

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

Direktor: Professor Dr. med. J. Deckert

***Glutamaterge Kandidatengene in der
Nahinfrarotspektroskopie***

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

Elisa Eirich
aus Würzburg

Würzburg, November 2011

Referent: Professor Dr. med. Andreas Reif

Koreferent: Professor Dr. rer. nat. Erhard Wischmeyer

Dekan: Professor Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 10.09.2012

Die Promovendin ist Ärztin.

Inhaltsverzeichnis

- I. **Abbildungsverzeichnis**
- II. **Tabellenverzeichnis**
- III. **Abkürzungsverzeichnis**

1	Einleitung.....	1
1.1	Schizophrenie - Allgemeines.....	1
1.1.1	Symptomatik und Verlauf.....	1
1.1.2	Begriffsklärung, Diagnosekriterien und Klassifikation	2
1.2	Ätiologisches Konzept der Schizophrenie	4
1.2.1	Vulnerabilitäts-Stress-Modell	4
1.2.2	Genetische Faktoren.....	4
1.2.3	Neuronale Transmission	6
1.2.3.1	Glutamathypothese.....	6
1.2.3.2	Dopaminhypothese	8
1.2.4	Strukturelle Auffälligkeiten.....	9
1.2.5	Neuronale Entwicklungsstörungen.....	11
1.2.6	Umwelteinflüsse.....	12
1.3	Schizophrenie und Kognition	13
1.3.1	Kognitive Defizite bei Schizophrenie.....	13
1.3.2	Arbeitsgedächtnis	14
1.3.2.1	Konzept, Bedeutung und Untersuchung	14
1.3.2.2	Funktionelle Neuroanatomie des Arbeitsgedächtnisses	17
1.3.3	Funktionelle Bildgebung.....	19
1.3.3.1	Hypofrontalität.....	19
1.3.3.2	Funktionelle Nahinfrarotspektroskopie (fNIRS)	22
1.4	Physiologische Funktionen von NO im zentralen Nervensystem	24
1.4.1	Der Neurotransmitter NO und NO-Synthase.....	24
1.4.1.1	Nitrosylierung	26
1.4.1.2	Protein-Protein-Interaktionen	27
1.4.2	Das humane <i>NOS1</i> -Gen.....	28
1.4.2.1	<i>NOS1</i> -Exon 1f.....	29
1.4.2.2	<i>NOS1</i> -Exon 1c.....	29
1.4.2.3	Bisherige Studien zu <i>NOS1</i> und psychiatrischen Erkrankungen.....	31
1.5	Ziel der Arbeit.....	33
2	Methoden	34
2.1	Versuchspersonen	34
2.2	Elektrophysiologische Untersuchung	38
2.2.1	Kognitive Paradigmen.....	38
2.2.1.1	N-Back -Aufgabe.....	38
2.2.1.2	Verbal Fluency Test (VFT)	39
2.2.2	fNIRS-Messung.....	40
2.3	Genetische Untersuchung.....	42
2.3.1	DNA-Extraktion	42
2.3.2	Polymerase-Kettenreaktion (PCR).....	42
2.3.3	Elektrophorese.....	44

2.3.3.1	Agarosegelelektrophorese	44
2.3.3.2	Kapillarlektrophorese mit CEQ 8000 (Fragmentanalyse)	45
2.4	Datenanalyse und Statistik.....	46
3	Ergebnisse.....	49
3.1	Verhaltensdaten.....	49
3.1.1	N-Back	49
3.1.2	VFT	49
3.2	Funktionelle Daten	50
3.2.1	N-Back-Aufgabe.....	50
3.2.2	VFT	52
3.3	Auswirkung der <i>NOS1</i> -Promotorvarianten auf Verhaltensdaten und neuronale Aktivierung	55
3.3.1	<i>NOS1</i> -Exon 1f-VNTR.....	55
3.3.1.1	Verhaltensdaten.....	55
3.3.1.2	Aktivierung	55
3.3.2	<i>NOS1</i> -Exon 1c-SNP (rs41279104)	57
3.3.2.1	Verhaltensdaten.....	57
3.3.2.2	Aktivierung	58
4	Diskussion.....	60
4.1	Beteiligung des nitrinergen Systems an der Pathophysiologie der Schizophrenie	60
4.1.1	<i>NOS-I</i> und Neurotransmission	60
4.1.2	<i>NOS1</i> und hirnstrukturelle Befunde	61
4.1.3	<i>NOS1</i> und adulte Neurogenese	62
4.1.4	<i>NOS1</i> und neuronale Plastizität	63
4.2	Einfluss von Antipsychotika auf Hypofrontalität.....	65
4.3	Schizophrenie und Kognition	68
4.3.1	Arbeitsgedächtnis und Auswahl kognitiver Paradigmen	68
4.3.1.1	N-Back-Aufgabe.....	68
4.3.1.2	Verbal Fluency Test (VFT)	69
4.3.2	Funktionelle Bildgebung.....	71
4.3.2.1	Funktionelle Bildgebung im Vergleich mit neuropsychol. Testung	71
4.3.2.2	Funktionelle Bildgebung mit fNIRS	71
4.4	<i>NOS1</i> -Promoter-Polymorphismen und präfrontale Hirnfunktion	73
4.4.1	<i>NOS1</i> Ex1f-VNTR	73
4.4.1.1	Verhaltensdaten.....	73
4.4.1.2	Aktivierung	74
4.4.2	<i>NOS1</i> -Exon 1c-SNP (rs41279104)	75
4.4.2.1	Verhaltensdaten.....	75
4.4.2.2	Aktivierung	79
5	Zusammenfassung	82
6	Literaturverzeichnis	92
IV.	Danksagung	
V.	Publikationen	
VI.	Lebenslauf	

I. **Abbildungsverzeichnis**

- Abbildung 1: Relation zwischen NMDA-Rezeptor-Hypoaktivität und glutamaterger Hyperaktivität. (nach Konradi & Heckers, 2003)
- Abbildung 2: Schematische Darstellung des Arbeitsgedächtnisses nach Baddeley (2000). (nach Kircher & Gauggel, 2001)
- Abbildung 3: Menschliches Gehirn in der Ansicht von links. Unterteilung des lateralen frontalen Cortex. Die Grenze zwischen VLFC und DLFC wird durch den inferioren frontalen Sulcus gebildet. Die posteriore Grenze des AFC wird durch eine vertikale Linie markiert, die durch das vordere Ende des inferioren frontalen Gyrus gezogen wird. (nach Fletcher & Henson, 2001)
- Abbildung 4: Hypothetisches Modell zum Zusammenhang zwischen kognitiver Leistungsfähigkeit im Verhältnis zu aktuellen Anforderungen und der Signalphysiologie in aufgabenrelevanten neurofunktionellen Systemen. (nach Kircher & Gauggel, 2001)
- Abbildung 5: Alternative erste Exons von NOS-I. (modifiziert nach Saur et al., 2002)
- Abbildung 6: Häufigkeit der *NOS1*-Exon 1f-VNTR-Allele. (modifiziert nach Reif et al., 2006)
- Abbildung 7: Zeitlicher Ablauf der N-Back-Aufgabe (modifiziert nach Schecklmann et al., 2007).

- Abbildung 8: Zeitlicher Ablauf des VFT (nach Schecklmann et al., 2007).
- Abbildung 9: Schematische Darstellung der Anordnung des fNIRS-Probe-Sets über der linken Hemisphäre. Die roten Quadrate stellen lichtemittierende Elektroden dar, blaue Quadrate repräsentieren Lichtdetektoren. (aus Schecklmann et al., 2007)
- Abbildung 10: *NOS1*-Exon 1c (rs41279104): Agarosegelelektrophorese nach restriktionsenzymatischem Verdau. Bande 1: Genotyp G/G, Bande 2: Genotyp A/G, Bande 3: Genotyp A/A.
- Abbildung 11: *NOS1*-Exon 1f-VNTR Allele C/N.
- Abbildung 12: *NOS1*-Exon 1f-VNTR Allele H/N.
- Abbildung 13: T-Maps für OxyHb für die linke bzw. rechte Hemisphäre während des VFT in der Kontrollgruppe (oben).
T-Maps für HHb für die linke bzw. rechte Hemisphäre während des VFT in der Kontrollgruppe (unten).
- Abbildung 14: T-Maps für OxyHb für die linke bzw. rechte Hemisphäre während des VFT in der Patientengruppe (oben).
T-Maps für HHb für die linke bzw. rechte Hemisphäre während des VFT in der Patientengruppe (unten).
- Abbildung 15: T-Maps für OxyHb für die linke bzw. rechte Hemisphäre während des N-Back in der Kontrollgruppe (oben).
T-Maps für HHb für die linke bzw. rechte Hemisphäre während des N-Back in der Kontrollgruppe (unten).

- Abbildung 16: T-Maps für OxyHb für die linke bzw. rechte Hemisphäre während des N-Back in der Patientengruppe (oben).
T-Maps für HHb für die linke bzw. rechte Hemisphäre während des N-Back in der Patientengruppe (unten).
- Abbildung 17: Vergleich Oxy-Hb (oben) und HHb (unten) bei Patienten (links) und Kontrollen (rechts) für VFT und N-Back.
- Abbildung 18: Seite x Genotyp-Interaktionseffekt für *NOS1*-Exon 1f-VNTR bezüglich der mittleren Hirnaktivierung (HHb) im VFT.
- Abbildung 19: Genotyp x Gruppe-Interaktionseffekt für *NOS1*-Exon 1c-SNP bezüglich der mittleren Reaktionszeit im 2-Back-Test.
- Abbildung 20: Seite x Gruppe x Genotyp-Interaktionseffekt für *NOS1*-Exon 1c-SNP bezüglich der mittleren Hirnaktivierung (HHb) im VFT.
- Abbildung 21: Seite x Genotyp-Interaktionseffekt für *NOS1*-Exon 1c-SNP bezüglich der mittleren Hirnaktivierung (OxyHb) im VFT.

II. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Versuchspersonen für die Untersuchung der cerebralen Aktivierung.
Tabelle 2:	Deskriptive Daten der analysierten Gruppen für <i>NOS1</i> -Exon 1c-SNP.
Tabelle 3:	Komponenten der Reaktionsansätze für die VNTR- bzw. SNP-Amplifikation.
Tabelle 4:	PCR-Programme.

III. Abkürzungsverzeichnis

ACC	Anteriorer cingulärer Cortex
ADHS	Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätssyndrom
AMDP	Arbeitsgemeinschaft für Methodik und Dokumentation in der Psychiatrie
aN	Adulte Neurogenese
ANOVA	Analysis of variance (Varianzanalyse)
BrdU	Bromdeoxyuridine
bp	Basenpaare
CBF	Cerebral Blood Flow (Cerebraler Blutfluss)
CPT	Continuous Performance Test
COPS	Criteria of Prodromal State
cGMP	Cyclisches Guanosin-Monophosphat
CAPON	Carboxy-terminal PDZ-ligand of nNOS
CRE	cAMP-response element
CREB	cAMP-response element-binding-Protein
DAAO	D-Amino-Acid-Oxidase
DAOA	D-Amino-Acid-Oxidase-Aktivator
DAT	Dopamin-Transporter
df	Degree of freedom (Freiheitsgrade)
DLFC	Dorsolateraler frontaler Cortex
DLPFC	Dorsolateraler präfrontaler Cortex
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphat
DPF	Differentieller Pfadlängenfaktor
DPFC	Dorsaler präfrontaler Cortex
DTN	Dystrobrevin
DTN-BP1	DTN-Binding Protein 1
EPS	Extrapyramidalsymptomatik
FAD	Flavin-Adenin-Dinucleotid
FDR	False Discovery Rate
FGA	First generation antipsychotics, typische Antipsychotika
FMN	Flavinmononukleotid
FMRI	Funktionelle MRI
FMRT	Funktionelle MRT
FNIRS	Funktionelle Nahinfrarotspektroskopie
GABA	γ -Aminobuttersäure
GC	Guanylatcyclase
GTP	Guanosintriphosphat

Hbtot	Totale Hb-Konzentration
HHb	Deoxygeniertes Hb
5HT	5-Hydroxytryptamin, Serotonin
5HTT	5HT-Transporter
kb	kilo-Basenpaare
LPFC	Lateraler präfrontaler Cortex
MAO	Monoamin-Oxidase
MDE	Manisch-depressive Erkrankung
MRI	Magnetic Resonance Imaging (Magnetresonanztomographie)
MRT	Magnetresonanztomographie
NADPH	Nicotinamiddinucleotidphosphat
NADPH-d	NADPH-Diaphorase
NFkB	Nuclear factor kappa-B
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NMDA-R	NMDA-Rezeptor, inotroper Glutmatrezeptor
nNOS	NOS, neuronale Isoform
NO	Nitric oxide (Stickstoffmonoxid)
NOS	NO-Synthase
NOS-I	NO-Synthase-I, neuronale Isoform
NOS1	NO-Synthase-I-Gen
NOS-I-AP	NOS-I-Adaptor-Protein
NSP	Neuronale Stammzellproliferation
NRG1	Neuregulin 1
OxyHb	Oxygeniertes Hämoglobin
PCP	Phencyclidin
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polymerasekettenreaktion)
PDZ	PSD-Disc large-Zona occludens
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PKG	Proteinkinase G
PPI	Präpulsinhibition
PSD	Post synaptic density
ROI	Region of Interest
RT	Reaction time, Reaktionszeit
Sec	Sekunde
SGA	Second Generation Antipsychotics
sGC	Soluble Gunaylatcyclase (lösliche Gunaylatcyclase)
SMA	Supplementär-motorisches Areal
SNAP25	Synaptosomal-associated protein 25
SNP	Single Nucleotide Polymorphism (Einzelnukleotid-Polymorphismus)

SPECT	Single Photon Emission Computed Tomography (Einzelphotonen-Emissions-Tomografie)
S-Phase	Synthese-Phase des Zellzyklus
VFT	Verbal Fluency Test (Wortflüssigkeitsaufgabe)
VLFC	Ventrolateraler frontaler Cortex
VNTR	Variable number tandem repeats (Minisatteliten-DNA)
VTA	Ventrale Tegmentale Area
ZNS	Zentrales Nervensystem

1 Einleitung

1.1 Schizophrenie - Allgemeines

“Understanding the aetiology and pathogenesis of schizophrenia is one of the most important challenges facing psychiatry.” (Owen, Williams, O’Donovan, 2004)

1.1.1 Symptomatik und Verlauf

Mit einer Lebenszeitprävalenz von 0,5 % bis 1 % stellt die Schizophrenie eine häufige Erkrankung dar, die außerdem zu den zehn am häufigsten zu Behinderung führenden Krankheiten zählt. Beide Geschlechter erkranken gleich häufig, Männer mit einem Prädilektionsalter von durchschnittlich 21 Jahren jedoch etwa fünf Jahre früher als Frauen (Möller, Laux, Deister, 2001). Die Schizophrenie ist eine heterogene Erkrankung, die durch Störung des inhaltlichen Denkens, des Ich-Erlebens und der Wahrnehmung, in Verbindung mit Störung der Kognition, der Affektivität sowie des Antriebs charakterisiert ist. Da sowohl das Krankheitsbild als auch der Verlauf der Schizophrenie sehr vielgestaltig sind, wurden verschiedenen Möglichkeiten erarbeitet, die Krankheitsmerkmale zu klassifizieren. Eine Möglichkeit ist die Unterscheidung in Positiv- und Negativsymptome. Der Begriff Positivsymptomatik umfasst hierbei jedes im Vergleich zum „Normalen“ übersteigerte Erleben und Verhalten des Patienten, wie beispielsweise Sinnes-täuschungen (akustische, optische und taktile Halluzinationen), Wahnvorstellungen, Ich-Erlebnisstörungen und formale Denkstörungen. Damit beinhaltet die Positivsymptomatik im Wesentlichen die Symptome ersten und zweiten Ranges nach Kurt Schneider (s. u.). In Analogie zur Positivsymptomatik bezeichnet die Negativsymptomatik defizitäre Muster in Verhalten, Erleben und sozialem Umgang. Dazu gehören unter anderem Affektverflachung, Antriebsmangel und Denkverarmung. Der Begriff der Negativsymptomatik ist weitgehend gleichzu

setzen mit den sog. Basissymptomen der Schizophrenie, die oft auch als Residualsymptome bezeichnet werden, sofern sie nach einer psychotischen Episode fortbestehen. Neben der Positiv- und Negativsymptomatik unterscheidet man aggressive Symptome, psychomotorische Auffälligkeiten und kognitive Defizite als eigenständige Symptomen-Komplexe, wobei v. a. letztere klinisch einen besonders ungünstigen Einfluss auf die soziale Funktionsfähigkeit haben (Green, 1996). Verlauf und Ausgang einer schizophrenen Erkrankung sind variabel und individuell unterschiedlich. Abstrahiert lässt sich der Verlauf in drei Phasen einteilen: Zunächst eine Prodromalphase, die ca. ein bis fünf Jahre vor der produktiv-psychotischen Phase beginnt, deren Auftreten jedoch nicht zwingend ist. Sie ist durch uncharakteristische affektive Symptome, Leistungsminderung und sozialen Rückzug gekennzeichnet. Auf die Prodromalphase folgt die aktive, produktiv-psychotische Phase. Sie kann akut oder perakut innerhalb von Stunden bis Tagen oder Wochen beginnen, aber auch chronisch oder subchronisch verlaufen. In seltenen Fällen kann sie chronisch persistieren. Meist rezidivieren die akuten Phasen nach unterschiedlich langen Intervallen, wobei zwischen den einzelnen Episoden eine Remission eintreten kann oder aber ein stabiles bzw. zunehmendes Residuum zurückbleibt. Die Residualphase, die ähnlich wie die Prodromalphase verlaufen kann bleibt nur bei ca. einem Drittel der Patienten i. S. einer Vollremission aus. Ca. 2/3 der Patienten zeigen einen eher ungünstigen Verlauf mit Ausbildung einer mehr oder weniger schweren Residualsymptomatik.

