

Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie
der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. J. Deckert

**Serotonerge Gene und *NOS1* als Risikofaktoren
für gewalttätiges Verhalten**

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der

Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Andrea Eujen

aus Heidelberg

Würzburg, November 2008

Referent: Prof. Dr. med. K.-P. Lesch

Koreferent: Prof. Dr. med. G. Stoll

Dekan: Prof. Dr. med. M. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 16.06.2009

Die Promovendin ist Ärztin.

Meiner Familie gewidmet

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis

Abbildungsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Einführung in die Verhaltensgenetik	1
1.2 Tiermodelle	4
1.3 MAO-A	5
1.3.1 Funktionen und genetische Grundlagen der MAO-A	5
1.3.2 Befunde bei MAO-A Knockout-Mäusen	6
1.3.3 MAO-A Mutationen beim Menschen	7
1.3.4 Funktionelle MAO-A Varianten und Phänotyp-Assoziationen	7
1.3.5 Gen x Umwelt-Interaktion	9
1.3.6 MAO-A, Aggression und das soziale Milieu in der Kindheit	10
1.3.7 ADHS und MAO-A	11
1.4 DAT	12
1.4.1 Genetische Varianz im DAT-Gen	12
1.4.2 Befunde in DAT-Knockout-Mäusen	13
1.4.3 DAT-Varianten und Assoziationen mit Psychopathologie	13
1.4.4 Gen x Umwelt-Interaktion	14
1.4.5 DAT und Aggression	14
1.5 NOS	16
1.5.1. Physiologische Funktionen von NOS-I	16
1.5.2 Das humane <i>NOS1</i> -Gen	18
1.5.2.1 <i>NOS1</i> Exon 1c	18
1.5.2.2 <i>NOS1</i> Exon 1f	19
1.5.3 Tiermodelle für Aggression – die Rolle von NOS	20
1.5.4 Umweltfaktoren bei NO und Aggression	22
1.5.5 Assoziation von <i>NOS1</i> mit psychiatrischen Krankheitsbildern	23
1.6 Ziele der Arbeit	24
2. Material und Methoden	25
2.1. Stichprobe	25

2.2. Kontrollen aus der Transfusionsmedizin	27
2.3. Skala für belastende Lebensereignisse	28
2.4. Verwendete Materialien	29
2.5. Genotypisierung	32
2.5.1 DNA-Extraktion	32
2.5.2. PCR	32
2.5.3. Elektrophorese	34
2.5.3.1 Agarosegelelektrophorese	34
2.5.3.2 Elektrophorese mit CEQ 8000 (Fragmentanalyse)	36
2.6. Statistische Auswertung	38
3. Ergebnisse	40
3.1. Konfundierende Variablen	40
3.2. Einzelmarker-Analysen	41
3.3. Multiple logistische Regression	43
3.3.1. Logistische Regressionsanalyse mit <i>MAO-A</i> , <i>DAT</i> und <i>5HTT</i>	44
3.3.2. Logistische Regressionsanalyse mit <i>NOS1</i>	47
3.4. Zusammenfassung der Ergebnisse	48
4. Diskussion	49
4.1. MAO-A	49
4.1.1 Einfluss von Umweltbedingungen auf aggressives Verhalten	49
4.1.2 Gen x Umweltinteraktionen der MAO-A-uVNTR Risikovariante	50
4.1.3 MAO-A als Suszeptibilitätsgen für gewalttätiges Verhalten	53
4.2 DAT	60
4.3 NOS-I	63
4.4. Ausblick	67
5. Zusammenfassung	69
6. Literaturverzeichnis	70

Tabellenverzeichnis

- Tabelle 1:** Psychiatrische Diagnosen in der Stichprobe
- Tabelle 2:** Straftaten der Studienteilnehmer
- Tabelle 3:** Standardisierte Erfassung der Entwicklungsbedingungen
- Tabelle 4:** Verwendete Materialien
- Tabelle 5:** Zusammensetzung der Puffer aus eigener Herstellung
- Tabelle 6:** Übersicht über die verwendeten Primer
- Tabelle 7:** Komponenten der Reaktionsansätze
- Tabelle 8:** PCR-Programme
- Tabelle 9:** Allelhäufigkeiten von MAO-A
- Tabelle 10:** Allelhäufigkeiten von DAT
- Tabelle 11:** Allelhäufigkeiten von *NOS1* Ex1c
- Tabelle 12:** Allelhäufigkeiten von *NOS1* Ex1f
- Tabelle 13:** Assoziationen zwischen sozialem Umfeld in der Kindheit und genetischen Polymorphismen für MAO-A und DAT
- Tabelle 14:** Durchschnittliche Wahrscheinlichkeit für das Vorhandensein von Gewalt in acht verschiedenen Risikogruppen
- Tabelle 15:** Gewalttätigkeit assoziiert mit *NOS1* Ex1f-Genotyp und CAEI

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1:** Schematische Zeichnung der *NOS1* Region und Sequenz des *NOS1* Ex1f-VNTR
- Abbildung 2:** Häufigkeit der *NOS1* Ex1f-VNTR Allele
- Abbildung 3:** DAT-VNTR
- Abbildung 4:** MAO-A-uVNTR
- Abbildung 5:** *NOS1* Ex1c
- Abbildung 6:** *NOS1* Ex1f-VNTR Allele C/N
- Abbildung 7:** *NOS1* Ex1f-VNTR Allele H/N
- Abbildung 8:** Unabhängig vom MAO-A Allel finden sich bei gewalttätigen Straftätern im Vergleich zu nicht-gewalttätigen Straftätern ungünstigere Entwicklungsbedingungen.

Abkürzungsverzeichnis

ADHS	Aufmerksamkeitsdefizit-/Hyperaktivitätsstörung
bp	Basenpaare
CAEI	Childhood Adverse Environment Index
cGMP	cyclisches Guanosinmonophosphat
CRE	cAMP-responsive-elements
CREB	cAMP response element-binding protein
DA	Dopamin
DAT	Dopamin-Transporter
DF	Freiheitsgrade (<i>degree of freedom</i>)
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DSM-IV Ausgabe	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, vierte Ausgabe
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphat
Ex1c/1f	Exon 1c/1f
fMRT	funktionelle Magnet-Resonanz-Tomographie
GTP	Guanosintriphosphat
5HT	5-Hydroxytryptamin, Serotonin
5HTT	Serotonintransporter
KI	Konfidenzintervall
MAO-A	Monoaminoxidase A
MAO-A LPR	Monoaminoxidase A gene-linked polymorphic region
NA	Noradrenalin
NMDA	N-Methyl-d-Aspartat
NO	Stickstoffmonoxid
NOS-I	NO-Synthase, neuronale Isoform (Enzym)
<i>NOS1</i>	NO-Synthase, neuronale Isoform (Gen)
OR	Odd's Ratio
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
SD	Standardabweichung
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
SPECT	Single-Photonen-Emissions-Tomographie
STR	Short Tandem Repeat
UTR	Untranslatierte Region
(u)VNTR	(upstream) Variable Number of Tandem Repeats region
WURS-k	Wender Utah Rating Scale (Kurzform)

1. Einleitung

Äußere Körpermerkmale wie z.B. Augen- oder Haarfarbe werden weitgehend genetisch beeinflusst und determiniert. Auch bei Verhaltensmerkmalen wie z.B. „Aggression“ ist es daher nahe liegend, eine genetische Grundlage zu vermuten. Zwar gibt es offensichtlich kein Aggressions-Gen, das alleine dieses Verhaltensmerkmal verursachen würde. Trotzdem hat der Mensch eine genetische Anlage, die Verhalten und Persönlichkeit mitdefinieren. Wie nun Gene bzw. deren komplexes Zusammenwirken oder das soziale Umfeld, in dem man aufwächst bzw. lebt, auf „Aggression“ Einfluss nehmen ist noch unzureichend geklärt.

1.1 Einführung in die Verhaltensgenetik

Die *Verhaltensgenetik* befasst sich mit den genetischen Grundlagen menschlichen Verhaltens. Man unterscheidet zwei wichtige Disziplinen: die *quantitative Genetik* und die *Molekulargenetik*. Erstere befasst sich mit der Frage, inwieweit Persönlichkeitsmerkmale genetische und/oder umweltbedingte Varianzanteile haben. Mit anderen Worten, es wird mit biostatistisch-epidemiologischen Methoden erforscht, ob Gene Verhaltensmerkmale beeinflussen, oder ob Gene im Lauf der Entwicklung eine Veränderung dieser Merkmale beeinflussen können und ob Umwelteffekte Verhaltensmerkmale modifizieren. Das Zustandekommen von beobachtbaren Unterschieden zwischen Individuen wird mit Hilfe von Zwillings- und Adoptionsstudien analysiert. Eineiige und zweieiige Zwillinge bieten eine gute Vergleichsmöglichkeit um den Beitrag von Genen oder aber der Umwelt zur Verhaltensvarianz einzuschätzen. Zwillingsstudien untersuchen Aggression meist im Rahmen von „antisozialen Verhaltensstörungen“, die in aggressive und nicht-aggressive Formen unterteilt werden. Die meisten Studien stimmen dahingehend überein, dass aggressives Verhalten eine erhebliche erbliche Komponente hat. Die Zahlen zur Heritabilität variieren bei Zwillingsstudien zwischen 50 und 70% [1]. Auch eine neue große Zwillingsstudie des Karolinska-Instituts aus Stockholm bestätigt, dass Gene einen Einfluss auf antisoziales Verhalten, Aggression und

1. Einleitung

Kriminalität haben, interessanterweise vor allem bei Mädchen. Genauso wurde die Hypothese bestätigt, dass Umwelteinflüsse eine Rolle spielen, nämlich bei der Ausprägung des nicht-aggressiven antisozialen Verhaltens beim maskulinen Geschlecht. Jungen waren somit beeinflussbarer von der Umwelt als Mädchen [2]. In einer Studie mit männlichen Zwillingen konnte gezeigt werden, dass genetische Faktoren zunächst eine signifikant größere Rolle bei der Auswahl des Freundeskreises spielen als die geteilte Umwelt beider Zwillinge. Sobald das Elternhaus verlassen wird, nimmt der Einfluss der Umwelt jedoch zu [3].

Während die quantitative Genetik sich auf den Phänotyp fokussiert, konzentriert sich die *Molekulargenetik* auf den Genotyp und identifiziert Gene, die (Verhaltens-) Unterschiede beeinflussen. Das Ziel ist hierbei, diejenigen DNA-Sequenzen zu finden, die maßgeblich daran beteiligt sind, dass Menschen sich in ihrem Verhaltensmuster voneinander unterscheiden. Gene tragen zur Merkmalsausprägung bei, sowohl im Bereich normalen Verhaltens, als auch im Bereich von Verhaltensstörungen [4]. Für Krankheiten, deren Risiko von einzelnen und effektstarken Genloci abhängt wie z.B. die Chorea Huntington, ist es bereits gelungen, die verantwortlichen Gene zu identifizieren. Aber auch Genloci, die an komplexen Erbgängen beteiligt sind, können prinzipiell identifiziert werden, wobei hier jedoch beim Menschen überwiegend Kandidatengenansätze verwendet wurden.

Wie stark die Wirkung einzelner Gene ist, hängt von deren Effektstärke ab [5]. Bei komplexen Merkmalen (wie zum Beispiel Ängstlichkeit oder Körpergröße) scheint die Effektstärke gering zu sein, was die Identifikation der für ein Verhaltensmerkmal zuständigen Gene schwierig macht, nicht zuletzt, da im Vergleich zu monogenen Merkmalen methodische Einschränkungen bestehen. Eine zusätzliche Hürde ergibt sich aus der Tatsache, dass es Millionen von polymorphen DNA-Sequenzen gibt und damit Millionen von potenziellen genetischen Varianten, die für die Vererbung komplexer Wesenszüge verantwortlich sind. Im Gegensatz zu einzelnen Gen-Effekten, die ausreichen um eine Krankheit hervorzurufen („single gene diseases“),

1. Einleitung

steigern Gene bei komplexen Merkmalen analog zu Risikofaktoren lediglich die Wahrscheinlichkeit, einen bestimmten Wesenszug auszubilden [6].

Molekulargenetische Forschungsmethoden sind *Kopplungs-Analysen* und *Fall-Kontroll-Assoziationsstudien*. Kopplungs-Analysen untersuchen, ob DNA-Marker bei verwandten Individuen überzufällig häufig gemeinsam mit dem Merkmal vererbt werden. Klassische Kopplungs-Analysen sind die Methode der Wahl für die genetische Kartographisierung („Mapping“) von Krankheiten, die durch einzelne Gene mit hohen Effektstärken hervorgerufen werden, vor allem wenn die Krankheit selten ist [4].

Während in Kopplungs-Analysen das gesamte Genom in großen Familien untersucht werden muss, sind Assoziationsstudien auf Kandidatengene bzw. Kandidatenregionen limitiert. Fall-Kontroll-Studien untersuchen den Zusammenhang zwischen allelischer Variation in Kandidatengenen und beobachtbaren Merkmalsausprägungen (Phänotypen) innerhalb großer Populationen nicht-verwandter Individuen [4]. Die vorliegende Arbeit verwendet im Hinblick auf den Phänotyp „Aggression“ letztere Methode: die DNA ausgewählter Probanden wurde gruppenweise hinsichtlich der Auftretenshäufigkeit bestimmter Marker-Allele analysiert und mit einer Kontrollgruppe verglichen (Fall-Kontroll-Studie).

Hinsichtlich genetischer Variabilität zwischen Individuen unterscheidet man *Single-nucleotide polymorphisms* (SNPs), also Marker, die sich durch den Austausch nur einer Base unterscheiden, von repetitiven Elementen, so genannten Mini- oder Mikrosatelliten. Deren Unterschiede bestehen in der Anzahl sich wiederholender Elemente (repeats) in repetitiver DNA. Minisatelliten werden auch *Variable Number of Tandem Repeats* (VNTR) genannt. Sie entstehen durch Tandemduplikation von kurzen Nukleotidsequenzen und sind hochpolymorph. Die Anzahl der Repeats bestimmt die Länge des Allels. Mikrosatelliten werden auch *Short Tandem Repeats* (STR) genannt und entstehen aus sich wiederholenden kurzen Basenpaarsequenzen (meist zwei bis vier Basenpaare). Auch hier bestimmt die

Zahl der Wiederholungen die Länge des Allels. Ideale Kandidatengene sind DNA-Polymorphismen in kodierenden Regionen oder potenziell funktionale Polymorphismen aus DNA-Regionen, die die Transkription regulieren.

1.2 Tiermodelle

Neben den erwähnten Zwillingsstudien sind Studien mit Tieren ein weiteres wichtiges Instrument der Erforschung genetischer Einflüsse auf Verhalten. Zwar sind bestimmte Größen wie Spiritualität und Narzissmus mehr oder weniger auf Menschen beschränkt, wiederum andere Charaktereigenschaften wie z.B. Angst und Aggression sind bei Mensch und Tier analog. Da sich Maus und Mensch fast alle Gene teilen, die zudem auch noch auf syntenen Chromosomenregionen liegen, liegt es auf der Hand, dass Tiermodelle in der Aufklärung von Kandidatengenen von Aggression und zugrunde liegenden molekularen Signalwegen helfen können. Insbesondere transgene Tiere mit einer gezielten „von außen eingebrachten“ genetischen Veränderung sind wertvoll, um die behaviorale Auswirkung eines bestimmten Gens zu untersuchen. Einzelne Gene können bei Mäusen ausgeschaltet werden („knock-out“), indem DNA-Schlüsselsequenzen entfernt werden. Züchtet man anschließend eine Mauspopulation heran, die bezüglich dieses ausgeschalteten Gens homozygot ist, kann die Auswirkung des deletierten Gens auf Verhalten untersucht werden [5]. Solche Mäuse erweisen sich je nach ausgeschaltetem Gen auch als geeignete Tiermodelle um den aggressiven Phänotyp zu untersuchen [7] [8].

1.3 MAO-A

1.3.1 Funktionen und genetische Grundlagen der MAO-A

Bei der Verstoffwechslung von Neurotransmittern spielt die Monoaminoxidase A (MAO-A) eine entscheidende Rolle. Mit hoher Affinität werden Serotonin (5HT), Noradrenalin (NA) und Dopamin (DA) oxidativ desaminiert und somit deren Verfügbarkeit beendet. Da Veränderungen der MAO-A Aktivität und damit veränderte Neurotransmitterspiegel in Zusammenhang mit Charakterzügen und Verhaltensstörungen stehen können [9], stellt MAO-A ein sehr interessantes Kandidatengen dar.

Die MAO-A ist in der äußeren Membran von Mitochondrien lokalisiert und existiert in zwei Isoformen: A und B, die auf Chromosom Xp 11.23 kodiert sind [10]. Die vorherrschende Form im Gehirn ist MAO-A. Mehrere funktionelle Varianten dieses X-chromosomal kodierten Gens sind bekannt. In der Promoterregion liegt eine so genannte „upstream Variable Number of Tandem Repeats region“ (kurz uVNTR). Diese MAO-A-uVNTR ist der kodierenden MAO-A Gensequenz 1200 bp vorgeschaltet und besteht aus einem 30 Basenpaaren (bp) langen repeat Element mit 2, 3, 3.5, 4, 5 oder (selten) 6 Kopien [11, 12]. Varianten mit 3 oder 4 Kopien treten in verschiedenen ethnischen Populationen am häufigsten auf. In Abhängigkeit von der Anzahl an vorliegenden Kopien wird die Transkriptionsaktivität des MAO-A Promotors beeinflusst. Allele mit 3.5 oder 4 Kopien scheinen eine optimale Länge zu haben, denn sie werden wesentlich effizienter transkribiert als Allele mit 3 und 5 Kopien [11]. In Luciferase-Reporter-Gen-Assays wurde gezeigt, dass die längeren Allele (3.5, 4 und auch 5) verglichen mit den kurzen Allelen (3) zu einer erhöhten Expression der MAO-A führen [13], d.h. bei kurzen Allelen wird weniger MAO-A Enzym produziert und somit weniger Neurotransmitter abgebaut. Die Länge der Allele beeinflusst also auch die globale Aktivität der MAO-A. Zalsman konnte diese funktionellen Folgen einer höheren Expression der MAO-A belegen: MAO-A-uVTNR Genotypen mit vermehrter MAO-A Expression und folglich -Aktivität führen tatsächlich zu einer höheren Konzentration an Monoamin-Metaboliten im Liquor [14]. Deshalb wird bei

Assoziationsstudien der Polymorphismus meist in kurze „niedrigaktive“ (3 Allel) und lange „hochaktive“ (3.5, 4, 5 Allele) Varianten dichotomisiert.

1.3.2 Befunde bei MAO-A Knockout-Mäusen

Tiermodelle haben gezeigt, dass MAO-A bei aggressivem Verhalten eine wichtige Rolle spielt. Bei transgenen Mäusen, bei denen die MAO-A gezielt ausgeschaltet wurde, zeigten sich die Männchen besonders aggressiv [8]. Der Anstieg der Neurotransmitter im Gehirn, vor allem Serotonin, führt zu einem aggressiven Verhaltensphänotyp bei ausgewachsenen Mäusen: die Anzahl verletzter Tiere im Käfig steigt und die Latenz für Beißattacken verkürzt sich bei dem sog. Resident-Intruder-Test [15]. Das Fehlen des MAO-A Gens verursacht bei diesen Mäusen auch morphologische Veränderungen bei der Entwicklung des somatosensorischen Kortex. Dies geschieht während der ontogenetischen Periode. Aber auch postnatal lässt sich ein ähnlicher Effekt erzeugen, wenn man MAO-A medikamentös hemmt. Blockiert man die Serotonin-Synthese, entwickelt sich der Kortex normal, nicht aber bei Hemmung der Katecholaminsynthese [16]. Wahrscheinlich liegt es somit an der Serotoninkonzentration, dass sich das Gehirn anders entwickelt; im Umkehrschluss sind normale Serotoninspiegel für eine reguläre Gehirnentwicklung entscheidend. Schon in der ersten Arbeit hatten Cases et al. berichtet, dass durch die Deletion der MAO-A der Effekt auf die Serotoninkonzentration deutlich stärker ausgeprägt ist als auf die Katecholaminkonzentration [8]. Somit ist wahrscheinlich, dass die aggressiven Verhaltensweisen am ehesten auf einer erhöhten Serotoninkonzentration beruhen. Entscheidend ist wohl auch der frühe Zeitpunkt der Hemmung oder Ausschaltung des Gens während der Hirnentwicklung – eine nach Abschluss der Hirnentwicklung verabreichte medikamentöse Therapie mit MAO-A Hemmern macht nicht aggressiv.

Nicht nur bei Nagetieren, sondern auch bei dem Menschen ontogenetisch näher verwandten Spezies lässt sich ein Zusammenhang der MAO-A Genregion mit Aggression nachweisen. Nichtmenschliche Primaten haben einen analogen MAO-A Polymorphismus (MAO-A LPR). Makaken zeigen außergewöhnliche Unterschiede

in aggressivem Verhalten im sozialen Kontext. Tatsächlich ist gerade bei den aggressiveren Spezies die MAO-A Genregion polymorph. Genvarianten des MAO-A LPR scheinen somit Schlüsselemente des Sozialverhaltens bei Makaken zu beeinflussen und insbesondere zur Variation bei Verhalten, das mit Aggression zusammenhängt, beizutragen [17].

1.3.3 MAO-A Mutationen beim Menschen

Der aggressive Phänotyp der MAO-A Knockout Mäuse scheint mit den Folgen eines MAO-A Mangels beim Menschen überein zu stimmen. Durch eine rezessiv vererbte X-chromosomale Deletion haben Patienten, die unter dem Norrie-Warburg-Syndrom leiden, keinerlei MAO-A Aktivität. Betroffene sind geistig behindert und zeigen aggressive Verhaltensauffälligkeiten [10].

Noch interessanter ist eine Studie in einer holländischen Familie. Durch eine extrem seltene Stopmutation im MAO-A Strukturgen weisen fünf Männer einen selektiven, kompletten Mangel der enzymatischen Aktivität der MAO-A auf. Der Enzymmangel, der einem humanen „knock-out“ entspricht, führt neben einer leichten geistigen Behinderung zu extremen Verhaltensauffälligkeiten wie impulsiver Aggression, Brandstiftung, versuchte Vergewaltigung und Exhibitionismus [18].

1.3.4 Funktionelle MAO-A Varianten und Phänotyp-Assoziationen

Wie oben beschrieben, kommen Varianten mit 3 und 4 Kopien des MAO-A uVNTR Polymorphismus am häufigsten vor, unterscheiden sich jedoch erheblich in ihrer Aktivität. Inwieweit und ob diese Polymorphismen Bedeutung für den Verhaltensphänotyp des Trägers haben, ist in verschiedenen Assoziationsstudien geklärt worden.

