Collaborative Linkage Group (Chromosome 22). *American Journal of Medical Genetics*, 67, 40-45.

Glatt, S.J., Faraone, S.V. & Tsuang, M.T. (2003). Association between a functional catechol-O-methyltransferase gene polymorphism and schizophrenia: meta-analysis of case-control and family-based studies. *American Journal of Psychiatry*, 160, 469-476.

Gogos, J.A., Morgan, M., Luine, V., Santha, M., Ogawa, S., Pfaff, D. & Karayiorgou, M. (1998). Catechol-O-methyltransferase-deficient mice exhibit sexually dimorphic changes in catecholamine levels and behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95, 9991-9996.

Goldberg, T.E., Egan, M.F., Gscheidle, T., Coppola, R., Weickert, T., Kolachana, B.S., Goldman, D. & Weinberger, D.R. (2003). Executive subprocesses in working memory: relationship to catechol-O-methyltransferase Val158Met genotype and schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*, 60, 889-896.

Gottesman, I.I. (1991). Schizophrenia Genesis: The origins of Madness. New York: W.H. Freeman.

Handoko, H.Y., Nyholt, D.R., Hayward, N.K., Nertney, D.A., Hannah, D.E., Windus, L.C., McCormack, C.M., Smith, H.J., Filippich, C., James, M.R. & Mowry, B.J. (2005). Separate and interacting effects within the catechol-O-methyltransferase (COMT) are associated with schizophrenia. *Molecular Psychiatry*, 10 (6), 589-597.

Herken, H. & Erdal, E. (2001). Catechol-O-methyltransferase gene polymorphism in schizophrenia: evidence for association between symptomatology and prognosis. *Psychiatric Genetics, 11*, 105-109.

Heston, L.L. (1966). Psychiatric disorders in foster home reared children of schizophrenic mothers. *British Journal of Psychiatry, 112*, 819-825.

Hippius, H. (2004). Universitätskolloquien zur Schizophrenie, Band 2. Darmstadt: Steinkopff.

Horowitz, A., Shifman, S., Rivlin, N., Pisanté, A. & Darvasi, A. (2005). Further tests of association between schizophrenia and single nucleotide polymorphism markers at the catechol-O-methyltransferase locus in an Askenazi Jewish population using microsatellite markers. *Psychiatric Genetics, 15*, 163-169.

Hywel, J.W., Glaser, B., Williams, N.M., Norton, N., Zammit, S., Macgregor, S., Kirov, G.K., Owen, M.J. & O'Donovan, M.C. (2005). No association between schizophrenia and polymorphisms in COMT in two large samples. *American Journal of Psychiatry, 162*, 1736-1738.

Imagawa, M., Chiu, R. & Karin, M. (1987). Transcription factor AP-2 mediates induction by two different signal-transduction pathways: Protein kinase C and cAMP. *Cell, 51*, 251-260.

Ishiguro, H., Okuyama, Y., Toru, M. & Arinami, T. (2000). Mutation and association analysis of the 5' region of the dopamine D3 receptor gene in schizophrenia patients: identification of the Ala38Thr polymorphism and suggested association between DRD3 haplotypes and schizophrenia. *Molecular psychiatry, 5*, 433-438.

Ivanov, D., Kirov, G., Norton, N., Williams, H.J., Williams, N.M., Nikolov, I., Tzvetkova, R., Stambolova, S.M., Murphy, K.C., Toncheva, D., Thapar, A., O'Donovan, M.C. & Owen, M.J. (2003). Chromosome 22q11 deletions, velo-cardio-

facial syndrome and early-onset psychosis. Molecular genetic study. *British Journal of Psychiatry*, 183, 409-413

Jabs, B., Pfuhlmann, B., Bartsch, A.J., Cetkovich-Bakmas, M.G. & Stöber, G. (2002). Cycloid psychosis – from clinical concepts to biological foundations. *Journal of Neural Transmission*, 109, 907-919.

Jabs, B., Althaus, G., Bartsch, A., Schmidtke, A., Stöber, G., Beckmann, H. & Pfuhlmann, B. (2006). Sind zyeloide Psychosen atypische manisch-depressive Erkrankungen? *Nervenarzt*, 77, 1096-1104.

Jackson, M.R., Genin, E., Knapp, M. & Escary, J.L. (2002). Accurate power approximations for χ^2 -tests in case-control association studies of complex disease genes. *Annual of Human Genetics*, 66, 307-321.

Jiang, H., Xie, T., Ramsden, D.B. & Ho, S.L. (2003). Human catechol-O-methyltransferase down-regulation by estradiol. *Neuropharmacology*, 45, 1011-1018.

Karayorgou, M., Morris, M.A., Morrow, B., Shprintzen, R.J., Goldberg, R., Borrow, J., Gos, A., Nestadt, G., Wolyniec, P.S., Lasseter, V.K., Eisen, H., Childs, B., Kazazian, H.K., Kucherlapati, R., Antonarakis, S.E., Pulver, A.E. & Housman, D.E. (1995). Schizophrenia susceptibility associated with interstitial deletions of chromosome 22q11. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92, 7612-7616.

Kaufmann, Ch.A., Suarez, B., Malaspina, D., Pepple, J., Svrakic, D., Markel, P.D., Meyer, J., Zambuto, C.T., Schmitt, K., Matise, T.C., Friedman, J.M.H., Hampe, C., Lee, H., Shore, D., Wynne, D., Faraone, S.V., Tsuang, M.T. & Cloninger, C.R. (1998). NIMH Genetics Initiative Millennium Schizophrenia Consortium: Linkage analysis of african-american pedigrees. *American Journal of Medical Genetics*, 81, 282-289.

Kelly, D., Goldberg, R., Wilson, D., Lindsay, E., Carrey, A., Goodship, J., Burn, J., Cross, I., Shprintzen, R.J. & Scambler, P.J. (1993). Confirmation that the velo-cardio-facial syndrome is associated with haplo-insufficiency of genes at chromosome 22q11. *American Journal of Medical Genetics*, 45, 308-312.

Kendler, K.S., Myers, J.M., O'Neill, F.A., Martin, R., Murphy, B., MacLean, C.J., Ealsh, D. & Straub, R.E. (2000). Clinical features of schizophrenia and linkage to chromosomes 5q, 6p, 8p and 10p in the Irish study High-Density Schizophrenia Families. *American Journal of Psychiatry*, 157, 402-408.

Kety, S.S. (1967). Current biochemical approaches to schizophrenia. *New England Journal of Medicine*, 276, 325-331.

Kneavel, M., Gogos, J., Karayiorgou, K. & Luine, V. (2000). Interaction of COMT gene deletion and environment on cognition. *Abstracts of the Society for Neuroscience*, 26, 1535.

Kotler, M., Barak, P., Cohen, H., Averbuch, I.E., Grinshpoon, A., Gritsenko, I., Nemanov, I. & Ebstein, R.P. (1999). Homicidal behavior in schizophrenia associated with a genetic polymorphism determining low catechol-O-methyltransferase (COMT) activity. *American Journal of Medical Genetics*, 88, 628-633.

Krebs, M.O., Guillin, O., Bourdell, M.C., Schwartz, J.C., Olie, J.P., Poirier, M.F. & Sokoloff, P. (2000). Brain derived neurotropic factor (BDNF) gene variants association with age at onset and therapeutic response in schizophrenia. *Molecular Psychiatry*, 5, 558-562.

Kunugi, H., Vallada, H.P., Sham, P.C., Hoda, F., Arranz, M.J., Li, T., Nanko, S., Murray, R.M., McGuffin, P., Owen, M., Gill, M. & Collier, D.A. (1997). Catechol-O-methyltransferase polymorphism and schizophrenia: a transmission disequilibrium study in multiply affected families. *Psychiatric Genetics*, 7, 97-101.

Lachman, H.M., Papolos, D.F., Saito, T., Yu, Y.-M., Szumlanski, C.L. & Weinshilboum, R.M. (1997). Human catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics: description of a functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders. *Pharmacogenetics*, 6, 243-250.

Lachman, H.M., Nolan, K.A., Mohr, P., Saito, T. & Volavka, J. (1998). Association between catechol-O-methyltransferase genotype and violence in schizophrenia and schizoaffective disorder. *American Journal of Psychiatry*, 155, 835-837.