1.1.2 Begriffsklärung, Diagnosekriterien und Klassifikation

Emil Kraepelin fasste Anfang des 19. Jahrhunderts mehrere bis dahin als eigenständig betrachtete psychiatrische Krankheitsbilder unter dem Begriff der „Dementia praecox“ zusammen, da ihnen ein chronischer Verlauf, schwere kognitive Einbußen und ein relativ zur „senilen Demenz“ früher Beginn gemeinsam war. Eugen Bleuler prägte Anfang des 20. Jahrhunderts den Begriff der Schizophrenie (von altgriechisch *σχίζειν* *schizein* „abspalten“ und *φρήν* *phrēn* „Seele, Zwerchfell“). Er erkannte bei den von Kraepelin unter „Dementia praecox“

beschriebenen Krankheitsbildern gemeinsame Grundsymptome, aus denen er akzessorische Symptome ableitete. Diese Grundsymptome beinhalten neben assoziativer Lockerung/Störung des Gedankenganges, Affektverflachung, und Ambivalenz (im Fühlen, Handeln, Wollen) auch Autismus als Loslösung von der Wirklichkeit und zusätzliche Störungen der Person wie Depersonalisation, Appersonierung und Transivismus. Zu den akzessorischen Symptomen zählen sowohl Wahn als auch Halluzinationen, sowie Störungen des Ich-Erlebens und weitere Störungen, die nicht zu den Grundsymptomen gehören. Sie stellen die Grundlage der Symptome ersten und zweiten Ranges nach Kurt Schneider dar (s. u.) und decken sich weitgehend mit dem Begriff der Positivsymptomatik (s. o.). Außerdem grenzte Kräpelin die „Dementia praecox“ scharf vom „manisch-depressivem Irresein“ ab, was bis heute in der Schizophrenie-Diagnostik berücksichtigt wird, indem Schizophrenien von affektiven Störungen abgegrenzt werden, wobei später jedoch noch die Gruppe der schizoaffectiven Psychosen hinzukam, die jedoch eher zu dem Formenkreis der schizophrenen Psychosen gezählt wird. Während nach heutigem Verständnis die Grundsymptome nach Bleuler zwar häufige und charakteristische Symptome darstellen, erlauben lediglich die akzessorischen Symptome eine Diagnosestellung. In Anlehnung an die akzessorischen Symptome nach Bleuler, unterschied Kurt Schneider Symptome ersten und zweiten Ranges als Grundlage für die in der 1950er Jahren entwickelten und heute gültigen Diagnosesysteme ICD und DSM, die bis heute kontinuierlich weiterentwickelt werden. Die einzelnen Vertreter der Wernicke-Kleist-Leonhard-Systematik verfolgten ein mehr ätiologisch ausgerichtetes Konzept und stellten damit die wohl differenzierteste psychopathologische Beschreibung endogener Psychosen auf, die Aussagen über Verlauf, Genetik und Therapie zulassen. Nach der Wernicke-Kleist-Leonhard-Systematik werden bei den endogenen Psychosen die phasischen affektiven Psychosen, den zykliden Psychosen und die Schizophrenien unterschieden. Letztere werden in unsystematische Schizophrenien (affektvolle Paraphrenie, Kataphasie, periodische Katatonie) und systematische Schizophrenien (katatone Formen, hebephrene Formen, paranoide Formen) unterteilt, wobei erstere phasisch verlaufen mit hoher Heredität und letztere

eine schleichend progredienten Verlauf haben mit geringer genetischer Belastung. Die heute gängigen Klassifikationssysteme der Schizophrenie sind die ICD-10 und DSM-IV. Sie beinhalten neben den diagnostischen Leitlinien eine Unterteilung in fünf verschiedene Subtypen, wobei neben den bereits von Kraepelin vorgeschlagenen klassischen Subtypen, dem paranoid-halluzinatorischen, dem hebephrenen und dem katatonen Subtyp im Wesentlichen zwei weitere Subtypen, der undifferenzierte Typ und das schizophrene Residuum hinzugefügt wurden.

1.2 Ätiologisches Konzept der Schizophrenie

1.2.1 Vulnerabilitäts-Stress-Modell

Die Schizophrenie stellt eine schwere, meist chronisch verlaufende, psychische Erkrankung dar, die weitreichende Folgen für das psychosoziale Leben der Patienten hat. Außerdem ist nicht nur die Komorbidität für viele andere psychische Störungen sondern auch das Suizidrisiko ist unter schizophrenen Patienten deutlich erhöht. Trotz der folglich hohen klinischen Relevanz sind die Ursachen der Schizophrenie bisher nur in Ansätzen verstanden. Derzeit geht man von einer multifaktoriellen Genese der Erkrankung aus. Sowohl genetische, neurobiologische als auch umweltbedingte Faktoren können zu einer Prädisposition führen. Das Hinzutreten weiterer Stressoren kann schließlich zum Krankheitsbeginn führen; bei starker Prädisposition tritt die Erkrankung eventuell auch ohne weitere Stressoren ein („Vulnerabilitäts-Stress-Modell“).

1.2.2 Genetische Faktoren

Die genetische Komponente der Ätiopathogenese ist im Vergleich zu Umweltfaktoren sehr hoch, so konnten Sullivan, Kendler und Neale (2003) mit einer Meta-Analyse von Zwillingsstudien eine Heritabilität von über 80 % zeigen. Die Genetik schizophrener Erkrankungen ist sehr komplex und heterogen. So geht man derzeit von Gen-Umwelt- und Gen-Gen-Interaktionen (Epistasie) aus,

wobei einzelne Effekte genetischer Variationen jeweils nur einen geringen individuellen Beitrag zum Erkrankungsrisiko leisten. Durch Summieren bzw. Potenzieren einzelner Effekte kann aber eine individuelle Prädisposition zur Erkrankung führen. Trotz umfangreicher Kopplungsanalysen ist es bisher jedoch noch nicht gelungen, funktionale Varianten in Kandidatengen zu identifizieren. Zu den Risikogenen für schizophrene Erkrankungen gehören Neuregulin 1 (NRG1), G72, D-Amino-Acid-Oxidase (DAAO) und Dysbindin. Polymorphismen im NRG1-Rezeptor-Gen konnten in mehreren Studien mit Schizophrenie assoziiert werden (Buonanno et al., 2008). NRG1 reguliert die Expression der NMDA-Rezeptor (NMDAR)-Untereinheiten und aktiviert ErbB4 Rezeptoren, die wiederum eine Änderung der kinetischen Eigenschaften der NR2-Subunit des NMDA-R mittels Phosphorylierung zur Folge haben (Britsch, 2007). Zwei weitere identifizierte Suzeptibilitätsgene hinsichtlich Schizophrenie sind G72 und DAAO. Da das Genprodukt von G72 als Aktivator von DAAO fungiert, wird es auch als DAO-Aktivator (DAOA) bezeichnet. DAAO ist das einzige Enzym, welches D-Serin, einen wichtigen Co-Agonisten am NMDA-R, oxidieren kann. Bei schizophrenen Patienten konnte eine defizitäre NMDA-Rezeptorfunktion in Zusammenhang mit erhöhter DAAO-Aktivität und folglich erniedrigten D-Serin Spiegeln gebracht werden (Boks et al., 2007, Madeira et al., 2008). Ein weiteres Kandidatengen in der Pathophysiologie der Schizophrenie stellt das Dysbindin-Gen dar, welches für ein neuronales Protein kodiert, das β -Dystrobrevin bindet (Dystrobrevin Binding Protein 1, DTNBP1) und auf Chromosom 6p.22.3 lokalisiert ist, einem vielversprechendem Suzeptibilitätslocus in Kopplungsanalysen mit schizophrenen Patienten. Es konnte gezeigt werden, dass Dysbindin-Überexpression die excitotoxische Glutamatausschüttung begünstigt, indem es die Expression von SNAP25 und Synapsin, zweier präsynaptischer Proteine induziert. Auf der anderen Seite schützt Dysbindin cortikale Neurone vor neuronalem Zelltod, was zu der Annahme führt, dass jegliche Beeinträchtigung der Dysbindinfunktion das Gleichgewicht zwischen Zelltod und Überleben stören kann (Numakava et al., 2004, Zhao et al., 2009).

1.2.3 Neuronale Transmission

1.2.3.1 Glutamathypothese

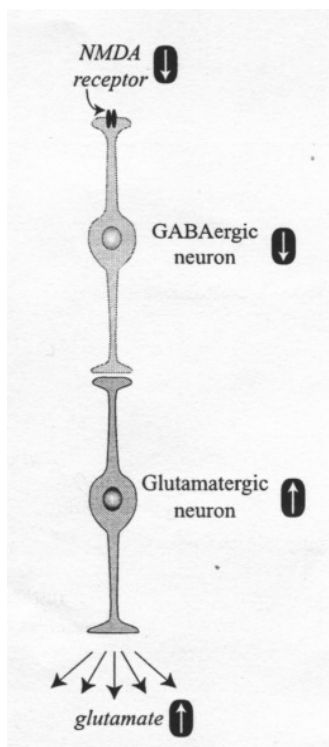
Klinisch ist die Schizophrenie durch Defizite in nahezu allen Aspekten höheren menschlichen Verhaltens charakterisiert. Nach gegenwärtigem Verständnis müssen folglich eine Reihe frontal kortikaler Systeme, das limbische System, die Basalganglien, sowie der Thalamus involviert sein. Die reziproken exzitatorischen Verbindungen zwischen corticocorticalen, corticolimbischen und corticothalamischen Projektionen sind ausnahmslos glutamaterg. Des Weiteren spielt der NMDA-Rezeptor (NMDA-R) – konsistent mit den strukturellen und funktionellen Anomalitäten, die bei Schizophrenen dokumentiert sind - eine wichtige Rolle in der neuronalen Migration, Differenzierung und Plastizität (Lau et al., 2009).

Die potentielle Einbeziehung veränderter glutamaterger Neurotransmission in die Pathophysiologie der Schizophrenie basierte zunächst auf klinischen Beobachtungen psychotischer Effekte dissoziativer Anästhetika vor über 40 Jahren (Luby et al., 1959) und der Erkenntnis, dass diese Medikamente als Inhibitoren des NMDA-R fungieren. Seither wurden die psychomimetischen Effekte der NMDA-R-Antagonisten Phencyclidin und Ketamin oft beschrieben. Ketamin, ein Phencyclidin-Derivat, löst in subanästhetischer Dosis schizophrenie-typische Symptome bei Gesunden aus. Dazu gehören sowohl Positiv- als auch Negativsymptome, sowie eine Beeinträchtigung kognitiver Funktionen besonders des frontalen Kortex. Bei schizophrenen Patienten vermag Ketamin eine Aktivierung ihrer psychotischen Symptome hervorzurufen (Mechri et al., 2001).

Bei der glutamatergen Dysfunktion, welche bei schizophrenen Patienten gefunden wird, konnte bislang sowohl eine Hyperaktivität, als auch eine Hypoaktivität des glutamatergen Systems nachgewiesen werden. Letztlich geht man von

einer glutamatergen Hyperaktivität im präfrontalen Kortex (PFC) aus (Paz et al., 2008).

Im Detail führt die Blockade von NMDA-R zu einer verstärkten Glutamateausschüttung im cerebralen Cortex (Moghaddam et al., 1997). Dass die Blockade eines excitatorischen Rezeptors zu einer verstärkten Excitation führt, erscheint zunächst paradox. Zum Verständnis muss der Regelkreis zwischen GABAergen, inhibitorischen Interneuronen und glutamatergen, excitatorischen Neuronen betrachtet werden. Die Erregung GABAerger Interneurone via NMDA-R führt zu einer Inhibition der erregenden Pyramidalzellen und nachfolgend verminderter Glutamat Ausschüttung.



Die Blockade von NMDA-R an GABAergen Interneuronen führt also konsekutiv zu einer Disinhibition glutamaterger Pyramidalzellen und exzessiver Glutamateausschüttung, was die glutamaterge Hyperaktivität im präfrontalen Kortex bei schizophrenen Patienten erklärt. In vitro konnte gezeigt werden, dass GABAerge Interneurone, welche die Aktivität pyramidaler Neurone kontrollieren, besonders empfindlich auf psychomimetische Dosen von NMDA-R-Antagonisten reagieren (Grunze et al., 1996).

Abbildung 1: Relation zwischen NMDA-Rezeptor-Hypoaktivität und glutamaterger Hyperaktivität. (nach Konradi & Heckers, 2003)

Im Rahmen glutamatergen Dysfunktion sollte der Hippocampus erwähnt werden. So konnten Post-Mortem-Analysen schizophrener Patienten Auffälligkeiten von Glutamatrezeptoren innerhalb des Hippocampus zeigen. Die Befunde reichen von verminderter Expression einer oder mehrerer Unterheiten des AMPA-, Kainat- oder aller drei inotropen Glutamat-Rezeptoren,

einschließlich des NMDA-R bei schizophrenen Patienten (Meador-Woodruff, Healy, 2000, Harrison, Law, Eastwood, 2003).

1.2.3.2 Dopaminhypothese

Die Annahme, dass Dopamin eine zentrale Rolle in der Pathophysiologie schizophrener Erkrankungen spielt, ging im Wesentlichen auf den antipsychotischen Effekt antidopaminergere Antipsychotika und die Auslösung schizophrenie-ähnlicher psychotischer Symptome durch Amphetamin zurück, welches eine erhöhte Dopaminausschüttung bewirkt (Angrist, Van Kamen, 1984). Darauf aufbauend entwickelte H. Snyder (1976) die sog. Dopaminhypothese der Schizophrenie. Von den verschiedenen Pfaden der dopaminergen Transmission sind der nigrostriatale sowie der tuberoinfundibuläre Pfad für die Nebenwirkungen antidopaminergere Antipsychotika verantwortlich, während dem mesolimbischen und der mesokortikalen Pfad eine Rolle in der Pathophysiologie zukommt. Der mesolimbische Pfad projiziert von der ventralen tegmentalen Area (VTA) des Mittelhirns zu Strukturen des limbischen Systems. Der mesokortikale Pfad umfasst Projektionen von der VTA zu kortikalen Regionen, insbesondere orbitofrontal und medial präfrontal, sowie zum cingulären Cortex. Da zwischen dem mesolimbischen und dem mesokortikalen Pfaden überlappende Projektionen bestehen, werden sie auch als meso-cortico-limbisches Dopaminsystem bezeichnet. Dieses spielt eine Rolle in der Regulation von Motivation, Aufmerksamkeit und Belohnungsprozessen. In der mittlerweile durch Davis, Kahn und Davidson (1991) modifizierte Fassung der Dopaminhypothese geht man von einer exzessiven Neurotransmission im Bereich des mesolimbischen Dopaminsystems als Ursache der Positivsymptomatik aus, während die verringerte dopaminerge Transmission im Bereich des mesokortikalen Pfades vorwiegend für Negativsymptome und kognitive Defizite verantwortlich ist (Abi-Dargham, Laruelle, 2005).

Die Zusammenschau aller oben genannten Ergebnisse genetischer, anatomischer und pharmakologisch-klinischer Untersuchungen unterstützt die Hypothese einer glutamatergen Dysfunktion im Zentrum der Pathophysiologie der Schizophrenie. Die beschriebenen Störungen der dopaminergen Transmission (mesokortikales Dopamindefizit und mesolimbischer Dopaminexzess) konnten im Tiermodell mit einer längerwährenden Verabreichung von NMDA-Rezeptor (NMDAR)-Antagonisten induziert werden (Laruelle, Kegeles, Abi-Dargham, 2003) was die Vermutung nahe legt, dass die Glutamathypothese einer dopaminergen Dysfunktion zugrunde liegen kann. Die Glutamathypothese schließt die früher favorisierte Dopaminhypothese, die sich im Wesentlichen auf die antipsychotische Wirkung antidopaminerg Antipsychotika stützt (s. o.), jedoch keinesfalls aus. Ganz im Gegenteil, es bestehen vielfältige Interaktionen beider Systeme, besonders zwischen den dopaminergen D1- und NMDA-R (Paz et al., 2008, Hong et al., 2005) und es liegt nahe, dass die Imbalancen beider Neurotransmittersysteme sich gegenseitig bedingen.

1.2.4 Strukturelle Auffälligkeiten

Im Jahr 1976 konnten Johnstone et al. bei schizophrenen Patienten ein vergrößertes Ventrikelvolumen im Vergleich zu gesunden Kontrollen nachweisen. Interessanterweise war dieser Befund mit kognitiven Defiziten assoziiert, was dazu führte, dass der Untersuchung und Interpretation cerebraler, struktureller Auffälligkeiten insbesondere hinsichtlich der Pathogenese der Schizophrenie zunehmend Aufmerksamkeit geschenkt wurde. Die Erweiterung, v. a. der lateralen aber auch des dritten Ventrikels konnte zwar bestätigt werden (Shenton et al., 2001), wenngleich die Veränderungen als subtil gelten (für eine Übersicht siehe Chua, McKenna, 1995). Zudem konnte gezeigt werden, dass die Ventrikelerweiterung den klinischen Symptomen vorausgeht und im Krankheitsverlauf keine Progredienz zeigt. Diese Erkenntnisse unterstützen das developmentale Modell der Schizophrenie (Roberts, Bruton, 1990).

Ein weiterer Befund, der in Post-Mortem-Analysen bestätigt werden konnte, ist eine Reduktion des Gewichts schizophrener Gehirne um ca. 6 %, des Volu-

mens, sowie der anterior-posterioren Länge im Vergleich zu Kontrollen. Neben dem Frontallappen (Andreasen et al., 1986) sind vor allem der mediale Temporallappen mit parahippocampalem Gyrus, Hippocampus und Amygdala betroffen von einer Volumenreduktion betroffen (McCarley et al., 1993, Shenton et al., 1992).