Studien, die versuchten, ganz allgemein mehr über den Einfluss von MAO-A auf die Persönlichkeit herauszufinden, erbrachten keinen Nachweis eines unmittelbaren Zusammenhangs zwischen den MAO-A Genotypen und bestimmten Persönlichkeitsdimensionen [19]. Eine schwedische Studie mit einer

1. Einleitung

vergleichsweise großen Stichprobe (n=371) setzte den MAO-A Promoter Genotyp in Beziehung zu menschlichen Charakterzügen, die mittels diversen Fragebogen untersucht wurden. Allerdings konnte für keine Persönlichkeitsdimension eine Assoziation gefunden werden, so dass die Autoren in Frage stellen, ob die Variabilität in der MAO-A Promotorregion überhaupt „Persönlichkeit“ beeinflussen kann [20]. Lediglich eine Studie konnte eine schwache Assoziation zwischen langen MAO-A Allelen und dem quantitativen Merkmal „Neurotizismus“ nachweisen, das phänotypisch wie genetisch mit Depression und Angst korreliert ist [21].

Es gibt viele Studien, die den MAO-A Genotyp in Relation zu einem aggressiven Phänotyp gesetzt haben, jedoch bleiben auch sie einen klaren Zusammenhang schuldig.

Erste Untersuchungen einer Genotyp-Phänotyp Beziehung zwischen MAO-A und antisozialem Verhalten wurden in psychiatrischen Stichproben durchgeführt. Die Ergebnisse der Studien in Bezug auf den Einfluss der Länge der MAO-A Allele auf die Entwicklung antisozialen Verhaltens waren widersprüchlich. Die Frequenz des 3-Kopien Allels war bei Alkoholikern mit einer antisozialen Persönlichkeitsstörung häufiger, wohingegen sich die Häufigkeit bei den Kontrollen und Alkoholikern ohne Persönlichkeitsstörung nicht unterschied. Das 3-Kopien-Allel soll deshalb eher ein erhöhtes Risiko für antisoziales Verhalten bei Alkoholabhängigkeit, als das Risiko für Alkoholabhängigkeit an sich, übertragen [22] [23]. Trotz vieler darauf folgender Studien zu Alkoholismus und antisozialer Persönlichkeit bzw. antisozialem Verhalten, konnte sich keine eindeutige Genotyp-Phänotyp Beziehung herauskristallisieren.

Weder „antisozialer“ Alkoholismus, noch die antisoziale Persönlichkeitsstörung an sich waren mit irgendeinem der MAO-A Genotypen assoziiert, [24]. Genauer gesagt ließen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen der Häufigkeit der 3 Kopien Variante hinsichtlich hoher oder niedriger Scores zu antisozialen Verhaltensweisen in Fragebögen bei Alkoholikern und Kontrollpersonen feststellen

[25]. Gleiches gilt für eine gesunde Population (Australier, n=850 Personen), wo man ebenfalls keine Assoziation zwischen dem funktionalen MAO-A Polymorphismus und antisozialen Persönlichkeitszügen fand [26].

Befasst man sich mit Heroin-abhängigen Männern, scheint wiederum das 3 Kopien-Allel eine erhöhte Anfälligkeit für antisozial-gewalttätiges Verhalten und Aggressivität zu übertragen, denn die Auftretenshäufigkeit des 3-Kopien Allels bei nicht-aggressiven Heroinabhängigen und bei den Kontrollen war wesentlich geringer [27].

Manuck und Kollegen beobachteten, dass Männer mit Niedrig-Expressionsvarianten des MAO-A-uVNTR signifikant weniger Punkte auf einer Skala von Aggressivität und Impulsivität erzielten, verglichen mit Männern mit Hoch-Expressionsvarianten [28]. Allerdings war die Einteilung der Allele nach Transkriptionsaktivität anders als üblich, d.h. es wurde in 3 und 5 mit niedriger versus 3,5 und 4 Repeats mit hoher Transkriptionsaktivität dichotomisiert. Erstaunlicherweise erzielten die Allelträger von 3 und 5 Kopien weniger Punkte auf den Aggressionsskalen. Auch bei Gegenüberstellung der häufigeren Varianten 3 und 4 schienen diejenigen mit 3 Kopien weniger aggressiv. Wiederum in Einklang mit Manuck steht eine kürzlich veröffentlichte Studie, die zeigt, dass chronisch und schwer aggressive Kinder eher das 4-Kopien Allel tragen als erwachsene Kontrollen [29].

Zwar wird also der MAO-A uVNTR Polymorphismus wiederholt mit der interindividuellen Variabilität der Aggressivität assoziiert, aber ob nun eine hohe oder eher eine niedrige MAO-A Transkription bei psychiatrischen Störungen eine Rolle spielt, bleibt unklar.

1.3.5 Gen x Umwelt-Interaktion

MAO-A wurde bereits als das „warrior gene“ bezeichnet, also als „Kriegergen“, das Primaten im Lauf der Evolution einen entscheidenden Überlebensvorteil im Kampf um Beute sicherte und somit einen selektiven Vorteil bot [30]. Man könnte schlussfolgern, dass das, was wir heute als aggressives oder gewalttätiges Verhalten ansehen, früher im Überlebenskampf sehr wichtig war, aber im heutigen

sozialen Kontext fehl am Platz ist. Damit bestünde die Möglichkeit, dass es auch für Menschen zu Zeiten des Jagens und Sammelns ein Vorteil gewesen sein muss, die *low activity*-Variante zu besitzen. Der Umweltvorteil mag die genetischen Varianten konserviert haben.

Aggressives Verhalten ist bei Primaten verstärkt, wenn die *low activity*-Enzymvariante vorhanden ist und die Affen während des Aufwachsens einer Reihe von sozialen Verhaltensweisen ausgesetzt sind, die Aggression mit einschließen [31]. Ein solcher Effekt wird als Gen x Umwelt-Interaktion bezeichnet. Es ist seit langem anerkannt, dass solche Gen x Umwelt-Interaktionen Grund für individuelle Unterschiede in der Empfindlichkeit/Stabilität gegenüber Risikofaktoren sind. Primaten sind exzellente Modelle, um den relativen Beitrag von Genen und einer ungünstigen Umwelt zu erforschen, da im Gegensatz zu menschlichen Realität die Umwelt im Tiermodell experimentell kontrollierbar ist. Allerdings muss man gerade in der Tierwelt bedenken, dass aggressives Verhalten eine ganz andere Bedeutung haben kann und im Gegensatz zum Menschen normal bzw. notwendig sein kann um sich in seinem Umfeld zu behaupten. Nichtsdestotrotz weisen die Ergebnisse darauf hin, dass die Ausprägung eines bestimmten Genotyps und damit die genetische Empfindlichkeit davon abhängt, wie sie von der Umwelt moduliert wird.

1.3.6 MAO-A, Aggression und das soziale Milieu in der Kindheit

Gleichermaßen bedeutsam ist die Umweltkomponente für den Menschen. Hier sind insbesondere die Bedingungen, unter denen Kinder aufwachsen wichtig. Misshandlung stellt einen Hauptrisikofaktor für die Entwicklung antisozialer Verhaltensstörungen dar [32]. Die meisten Studien betrachten nicht alleine das Umfeld in dem Kinder aufwachsen, sondern versuchen auch einen Zusammenhang zur genetischen Prädisposition herzustellen. Wie potenziert sich das Risiko, das durch die Umwelt entsteht, mit dem Risiko, das vielleicht ein bestimmter Genotyp vermittelt?

Genotypen mit einer hohen MAO-A Aktivität scheinen einen protektiven Effekt zu haben. Selbst wenn Personen mit diesem Genotyp in der Kindheit misshandelt

wurden, manifestiert sich nur mit geringerer Wahrscheinlichkeit eine antisoziale Psychopathologie. Umgekehrt sollen kurze Allele für gewalttätiges Verhalten und Verhaltensstörungen prädisponieren, jedoch nur für diejenigen, die misshandelt wurden oder in einem ungünstigen sozialen Umfeld aufwuchsen [32, 33]. Missbrauch, zusammen mit einer bestimmten Genvariante, führte zu vermehrter Impulsivität [12]. Haberstick und Kollegen hingegen konnten die mutmaßliche Gen x Umwelt-Interaktion nicht bestätigen [34].

1.3.7 ADHS und MAO-A

ADHS (Aufmerksamkeitsdefizit-/Hyperaktivitätsstörung) ist eine Störung, die durch Impulsivität, Hyperaktivität und Störungen der Aufmerksamkeit charakterisiert ist. Die Störung beginnt meist früh im Kindesalter und beeinträchtigende Kernsymptome setzen sich häufig bis in Erwachsenenalter fort. Eine häufige Komorbidität sind Störungen des Sozialverhaltens und oppositionelle Verhaltensstörungen [35]. Es wird eine erhöhte Frequenz von sozialen Regelüberschreitungen beobachtet und auch eine erhöhte Anzahl von Festnahmen durch die Polizei. Die Prävalenz bei gewalttätigen Gefängnisinsassen ist hoch, bis zu 45% leiden unter ADHS [36]. Zwar sind die Ursachen und Entstehungsmechanismen von ADHS noch lange nicht geklärt, zweifelsohne besteht aber ein erheblicher genetischer Einfluss [37]. Bisherige Assoziationsstudien deuten darauf hin, dass wahrscheinlich mehrere Gene an der Entstehung der ADHS beteiligt sind, so z. B. Gene der katecholaminergen Neurotransmission, wie möglicherweise auch die polymorphe Promotorregion der MAO-A. Lange Allele der MAO-A scheinen präferenziell bei ADHS vererbt zu werden und sind für gesteigerte Impulsivität mitverantwortlich, was im *Continuous Performance Test* bei Patienten festgestellt wurde [38]. Zwei andere Studien argumentieren jedoch, dass es keine Assoziation zwischen langen Allelen und ADHS gäbe [39] [40]. In einer ADHS-Subgruppe fand sich ein Hinweis, dass eher die kurzen Allele mit Impulsivität und Verhaltensproblemen assoziiert sind.

Allerdings ist zu bedenken, dass der Phänotyp recht breit definiert ist und das Ergebnis mit größeren Stichproben verifiziert werden muss.

1.4 DAT

Der Dopamintransporter (DAT) ist ein wichtiger Kandidatengene für neuropsychiatrische Erkrankungen, insbesondere auch für ADHS. Vieles deutet darauf hin, dass ADHS unter anderem von einer Fehlregulation des Dopaminstoffwechsels verursacht bzw. begleitet wird. Insbesondere scheint die Wiederaufnahme von Dopamin in das präsynaptische Neuron erhöht, Dopamin wird also zu schnell aus dem synaptischen Spalt entfernt [35]. Da in den dopaminergen Neuronen des Mittelhirns hauptsächlich DAT für die Wiederaufnahme von Dopamin (DA) aus dem synaptischen Spalt in die Präsynapse sorgt, ist er ein wesentlicher Regulator dopaminerger Transmission.

1.4.1 Genetische Varianz im DAT-Gen

In der nicht-kodierenden Region im 3'-untranslatierten Bereich (3'-UTR) des Gens SLC6A3, das für den Dopamintransporter DAT1 kodiert, gibt es einen VNTR-Polymorphismus, der aus einem 40 bp repeat-Element mit 8, 9, 10 oder 11 Kopien besteht. Selten sind Wiederholungen von 3 bis 7 Mal. Am häufigsten treten die Allele mit 9 oder 10 Kopien auf, jedoch variiert die Allelfrequenz selbst innerhalb der europäischen Bevölkerung stark [41]. Bestimmte Varianten des VNTR können die Transkriptionsaktivität und damit die Genexpression und Verfügbarkeit von DAT regulieren: Die 9-Kopien DAT1-VNTR Variante beeinflusst bzw. verstärkt bei Ratten die Transkription von DAT1 in dopaminergen Neuronen [42] und erhöht die Transporterverfügbarkeit von DAT im humanen Striatum, was mittels SPECT gemessen wurde [43]. Auch das 10-Kopien-Allel ist - allerdings auf der molekularen Ebene - mit einer erhöhten Expression des Transporters assoziiert, was einerseits in Luciferase Assays [44] und andererseits mittels quantitativer Realtime-PCR [45] gezeigt werden konnte. Individuen mit diesem Allel haben also vermutlich eine

erhöhte Transporterdichte, was zur Minderung von synaptischem Dopamin führen würde.

1.4.2 Befunde in DAT-Knockout-Mäusen

Eine komplette Deletion des DAT1 Gens führt bei Tiermodellen zu einer erhöhten extrazellulären DA-Konzentration. Mutanten mit diesem Knockout erweisen sich als verhaltensauffällig, zeigen kognitive Defizite und sind extrem hyperaktiv. Abgesehen davon sind diese Mäuse bereits nach kurzem Sozialkontakt aggressiv, was exazerbiert, wenn man sie isoliert und anschließend in eine völlig neue Umgebung setzt. Die Mutanten fallen auch durch stereotype und perseverierende Verhaltensweisen auf [46]. Ihr Verhaltenmuster scheint so unflexibel, dass sie nicht adäquat auf soziale Gegebenheiten reagieren können [47]. Zusammenfassend spricht das DAT-Tiermodell dafür, dass eine Dysfunktion des Dopaminsystems die individuelle Neigung zu aggressiv-kämpferischem Verhalten fördern könnte.

1.4.3 DAT-Varianten und Assoziationen mit Psychopathologie

Bisher widmeten sich zahlreiche Untersuchungen einem möglichen Zusammenhang zwischen dem DAT-Polymorphismus und ADHS. Insbesondere das 10-Kopien Allel des DAT1-VNTR wird als Risikoallel für ADHS gesehen [48, 49] [50]. Zwei weitere Studien beschreiben eine bevorzugte Transmission der Haplotypen, die das 10-Kopien Allel enthalten, und bestärkten somit die Assoziation zwischen DAT1 und ADHS [51] [52]. Aber auch die 9-Kopien Variante könnte nach einer Studie als Risikoallel für Verhaltensauffälligkeiten gelten [53]. Sogenanntes externalisierendes Verhalten in früher Kindheit gilt als Vorbote von Psychopathologien, die sich später als aggressives, destruktives, oppositionelles, impulsives oder delinquentes Verhalten manifestieren können. In einer großen Zwillings- und Adoptionsstudie wurde das Verhalten von 790 Kindern nach DSM-IV ähnlichen Kriterien für oppositionell-konfrontative Verhaltensstörungen analysiert. Es stellte sich heraus, dass die 9-Kopien Variante das Risikoallel für frühes

externalisierendes Verhalten ist, was als solches wiederum für später auftretende Verhaltensstörungen prädisponiert [53].

1.4.4 Gen x Umwelt-Interaktion

Neben der Tatsache, dass das 10-Kopien Allel für sich ein Risiko darstellt, an ADHS zu erkranken, scheint es auch eine Verbindung zur Exposition mit Nikotin zu geben. Raucht eine Mutter während der Schwangerschaft, haben ihre Kinder, die bezüglich der 10-Kopien Variante des DAT1 homozygot sind, ein erhöhtes Risiko, Symptome der ADHS zu entwickeln. Kleinkinder mit der 9/9 oder 9/10 Variante hatten dieses Risiko jedoch nicht. Folglich konnten weder der Genotyp, noch Rauchen unabhängig voneinander Hyperaktivität/Impulsivität und konfrontatives Verhalten beeinflussen [54]. Ob eine solche Interaktion auch zwischen DAT1 und anderen Umweltfaktoren bestehen könnte, und somit aggressives Verhalten fördern würde, ist in Studien bisher nicht untersucht worden.

1.4.5 DAT und Aggression

Im Tiermodell führt eine Deletion des DAT1, wie schon erwähnt, zu einer Dysfunktion des Dopamin-Systems. Bei Menschen lässt sich, biochemisch gesehen, ein ähnliches Bild durch Einnahme von Psychostimulanzien, unter anderem Alkohol, erzeugen. So hat eine finnische Arbeitsgemeinschaft diejenigen gewalttätigen Straftaten, die unter Alkoholeinfluss begangen wurden, auf eine konsekutiv erhöhte Dopaminkonzentration zurückgeführt [55]. Außerdem hat aggressives Verhalten möglicherweise funktionell-anatomische Korrelate im striatalen Dopaminsystem. Mittels SPECT wurde sichtbar, dass bei gewalttätigen alkoholisierten Straftätern die übliche links/rechts Asymmetrie des Gehirns nicht vorhanden war. Ebenso waren bei den Straffälligen Verteilungsmuster und Dichte des DAT im rechten Striatum sichtlich heterogener als bei nicht gewalttätigen Alkoholikern und gesunden Kontrollpersonen. Die Heterogenität erklärten die Autoren durch eine erhöhte Synapsendichte und eine damit verbundene erhöhte dopaminerge Transmission.

1. Einleitung

Noch gibt es kaum Studien, die darüber Aufschluss geben, ob Allelvariationen des DAT auch für aggressives Verhalten prädisponieren. In einer Studie mit Affen wurde zwar ein analoger Polymorphismus in der 3' untranslatierten Region des Dopamintransporter-Gens (DAT 3'-UTR) genotypisiert [17], jedoch ohne eine Assoziation zwischen der DAT Variabilität und dem Sozialverhalten der Makaken zu finden. Auch gibt es nur wenige und nicht replizierte Studien über einen Zusammenhang von DAT1 und Persönlichkeitsdimensionen (Übersicht in [56]). Zusammengefasst finden sich also derzeit die stringentesten Hinweise für eine Assoziation von DAT-Polymorphismen mit ADHS, jedoch nicht mit anderen psychiatrischen Erkrankungen. Gerade aus der Überlegung heraus, dass der Dopaminmetabolismus bei Impulsivität eine Rolle spielt (und im übrigen auch bei gewalttätigen Alkoholikern verändert ist), ist eine Betrachtung des DAT1 im Hinblick auf Aggression daher von Relevanz.

1.5 NOS

Das letzte Kandidatengen, das hier vorgestellt werden soll, wurde in der Verhaltensgenetik bislang kaum untersucht: die neuronale Stickstoffmonoxid-Synthase (NOS). Die physiologischen Funktionen von NOS bzw. von der Substanz, die sie produziert – Stickstoffmonoxid (NO) – sind vielfältig, aber es gibt nur wenige Forschungsarbeiten, die sich im Zusammenhang mit aggressivem Verhalten mit NO beschäftigt haben.

Die Enzymfamilie der NOS besteht aus drei Isoformen: einer neuronalen Form, die in Nervenzellen gefunden wird (NOS-I); einer induzierbaren Form (NOS-II), die ursprünglich in Makrophagen entdeckt wurde und bei immunologischen Prozessen eine wichtige Rolle spielt und einer endothelialen Form (NOS-III), die den Gefäßtonus reguliert. Jedes dieser Enzyme produziert das freie Radikal NO, indem die Aminosäure L-Arginin zu L-Citrullin und NO oxidiert wird. NOS-I, die vorherrschende Enzym-Isoform im Gehirn, wird in ca. 1% aller Nervenzellen gefunden, und gilt somit als Hauptquelle von NO im Gehirn [57]. Neurone, die NOS-I enthalten, sind in allen Bereichen des Gehirns vorhanden, jedoch mit besonders hoher Dichte im limbischen System und in den Basalganglien - Gehirnregionen, die bei der Regulation von Emotionen und aggressivem Verhalten wichtig sind [58]. Das Molekül NO ist gasförmig und mit einer Halbwertszeit von wenigen Sekunden sehr labil. Es agiert im zentralen wie im peripheren Nervensystem als atypischer Neurotransmitter und Neuromodulator [57].

1.5.1 Physiologische Funktionen von NOS-I

Im Gehirn ist die NO Produktion u. a. mit der Glutamatrezeptoraktivierung verknüpft. Wird der *N*-Methyl-d-Aspartat (NMDA)-Rezeptor durch Glutamat aktiviert, kommt es zu einem Kalzium-Einstrom in das Neuron. Calcium-Calmodulin-Komplexe aktivieren nun NOS-I, die daraufhin L-Arginin zu NO und L-Citrullin umwandelt. NO moduliert wiederum einerseits durch S-Nitrosylierung die NMDA Rezeptorfunktion (aber auch andere Proteine) und diffundiert andererseits

1. Einleitung

als Neurotransmitter in benachbarte Zellen. Dort aktiviert es die lösliche Guanylatzyklase, die GTP in den *second messenger* cGMP umwandelt. cGMP aktiviert in seinen Zielzellen Kinasen. [57]. Daneben gibt es direkte genomische Effekte von NO durch CREB-Dephosphorylierung und Nitrosylierung von CRE-bindenden Proteinen mit subsequenter Histon-Acetylierung.

Abgesehen von der glutamatergen Übertragung greift das nitrinerge System auch in die dopaminergen und serotonergen Signalwege ein, indem es die Funktion der Monoamin-Transporter moduliert. DAT und der Serotonintransporter (5HTT) werden durch NO S-nitrosyliert und damit wird der Monoamin-Reuptake in striatale und hippocampale Terminale blockiert. Folglich steht mehr Neurotransmitter in der Synapse zur Verfügung [59]. Kurz nach der Entdeckung, dass NO an der glutamatergen Transmission beteiligt ist, wurde Gleiches für die striatale dopaminerge Transmission postuliert. Zwar sind die prä- und postsynaptischen Funktionen von NO dort noch nicht genau präzisiert; bekannt ist aber zum einen, dass durch die verminderte NOS-Aktivität der extrazelluläre Dopamin-Spiegel gesteigert wird, zum anderen werden striatale Regelkreise und Projektionsneurone, die an der nigro-striatalen DA Neuronenaktivität beteiligt sind, beeinflusst [60].

Für Serotonin scheint die Datenlage widersprüchlicher, denn einerseits kann NO – wie oben erwähnt – den Serotonintransporter hemmen bzw. kann die neuronale NOS seine Aktivität reduzieren [61], andererseits scheint NO den 5HTT auch zu stimulieren. Durch Zugabe des NO-Donors S-nitroso-N-acetylpenicillamin wurde demonstriert, dass NO die 5HTT-Aktivität verstärkt [62]. Somit wäre es auch möglich, dass eine dysregulierte NO-Funktion die serotonergen Signalwege beeinflussen könnte.

Insgesamt lässt sich derzeit noch kein konsistentes Bild von nitrinergen Effekten auf die menschliche Gehirnfunktion zeichnen, aber die Tatsache, dass NO möglicherweise ein Bindeglied zwischen dem glutamatergen und den monaminergen Systemen ist, erscheint umso interessanter, als man weiß, dass Serotonin aggressives Verhalten stark beeinflusst [9].

1.5.2 Das humane *NOS1*-Gen

Das menschliche *NOS1* Gen, das für das Enzym NOS-I kodiert, ist auf Chromosom 12q24.2 lokalisiert (siehe Abbildung 1). Die kodierenden Regionen, die aus 28 konstanten Exons bestehen, erstrecken sich über 110 Kb, während eine nicht-kodierende Region 12 erste untranslatierte Exons (1a bis 1l) umfasst, die alternativ gespleisst werden und von mindestens 10 alternativen Promotoren betrieben werden. Das führt zu *NOS1* Transkripten mit verschiedenen 5'-UTR. Durch den Gebrauch multipler alternativer Promotoren besteht die Möglichkeit, die Transkription komplex zu regulieren. Die genomische Region, die diese alternativen Promotoren und Exons umfasst, ist 130 Kb lang [63]. Von den untranslatierten ersten Exons treten Exon 1c und 1f am häufigsten im Gehirn auf.