Lasseter, V.K., Pulver, A.E., Wolyniec, P.S., Nestadt, G., Meyers, D., Karayiorgou, M., Housman, D.E., Antonarakis, S., Kazazian, H.H., Kasch, L., Bobb, R., Kimberland, M. & Childs, B. (1995). Follow-up report of potential linkage for schizophrenia on chromosome 22q: part 3. *American Journal of Medical Genetics*, 60, 172-173.

Lee, S.-G., Joo, Y., Kim, B., Chung, S., Kim, H.-L., Lee, I., Choi, B., Kim, C. & Song, K. (2005). Association of Ala72Ser polymorphism with COMT enzyme activity and the risk of schizophrenia in Koreans. *Human Genetics*, 116, 319-328.

Leonhard, K. (1956). Aufteilung der endogenen Psychosen. Akademie, Berlin.

Leonhard, K. (1975). Ein dominanter und ein rezessiver Erbgang bei zwei verschiedenen Formen von Schizophrenie. *Nervenarzt*, 46, 242-248.

Leonhard, K. (1995). Aufteilung der endogenen Psychosen und ihre differenzierte Ätiologie (7. überarbeitete und erweiterte Aufl.). Stuttgart: Thieme.

Levinson, D.F. (1999). Psychiatric genetic – a current perspective. *Handbook of Molecular Techniques for Brain and Behavior Research*. Crusio, W. & Gerlai, R.T. Elsevier Science. 13, 753-772.

Levinson, D.F., Holmans, P., Straub, R.E., Owen, M.J., Wildenauer, D.B., Gejman, P.V., Pulver, A.E., Laurent, C., Kendler, K.S., Walsh, D., Norton, N., Williams, N.M.,

Schwab, S.G., Lerer, B., Mowry, B.J., Sanders, A.R., Antonarakis, S.E., Blouin, J.L. et al. (2000). Multicenter linkage study of schizophrenia candidate regions on chromosome 5q, 6q, 10p and 13q: schizophrenia linkage collaborative group III. *American Journal of Genetics*, 67, 652-663.

Lewin, B. (2002). *Molekularbiologie der Gene*. Heidelberg, Berlin: Spektrum akademischer Verlag.

Licinio, J. (2003). Molecular Psychiatry: moving away from one-polymorphism genetic association studies. *Molecular Psychiatry*, 8, 247.

Lie, T., Ball, D., Zhao, J., Murray, R.M., Liu, X., Sham, P.C. & Collier, D.A. (2000). Family-based linkage disequilibrium mapping using SNP marker haplotypes: application to a potential locus for schizophrenia at chromosome 22q11. *Molecular Psychiatry*, 5, 77-84.

Lie, T., Sham, P.C., Vallada, H., Xie, T., Tang, X., Murray, R.M., Liu, X. & Collier, D.A. (1996). Preferential transmission of the high activity allele of COMT in schizophrenia. *Psychiatric Genetics*, 6, 131-133.

Liou, Y.-J., Tsai, A.-J., Hong, C.-J. & Wang, Y.-C. (2001). Association analysis of a functional catechol-O-methyltransferase gene polymorphism in schizophrenic patients in Taiwan. *Neuropsychobiology*, 43, 11-14.

Lotta, T., Vidgren, J., Tilgmann, C., Ulmanen, I., Melen, K., Julkunen, I. & Taskinen, J. (1995). Kinetics of human soluble and membrane-bound catechol-O-methyltransferase: A revised mechanism of the termolabile variant of the enzyme. *Biochemistry*, 34, 4202-4210.

Lundström, K., Salminen, M., Jalonko, A., Savolainen, R. & Ulmanen, I. (1991). Cloning and characterization of human placental catechol-O-methyltransferase cDNA. *DNA Cell Biology*, 10, 181-189.

Lundström, K., Tenhunen, J., Tilgmann, C., Karhunen, T., Panula, P. & Ulmanen, I. (1995). Cloning, expression and structure of catechol-O-methyltransferase. *Biochem Biophys Acta Prot Struct Mol Enzymol*, 1251, 1-10.

Machleidt, W., Garlipp, P. & Haltenhof, H. (2004). Schizophrenie: Behandlungspraxis zwischen speziellen Methoden und integrativen Konzepten. Stuttgart: Schattauer.

Männistö, P.T. & Kaakkola, S. (1999). Catechol-O-methyltransferase (COMT): Biochemistry, molecular biology, pharmacology and clinical efficacy of the new selective COMT inhibitors. *Pharmacological Reviews*, 51, 593-628.

Matsumoto, M., Weickert, C., Akil, M., Lipska, B.K., Hyde, T.M., Herman, M.M., Kleinman, J.E. & Weinberger, D.R. (2003). Catechol-O-methyltransferase mRNA expression in human and rat brain: Evidence for a role in cortical neuronal function. *Neuroscience*, 116-127-137.

Malhotra, A.K., Kestler, L.J., Mazzanti, C., Bates, C.A., Goldberg, T. & Goldman, D. (2002). A functional polymorphism in the COMT-gene and performance on a test of prefrontal cognition. *American Journal of Psychiatry*, 159, 652-654.

Mattey, V.S., Goldberg, T.E., Fera, F., Hairi, A.R., Tessitore, A., Egan, M.F. et al. (2003). Catechol-O-methyltransferase val158-met genotype and individual variation in the brain response to amphetamine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100, 6186-6191.

McGuffin, P., Owen, M.J & Farmer, A.E. (1995). Genetic basis of schizophrenia. *Lancet*, 9, 378-382.

Möller, H.-J. & Müller, N. (1998). Schizophrenie – Moderne Konzepte zu Diagnostik, Pathogenese und Therapie. Wien, New York: Springer.

Moises, H.W., Yang, L., Havsteen, B., Fimmers, R., Baur, M.P., Liu, X. & Gottesman I.I. (1995). Potential linkage disequilibrium between schizophrenia and locus D22S278 on the long arm of chromosome 22. *American Journal of Medical Genetics*, 60, 465-467.

Müller, P. (1999). Therapie der Schizophrenie: Integrative Behandlung in Klinik, Praxis und Rehabilitation. Stuttgart: Thieme.

Munafò, M.R., Bowes, L., Clark, T.G. & Flint, J. (2005). Lack of association of the COMT (Val(158/108)Met) gene and schizophrenia: a meta-analysis of case-control studies. *Molecular Psychiatry*, 10, 769-476.

Murphy, B.C., O'Reilly, R.L. & Singh, S.M. (2005). Site-specific cytosine methylation in S-COMT promoter in 31 brain regions with implications for studies involving schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 133, 37-42.

Ohmori, O., Shinkai, T., Kojima, H., Terao, T., Suzuki, T., Mita, T. & Abe, K. (1998). Association study of a functional catechol-O-methyltransferase gene polymorphism in Japanese schizophrenics. *Neuroscience Letters*, 243, 109-112.

Owen, M.J. & Cardno, A.G. (1999). Psychiatric genetics: progress, problems, and potential. *Lancet*, 354, 1-4.

Palmatier, M.A., Kang, A.M. & Kidd, K.K. (1999). Global variation in frequencies of functionally different catechol-O-methyltransferase alleles. *Biological Psychiatry*, 46, 557-567.

Palmatier, M.A., Pakstis, A.J., Speed, W., Paschou, P., Odunsi, A., Okonofua, F., Kajuna, S., Karoma, N., Kungulilo, S., Grigorenko, E., Zhukova, O.V., Bonne-Tamir, B., Lu, R.-B., Parnas, J., Kidd, J.R., DeMille, M.M.C. & Kidd, K.K. (2004). COMT

haplotypes suggest P2 promoter region relevance for schizophrenia. *Molecular Psychiatry*, 9, 859-870.

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. *Journal of Affective Disorders*, 83 (1), 11-19.

Poeck, K. & Hacke, W. (2001). Neurologie (11. überarbeitete und aktualisierte Auflage). Berlin, Heidelberg: Springer.

Polymeropoulos, M.H., Coon, H., Byerley, W., Gershon, E.S., Goldin, L., Crow, T.J., Rubenstein, J., Hoff, M., Holik, J., Smith, A.M. et al. (1994). Search for a schizophrenia susceptibility locus on human chromosome 22. *American Journal of Medical Genetics*, 54, 93-99.