In pathologisch-histologisch Untersuchungen konnten Kovelman und Scheibel (1984) erstmals eine Dysorganisation hippocampaler Pyramidenzellen nachweisen, wobei dieser Befund durch die selbe Arbeitsgruppe (Altshuler et al., 1987, Conrad et al., 1991) sechs bzw. zehn Jahre später zunächst nicht repliziert und später dann wieder erneut bestätigt werden konnte. Weitere histologisch-pathologische Untersuchungen deuteten auf eine reduzierte Anzahl an Neuronen im Hippocampus (Falkai, Bogerts, 1986, Jetse, Lohr, 1989) und im entorhinalen Kortex als Teil des parahippocampalen Gyrus (Falkai, Bogerts, Rozumek, 1988, Jakob, Beckmann, 1986) sowie auf kleinere hippocampale Neuronenzellkörper hin. Jedoch konnten diese Befunde in späteren Studien nicht repliziert werden. Als Ursache für die widersprüchlichen Befunde kommen neben der Heterogenität der Erkrankung auch die geringe Anzahl der pro Studie untersuchten Patienten in Frage. Neuere und größer angelegte MRI-Studien, wie jene von Velakoulis et al. (2006), die einmal mehr eine bilaterale, hippocampale Volumenminderung bei 89 chronisch schizophrenen Patienten nachweisen konnte, deuten wiederum auf die entscheidende Rolle des Hippocampus für Ätiologie und Pathogenese der Schizophrenie hin. Wang et al. (2008) konnten kürzlich in einer ebenfalls groß angelegten Studie über einen Beobachtungszeitraum von zwei Jahren eine fortschreitende Veränderung der Hippocampus-Amygdala Formation bei 56 schizophrenen Patienten feststellen. Jene Areale, welche direkte exzitatorische Projektionen des Kortex empfangen, darunter der Hippocampus, zeigten progressive Veränderungen in Struktur und Volumen, was die Vermutung nahe legt, dass synaptische Signaltransduktion auch für strukturelle Auffälligkeiten eine wichtige Rolle spielt.

Weitere subkortikale Strukturen, wie der Thalamus und die Basalganglien scheinen bei schizophrenen Patienten ebenfalls alteriert zu sein (McCarley et al. 1999, Shenton et al., 2001).

Neuroanatomische Auffälligkeiten finden sich auch in kortikalen Strukturen, dem Temporallappen und dem Frontallappen, besonders dem dorsolateralen präfrontalen Cortex (DLPFC) (Weinberger et al., 1992). In vivo MRI-Studien konnten eine Volumenreduktion im Frontallappen nachweisen (Andreasen et al., 1986). Da die Befunde zum Frontalhirn schizophrener Patienten größtenteils auf funktionell bildgebenden Untersuchungen basieren, soll darauf später detaillierter eingegangen werden.

1.2.5 Neuronale Entwicklungsstörungen

Viele Charakteristika der neuroanatomischen Auffälligkeiten bei schizophrenen Patienten deuten auf einen neurodevelopmentalen Defekt hin, der schließlich zu einer bleibenden Läsion führt (Weinberger, 1987, Crow, 1990, Crow et al., 1989). Die beispielsweise oben bereits beschriebene abnorme Zytoarchitektur kann Folge gestörter Migration von Neuronen sein. Diese Neuronen, welche sich folglich nicht in ihrer vorgesehenen Lokalisation befinden, können Funktionsdefizite aufweisen oder gar untergehen, was sich in defizitärer Funktion oder Veränderung in Größe und Dichte der Neurone widerspiegelt, wie sie bei schizophrenen Patienten beschrieben wurde (s. o.). Einen weiteren Aspekt, der vor allem auf MRI- und CT-Untersuchungen beruht und die These eines neurodevelopmentalen Defektes unterstützt, ist die Betonung der linken Hemisphäre bezüglich Volumenreduktion und anderer anatomischen Auffälligkeiten (für eine Übersicht siehe Czernansky, Bardgett, 1998), da die linke Hemisphäre einer längeren Entwicklungsperiode unterliegt, in der sie schädigenden Einflüssen ausgesetzt sein kann. Allerdings konnte dieses Muster nicht immer bestätigt werden und findet sich teilweise auch bei gesunden Probanden (Giedd et al., 1995).

Weitere Unterstützung erfährt das neurodevelopmentale Modell durch prä- und perinatale Umweltfaktoren, die in der fetalen Gehirnentwicklung Einfluss nehmen. Dazu gehören mütterliche Hypoalimentation im ersten Trimenon (Susser et al., 1996), mütterliche Influenza-Infektion (Mednick et al., 1998), Rhesus- bzw. ABO-Blutgruppenunverträglichkeit (Hollister, Laing, Mednick et al., 1996) sowie perinatale Komplikationen, die mit Anoxie des Neugeborenen einhergehen (Cannon et al., 1999).

1.2.6 Umwelteinflüsse

Hinsichtlich der Umwelteinflüsse, die in der Pathophysiologie der Schizophrenie eine Rolle spielen, sollte man die peri- bzw. postnatalen Einflüsse von jenen unterscheiden, die erst im weiteren Lebensverlauf einwirken. Erstere unterstützen die Vorstellung eine neurodevelopmentalen Störung als einen pathophysiologischen Mechanismus der Schizophrenieentstehung, da sie in der Entwicklungs- und Migrationsphase der Neuronen Einfluss nehmen, und wurden bereits erläutert. Zu den Einflüssen, welche jenseits der Prä- und Perinatalperiode relevant werden, zählen belastende Veränderungen des täglichen Lebens, sog. „Life Events“, wie eine Scheidung oder Arbeitsplatzverlust. Aber auch längerandauernde psychosoziale Belastungsfaktoren, wie fortwährende körperliche Misshandlung oder schwere finanzielle Probleme können entsprechend dem o. g. Vulnerabilitäts-Stress-Modell die Prädisposition hinsichtlich einer schizophrenen Erkrankung erhöhen oder aber auf dem Boden einer Vulnerabilität zum Krankheitsausbruch führen. Interessanterweise haben psychosoziale Faktoren auch Einfluss auf den Krankheitsverlauf bzw. die Rezidivrate. Patientenfamilien, in denen abnorme Kommunikationsformen herrschen, starke Kritik geübt wird oder intensiver Austausch von Emotionen stattfindet (sog. „high-expressed-emotions“-Familien), erhöhen vermutlich durch vermehrten psychosozialen Stress die Wahrscheinlichkeit für ein Rezidiv des Patienten. Im Gegenzug kann aber auch ein besonders reizarmes Umfeld die Ausbildung eines Residualsyndroms begünstigen (Ebert, 2005).

1.3 Schizophrenie und Kognition

1.3.1 Kognitive Defizite bei Schizophrenie

Wenngleich kognitive Störungen bei schizophrenen Patienten seit Anfang des 20. Jahrhunderts beschrieben wurden, werden sie erst in den letzten Jahren als Kerndefizit der Erkrankung betrachtet und die Schwere ihrer Ausprägung als Prädiktor für den Krankheitsverlauf erachtet. Zu den kognitiven Aspekten, die bei Schizophrenie vorwiegend beeinträchtigt sind, gehören Aufmerksamkeit, exekutive Funktionen, verbales Gedächtnis und das Arbeitsgedächtnis. Keefe et al. (2006) konnten zeigen, dass Patienten, die gemäß COPS (Criteria of Prodromal States) als Risikopatienten hinsichtlich der Entwicklung einer Schizophrenie betrachtet wurden, in neurokognitiven Untersuchungen, die Aufmerksamkeit, verbales Gedächtnis, Arbeitsgedächtnis und Informationsverarbeitung mit einschlossen, schlechter abschnitten als gesunde Probanden und besser als Ersterkrankte. Interessanterweise waren die Ergebnisse jener Risikopatienten, die später eine manifeste Psychose entwickelten, signifikant schlechter als die Ergebnisse derer, die keine Psychose entwickelten. Neurokognitive Beeinträchtigungen scheinen demnach früh im Krankheitsverlauf aufzutreten und stellen einen Prädiktor für zukünftige Entwicklung einer Psychose dar. Kognitive Defizite können also als potentieller Vulnerabilitätsmarker gesehen werden, der ein Erkrankungsrisiko mitbedingen kann. Sie könnte jedoch darüber hinaus auch eine Bedeutung als endophänotypischer Marker zukommen. In diesem Sinne wären kognitive Defizite ein endogenes, charakteristisches Merkmal der Erkrankung, welches genetisch beeinflusst wird. Diese Annahme unterstützen gezielte Untersuchungen schizophrener Patienten, deren gesunder, erstgradiger Angehörige, die zu 50 % gleiches Erbgut besitzen sowie gesunder Kontrollprobanden. So konnten Klemm et al. (2006) bei Geschwistern und gesunden Kindern schizophrener Patienten Defizite in neuropsychologischen Tests beobachten, die zahlreiche kognitive Aspekte testen. In ähnlicher Weise

konnten weitere Auffälligkeiten bei gesunden Angehörigen schizophrener Patienten gefunden werden, die Aufmerksamkeit, Gedächtnis und exekutive Kontrolle betreffen und so das Endophänotypenkonzept unterstützen (Cornblatt, Keilp, 1994, Faraone et al., 1995, Ma et al., 2007). Faraone et al. (2005) konnten darüber hinaus zeigen, dass die neuropsychologischen Defizite der gesunden Angehörigen an Schwere zunehmen, sofern es mehr als einen erkrankten Verwandten ersten Grades in der Familie gibt. Die Autoren gehen demzufolge von mehreren Vulnerabilitätsgenen aus, die in Abhängigkeit von der Anzahl betroffener Gene die Prädisposition für die Krankheit erhöhen.

1.3.2 Arbeitsgedächtnis

1.3.2.1 Konzept, Bedeutung und Untersuchung

Zahlreiche Studien, darunter ausführliche Metaanalysen (Goldmann-Rakic, 1994, Lee, Park, 2005) weisen darauf hin, dass bei schizophrenen Patienten das Arbeitsgedächtnis im Vergleich zu anderen kognitiven Funktionen besonders ausgeprägte Funktionseinbußen aufweist. Das von Baddeley (1986, 1992, 2000, 2003) konzeptualisierte Arbeitsgedächtnis dient der Encodierung von Wahrnehmungsinhalten unterschiedlicher Modalitäten, deren kurzfristiger Speicherung sowie Manipulation und Wiederabrufung bei Bedarf. Es zeichnet sich durch eine verhältnismäßig geringe Kapazität aus und die gespeicherten Informationen sind lediglich von vorübergehender Relevanz. Dies zusammengekommen zeigt, dass das Arbeitsgedächtnis eine Rolle in einem kontinuierlichen Informationsverarbeitungsprozess spielt.

Ursprünglich wurde das Arbeitsgedächtnis in drei **Subsysteme** unterteilt. Darunter die phonologische Schleife („phonological loop“) für die Speicherung verbaler Informationen, die man weiter in einen Speicher zur Erfassung („phonological store“) und einem System zur aktiven Wiederholung phonologischer Informationen („articulatory rehearsal mechanism“) gliedert. Daneben unterscheidet man den visuell-räumlichen Skizzenblock („visuo-spatial sketchpad“) für nonverbale, visuell-räumliche Informationen und die „zentrale Exeku-

tive“ („central executive“), eine übergeordnete Kontrollinstanz, die regulierende und koordinierende Funktionen inne hat. Später fügte Baddeley noch den „episodischen Speicher“ („episodic buffer“) als vierte Komponente hinzu, welche die Interaktion zwischen Arbeitsgedächtnis und Langzeitgedächtnis erklärt und das Bindeglied zwischen verbaler und räumlicher Domäne einerseits sowie zwischen episodischem Gedächtnis und zentraler Exekutive andererseits darstellt (Baddeley, 2000). Bei schizophrenen Patienten scheint vor allem die visuell-räumliche Domäne beeinträchtigt zu sein.

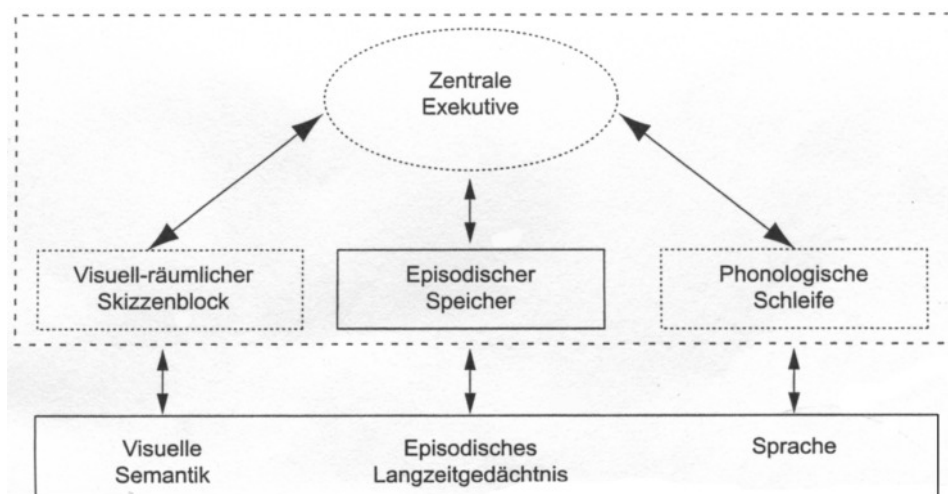


Abbildung 2: Schematische Darstellung des Arbeitsgedächtnisses nach Baddeley (2000). (nach Kircher & Gauggel, 2001)

Das Arbeitsgedächtnis ist in eine Vielzahl von Aufgaben involviert und wird als grundlegende Bedingung fast aller höheren kognitiven Leistungen des Menschen angesehen. So können eine Reihe von **Verhaltensphänomenen**, die bei schizophrenen Patienten manifest werden, auf Defizite in der Arbeitsgedächtnisleistung zurückgeführt werden. Dazu gehören Störungen des zielgerichteten und adäquaten Verhaltens, der Handlungsplanung und Entscheidungsfindung, desorganisierte Kognitionsprozesse, sowie charakteristische formale Denkstörungen (Kircher, Gauggel, 2008).

Kebir und Tabbane (2008) konnten in einer Metaanalyse zeigen, dass nahezu sämtliche **Studien** zur Untersuchung der Arbeitsgedächtnisleistung schizophrener Patienten Defizite in allen Subsystemen des Arbeitsgedächtnisses demonstrieren, unabhängig von den jeweils verwendeten kognitiven Tests und

Messmethoden. Weiterhin konnten sie feststellen, dass Defizite in Denkprozessen, die das Arbeitsgedächtnis involvieren, früh im Verlauf der Erkrankung präsent sind und konsistent mit dem Vorhandensein von Negativsymptomen sowie niedrigem Bildungsniveau in Verbindung gebracht werden konnten. Bildgebende Verfahren konnten die Einbeziehung des DLPFC während Aktivierung des Arbeitsgedächtnisses darstellen, wenngleich die Mehrzahl, jedoch nicht alle Studien ein funktionelles Defizit dieses Areals verzeichnen konnten (Kebir, Tabbane, 2008).

Arbeitsgedächtnisdefizite beschränken sich nicht nur auf Schizophrenien im engeren psychopathologischen Sinne, denn sie lassen sich reliabel auch bei anderen Erkrankungen des schizophrenen Formenkreises, wie der schizophreniformen, schizoaffektiven oder schizotypen Störung aufzeigen (Wolf, Vasic, Walter, 2006(a)). Aber auch für diese erweiterte Gruppe von Erkrankungen sind sie jedoch nicht spezifisch, da sie sich auch bei anderen psychischen Störungen, wie Depression oder Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätssyndrom (ADHS) nachweisen lassen.

Gemäss der Vielfalt an Funktionen, die dem Arbeitsgedächtnis zugeschrieben werden, sind eine Reihe von Aufgaben entwickelt worden, die deren **Untersuchung** dienen sollen. Hierbei stehen weniger die von Baddeley konzeptualisierten Module im Vordergrund, als vielmehr die einzelnen Funktionen des Arbeitsgedächtnisses, wie Encodierung, Aufrechterhaltung und Manipulation. Diejenigen Aufgaben, bei denen der Manipulationsprozess im Vordergrund steht, können laut Fletcher und Henson (2001) grob in fünf Gruppen unterteilt werden. Dazu werden die Wiederanordnungs- („recording-tasks“), Generierungs- („generation tasks“), Doppelbelastungs- („dual tasks“), Planungs- („planning-tasks“) und die N-Back-Aufgaben gezählt. Die Wortflüssigkeitsaufgabe (verbal fluency test, VFT) zählt dabei zu den Generierungsaufgaben.

1.3.2.2 Funktionelle Neuroanatomie des Arbeitsgedächtnisses

Wie Baddeley (1986) bereits vermutete, steht der präfrontale Kortex in Bezug auf die hirnanatomische Lokalisation des Arbeitsgedächtnisses im Zentrum der Betrachtung. Für differenziertere Angaben muss man das Arbeitsgedächtnis sowohl als Gesamtheit der einzelnen Funktionen wie Encodierung, Aufrechterhaltung, Manipulation und Abruf, als auch unter dem Modellaspekt mit seinen Subsystemen betrachten. Als weitgehend konsistenter Befund kann gelten, dass inferiore, frontale Areale der linken Hemisphäre eine bevorzugte Rolle bei der Encodierung spielen, während dem tiefen frontoopercularen Cortex, v. a. der rechten Hemisphäre eine wichtige Rolle beim Abruf von Informationen zukommt (Wolf, Vasic, Walter, 2006(b)). Währenddessen werden die neurofunktionellen Korrelate exekutiver Be- und Verarbeitungs- bzw. Manipulationsprozesse kontrovers diskutiert. Es wurde zwar eine funktionelle Zweiteilung des lateralen frontalen Cortex (LFC) in einen ventralen Anteil (VLFC) für die Aufrechterhaltung von Information und einen dorsalen Anteil (DLFC) für Manipulationsprozesse beschrieben (D'Eposito et al., 1999, Owen, 1997), jedoch wurde diesbezüglich bisher kein abschließendes Urteil getroffen.

Als Trennungslinie zwischen dem DLFC und dem anterioren ALFC wird in der Literatur häufig der Sulcus inferior angegeben. Damit entsprechen die dorsalen Anteile ungefähr dem Gyrus frontalis medialis und superior bzw. Brodmann Arealen 9 und 46. Die ventralen Anteile des PFC beim Menschen werden hingegen häufig dem Gebiet des Gyrus frontalis inferior bzw. Brodmann Arealen 47, 44 und 45 zugeordnet. Der APFC ist willkürlicher definiert als das frontopolare Areal vor der äußersten Erstreckung des Gyrus frontalis inferior (Fletcher, Henson, 2001).