1.5.2.1 *NOS1* Exon 1c

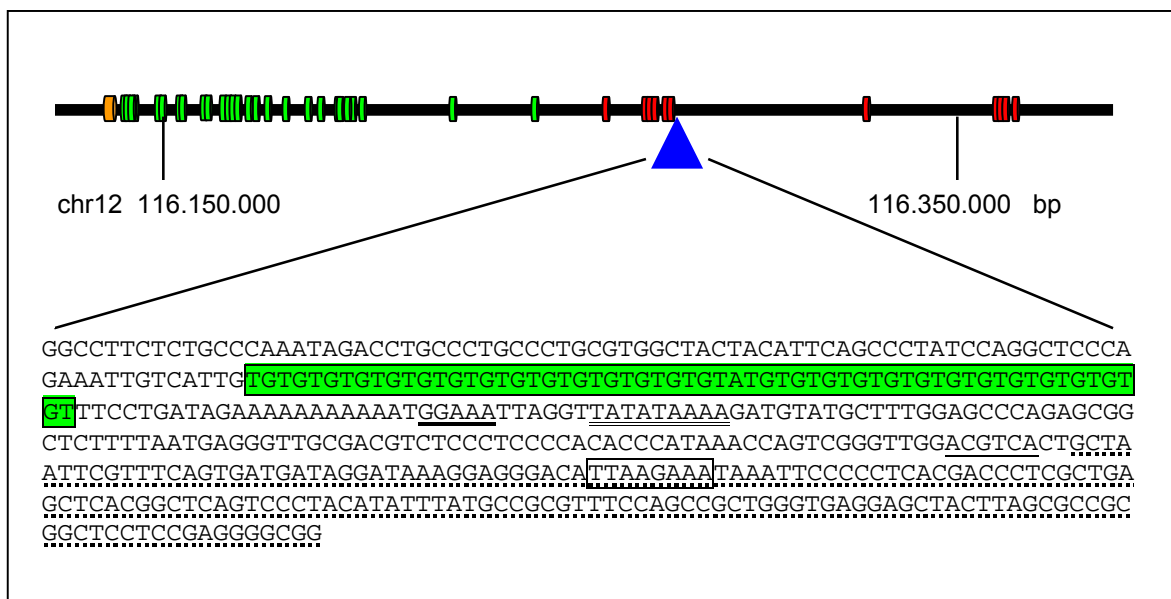
Der Promoterbereich von Exon 1c weist drei verschiedene Polymorphismen auf, bei denen es sich um Einzelbasenaustausche handelt (SNPs). Einer dieser SNPs liegt 84 bp vor Beginn des alternativen Exon 1c und weist entweder die Base A oder die Base G auf. Nur die „G-84A“ Variante ist funktional: das A Allel vermindert die Transkription um 30% bei *in vitro* Modellen [64]. Exon 1c hat relativ hohe Expressionslevel im Putamen, Hippocampus und im frontalen Kortex [63]. Da das Vorhandensein des A-Allels die Transkriptionsaktivität des *NOS1* Exon 1c (*NOS1* Ex1c) reduziert, haben Träger des A-Allels in jenen Gehirnregionen vermutlich eine verminderte nitrinerge Transmission.

1.5.2.2 NOS 1 Exon 1f

Im Exon 1f gibt es einen hochpolymorphen VNTR in der mutmaßlichen Promoter-Region (*NOS1* Ex1f-VNTR). Dieser VNTR besteht aus zwei sich wiederholenden Basen, ist also ein Dinukleotidrepeat. Er befindet sich 33 bp vor der TATA-Box; insgesamt sind 16 verschiedene Allele bekannt (von 180 bis 210 Repeats).

Abbildung 1

Schematische Zeichnung der *NOS1* Region und Sequenz des *NOS1* Ex1f-VNTR
(Reif et al., eingereicht)



Orange = 5'UTR

Grün = Kodierende Exons

Rot = Alternative erste Exons

Umrandet und grün hinterlegt = GT-repeat Region

Doppelt unterstrichen = TATA-Box

Einfach unterstrichen = CREB binding site

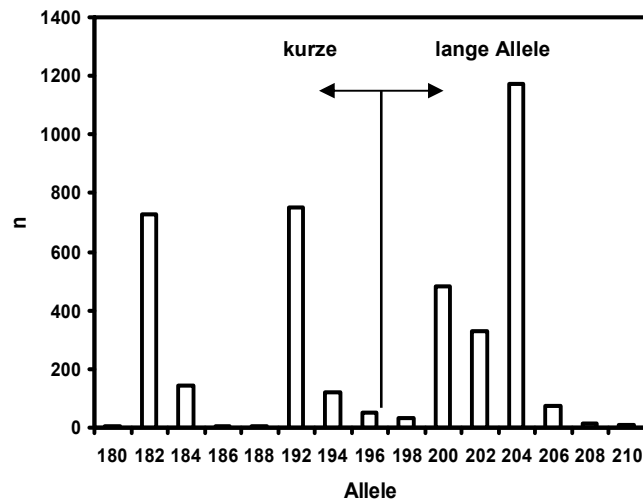
Eingrahmt und gepunktet unterstrichen = CCAAT/enhancer binding protein beta binding site

Gestrichelt unterstrichen = alternatives Ex 1f Transkript

1. Einleitung

Die Allele sind „bimodal“ verteilt, d.h. die Verteilung ist ungleichmäßig mit mehreren Häufigkeitsgipfeln, so genannten Clustern, bei den Allelen 182/184, 192 und 200/202/204 (siehe Abbildung 2; Reif et al., eingereicht).

Abbildung 2
Häufigkeit der
NOS1 Ex1f-VNTR-
Allele



Die bimodale Verteilung spricht für eine funktionale Relevanz und/oder evolutionären Druck auf diesen Polymorphismus. In der Tat konnte gezeigt werden, dass kurze Allele zu verminderter Expression eines Reportergens und zu Veränderungen des neuronalen Transkripts führen (Reif et al., eingereicht).

Nur die Hälfte der Allele treten mit einer Häufigkeit von > 1% auf; für Assoziationsstudien wird der *NOS1* Ex1f-VNTR daher in kurze (180-194; B-J) und lange (196-210; K-R) Allele dichotomisiert (siehe Abbildung 2) [63]. Exon 1f wird bevorzugt in den Basalganglien exprimiert, wo NO den striatalen Output reguliert [60].

1.5.3 Tiermodelle für Aggression – die Rolle von NOS

Erste Hinweise für einen Zusammenhang zwischen aggressivem Verhalten und nitrinergem Stoffwechsel kamen von Tierversuchen mit transgenen Mäusen. Mäuse, in denen das Gen für *NOS1* deletiert wurde, verhalten sich, verglichen mit

dem Wildtyp, außerordentlich aggressiv [7]. Phänotypisch erscheinen diese transgenen Mäuse ansonsten normal, insbesondere fällt kein sensomotorisches Defizit auf, das für die Aggressivität verantwortlich sein könnte.

Untermauert werden diese Daten durch pharmakologische Untersuchungen. Hemmt man die NOS-Enzymfamilie bei normalen Mäusen medikamentös, werden auch diese Tiere aggressiv [65].

Eine möglicher Mechanismus der exzessiven Aggressivität und Impulsivität bei *NOS1*-Knockout Mäusen ist eine Dysfunktion des serotonergen Systems. Tatsächlich finden sich in bestimmten Bereichen des ZNS Störungen im Serotoninmetabolismus bei den Knockout-Mäusen: ein reduzierter 5HT Umsatz und desensitivierte 5HT_{1A} und 5HT_{1B} Rezeptoren in Gehirnregionen, die Emotionen regulieren, sowie eine herunterregulierte 5HTT Expression im Hirnstamm [66].

Zusätzlich fällt bei den Knockout-Mäusen auf, dass Verhaltensweisen wie Ängstlichkeit und Depressivität weniger ausgeprägt sind. NO scheint demnach pleiotrope Effekte auf Verhaltensmerkmale zu vermitteln, die indirekt mit Aggression im Zusammenhang stehen könnten. Knockout-Mutanten sind weniger ängstlich [67] als der Wildtyp. Gleiches gilt, wenn man NOS-I medikamentös hemmt [67, 68].

Interessanterweise scheint NO gegensätzliche Effekte auf die Vermittlung von Aggression bei weiblichen und männlichen Tieren zu haben. Weibliche Nullipara-Mäuse zeigen kaum Aggressionen. Wildtyp-Weibchen, die ihre Jungen verteidigen, sind gegenüber Eindringlingen äußerst „aggressiv“ (maternale Aggression). *NOS1*-Knockout Weibchen zeigen diesbezüglich jedoch so gut wie keine maternale Aggression, obwohl alle anderen Verhaltensweisen normal sind [69]. Diese geschlechtsspezifischen Unterschiede im Aggressionsverhalten lassen vermuten, dass Plasma-Androgenkonzentrationen eine Rolle spielen, da aggressives Verhalten bei Wildtypmäusen von Testosteron abhängig ist. [70]. *NOS1*-Knockouts und Wildtypmäuse unterscheiden sich nicht in ihrer Plasma-

Testosteronkonzentration [7]. Kastrierte Knockout-Mäuse zeigen, gleich dem Wildtyp, normale Aggressionslevel. Substituiert man jedoch Testosteron, dann steigen die Aggressionslevel wieder auf den hohen Ausgangswert der Knockout-Mäuse. Testosteron ist demnach nötig um persistierende Aggressionen hervorzurufen [70].

Die Trisomie 21, ist eine Erbkrankheit, die durch eine Aberration des Chromosoms 21 entsteht und mit geistiger Retardierung einhergeht. Ts65Dn Mäuse sind Tiermodelle für das Down-Syndrom. Nachdem bei diesen Tieren durch Isolation Aggression erzeugt wurde, untersuchte man das NO-System in bestimmten Gehirnregionen. Es fand sich selektiv eine verminderte NO Produktion in bestimmten Bereichen des Frontalhirns, insbesondere im Hypothalamus, so dass die Autoren eine Korrelation zwischen Aggressivität und verminderter NO Produktion hypothesisierten [71].

1.5.4 Umweltfaktoren bei NO und Aggression

Neben der genetischen Manipulation scheint bei *NOS1* Knockout-Mäusen die Umweltkomponente wichtig zu sein. Die Kombination aus fehlendem *NOS1*-Gen und „Isolation“ bewirkt aggressives Verhalten, wenn die Tiere sich anschließend mit mehreren Artgenossen im Käfig aufhalten [7]. Wachsen die Tiere in Gruppen auf, stellt sich der aggressive Phänotyp nicht ein. Unter Studienbedingungen ist demnach eine Isolationsperiode nötig, um bei Mutanten Aggression zu erzeugen. Darüber hinaus haben mehrere Umweltfaktoren, unter anderem Zuchtbedingungen, Qualität und Quantität sozialer Interaktionen, vor allem die Beziehung zum Muttertier, einen Einfluss auf Serotoninfunktion und aggressives Verhalten [72]. Allerdings bleibt unklar, wie genau das Zusammenspiel zwischen diesen externen Faktoren, Serotonin und NO mit Aggression funktioniert.

1.5.5 Assoziationen von *NOS1* mit psychiatrischen Krankheitsbildern

Veränderungen des *NOS*-Gens hängen unter Umständen mit Suchterkrankungen zusammen, zumindest scheinen sie das Trinkverhalten im Bezug auf Alkohol zu regulieren: *NOS1*-Knockout Mäuse mit freiem Zugang zu alkoholierter und nicht-alkoholierter Flüssigkeit konsumierten wesentlich mehr Alkohol und reagierten auf sedativ-hypnotische Alkoholeffekte weniger sensitiv. Veränderungen im *NOS*-Gen könnten folglich ein gewisses Risiko für eine Alkoholabhängigkeit bergen [73]. Umgekehrt scheint Alkoholkonsum in der Schwangerschaft einen schädigenden Einfluss auf die *NOS*-Expression im Gehirn zu haben. Bei jungen Ratten, deren Mütter während der Schwangerschaft Alkohol konsumierten, wurde die *NOS*-Expression im Hippocampus in Abhängigkeit von der aufgenommenen Dosis reduziert [74].

Wie schon erwähnt, finden sich *NOS1* Exon 1c und 1f-Transkripte im Hippocampus und im Frontalhirn. Beide Gehirnregionen spielen sowohl bei der Pathogenese der Schizophrenie, als auch bei der Entstehung von Alzheimer eine Rolle. Um herauszufinden, ob *NOS1* zum genetischen Risiko für diese Krankheiten beiträgt, wurden die beiden o.g. *NOS1*-Polymorphismen bei Patienten mit einer Alzheimer-Demenz oder einer schizophrenen Psychose untersucht. M. Alzheimer, die häufigste Demenzform im Alter, geht in bestimmten Bereichen des Kortex und des Hippocampus mit einem Verlust von Neuronen, die *NOS-I* exprimieren, einher. Diese Neurone scheinen für neurodegenerative Prozesse sehr anfällig zu sein. Die kurzen Allele des *NOS1* Exon 1f VNTRs stellen in der Tat einen Risikofaktor dar, an Alzheimer zu erkranken - vor allem für Frauen [75].

Polymorphismen in beiden Exons, 1c und 1f, sind mit schizophrenen Psychosen und der Aktivierung des präfrontalen Kortex assoziiert: Das A-Allel des *NOS1* Ex1c-Polymorphismus ist signifikant mit Schizophrenie und einer verschlechterten präfrontalen Gehirnfunktion assoziiert. Der Polymorphismus in Exon 1f (VNTR) ist zwar nicht direkt mit der Schizophrenie assoziiert, aber mit der Schwere der

Psychopathologie. Ähnlich wie bei der Alzheimer-Erkrankung sind es erneut die kurzen Allele, die ein erhöhtes Krankheitsrisiko verursachen [63].

Da zum einen NOS-1 im Tiermodell mit aggressiven Verhaltensweisen in Verbindung gebracht wurde, zum anderen aber *NOS1*-Polymorphismen mit Erkrankungen assoziiert sind, die mit einem erhöhten Aggressions-Niveau und verminderter präfrontaler Kontrollfunktion einhergehen, liegt die Hypothese einer Assoziation von *NOS1* mit gewalttätigem Verhalten nahe.

1.6 Ziele der Arbeit

Ziel der Arbeit war es, den Einfluss von vier verschiedenen Gen-Polymorphismen (MAO-A-uVNTR, DAT und im *NOS1* Promotor Exon 1c und 1f) auf aggressives Verhalten zu untersuchen. Im Rahmen einer Fall-Kontroll-Studie wurden eine Stichprobe (bestehend aus verurteilten Straftäter) und eine Kontrollgruppe (Bevölkerungskollektiv) hinsichtlich der Auftretenshäufigkeit der eben genannten vier Polymorphismen untersucht. Hierfür wurde die DNA jedes Probanden analysiert und der jeweilige Genotyp der Polymorphismen durch PCR bestimmt. Mithilfe von univariaten bzw. stufenweise logistischen Regressionsanalysen wurde anschließend ermittelt, ob bestimmte Genotypen einen Einfluss auf gewalttätiges Verhalten haben. Ebenfalls berechnet wurde, ob bestimmte Umweltkomponenten, d.h. Aufwachsen in einem ungünstigen sozialen Umfeld, bzw. eine Interaktion von Genotyp und Umwelt das Risiko erhöhen gewalttätig zu werden.

2. Material und Methoden

2.1 Stichprobe

In die Studie wurden 184 erwachsene Männer europäischer Herkunft eingeschlossen. Die Teilnahme erfolgte auf freiwilliger Basis. Die Probanden wurden jeweils zur Beurteilung der Schuldfähigkeit bei kriminellen Delikten einer forensischen Untersuchung im Institut für Forensische Psychiatrie der Universität Saarland unterzogen. Das Durchschnittsalter zum Zeitpunkt der Untersuchung betrug 34,1 Jahre (SD 11,7 Jahre). Probanden mit der Diagnose einer aktuell bestehenden Drogenabhängigkeit, einer Schizophrenie, einer schweren Depression bzw. bipolaren Störung, oder einer anderen schweren Achse-I Diagnose wurden ausgeschlossen, ebenso wie intelligenzgeminderte Probanden (IQ < 70 nach DSM-IV Kriterien).

In der untersuchten Stichprobe fanden sich folgende psychiatrische Dauerdiagnosen (nach DSM-IV Kriterien):

Tabelle 1 Psychiatrische Diagnosen in der Stichprobe

Psychiatrische Diagnose (DSM-IV)	Anteil v. H.
Substanzmissbrauch in der Vergangenheit	46,2%
Psychotische Störungen	8,2%
Paraphilien	4,5%
Affektive Störungen	2,2%
Neurotische Störungen und Störungen der Impulskontrolle	3,8%
Cluster B Persönlichkeitsstörungen	27,2%
Cluster A und C Persönlichkeitsstörungen	7,6%

Alle Testpersonen wurden neurologisch untersucht und von einem Psychiater einem semi-strukturierten psychiatrischen Interview nach der Vorlage der Arbeitsgemeinschaft für Methodik und Dokumentation in der Psychiatrie (AMDP, 2000) unterzogen. Symptome, die auf das Vorliegen einer

2. Material und Methoden

Aufmerksamkeitsdefizit-/Hyperaktivitätsstörung in der Kindheit hinwiesen, wurden mithilfe der deutschen Version des Wender Utah Rating Scale (WURS-k) bewertet. Aktuell bestehende ADHS Symptome wurden mit dem ADHS-SB (Self-rating behavior questionnaire) erfasst [36]. Jeder Proband wurde entsprechend seiner kriminellen Vorgeschichte (polizeiliches Führungszeugnis und andere Dokumente, aus denen kriminelle Straftaten hervorgehen) einer Gewalt- bzw. Nicht-Gewalt Gruppe zugeordnet. Gewalt wurde nach Volavka als „offenkundig und willentlich körperlich aggressives Verhalten gegenüber einer anderen Person“ definiert [76],[77]. Nur wiederholt aggressive und gewalttätige Straftäter wurden der Gewalt-Gruppe zugeordnet. Straftäter mit nicht-gewalttätigen Delikten, wie Betrug oder Diebstahl, wurden in die Nicht-Gewalt Gruppe eingeschlossen. Probanden, die man nicht eindeutig einer der Gruppen zuordnen konnte, z.B. bei Vorliegen einer einzelnen schweren Gewalttat, wurden aus der Studie ausgeschlossen.

Um die Reliabilität der Phänotyp Beurteilung (gewalttätig vs. nicht-gewalttätig) zu sichern, beurteilten zwei verschiedene Gutachter eine Untergruppe von 25 Probanden. Die Inter-Rater-Reliabilität betrug dabei 0,92 (Cohens Kappa).

Tabelle 2 Straftaten der Studienteilnehmer

Straftat	Absolute Zahl
Totschlag, Körperverletzung, Raubüberfälle	75
Einbruch und Betrug	41
sexuelle Übergriffe	33
Drogendelikte	12
Verkehrsverstöße	11
Sonstige, nicht näher bezeichnete Straftaten	56

2.2 Kontrollen aus der Transfusionsmedizin

Hierbei handelt es sich um eine Kontrollstichprobe von Blutspendern der Universität Würzburg (Transfusionsmedizinische Abteilung) [78] mit insgesamt 284 Personen, von denen 150 männliche Probanden untersucht wurden. Die Stichprobe wurde nicht auf das Vorliegen psychiatrischer Erkrankungen, ADHS oder gewalttätigem Verhalten untersucht. Ein stattgehabter Gefängnisaufenthalt stellt jedoch eine Kontraindikation gegen die Blutspende dar. Es ist somit davon auszugehen, dass gewalttätige Kriminalität in dieser Stichprobe kaum eine Rolle spielt, jedoch ein repräsentativer Querschnitt der Gesamtbevölkerung getroffen ist. Ein weiteres Ausschlusskriterium war regelmäßige Medikamenteneinnahme. Das mittlere Alter der Kontrollen betrug 35 ± 13 Jahre. Schriftliches Einverständnis nach ausführlicher Aufklärung über Studienziel und –Design war Voraussetzung für eine Teilnahme. Die Studie wurde von dem Ethikkomitee der Universität Würzburg und dem Ethikkomitee der Universität Saarland genehmigt.

2. Material und Methoden

2.3 Skala für belastende Lebensereignisse

Die ausführliche Erhebung der Lebensereignisse und deren Analyse erfolgten verblindet durch cand. med. D. Wenzler im Rahmen einer medizinischen Doktorarbeit. In die vorliegende Arbeit ging der übermittelte Summenwert des sogenannten *Childhood Adverse Environment Index* (CAEI) ein, der wie folgt ermittelt wurde.

Der CAEI dient zur Beurteilung des psychosozialen Milieus, in dem die Probanden aus der Stichprobe aufwuchsen (0 bis 10 Jahre). Bewertet wurden sozialer Status, Familienstruktur, emotionales Familienklima, soziale Integration und Schulbildung (Tabelle 3). Die eben aufgezählten Bereiche wurden jeweils mit 0 – 2 Punkten bewertet. Höhere Punktzahlen zeigen ein ungünstiges psychosoziales Milieu an. Für jeden Teilnehmer wurde dann ein Summenwert für nachteilige Umweltfaktoren während der Kindheit errechnet, wobei der Punktwert 0 ein optimales und der Punktwert 2 das schlechteste psychosoziale Milieu darstellt.

Tabelle 3 Standardisierte Erfassung der Entwicklungsbedingungen [79]

				Möglich	Sicher	Nicht bekannt
F1. Sozialer Status, Lebensstandard	Hoch Keine finanziellen Probleme, Eltern berufstätig, gesicherte Wohnsituation	$\frac{ }{0}$	Niedrig Niedriges Familieneinkommen, Arbeitslosigkeit, Sozialhilfe, alleinerziehend ohne Unterstützung etc.	$\frac{ }{1}$	$\frac{ }{2}$	$\frac{ }{?}$
F2. Familienstruktur	Geordnet In konstanter Familienstruktur aufgewachsen, feste Bezugspersonen, zusammen mit Geschwistern	$\frac{ }{0}$	Labil Frühe Unterbringung im Heim/bei Pflegeeltern, häufig wechselnde Bezugspersonen, Eltern geschieden/ häufiger Partnerwechsel	$\frac{ }{1}$	$\frac{ }{2}$	$\frac{ }{?}$
F3. Emotionales Klima in der Familie	Keine Gewalt	$\frac{ }{0}$	Gewalterfahrungen Selbst geschlagen worden, Gewalttätigkeiten in der Familie, Familienmitglieder delinquent, häufig Streit	$\frac{ }{1}$	$\frac{ }{2}$	$\frac{ }{?}$
F4. Soziale Integration	Gut Keine Probleme im Kindergarten, in Vereinen, kirchlichen Vereinigungen	$\frac{ }{0}$	Schlecht Einzelkind, wenig Kontakt mit anderen Kindern, stromert herum	$\frac{ }{1}$	$\frac{ }{2}$	$\frac{ }{?}$
F5. Beschulung	Normal Reguläre Schulausbildung	$\frac{ }{0}$	Irregulär Häufige Schulwechsel, Klassenwiederholungen, Schulabbruch	$\frac{ }{1}$	$\frac{ }{2}$	$\frac{ }{?}$

2. Material und Methoden

2.4 Verwendete Materialien

Tabelle 4 listet die zur Genotypisierung verwendeten Materialien auf, Tabelle 5 die Puffer aus eigener Herstellung und in Tabelle 6 findet sich eine Übersicht über die verwendeten Primer.