Rey, E.-R. & Thurm, I. (1994). Schizophrenien. In H. Reinecker (Hrsg.), *Lehrbuch der klinischen Psychologie* (503-525). Göttingen: Hogrefe.

Rosenthal, D., Wender, P., Kety, S.S., Schulsinger, F., Welner, J. & Ostergaard, L. (1968). Schizophrenics offspring reared in adoptive homes. In *The Transmission of Schizophrenia*, ed. D. Rosenthal & S.S. Kety. Oxford: Pergamon Press.

Roth, J.A. (1992). Membrane-bound catechol-O-methyltransferase: A reevaluation of its role in the o-methylation of the catecholamine neurotransmitters. *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, 120, 1-29.

Salminen, M., Lundström, K., Tilgmann, C., Salovainen, R., Kalkkinen, N. & Ulmanen, I. (1990). Molecular cloning and characterization of rat liver catechol-O-methyltransferase. *Gene*, 93, 241-247.

Scambler, P.J., Kelly, D., Lindsay, E., Williamson, R., Goldberg, R., Shprintzen, R., Wilson, D.I., Goodship, J.A., Cross, I.E. & Burn, J. (1992). Velo-cardio-facial

syndrome associated with chromosome 22 deletions encompassing the DiGeorge locus. *Lancet*, 339, 1138-1139.

Schwab, S.G., Lerer, B., Albus, M., Maier, W., Hallmayer, J., Fimmers, R., Lichtermann, D., Minges, J., Bondy, B., Ackenheil, M., Altmark, D., Hasib, D., Gur, E., Ebstein, R.P. & Wildenauer, D.B. (1995). Potential linkage for schizophrenia on chromosome 22q12-q13: a replication study. *American Journal of Medical Genetics*, 60, 436-443.

Shaw, S.H., Kelly, M., Smith, A.B., Shields, G., Hopkins, P.J., Loftus, J., Laval, S.H., Vita, A., Hert De, M., Cardon, L.R., Crow, T.J., Sherrington, R. & DeLisi, L.E. (1998). A genome-wide search for schizophrenia susceptibility genes. *American Journal of Medical Genetics*, 8, 364-376.

Shifman, S., Bronstein, M., Sternfeld, M., Pisanté-Shalom, A., Lev-Lehman, E., Weizman, A., Reznik, I., Spivak, B., Grisaru, N., Karp, L., Schiffer, R., Kotler, M., Strous, R.D., Swartz-Vanetik, M., Knobler, H.Y., Shinar, E., Beckmann, J.S., Yakir, B. et al. (2002). A highly significant association between a COMT haplotype and schizophrenia. *American Journal of Human Genetics*, 71, 1296-1302.

Shprintzen, R.J., Goldberg, R., Goldberg-Kusher, K.J. & Marion, R. (1992). Late-onset psychosis in the velo-cardio-facial syndrome. *American Journal of Medical Genetics*, 42, 141-142.

Simon, A.E., Merlo, M.C.G. & Ferrero, F. (2001). Psychoses schizophréniques débutantes: reconnaissance et intervention. *Archives suisses de neurologie et de psychiatrie*, 152, 217-225.

Stöber, G., Saar, K., Ruschendorf, F., Meyer, J., Nurnberg, G., Jatzke, S., Franzek, E., Reis, A., Lesch, K.P., Wienker, T.F. & Beckmann, H. (2000). Splitting schizophrenia: periodic catatonia-susceptibility locus on chromosome 15q15. *American Journal of Human Genetics*, 67, 1201-1207.

Stöber, G. (2001). Genetic predisposition and environmental causes in periodic and systematic catatonia. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 251, 21-24.

Stöber, G., Franzek, E., Haubitz, I., Pfuhlmann, B. & Beckmann, H. (1998). Gender differences and age of onset in the catatonic subtypes of schizophrenia. *Psychopathology*, 31, 307-312.

Stöber, G., Franzek, E., Lesch, K.H. & Beckmann, H. (1995). Periodic catatonia: a schizophrenic subtype with major gene effect and anticipation. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 245, 135-141.

Stöber, G., Kocher, I., Franzek, E. & Beckmann, H. (1997). First-trimester maternal gestational infection and cycloid psychosis. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 95, 319-324.

Strous, R.D., Bark, N., Woerner, M. & Lachman, M. (1997). Lack of association of a functional catechol-O-methyltransferase gene polymorphism in schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 41, 493-495.

Strous, R.D., Lapidus, R., Viglin, D., Kotler, M & Lachman, H.M. (2006). Analysis of an association between the COMT polymorphism and clinical symptomatology in schizophrenia. *Neuroscience Letters*, 393, 170-173.

Strik, W.K., Dierks, T., Franzek, E., Maurer, K. & Beckmann, H. (1993). Differences in P300-Amplitude and topography between cycloid psychosis and schizophrenia in Leonhard's classification. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 87, 179-183.

Strik, W.K., Fallgatter, A.J., Stöber, G., Franzek, E. & Beckmann, H. (1996). Specific P300 features in patients with cycloid psychosis. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 94, 471-476.

Syvänen, A.C., Tilgmann, C., Rinne, J. & Ulmanen, I. (1997). Genetic polymorphism of catechol-O-methyltransferase (COMT): correction of genotype with individual variation of S-COMT activity and comparison of the allele frequencies in the normal population and Parkinsonian patients in Finland. *Pharmacogenetics*, 7, 65-71.

Takahashi, S., Cui, Y.-h., Kojima, T., Han, Y.-h., Zhou, R.-l., Kamioka, M., Yu, S.-y., Matsuura, M., Matsushima, E., Wilcox, M, Arinami, T., Shen, Y.-c., Faraone, S. V. & Tsuang, M.T. (2003). Family based association study of markers on chromosome 22 in schizophrenia using african-american, european-american and chinese families. *American Journal of Medical Genetics, Part B*, 120B, 11-17.

Tenhunen, J., Salminen, M., Lundström, K., Kiviluoto, T., Savolainen, R. & Ulmanen, I. (1994). Genomic organization of the human catechol-O-methyltransferase gene and its expression from two distinct promoters. *European Journal of Biochemistry*, 223, 1049-1059.

Tienari, F. (1991). Gene-environment interaction in adoptive families. In H. Häfner & W.F. Gattaz (Hrsg.), *Search for the causes of Schizophrenia* (126-143). Heidelberg: Springer.

Thompson, J., Thomas, N., Singleton, A., Piggot, M., Lloyd, S., Perry, E.K. et al. (1997). D₂ dopamine receptor gene (DRD2) *TaqI* A polymorphism: reduced dopamine D2 receptor binding in the human striatum associated with the A1 allele. *Pharmacogenetics*, 7, 479-484.

Tsai, S.J., Hong, C.-J., Hou, S.-J. & Yen, F.-C. (2006). Lack of association of catechol-o-methyltransferase gene Val108/158Met polymorphism with schizophrenia: a family-based association study in a Chinese population. *Molecular Psychiatry*, 11, 2-3.

Tunbridge, E.M., Harrison, P.J. & Weinberger, D.R. (2006a). Catechol-o-methyltransferase, cognition and psychosis: Val158Met and beyond. *Biological Psychiatry*, 60, 141-151.

Tunbridge, E.M., Weinberger, D.R. & Harrison, P.J. (2006b). A novel protein isoform of catechol-O-methyltransferase (COMT): brain expression analysis in schizophrenia and bipolar disorder and effect of Val¹⁵⁸Met genotype. *Molecular Psychiatry*, 11, 116-117.

Vallada, H., Curtis, D., Sham, P.C., Murray, R.M., McGuffin, P., Nanko, S., Gill, M., Owen, M. & Collier, D.A. (1995a). Chromosome 22 markers demonstrate transmission disequilibrium with schizophrenia. *Psychiatric Genetics*, 5, 127-130.

Vallada, H., Gill, M., Sham, P., Lim, L.C.C., Nanko, S., Asherson, P., Murray, R.M., McGuffin, P., Owen, M. & Collier, D. (1995b). Linkage studies on chromosome 22 in familial schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics*, 60, 139-146.