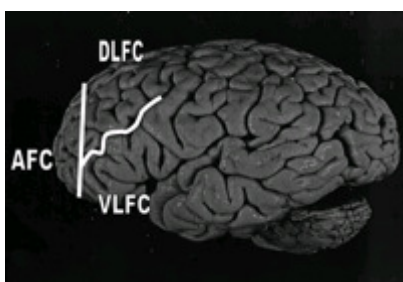


Abbildung 3: Menschliches Gehirn in der Ansicht von links. Unterteilung des lateralen frontalen Cortex. Die Grenze zwischen VLFC und DLFC wird durch den inferioren frontalen Sulcus gebildet. Die posteriore Grenze des AFC wird durch eine vertikale Linie markiert, die durch das vordere Ende des inferioren frontalen Gyrus gezogen wird. (nach Fletcher & Henson, 2001)

Als weitgehend gesichert gelten hingegen die von Gruber und von Cramon (2003) zusammengestellten neuroanatomischen Korrelate der Aufrechterhaltung von Information. Dazu zählen die o. g. phonologische Schleife mit phonologischem Speicher und artikulatorischem sowie nicht- artikulatorischem „Rehearsal“, sowie das visuell-räumliche Arbeitsgedächtnis. Das artikulatorische Rehearsal stützt sich hierbei auf ein Netzwerk linkshemisphärischer Areale (Broca Areal, linker Gyrus präcentralis, linker intraparietaler Kortex), dem der rostralen Supplementär-motorischen Area (SMA) und dem kontralateralen, rechten Cerebellum. Das nicht artikulatorische Rehearsal wird hingegen durch ein bilaterales Netzwerk dargestellt, welches insbesondere den anterioren präfrontalen Kortex entlang des Sulcus frontalis intermedius sowie den Lobus parietalis inferior einschließt. Das visuell-räumliche Arbeitsgedächtnis wird durch bilaterale Netzwerke repräsentiert, die den posterior-präfrontalen Cortex (präfrontales Augenfeld) und den intraparietalen Cortex einschließen (Gruber, von Cramon, 2003).

Es muss jedoch betont werden, dass exakte Zuordnung von Funktionen zu bestimmten Hirnstrukturen mit Vorsicht zu betrachten sind. Strikte Struktur-Funktionsbeziehungen lassen sich im menschlichen Gehirn allgemein nur schwer nachweisen, da einzelne Gehirnregionen an verschiedenen kognitiven Funktionen teilzuhaben scheinen (Duncan, Owen 2000, Gruber u. Goschke 2004) und andererseits gesonderte Funktionen aus der Interaktion multipler Hirnareale in weit verzweigten Netzwerken resultieren (Gruber, von Cramon 2003, Gruber, Goschke 2004). In Anbetracht dieser Erkenntnis muss man Arbeitsgedächtnisfunktionen bezüglich der funktionellen Interaktion verschiedener Gehirnareale untersuchen.

1.3.3 Funktionelle Bildgebung

1.3.3.1 Hypofrontalität

Die funktionelle Bildgebung, die durch die Darstellung des cerebralen Blutflusses (CBF) bzw. metabolischer Veränderungen die Untersuchung von Aspekten der Hirnfunktion ermöglichen, bestätigen cerebrale Auffälligkeiten bei schizophrenen Patienten. Die funktionelle Bildgebung hat ihren Ursprung 1974, in der Messung des regionalen CBF mittels Xenon durch Ingvar und Franzen, die den Begriff der Hypofrontalität prägten, nachdem sie bei Schizophrenen unter Ruhebedingungen eine absolute Reduktion des regionalen CBF in frontalen im Vergleich zu posterioren Hirnregionen feststellen konnten. Diese cerebrale Aktivitätsminderung des Frontalkortex, gilt als wesentlicher und häufig bestätigter Befund der funktionellen Bildgebung in der Schizophrenieforschung, der sich besonders im dorsolateralen präfrontalen Cortex (DLPFC) und im anterioren cingulären Cortex (ACC) manifestiert (Ehlis et al., 2007, Weinberger, Berman, Zek, 1986).

Nicht zuletzt aufgrund der Beobachtung, dass das Hypofrontalitätskonzept unter Ruhebedingung jedoch häufig auch nicht reproduziert werden konnte (Paredella et al., 1994, Ebmeier et al., 1995), ging man zunehmend davon aus, dass es sich um ein eher **funktionelles Defizit** handelt, welches unter Ruhebedingungen weniger stark ausgeprägt und folglich schwerer nachzuweisen ist. Um Hypofrontalität demnach zuverlässig nachweisen zu können, empfiehlt es sich, während der Untersuchung funktionelle Anforderungen an präfrontale Hirnregionen zu stellen. Dies geschieht vornehmlich durch Aufgaben, die das Arbeitsgedächtnis beanspruchen, da sich dieses hirnanatomisch unter anderem über den präfrontalen Kortex (PFC) erstreckt (s. o). Auch die Komplexität der verwendeten Paradigmen in Relation zur Arbeitsgedächtnisleitung spielt in diesem Zusammenhang eine Rolle. Im Hinblick auf die Abhängigkeit zwischen Arbeitsgedächtnisleistung und der Aktivität der entsprechenden Hirnregionen wurde durch Manoach (2003) folgendes Modell postuliert: Hirnaktivierung, die

mit kognitiven Leistungen in Zusammenhang steht, steigt parallel zur Zunahme der Aufgabenanforderung an, bis eine individuelle Kapazitätsgrenze erreicht ist. Bei Überschreitung dieser verringert sie sich wieder. Hieraus ergibt sich eine sog. inverse U-Funktion. Man nimmt an, dass bei schizophrenen Patienten das neurofunktionelle System pathologisch eingeschränkt ist, bildlich als eine nach links verschobene U-Kurve dargestellt (Abbildung 4).

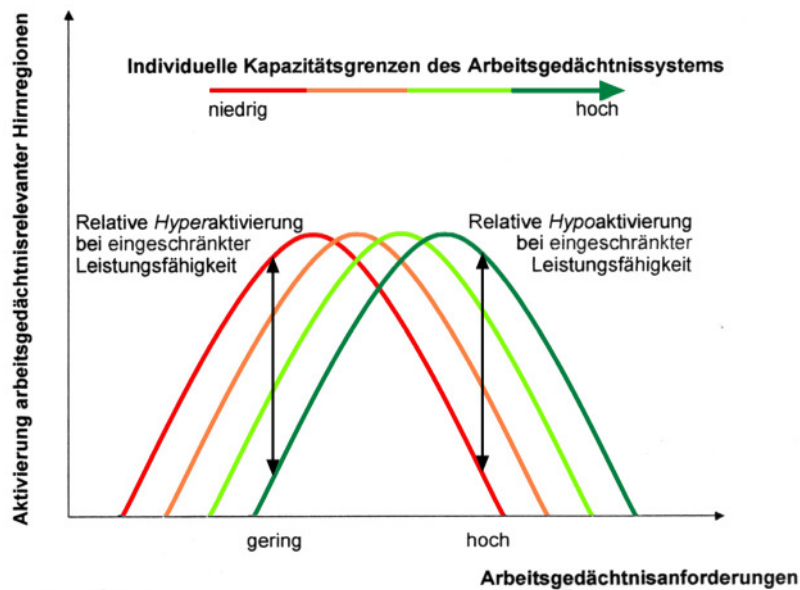


Abbildung 4: Hypothetisches Modell zum Zusammenhang zwischen kognitiver Leistungsfähigkeit im Verhältnis zu aktuellen Anforderungen und der Signalphysiologie in aufgabenrelevanten neurofunktionellen Systemen. (nach Kircher & Gauggel, 2001)

Hierdurch würden sich bei geringen Anforderungen im Vergleich zu gesunden Kontrollen zunächst Hyperaktivierungen ergeben. Bei sehr hohen Anforderungen würden sich bei Patienten als Ausdruck einer überschrittenen Leistungsgrenze Hypoaktivierungen feststellen lassen, wohingegen gesunde Probanden bei denselben Ansprüchen Hyperaktivierung zeigen würden. Inwieweit diese Hypothese den Zusammenhang zwischen kognitiver Leistung und Signalphysiologie beschreibt, muss in Zukunft noch weiter evaluiert werden. Das Modell könnte jedoch erklären, weshalb bei Schizophrenen unter kognitiver Beanspruchung trotzdem keine Hypofrontalität, sondern gar verminderte Aktivierung im PFC detektierbar ist, wie bei der Arbeitsgruppe von Frith et al. (1995) beschrieben: Sie konnten in einer PET-Untersuchung

während des VFT keine Einbußen in der Aktivierung des DLPFC bei schizophrenen Patienten im Vergleich zu Gesunden feststellen, sondern tendenziell sogar eine höhere Aktivierung. Auffallend war weiterhin, dass die, mit der Aktivierung des DLPFC einhergehende Deaktivierung des superioren temporalen Gyrus bei schizophrenen Patienten ausblieb. In einigen Fällen war sogar eine erhöhte Aktivität zu verzeichnen. Frith et al. (1995) führten diese Beobachtung auf eine gestörte Konnektivität zwischen frontalem und temporalem Lappen zurück, die eine Disinhibition des temporalen Kortex zur Folge hat. Wie bereits angesprochen, muss man davon ausgehen, dass die Arbeitsgedächtnisfunktion einem weit verzweigten neuronalen Netzwerk unterliegt und nicht ausschließlich dem präfrontalen Cortex zuzuschreiben ist.

Einen weiteren Grund für die diskrepanten Befunde bezüglich der Hypofrontalität stellt die grundsätzliche Heterogenität der Erkrankung dar. So konnte in einigen Studien eine Assoziation von Negativsymptomen mit einer Hypofrontalität, besonders des DLPFC gezeigt werden (Andreasen et al., 1992). Wenngleich biochemische, molekulare und auch neuropsychologische Untersuchungen sowie Post-Mortem-Analysen zahlreiche Auffälligkeiten im PFC bestätigen, und eine frontale Minderaktivierung auf neurophysiologischer Ebene nahe legen, wird das Hypofrontalitätskonzept nach wie vor kontrovers diskutiert (Manoach et al., 1999, Ramsey et al., 2002). Sicherlich stellt das Konzept kein spezifisches Charakteristikum schizophrener Erkrankungen dar, so kann man Hypofrontalität auch bei Patienten nachweisen, die an Alzheimer oder Depression leiden (Galynker II et al., 1998, Galynker II et al., 2000). Auch spielen kofundierende Faktoren, wie die antipsychotische Medikation eine Rolle. Es konnte zwar gezeigt werden, dass Hypofrontalität auch bei ersterkrankten Patienten ohne antipsychotische Medikation nachweisbar war (Andreasen et al., 1992, Biver et al., 1995, Buchsbaum et al., 1992) und somit nicht als Medikamenteneffekt zu erachten ist, jedoch ist der Einfluss von Antipsychotika auf vorbestehende Hypofrontalität nicht abschließend geklärt.

1.3.3.2 Funktionelle Nahinfrarotspektroskopie (fNIRS)

Die funktionelle Nahinfrarotspektroskopie (fNIRS) ist zu einer beliebten Methode der funktionellen Bildgebung geworden und kann bei bestimmten Fragestellungen andere bildgebende Verfahren, wie Positronen-Emissions-tomographie (PET), Einzelphotonen- Emissions-Tomografie (SPECT) und funktionelle Magnetresonanztomographie (fMRI) teilweise ablösen (Fallgatter et al., 2004, Strangmann, Boas, Sutton, 2002). Die fNIRS-Untersuchung ist weniger anstrengend, was bei psychiatrischen Patienten besonders während akuter Krankheitsphasen von großer Bedeutung ist. Des Weiteren ist die fNIRS weniger empfindlich gegenüber Bewegungsartefakten, benötigt keine aufwändigen technischen Geräte und keine Kontrastmittelinjektionen. fNIRS-Messungen gelten als ebenso reliabel wie andere bildgebende Verfahren (Plichta et al., 2006).

Die zugrundeliegende Idee der funktionellen Nahinfrarotspektroskopie ist, dass Licht im Nahinfrarotbereich (650 - 950 nm) durch die Schädelkalotte hindurch bis ca. 2 - 3 mm tief in das Hirngewebe vordringen kann, wo es im Wesentlichen von zwei Chromophoren absorbiert wird: Oxygeniertes (OxyHb) und deoxygeniertes Hämoglobin (HHb). Diese beiden Chromophoren unterscheiden sich bezüglich ihres Absorptionsspektrums; für HHb liegt es bei 760 nm, für OxyHb bei 910 nm. Als **theoretische Grundlage** der NIRS gilt die neurovaskuläre Kopplung. Sie besagt, dass an Orten vermehrter Neuronenaktivität der Sauerstoffverbrauch ansteigt, was zunächst zu einem Abfall von OxyHb bei gleichzeitigem Anstieg von HHb führt. Bereits nach wenigen Sekunden wird durch eine Zunahme des regionalen Blutflusses der initiale Sauerstoffverbrauch überkompensiert, so dass sich das Verhältnis von OxyHb und HHb umkehrt. Eine Konzentrationsänderung der absorbierenden Moleküle führt zu einer Intensitätsabschwächung des ausgesandten Nahinfrarotlichtes im Vergleich zum detektierten Licht nach der Gewebepenetration. Gemäß dem Lambert-Beer-Gesetz ist der Logarithmus dieser Intensitätsänderung (Extinktion) proportional zur Konzentrationsänderung der absorbierenden Moleküle, multipliziert mit dem spezifischen Extinktionskoeffizient des Absorbers „e“ und der Weglänge „d“:

$$E = -\log I_1/I_0 = e \times c \times d$$

Dieses ursprüngliche Gesetz ist streng genommen nur gültig für eine Küvette, deren durchdrungenes Gewebe homogen ist und in der keine Streuung des Lichtes stattfindet, bei der also die geometrische Weglänge gleich der optischen Weglänge ist. Für die Anwendung in der cerebralen Nahinfrarotspektroskopie muss dieses Gesetz folglich modifiziert werden. Für den Ausgleich der unterschiedlichen optischen Weglänge der Photonen wird der Faktor B in die Gleichung eingeführt, auch als „differentieller Pfadlängenfaktor“ („differential pathlength factor“, DPF) bekannt. Dem Signalverlust durch Streuung wird durch den additiven Term „G“ Rechnung getragen:

$$E = e \times c \times d \times B + G$$

Da aber lediglich die Konzentrationsdifferenz Δc gemessen wird, kann unter der Annahme konstanter Lichtstreuung, auf den Term „G“ verzichtet werden. Ebenso können andere absorbierende Gewebekomponenten, wie Wasser, Melanin und Lipide vernachlässigt werden, da auch ihr Einfluss konstant bleibt. (Villringer et al., 1993, Strangmann, Boas, Sutton, 2002). Da der unbekannt ist, werden alle errechneten Werte für OxyHb und HHb in der Einheit [mmol x mm] angegeben, also in Abhängigkeit von einem unbekanntem Pfadlängenfaktor.

Von den drei verschiedenen Formen optischer Messmethoden - zeitabhängig, frequenzabhängig und „continuous wave“ - eignet sich letztere am besten für funktionelle cerebrale Experimente (Strangmann, Boas, Sutton, 2002).

1.4 Physiologische Funktionen von NO im zentralen Nervensystem

1.4.1 Der Neurotransmitter NO und NO-Synthase

Als ein wichtiger second messenger des NMDA-Rezeptor (NMDA-R) gilt der atypische Neurotransmitter Stickstoffmonoxid (Nitric Oxide, NO), der sich gegenüber anderen Signalmolekülen des ZNS durch ein niedriges Molekulargewicht, seine hydrophobe Natur und eine niedrige Halbwertszeit von ca. fünf Sekunden bei einer hohen Diffusionskonstante auszeichnet (Ledo et al., 2005). NO wird im Gehirn vorwiegend durch die neuronale Isoform der NO-Synthasen (nNOS), NOS-I produziert, die in ca. 1 % aller Neurone gefunden werden kann. Durch die weite Verzweigung ihrer Axone und die Diffusionsfähigkeit von NO stehen jedoch weitaus mehr Neurone unter dem Einfluss von NO (Synder, Ferris, 2000). Neben seiner Funktion als Neurotransmitter spielt NO eine wichtige Rolle in der NMDA-vermittelten Langzeitpotentierung. Da eine Speicherung von NO in synaptischen Vesikeln aufgrund seiner Reaktionsfreudigkeit mit andern Molekülen nicht möglich ist, wird seine Freisetzung über die Syntheserate von NOS-I reguliert.

Die Enzymfamilie der NOS besteht aus drei Isoformen, NOS-I, -II und -III, die sich sowohl in zellulärer Lokalisation als auch Regulation und Kodierung durch unterschiedliche Gene unterscheiden. Der Ort der Erstentdeckung diente jeweils als Namensgeber. So findet man die sog. „neuronal“ NOS-I zwar vorwiegend in Neuronen, aber auch im Skelettmuskelzellen und pankreatischen Beta-Zellen. NOS-II, die initial in Makrophagen entdeckt wurde und sich durch ihre Induzierbarkeit auszeichnete, wurde als „immunologische“ bzw. „induzierbare“ Form der NOS bezeichnet, findet sich darüber hinaus aber auch in Mikrogliazellen und wurde bisweilen auch als konstitutionell exprimierte Form beschrieben. NOS-III wurde zunächst in Endothelzellen beschrieben und trägt daher auch den Namen „endotheliale“ NOS. NOS-I und -III benötigen zur

Aktivierung einen Anstieg des intrazellulären Calciums, das unter Bindung an Calmodulin eine Konformationsänderung desselben und damit schließlich die Bindung an NOS ermöglicht. NOS-II hat Calmodulin konstitutionell gebunden, und wird daher nicht über den zellulären Calciumspiegel, sondern vor allem durch Expression reguliert.