Tabelle 4 Verwendete Materialien

		Hersteller
Enzyme	Taq DNA-Polymerase Fnu4HI Enzym	AG Lesch, Fr. Ortega NEW ENGLAND BIOLABS, Frankfurt
Nukleotide	dNTP (100 mM; dGTP, dATP, dTTP, dCTP)	Promega GmbH, Mannheim
Oligonukleotide (PCR-Primer)	MAO-A, DAT, NOS1 Ex1c, NOS1 Ex1f	MWG BIOTECH AG, Ebersberg
Fluoreszierender Farbstoff	Cy 5	TIB MOLBIOL, Berlin
Chemikalien ¹	Agarose	BIOZYM, Rockland, USA
	N,O-Bis-(trimethylsilyl)-acetamid (BSA)	APPLICHEM, Darmstadt
	Bromphenolblau (für Blaupuffer)	MERCK, Darmstadt
	100 bp DNA-Leiter	PEQLAB, Erlangen
	Digestpuffer (NEB Puffer 3)	NEW ENGLAND BIOLABS, Frankfurt
	Ethanol	BAKER, Deventer Holland
	Ethylendiamintetraacetat (EDTA)	SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH, Steinheim
	Ethidiumbromid	SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH, Steinheim
	Glycerol (für Blaupuffer)	SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH, Steinheim
	KCl (für PCR-Puffer)	APPLICHEM, Darmstadt
	Tris-Acetat, Tris-HCl	MERCK, Darmstadt
	Tween 20 (für PCR-Puffer)	APPLICHEM, Darmstadt
	Wasser für PCR	MERCK, Darmstadt

2. Material und Methoden

	Xylen Cyanol FF GmbH (für Blaupuffer)	SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH, Steinheim
Geräte	Biometra T-Gradient Thermocycler	BIOMETRA, Göttingen
	Biometra UNOII Thermoblock	BIOMETRA, Göttingen
	CEQ 8000 (Kapillarsequenzierer)	BECKMAN-COULTER, Krefeld
	Chemi Doc	BIO-RAD, München
	Spannungsgerät: Power Supply	LKB, Bromma, Schweden
	Ultraviolet Transilluminator	UVP, Upland CA
	Zentrifugen: Mikroliter, Rotanta 96RS, Megafuge 1.OR	HETTICH, Tuttlingen HERNAEUS INSTRUMENTS GmbH, Osterode
	Waagen: Toledo, PM 300	METTLER, Gießen
	Wasserbad	GFL (Gesellschaft für Labortechnik), Burgwedel
	Gelkammern, Kämme, Spacer, Klammern	PEQLAB, Erlangen
	Pipetten	EPPENDORF, Hamburg
	Reaktionsgefäße: PCR Softtubes 0,2 ml Safe Lock 1,5 ml	SARSTEDT, Nümbrecht EPPENDORF, Hamburg
	96-well Mikrotiterplatte	EPPENDORF, Hamburg
	Spitzbodenröhrchen 15 ml, 50 ml	SARSTEDT, Nümbrecht
	Filterspitzen	SARSTEDT, Nümbrecht

¹ Sämtliche Chemikalien besaßen analytischen Reinheitsgrad

2. Material und Methoden

Tabelle 5 Zusammensetzung der Puffer aus eigener Herstellung

Puffer	Zusammensetzung
1xTAE-Puffer	40 mM Tris-Acetat 1 mM EDTA (pH 8,0)
Auftragspuffer für Gel (Blaupuffer)	0,25 % Bromphenolblau 0,25 % Xylen Cyanol FF 30 % Glycerol in Wasser
PCR-Puffer mit MgCl ₂	500 mM KCl 100 mM Tris-HCl (pH 8,3) 0,25% Tween-20 0,25 mg/ml BSA 10 mM oder 15 mM MgCl ₂
PCR Puffer Goldstar	75 mM Tris-HCl 20 mM (NH ₄) ₂ SO ₄ 0.01% Tween-20

Tabelle 6 Übersicht über die verwendeten Primer

	Forward Primer	Reverse Primer
MAO-A	5'-AGCCTGACCGTGGAGGAGG-3'	5'GGACCTGGGCAGTTGTGC-3'
DAT	5'-TGTGGTGTAGGGAACGGCCTGAG-3'	5'-CCTCCTGGAGGTCACGGCTCAAGG-3'
NOS1 Ex1c	5'-CTGACTGCCCTTGTCTCTCC-3'	5'GCGACTGGGGTTTAATTGAC-3'
NOS1 Ex1f	5'-TGCGTGGCGACTACATTCAGC-3' ¹	5'-GGAGACGTGCAACCCTCAT-3'

¹ Mit fluoreszierendem Farbstoff (cy-5) markiert.

2.5 Genotypisierung

2.5.1 DNA-Extraktion

Bei den Probanden aus der Stichprobe und bei den Teilnehmern der Kontrollgruppe wurden venöse Blutentnahmen durchgeführt. Anschließend wurde die DNA nach einem standardisierten Verfahren mittels einer Salzfällungsmethode extrahiert [80].

2.5.2 PCR

Um die vier verschiedenen Polymorphismen zu genotypisieren, wurde die Polymerasekettenreaktion (PCR) verwendet [81]. Aus einem komplexen DNA-Gemisch wird selektiv eine DNA-Matrize vervielfacht. Die Reaktion besteht aus aufeinander folgenden Zyklen, die jeweils aus *drei* Schritten bestehen. Durch Erhitzen bei 95°C werden die DNA-Doppelstränge in Einzelstränge aufgetrennt (*Denaturierung*). Die Anlagerung der Primer erfolgt bei einer Temperatur, die vom Schmelzpunkt der verwendeten Primer abhängig ist. Primer sind Oligonukleotide, die spezifisch an ihre komplementäre DNA-Sequenz binden. Sie flankieren die zu amplifizierende DNA-Strecke und kennzeichnen somit dem Enzym Taq-Polymerase den Startpunkt der Synthese (*Annealing*). Bei 72°C synthetisiert die hitzestabile Taq-Polymerase (DNA-Polymerase) aus den zugegebenen Nukleosidtriphosphaten am freien 5'-OH-Primer-Ende die Einzelstränge zu Doppelsträngen (*Synthese*).

Nach jedem Zyklus ist die DNA verdoppelt. Eine PCR besteht normalerweise aus 20-40 solcher Zyklen. Die durch die Primer definierten DNA-Zielsequenzen können in der Kettenreaktion bis zu 10⁶-fach vervielfältigt werden.

Um Kontaminationen auszuschließen bzw. zu erkennen, erfolgte regelmäßig eine Negativkontrolle, bei der statt einer DNA-Vorlage Wasser eingesetzt wurde. Das Gesamtvolumen des Reaktionsansatzes betrug 25 µl bzw. 50 µl (Tabelle 7).

2. Material und Methoden

Tabelle 7 Komponenten der Reaktionsansätze

Komponente	MAO-A	DAT	NOS1 Ex1c	NOS1 Ex1f
Puffer Goldstar	1x	-	-	-
Puffer mit MgCl ₂	2,5 mM	1,5 mM	1,5 mM	1,5 mM
dNTP	200 µM	200 µM	200 µM	200 µM
Forwardprimer	0,4 µM	0,4 µM	0,4 µM	50 nM
Reverseprimer	0,4 µM	0,4 µM	0,4 µM	50 nM
DNA	50 ng	50 ng	50 ng	50 ng
Taq Polymerase	0,5 U	0,5 U	0,5 U	0,4 U
Volumen	25 µl	25 µl	25 µl	50 µl

Der Reaktionsansatz wurde durch Schütteln vermischt, in der Eppendorfzentrifuge kurz zentrifugiert und in einen Thermocycler gegeben. Die anschließende PCR erfolgte nach folgenden Programmparametern (Tabelle 8).

Tabelle 8 PCR Programme

	MAO-A	DAT	NOS1 Ex1c	NOS1 Ex1f
Start	95°C, 3min	95°C, 5min	95°C, 3min	98°C, 2min
Denaturierung	94°C, 40s	95°C, 45s	95°C, 45s	94°C, 20s
Annealing	63°C, 40s	67,5°C, 45s	58°C, 45s	56°C, 20s
Synthese	72°C, 40s	72°C, 45s	72°C, 45s	72°C, 30s
Zyklen	35	35	35	26

Bei Bestimmung der MAO-A-uVNTR und NOS1 Ex1f-VNTR Polymorphismen wurde dem Programm ein so genannter „Touch Down“ vorgeschaltet. Um ein spezifisches Anlagern der Primer zu erreichen, wurde bei der MAO-A PCR die Annealing-Temperatur in 7 Zyklen von 70°C auf 63°C erniedrigt, d.h. in jedem Schritt um 1°C gesenkt. Bei dem NOS1 Ex1f-VNTR wurde die Annealing-Temperatur von 63°C in 10 Zyklen jeweils um 0,5 °C gesenkt.

2.5.3 Elektrophorese

2.5.3.1 Agarosegelelektrophorese

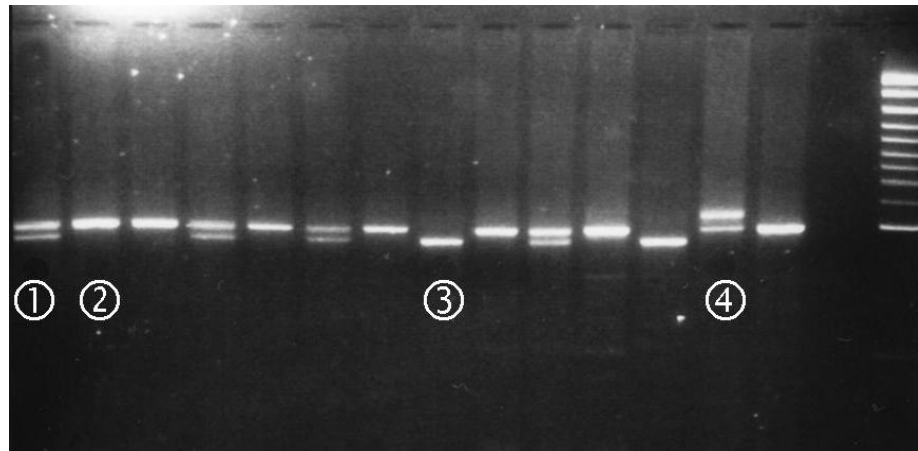
PCR-Produkte unterschiedlicher Fragmentlängen können elektrophoretisch nach ihrer Größe aufgetrennt werden. Diese werden mit Strängen bekannter Größe verglichen. Hierdurch lassen sich die Genotypen bestimmen.

Zur Gelherstellung wurde durch mehrfaches Aufkochen 4% Agarose (bei DAT 3% und bei *NOS1 Ex1c* 3,5%) in 1xTAE-Puffer gelöst, nach dem Abkühlen auf 50°C mit 30 µg (pro 100ml Gel) Ethidiumbromid versetzt und in ein Flachbett mit eingesetztem Probestaschenkamm gegossen. Nach dem Erstarren des Gels wurde der Kamm entfernt. Das polymerisierte Gel wurde mit dem Flachbett in die Elektrophoresekammer gesetzt, so dass die Taschen an der negativen Elektrode der Kammer zu liegen kamen. Das Gel wurde mit 1xTAE-Puffer überschichtet und die Taschen mit den DNA-Proben und Auftragspuffer (Verhältnis DNA-Probe/Puffer ca. 3:1) beladen. Als Längenstandard wurde eine 100 bp-Leiter aufgetragen. Die Elektrophorese erfolgte bei max. 120 V bis die Bromphenolblau-Bande das Gel fast durchlaufen hatte. Unter Spannung laufen die kürzeren DNA-Stränge schneller als die längeren auf den Pluspol zu. Zur Auswertung und Dokumentation der Genotypen wurde das in die DNA interkalierte Ethidiumbromid auf dem UV-Tisch zur Fluoreszenz angeregt und die Bandenmuster fotografiert (Chemi Doc). Die Banden entsprechen einer bestimmten Anzahl an Basenpaaren und somit einer bestimmten Anzahl an Kopien des jeweiligen Polymorphismus.

Bei DAT-VNTR, der aus einem 40 bp repeat Element besteht, gibt es vier Varianten mit entweder 8 Kopien (396 bp), 9 Kopien (436 bp), 10 Kopien (476 bp) oder 11 Kopien (516 bp) (Abbildung 3).

2. Material und Methoden

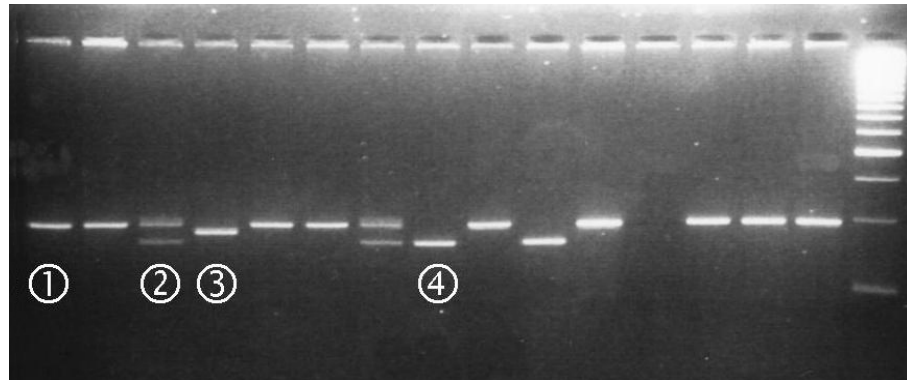
Abbildung 3
DAT-VNTR



- ① Banden bei 436 bp und bei 476 bp (Allele 9/10)
- ② Bande bei 476 bp (Allele 10/10)
- ③ Bande bei 436 bp (Allele 9/9)
- ④ Bande bei 516 bp und bei 476 bp (Allele 11/10)

Der MAO-A-uVNTR besteht aus einem 30 bp repeat Element mit 3 Kopien entsprechend einer Bande bei 258 bp, 3.5 Kopien entspricht 276 bp, 4 Kopien 288 bp und 5 Kopien 308 bp (Abbildung 4).

Abbildung 4
MAO-A-uVNTR

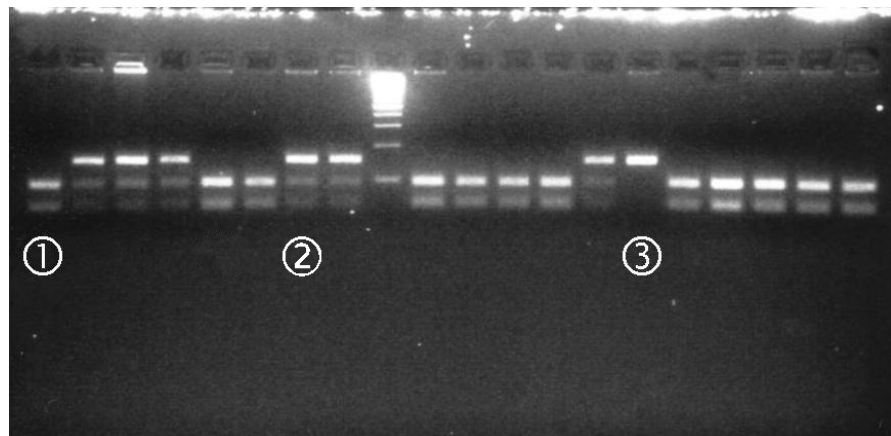


- ① Bande bei 288 bp (Allele 4/4)
- ② Bande bei 258 bp und 288 bp (Allele 3/4)
- ③ Bande bei 276 bp (Allele 3.5/3.5)
- ④ Bande bei 258 bp (Allele 3/3)

2. Material und Methoden

Bei dem SNP im *NOS1* Ex1c gibt es zwei Allele: A und G. Im Promotorbereich liegt 84 bp vor der Transkriptionsstartstelle des alternativen Exon 1c entweder die Base A oder die Base G vor [64]. Um die Alleltypen zu differenzieren, mussten die 150 bp langen PCR Produkte zunächst einem restriktionsenzymatischen Verdau unterzogen werden. Hierzu wurden 10µl PCR-Produkt mit 1µl des Enzyms Fnu4HI, 2µl NEB Puffer 3 und 7µl Wasser bei 37°C eine Stunde im Wasserbad inkubiert und anschließend auf 3,5% Agarosegel elektrophoretisch aufgetrennt. Das Enzym Fnu4HI erkennt die Basenabfolge GC'NGC und schneidet den DNA-Strang am Apostroph. Liegt die Base A vor, so wird das PCR-Produkt beim Enzymverdau nicht geschnitten. Die Bande liegt folglich für Allel A bei 150bp. Liegt jedoch die Base G vor, erkennt Fnu4HI dies und das PCR Produkt wird geschnitten. Für Allel G ergeben sich zwei Banden, bei 93 bp und bei 57 bp. Es gibt demnach drei verschiedene Genotypen: A/A, G/G und G/A (Abbildung 5).

Abbildung 5
NOS1 Ex1c



- ① Banden bei 57 und 93 bp (Allel G)
- ② Banden bei 57, 93 und 150 bp (Allel A/G)
- ③ Bande bei 150 bp (Allel A)

2.5.3.2 Elektrophorese mit CEQ 8000 (Fragmentanalyse)

Zur Bestimmung der Alleltypen beim *NOS1* Ex1f-VNTR wurde der Forward-Primer mit einem fluoreszierenden Farbstoff (Cy 5,5) markiert, der die Detektion des Fragments auf einem Kapillarsequenzier (CEQ 8000) ermöglicht. Für die Trennung

2. Material und Methoden

der PCR Produkte wurden 200 µl Wasser zu den PCR-Ansätzen gegeben. Je 2 µl dieser Verdünnung wurden gemeinsam in die Probenplatte (96-well Mikrotiterplatte) des CEQ gegeben. In die Sample-Wells der Probenplatte sind jeweils 0,25 µl Längenstandard 400 in 30 µl Wasser vorgelegt. Anschließend wurden die PCR-Produkte mit den Parameter-Set „Frag-3“ (Kapillartemperatur 50 °C; Probendenaturierung 2 min 96 °C; Injektion 30 sec. 2.0 kV; Trennung 35 min bei 6.0 kV) getrennt. Die Allele können mit den *Locus Tags* der entsprechenden STR Marker identifiziert werden.

Der *NOS1 Ex1f-VNTR* ist ein Dinukleotidrepeat. Es gibt Allele von 180 bis 210 bp (A-Q). Da nur acht der insgesamt 15 *NOS1 Ex1f-VNTR* Allele eine Häufigkeit von über 1% haben, werden sie in kurze, d.h. 180-196 repeats (B-J) versus lange, d.h. 198-210 repeats (K-R) Allele dichotomisiert. Bei den Genotypen treten CN (11,6%), HN (11,5%) NN (9,1%) und LN (8,9%) am häufigsten auf [63]. In Abb. 6 und 7 sind beispielhaft die Genotypen C/N und H/N dargestellt. Die farbmarkierten Allele führen entsprechend ihrer Basenpaargröße zu Peaks: C bei 188 bp, H bei 198 bp und N bei 210 bp.

Abbildung 6

NOS1 Ex1f-VNTR
Allele C/N

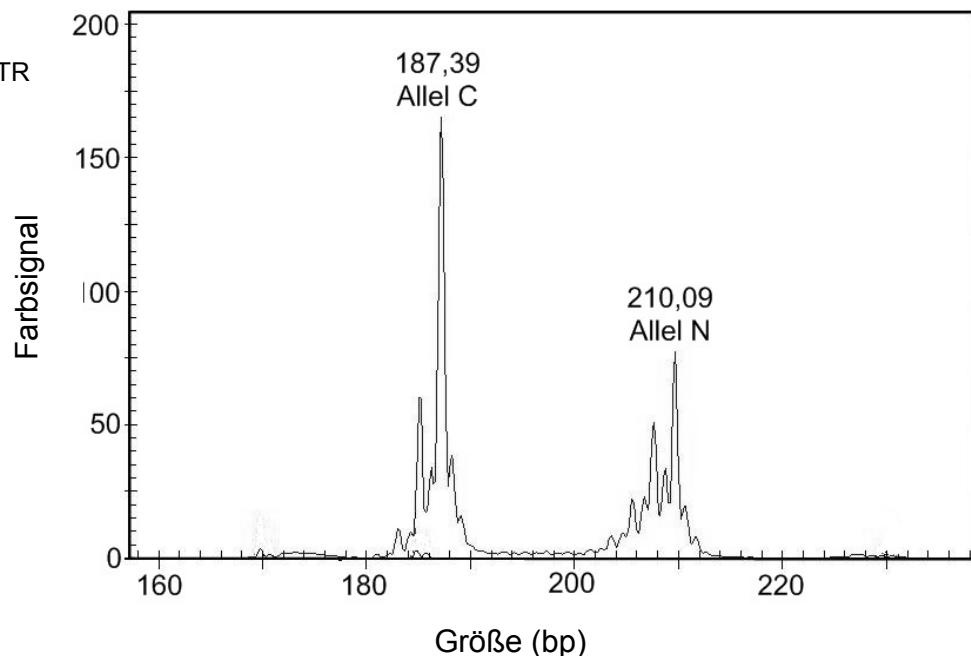
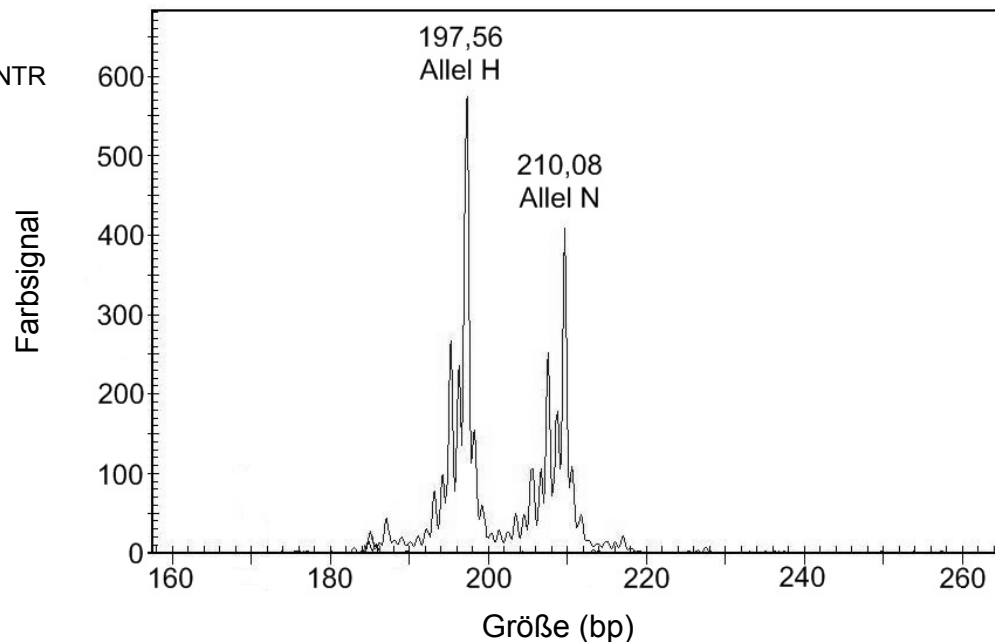


Abbildung 7
NOS1 Ex1f-VNTR
Allele H/N



2.6 Statistische Auswertung

Der MAO-A-uVNTR, DAT-VNTR, *NOS1* Ex1c-SNP und *NOS1* Ex1f-VNTR wurden ihrer Funktionalität entsprechend dichotomisiert.