Varilo, T., Paunio, T., Parker, A., Perola, M., Meyer, J., Terwilliger, J.D. & Peltonen, L. (2003). The interval of linkage disequilibrium (LD) detected with mikrosatellite and SNP markers in chromosomes of Finnish populations with different histories. *Human Molecular Genetics*, 12, 1092-1100.

Warkentin, S., Nilson, A., Karlson, S., Risberg, J., Franzen, G. & Gustafson, L. (1992). Cycloid psychoses: regional cerebral blood flow correlates of psychotic episode. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 85, 23-29.

Waterworth, D.M., Bassett, A.S. & Brzustowicz, L.M. (2002). Recent advances in the genetics of schizophrenia. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 59, 331-348.

Weinberger, D.R. (2005). Genetic Mechanisms of Psychosis: In vivo and postmortem genomics. *Clinical Therapeutics*, 27, 8-15.

Weinshilboum, R.M. (1978). Human biochemical genetics of plasma dopamine-beta-hydroxylase and erythrocyte catechol-O-methyltransferase. *Human Genetics, Supplement*, 1, 101-112.

Wikimedia: <http://commons.wikimedia.org/wiki/Image:Dopaminabbau.png>.

Wildenauer, D.B. & Schwab, S.G. (2004). Genetik schizophrener Erkrankungen. In H. Remschmidt, *Schizophrene Erkrankungen im Kindes- und Jugendalter*. Stuttgart: Schattauer.

Williams, J., McGuffin, P., Nothen, M. & Owen, M.J. (1997). Meta-analysis of association between the 5-HT_{2a} receptor T102C polymorphism and schizophrenia. EMASS Collaboration Group. European Multicentre Association Study of Schizophrenia. *Lancet*, 349, 1221.

Xie, T., Ho, S.L. & Ramsden, D.B. (1999). Characterization and implications of estrogenic down-regulation of human catechol-O-methyltransferase gene transcription. *Molecular Pharmacology*, 56, 365-370.

Zhu, B.T. (2002). Catechol-O-methyltransferase (COMT)-mediated methylation metabolism of endogenous bioactive catechols and modulation by endobiotics and xenobiotics: importance in pathophysiology and pathogenesis. *Current Drug Metabolism*, 3(3), 321-349.

ANHANG

Tab. 3: Eingesetzte Materialien

Geräte	Hersteller
Autoklav	
Easypen	Eppendorf, Köln
Gel-Blotting-Papier (GB002 580 x 600 mm)	Schleicher & Schuell, Dassel
Gelkammer (für RFLP-Gele) mit Kämmen	Biometra, Göttingen
Gelkammer (ComPhor Mini für Agarosegele) mit Kämmen	Biozym, Oldendorf
Gelkammer (ComPhor Midi für Agarosegele) mit Kämmen	Biozym, Oldendorf
Geltrockner	Biometra, Göttingen
Glasplatten	Biometra, Göttingen
Mehrfachpipette (Biozym PreCision 5-100 µl)	Biozym, Oldendorf
Nunc Cryo Tube™ Vials (1.0 ml)	NUNC™ Brand Products, Dänemark
Pasteur-Pipetten (Kunststoff, Flint glass)	Chase Instruments Corp., Glens Falls/NY
Pasteur-Pipetten (Glas, 3 ml)	Hartenstein, Würzburg
PCR-Maschine (Biometra Uno-Thermoblock)	Biometra, Göttingen
PCR-Maschine (T Gradient)	Biometra, Göttingen
PCR 8er-Soft- und Capstrips (0.2 ml, farblos)	Biozym, Oldendorf
Photometer	Eppendorf, Hamburg
Pipetten (0.5-10 µl, 2-20 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl)	Corning Lambda
Pipettenspitzen gelb, blau	Eppendorf, Hamburg
Reaktionsgefäße (1.5 ml)	Eppendorf, Hamburg
Röhre (50 ml)	Sarstedt, Nümbrecht
Rüttler (Vortex Genie 2)	Scientific Industries
Schüttler Vibrax	IKA-Labortechnik, Staufen
Serologische Pipetten (10 ml, 25 ml)	Sarstedt, Nümbrecht
Spannungsquelle (Consort Power Supply E844)	PeqLab, Erlangen
Spannungsquelle (Standard Power Pack P25)	Biometra, Göttingen
Thermo-Cycler „Uno-Thermoblock“	Biometra, Göttingen
Tisch-Zentrifuge (5417R)	Eppendorf, Hamburg
UVette (220-1600 nm)	Eppendorf, Hamburg
UV-Leuchttisch (312 nm)	PeqLab, Erlangen
Waage (Scaltec SAS 62)	Scaltec, Göttingen
Wasserbad	GFL, Burgwedel
96-Well Plate Round Bottom	Sarstedt, Newton/USA
Zentrifuge Rotana 96 RS	Hettich
Zentrifuge Megafuge 1.0 R	Heraeus

Tab. 3: Fortsetzung

Chemikalien	Hersteller
Acrylamid (C ₃ H ₅ NO)	Roth, Karlsruhe
Ammoniumchlorid (NH ₄ Cl)	Merck, Darmstadt
Ammoniumperoxodisulfat ((NH ₄) ₂ S ₂ O ₈)	Merck, Darmstadt
Bisacrylamid	Roth, Karlsruhe
Borsäure (BH ₃ O ₃)	AppliChem, Darmstadt
PeqGOLD 100 bp DNA-Leiter incl. Ladepuffer	PeqLab, Erlangen
EDTA-Lösung pH 8.0 (0.5 M)	AppliChem, Darmstadt
Essigsäure 100 % (C ₂ H ₄ O ₂)	Roth, Karlsruhe
Ethanol 100 % (C ₂ H ₅ OH)	Apotheke des Klinikums der Universität Würzburg
Ethidiumbromid ≥ 98,5 % (C ₂₁ H ₂₀ BrN ₃)	Roth, Karlsruhe
Ficoll	Sigma, Schnelldorf
Formaldehydlösung mind. 37 % (CH ₂ O)	Merck, Darmstadt
Formamid (NH ₂ CHO)	Amresco, USA
Isopropanol (CH ₃ CH(OH)CH ₃)	Apotheke des Klinikums der Universität Würzburg
Natriumbicarbonat (Na ₂ CO ₃)	Merck, Darmstadt
Natriumchlorid (NaCl)	Merck, Darmstadt
N,N'-Methylenbisacrylamid (C ₇ H ₁₀ N ₂ O ₂)	Roth, Karlsruhe
2-Propanol (CH ₃ CH(OH)CH ₃)	Merck, Darmstadt
SeaKem LE Agarose	Cambrex, Rockland/USA
Salpetersäure 65 % (HNO ₃)	Merck, Darmstadt
Natriumdodecylsulfat 10 % (C ₁₂ H ₂₅ NaO ₄ S)	Roth, Karlsruhe
Silbernitrat 0.05 % (AgNO ₃)	Sigma, Schnelldorf
TEMED p.a. 99 % (C ₆ H ₁₆ N ₂)	Roth, Karlsruhe
Tris (C ₄ H ₁₁ NO ₃)	AppliChem, Darmstadt
Wasser doppeldestilliert (ddH ₂ O)	Merck, Darmstadt
Nucleotide	Hersteller
PeqGOLD dNTP-Set (je 12,5 µl dATP, dTTP, dGTP, dCTP)	PeqLab, Erlangen
Enzyme	Hersteller
Taq-DNA-Polymerase	Peqlab, Erlangen
Pronase E von Streptomyces	SERVA, Heidelberg
HindIII (20000 U/ml)	BioLabs, Frankfurt
MspI (20000 U/ml)	BioLabs, Frankfurt
NlaIII (10000 U/ml)	BioLabs, Frankfurt
PmlI (20000 U/ml)	BioLabs, Frankfurt
BclI (15000 U/ml)	BioLabs, Frankfurt