Die neuronale Isoform der NOS, das Enzym NOS-I ist über seine PSD 95/Discs large/Zona occludens (PDZ)-Domäne an den c-Terminus der NR2-Untereinheit des NMDA-R gebunden. Die Bindung von Glutamat an den NMDA-R führt zur Öffnung eines Ca^{2+} Ionenkanals. Die einströmenden Ca^{2+} Ionen bilden - unter Bindung von Calmodulin - den Ca^{2+} -Calmodulin-Komplex, der wiederum zur Aktivierung von NOS-I führt. NOS-I katalysiert die zweiseitige Oxidationsreaktion von L-Arginin und molekularem Sauerstoff zu NO und Citrullin, wobei Nicotinamiddinukleotidphosphat (NADPH) als Elektronendonator fungiert. Weitere Co-Faktoren sind hierbei Flavin-Adenin-Dinucleotid (FAD), Flavinmononucleotid (FMN), Tetrahydrobiopterin und Calcium/Calmodulin. NO diffundiert durch die Membran postsynaptischer Zellen und aktiviert dort, sowie auch in der Zelle, in der es synthetisiert wurde, die lösliche Guanylatcyclase (sGC), die wiederum GTP zu cGMP hydrolysiert. Im Detail steigert NO die katalytische Effizienz von sGC durch Interaktion mit der Häm-Gruppe dieses Enzyms, wodurch ein Häm-Nitrosyl-Addukt entsteht. cGMP vermittelt über die cGMP-abhängige Proteinkinase (PKG) die Phosphorylierung weiterer Proteine (Burstyn et al., 1995). NO reguliert außerdem in einer negativen feed-back-Schleife die NMDA-R-Funktion, indem es eine Schwefel-Gruppe des Cysteins in einer NMDA-R-Untereinheit nitrosyliert.

Beim Menschen finden sich die höchsten Aktivitätslevel von NOS im Cortex, im limbischen System, Striatum, Cerebellum und Hirnstamm, die nahezu alle auf die Aktivität von NOS-I zurückzuführen sind (Blum-Degen et al., 1999, Downen et al., 1999). Die Lokalisation von NOS bzw. NOS-I im ZNS deckt sich also mit Regionen, die für Pathophysiologie psychiatrischer Erkrankungen eine wichtige Rolle spielen.

1.4.1.1 Nitrosylierung

Die Nitrosylierung stellt neben der Phosphorylierung einen wichtigen post-translationalen Mechanismus zur Regulation von Proteinen dar. Die kovalente Bindung von NO an eine Thiol-Seitenkette eines Cysteinrestes ist ein wichtiger Bestandteil der ubiquitären NO-vermittelten zellulären Signaltransduktion und mindestens ebenso bedeutend wie die Aktivierung von sGC (Hess et al., 2005, Lipton et al., 2002). Zahlreiche Proteine, die in der Neurodegeneration eine Rolle spielen und auf diese Weise in die Pathogenese neuropsychiatrischer Erkrankungen involviert sind, werden durch NO nitrosyliert. Beispielsweise wird die Aktivierung oder Inaktivierung von Apoptose-vermittelnden Caspasen durch NO in Abhängigkeit von dessen Konzentration und des oxidativen Milieus komplex reguliert, wobei S-Nitrosylierung eine Rolle spielt (Chung et al., 2001). Die NO-vermittelte S-Nitrosylierung von Proteinen stellt neben der Regulation des neuronalen Zelltodes eine Möglichkeit für NO dar, außerhalb der Funktion als atypischer Neurotransmitter die neuronale Transmission zu beeinflussen. Dies geschieht durch Nitrosylierung von Monoamintransportern, welche die Verfügbarkeit der Monoamine Noradrenalin, Serotonin und Dopamin regulieren. Man geht von einer nitrosylierungs-vermittelten Hemmung der Monoamintransporter aus (Kiss, Vizi, 2001), was die Wiederaufnahme der entsprechenden Monoamine blockiert und zu deren vermehrter synaptischer Verfügbarkeit führt. Darüber hinaus trägt NO zur negativen Rückkopplung am NMDA-Rezeptor (NMDA-R) bei, indem es die in benachbarten Astrozyten lokalisierte Serin-Racemase nitrosyliert, was eine Inhibierung der enzymatischen Reaktion von L-Serin zu D-Serin, einem Co-Agonisten am NMDA-R zur Folge hat. Letztlich kann auch der NO-Rezeptor, die sGC, selbst nitrosyliert und somit gegenüber NO desensibilisiert werden (Sayed et al., 2008). Ein weiterer, alternativer und noch wenig erforschter Wirkungsmechanismus von NO stellt die genomischen Effekte auf Grundlage der Nitrosylierung dar. Hierbei wird durch Nitrosylierung von cAMP-response element-binding-Protein (CREB)-assoziierten, nukleären Proteinen und folgender Histon-Acetylierung eine, von der CREB-Phosphorylierung unabhängige Bindung von CREB an seine CRE-Bindungsstelle erreicht (Riccio

et al., 2006) und CREB kontrollierte Gene transkriptional reguliert. Außerdem ermöglicht die Nitrosylierung von Histon-Dacetylase 2 Chromatinremodelling (Nott et al., 2008). Mittels hemmender Nitrosylierung von Nuclear Factor kappa-B (NFκB) übt NO weitere Effekte auf DNA-Bindung, Promoter-Aktivität und Gentranskription aus (Marshall, Stamler, 2001).

1.4.1.2 Protein-Protein-Interaktionen

Die mit NOS interagierenden Proteine sind Isoform-spezifisch. Hier soll aufgrund ihrer Relevanz für psychiatrische Erkrankungen auf einige Proteine eingegangen werden, die mit NOS-I assoziiert sind. NOS-I zeichnet sich im Vergleich zu den anderen NOS-Isoformen durch eine sog. PSD-Disc large-Zona-occludens (PDZ)-Region aus, die eine der häufigsten Domänen für Protein-Protein-Interaktionen darstellt (Jemth, Gianni, 2007). Mittels PDZ-PDZ-Interaktionen bindet NOS-I an Post-synaptic-density (PSD)-93, PSD-95 und Carboxy-terminal-PDZ-ligand of nNos (CAPON), die wiederum an den NMDA-Rezeptor (NMDA-R) gebunden sind und somit die räumliche Nähe von NOS-I zum NMDA-R-vermittelten Ca^{2+} -Einstrom bzw. zum aktivierenden Ca^{2+} -Calmodulin-Komplex gewährleisten (Brenman et al., 1996). Für den o. g. nitrosylierungs-vermittelten negativen Feedback-Mechanismus am NMDA-R ist diese räumliche Nähe ebenfalls von Bedeutung. PSD-95, welches drei PDZ-Domänen besitzt, verbindet NOS-I außerdem mit dem Effektorprotein sGC (Burette et al., 2002), so dass der Ort der NO-Produktion auch dessen Wirkungsort entspricht, was vor dem Hintergrund der kurzen Halbwertszeit von NO sinnvoll erscheint. PSD-95 und PSD-93 wird eine Rolle in der Pathophysiologie der Schizophrenie beigemessen. So konnte eine signifikant veränderte Expression von PSD-93 und PSD-95 im anterioren cingulären Cortex (ACC) schizophrener Patienten festgestellt werden, die auf gestörte Translation bzw. beschleunigte Protein-Degradation zurückzuführen ist (Kristiansen et al., 2006). Das Adapterprotein CAPON kompetiert mit PSD-95 um die Bindung an NOS-I, so dass CAPON die Fähigkeit von NOS-I reguliert, mit PSD95-NMDA-R-Komplexen zu assoziieren (Jaffrey et al., 1998). Da

CAPON NOS-I mit zahlreichen anderen Proteinen verbindet und somit einen komplexen Einfluss auf NOS-I ausübt, wurde es in NOS-I-AP (NOS-I-Adaptor-Protein) umbenannt. Die NOS-I-AP-Gen-Region wurde in mehreren Studien hinsichtlich einer Assoziation mit Schizophrenie untersucht, was bisher jedoch widersprüchliche Befunde ergab (Fang et al., 2008, Xu et al., 2005, Kremeyer et al., 2009).

1.4.2 Das humane *NOS1*-Gen

Die wichtige Rolle von NOS-I in der Signaltransduktion des NMDA-R macht das zugrundeliegende Gen *NOS1* zu einem Kandidatengen von beachtlichem Interesse in der Erforschung des genetischen Risikos für Schizophrenie. Das für das Enzym NOS-I kodierende Gen *NOS1* befindet sich auf dem langen Arm von Chromosom 12 (12q24) (Kishimoto et al., 1992). Das menschliche *NOS1*-Gen zeichnet sich durch eine hohe genetische Komplexität aus und besitzt 28 Introns sowie 29 Exons, von denen das erste in mehreren Varianten vorkommt.

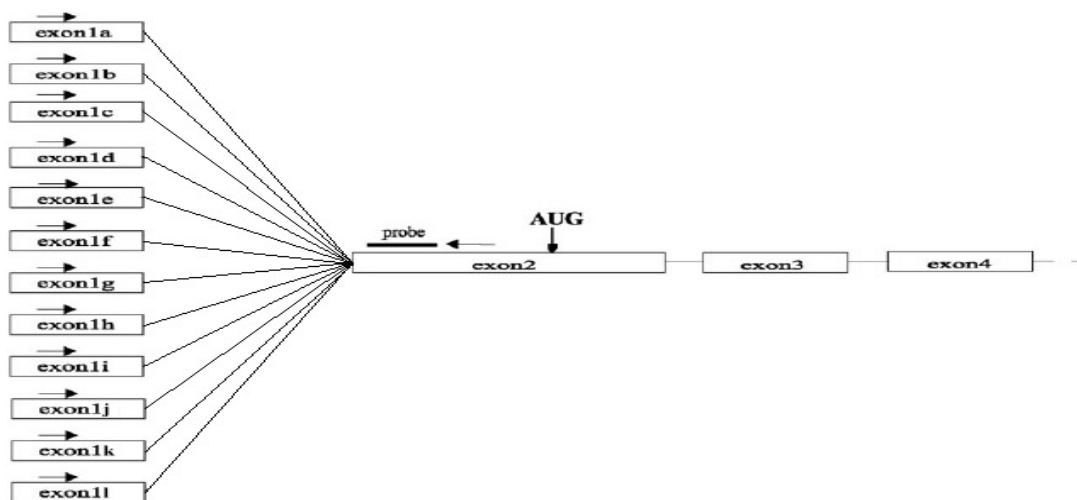


Abbildung 5: Alternative erste Exons von nNOS. (modifiziert nach Saur et al., 2002)

Es existieren 12 erste Exons, als Exon 1a-1l bezeichnet (wobei die Nomenklatur nicht einheitlich ist), die allerdings nicht translatiert werden, so dass Exon 2 das erste und Exon 29 das letzte translatierte Exon darstellt. Die kodierende Region, die folglich aus 28 konstanten Exons besteht, erstreckt sich

über 110 kb. Die 12 alternativen, untranslatierten Exons, -1a bis -1l, werden jeweils durch Promotoren gesteuert, wodurch die Transkription komplex reguliert wird. Die genomische Region, die diese alternativen Promotoren und Exons umfasst, ist 130 kb lang. Die alternativen ersten Exons besitzen eine gewisse Gewebsspezifität, so treten Exon 1c und Exon 1f am häufigsten im Gehirn auf.

1.4.2.1 *NOS1*-Exon 1f

Vor Exon 1f gibt es einen hochpolymorphen Tandemrepeat (variable number of tandem repeats, VNTR) in dessen mutmaßlicher Promoterregion. Ein VNTR beschreibt eine tandemartige Wiederholung einer kurzen DNA-Sequenz. Die kürzeste DNA-Sequenz besteht aus zwei Basenpaaren und wird Dinucleotidrepeat genannt. Der VNTR im Exon 1f von *NOS1* ist ein solcher Dinucleotidrepeat, der sich über eine Länge von 180 bis 210 bp erstreckt und 33 bp vor der TATA-Box zu finden ist. Es sind mindestens 18 verschiedene Allele bekannt. Betrachtet man die Verteilung der Allele, so fällt auf, dass sich bestimmte Häufigkeitsgipfel, sog. Cluster bei den Allelen 182/184, 192 sowie 200/202/204 befinden. Die ungleichmäßige, sog. „bimodale“ Verteilung spricht für eine funktionale Relevanz und/oder evolutionären Druck auf diesen Polymorphismus. Da nur die Hälfte der Allele mit einer Häufigkeit von >1 % auftritt, wird der *NOS1*-Exon 1f-VNTR in kurze (180 - 196) und lange Allele (198 - 210) unterteilt (Reif et al., 2006).

1.4.2.2 *NOS1*-Exon 1c

Im Promoterbereich des Exon 1c befinden sich drei Polymorphismen, bei denen es sich um Einzelbasenaustausche (single nucleotide polymorphism, SNP) handelt. In dieser Arbeit soll der SNP untersucht werden, welcher 84 bp vor Beginn des alternativen Exon 1c liegt (rs41279104). Er weist entweder die Base Adenin „A“ oder Guanin „G“ auf, wobei das A-Allel die Transkription von *NOS1*-Exon 1c bei in vitro Modellen um 30 % vermindert (Saur et al., 2004). *NOS1*-

Exon 1c wird im frontalen Kortex exprimiert, wo *NOS1* auch in GABA-ergen Neuronen vorkommt. Außerdem wird *NOS1*-Exon 1c im Nucleus caudatus, im Putamen und im Hippocampus exprimiert, wobei die höchsten Expressionsraten im Putamen und Hippocampus zu verzeichnen sind. Wichtig ist in diesem Zusammenhang, dass im Hippocampus NO als wichtigster second messenger des NMDA-Rezeptors gilt. Die verminderte *NOS1*-Exon 1c-Expression, die durch das A-Allel vermittelt wird, könnte für gestörte hippocampale glutamaterge Signaltransduktion mitverantwortlich sein, weshalb das A-Allel folglich als Risikoallel für schizophrene Erkrankungen gilt (Reif et al., 2006; Cui et al., 2010; Silberberg et al., 2010).

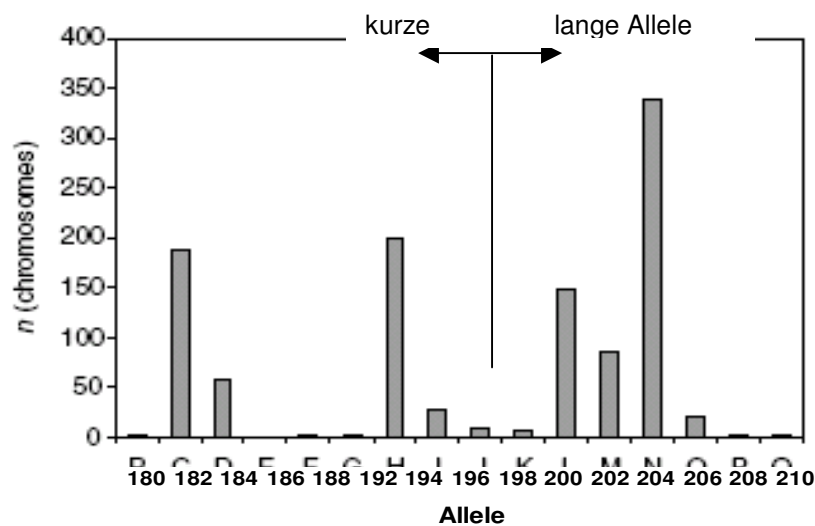


Abbildung 6:
Häufigkeit der *NOS1* Exon 1f-VNTR-Allele.
(modifiziert nach Reif et. al., 2006)

Exon 1f wird vorwiegend in den Basalganglien exprimiert. Es konnte gezeigt werden, dass der VNTR-Polymorphismus auf molekularer Ebene funktional ist. Beim Vorliegen von langen Repeats war die Reporter-gen- und somit vermutlich auch die *NOS1*-Expression gesteigert im Vergleich zu kurzen Allelen (Reif et al., 2006).

1.4.2.3 Bisherige Studien zu *NOS1* und psychiatrischen Erkrankungen

Bisher wurden einige Assoziationsstudien veröffentlicht, die verschiedene Polymorphismen innerhalb des für NOS-I kodierenden Genes bezüglich ihres Einflusses auf Schizophrenie und anderen Erkrankungen, wie die bipolare Störung und Depression untersucht haben. Die Studie von Shinkai et al., (2002), die 215 schizophrene Patienten und 182 gesunde Kontrollen einschloss, konnte einen Zusammenhang zwischen einem SNP in Exon 29 des *NOS1*-Genes und Schizophrenie nachweisen. Eine vergleichbar große Studie aus dem darauf folgenden Jahr (Liou et al., 2003) konnte diese Ergebnisse jedoch nicht replizieren. Genauso konnten Yu et al. (2003) keinen Zusammenhang zwischen Depression und einem weiteren *NOS1*-Polymorphismus feststellen. Eine vierte, 2004 veröffentlichte Studie fand keine signifikante Assoziation von *NOS1* mit der bipolaren Erkrankung (Buttenschøn et al., 2004). In Zusammenschau dieser uneinheitlichen Befunde muss jedoch betont werden, dass es sich in den bisherigen Studien stets um die Untersuchung lediglich eines SNP handelte. Darüber hinaus wurden in verschiedenen Studien verschiedene Polymorphismen, die zum Teil weit auseinander lagen, untersucht. Wie bereits erläutert, muss man jedoch von einer Summe genetischer Variationen ausgehen, um einen Effekt detektieren zu können. Dementsprechend konnte eine große Haplotyp-Analyse von über 800 chinesischen Schizophrenie-Patienten einen Zusammenhang zwischen der *NOS1*-Promoter-Region und dem genetischen Risiko für Schizophrenie belegen (Tang et al., 2008). Ähnlich führten Reif et al. (2006) eine Haplotyp Analyse von *NOS1* durch, die vier SNPs, darunter die funktionelle Promoter-Variante *NOS1*-Exon 1c (rs41279104), sowie den *NOS1*-Exon 1f-VNTR einschloss. Die Probanden setzten sich aus 195 chronisch schizophrenen Patienten, 72 Patienten mit bipolarer Erkrankung sowie 286 gesunden Kontrollen zusammen. Es konnte gezeigt werden, dass das A-Allel im SNP der Promoter-Region des Exon 1c von *NOS1* mit Schizophrenie assoziiert ist, deshalb auch Risikoallel genannt. Interessanterweise fielen die Risiko-Allel-Träger durch weniger Auslassfehler im Continuous Performance Test (CPT) und kürzere P300-Latenzen auf. Außerdem

konnte gezeigt werden, dass der untersuchte VNTR von *NOS1* die Schwere der Psychopathologie beeinflusst und Träger des Risiko-Allels (Genotyp SS) niedrigere P300-Amplituden der Antwort-Inhibition (NoGo) im CPT zeigten. Diese Ergebnisse legten folglich die Hypothese nahe, dass regulatorische Polymorphismen von *NOS1* zum genetischen Risiko für Schizophrenie beitragen.