Bei MAO-A-uVNTR gab es zwei funktionelle Gruppen, d.h. kurze MAO-A Allele (3 Kopien) wurden mit langen MAO-A Allelen (3.5, 4 und 5 Kopien) verglichen. Bei DAT-VNTR wurden die Genotypen 9/9, 9/10, 9/11 gruppiert und mit den 10/10 und 10/11 Genotypen verglichen. Bei *NOS1* Ex 1c wurden die Allelgruppen AA und AG (also A-Allel-Träger) versus GG ausgewertet. Die *NOS1* Ex1f-VNTR Dichotomisierung erfolgte in kurze (K) und lange Allele (L) und es wurde in drei Gruppen (KK, KL, und LL) ausgewertet. Alle Polymorphismen waren im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht ($p > 0,1$).

Die Testpersonen aus der forensischen Psychiatrie wurden wie oben beschrieben in die Untergruppen Gewalttätige vs. Nicht-Gewalttätige Probanden eingeteilt. Mögliche Störvariablen bei den Gewalttätigen wie Alter, Persönlichkeitsstörung oder Drogenabhängigkeit in der Vorgeschichte und ADHS-Symptome in der

2. Material und Methoden

Kindheit bzw. aktuell wurden mit Hilfe einer univariaten logistischen Regressionsanalyse ermittelt und überprüft. Ein p-Wert < 0.10 wurde als Schwellenwert für die Assoziation von Gewalt mit möglichen Störvariablen festgelegt. Die Störvariablen wurden mit einem stufenweisen logistischen Regressionsverfahren kontrolliert, um analysieren zu können, ob Genotyp und ungünstige Entwicklungsbedingungen in der Kindheit einen Einfluss auf gewalttätiges Verhalten hatten. „Gewalttätiges Verhalten“ war die abhängige Variable. Unabhängige Variablen stellten die dichotomisierten Genotypen (MAO-A, DAT, NOS1 Ex1c, und NOS1 Ex1f) dar, sowie die stetige Variable „ungünstige Entwicklungsbedingungen“ und die Interaktion „Genotyp x ungünstige Entwicklungsbedingungen“. Hatte ein Interaktionsterm keinen Einfluss auf die abhängige Variable Gewalt, wurde er aus der Wertung genommen. Mögliche Störvariablen (stetige Variable Alter, dichotomisierte Variablen, z.B. das Vorhandensein oder Fehlen von Persönlichkeitsstörungen und Drogenabhängigkeit in der Vorgeschichte) blieben zunächst in der Wertung, wurden dann in post-hoc Analysen allerdings herausgerechnet. Nur die Ergebnisse der endgültigen Wertung werden aufgeführt. Von dieser Wertung ausgehend, wurde die mittlere Wahrscheinlichkeit für gewalttätiges Verhalten bei verschiedenen Kombinationen von Risikofaktoren berechnet (dichotomisierte MAO-A uVNTR, CAEI und 5HTTLPR), die in post hoc Analysen mit χ^2 - und Wilcoxon Rangsummentests verglichen wurde. Univariate Tests wurden analog durchgeführt. Es wurden keine Änderungen hinsichtlich multipler Testung durchgeführt, da eingangs alle Variablen mit einer Wertung bemessen wurden. Post hoc Analysen wurden nur mit Variablen gerechnet, die einen Effekt im logistischen Regressionsmodell gezeigt hatten. Statistische Analysen wurden mithilfe des SAS statistical package (SAS/STAT version 8.2. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. 1999-2001) durchgeführt.

3. Ergebnisse

3.1 Konfundierende Variablen

In der Stichprobe wurden insgesamt 184 Personen forensisch untersucht. N= 72 (39%) waren wiederholt gewalttätig und bei 61% waren keine gewalttätigen Straftaten nachzuweisen.

Gewalttätiges Verhalten trat tendenziell häufiger bei jüngeren Testpersonen auf. Bei gewalttätigen Straffälligen betrug das Durchschnittsalter $32,1 \pm 12,1$ Jahre; bei der Gruppe „Straffällige ohne Gewalt“ $35,4 \pm 11,3$ Jahre ($t = -1,8$; $p = 0,07$). Personen mit einer positiven Drogenanamnese (54,2%) waren häufiger gewalttätig als Nicht-Drogenabhängige (37,5%, $\chi^2 = 4,9$, $p = 0,03$). Hinsichtlich der Genotyphäufigkeit ergab sich kein Unterschied zwischen Drogenabhängigen und Nicht-Drogenabhängigen (MAOA-uVNTR: $\chi^2 = 0,4$; $p = 0,516$ und DAT: $\chi^2 = 0,0$; $p = 0,851$;) Bei *NOS1 Ex1f* fand sich eine schwach positive Assoziation zur Suchtanamnese ($p = 0,0485$). *NOS1 Ex1c* wurde diesbezüglich nicht analysiert. Persönlichkeitsstörungen fanden sich tendenziell häufiger bei Gewalttätigen (bei 43% der Probanden) als bei Nicht-Gewalttätigen (29,5%, $\chi^2 = 3,6$; $p = 0,06$). Die Genotyphäufigkeit variierte in Bezug auf Persönlichkeitsstörungen in den Gruppen nicht signifikant (MAOA-uVNTR $\chi^2 = 0,1$; $p = 0,723$; DAT: $\chi^2 = 0,0$; $p = 0,851$, ebenfalls nicht signifikant *NOS1 Ex1c* und *Ex1f* Werte; $p = 0,829$).

Hinsichtlich aktuell bestehender ADHS Symptome bzw. ADHS in der Kindheit ergab sich kein Unterschied zwischen der Gewalt- und der Nicht-Gewalt-Gruppe. In den folgenden multiplen logistischen Regressions-Analysen wurden aufgrund oben geschilderter Befunde Alter, Drogenmissbrauch und Persönlichkeitsstörung als mögliche Störvariablen kontrolliert. Bei 169 Testpersonen (von $n=184$) war komplettes Datenmaterial über Umweltrisikofaktoren (erhoben mit dem CAEI, s. Material und Methoden) und Genotypen verfügbar.

3. Ergebnisse

3.2 Einzelmarker-Analysen

Der MAO-A-uVNTR, der DAT-VNTR, *NOS1* Ex1c-SNP und *NOS1* Ex1f-VNTR wurden ihrer Funktionalität entsprechend wie in Einleitung bzw. in Material und Methoden beschrieben dichotomisiert.

Bei dem MAO-A-uVNTR entstanden so zwei Gruppen: kurze MAO-A Allele (3 Kopien) wurden mit langen MAO-A Allelen (3.5, 4 und 5 Kopien) verglichen (Tabelle 9).

Tabelle 9 Allelhäufigkeiten von MAO-A

MAO-A	Häufigkeit	Kurze Allele	Lange Allele
Straffällige ohne Gewalt	absolut	32	80
	in %	29	71
Straffällige + Gewalt	absolut	31	41
	in %	43	57
Kontrollen	absolut	50	100
	in %	33	67
	Total gesamt	113	221
	in %	34	66

3. Ergebnisse

Bei DAT-VNTR wurden die Genotypen 9/9, 9/10, 9/11 gruppiert den 10/10 und 10/11 Genotypen gegenübergestellt (Tabelle 10).

Tabelle 10 Allelhäufigkeiten von DAT

<i>DAT</i>	Häufigkeit	Allele 9/9, 9/10, 10/10	Allele 10/10, 10/11
Straffällige ohne Gewalt	absolut	43	69
	in %	38	62
Straffällige + Gewalt	absolut	32	39
	in %	45	55
Kontrollen	absolut	74	76
	in %	49	51
Total gesamt		149	184
in %		45	55

Bei *NOS1* Ex1c wurden die Genotypen AA und AG (also A-Allel-Träger) versus GG ausgewertet (Tabelle 11).

Tabelle 11 Allelhäufigkeiten von *NOS1* Ex 1c

<i>NOS1 Ex1c</i>	Häufigkeit	AA/AG	GG
Straffällige ohne Gewalt	absolut	28	86
	in %	25	75
Straffällige + Gewalt	absolut	16	56
	in %	22	78
Kontrollen	absolut	30	120
	in %	20	80
Total gesamt		74	262
in %		22	78

3. Ergebnisse

Die *NOS1-Ex1f-VNTR* Dichotomisierung erfolgte in kurze und lange Allele, d.h. in homozygot kurze Allelträger (erste Spalte, KK), in heterozygote Allelträger (zweite Spalte, KL) und in lange Allelträger (dritte Spalte, LL).

Tabelle 12 Allelhäufigkeiten von *NOS1 Ex1f*

<i>NOS1 Ex1f</i>	Häufigkeit	KK	KL	LL
Straffällige ohne Gewalt	absolut	15	66	31
	in %	13	59	28
Straffällige +Gewalt	absolut	16	36	18
	in %	23	51	26
Kontrollen	absolut	21	76	53
	in %	14	51	35
	Total gesamt	52	178	102
	in %	16	54	31

3.3 Multiple logistische Regression

Um mögliche Gen x Umwelt-Interaktionen zu bestimmen, wurden multiple logistische Regressionsanalysen durchgeführt. Hier wurden zum einen aufgrund des gemeinsamen metabolischen Pathways MAO-A, DAT und 5HTT (s. unten) in einer Analyse zusammen als Variablen betrachtet, in einer zweiten Analyse dann *NOS1*. Als konfundierende Faktoren wurden Alter, Drogenabusus und Vorliegen einer Persönlichkeitsstörung in das Modell mit einbezogen.

Für die Berechnung der Interaktionen wurde für die post-hoc Analysen der CAEI dichotomisiert. Der CAEI, der im Durchschnitt (=Mittelwert) in der Stichprobe 0,4 betrug, wurde in eine Gruppe mit einem hohen CAEI, d.h. mit einem Punktwert > 0,4 und in eine Gruppe mit niedrigem CAEI, folglich < 0,4, eingeteilt. Der mittlere CAEI betrug in der Gruppe der Gewalttätigen $0,7 \pm 0,6$ und in der Nicht-Gewalt Gruppe $0,4 \pm 0,6$; der Unterschied des CAEI-Scores war nach Berechnung in post hoc univariaten Analysen signifikant $Z=3,0$; $p=0,003$).

3. Ergebnisse

3.3.1 Logistische Regressionsanalyse mit MAO-A, DAT und 5HTT

Das Modell mit dem besten Fit ergab eine Vorhersagestärke von 74% (Tabelle 13). Im Bezug auf die nicht-genetischen Faktoren waren ungünstige Entwicklungsbedingungen in der Kindheit (durch den CAEI bewertet) unabhängig und signifikant mit dem Vorhandensein von Gewalttätigkeit im späteren Leben assoziiert. Bei DAT konnte kein Einfluss des Genotyps auf gewalttätiges Verhalten gefunden werden. Auch eine Interaktion von MAO-A mit dem DAT-Polymorphismus hinsichtlich gewalttätigem Verhalten war nicht nachzuweisen (Interaktionsterm MAO-A und DAT nicht signifikant).

Tabelle 13 Assoziationen zwischen sozialem Umfeld in der Kindheit und genetischen Polymorphismen für MAO-A und DAT (kontrolliert wurden die Variablen Alter, Drogenabhängigkeit und Persönlichkeitsstörungen)

Risikofaktor	β -estimate (SE)	Wald χ^2 (DF)	p-Wert	Odds ratio (95%-KI)
Entwicklungsbedingungen in der Kindheit (CAEI)	1.42 (0.45)	10.2 (1)	p=0.001	4.1 (2.6 - 6.5)
MAO-A uVNTR kurze Allele vs. lange Allele	0.82 (0.37)	4.9 (1)	p=0.027	2.3 (1.1 - 4.7)
DAT kurze vs. lange Allele	0.54 (0.35)	2.3 (1)	p=0.127	1.7 (0.9 - 3.4)
Kein vs. Substanzmissbrauch in der Vorgeschichte	-0.76 (0.36)	4.4 (1)	p=0.036	0.5 (0.2 - 1.0)
Keine vs. Persönlichkeitsstörung	-0.11 (0.38)	0.1 (1)	p=0.778	0.9 (0.4 - 1.9)
Alter	-0.01 (0.02)	0.6 (1)	p=0.436	1.0 (1.0 - 1.0)
Intercept	-0.9 (0.48)	3.6 (1)	P=0.056	

Test der globalen Nullhypothese: Wald $\chi^2 = 24.9$, 8 DF, $p=0.002$

KI: Konfidenzintervall; DF: Freiheitsgrad;

Die signifikanten Ergebnisse sind fett gedruckt hervorgehoben.

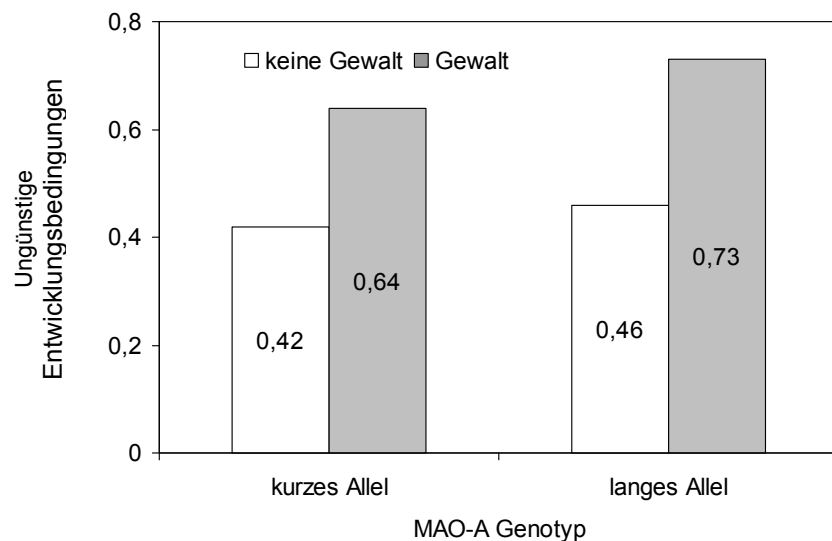
Hinsichtlich der genetischen Befunde bei der MAO-A waren bei den Straffälligen kurze Allele signifikant mit gewalttätigem Verhalten assoziiert (OR=2,3). In der multivariaten Analyse wiesen das MAO-A Risikoallel und ungünstige Entwicklungsbedingungen in der Kindheit unabhängig voneinander einen Effekt auf die Entwicklung späteren gewalttätigen Verhaltens auf, eine Interaktion dieser

3. Ergebnisse

beiden Risikofaktoren bestand also nicht (Abbildung 8). Aus der post hoc Analyse ging hervor, dass die kurzen MAO-A Allele (n=31) von 72 gewalttätigen Straffälligen vs. n=32 von 112 nicht-gewalttätigen Straffälligen) signifikant mit gewalttätigem Verhalten assoziiert waren ($\chi^2=4,1$; $p=0,043$).

Unabhängig vom MAO-A Allel finden sich bei gewalttätigen Straftätern im Vergleich zu nicht-gewalttätigen Straftätern ungünstigere Entwicklungsbedingungen. (Abbildung 8).

Abbildung 8



In einer früheren Untersuchung der hier verwendeten Stichprobe wurde untersucht, ob eine genetische Variante des Serotonintransporters (5HTT) mit gewalttätigem Verhalten assoziiert ist. Dies war in der Tat der Fall, jedoch nur, wenn ungünstige Kindheitsbedingungen vorlagen [79]. Da 5HTT wie auch MAO-A eine Schlüsselrolle im serotonergen System innehat, wurden daher in einer Regressionsanalyse Interaktionen zwischen MAO-A-uVNTR, Entwicklungsbedingungen in der Kindheit und dem 5HTT-Polymorphismus berechnet. Es fanden sich jedoch keine signifikanten Gen x Gen-Interaktionen. In der Berechnung der mittleren Kreuzvalidierungs-Wahrscheinlichkeiten zeigte sich, dass Träger eines kurzen MAO-A Alleles und eines kurzen 5HTT Alleles, die darüber hinaus in der Kindheit

3. Ergebnisse

ungünstige Entwicklungsbedingungen hatten, mit großer Wahrscheinlichkeit (0,78) im späteren Leben gewalttätig waren. Umgekehrt war die Wahrscheinlichkeit bei dem Vorliegen von langen MAO-A und 5HTT Allelen und einem niedrigen CAEI gering, später gewalttätig zu werden. Außerdem schienen lange MAO-A und 5HTT Allele bei Probanden, die einen hohen CAEI hatten, einen protektiven Effekt zu haben. Die Wahrscheinlichkeit, in dieser Gruppe gewalttätig zu werden, lag bei nur 0,22 (Tabelle 14).

Tabelle 14 Durchschnittliche Wahrscheinlichkeit für das Vorhandensein von Gewalt in acht verschiedenen Risikogruppen (Berechnung nach Regressionsmodell).

Nr.	Risikogruppen	Mittlere Kreuzvalidierungswahrscheinlichkeit für das Vorhandensein von Gewalt	SD	Anzahl von Personen in der Risikogruppe
1	MAO-A kurze Allele 5-HTTLPR= ss or sl CAEI>0.4	0.78	0.11	14
2	MAO-A kurze Allele 5-HTTLPR= ss or sl CAEI≤0.4	0.43	0.12	26
3	MAO-A kurze Allele 5-HTTLPR=ll CAEI>0.4	0.46	0.12	5
4	MAO-A kurze Allele 5-HTTLPR=ll CAEI≤0.4	0.44	0.17	11
5	MAO-A lange Allele 5-HTTLPR= ss or sl CAEI>0.4	0.58	0.16	36
6	MAO-A lange Allele 5-HTTLPR= ss or sl CAEI≤0.4	0.29	0.12	38
7	MAO-A lange Allele 5-HTTLPR=ll CAEI>0.4	0.22	0.07	18
8	MAO-A lange Allele 5-HTTLPR=ll CAEI≤0.4	0.24	0.10	21
Gruppenübergreifende Statistik		Kruskal-Wallis- $\chi^2 = 103.2$; 7 DF; p -Wert <0.0001		

Eine von Kreuzvalidierungswahrscheinlichkeit von 1 sagt sicher gewalttätiges Verhalten voraus. Eine Wahrscheinlichkeit von 0 sagt sicher nicht-gewalttätiges Verhalten voraus.
CAEI: belastende Lebensereignisse
SD: Standardabweichung vom Mittelwert

3. Ergebnisse

MAO-A-uVNTR und DAT Genotypen wurden außerdem in der Kontrollstichprobe bestimmt, deren Entwicklungsbedingungen in der Kindheit nicht erfasst wurden. Die Genotypfrequenzen waren nicht signifikant unterschiedlich zu der gesamten forensischen Stichprobe (MAO-A-uVNTR kurze Allele 33%, DAT 9/9 und 9/10 Allele 49%; $p > 0,1$). Dies spricht dafür, dass die forensische Stichprobe insgesamt genetisch homogen zu ihrer Ursprungspopulation ist.

3.3.2 Logistische Regressionsanalyse mit NOS1

Der NOS1 Ex 1c SNP war auch unter Einbeziehung konfundierender Faktoren nicht mit Gewalt ($p > 0,1$) assoziiert. Hingegen waren beim NOS1 Ex1f-VNTR die kurzen Allele mit dem Risiko, im späteren Leben gewalttätig zu werden, assoziiert ($p = 0,044$). Belastende Lebensereignisse in der Kindheit sowie Drogenabhängigkeit in der Vorgeschichte waren, wie auch in der obigen Analyse, jeweils unabhängige Risikofaktoren für Gewalttätigkeit (siehe Tabelle 15). Die Berechnung der Gen x Umweltinteraktion zeigten weder für NOS1 Ex 1c SNP noch für NOS1 Ex1f-VNTR signifikante Ergebnisse.

Tabelle 15 Gewalttätigkeit assoziiert mit NOS1 Ex1f-Genotyp und CAEI; Alter, Drogenmissbrauch in der Vorgeschichte und Persönlichkeitsstörung wurden kontrolliert (n = 170)

Risikofaktor	Wald χ^2 (DF)	p-Wert	Odds ratio (95%-KI)
NOS1 Ex1f-Genotypen: SS vs. SL vs. LL	6,2 (2)	0,045	SS vs. LL: 3,2 (1,1 – 9,0) SS vs. SL: 1,4 (1,2 – 7,9)
Entwicklungsbedingungen in der Kindheit (CAEI)	5,1 (1)	0,024	1,9 (1,1 – 3,5)
Keine vs. Drogenabhängigkeit	3,9 (1)	0,049	0,5 (0,3 – 1,0)
Keine vs. Persönlichkeitsstörung	0,05 (1)	0,829	0,9 (0,5 – 1,9)
Alter	1,7 (1)	0,197	0,89 (0,95 – 1,01)
Intercept	0,01 (1)	0,915	

Test der globalen Nullhypothese: Wald $\chi^2 = 15,5$; 6 DF; $p = 0,017$

DF: Freiheitsgrad; KI: Konfidenzintervall

Die signifikanten Ergebnisse sind fett gedruckt hervorgehoben.

Assoziierte Wahrscheinlichkeit für Gewalttätigkeit beim NOS1 Ex1f Genotyp:

SS (n=28): 0,57 (SD 0,15); SL (n=96): 0,38 (SD 0,14); LL (n=46): 0,37 (SD 0,14)

3.4. Zusammenfassung der Ergebnisse

Zusammenfassend werden noch einmal kurz die Hauptbefunde der vorliegenden dargestellt.

Von den vier untersuchten Gen-Polymorphismen erhöhen zwei signifikant das Risiko, gewalttätig zu werden: der MAO-A Polymorphismus und einer der Marker im NOS1 Gen, *NOS1-Ex1f VNTR*. Auch die Umweltkomponente „ungünstige Entwicklungsbedingungen in der Kindheit“ erhöht unabhängig vom vorliegenden Genotyp das Risiko, im späteren Leben gewalttätig zu werden. Hingegen ließ sich eine Gen x Umwelt-Interaktionen diesbezüglich nicht nachweisen. Die Polymorphismen *DAT-VNTR* und *NOS1 Ex 1c* prädisponieren hingegen nicht für spätere Gewalttätigkeit.

4. Diskussion

4.1 MAO-A

Die MAO-A-uVNTR wurde wiederholt mit der Regulation von Impulsivität und Aggression in Verbindung gebracht, bei nicht-menschlichen Primaten wie auch bei Menschen. Vermutlich ist dieser regulatorische Polymorphismus ein Beispiel für balancierte Selektion, d.h., dass er die Prädisposition der Allelträger entweder zu offensivem, risikoreichen Verhalten oder aber zu defensiver Unterordnung verschiebt. Offensichtlich haben beide Gegensätze je nach Umweltbedingungen sowohl evolutionäre Vorteile, als auch Nachteile, was zu einer Konservierung des „Risikoallels“ geführt hat. Unter der Voraussetzung, dass die Effekte von MAO-A-uVNTR in der Tat diesem und nicht einem mit ihm gekoppelten Polymorphismus zuzuschreiben sind, scheint dieser Polymorphismus ein überzeugender Vermittler aggressiven Verhaltens zu sein.