Tab. 3: Fortsetzung
Puffer und Lösungen

Kernlysispuffer	10 ml 1 M TrisHCl pH 8, 80 ml 5 M NaCl, 4 ml 0,5 M EDTA add 1000 ml ddH ₂ O
Ladepuffer	100 µl Blau-Puffer, 600 µl Formamid
Lysispuffer	155 ml 1 M NH ₄ Cl, 10 ml 1 M KHCO ₃ , 200 µl 0,5 M EDTA add 1000 ml ddH ₂ O
PAA 10 %	98 g Acrylamid, 2 g Bisacrylamid, 1 ml TEMED add 1000 ml 0,5 TBE
Stop-Puffer	10 ml 5 x TBE, 20 ml 20 % Ficoll, 5 ml Bromphenol, 15 ml ddH ₂ O
TAE 25 %	28,55 ml Essigsäure, 121 g Tris, 50 ml 0,5 M EDTA add 1000 ml ddH ₂ O
TBE 5 %	210 Tris, 110 g Borsäure, 80 ml 0,5 M EDTA add 4000 ml ddH ₂ O
TE ⁻⁴ -Puffer	2 ml 1 M Tris HCl pH 8, 40 µl 0,5 M EDTA add 200 ml ddH ₂ O

Tab. 3: Fortsetzung

Primer

SNP	Primer	
rs2097603 (5'-UTR)	Vorwärtsprimer: 5'-GCATTATCCCCCTAAGTCTCG Rückwärtsprimer: 5'-GCATCAAAAGGAGGAAAAAGG PCR-Produktlänge: 204 bp Restriktionsenzym: HindIII WT 96 + 108 MT 204	Tm = 60.4 Tm = 60.2
rs740603 (Intron 1)	Vorwärtsprimer: 5'-AGGTGTCAAGCCCAGCTG Rückwärtsprimer: 5'-AGGTCCACATTCCCTCCTCT PCR-Produktlänge: 191 bp Restriktionsenzym: PmlI WT 63 + 128 MT 191	Tm = 60 Tm = 59.9
rs4818 (Exon 4)	Vorwärtsprimer: 5'-CCTGGGGATCCAAGTTCC Rückwärtsprimer: 5'-CCCTTTTCCAGGTCTGACA PCR-Produktlänge: 299 bp Restriktionsenzym: BclI WT 115 + 184 MT 299	Tm = 60.3 Tm = 60.1
rs4680 (Exon 4)	Vorwärtsprimer: 5'-ACTGTGGCTACTCAGCTGTG Rückwärtsprimer: 5'-TACTGGAATGCCTGGCTCTT PCR-Produktlänge: 169 bp Restriktionsenzym: NlaIII WT 18 + 26 + 29 + 96 MT 26 + 29 + 114	Tm = 60.2 Tm = 60.0
rs165599 (3'-UTR)	Vorwärtsprimer: 5'-TGTTGTATAGGTGTGTAGGGATGG Rückwärtsprimer: 5'-TACTGGAATGCCTGGCTCTT PCR-Produktlänge: 218 bp Restriktionsenzym: MspI WT 218 MT 54 + 164	Tm = 60.1 Tm = 59.8

Tab. 5.1.1: Test auf Hardy-Weinberg-Gleichgewicht

SNP		HWE ¹	
		χ^2	p-Wert
rs2097603	Fälle	1.98	0.15906
	Kontrollen	2.23	0.13494
rs740603	Fälle	0.29	0.59086
	Kontrollen	0.96	0.32690
rs4818	Fälle	15.67	0.00008
	Kontrollen	0.66	0.41739
rs4680	Fälle	2.09	0.14779
	Kontrollen	1.71	0.19121
rs165599	Fälle	2.29	0.13003
	Kontrollen	1.78	0.18268

¹ HWE: Hardy-Weinberg-Gleichgewicht

Tab. 5.1.2: Paarweises Kopplungsungleichgewicht. LD bei Kontrollen.

Obere Hälfte: |D'|, unter Hälfte: p

SNP	rs2097603	rs740603	rs4818	rs4680	rs165599
rs2097603	-	.70	.23	.37	.53
rs740603	.60	-	.54	.49	.33
rs4818	.16	.42	-	.96	.17
rs4680	.31	.49	.76	-	.62
rs165599	.27	.19	.13	.37	-

Tab. 5.1.3: Paarweises Kopplungsungleichgewicht. LD bei Fällen.

Obere Hälfte: |D'|, unter Hälfte: p

SNP	rs2097603	rs740603	rs4818	rs4680	rs165599
rs2097603	-	.58	.32	.38	.32
rs740603	.53	-	.50	.43	.35
rs4818	.19	.33	-	.81	.20
rs4680	.28	.36	.65	-	.55
rs165599	.16	.19	.17	.37	-

Tab. 5.1.9: Vergleich der Allel- und Genotypverteilung bei zykliden Psychosen (n = 147) und Kontrollen (n = 150)

SNP		Allel		p-Wert ¹	Genotyp			p-Wert ²
		1	2		11	12	22	
rs2097603	Fälle	103 (35.03%)	191 (64.97%)	0.0918	22 (14.97%)	59 (40.14%)	66 (44.90%)	0.0809
	Kontrollen	126 (42.00%)	174 (58.00%)		22 (14.67%)	82 (54.67%)	46 (30.67%)	
rs740603	Fälle	115 (39.12%)	179 (60.88%)	0.0105	18 (12.24%)	79 (53.74%)	50 (34.01%)	0.0067
	Kontrollen	149 (49.67%)	151 (50.33%)		34 (22.67%)	81 (54.00%)	35 (23.33%)	
rs4818	Fälle	118 (40.14%)	176 (59.86%)	0.6144	17 (11.56%)	84 (57.14%)	46 (31.29%)	0.5819
	Kontrollen	114 (38.00%)	186 (62.00%)		24 (16.00%)	66 (44.00%)	60 (40.00%)	
rs4680	Fälle	142 (48.30%)	152 (51.70%)	0.6235	28 (19.05%)	86 (58.50%)	33 (22.45%)	0.5933
	Kontrollen	151 (50.33%)	149 (49.67%)		34 (22.67%)	83 (55.33%)	33 (22.00%)	
rs165599	Fälle	198 (67.35%)	96 (32.65%)	0.0866	66 (44.90%)	66 (44.90%)	15 (10.20%)	0.0666
	Kontrollen	222 (74.00%)	78 (26.00%)		79 (52.67%)	64 (42.67%)	7 (4.67%)	

¹ Fisher's Exakter Test; ² Armitage's Trend Test

Tab. 5.1.10: Vergleich der Allel- und Genotypverteilung bei systematischen Schizophrenien (n = 142) und Kontrollen (n = 150)

SNP		Allel		p-Wert ¹	Genotyp			p-Wert ²
		1	2		11	12	22	
rs2097603	Fälle	115 (40.49%)	169 (59.51%)	0.7370	26 (18.31%)	63 (44.37%)	53 (37.32%)	0.7082
	Kontrollen	126 (42.00%)	174 (58.00%)		22 (14.67%)	82 (54.67%)	46 (30.67%)	
rs740603	Fälle	113 (39.79%)	171 (60.21%)	0.0197	19 (13.38%)	75 (52.82%)	48 (33.80%)	0.0124
	Kontrollen	149 (49.67%)	151 (50.33%)		34 (22.67%)	81 (54.00%)	35 (23.33%)	
rs4818	Fälle	108 (38.03%)	176 (61.97%)	1.0000	12 (8.45%)	84 (59.15%)	46 (32.39%)	0.9941
	Kontrollen	114 (38.00%)	186 (62.00%)		24 (16.00%)	66 (44.00%)	60 (40.00%)	
rs4680	Fälle	147 (51.76%)	137 (48.24%)	0.7411	35 (24.65%)	77 (54.23%)	30 (21.13%)	0.7168
	Kontrollen	151 (50.33%)	149 (49.67%)		34 (22.67%)	83 (55.33%)	33 (22.00%)	
rs165599	Fälle	194 (68.31%)	90 (31.69%)	0.1436	64 (45.07%)	66 (46.48%)	12 (8.45%)	0.1122
	Kontrollen	222 (74.00%)	78 (26.00%)		79 (52.67%)	64 (42.67%)	7 (4.67%)	

¹ Fisher's Exakter Test; ² Armitage's Trend Test

Tab. 5.1.11: Vergleich der Allel- und Genotypverteilung bei unsystematischen Schizophrenien (n = 170) und Kontrollen (n = 150)