1.5 Ziel der Arbeit

Ziel der Arbeit war es, bei schizophrenen Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen den Einfluss des in der glutamatergen Neurotransmission beteiligten Kandidatengens *NOS1* auf die Aktivierung des frontalen Kortex neuropsychologisch und bildgebend zu untersuchen. Als Paradigmen wurde der N-Back-Test sowie der VFT gewählt, da beide Tests sogenannte „frontale“ Hirnfunktionen untersuchen und somit mögliche Unterschiede in der Hirnaktivierung dieser Region gegenüber dem Ruhezustand verdeutlichen können. Zur Untersuchung der Hirnaktivierung wurde die Methode der funktionellen Nahinfrarotspektroskopie gewählt, da sie ein nicht invasives und zugleich wenig aufwändiges Verfahren darstellt, was die Bereitschaft zur Teilnahme an der Studie positiv beeinflusst. Die Patienten- und Kontrollgruppe wurden für zwei funktionale *NOS1*-Promotor-Polymorphismen genotypisiert und der Einfluss der genetischen Varianten sowohl auf die Verhaltensdaten in den beiden kognitiven Paradigmen, als auch auf die funktionellen Daten im Sinne einer Hirnaktivierung und Blutflusssteigerung analysiert. Soweit es bekannt ist, ist dies die größte Kohorte schizophrener Patienten, die mit fNIRS untersucht wurde und außerdem die erste fNIRS-Untersuchung bei schizophrenen Patienten während der 2-Back-Aufgabe.

2 Methoden

2.1 Versuchspersonen

An der Studie nahmen 43 Patienten und 44 gesunde Kontrollpersonen aus dem Gebiet Unterfranken teil. Die Rekrutierung und Untersuchung der Teilnehmer fand im Zeitraum zwischen Dezember 2006 und Dezember 2007 statt. Die Patienten befanden sich in stationärer oder ambulanter Behandlung in der Universitätsklinik für Psychiatrie und Psychotherapie in Würzburg. Die Kontrollpersonen wurden auf eine lokale Anzeige hin telefonisch kontaktiert oder aus Klinikpersonal und Studenten rekrutiert. Alle Teilnehmer waren kaukasischer Abstammung. Kontrollpersonen erhielten als Aufwandsentschädigung einen Betrag von zehn Euro. Alle Teilnehmer gaben nach ausführlicher Aufklärung ihre schriftliche Einverständniserklärung zur fNIRS-Untersuchung und zur Entnahme und genetischen Analyse von 20 ml Vollblut.

Die Gruppe der Patienten bestand aus 17 weiblichen und 26 männlichen Teilnehmern, jedoch mussten eine männliche sowie eine weibliche Versuchsperson aufgrund einer fehlerhaften Diagnose nachträglich ausgeschlossen werden (Tabelle 1). Die übrigen Patienten erfüllten alle die Diagnosekriterien einer Schizophrenie nach ICD-10 (Diagnosegruppe F20.0-20.5); alle Patienten wiesen einen chronischen Verlauf ohne vollständige Remissionen auf. Die Diagnosen wurden durch einen erfahrenen Psychiater anhand eines ausführlichen, halbstandardisierten Interviews analog der Arbeitsgemeinschaft für Methodik und Dokumentation in der Psychiatrie (AMDP) gestellt. Keiner der Patienten hatte eine signifikante neurologische Komorbidität, mentale Retardierung oder andere somatische Erkrankung, die eine organische psychische Störung nahe legt. Eine Patientin musste wegen mangelhafter Verhaltensdaten im N-Back und vier weitere Patienten mussten aufgrund schlechter fNIRS-Datenqualität im VFT ausgeschlossen werden. So ergaben sich zwei Patientengruppen: Eine Gruppe für den N-Back mit 40 Patienten,

darunter 15 weibliche und 25 männliche. Das Durchschnittsalter lag bei 40,9 Jahren. Die zweite Gruppe, die sich für den VFT ergab, zählte insgesamt 37 Patienten, 16 weibliche und 21 männliche. Das Durchschnittsalter betrug 41,7 Jahre (siehe Tabelle 1).

Von den 38 Patienten in der VFT-Gruppe gaben 28 an, Rechtshänder zu sein, drei waren Linkshänder und sechs bezeichneten sich als Beidhänder. Von den drei Patienten, welche die N-Back-Gruppe mehr zählte, waren zwei Rechtshänder und einer Linkshänder. 25 der Patienten aus der VFT-Gruppe hatten die Hauptschule besucht; den Qualifizierten Hauptschulabschluss absolvierten jedoch nur 16 von ihnen. Lediglich acht Patienten hatten eine Real- und nur vier eine höhere Schule besucht. Der N-Back-Gruppe gehörten zusätzlich zwei Patienten mit qualifiziertem Hauptschulabschluss, sowie ein Patient mit Realschulabschluss an. Als Leistungstest zur Erfassung des allgemeinen Intelligenzniveaus, wurde der Multiple-Wortschatz-Intelligenztest (MWTB) eingesetzt, da dieser nur in geringem Maße von psychischen Störungen beeinflusst wird und sich folglich gut zur Abschätzung des prämorbidem Intelligenzniveaus eignet. Die durchschnittlich erreichte Punktzahl im MWT-B lag in beiden Patientengruppen bei 28 Punkten.

Die Medikamentenanamnese der Patienten wurde im Nachhinein aus den Akten erhoben. Von vier der insgesamt 41 Patienten waren keine Angaben bezüglich der Medikation zum Untersuchungszeitpunkt eruierbar. Von den übrigen 37 Patienten erhielten lediglich zwei eine antipsychotische Medikation mit klassischen Antipsychotika, wohingegen 23 Patienten mit atypischen Antipsychotika und neun mit einer Kombination aus beiden Medikamentengruppen behandelt wurden. Drei Patienten hatten zum Untersuchungszeitpunkt keine antipsychotische Medikation. Es gab keinen Unterschied im Gebrauch von Benzodiazepinen, antidepressiver Medikation, oder Antipsychotika der ersten bzw. zweiten Generation in AG/AA-Genotyp-Trägern im Vergleich zu GG-Genotyp-Trägern (nicht gezeigt).

Die Gruppe der Kontrollpersonen setzte sich aus 19 Männern und 25 Frauen zusammen. Sie wurden auf psychiatrische Störungen und Achse-I-Diagnosen in der Vorgeschichte sowie auf Gebrauch psychotroper Medikation überprüft, welche Ausschlusskriterien darstellten. Aufgrund technischer Artefakte, die durch zwei unabhängige Beurteiler festgestellt wurden, mussten zwei weibliche Versuchspersonen vom VFT und eine männliche sowie eine weibliche Versuchsperson vom N-Back ausgeschlossen werden. Aus Gründen der Kompatibilität im Vergleich zur Patientengruppe wurde die verbleibende Kontrollgruppe von 42 Personen auf 40 reduziert (siehe Tabelle 1). Ihr Durchschnittsalter lag bei 41,4 Jahren. Es fanden sich 38 Rechtshänder und zwei Linkshänder. Sechs Kontrollpersonen hatten die Hauptschule besucht und diese auch mit dem Qualifizierten Hauptschulabschluss abgeschlossen. 13 der Kontrollpersonen hatten einen Real- und 21 einen Hochschulabschluss, welcher Abitur oder Universitätsabschluss einbezog. Die im MWT-B erreichte Punktzahl lag mit durchschnittlich 32 Punkten vier Punkte und statistisch signifikant über dem Durchschnittswert der Patienten.

		n	Diagnose	fNIRS-Signal	Verhaltensdaten	Kompatibilität	n
Patienten	N-Back	43	-2		-1		40
	VFT	43	-2	-4			37
Kontrollen	N-Back	44		-2		-2	40
	VFT	44		-2		-2	40

Tabelle 1: Versuchspersonen für die Untersuchung der cerebralen Aktivierung.

Für Untersuchungen in Abhängigkeit vom Genotyp wurden die Patienten- und Kontrollgruppen hinsichtlich Alter, Händigkeit und Geschlecht angeglichen. Damit ergaben sich für *NOS1*-Exon 1c SNP eine Gruppe aus 26 Patienten und 28 Kontrollpersonen.

Für *NOS1*-Exon 1c-SNP (rs41279104) sind die deskriptiven Daten der analysierten Gruppe in Tabelle 2 dargestellt. Diagnostische Gruppen (Patienten vs. Kontrollen) und Genotyp-Gruppen (AG/AA vs. GG) waren hinsichtlich Alter, Geschlecht und Händigkeit vergleichbar. Was Bildungsniveau und Intelligenz betraf, unterschieden sich die Diagnosegruppen signifikant.

	Patienten		Kontrollen				
	AG/AA n=9	GG n=17	AG/AA n=12	GG n=16			
					bifaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) (df=1,50)		
					Haupteffekt Diagnose	Haupteffekt Genotyp	Diagnose X Genotyp
Alter (Jahre)	46.6 ± 11.3	45.6 ±10.3	39.1 ± 15.1	46.8 ± 14.7	F=0.730 p=0.397	F=0.855 p=0.360	F=1.141 p=0.240
Intelligenz- Quotient(MWT-B)*	106.3 ± 18.2	107.0 ±13.8	121.8 ±13.3	115.3 ±14.1	F=8.349 p=0.006	F=0.507 p=0.480	F=0.766 p=0.386
					χ^2 -Unabhängigkeitstest (df=1)		
					Diagnose	Genotyp	Diagnose u. Genotyp
Geschlecht (m/w)	7/2	9/8	8/4	11/5	$\chi^2= 0.236$ p= 0.627	$\chi^2= 0.659$ p= 0.417	
Händigkeit (rechts/nicht rechts)	8/1	12/5	11/1	15/1	$\chi^2= 2.712$ p= 0.100	$\chi^2= 0.762$ p= 0.383	$\chi^2= 0.385$ p= 0.535
Bildungsniveau (Hochschulabschlus s/ andere)	1/8	2/15	8/4	7/9	$\chi^2= 10.718$ p= 0.001	$\chi^2= 1.403$ p= 0.236	

* gemäß des Mehrfachwahl-Wortschatztest Version B (MWT-B)

Tabelle 2: Deskriptive Daten der analysierten Gruppen für *NOS1*-Exon 1c-SNP (rs41279104).

2.2 Elektrophysiologische Untersuchung

2.2.1 Kognitive Paradigmen

2.2.1.1 N-Back -Aufgabe

Die Untersuchung begann stets mit der N-Back-Aufgabe. Bei der N-Back Aufgabe soll der Proband auf einen Stimulus reagieren, der entweder direkt vor dem aktuellen Reiz (1-Back) oder einem Reiz zuvor (2-Back) dargeboten wurde. Die Teilnehmer nahmen vor einem Bildschirm und einer Tastatur Platz. Auf dem Bildschirm wurde ihnen eine Folge von Buchstaben präsentiert, wobei immer nur ein Buchstabe der Reihenfolge für ca. 0,3 Sekunden (300 ms) auf dem Bildschirm erschien. Die 2-Back-Aufgabe bestand darin, immer dann so schnell wie möglich die Leertaste der Tastatur zu drücken, wenn der gerade gezeigte Buchstabe dem vorletzten Buchstaben in der Reihenfolge entsprach. Nach 30 Sekunden folgte eine Pause von ebenfalls 30 Sekunden, in denen die Instruktion für die nachfolgende Aufgabe, in diesem Fall die Kontrollaufgabe eingeblendet wurde. Diese bestand darin, immer dann die Leertaste zu drücken, wenn zwei aufeinanderfolgende Buchstaben identisch waren, auch als 1-Back bezeichnet. Jeder Teilnehmer durfte das Paradigma ein-, oder gegebenenfalls auch zweimal üben, ohne dass eine fNIRS-Messung durchgeführt wurde, um sicher zu gehen, dass die Aufgabe verstanden wurde. Der Übungsdurchlauf bestand aus einem 2-Back- und einem 1-Back-Intervall. Vor der eigentlichen Messung wurden die Teilnehmer angewiesen Husten, starke Schluckakte oder körperliche Bewegungen möglichst zu vermeiden. Die Aufgabe dauerte insgesamt sechs Minuten und zehn Sekunden, bestehend aus zehn Sekunden Ruheperiode zu Beginn und sechs abwechselnden 2-Back- bzw. 1-Back-Intervallen, welche jeweils durch die 30-sekündige Instruktion unterbrochen wurden.

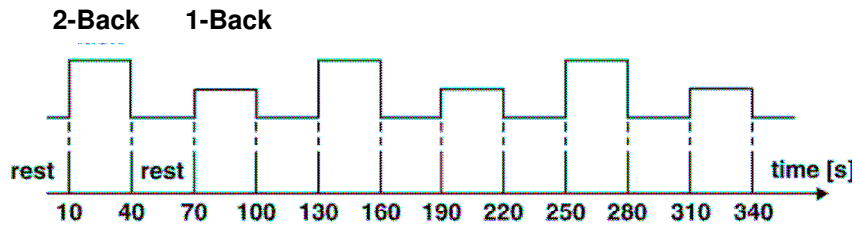


Abbildung 7: Zeitlicher Ablauf des N-Back (modifiziert nach Schecklmann et al., 2007).

2.2.1.2 Verbal Fluency Test (VFT)

Die Teilnehmer wurden angewiesen, ihre Augen während der gesamten Dauer des Tests geschlossen zu halten und Husten, starke Schluckakte oder körperliche Bewegungen zu vermeiden. Von den beiden Versionen des Verbal Fluency Test (VFT) – Kategorie und Buchstabe – wurde lediglich letztere durchgeführt, in der die Teilnehmer angewiesen wurden so viele Wörter wie möglich zu nennen, die mit einem bestimmten Anfangsbuchstaben beginnen, nämlich A, F und S. Lediglich ein Teilnehmer aus der Gruppe der Kontrollpersonen erhielt aufgrund technischer Probleme im ersten Durchgang beim folgenden Durchlauf die Buchstaben E, M und T als Vorgabe. Das Nennen von Eigennamen, Städten oder Wortstammwiederholungen waren nicht erlaubt und der Untersucher notierte die Anzahl der korrekt genannten Wörter. Die Reihenfolge der vorgegebenen Buchstaben wurde zwischen den Teilnehmern nicht variiert. Die Kontrollaufgabe bestand im Aufsagen der Wochentage in korrekter Reihenfolge, wobei der Untersucher versuchte, die Anzahl der Wochentage an die Anzahl der zuvor genannten Wörter anzugleichen, indem er den Teilnehmer aufforderte schneller oder langsamer zu sprechen. Die Übung wurde im Blockdesign durchgeführt wobei jeder der drei Blöcke aus zwei Segmenten bestand: Zunächst die Wortflüssigkeitsaufgabe und schließlich die Kontrollaufgabe. Diese beiden Segmente wurden jeweils gefolgt von einer Ruheperiode, in der die Patienten angewiesen wurden still zu sitzen und zu entspannen. Sowohl die Wortflüssigkeits- als auch die Kontrollaufgabe und die zwei Ruheperioden wurden vom Übungsleiter nach jeweils 30 Sekunden beendet. Zuzüglich einer zehnssekündigen

digen Ruheperiode zu Beginn des ersten Blockes ergibt sich daraus eine Übungsdauer von insgesamt sechs Minuten und zehn Sekunden.

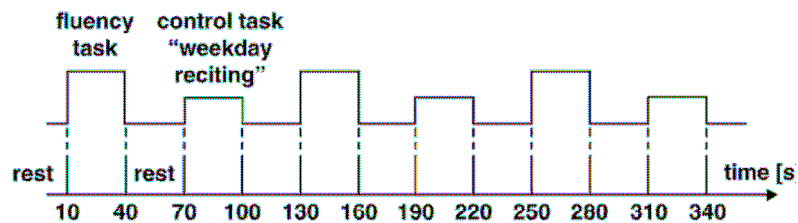


Abbildung 8: Zeitlicher Ablauf des VFT (aus Schecklmann et al., 2007).

2.2.2 fNIRS-Messung

Die fNIRS-Messung wurde mit dem ETG-4000 Optical Topography System (Hitachi Medical C. Japan) durchgeführt. Zwei gleiche Probe-Sets, bestehend aus acht lichtemittierenden und sieben lichtdetektierenden Optoden im Abstand von 30 mm wurden verwendet. Da jeder Lichtdetektor das reflektierte Nahinfrarotlicht der ihn umgebenden Emitter registriert, besteht jede der zwei Anordnungen aus 22 Kanälen und bedeckt eine Fläche von 12 x 6 cm. Die Photodioden der zwei Probe-Sets, welche auf elastischen Plastikplatten befestigt wurden, platzierte man unter Berücksichtigung des 10-20-Systems für die EEG Elektrodenplatzierung auf dem Kopf der Versuchsperson. Hierbei befand sich die Elektrodenposition T3 auf der rechten Hemisphäre unter dem Detektor zwischen Kanal eins und zwei, während derselbe Detektor auf der linken Hemisphäre entsprechend auf T4 zu liegen kam. Die untere Optodenreihe wurde auf Fp1 für die linke Hemisphäre und entsprechen auf Fp2 für die rechte Hemisphäre ausgerichtet.