Befunde einer Assoziation des Kandidatengens MAO-A mit bestimmten Psychopathologien (auch Aggression) sind, wie in der Einleitung bereits geschildert, sehr inkonsistent. Trotzdem kann die aktuelle Literatur im Wesentlichen dahin gehend interpretiert werden, dass die kurzen MAOA-uVNTR Varianten mit Aggression assoziiert sind. Abgesehen vom genetischen Risiko können natürlich auch mehrere Umwelt-Risikofaktoren die Entwicklung aggressiven Verhaltens begünstigen und dann mit der genetischen Veranlagung interagieren:

4.1.1 Einfluss von Umweltbedingungen auf aggressives Verhalten

Was das Umweltrisiko betrifft, so lässt die Studienlage keinen Zweifel daran, dass ein ungünstiges Entwicklungsumfeld in der Kindheit, insbesondere Misshandlung, die Entwicklung von antisozialem und aggressivem Verhalten fördert [32-34, 82-85]. Für den Begriff „Missbrauch“ gibt es viele Definitionen. Im Allgemeinen jedoch versteht man darunter eine körperliche und psychische Schädigung durch physische, sexuelle oder emotionale Misshandlung. Der Begriff beinhaltet auch die

(passive) „Vernachlässigung“ eines Kindes durch die Eltern. Das Vorliegen von Missbrauch wurde in den Studien unterschiedlich operationalisiert, z.B. wurde auf physischen Missbrauch [84] und/oder elterliche Vernachlässigung [34] fokussiert. Breitere Definitionen schlossen noch andere Kriterien, die ein ungünstiges psychosoziales Umfeld charakterisieren, mit ein, z.B. Gewalt zwischen den Elternteilen [33] oder Ablehnung durch die Mutter und wiederholter Verlust des Erziehungsberechtigten [32]. Trotz dieser Definitionsunterschiede und trotz der Tatsache, dass sich auch die Methoden zur Erfassung und Bewertung des Missbrauchs unterschieden, wiesen die Ergebnisse stets in dieselbe Richtung. Wer in der Kindheit missbraucht wird, hat bereits als Jugendlicher [82] ein signifikant erhöhtes Risiko dissoziale, aggressive Verhaltensstörungen zu entwickeln. Dieses Risiko bleibt bis ins Erwachsenenalter und besteht unabhängig vom genetischen Risiko [32-34, 82-85]. Das Risiko besteht auch unabhängig vom Zeitpunkt der Misshandlung. Wer als Kleinkind [83], oder erst später als Jugendlicher [82] missbraucht wird, hat ein erhöhtes Risiko für antisozial-aggressive Verhaltensstörungen. Die vorliegende Arbeit konnte erneut bestätigen, dass ein sozial ungünstiges Entwicklungsumfeld in der Kindheit für aggressive bis gewalttätige Verhaltensabnormalitäten prädisponiert. Zwar wurde nicht „Missbrauch“ als unabhängige Umweltvariable untersucht, sondern ein breiter gefächerter Index zur Beurteilung des gesamten psychosozialen Umfelds. Jedoch flossen in den *Childhood Adversity Environment Index* Gewalterfahrungen in der Familie mit ein, darunter körperliche Misshandlung und sonstige Gewalttätigkeiten, was ihn mit der Umweltkomponente anderer Studien vergleichbar macht.

4.1.2 Gen x Umweltinteraktionen der MAO-A-uVNTR Risikovariante

Es gibt mittlerweile eine ganze Reihe von Studien, die untersuchten wie Gene und Umwelt interagieren um menschliches Verhalten zu beeinflussen. Zwischen Misshandlung in der Kindheit und dem funktionalen MAO-A-uVNTR Polymorphismus wurde eine solche Interaktion in Hinblick auf aggressives Verhalten beschrieben. Man spricht in diesem Fall auch von einer Genotyp x

4. Diskussion

Umwelt-Interaktion. Das Risiko „Umwelt“ (Misshandlung bzw. Aufwachsen unter ungünstigen Entwicklungsbedingungen) steigert den Effekt des (Risiko-)Genotyps (genetische Variation des MAO-A-uVNTR) und umgekehrt.

Gerade wenn ungünstige Entwicklungsbedingungen in der Kindheit vorliegen, haben junge Männer [32] wie auch Kinder [33, 83] mit der niedrig-aktiven Variante des MAO-A Polymorphismus ein erhöhtes Risiko, antisoziales Verhalten bzw. antisoziale Verhaltensstörungen zu entwickeln oder gewalttätige Kriminaltaten zu begehen. Caspi und Kollegen versuchten als erste anhand von interindividuellen Unterschieden des MAO-A Promotor Polymorphismus die genetische Suszeptibilität für Misshandlung zu charakterisieren. Sie lieferten den ersten Hinweis, dass junge Männer mit dem „niedrigaktiven“ MAO-A Gen, die in der Kindheit misshandelt wurden, signifikant erhöhte antisoziale Scores hatten, verglichen mit denjenigen ohne Misshandlung. Umgekehrt hatten Männer mit der hoch-aktiven Variante keine erhöhten antisozialen Scores, sogar wenn sie missbraucht wurden. Zwei Jahre später wurde der Befund in einer Studie mit Zwillingen (8-17 Jahre alt) bestätigt: kurze Allele erhöhten das Risiko eine Verhaltensstörung zu entwickeln – wenn das Kind unter ungünstigen Bedingungen im Elternhaus aufwuchs [33]. Die Untersuchung 5 bis 7-jähriger Jungen in der Studie von Kim-Cohen et al. lieferte ebenfalls Hinweise, dass MAO-A Gene die Anfälligkeit gegenüber „Umweltstress“ beeinflussen und dass dieser Prozess schon früh initiiert werden kann [83].

Somit legen diese Studien nahe, dass die Genotyp-Umweltinteraktion signifikant zum Risiko für die Ausprägung antisozialen Verhaltens beiträgt. Umgekehrt scheinen die langen Allele mit vermehrter Transkriptionsaktivität missbrauchte Individuen in gewisser Weise davor zu schützen, eine antisoziale Verhaltensstruktur zu entwickeln [32]. Auch in einer psychiatrischen Stichprobe korrelierte der Genotyp der hoch-aktiven MAO-A Variante trotz Missbrauch vor dem 15. Lebensjahr mit verringerter Impulsivität [12]. Aktuelle Studien können diese Hypothese gleichermaßen bestätigen: in einem schwedischen Kollektiv bestehend aus Schülern und Studenten waren psychosoziale Faktoren (unter anderem tätliche

4. Diskussion

Angriffe und Missbrauch) in Verbindung mit der 3-Kopien Variante des MAO-A Polymorphismus mit einem erhöhten Risiko assoziiert, als Erwachsene kriminell zu werden [84]. Eine weitere Studie hat zum ersten Mal bezüglich des 3- oder 4-Kopien Allels homozygote Frauen mit eingerechnet; auch hier war in der kaukasischen Bevölkerung eine Gen x Umweltinteraktion nachweisbar [85].

Trotz der vielen positiven Befunde scheint diese Gen x Umweltinteraktion nicht so stimmig wie zunächst gedacht. Der Versuch, die Ergebnisse von Caspi mit einer großen Stichprobe (bestehend aus Jugendlichen) zu replizieren, schlug in einer Untersuchung von Haberstick und Kollegen fehl. 774 männliche Jugendliche, die entweder einen Zwilling oder sonstige Geschwister hatten, wurden jeweils im Alter von 16, 17 und 22 Jahren interviewt. Durch Fragen über Häufigkeit von Prügeleien, Gewalttätigkeit, Delinquenz, etc. wurde ein Index für Verhaltensprobleme ermittelt. Mit berücksichtigt wurden außerdem Vorstrafen wegen Gewalttätigkeit. Misshandlung, die vor dem 12. Lebensjahr stattgefunden hatte, wurde retrospektiv von den Jugendlichen selbst im Fragebogen über Missbrauch und Vernachlässigung beurteilt. Auch spätere (nach dem 12. Lebensjahr) gewalttätige Ereignisse, in denen die Teilnehmer selbst Opfer waren, wurden in den Interviews erfragt und sollten genauso wie Missbrauch in der frühen Kindheit als Risikofaktor für antisoziales, delinquentes Verhalten gelten. Jedoch waren Tests für eine Interaktion zwischen dem Misshandlungsstatus und dem MAO-A Genotyp weder für den Verurteilungsstatus, noch für spätere Verhaltensprobleme signifikant [34]. Eine weitere aktuelle Studie konnte diese Interaktion ebenfalls nicht replizieren. 277 Männer, die zwischen 37 und 41 Jahre alt waren, wurden in regelmäßigen Abständen interviewt. Die Disposition für Gewalt und antisoziale Verhaltensweisen wurde sehr sorgfältig, auch mit offiziellen Daten zu stattgehabten Verhaftungen, untersucht. Im Hinblick auf Misshandlung wurden die Teilnehmer retrospektiv zur Kindheit befragt und mussten Angaben machen, ob sie in der Jugend selbst Opfer von Gewalttaten waren. Auch hier konnte keine Gen x Umweltinteraktion gefunden werden. Im Gegensatz zu der bisherigen Hypothese hatten sogar diejenigen Träger

der langen MAO-A Allele, die misshandelt wurden, die höchsten Raten von antisozialem Verhalten [82].

Auch in der vorliegenden Arbeit konnte bei den Straffälligen keine signifikante Interaktion zwischen einem ungünstigen psychosozialen Entwicklungsumfeld und aggressivem Verhalten, insbesondere gewalttätigen Straftaten, gezeigt werden. Eine Erklärung für den negativen Befund könnte das unterschiedliche Alter der Studienteilnehmer sein, denn genetische Einflüsse nehmen im Alter zu, der Einfluss der Umweltkomponente Misshandlung hingegen ab. In der hier untersuchten Stichprobe waren die Studienteilnehmer wesentlich älter (34 ± 11 Jahre) verglichen mit allen den anderen Studien, in denen eine Interaktion gefunden wurde, bei denen das Durchschnittsalter zwischen 7 und 26 Jahren lag [32-34, 83, 84]. Insofern bedarf es weiterer Studien, vor allem mit älteren Probanden, um die Gen x Umwelt- Interaktion verlässlicher zu charakterisieren.

4.1.3 MAO-A als Suszeptibilitäts-gen für gewalttätiges Verhalten

Im Gegensatz zu anderen Studien war ein weiteres Ergebnis der vorliegenden Arbeit, dass der MAO-A Genotyp unabhängig von Kindheitserlebnissen das Risiko erhöht, eine gewalttätige Straftat zu begehen. Bisher fand sich kein Umwelt-unabhängiges Risiko des MAO-A Polymorphismus im Hinblick auf einen aggressiven Phänotyp. Insbesondere für kurze MAO-A Allele konnte bis dato kein unabhängiger Effekt gezeigt werden, d.h. für Individuen mit niedrig-aktiven MAO-A Varianten war das Risiko für antisoziale Störungen nur bei Hinzutreten von Misshandlung erhöht. So konnte Caspi keinen signifikanten Einfluss von verringerter MAO-A Aktivität per se auf antisoziales Verhalten nachweisen [32] (s.o.). Einige Studien konnten den negativen Befund anschließend replizieren [12, 33, 34, 83-85].

Im Gegensatz hierzu zeigen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, dass bei der Gruppe der Straffälligen der Genotyp mit kurzen Allelen signifikant und unabhängig mit gewalttätigem Verhalten assoziiert war. Somit kann, diesen Befunden zufolge, der MAO-A Typ per se für Verhaltensprobleme prädisponieren – unabhängig von

4. Diskussion

der Umweltkomponente Entwicklungsbedingungen. Ein weiteres Beispiel für eine Assoziation genetischer Faktoren mit bestimmten Verhaltensmustern sind Patienten mit Persönlichkeitsstörungen. Kurze MAO-A Allele finden sich häufiger bei Patienten mit Cluster B, d.h. mit antisozialen, histrionischen, narzisstischen und Borderline-Persönlichkeitsstörungen, als bei Patienten mit einer ängstlichen, abhängigen und anankastischen Persönlichkeitsstörung (Cluster C) [86].

Das Ergebnis der vorliegenden Arbeit ist somit diskrepant zu einigen vorhergehenden Studien. Hervorzuheben ist jedoch, dass zum einen in der vorliegenden Arbeit ein präzise definierter Phänotyp untersucht wurde, nämlich eine forensische Stichprobe. Die primäre Outcome-Variable war „wiederholt gewalttätiges Verhalten“, belegt durch Verurteilung der Probanden wegen mehrerer Gewaltverbrechen. Im Gegensatz zu den meisten anderen Studien konnte man sich hinsichtlich des aggressiv-gewalttätigen Phänotyps auf objektive Daten berufen. Bisherige Studien hatten meist das phänotypische Merkmal „Gewalt“ retrospektiv nur durch Selbstberichte evaluiert. Auch der Phänotyp wurde teilweise anders definiert, nämlich nicht als gewalttätiges, sondern als antisoziales Verhalten oder antisoziale Verhaltensstörung. Beide sind breiter gefächerte Begriffe, die zwar aggressives Verhalten, aber eben auch eine ganze Reihe anderer Verhaltensmerkmale mit einschließen und somit einen gewissen Verlust an Trennschärfe zu Folge haben. Es lässt sich dann nicht exakt feststellen, auf welche Verhaltensmerkmale sich die kurzen MAO-A Allele bevorzugt auswirken.

Wiederum wurde in der vorliegenden Arbeit das Merkmal „Misshandlung in der Kindheit“ auf der Basis subjektiver Erinnerungen erfasst. Die exakte Zahl der Teilnehmer, die als Kinder misshandelt wurden, ist somit im engeren Sinne nicht bekannt. Der *Childhood Adversity Environment Index* (CAEI) drückt lediglich aus, mit welcher Wahrscheinlichkeit die Probanden in einem ungünstigen psychosozialen Milieu aufwuchsen. Zudem flossen in den CAEI nicht nur Daten zur Misshandlung mit ein, sondern auch Informationen über Lebensstandard, soziale

4. Diskussion

Integration und Schulbildung. Der eigens entworfene CAEI repräsentiert daher ein recht breit definiertes Risikoprofil.

Zusammenfassend wurde ein sehr objektives Maß für Aggression (Gewalt) verwendet, aber ein unschärferes Maß für die Umweltkomponente. Trotzdem spricht die Tatsache, dass der CAEI-Score mit gewalttätigen Straftaten assoziiert war - entsprechend den anderen Studien zu diesem Thema - für die Konstruktvalidität dieses Scores.

Da in der vorliegenden Arbeit keine populationsbasierte, sondern eine forensische Stichprobe untersucht wurde, konnten möglicherweise leichter Einflüsse von Genen und Gen x Umweltinteraktionen detektiert werden. Allerdings muss man bedenken, dass sich dadurch womöglich auch Gefahr falsch-positiver Assoziationen erhöht hat.

Eine schwedische Studie [84] zeigte ebenfalls, dass kriminelles Verhalten allgemein (genauso wie Gewalttätigkeit) durch den MAO-A Genotyp beeinflusst werden kann, jedoch nur in der Anwesenheit von psychosozialen Risikofaktoren (Misshandlung und, überraschenderweise, Leben in einem Mehrfamilienhaus). Verglichen damit wurde mithilfe des CAEI ein größeres Spektrum an Risikofaktoren untersucht. Außerdem war in der Schwedischen Studie die Anzahl an Probanden in jeder Gruppe relativ klein: in der Gruppe mit dem 3-Allel und einem erhöhten psychosozialen Risiko waren es beispielsweise nur n=12 Probanden. Die Hauptvariable „Kriminalität“ basierte hier einerseits auf Selbstberichten über delinquentes Verhalten, andererseits auf offiziellen Daten. 37% der Jugendlichen (von n=81) befanden sich einmal in Polizeigewahrsam und eine noch geringere Zahl (14%) wurde wiederholt festgenommen. Kriminalität an sich wurde überdies, verglichen mit der eigenen Stichprobe, nicht nur über gewalttätige Straftaten definiert, sondern schloss nicht-aggressive Delikte wie Diebstahl und Einbruch mit ein. Zuletzt ist anzumerken, dass es sich ausschließlich um Jugendliche (16 -19 Jahre) handelte. Gewalttätiges Verhalten während der Pubertät beruht möglicherweise auf anderen Mechanismen als dauerhaftes gewalttätiges Verhalten

4. Diskussion

im Erwachsenenalter. Der genetische Einfluss auf Verhaltensmaße nimmt im fortgeschrittenen Alter zu, was die unterschiedlichen Befunde erklären könnte.

Abgesehen von diesen methodischen Unterschieden ist die Datenlage was eine Interaktion des MAO-A Genotyps mit der Umwelt anbetrifft trotz vermeintlich überwiegend positiver Befunde nicht unbedingt konsistent. Die Studie von Huang und Kollegen demonstrierte zwar eine Assoziation zwischen MAO-A-uVNTR und Erfahrungen von Kindesmissbrauch. Aber die Fallzahlen sind mit insgesamt 44 Studienteilnehmern sehr klein. Das Ergebnis erhöhter BIS (Barratt Impulsivity Scale) Scores bei misshandelten Trägern des kurzen MAO-A Allels ist lediglich von grenzwertiger Signifikanz (n=26 für kurze Allele bzw. 18 für lange) [12]. Ähnlich berichteten Foley et al., dass kurze MAO-A-uVNTR Allele in Verbindung mit dem Umweltrisiko (Vernachlässigung, Gewalt zwischen den Eltern und inkonsistente Disziplin) zu einer Verhaltensstörung führen. Dieser Befund leitete sich hauptsächlich von solchen Testpersonen ab, die im Leben 3 oder 4 belastende Lebensereignisse hatten und umfasste 20 Personen, 6 davon hatten das kurze MAO-A Allel, 4 davon litten an einer Verhaltensstörung [33]. Selbst bei der bedeutendsten Arbeit, der Dunedin-Studie, ist die Fallzahl der Probanden mit kurzen MAO-A Allelen, die gleichzeitig in der Kindheit misshandelt wurden, sehr klein (n=33) [32]. Noch kleiner wird die Zahl, wenn man die Subanalyse der Studie betrachtet, in der Gewalt so beurteilt wurde, dass eine Vergleichbarkeit mit der eigenen Studie am ehesten möglich ist (Verurteilungen wegen Gewaltverbrechen). Der Befund dieser Gen x Umweltinteraktion resultierte hier aus 13 Versuchspersonen mit kurzen MAO-A Allelen und stattgehabter Misshandlung (von insgesamt 55). Dass diese Befunde aufgrund der kleinen Stichprobe vorläufig sind, wird umso eindrücklicher, wenn man sich die zwei Studien mit größeren Fallzahlen ansieht, die die Gen x Umweltinteraktion eben nicht nachweisen konnten [82] [34]. Selbst Widom und Kollegen mussten eine Einschränkung machen, denn bei der nicht-kaukasischen Teilnehmergruppe konnte eine Gen (MAO-A) x Umwelt

4. Diskussion

(Kindesmisshandlung und Vernachlässigung) Interaktion nicht nachgewiesen werden [85].

Auch in der hier verwendeten Stichprobe der Straffälligen ist keine Gen x Umweltinteraktion ersichtlich – trotz des Vorteils einer größeren Anzahl an Versuchspersonen der Hauptvariable, nämlich Gewalt (n=72). Im Gegensatz hierzu berichteten Haberstick et al. von lediglich vier wegen Gewalttätigkeit verurteilten Personen [34]. Die Präsenz von kurzen MAO-A Allelen prädisponierte in der eigenen Stichprobe weder zu einem ungünstigen Entwicklungsumfeld in der Kindheit, noch übten die Allele nur in Verbindung mit bestimmten Umweltbedingungen einen Einfluss auf späteres Verhalten aus.

Die neurobiologischen Faktoren, die zu aggressivem Verhalten beitragen, sind wenig verstanden. Es gilt also, die funktionellen Auswirkungen der genetischen Variante besser zu erforschen, denn *wie* der MAOA-uVNTR Polymorphismus Aggression beeinflusst, ist größtenteils noch Spekulation. Erste Studien, die MAO-A Gehirnaktivität oder MAO-A Expressionslevel messen, haben versucht, die Beziehung zwischen Genotyp und Funktionalität besser zu charakterisieren.

Die niedrig- bzw. hoch-Expressionsvariante des MAO-A Genotyps werden über die Transkriptionsaktivität definiert. Ob aber eine erhöhte Transkriptionsaktivität überhaupt zu einer erhöhten Konzentration an MAO-A Genprodukt führt, ist nur in einer ersten *in vivo* Studie untersucht worden. Das Ergebnis ist überraschend, denn der MAO-A Genotyp und die MAO-A Aktivität im Gehirn (im PET gemessen) korrelierten nicht signifikant. Damit scheint fraglich, ob es wirklich einen Effekt des Genotyps auf die Proteinexpression gibt. In diesem Zusammenhang beleuchteten zwei kürzlich erschienene fMRT Studien den Einfluss des MAO-A Polymorphismus auf die Gehirnstruktur und -funktion. Tatsächlich fanden sich auf den Risikogenotyp bezogene Struktur- und Funktionsveränderungen in kortikolimbischen Regelkreisen. In diesen Bahnen werden Impulse, Affekte und das emotionale Gedächtnis gesteuert. Risikogenotypen (die 3-Kopien Variante)

4. Diskussion

reagierten auf emotionale Erregung mit einer fehlgesteuerten Hyperaktivität der Amygdala, was zu gestörter Angst- und Sozialwahrnehmung führt. Parallel dazu kommt es zu einer verschlechterten Antwort in präfrontalen Gehirnregionen, den Gyrus cingularis mit eingeschlossen, was die kognitive Impulskontrolle stört. Insgesamt war das Gehirnvolumen in limbischen Strukturen reduziert, verglichen mit der Trägern hochaktiver MAO-A Allele [87].

In ähnlicher Weise wurden in der zweiten Studie mittels *Neuroimaging* affektive Prozesse im Gehirn veranschaulicht [88]. Dies sollte Aufschluss über die Beziehung zwischen MAO-A Genotyp, dem Wesenszug Aggression und Gehirnaktivität nach negativen sozio-emotionalen Erlebnissen geben. Gesunde Testpersonen wurden während eines Computerspiels sozialem Stress ausgesetzt, d.h. sie wurden vom Mitspielen ausgeschlossen, während gleichzeitig per fMRT die Gehirnaktivität im Gyrus cingularis gemessen wurde. Diese Region ist mit „rejection related distress“ assoziiert, einer Stressreaktion, die nach sozialer Zurückweisung auftritt. Die fMRT Untersuchung zeigte, dass bei Personen mit der MAO-A „low activity“ Variante nach einer Episode sozialer Zurückweisung im Computerspiel die Aktivität im Kortextbereich des dorsoanterioren Gyrus cingularis stärker anstieg. Die vorsichtige Schlussfolgerung der Untersucher war, dass Träger der „low activity“ Variante empfindlicher auf soziale Zurückweisung reagieren - messbar durch eine dann erhöhte Gehirnaktivität im vorderen Bereich des Gyrus cingularis [88]. Der Befund ist somit konsistent zur vorher genannten Studie, wo Träger der langen MAO-A Allele ebenfalls mit einer erhöhten Aktivität auf negative Bilder reagierten.