SNP		Allel		p-Wert ¹	Genotyp			p-Wert ²
		1	2		11	12	22	
rs2097603	Fälle	114 (33.53%)	226 (66.47%)	0.0333	19 (11.18%)	76 (44.71%)	75 (44.12%)	0.0232
	Kontrollen	126 (42.00%)	174 (58.00%)		22 (14.67%)	82 (54.67%)	46 (30.67%)	
rs740603	Fälle	145 (42.65%)	195 (57.35%)	0.0807	36 (21.18%)	73 (42.94%)	61 (35.88%)	0.0799
	Kontrollen	149 (49.67%)	151 (50.33%)		34 (22.67%)	81 (54.00%)	35 (23.33%)	
rs4818	Fälle	133 (39.12%)	207 (60.88%)	0.8073	21 (12.35%)	91 (53.53%)	58 (34.12%)	0.7679
	Kontrollen	114 (38.00%)	186 (62.00%)		24 (16.00%)	66 (44.00%)	60 (40.00%)	
rs4680	Fälle	168 (49.41%)	172 (50.59%)	0.8741	43 (25.29%)	82 (48.24%)	45 (26.47%)	0.8131
	Kontrollen	151 (50.33%)	149 (49.67%)		34 (22.67%)	83 (55.33%)	33 (22.00%)	
rs165599	Fälle	242 (71.18%)	98 (28.82%)	0.4780	82 (48.24%)	78 (45.88%)	10 (5.88%)	0.3967
	Kontrollen	222 (74.00%)	78 (26.00%)		79 (52.67%)	64 (42.67%)	7 (4.67%)	

¹ Fisher's Exakter Test; ² Armitage's Trend Test

Tab. 5.1.12: Allel- und Genotypverteilung, P-Werte (zykloide Psychosen)

Häufigkeit (%)														
SNP	Stichprobe		G		G/G		A/G ^a		A/A ^b		P ¹			
	Kontr	Fälle	Kontr	Fälle	Kontr	Fälle	Kontr	Fälle	Kontr	Fälle	Genotyp	Allel	G/G	G/G, A/G ^a
rs2097603														
Frauen	63	53	59.5	67.0	30.2	47.2	58.7	39.6	11.1	13.2	.11	.24	.060	.73
Männer	87	94	56.9	63.8	31.0	43.6	51.7	40.4	17.2	16.0	.20	.18	.081	.82
Gesamt	150	147	58.0	65.0	30.7	44.9	54.7	40.1	14.7	15.0	.026	.081	.011	.94
rs740603														
Frauen	63	53	52.4	66.0	30.2	35.8	44.4	60.4	25.4	3.8	.0056	.035	.52	.0014
Männer	87	94	48.9	58.0	18.4	33.0	60.9	50.0	20.7	17.0	.082	.082	.025	.53
Gesamt	150	147	50.3	23.3	60.9	34.0	54.0	53.7	22.7	12.2	.023	.0097	.042	.018
rs4818														
Frauen	63	53	63.5	54.7	42.9	22.6	41.3	64.2	15.9	13.2	.038	.18	.022	.69
Männer	87	94	60.9	62.8	37.9	36.2	46.0	53.2	16.1	10.6	.47	.72	.81	.28
Gesamt	150	147	62.0	59.9	40.0	31.3	44.0	57.1	16.0	11.6	.075	.59	.12	.27
rs4680														
Frauen	63	53	49.2	48.1	20.6	17.0	57.1	62.3	22.2	20.8	.84	.87	.62	.85
Männer	87	94	51.1	48.4	24.1	20.2	54.0	56.4	21.8	23.4	.81	.60	.52	.80
Gesamt	150	147	50.3	48.3	22.7	19.0	55.3	58.5	22.0	22.4	.74	.62	.44	.93
rs165599														
Frauen	63	53	19.0	37.7	3.2	13.2	31.7	49.1	65.1	37.7	.0067	.0015	.044	.0033
Männer	87	94	31.0	29.8	5.7	8.5	50.6	42.6	43.7	48.9	.50	.80	.47	.48
Gesamt	150	147	26.0	32.7	4.7	10.2	42.7	44.9	52.7	44.9	.13	.075	.068	.18

^a C/G für rs4818; ^b C/C für rs4818; ¹ χ^2 -Test

Tab. 5.1.13: ORs und 95 %-Konfidenzintervalle (zykloide Psychosen)

SNP	G/G vs. A/G ^a , A/A ^b		G/G, A/G ^a vs. A/A ^b	
	OR	95 % CI	OR	95 % CI
rs2097603				
Frauen	2.07	0.97-4.43	0.82	0.27-2.51
Männer	1.72	0.93-3.16	1.10	0.50-2.40
Gesamt	1.84	1.15-2.96	0.98	0.51-1.85
rs740603				
Frauen	1.29	0.59-2.82	8.68	1.89-39.79
Männer	2.18	1.09-4.36	1.27	0.60-2.68
Gesamt	1.69	1.02-2.82	2.10	1.13-3.92
rs4818				
Frauen	0.39	0.17-0.88	1.24	0.44-3.52
Männer	0.93	0.51-1.70	1.61	0.67-3.85
Gesamt	0.68	0.42-1.10	1.46	0.75-2.84
rs4680				
Frauen	0.79	0.31-2.02	1.09	0.45-2.66
Männer	0.80	0.39-1.61	0.91	0.46-1.84
Gesamt	0.80	0.46-1.41	0.97	0.56-1.68
rs165599				
Frauen	4.64	0.92-23.39	3.08	1.44-6.57
Männer	1.53	0.48-4.85	0.81	0.45-1.45
Gesamt	2.32	0.92-5.87	1.37	0.87-2.16

^a C/G für rs4818; ^b C/C für rs4818

Tab. 5.1.14: Allel- und Genotypverteilung, P-Werte (unsystematische Schizophrenien)

Häufigkeit (%)														
SNP	Stichprobe		G		G/G		A/G ^a		A/A ^b		P ¹			
	Kontr	Fälle	Kontr	Fälle	Kontr	Fälle	Kontr	Fälle	Kontr	Fälle	Genotyp	Allel	G/G	G/G, A/G ^a
rs2097603														
Frauen	63	40	59.5	58.8	30.2	40.0	58.7	37.5	11.1	22.5	.085	.91	.30	.12
Männer	87	130	56.9	68.8	31.0	45.4	51.7	46.9	17.2	7.7	.029	.011	.034	.031
Gesamt	150	170	58.0	66.5	30.7	44.1	54.7	44.7	14.7	11.2	.046	.027	.013	.35
rs740603														
Frauen	63	40	52.4	47.5	30.2	27.5	44.4	40.0	25.4	32.5	.74	.49	.77	.43
Männer	87	130	48.9	60.4	18.4	38.5	60.9	43.8	20.7	17.7	.0063	.018	.0016	.58
Gesamt	150	170	50.3	57.4	23.3	35.9	54.0	42.9	22.7	21.2	.043	.075	.015	.75
rs4818														
Frauen	63	40	63.5	68.8	42.9	45.0	41.3	47.5	15.9	7.5	.45	.44	.83	.21
Männer	87	130	60.9	58.5	37.9	30.8	46.0	55.4	16.1	13.8	.39	.61	.27	.65
Gesamt	150	170	62.0	60.9	40.0	34.1	44.0	53.5	16.0	12.4	.23	.77	.28	.35
rs4680														
Frauen	63	40	49.2	60.0	20.6	32.5	57.1	55.0	22.2	12.5	.27	.13	.18	.22
Männer	87	130	51.1	46.2	24.1	23.1	54.0	46.2	21.8	30.8	.33	.31	.86	.15
Gesamt	150	170	50.3	49.4	22.7	25.3	55.3	48.2	22.0	26.5	.44	.82	.58	.35
rs165599														
Frauen	63	40	19.0	25.0	3.2	0.0	31.7	50.0	65.1	50.0	.12	.31	.26	.13
Männer	87	130	31.0	30.0	5.7	7.7	50.6	44.6	43.7	47.7	.65	.82	.58	.56
Gesamt	150	170	26.0	28.8	4.47	5.9	42.7	45.9	52.7	48.2	.70	.42	.63	.43

^a C/G für rs4818; ^b C/C für rs4818; ¹ χ^2 -Test

Tab. 5.1.15: ORs und 95 %-Konfidenzintervalle (unsystematische Schizophrenien)