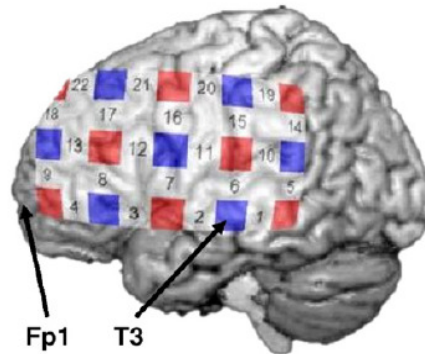


Abbildung 9: Schematische Darstellung der Anordnung des fNIRS-Probe-Sets über der linken Hemisphäre. Die roten Quadrate stellen lichtemittierende Elektroden dar, blaue Quadrate repräsentieren Lichtdetektoren. (aus Schecklmann et al., 2007)

Um den Kopf gespannte Gummibänder, die auch die Plastikplatten miteinander verbanden, gewährleisteten den notwendigen Halt. Durch die Emitter mit einer Frequenz von 10 Hz in continuous-wave-system ausgesendetes Licht zweier Wellenlängen (695 +/- 20 und 830 +/- 20) wird durch die Chromophoren absorbiert, so dass lediglich der reflektierte Teil des Lichtes detektiert und über das elektrooptische Kabel zurück zur Steuerungseinheit geführt wird. Dort wurden aus dem Verhältnis von ausgesendetem zu reflektiertem Licht der einzelnen Wellenlängen durch spektrophotometrische Analyse Konzentrationsänderungen für OxyHb, HHb und Hb-total (Hb-tot) für jeden der 22 Kanäle bestimmt. Deren Einheit ist [mmol x mm], so dass alle Konzentrationsänderungen abhängig von der Weglänge des Nahinfrarotlichtes sind.

2.3 Genetische Untersuchung

2.3.1 DNA-Extraktion

Im Anschluss an die elektrophysiologische Untersuchung wurde zum Zweck der DNA-Gewinnung jedem Probanden (n=87) Blut mittels EDTA-Monovetten entnommen. Die DNA wurde durch Mitarbeiter des Labors für Psychobiologie der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Universität Würzburg aus Leukozyten gemäß der Methode von Miller, Dykes, Polesky (1988) extrahiert.

2.3.2 Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Die Genotypisierung erfolgte nach publizierten Protokollen (Reif et al., 2006) mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR), wobei VNTR bzw. SNP flankierende Oligonukleotid-Primerpaare verwendet wurden. Die Zusammensetzung der Reaktionsansätze für die Amplifikation des Exon 1f-VNTR sowie des Exon 1c-SNP (rs41279104) sind nachstehend aufgelistet.

	VNTR	SNP
Puffer mit MgCl ₂	1,5 mM	1,5 mM
dNTP	200µM	200 µM
Forward Primer	50 nM	0,4 µM
Reverse Primer	50nM	0,4 µM
DNA	50ng	50ng
Taq-Polymerase	0,4U	0,5U

Tabelle 1: Komponenten der Reaktionsansätze für die VNTR- bzw. SNP-Amplifikation.

In einem Thermocycler (Biometra, Göttingen) wurden die gewünschten DNA-Fragmente schließlich nach folgenden Programmparametern amplifiziert:

	VNTR		SNP	
Denaturierung	96 °C	20 sec	95 °C	45 sec
Annealing	58 °C	20 sec	58 °C	45 sec
Synthese	72 °C	30 sec	72 °C	45 sec

Tabelle 2: PCR-Programme.

Zur Bestimmung des *NOS1*-Exon 1f-VNTR wurde dem Programm ein sog. „Touch Down“ vorgeschaltet. Um ein spezifisches Anlagern der Primer zu erreichen, wurde die Annealing-Temperatur von 63° in 10 Zyklen jeweils um 0,5° gesenkt.

2.3.3 Elektrophorese

2.3.3.1 Agarosegelelektrophorese

Die PCR-Produkte unterschiedlicher Fragmentlängen können elektrophoretisch aufgetrennt und anhand von Vergleichen mit Strängen bekannter Größe identifiziert werden. Für den SNP im *NOS1*-Exon 1c (rs41279104) gibt es zwei Allele: A und G. Zur Differenzierung der beiden Alleltypen 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. Für das Allel G ergeben sich demnach zwei Restriktionsprodukte, eines mit einer Länge von 93 bp und eines mit einer Länge von 57 bp. Auf dem Agarosegel ergibt sich folglich eine Bande bei 93 bp und eine bei 57 bp. Liegt die Base A vor, so wird das PCR-Produkt beim Enzymverdau nicht geschnitten, weshalb die Bande für das Allel A bei 150 bp liegt. Es gibt demnach drei verschiedene Genotypen: A/A, G/G und G/A (Abbildung 10).

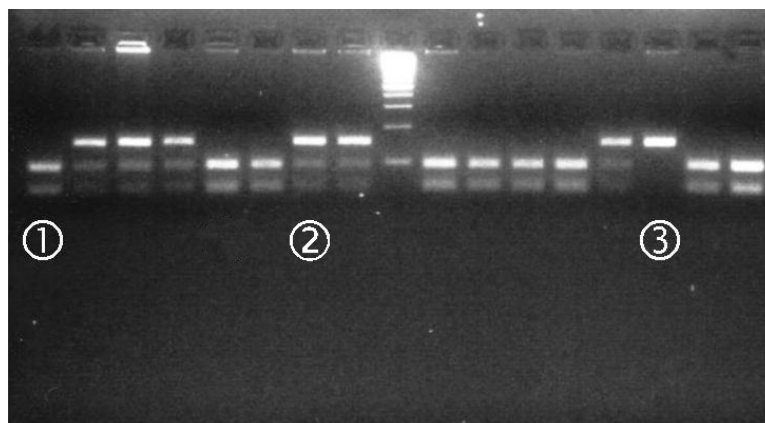


Abbildung 10:
NOS 1-Exon 1c (rs41279104): Agarosegelelektrophorese nach restriktionsenzymatischem Verdau. Bande 1: Genotyp G/G, Bande 2: Genotyp A/G, Bande 3: Genotyp A/A.

2.3.3.2 Kapillarlektrophorese mit CEQ 8000 (Fragmentanalyse)

Da sich die Längen der verschiedenen VNTR-Allele nur um wenige Basenpaare unterscheiden, ist eine Agarosegelelektrophorese zur Fragmentlängenbestimmung nicht sensitiv genug. Aus diesem Grund wurde die Fragmentlängenanalyse von *NOS1*-Exon 1f-VNTR mit Hilfe eines Kapillarsequenzers (CEQ 8000, Beckmann-Coulter, Krefeld, Germany) durchgeführt. Um die Detektion und elektrophoretischen Trennung der Fragmente durch den Kapillarsequenzers zu ermöglichen, wurde der Forward-Primer mit fluoreszierendem Farbstoff (Cy-5; TIB MolBiol, Berlin) gekennzeichnet. Für die Trennung 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 Parametern „Frag-3“ (Kapillartemperatur 50 °C; Probendenaturierung 2 min 96 °C; Injektion 30 sec. 2.0 kV; Trennung 35 min bei 6.0 kV) getrennt. Interne Standards des Kapillarsequenzers beinhalten bereits sequenzierte DNA-Fragmente bekannter Allele. Die Genotypisierung von VNTR erfolgt schließlich, indem man die Allelgrößen jeder Probe mit den Allelgrößen der bekannten Allele vergleicht.

Der *NOS1*-Exon 1f-VNTR ist ein Dinukleotidrepeat mit einer variablen Länge von 180 bis 210 bp (A-Q). Da nur acht der insgesamt 15 *NOS1*-Exon 1f-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 (siehe Abbildung 3), um genetische Analysen zu ermöglichen. Bei den Genotypen treten C/N (11,6 %), H/N (11,5 %) N/N (9,1 %) und L/N (8,9 %) am häufigsten auf (Reif et al., 2006). In Abbildung 11 und 12 sind beispielhaft die Genotypen C/N und H/N dargestellt. Die farbmarkierten Allele führen entsprechend ihrer Basenpaargröße zu verschiedenen Peaks: C bei 188 bp, H bei 198 bp und N bei 210 bp.

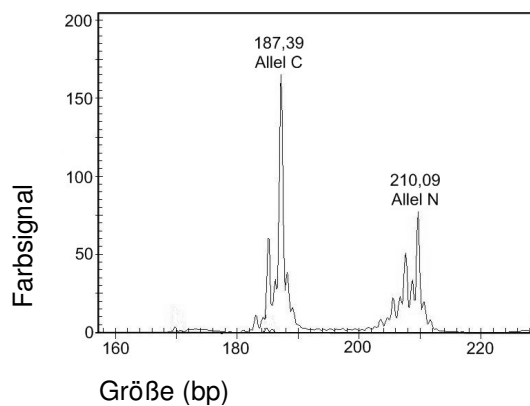


Abbildung 11:
NOS1 Exon 1f-VNTR Allele C/N

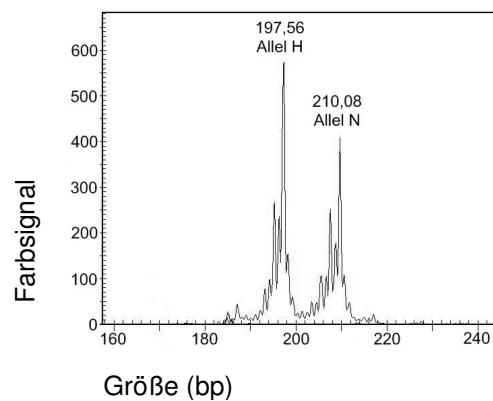


Abbildung 12:
NOS1 Exon 1f-VNTR Allele H/N

Der *NOS1*-Exon 1f-VNTR sowie der *NOS1*-Exon 1c-SNP wurden entsprechend ihrer Funktionalität dichotomisiert. Bezüglich letzterem wurden die Genotypen A/A und A/G zu A-Allel Trägern zusammengefasst (was nach Reif et al., 2006 die Risikogenotypgruppe ist) und gegen die Allelgruppe G/G ausgewertet. Die *NOS1*-Exon 1f-VNTR-Dichotomisierung erfolgte ebenfalls nach Reif et al., 2006 in kurze (short, „S“, Allele B - J) und lange (long, „L“, Allele ab K) Allele. Folglich wurden drei verschiedene Genotypen ausgewertet: SS, SL und LL.

2.4 Datenanalyse und Statistik

Spontane Veränderungen des gesamten körperlichen sowie des cerebralen Blutflusses können zu Hb-Konzentrationsveränderungen im NIRS-Signal führen, die jedoch nicht in direktem Zusammenhang mit der kognitiven Aufgabe stehen (Hoshi, Tamura, 1997, Taga et al., 2000). Daraus resultierende Baseline-Drifts über die gesamte Messdauer hinweg müssen korrigiert werden, indem man jeweils den Mittelwert für die 10 sec vor der Aktivierungsaufgabe und die letzten 10 sec im 20 sec-Intervall nach der Aktivierungsaufgabe berechnet und die Baseline linear anpasst. So wurde für alle drei Wiederholungen des jeweiligen Aufgabensegmentes (2-Back, 1-Back, VFT, Wochen-

tage) fortgefahren und die Daten für jede Aufgabenbedingung kanalweise für jeden Probanden gemittelt. Hochfrequente Anteile des Signals wurden herausgefiltert, indem man einen Moving Average von 5 sec ermittelte. Für die statistische Analyse wurde für jeden Proband und jeden NIRS-Kanal der Mittelwert von OxyHb und HHb der Aktivierungsphasen beider Paradigmen berechnet.

Aus Gründen der Übersichtlichkeit fasste man anschließend, getrennt für beide Paradigmen, die Kanäle mit signifikanten Ergebnissen für die Aktivierung zu einer *Region of Interest* (ROI) zusammen. Als „Aktivierung“ wurde nur das Muster aus Anstieg von OxyHb bei gleichzeitigem Abfall von HHb definiert. Folglich wurden nur jene Kanäle in die ROI eingeschlossen, die bei allen Probanden sowohl für OxyHb als auch für HHb signifikante Ergebnisse aufweisen konnten. Somit ergaben sich insgesamt vier ROI, für beide Paradigmen jeweils eine ROI für jede Hemisphäre. Für die N-Back-Aufgabe bestand die rechte ROI aus acht Kanälen (1, 2, 3, 4, 6, 7, 8 und 12) und die linke ROI aus neun Kanälen (1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 11 und 12). Für die VFT-Aufgabe bestand die rechte ROI aus sechs Kanälen (2, 3, 4, 6, 7, 8) und die linke ROI aus elf Kanälen (2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13 und 17).

Für statistische Analysen wurden durchschnittliche Aktivierungslevel von OxyHb und HHb für die 2-Back- und 1-Back-Version der N-Back-Aufgabe errechnet, ebenso wie für die Wortflüssigkeitsaufgabe und die Kontrollaufgabe des VFT. Aktivierungssegmente wurden definiert nach Beginn und Ende der 30-sec-Stimulation während der Aufgabe. Anhand von t-Tests wurden dann Mittelwerte der Aktivierungsphasen während der aktiven Aufgaben (2-Back und VFT) mit jenen der entsprechenden Kontrollaufgaben (1-Back und Wochentage) verglichen.

Darüber hinaus führten wir 2 x 2 Varianzanalysen (Diagnose: Patienten vs. Kontrollen; Genotyp: AG/AA vs. GG) für Verhaltensdaten und 2 x 2 x 2

Varianzanalysen für fNIRS-Daten (zusätzlich für den Faktor „Hemisphäre“: links vs. rechts) durch. Zweiseitige t-Tests für unabhängige Stichproben und ergänzende ANOVA wurden für Post-hoc-Analysen verwendet. Da die Tests für fNIRS-Daten bei 22 Kanälen für Patienten und Kontrollen folglich aus 22 Vergleichen bestehen, erhöht sich die Wahrscheinlichkeit eines Fehlers erster Art, weshalb die α -Levels für OxyHb gemäß der *false discovery rate* (FDR)-Methode korrigiert wurden (siehe Singh, Dan, 2006).

In einer zusätzlichen orientierenden Untersuchung setzten wir Verhaltensdaten der Arbeitsgedächtnis-Aufgabe zu denen der VFT-Aufgabe in Beziehung, wobei wir parametrische (Pearson) bzw. nicht-parametrische (Spearman) Messungen verwendeten. Auf die gleiche Weise wurden Verhaltensdaten beider Aufgaben mit aufgabenbezogenen OxyHb- und HHb-Veränderungen verglichen. Datenanalyse und statistische Auswertung wurden mit MatLab 6.5 (The Mathworks Inc., USA) und SPSS 15.0 (SPSS Inc., USA) durchgeführt. Alle berichteten statistischen Werte sind unkorrigierte P-Werte.

3 Ergebnisse

3.1 Verhaltensdaten

3.1.1 N-Back

Die N-Back-Aufgabe wurde von der Gruppe der Patienten mit durchschnittlich 96,3 % richtigen Antworten im 1-Back bei einer Reaktionszeit (RT) von 595 ms und durchschnittlich 84,2 % korrekten Antworten im 2-Back bei einer RT von 691 ms bearbeitet. Damit wurde die Aufgabe von der Patientengruppe schlechter und langsamer bearbeitet als von der Kontrollgruppe, die durchschnittlich 99,6 % bzw. 88,8 % richtigen Antworten im 1-Back bzw. 2-Back bei einer RT von 422 ms bzw. 501 ms. Wir fanden signifikante Diagnose-Haupteffekte bezüglich der RT für korrekte Antworten während des 2-Back ($F= 43,249$; $df= 1,50$; $p < 0,001$) sowie für den proportionalen Anteil an korrekten Antworten ($F= 4,435$; $df= 1,50$; $p= 0,040$) und die benötigte RT für diese korrekten Antworten während des 1-Back ($F= 27,901$; $df= 1,50$; $p < 0,001$).

3.1.2 VFT

Hinsichtlich der generierten Wörter im VFT unterschieden sich die Patienten ebenfalls deutlich von der gesunden Kontrollgruppe. Letztere nannte im Mittel 6,6 Wörter und damit durchschnittlich 2,0 mehr als die Gruppe der Patienten. Beide Gruppen nannten in der Kontrollaufgabe mehr Wörter als in der experimentellen Aufgabe: Patienten nannten durchschnittlich 11,2 Wörter, Kontrollpersonen 10,0 Wörter. Damit konnte ein Diagnose-Haupteffekt für die generierten Wörter im VFT während der Aktivierungsaufgabe ($F= 10,587$; $df= 1,50$; $p= 0,002$) und der Kontrollaufgabe gefunden werden ($F= 5,884$; $df= 1,50$; $p= 0,019$).

3.2 Funktionelle Daten

3.2.1 N-Back-Aufgabe

Im N-Back zeigten die Kontrollpersonen bezüglich der Kanäle, die zur ROI gehören, t-Werte zwischen 2 und 6 für OxyHb mit deutlichem frontalem Aktivierungsmuster und entsprechend für HHb t-Werte zwischen -1 und -3.

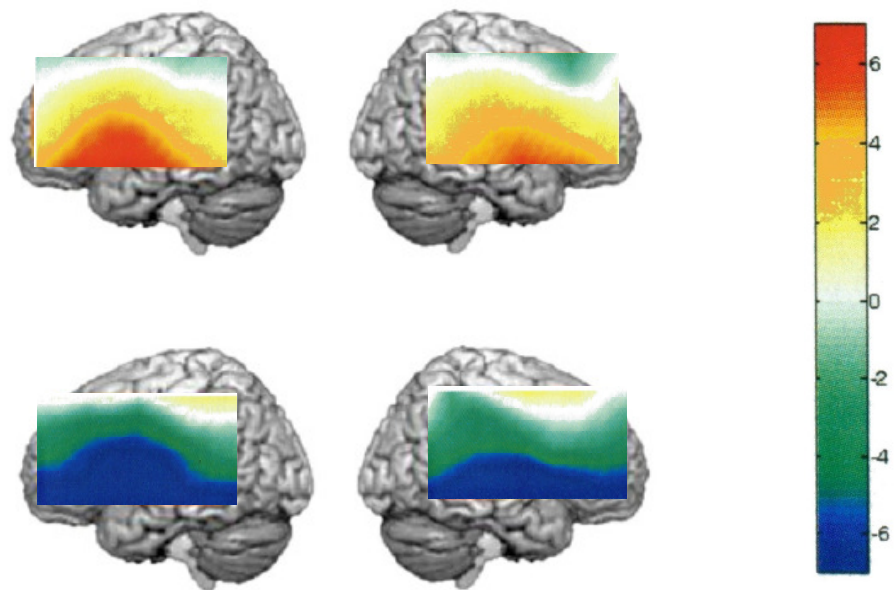


Abbildung 13: T-Maps für OxyHb für die linke bzw. rechte Hemisphäre während des N-Back in der Kontrollgruppe (oben).