Letztlich ist es dennoch schwierig zu beurteilen, ob die affektiven Stimuli (Gesichter, die mit negativen Emotionen behaftet sind [87] und sozialer Ausschluss im Computerspiel [88]) bei den Teilnehmern wirklich eine vollständige (aggressive) emotionale Antwort hervorrufen konnten. Davon abgesehen wurden all diese Daten in gesunden, den Bevölkerungsdurchschnitt repräsentierenden, Stichproben erhoben. Die Stichprobengröße war eher klein (n=38; [94] / n= 32 [88]). Es bedarf demzufolge weiterer Studien, auch mit neuropsychiatrischen Stichproben, um die

4. Diskussion

Relation zwischen MAO-A Genotyp und Enzymexpression bzw. Gehirnfunktion besser zu verstehen.

Es gibt mehrere Einschränkungen, die für alle Studien gelten, auch für die eigene Arbeit. Fast alle Studien untersuchten lediglich Männer. Grund hierfür ist die X-chromosomale Lage des MAO-A Gens. Denn ob die Expressionslevel bei MAO-A homozygoten Frauen, verglichen mit den hemizygoten Männern, gleich sind, ist unbekannt. Zwar wird bei Frauen ein X-Chromosom inaktiviert, aber es lässt sich nicht mit Sicherheit sagen, ob ein deaktiviertes Chromosom nicht doch noch eine gewisse Funktionalität hat. Vermutlich wird bei heterozygoten Frauen (3/4) das 3-Allel deaktiviert, wobei die Befundlage noch nicht abschließend geklärt ist. Aus diesem Grund wurden bei Widom et al. [85] nur homozygote Frauen mit in die Auswertung eingeschlossen, für die immerhin das gleiche Resultat gefunden wurde wie für die Männer. Da der Genotyp der Frauen letztendlich nicht sicher auf Funktionalität hin charakterisiert werden konnte, muss diese Studie mit Vorsicht interpretiert werden und verlässlichere Aussagen kann man derzeit nur über männliche Stichproben machen. Aussagen über das genetische und/oder Umweltrisiko beziehen sich fast immer auf relativ homogene kaukasische Bevölkerungsstichproben. Ob man selbige Risiken genauso für andere ethnische Gruppen generalisieren kann, ist nach einer ersten Studie fraglich [85]. Drittens bleibt die Ungewissheit, dass man nicht sicher weiß, ob der MAO-A Polymorphismus selbst den Assoziationen zugrunde liegt. Es ist nämlich genauso möglich, dass er im Kopplungsungleichgewicht mit anderen, ebenso funktionalen Polymorphismen des MAO-A Gens oder ganz anderen Genen steht, die auch Verhaltensunterschiede beeinflussen. Ähnlich verhält es sich mit epistatischen Interaktionen zwischen MAO-A und anderen Genen.

Schließlich ist die Transkriptionsaktivität der verschiedenen Allele und die damit verbundene Dichotomisierung teilweise strittig. Allele mit 3.5 oder 4 Kopien werden

mit der 2-10 fachen Effizienz transkribiert. Unklar ist jedoch, ob das 5 Kopien Allel zu den effizient transkribierten Allelen [13] zählt oder nicht [11].

4.2 DAT

Verhaltenszüge werden nicht nur von einem, sondern von vielen Genen beeinflusst, die zudem zusammen wirken [5]. Ein Ansatz, um diese Epistase (Abhängigkeit des Effektes eines Gens von anderen Genen) zu erforschen, ist, Gennetzwerke zu untersuchen, innerhalb derer mehrere Gene funktionell interagieren.

Wie MAO-A ist auch der Dopamintransporter (DAT) maßgeblich am DA Stoffwechsel beteiligt. Durch den DAT wird DA aus der Synapse entfernt und wieder in die Präsynapse aufgenommen. Wie bereits in der Einleitung geschildert, besteht ein Zusammenhang zwischen Dysfunktionen im DA Stoffwechsel und Verhaltensauffälligkeiten. Es wurde daher überprüft, ob der vermutlich regulatorische DAT1 Polymorphismus gemeinsam mit MAO-A bzw. unabhängig davon aggressives Verhalten beeinflusst. Jedoch war keine der untersuchten Interaktionen des DAT Polymorphismus mit MAO-A-uVNTR signifikant – weder im Bezug auf Gewalt, Kriminalität, noch auf ADHS. Auch als unabhängige Variable trägt der DAT Polymorphismus nicht zu einem der genannten Phänotypen bei.

Bei vielen neuropsychiatrischen Erkrankungen, auch bei der hier untersuchten Komponente „Aggression“ ist fraglich, ob erhöhte oder erniedrigte Dopaminkonzentrationen zur Störung beitragen. Kuikka et al. postulierten, dass aggressives Verhalten mit verstärkter dopaminerger Transmission einhergeht. Dafür sprächen die veränderte Struktur und die größere Heterogenität bei den Dopamin-Wiederaufnahme-Bindungsstellen [55]. Allerdings war die Stichprobe sehr klein (n=21) und die Personen waren alkoholabhängig. Alkohol aktiviert als Psychostimulanz das dopaminerge System. Eine Verbindung von Alkohol und verstärkter Aggressivität ist evident. Fraglich ist nur, ob aggressives Verhalten unter Alkoholeinfluss sozial-aggressivem Verhalten mechanistisch gleicht und vor allem,

4. Diskussion

ob es neurobiologisch die gleichen Grundlagen haben muss. Überlegt man sich eine hypothetische Nähe von Aggression zu ADHS, da Impulsivität und Aggression verwandte Verhaltensweisen sind, so müsste vermutlich eine verminderte DA Transmission für die Ausprägung der abnormalen Verhaltensweisen verantwortlich sein.

Eine Reihe von Studien haben einen Zusammenhang zwischen der 10-Kopien Variante im DAT1 Gen und ADHS demonstriert [48, 49]. Interessanterweise wurde auch für das 9-Kopien Allel eine Assoziation mit externalisierendem Verhalten bei Kindern im Alter von vier und sieben Jahren beschrieben. Allerdings war dieser Effekt im Alter von neun Jahren nicht mehr nachweisbar [53]. Eine ähnliche Studie (auch mit Kindern), die eine potenzielle Verknüpfung zwischen dem gleichen VNTR im DAT1 Gen und Hyperaktivität, externalisierendem Problemverhalten und verwandten Temperamentsarten suchte, fand jedoch diese Assoziation nicht [26]. In Zusammenschau der meisten Studien gilt dennoch das 10-Kopien Allel als Risikofaktor für ADHS. Dafür spricht auch, dass der Umweltfaktor Rauchen in der Schwangerschaft bei Kindern mit dem Genotyp 10/10 das Risiko für ADHS erhöht. Schließlich ist dennoch fraglich, ob externalisierendes Verhalten bei kleinen Kindern überhaupt mit kriminellen oder gewalttätigen Verhaltenspathologien verglichen werden kann.

Zwei Studien untersuchten bisher den DAT1-Genotyp im Hinblick auf aggressives Verhalten und erbrachten positive Befunde. Chen et al. stellten die Hypothese auf, dass es eine Assoziation zwischen aggressivem Verhalten bei Jugendlichen und DAT1 gibt. Jugendliche (n=11) mit impulsiv-aggressivem, gewalttätigem Verhalten oder pathologischer Gewalttätigkeit wurden mit gesunden Kontrollen (n=91) verglichen [89]. In der Stichprobe fand sich für die DAT1-Genotypen 10/10 und 10/9 eine signifikante Assoziation mit pathologischer Aggression. Allerdings ist die niedrige Gruppengröße von nur 11 Probanden für probabilistische genetische

4. Diskussion

Studien wenig aussagekräftig. Überdies wurde nicht angegeben, nach welchen Kriterien Aggressivität gemessen wurde.

Die sicherlich interessantere Studie stammt aus den USA. Über 2500 Jugendliche und junge Erwachsene wurden über eigene gewalttätige Handlungen wie Schlägereien, Eigentumsbeschädigung, tätliche Angriffe, Waffengebrauch und Messerstechereien befragt. Die Fragebögen schlossen auch Gesetzesverstöße wie Drogenkonsum und Diebstahl mit ein. Ebenso wie in der zuvor genannten kleinen Studie konnten auch hier die mit gewalttätigen Straftaten assoziiert werden: gewalttätige Kriminaldelikte wurden von Teilnehmern mit den DAT1-Genotypen 10/10 und 10/ doppelt so häufig begangen wie von denjenigen mit dem Genotyp 9/9 [90]. Obwohl in der vorliegenden Arbeit eine sehr ähnliche Fragestellung untersucht wurde, konnte eine Assoziation zwischen gewalttätiger Aggressivität und den DAT1 Genotypen nicht nachgewiesen werden. Hierfür mag es mehrere Gründe geben. Einerseits waren die Kandidaten in den beiden erwähnten Studien wesentlich jünger („Jugendliche“ bei [89] und ein Altersprofil von 12 bis 23 Jahren bei [90]) im Gegensatz zur eigenen Stichprobe mit einem Altersdurchschnitt von 34 Jahren. Obwohl in der Studie von Guo et al. die Stichprobe mit über 2500 Teilnehmern sehr groß war, ist das Messinstrument für Gewalt (von den Studienteilnehmern ausgefüllte Fragebögen) nicht unbedingt mit Verurteilung nach gewalttätigen Straftaten gleichzusetzen. Entscheidend für die hier gefundene negative Assoziation mag auch die unterschiedliche Dichotomisierung der Genotypen sein. Während Chen et al. und Guo et al. jeweils die Genotypen, die bezüglich des 10er Allels homozygot waren, wie auch den heterozygoten 10/9 Genotyp als Risikogenotypen definierten, erfolgte die hier verwendete Dichotomisierung in 10/10 und 10/11 versus 9/9, 9/10, und 9/11. Dies geschah aus der Überlegung heraus, dass dem 9-Kopien Allel ein protektiver Effekt zugeschrieben wird, der auch noch bei Heterozygoten überwiegt. Hingegen gilt das 10-Kopien Allel (und die funktionell analoge 11-Kopien Variante) als Risikoallel.

4. Diskussion

Eine alternative plausible Erklärung für den negativen Befund ist, dass hier möglicherweise andere funktionelle Varianten im DAT1 Gen oder in benachbarten Genregionen mit der DAT Genvariante im Kopplungsungleichgewicht sind; folglich könnten jene anderen Varianten dann ursächlich für Aggression prädisponieren. Schließlich variieren die Allelfrequenzen der häufigen Allele (9 und 10) selbst in verschiedenen europäischen Bevölkerungsgruppen erheblich [41], was die Vergleichbarkeit von Studien erschwert und/oder diskrepante Befunde erklären mag.

4.3 NOS-I

Zwar ist die physiologische Rolle von NO bzw. NO-Synthasen in der humanen Neuropsychobiologie kaum erforscht, jedoch weist vieles darauf hin, dass das freie Radikal als Botenstoff im zentralen und peripheren Nervensystem eine wichtige Rolle spielt. Befunde am Tiermodell lieferten Hinweise, dass NO vor allem beim Lernen wie auch bei der Verhaltenskontrolle eine Rolle spielt. Bei dem „knockout“-Tiermodell besteht durch die Expression alternativer Spleißvarianten eine residuale *NOS1* Expression von bis zu 7%, so dass richtigerweise von einem Gen-„Knockdown“ gesprochen werden muss. Daher stellen diese Tiermodelle eine vergleichsweise gute Analogie verminderter NO Produktion dar. Wird die NO Produktion im Gehirn durch den Knockdown reduziert, sind männlichen Mäuse vermehrt aggressiv: der Verlust der Verhaltenskontrolle zeigt sich durch persistierende Kämpfe und andauernde Versuche, sich mit Weibchen zu paaren - trotz deren offensichtlichem Desinteresse [7]. Dies wurde mittlerweile repliziert [66, 72], so dass ein Zusammenhang zwischen einem Mangel an NOS-I im Gehirn und aggressivem Verhalten nahe liegt – zumindest im Tiermodell.

Zusätzlich zu diesen Verhaltensdaten aus dem Tiermodell ist zu unterstreichen, dass zwischen nitrinergen, dopaminergen und serotonergen Regelkreisen enge funktionelle Beziehungen bestehen: zum einen vermag NO den Dopamintransporter DAT mittels S-Nitrosylierung direkt zu hemmen [59], als auch

4. Diskussion

indirekt den Serotonintransporter 5HTT in seiner Aktivität zu steigern [62]. Zumindest die gesteigerte Aggressivität der männlichen Tiere wird über das serotonerge System vermittelt, da sich bei NOS-Knockoutmäusen hypofunktionale 5HT_{1A} und 5HT_{1B}-Rezeptoren, als auch erhöhte Serotonin-Konzentrationen fanden [66, 72].

Bei den vorhergehenden Kandidatengeneten wurde bereits veranschaulicht, dass der Serotoninmetabolismus bei aggressivem Verhalten eine wichtige Rolle spielt. Es kann sicherlich noch kein konsistentes Bild von den Effekten von NO auf menschliche Hirnfunktionen gezeichnet werden; nichtsdestotrotz scheint die Betrachtung der *NOS*-Polymorphismen im Hinblick auf Aggression durch die Verbindung zum serotonergen System und die Befunde am Tiermodell vielversprechend. In der vorliegenden Arbeit sollte daher überprüft werden, ob es zwischen Aggression und zwei verschiedenen, funktionellen Markern im *NOS1*-Gen einen Zusammenhang gibt.

Eine Assoziation zwischen *NOS1* Exon 1c-SNP und Gewalt bzw. Aggression fand sich jedoch nicht. Eine Erklärung für diesen negativen Befund könnte sein, dass die Funktionalität des Exon 1c nur bei *in vitro* Modellen geklärt ist. Über die komplexe Situation *in vivo* gibt es noch keine Daten. Es ist lediglich bekannt, dass mehrere Faktoren an der Transkriptionsregulation des Exon 1c beim Menschen beteiligt sind. Nicht sicher ist jedoch, inwieweit das A-Allel beispielsweise die Transkriptionsaktivität reduziert und wie die nitrinerge Transmission dadurch beeinträchtigt ist. Daneben sind die Hirnsysteme, in denen *NOS1* Exon 1c exprimiert wird, nicht entscheidend an der Regulation aggressiven Verhaltens beteiligt.

Der zweite Marker, *NOS1* Ex1f-uVNTR, war jedoch signifikant mit Aggression assoziiert. Die kurzen Allele des *NOS1* Ex1f-VNTR prädisponieren unabhängig von Umweltfaktoren für aggressives Verhalten. Dies bestätigt die bisherigen Befunde

4. Diskussion

aus dem Tiermodell und geht sogar darüber hinaus, da dieser Zusammenhang unabhängig von jeglichen Umweltfaktoren war, wohingegen bei Mausmodellen eine Isolationsperiode nötig war, um Aggression zu erzeugen [7].

Neben Aggression waren die kurzen Repeats des *NOS1* Ex1f-VNTR auch Risikoallele für Cluster-B Persönlichkeitsstörungen und ADHS im Erwachsenenalter [95]. Folglich scheint also ein Zusammenhang zwischen den kurzen Allelen und Erkrankungen, die durch impulsives Verhalten charakterisiert sind, zu bestehen. Da Impulsivität ein erheblicher Risikofaktor für gewalttätiges Verhalten ist, könnte die Assoziation also eine Erklärung für den vorliegenden Befund darstellen.

Wie in der Einleitung bereits dargelegt, konnte das Markerallel auch mit anderen psychiatrischen Erkrankungen assoziiert werden. Trägerinnen der kurzen *NOS1* Ex1f-VNTR Allele haben ein erhöhtes Risiko, an M. Alzheimer zu erkranken [75]. Zudem verläuft bei *NOS1* Ex1f-VNTR Allelträgern eine schizophrene Erkrankung signifikant schwerwiegender. Dies veranschaulicht zusätzlich, dass das *NOS1* Markerallel zum genetischen Risiko verschiedener psychiatrischer Erkrankungen beiträgt, wie auch zu Verhaltensanomalien, die durch Aggressivität und Impulsivität auffallen.

Die Funktionalität des *NOS1* Ex1f-VNTR ist inzwischen besser charakterisiert und unterstreicht den eben genannten Zusammenhang zu psychiatrischen Erkrankungen auf molekularer Ebene. In einem Reporterassay wurden kurze (182 Repeats), mittlere (192 Repeats) und lange (204 Repeats) Allele hinsichtlich ihres Effektes auf die Expression eines Reportergens getestet. Die kurzen Allele gehen mit einer verringerten Expression der Luciferase einher und somit scheint die Längenvariation des *NOS1* Ex1f-VNTR tatsächlich funktional zu sein. Abhängig von diesem Polymorphismus werden auch weitere Gene in neuronalen Zellen reguliert, die in einem engen Zusammenhang mit der NO-Funktion stehen [95]. Folglich muss man annehmen, dass *NOS1* Ex1f-VNTR ein ganzes Gen-Netzwerk balanciert. Kurze Allelträger haben Defizite bei molekularen Signalkaskaden, die

4. Diskussion

bei psychiatrischen Erkrankungen eine Rolle spielen: oxidativer Stress, neuronales Zytoskelett, und glutamaterge Signalübertragungen [95].

NO hat möglicherweise gegensätzliche Effekte auf das Verhalten bei Männern und Frauen; zumindest sind die Befunde von Tiermodellen hinsichtlich aggressiver Verhaltensweisen diskrepant. Während die männlichen Tiere ausgeprägt aggressives Verhalten zeigten, waren die *NOS1* Knockout Weibchen weder aggressiv, noch fiel unpassendes Paarungsverhalten auf. Zwar zeigen Weibchen generell weniger „territoriale“ Aggression, aber um den Nachwuchs zu beschützen, ist Aggression bei Muttertieren eine normale Verhaltensweise. Interessanterweise fehlte der weiblichen Knockoutmutante diese so genannte „maternale“ Aggressivität. Ferner ist noch nicht klar, ob und wie Testosteron NO und Aggression beeinflusst. Einerseits unterschieden sich die Testosteronlevel bei Wildtyp und Mutante nicht signifikant, andererseits waren kastrierte Mutanten wesentlich weniger aggressiv. Es konnte gezeigt werden, dass Testosteron die *Nos1* Transkriptionsaktivität im Tiermodell steigert und damit eine gewisse hormonelle Steuerung weitervermittelt – dies gilt zumindest für das Paarungsverhalten [91]. Dass Testosteron bei Aggression eine Rolle spielt, ist evident, aber die exakte Verbindung zum nitrinergen Stoffwechsel ist noch spekulativ. Bei sibirischen Hamstern spielen Androgene bei Aggression eine geringe Rolle; eher, so wird vermutet, könnte NOS-I dazu beitragen [92]. So bleibt die Frage, welche Unterschiede bei männlichen und weiblichen Tieren dazu führen, dass das Verhalten beider Geschlechter mit einem NOS-I Mangel so unterschiedlich ist, offen. Zudem wurden mittlerweile auch männliche Mäusemutanten mit einer residuellen *Nos1* Expression beschrieben, die zwar kognitive Defizite hatten und weniger ängstlich waren, aber im Gegensatz zu den bisherigen Publikationen nicht vordergründig aggressiv [67]. Hier spielen möglicherweise auch genetische Hintergrundeffekte eine Rolle, da nach Rückkreuzung der Knockdown-Mäuse auf ihren genetischen Hintergrund der aggressive Phänotyp verschwand [93].

Trotz der positiven Assoziation des *NOS1* Ex1f-VNTR mit Gewalttätigkeit bleiben also insbesondere hinsichtlich der zugrunde liegenden neurobiologischen Grundlagen noch viele Fragen offen. Einerseits ist nach wie vor die genaue Bedeutung des Polymorphismus unklar, z.B. wie sich die veränderte Expression des alternativen Exons auf zellulärer Ebene auswirkt, andererseits müssen Gen x Gen Interaktionen und Gen-Umwelt-Interaktionen hinsichtlich ihrer Auswirkungen auf behaviorale Parameter untersucht werden.

4.4 Ausblick

Die Ergebnisse dieser Arbeit deuten darauf hin, dass die Regulation der synaptischen Serotonin-Konzentration durch genetische Variation in den Genen *5HTT* und *MAOA* in der Steuerung von Aggression eine Rolle spielt. Über diesen Mechanismus ist möglicherweise auch *NOS1* als Risikogen für gewalttätiges Verhalten regulatorisch tätig. Hingegen scheint eine Beteiligung des dopaminergen Systems weniger bedeutsam.

Die Verhaltensgenetik ist ein sehr komplexes Gebiet und bislang sind wenige Gene, insbesondere funktionale Genvarianten, bekannt, die in der Vererbung von Persönlichkeit oder Verhalten jenseits der Norm eine Rolle spielen. Abgesehen von sehr seltenen schädlichen Mutationen [18] verursacht ein einzelnes Gen oder ein einzelner Gen-Polymorphismus nicht alleine einen bestimmten Verhaltensphänotyp, sondern trägt nur in geringem Maß zur seiner Varianz bei. Pathologisches wie normales menschliches Verhalten unterliegt also einem sehr komplexen genetischen Vererbungsmuster mit nur kleinen individuellen Gen-Effekten. Gerade häufige, funktionale Polymorphismen können höchstens unspezifisch das Risiko erhöhen und meistens nur zusammen mit anderen Genen und Umweltfaktoren. So gesehen darf eine gegebene genetische Veranlagung nicht als Exkulpation missbraucht werden, denn sie kann nur in ganz geringem Umfang eine statistische Prädisposition für aggressives oder gewalttätiges Verhalten schaffen. Dies wird durch die Tatsache bewiesen, dass ca. 30% aller Männer das kurze MAO-A Allel tragen und eben nicht gewalttätig sind.

4. Diskussion

Aggressives Verhalten ist kein eindimensionaler Prozess, sondern das Ergebnis komplexer Interaktionen zwischen physiologischen, motivationalen und behavioralen Systemen, geprägt durch Umwelteinflüsse. Was man auch immer tun will, um aggressive Verhaltensweisen einzudämmen, so wird man - um dies effektiv zu erreichen - verschiedene molekularbiochemische und gesellschaftliche Aspekte angehen müssen. Eine medikamentöse „Hemmung“ von Aggression wird man wahrscheinlich nur erreichen, indem man in mehrere molekulare Signalwege eingreift. Andererseits sollten aber vor allem Umweltbedingungen geschaffen werden, die gewalttätiges Verhalten gar nicht erst entstehen lassen, sondern es verhindern.

5. Zusammenfassung

Persönlichkeit im Allgemeinen wird, neben Umwelteinflüssen, durch genetische Komponenten beeinflusst. Bisher konnten jedoch nur wenige funktionelle Genvarianten mit Verhaltenszügen assoziiert werden. Aggressives Verhalten als spezifisches Verhaltensmuster wird durch eine Reihe von Genvariationen beeinflusst, die in serotonerge, dopaminerge und nitrinerge Regelkreise eingreifen. Neben der genetischen Komponente prädisponieren aber hier ganz erheblich auch äußere Faktoren in der Umwelt, wie z.B. das soziale Umfeld, in dem Kinder und Jugendliche aufwachsen, für die Entwicklung von gewalttätigem Verhalten.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, einen möglichen Einfluss von vier verschiedenen funktionellen Gen-Polymorphismen (MAOA-uVNTR, DAT-uVNTR, NOS1 Ex1f-uVNTR und NOS1 Ex1c-SNP) auf Gewalttätigkeit bzw. Aggressivität zu untersuchen. Außerdem wurden Gen x Umweltinteraktionen im Bezug auf ungünstige soziale Bedingungen in der Kindheit untersucht.