SNP	G/G vs. A/G ^a , A/A ^b		G/G, A/G ^a vs. A/A ^b	
	OR	95 % CI	OR	95 % CI
rs2097603				
Frauen	1.54	0.67-3.54	0.43	0.15-1.27
Männer	1.85	1.04-3.27	2.50	1.07-5.86
Gesamt	1.78	1.13-2.83	1.37	0.71-2.64
rs740603				
Frauen	0.88	0.37-2.11	0.71	0.30-1.69
Männer	2.77	1.45-5.30	1.21	0.61-2.41
Gesamt	1.84	1.13-3.01	1.09	0.64-1.85
rs4818				
Frauen	1.09	0.49-2.42	2.33	0.60-9.04
Männer	0.73	0.41-1.29	1.19	0.56-2.55
Gesamt	0.78	0.49-1.22	1.35	0.72-2.54
rs4680				
Frauen	1.85	0.75-4.56	2.00	0.66-6.07
Männer	0.94	0.50-1.79	0.63	0.33-1.18
Gesamt	1.16	0.69-1.93	0.78	0.47-1.31
rs165599				
Frauen	-	-	1.86	0.83-4.18
Männer	1.37	0.45-4.15	0.85	0.49-1.47
Gesamt	1.28	0.47-3.44	1.19	0.77-1.85

^a C/G für rs4818; ^b C/C für rs4818

Tab. 5.1.16: Allel- und Genotypverteilung, P-Werte (systematische Schizophrenien)

Häufigkeit (%)														
SNP	Stichprobe		G		G/G		A/G ^a		A/A ^b		P ¹			
	Kontr	Fälle	Kontr	Fälle	Kontr	Fälle	Kontr	Fälle	Kontr	Fälle	Genotyp	Allel	G/G	G/G, A/G ^a
rs2097603														
Frauen	63	27	59.5	63.0	30.2	40.7	58.7	44.4	11.1	14.8	.46	.67	.33	.62
Männer	87	115	56.9	58.7	31.0	36.5	51.7	44.3	17.2	19.1	.58	.72	.42	.73
Gesamt	150	142	58.0	59.5	30.7	37.3	54.7	44.4	14.7	18.3	.21	.71	.23	.40
rs740603														
Frauen	63	27	52.4	59.3	30.2	29.6	44.4	59.3	25.4	11.1	.26	.40	.96	.13
Männer	87	115	48.9	60.4	18.4	34.8	60.9	51.3	20.7	13.9	.031	.020	.010	.20
Gesamt	150	142	50.3	60.2	23.3	33.8	54.0	52.8	22.7	13.4	.043	.016	.047	.040
rs4818														
Frauen	63	27	63.5	61.1	42.9	29.6	41.3	63.0	15.9	7.4	.16	.76	.24	.28
Männer	87	115	60.9	62.2	37.9	33.3	46.0	58.3	16.1	8.7	.13	.80	.47	.11
Gesamt	150	142	62.0	62.0	40.0	32.4	44.0	59.2	16.0	8.5	.020	.99	.18	.050
rs4680														
Frauen	63	27	49.2	55.6	20.6	25.9	57.1	59.3	22.2	14.8	.68	.43	.58	.42
Männer	87	115	51.1	50.9	24.1	24.3	54.0	53.0	21.8	22.6	.99	.96	.97	.90
Gesamt	150	142	50.3	51.8	22.7	24.6	55.3	54.2	22.0	21.1	.92	.73	.69	.86
rs165599														
Frauen	63	27	19.0	42.6	3.2	14.8	31.7	55.6	65.1	29.6	.0042	.0010	.042	.0020
Männer	87	115	31.0	29.1	5.7	7.0	50.6	44.3	43.7	48.7	.67	.68	.73	.48
Gesamt	150	142	26.0	31.7	4.7	8.5	42.7	46.5	52.7	45.1	.26	.13	.19	.19

^a C/G für rs4818; ^b C/C für rs4818; ¹ χ^2 -Test

Tab. 5.1.17: ORs und 95 %-Konfidenzintervalle (systematische Schizophrenien)

SNP	G/G vs. A/G ^a , A/A ^b		G/G, A/G ^a vs. A/A ^b	
	OR	95 % CI	OR	95 % CI
rs2097603				
Frauen	1.59	0.62-4.07	0.72	0.19-2.69
Männer	1.28	0.71-2.31	0.88	0.43-1.82
Gesamt	1.35	0.83-2.19	0.77	0.41-1.43
rs740603				
Frauen	0.98	0.36-2.61	2.72	0.72-10.27
Männer	2.37	1.22-4.60	1.61	0.77-3.38
Gesamt	1.68	1.00-2.80	1.90	1.02-3.51
rs4818				
Frauen	0.56	0.21-1.47	2.36	0.48-11.58
Männer	0.81	0.45-1.44	2.01	0.85-4.78
Gesamt	0.72	0.44-1.16	2.06	0.99-4.30
rs4680				
Frauen	1.35	0.47-3.87	1.64	0.49-5.55
Männer	1.01	0.53-1.94	0.96	0.49-1.87
Gesamt	1.12	0.65-1.92	1.05	0.60-1.84
rs165599				
Frauen	5.30	0.91-30.95	4.43	1.67-11.73
Männer	1.23	0.39-3.89	0.82	0.47-1.43
Gesamt	1.89	0.72-4.93	1.36	0.86-2.15

^a C/G für rs4818; ^b:C/C für rs4818

Tab. 5.1.18: Vergleich der Allel- und Genotypverteilung bei zyklischen Psychosen (n = 147), unsystematischen Schizophrenien (n = 170) und systematischen Schizophrenien (n = 142)

SNP		Allel		p-Wert ¹	Genotyp			p-Wert ²
		1	2		11	12	22	
rs2097603	Zykl. Psych.	103 (35.03%)	191 (64.97%)	0.1773	22 (14.97%)	59 (40.14%)	66 (44.90%)	0.3540
	Unsystem. Schizo.	114 (33.53%)	226 (66.47%)		19 (11.18%)	76 (44.71%)	75 (44.12%)	
	Syst. Schizo.	115 (40.49%)	169 (59.51%)		26 (18.31%)	63 (44.37%)	53 (37.32%)	
rs740603	Zykl. Psych.	115 (39.12%)	179 (60.88%)	0.6240	18 (12.24%)	79 (53.74%)	50 (34.01%)	0.1343
	Unsystem. Schizo.	145 (42.65%)	195 (57.35%)		36 (21.18%)	73 (42.94%)	61 (35.88%)	
	Syst. Schizo.	113 (39.79%)	171 (60.21%)		19 (13.38%)	75 (52.82%)	48 (33.80%)	
rs4818	Zykl. Psych.	118 (40.14%)	176 (59.86%)	0.8723	17 (11.56%)	84 (57.14%)	46 (31.29%)	0.7674
	Unsystem. Schizo.	133 (39.12%)	207 (60.88%)		21 (12.35%)	91 (53.53%)	58 (34.12%)	
	Syst. Schizo.	108 (38.03%)	176 (61.97%)		12 (8.45%)	84 (59.15%)	46 (32.39%)	
rs4680	Zykl. Psych.	142 (48.30%)	152 (51.70%)	0.6967	28 (19.05%)	86 (58.50%)	33 (22.45%)	0.3818
	Unsystem. Schizo.	168 (49.41%)	172 (50.59%)		43 (25.29%)	82 (48.24%)	45 (26.47%)	
	Syst. Schizo.	147 (51.76%)	137 (48.24%)		35 (24.65%)	77 (54.23%)	30 (21.13%)	
rs165599	Zykl. Psych.	198 (67.35%)	96 (32.65%)	0.5512	66 (44.90%)	66 (44.90%)	15 (10.20%)	0.7053
	Unsystem. Schizo.	242 (71.18%)	98 (28.82%)		82 (48.24%)	78 (45.88%)	10 (5.88%)	
	Syst. Schizo.	194 (68.31%)	90 (31.69%)		64 (45.07%)	66 (46.48%)	12 (8.45%)	

¹ Fisher's Exakter Test; ² Armitage's Trend Test

Tab. 5.1.19: Vergleich der Allel- und Genotypverteilung bei schizophrenen Männern (n = 339) und Frauen (n = 120)