Eine aus 184 Männern bestehende Stichprobe von Straffälligen wurde in eine Gruppe von gewalttätigen und eine Gruppe von nicht-gewalttätigen Straftätern unterteilt. Durch die logistische Regressionsanalyse konnte ermittelt werden, dass der MAO-A Genotyp, wie auch ungünstige soziale Bedingungen in der Kindheit, unabhängig voneinander für gewalttätiges Verhalten prädispositionieren. 45% der Gewalttätigen, aber nur 30% der nicht-gewalttätigen Studienteilnehmer sind Träger des niedrig-aktiven kurzen MAO-A Allels.

Die neuronale Isoform der Stickstoffmonoxid-Synthase (NOS-I) wurde, ebenso wie MAO-A, in Tierversuchen mit aggressiven Verhaltensweisen assoziiert. In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass es auch einen Zusammenhang zwischen einem funktionellen Promotorpolymorphismus von NOS1 und menschlicher Aggressivität gibt. Im Gegensatz zu MAOA und NOS1 beeinflusst ein funktioneller Polymorphismus im DAT1-Gen Gewalttätigkeit nicht.

Diese Ergebnisse legen komplexe Interaktionen zwischen genetischer Variation und Umweltfaktoren nahe und zeigen gleichzeitig, dass aggressives Verhalten nicht durch einfache Vererbungsmodi zu erklären ist.

6. Literaturverzeichnis

1. Hudziak, J.J., et al., *Individual differences in aggression: genetic analyses by age, gender, and informant in 3-, 7-, and 10-year old Dutch twins*. Behavior Genetics, 2003. 33(5): p. 575-589.
2. Tuvblad, C., et al., *The development of antisocial behaviour from childhood to adolescence*. European Child & Adolescent Psychiatry, 2005. 14(4): p. 216-225.
3. Kendler, K.S., et al., *Creating a Social World*. Arch Gen Psychiatry, 2007. 64(8): p. 958-965.
4. Vink, J.M. and D.I. Boomsma, *Gene finding strategies*. Biological Psychiatry, 2002. 61: p. 53-71.
5. Plomin, R., et al., *Gene, Umwelt und Verhalten*, ed. V.H. Huber. 1999.
6. Plomin, R., et al., *Behavioral Genetics in the Postgenomic Era*. 1 ed. 2003, Washington, DC: American Psychological Association. 607.
7. Nelson, R.J., et al., *Behavioural abnormalities in male mice lacking neuronal nitric oxide synthase*. Nature, 1995. 378(6555): p. 383-386.
8. Cases, O., et al., *Aggressive behavior and altered amounts of brain serotonin and norepinephrine in mice lacking MAOA*. Science, 1995. 268(5218): p. 1763-6.
9. Lesch, K.P. et al., *Impulsivity, Aggression, and Serotonin: A Molecular Psychobiological Perspective*. Behavioural Sciences and the Law, 2000. 18: p. 581-604.
10. Sims, K.B., et al., *Monoamine oxidase deficiency in males with an X chromosome deletion*. Neuron, 1989. 2(1): p. 1069-1076.
11. Sabol, S.Z., et al., *A functional polymorphism in the monoamine oxidase A gene promotor*. Human Genetics, 1998. 103(3): p. 273-9.
12. Huang, Y.Y., et al., *An Association between a Functional Polymorphism in the Monoamine Oxidase A Gene Promoter, Impulsive Traits and Early Abuse Experiences*. Neuropsychopharmacology, 2004. 29(8): p. 1498-1505.

6. Literaturverzeichnis

13. Deckert, J., et al., *Excess of high activity monoamine oxidase A gene promotor alleles in female patients with panic disorder*. Human Molecular Genetics, 1999. 8(4): p. 621-624.
14. Zalsman, G., et al., *Relationship of MAO-A promoter (u-VNTR) and COMT (V158M) gene polymorphisms to CSF monoamine metabolites levels in a psychiatric sample of caucasians: A preliminary report*. American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics, 2005. 132B(1): p. 100-103.
15. Seif, I., et al., *Knockout Corner: Knockout mice for monoamine oxidase A*. International Journal of Neuropsychopharmacology, 1999. 2: p. 241-243.
16. Cases, O., et al., *Lack of Barrels in the Somatosensory Cortex of Monoamine Oxidase A-Deficient Mice: Role of a Serotonin Excess during the Critical Period*. Neuron, 1996. 16(2): p. 297-307.
17. Wendland, J.R., et al., *Differential Functional Variability of Serotonin Transporter and Monoamine Oxidase A Genes in Macaque Species Displaying Contrasting Levels of Aggression-Related Behavior*. Behavior Genetics, 2006. 36(2): p. 163-172.
18. Brunner, H.G., et al., *Abnormal Behaviour associated with a point mutation in the structural gene for monoamine oxidase A*. Science, 1993. 262(5133): p. 578-80.
19. Samochowiec, J., et al., *Polymorphisms in the Serotonin Transporter and Monoamine Oxidase A Genes and Their Relationship to Personality Traits Measured by the Temperament and Character Inventory and NEO Five-Factor Inventory in Healthy Volunteers*. Neuropsychobiology, 2004. 50: p. 174-181.
20. Garpenstrand, H., et al., *A Regulatory Monoamine Oxidase A Promoter Polymorphism and Personality Traits*. Neuropsychobiology, 2002. 46: p.190-193.

6. Literaturverzeichnis

21. Eley, T.C., et al., *Association analysis of MAOA and COMT with neuroticism assessed by peers*. American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics, 2003. 120B(1): p. 90-96.
22. Samochowiec, J., et al., *Association of a regulatory polymorphism in the promoter region of the monoamine oxidase A gene with antisocial alcoholism*. Psychiatry Research, 1999. 86(1): p. 67-72.
23. Schmidt, L.G., et al., *Different allele distribution of a regulatory MAOA gene promoter polymorphism in antisocial and anxious-depressive alcoholics*. Journal of Neural Transmission, 2000. 107(6): p. 681-689.
24. Lu Ru-Band, et al., *Neither Antisocial Personality Disorder Nor Antisocial Alcoholism Is Associated With the MAO-A Gene in Han Chinese Males*. Alcoholism: Clinical & Experimental Research, 2003. 27(6): p. 889-893.
25. Koller, G., et al., *No association between a polymorphism in the promoter region of the MAOA gene with antisocial personality traits in alcoholics*. Alcohol Alcohol, 2003. 38(1): p. 31-34.
26. Jorm, A.F., et al., *Association of a functional polymorphism of the monoamine oxidase A gene promoter with personality and psychiatric symptoms*. Psychiatric Genetics, 2000. 10(2): p. 87-90.
27. Gerra, G., et al., *Analysis of monoamine oxidase A (MAO-A) promoter polymorphism in male heroin-dependent subjects: behavioural and personality correlates*. Journal of Neural Transmission, 2004. 111(5): p. 611-621.
28. Manuck, S.B., et al., *A regulatory polymorphism of the monoamine oxidase-A gene may be associated with variability in aggression, impulsivity, and central nervous system serotonergic responsivity*. Psychiatry Research, 2000. 95(1): p. 9-23.
29. Beitchman, J.H., et al., *MAOA and persistent, pervasive childhood aggression*. Molecular Psychiatry, 2004. 9(6): p. 546-547.
30. Gibbons, A., *Tracking the Evolutionary History of a "Warrior" Gene*. Science, 2004. p. 818.

6. Literaturverzeichnis

31. Newman, T.K., et al., *Monoamine Oxidase A Gene Promoter Variation and Rearing Experience Influences Aggressive Behavior in Rhesus Monkeys*. *Biological Psychiatry*, 2005. 57: p. 167-172.
32. Caspi, A., et al., *Role of genotype in the cycle of violence in maltreated children*. *Science*, 2002. 297(5582): p. 851-4.
33. Foley, D.L., et al., *Childhood Adversity, Monoamine Oxidase A Genotype, and Risk for Conduct Disorder*. *Arch Gen Psychiatry*, 2004. 61(7): p. 738-744.
34. Haberstick, B.C., et al., *Monoamine Oxidase A (MAOA) and Antisocial Behaviors in the Presence of Childhood and Adolescent Maltreatment*. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 2005. 135(B): p. 59-64.
35. Banaschewski, T., et al., *Neurobiologie der Aufmerksamkeitsdefizit-/Hyperaktivitätsstörung (ADHS)*. *Kindheit und Entwicklung*, 2004. 13(3): p. 137-147.
36. Rösler, M., et al., *Prevalence of attention deficit-/hyperactivity disorder (ADHD) and comorbid disorders in young male prison inmates*. *Clinical Neuroscience*, 2004. 254(6): p. 365-371.
37. Faraone, S.V., et al., *Neurobiology of attention-deficit hyperactivity disorder*. *Biological Psychiatry*, 1998. 44(10): p. 951-958.
38. Manor, I., et al., *Family-based and association studies of monoamine oxidase A and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): preferential transmission of the long promoter-region repeat and its association with impaired performance on a continuous performance test (TOVA)*. *Molecular Psychiatry*, 2002. 7(6): p. 626-632.
39. Domschke, K., et al., *Association analysis of the monoamine oxidase A and B genes with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) in an Irish sample: Preferential transmission of the MAO-A 941G allele to affected children*. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 2005. 134B(1): p. 110-114.

6. Literaturverzeichnis

40. Lawson, D.C., et al., *Association analysis of monoamine oxidase A and attention deficit hyperactivity disorder*. American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics, 2003. 116B(1): p. 84-89.
41. Kang, A.M., et al., *Global variation of a 40-bp VNTR in the 3'-untranslated region of the dopamine transporter gene (SLC6A3)*. Biological Psychiatry, 1999. 46(2): p. 151-60.
42. Michelhaugh, S.K., et al., *The dopamine transporter gene (SLC6A3) variable number of tandem repeats domain enhances transcription in dopamine neurons*. Journal of Neurochemistry, 2001. 79(5): p. 1033-1038.
43. van Dyck, C.H., et al., *Increased dopamine transporter availability associated with the 9-repeat allele of the SLC6A3 gene*. Journal of Nuclear Medicine, 2005. 46(5): p. 745-51.
44. Fuke, S., et al., *The VNTR polymorphism of the human dopamine transporter (DAT1) gene affects gene expression*. The Pharmacogenomics Journal, 2001. 1(2): p. 152-6.
45. Mill, J., et al., *Expression of the dopamine transporter gene is regulated by the 3' UTR VNTR: Evidence from brain and lymphocytes using quantitative RT-PCR*. American Journal of Medical Genetics, 2002. 114(8): p. 975-979.
46. Giros, B., et al., *Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter*. Nature, 1996. 379(6566): p. 606-612.
47. Rodriguiz, R.M., et al., *Aberrant responses in social interaction of dopamine transporter knockout mice*. Behavioural Brain Research, 2004. 148: p. 185-198.
48. Cook, E.H.J., et al., *Association of attention-deficit disorder and the dopamine transporter gene*. American Journal of Human Genetics, 1995. 56(4): p. 993-8.
49. Gill, M., et al., *Confirmation of association between attention deficit hyperactivity disorder and a dopamine transporter polymorphism*. Molecular Psychiatry, 1997. 2(4): p. 311-313.

6. Literaturverzeichnis

50. Mehler-Wex, C., et al., *Dopaminergic dysbalance in distinct basal ganglia neurocircuits: implications for the pathophysiology of Parkinson's disease, schizophrenia and attention deficit hyperactivity disorder*. Neurotoxicity Research, 2006. 10(3-4): p. 167-79.
51. Barr, C., et al., *Haplotype study of three polymorphisms at the dopamine transporter locus confirm linkage to attention-deficit/hyperactivity disorder*. Biological Psychiatry, 2001. 49(4): p. 333-339.
52. Hawi, Z., et al., *Linkage disequilibrium mapping at DAT1, DRD5 and DBH narrows the search for ADHD susceptibility alleles at these loci*. Molecular Psychiatry, 2003. 8(3): p. 299-308.
53. Young, S.E., et al., *Dopamine Transporter Polymorphism Associated With Externalizing Behavior Problems in Children*. American Journal of Medical Genetics, 2002. 114: p. 144-149.
54. Kahn, R.S., et al., *Role of dopamine transporter genotype and maternal prenatal smoking in childhood hyperactive-impulsive, inattentive, and oppositional behaviors*. The Journal of Pediatrics, 2003. 143(1): p. 104-110.
55. Kuikka, J.T., et al., *Abnormal structure of human striatal dopamine re-uptake sites in habitually violent alcoholic offenders: a fractal analysis*. Neuroscience Letters, 1998. 253: p. 195-197.
56. Reif, A., et al., *Toward a molecular architecture of personality*. Behavioural Brain Research, 2002. 139: p. 1-20.
57. Snyder, S.H., et al., *Novel Neurotransmitters and Their Neuropsychiatric Relevance*. American Journal of Psychiatry, 2000. 157(11): p. 1738-1751.
58. Nelson, R.J., et al., *Molecular basis of aggression*. Trends in Neurosciences, 2001. 24(12): p. 713-718.
59. Kiss, J.P., et al., *Nitric oxide: a novel link between synaptic and nonsynaptic transmission*. Trends in Neurosciences, 2001. 24(4): p. 211-215.
60. West, A.R., et al., *Regulation of striatal dopamine neurotransmission by nitric oxide: effector pathways and signaling mechanisms*. Synapse, 2002. 44(4): p. 227-245.

6. Literaturverzeichnis

61. Chanrion, B., et al., *Physical interaction between the serotonin transporter and neuronal nitric oxide synthase underlies reciprocal modulation of their activity*. PNAS, 2007. 104(19): p. 7739-40.
62. Kilic, F., et al., *A Human Serotonin Transporter Mutation Causes Constitutive Activation of Transport Activity*. Molecular Pharmacology, 2003. 64(2): p. 440-446.
63. Reif, A., et al., *A neuronal nitric oxide synthase (NOS-S) haplotype associated with schizophrenia modifies prefrontal cortex function*. Molecular Psychiatry, 2006. 0: p. 1-15.
64. Saur, D., et al., *Complex regulation of human neuronal nitric-oxide synthase exon 1c gene transcription. Essential role of Sp and ZNF family members of transcription factor*. Journal of Biological Chemistry, 2002. 277(28): p. 25798-25814.
65. Demas, G.E., et al., *Inhibition of neuronal nitric oxide synthase increases aggressive behavior in mice*. Molecular Medicine, 1997. 3(9): p. 610-616.
66. Chiavegatto, S., et al., *Brain serotonin dysfunction accounts for aggression in male mice lacking neuronal nitric oxide synthase*. Neurobiology, 2001. 98(3): p. 1277-1281.
67. Wultsch, T., et al., *Behavioural and expressional phenotyping of nitric oxide synthase-I knockdown animals*. Journal of Neural Transmission. Supplementum, 2007. 72: p. 69-85.
68. Volke, V., et al., *Antidepressant- and anxiolytic-like effects of selective neuronal NOS inhibitor 1-(2-trifluoromethylphenyl)-imidazole in mice*. Behavioural Brain Research, 2003. 140(1-2): p. 141-7.
69. Gammie, S.C., et al., *Maternal Aggression Is Reduced in Neuronal Nitric Oxide Synthase-Deficient Mice*. Journal of Neuroscience, 1999. 19(18): p. 8027-8035.
70. Kiegsfeld, L.J., et al., *Aggressive behavior in male mice lacking the gene for neuronal nitric oxide synthase requires testosterone*. Brain Research, 1997. 769: p. 66-70.

6. Literaturverzeichnis

71. Gotti, S., et al., *Alteration of NO-producing system in the basal forebrain and hypothalamus of Ts65Dn mice: an immunohistochemical and histochemical study of a murine model for Down syndrome*. *Neurology of Disease*, 2004. 16: p. 563-571.
72. Chiavegatto, S., et al., *Interaction of nitric oxide and serotonin in aggressive behavior*. *Hormones and Behavior*, 2003. 44: p. 233-241.
73. Spanagel, R., et al., *The Neuronal Nitric Oxide Synthase Gene Is Critically Involved in Neurobehavioral Effects of Alcohol*. *The Journal of Neuroscience*, 2002. 22(19): p. 8676-8683.
74. Jang, M.-H., et al., *Maternal Alcohol Administration Suppresses Expression of Nitric Oxide Synthase in the Hippocampus of Offspring Rats*. *Journal of Pharmacological Sciences*, 2005. 98(4): p. 459-462.
75. Galimberti, D., et al., *Association of a NOS1 promoter repeat with Alzheimer's disease*. *Neurobiology of Aging*, 2008. 29(9): p.1359-65.
76. Volavka, J., *The neurobiology of violence: an update*. *Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, 1999. 11: p. 307-314.
77. Filley, C.M., et al., *Toward an Understanding of Violence: Neurobehavioral Aspects of Unwarranted Physical Aggression: Aspen Neurobehavioral Conference Consensus Statement*. *Neuropsychiatry, Neuropsychology, & Behavioral Neurology*, 2001. 14(1): p. 1-14.
78. Meyer, J., et al., *Rare variants of the gene encoding the potassium chloride co-transporter 3 are associated with bipolar disorder*. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 2005. 8(4): p. 495-504.
79. Reif, A., et al., *Nature and Nurture Predispose to Violent Behavior: Serotonergic Genes and Adverse Childhood Environment*. *Neuropsychopharmacology*, 2007. 32(11): p. 2375-83.
80. Miller, S.A., et al., *A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells*. *Nucleic Acids Research*, 1988. 15(3): p. 1215.

6. Literaturverzeichnis

81. Mullis, K.B. and F.A. Faloon, *Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction*. *Methods in enzymology*, 1987. 155: p. 335-350.
82. Huizinga, D., et al., *Childhood Maltreatment, Subsequent Antisocial Behavior, and the Role of Monoamine Oxidase A Genotype*. *Biological Psychiatry*, 2006. 60: p. 677-683.
83. Kim-Cohen, J., et al., *MAOA, maltreatment, and gene-environment interaction predicting children's mental health: new evidence from a meta-analysis*. *Molecular Psychiatry*, 2006. 11: p. 903-913.
84. Nilsson, K.W., et al., *Role of Monoamine Oxidase A Genotype and Psychosocial Factors in Male Adolescent Criminal Activity*. *Biological Psychiatry*, 2005. 59: p. 121-127.
85. Widom, C.S., et al., *MAOA and the "Cycle of Violence:" Childhood Abuse and Neglect, MAOA Genotype, and Risk for Violent and Antisocial Behavior*. *Biological Psychiatry*, 2006. 60: p. 684-689.
86. Jacob, C.P., et al., *Cluster B Personality Disorders are Associated with Allelic Variation of Monoamine Oxidase A Activity*. *Neuropsychopharmacology*, 2005. 30(9): p. 1711-1718.
87. Meyer-Lindenberg, A., et al., *From the Cover: Neural mechanisms of genetic risk for impulsivity and violence in humans*. *PNAS*, 2006. 103(16): p. 6269-6274.
88. Eisenberger, N.I., et al., *Understanding genetic risk for aggression: clues from the brain's response to social exclusion*. *Biological Psychiatry*, 2007. 61(9): p. 1100-8.
89. Chen, T.J., et al., *Are dopaminergic genes involved in a predisposition to pathological aggression? Hypothesizing the importance of "super normal controls" in psychiatric genetic research of complex behavioral disorders*. *Medical Hypotheses*, 2005. 65(4): p. 703-7.

6. Literaturverzeichnis

90. Guo, G., et al., *Contributions of the DAT1 and DRD2 genes to serious and violent delinquency among adolescents and young adults*. Human Genetics, 2007. 121(1): p. 125-36.
91. Sanderson, N.S., et al., *Preoptic neuronal nitric oxide synthase induction by testosterone is consistent with a role in gating male copulatory behavior*. European Journal of Neuroscience, 2008. 27(1): p. 183-90.
92. Wen, J.C., et al., *Photoperiod Affects Neuronal Nitric Oxide Synthase and Aggressive Behaviour in Male Siberian Hamsters (Phodopus sungorus)*. Journal of Neuroendocrinology, 2004. 16(11): p. 916-921.
93. Le Roy, I., et al., *Loss of aggression, after transfer onto a C57BL/6J background, in mice carrying a targeted disruption of the neuronal nitric oxide synthase gene*. Behavior Genetics, 2000. 30(5): p. 367-373.
94. Fowler, J.S., et al., *Evidence that brain MAO A activity does not correspond to MAO A genotype in healthy male subjects*, Biological Psychiatry, 2007. 62(4):355-8.
95. Reif, A., et al., *Functional variant of neuronal NO synthase influences impulsive behaviors in humans*, Archives of General Psychiatry, 2008 (im Druck).

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. K.-P. Lesch und Herrn Dr. A. Reif für die Überlassung des Themas und die Vergabe der Arbeit. Insbesondere Dr. A. Reif möchte ich in diesem Zusammenhang für die engagierte Betreuung der Arbeit, sowie für die menschliche und freundliche Arbeitsatmosphäre danken.

Ich bedanke mich außerdem bei Herrn Prof. Dr. K.-P. Lesch für die Möglichkeit im Labor für klinische Psychobiologie der Universität Würzburg die molekularbiologischen Experimente durchzuführen. Ein herzliches Dankeschön geht hier an die Mitarbeiter/-innen des Labors, insbesondere an T. Töpner und G. Ortega, die mich hervorragend betreut haben.

Frau Dr. C. Freitag danke ich für die große Unterstützung beim statistischen Teil der Arbeit.

Bei Herrn Prof. Dr. W. Retz, Herrn Prof. Dr. M. Rösler, D. Wenzler und den Mitarbeitern der ADHS-Forschungsgruppe des Universitätsklinikums des Saarlandes bedanke ich für die Kooperation bei der Rekrutierung und Genotypisierung der Aggressionsstichprobe.

Meinen Eltern, Heike und Ulrike danke ich für den immerwährenden Rückhalt und die positiven Ermutigungen.

Schließlich danke ich besonders Jürgen für seine riesige Unterstützung und Geduld.

Lebenslauf Andrea Eujen

Persönliche Daten

Geburtstag: 16.06.1981

Geburtsort: Heidelberg

Familienstand: ledig

Schulbildung

1987 – 1991 Martin-Stöhr Grundschule, Leutershausen

1991 – 1992 Kurpfalz Gymnasium, Schriesheim

1992 – 2000 Gymnasium Roth, Roth

1998 High School Jahr an der Dallas-Center-Grimes High School, Iowa/USA

2000 Abitur

Freiwilliges Soziales Jahr

2000 – 2001 Deutsches Herzzentrum München

Studium

04/2001 – 12/2007 Studium der Humanmedizin an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg

03/2003 Physikum

01/2006 – 01/2007 Praktisches Jahr

10 – 11/2007 Staatsexamen (2. Ärztliche Prüfung, nach neuer Approbationsordnung)

Berufliche Tätigkeit

Seit 01/2008 Assistenzärztin in der Neurologischen Klinik des Leopoldina Krankenhauses Schweinfurt

Würzburg, November 2008