SNP		Allel		p-Wert ¹	Genotyp			p-Wert ²
		1	2		11	12	22	
rs2097603	Frauen	88 (36.67%)	152 (63.33%)	0.8759	20 (16.67%)	48 (40.00%)	52 (43.33%)	0.8555
	Männer	244 (35.99%)	434 (64.01%)		47 (13.86%)	150 (44.25%)	142 (41.89%)	
rs740603	Frauen	100 (41.67%)	140 (58.33%)	0.7030	18 (15.00%)	64 (53.33%)	38 (31.67%)	0.7005
	Männer	273 (40.27%)	405 (59.73%)		55 (16.22%)	163 (48.08%)	121 (35.69%)	
rs4818	Frauen	94 (39.17%)	146 (60.83%)	1.0000	12 (10.00%)	70 (58.33%)	38 (31.67%)	0.9804
	Männer	265 (39.09%)	413 (60.91%)		38 (11.21%)	189 (55.75%)	112 (33.04%)	
rs4680	Frauen	129 (53.75%)	111 (46.25%)	0.1545	29 (24.17%)	71 (59.17%)	20 (16.67%)	0.1385
	Männer	328 (48.38%)	350 (51.62%)		77 (22.71%)	174 (51.33%)	88 (25.96%)	
rs165599	Frauen	157 (65.42%)	83 (34.58%)	0.1673	48 (40.00%)	61 (50.83%)	11 (9.17%)	0.1402
	Männer	477 (70.35%)	201 (29.65%)		164 (48.38%)	149 (43.95%)	26 (7.67%)	

¹ Fisher's Exakter Test; ² Armitage's Trend Test

Tab. 5.1.20: Vergleich der Allel- und Genotypverteilung bei sporadisch (n = 367) und familiär bedingten Schizophrenien (n = 92)

SNP		Allel		p-Wert ¹	Genotyp			p-Wert ²
		1	2		11	12	22	
rs2097603	Familiär	268 (36.51%)	466 (63.49%)	0.7315	57 (15.53%)	154 (41.96%)	156 (42.51%)	0.6723
	Sporadisch	64 (34.78%)	120 (65.22%)		10 (10.87%)	44 (47.83%)	38 (41.30%)	
rs740603	Familiär	299 (40.74%)	435 (59.26%)	0.9332	56 (15.26%)	187 (50.95%)	124 (33.79%)	0.8969
	Sporadisch	74 (40.22%)	110 (59.78%)		17 (18.48%)	40 (43.48%)	35 (38.04%)	
rs4818	Familiär	284 (38.69%)	450 (61.31%)	0.6131	36 (9.81%)	212 (57.77%)	119 (32.43%)	0.5690
	Sporadisch	75 (40.76%)	109 (59.24%)		14 (15.22%)	47 (51.09%)	31 (33.70%)	
rs4680	Familiär	366 (49.86%)	368 (50.14%)	0.9345	81 (22.07%)	204 (55.59%)	82 (22.34%)	0.9185
	Sporadisch	91 (49.46%)	93 (50.54%)		25 (27.17%)	41 (44.57%)	26 (28.26%)	
rs165599	Familiär	503 (68.53%)	231 (31.47%)	0.5327	167 (45.50%)	169 (46.05%)	31 (8.45%)	0.4679
	Sporadisch	131 (71.20%)	53 (28.80%)		45 (48.91%)	41 (44.57%)	6 (6.52%)	

¹ Fisher's Exakter Test; ² Armitage's Trend Test

Tab. 5.2.1: 5-Locus-Haplotypfrequenzen bei Fällen, Kontrollen und gepoolter Stichprobe

Allel ¹					Frequenz		
rs2097603	rs740603	rs4818	rs4680	rs165599	Gesamt	Kontrollen	Fälle
1	1	2	1	1	0.1828	0.2497	0.1661
2	2	2	1	1	0.1349	0.1241	0.1373
2	2	1	2	1	0.1275	0.1396	0.1234
2	2	1	2	2	0.1151	0.1067	0.1176
2	1	2	1	1	0.0668	0.0649	0.0649
2	2	2	2	2	0.0639	0.0490	0.0684
1	1	1	2	1	0.0464	0.0667	0.0385
1	1	2	1	2	0.0357	0.0240	0.0374
1	2	2	1	1	0.0276	0.0074	0.0337
1	2	1	2	1	0.0241	0.0286	0.0231
1	2	1	2	2	0.0226	0.0176	0.0243
2	2	2	2	1	0.0213	0.0214	0.0242
2	1	1	2	1	0.0186	0.0114	0.0202
2	1	2	2	2	0.0164	0.0274	0.0131
2	2	1	1	1	0.0158	0.0000	0.0205
1	1	2	2	1	0.0128	0.0000	0.0149
2	1	2	2	1	0.0127	0.0097	0.0141
2	1	2	1	2	0.0126	0.0257	0.0087
2	2	2	1	2	0.0095	0.0000	0.0128
1	1	2	2	2	0.0080	0.0076	0.0080
1	2	2	2	1	0.0059	0.0090	0.0038
1	1	1	1	1	0.0057	0.0074	0.0060
2	1	1	2	2	0.0056	0.0000	0.0079
2	1	1	1	2	0.0034	0.0000	0.0052
1	2	1	1	2	0.0025	0.0000	0.0033
1	1	1	1	2	0.0010	0.0000	0.0011
1	2	2	1	2	0.0009	0.0000	0.0008
1	1	1	2	2	0.0000	0.0020	0.0000
1	2	2	2	2	0.0000	0.0000	0.0006

¹ 1: Allel des Wildtyps; 2: Allel der Mutante

DANKSAGUNG

Ich möchte mich bei Prof. Dr. med. H. Beckmann für die Überlassung des Themas und bei seinem Nachfolger Prof. Dr. med. J. Deckert für die Möglichkeit bedanken, an der von ihm geleiteten Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Universität Würzburg diese Doktorarbeit fortführen und abschließen zu können. Weiterhin danke ich Prof. Dr. med. G. Stöber für die Betreuung meiner Arbeit.

Besonderen Dank gilt auch meiner Schwester Gaby, die mir den Zugang zu labortechnischen Arbeitsmethoden erheblich erleichterte und mir bei theoretischen und praktischen Fragen zur Seite stand. Zusätzlich möchte ich mich bei meiner Familie und meinem Freundeskreis für die Rücksichtnahme während der vergangenen arbeitsintensiveren Monate bedanken. Besondere Erwähnung verdienen dabei meine langjährige Freundin Silvia, die mir als Trainings- und persönliche Ansprechpartnerin eine grosse Hilfe war, sowie Andreas, der mich stets zum Vorankommen der Arbeit motivierte.

Zuletzt noch ein Dank an meine Mitstreiter Steffen und Klaus für die kollegiale und fachlich wie auch persönlich bereichernde Laborzusammenarbeit.

LEBENS LAUF

Persönliche Daten

Name	Putz Evelyn
Anschrift	Petrinistrasse 33 97080 Würzburg
Telefon	0931 / 2704546 0171 / 5455880
E-mail	putzeve@gmx.de
Geburtsdatum / -ort	20.03.1971 in Wertheim
Familienstand	Ledig
Staatsangehörigkeit	Deutsch

Ausbildung

07/90	Allgemeine Hochschulreife Franz-Ludwig-von-Erthal-Gymnasium Lohr a. Main
Nov. 1990 – Juli 1991	FSJ in der Blindeninstitutsstiftung Würzburg
11/91 – 07/99	Beginn des Studiums der Psychologie Julius-Maximilians-Universität Würzburg
05/99	Abschluss zur Diplompsychologin
04/00	Erlaubnis zur Ausübung der Heilkunde nach dem Heilpraktikergesetz
03/99 – 11/05	Studium der Humanmedizin Julius-Maximilians-Universität Würzburg
11/05	Ärztliche Prüfung

Anstellung

02/06	Anstellung als Assistenzärztin in der Abteilung für Innere Medizin Universität Würzburg
-------	---

Würzburg, den 21.09.2007

Putz Evelyn

Hiermit versichere ich, dass ich diese Arbeit selbständig angefertigt habe und keine anderen, als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe.

Würzburg, den 21.09.2007

Putz Evelyn