T-Maps für HHb für die linke bzw. rechte Hemisphäre während des N-Back in der Kontrollgruppe (unten).

In der Gruppe der Patienten konnte nur ein geringer Anstieg von OxyHb verzeichnet werden, so dass die t-Werte der ROI-Kanäle maximal bei 1 lagen. Die t-Werte für HHb lagen maximal bei -1. Es fand sich also auch im N-Back ein Diagnose-Haupteffekt, sowohl für OxyHb ($F= 11,728$; $df= 1,50$; $p= 0,001$) als auch für HHb ($F= 6,559$; $df= 1,50$; $p= 0,014$).

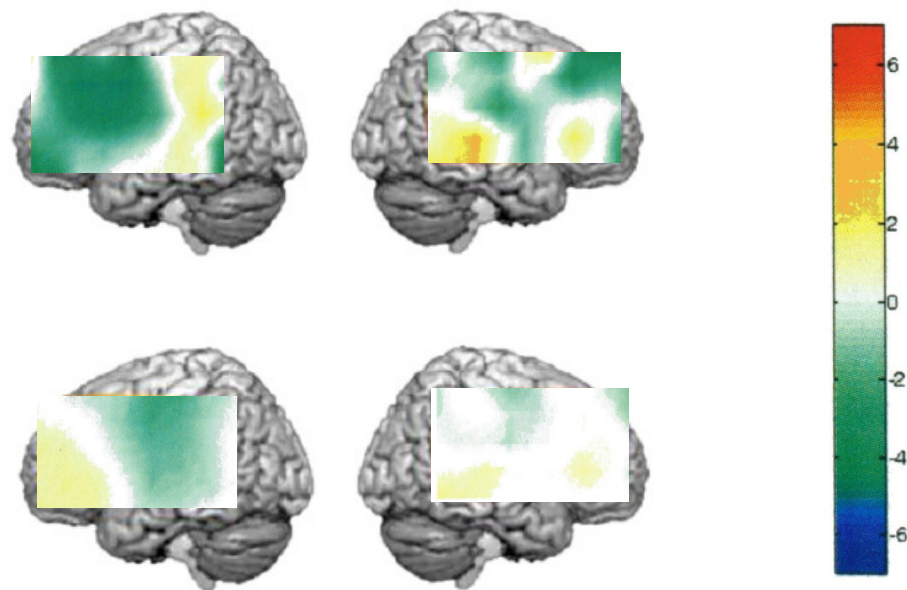


Abbildung 14: T-Maps für OxyHb für die linke bzw. rechte Hemisphäre während des N-Back in der Patientengruppe (oben).

T-Maps für HHb für die linke bzw. rechte Hemisphäre während des N-Back in der Patientengruppe (unten).

3.2.2 VFT

Die t-Werte der Kanäle, die zur ROI gehören, zeigten in der Kontrollgruppe während des VFT für OxyHb Werte zwischen 4 und 6, wobei die linke Hemisphäre eine stärkere Aktivierung zeigt als die rechte und weiterhin eine deutliche frontale Aktivierung zu sehen ist. Gemäß der Vorstellung, dass ein Anstieg von OxyHb mit einem Abfall von HHb einhergeht, konnte in der Kontrollgruppe ein Konzentrationsabfall an HHb verzeichnet werden (t-Werte zwischen 0 und 3), in der linken Hemisphäre wiederum stärker als in der rechten.

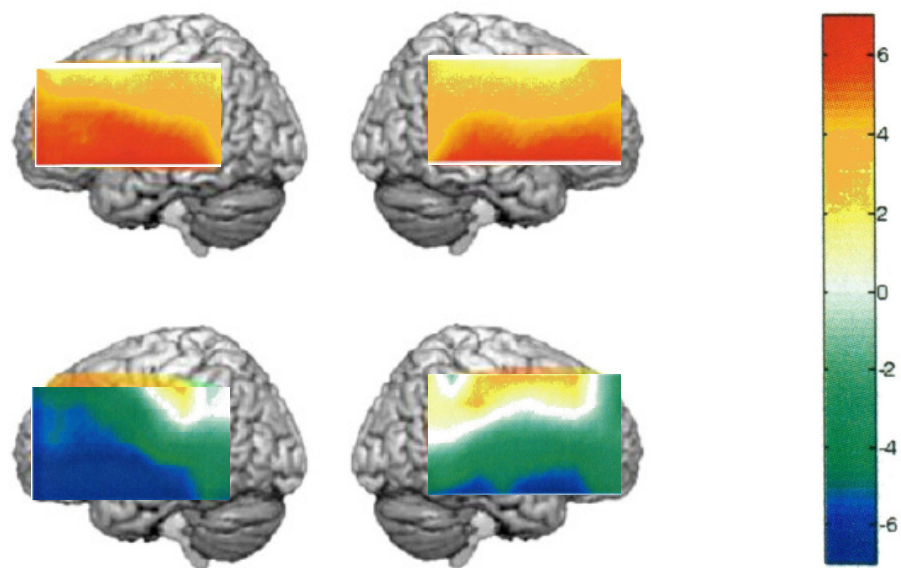


Abbildung 15: T-Maps für OxyHb für die linke bzw. rechte Hemisphäre während des VFT in der Kontrollgruppe (oben).

T-Maps für HHb für die linke bzw. rechte Hemisphäre während des VFT in der Kontrollgruppe (unten).

In der Patientengruppe lagen die t-Werte für OxyHb lediglich zwischen 0 und 2, ohne eine signifikante Aktivierung des frontalen Kortex. Die gesunden Kontrollpersonen wiesen folglich einen signifikant höheren Anstieg der Oxy-Hb Konzentration auf als schizophrenen Patienten ($F= 16,226$; $df= 1,50$; $p< 0,001$). Dementsprechend konnte ein Diagnose-Haupteffekt für HHb gefunden werden ($F=21,419$, $df=1,50$, $p< 0,001$).

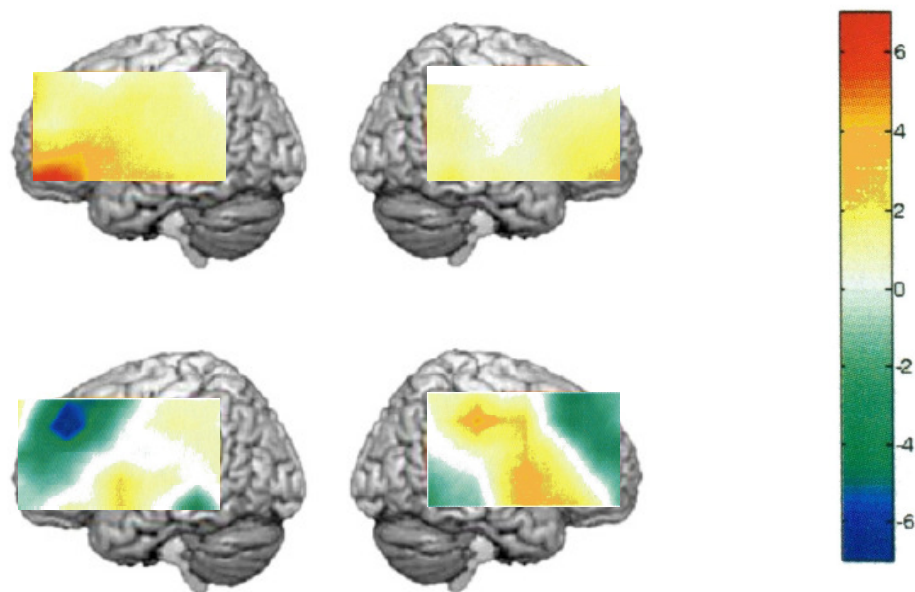


Abbildung 16: T-Maps für OxyHb für die linke bzw. rechte Hemisphäre während des VFT in der Patientengruppe (oben).

T-Maps für HHb für die linke bzw. rechte Hemisphäre während des VFT in der Patientengruppe (unten).

Zusammenfassend kann man festhalten, dass schizophrene Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen eine reduzierte Aktivierung des lateralen präfrontalen Cortex (LPFC) aufweisen, wie es durch die verminderte Blutoxygenierung in beiden kognitiven Paradigmen ersichtlich ist. Anschaulich ist dies in Abbildung 17 dargestellt.

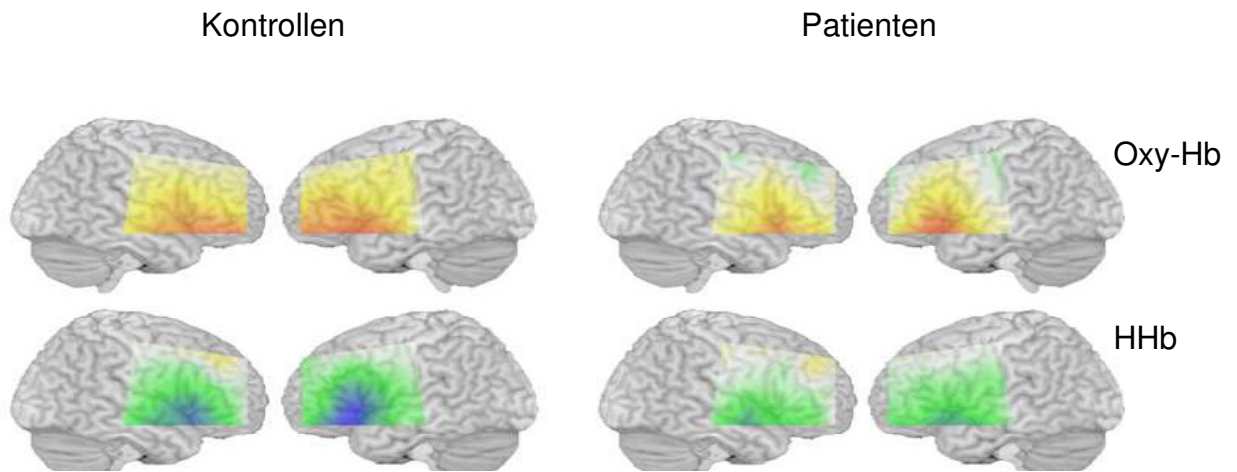


Abbildung 17: Vergleich Oxy-Hb (oben) und HHb (unten) bei Kontrollen (links) und Patienten (rechts) für VFT und N-Back.

3.3 Auswirkung der *NOS1*-Promotorvarianten auf Verhaltensdaten und neuronale Aktivierung

3.3.1 *NOS1*-Exon 1f-VNTR

3.3.1.1 Verhaltensdaten

Die *NOS1*-Exon 1f-VNTR Allele wurden in kurze „S“ und lange „L“ Allele unterteilt. Unter allen Probanden, die sich aus Patienten und Kontrollen zusammensetzten, kam der SS-Genotyp 17-mal, der SL-Genotyp 40-mal und der LL-Genotyp 19-mal vor. Es bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollen. Hinsichtlich der Verhaltensdaten ergaben sich sowohl im N-Back als auch im VFT keine signifikanten Genotyp-Interaktionseffekte.

3.3.1.2 Aktivierung

Hinsichtlich des **N-Back** ergaben sich für das Hirnaktivierungsmuster keine signifikanten Ergebnisse. Auch bei getrennter Betrachtung von Patienten und Kontrollen konnte in beiden Paradigmen kein signifikanter Effekt festgestellt werden.

Im **VFT** ergab sich in einer Gruppe aus allen Probanden (Patienten und Kontrollen) für **HHb** ein statistischer Trend für einen Hemisphäre x Genotyp-Interaktionseffekt ($F= 2,970$; $df= 2,0$; $p= 0,058$) (s. Abbildung 18), der nach dem Matching für Alter, IQ und Geschlecht jedoch nicht mehr nachweisbar war.

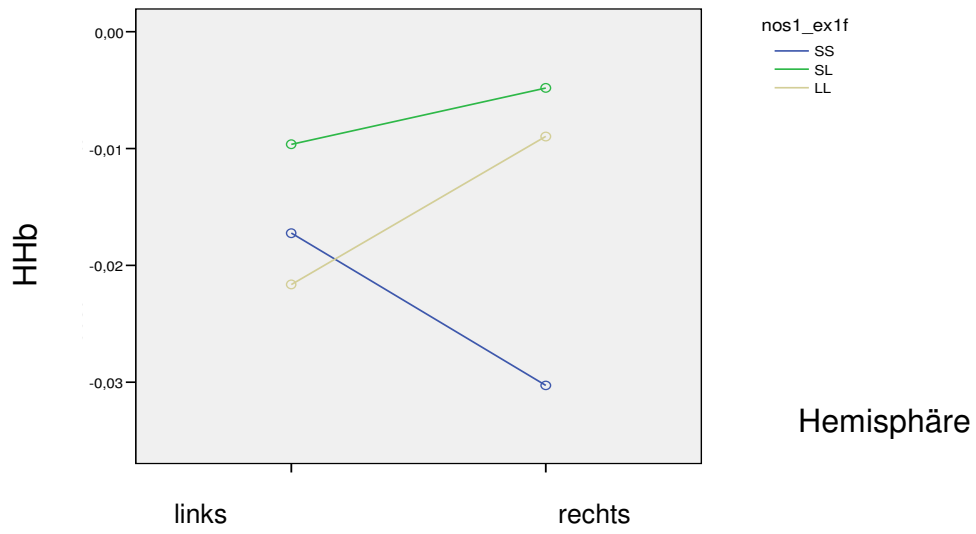


Abbildung 18: Seite x Genotyp-Interaktionseffekt für NOS1-Exon 1f-VNTR bezüglich der mittleren Hirnaktivierung im VFT

3.3.2 *NOS1*-Exon 1c-SNP (rs41279104)

Aufgrund teilweise fehlender genetischer Daten für Kontrollpersonen bezüglich des *NOS1*-Exon 1c-SNP (rs41279104) wurde die Kontrollgruppe bezüglich dieses Polymorphismus verkleinert. So ergab sich für den N-Back eine Gruppe von 77 statt 80 und für den VFT eine Gruppe von 75 statt 77 Probanden. Für *NOS1*-Exon 1c (rs41279104) wurden die Probanden ebenfalls nach Alter, IQ und Geschlecht gematcht, so dass sich eine Patientengruppe aus 26 und eine Kontrollgruppe aus 28 Personen ergab (s. Tabelle 2). Wie in Material und Methoden beschrieben, wurde unterschieden zwischen Probanden, die das Allel A tragen (Genotyp A/A oder A/G) und der Gruppe, die homozygot für das Allel G ist (Genotyp G/G).

3.3.2.1 Verhaltensdaten

Für den **N-Back** ergab sich ein Genotyp-Haupteffekt ($F= 4,240$; $df= 1,50$, $p=0,045$) und ein Diagnose x Genotyp-Interaktionseffekt ($F= 5,787$; $df= 1,50$; $p= 0,020$) bezüglich der mittleren Reaktionszeit (RT) im 2-Back. Post-hoc-Tests zeigten in der Patientengruppe unabhängig vom Genotyp insgesamt längere RT und in Abhängigkeit vom Genotyp eine Verlangsamung für die Patienten, welche das A-Allel tragen ($628,86 \text{ ms} \pm 222,80 \text{ ms}$) im Gegensatz zu solchen mit G/G-Genotyp ($579,90 \text{ ms} \pm 132,87 \text{ ms}$). Die verlangsamte RT bei A-Allel-Trägern war nur als statistischer Trend präsent innerhalb der Patientengruppe ($t= 2,06$; $df= 11$; $p= 0,065$) während Kontrollen gleich lange RT für beide Genotypen zeigten ($t= 0,36$; $df= 26$, $p= 0,72$) (nicht gezeigt).

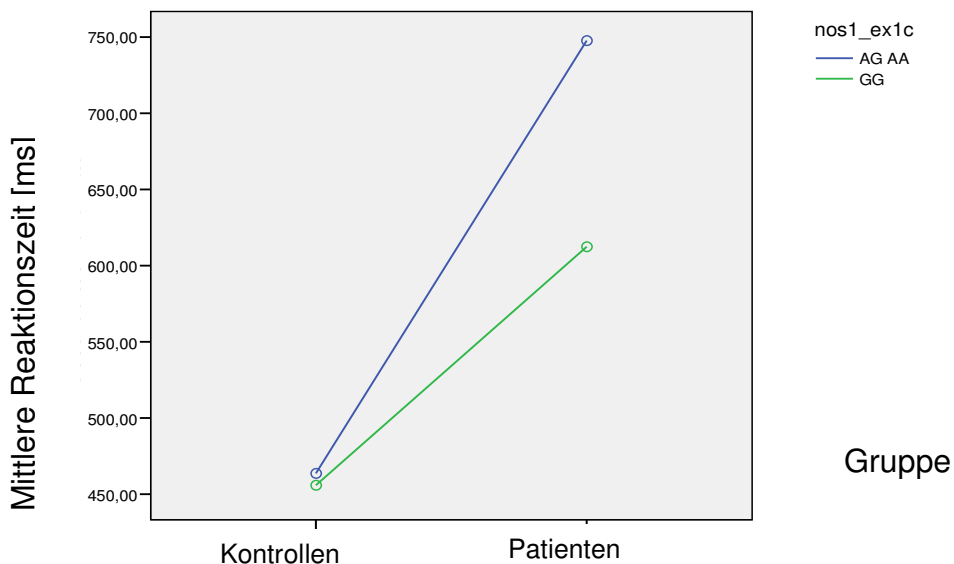


Abbildung 19: Genotyp x Gruppe-Interaktionseffekt für NOS1-Exon 1c-SNP bezüglich der mittleren Reaktionszeit im 2-Back-Test.

3.3.2.2 Aktivierung

Im **VFT** ergab sich bezüglich **HHb** zunächst ein statistischer Trend für eine Hemisphäre x Genotyp-Interaktion ($F= 3,489$; $df= 1,50$; $p= 0,067$), der sich post hoc nicht bestätigte und einen statistisch signifikanten Hemisphäre x Gruppe x Genotyp-Interaktionseffekt ($F= 7,272$; $df= 1,50$; $p= 0,010$), der in der post hoc-Analyse nur innerhalb der Patientengruppe Signifikanz erlangte ($F= 7,675$; $df= 1,24$; $p=0,011$).

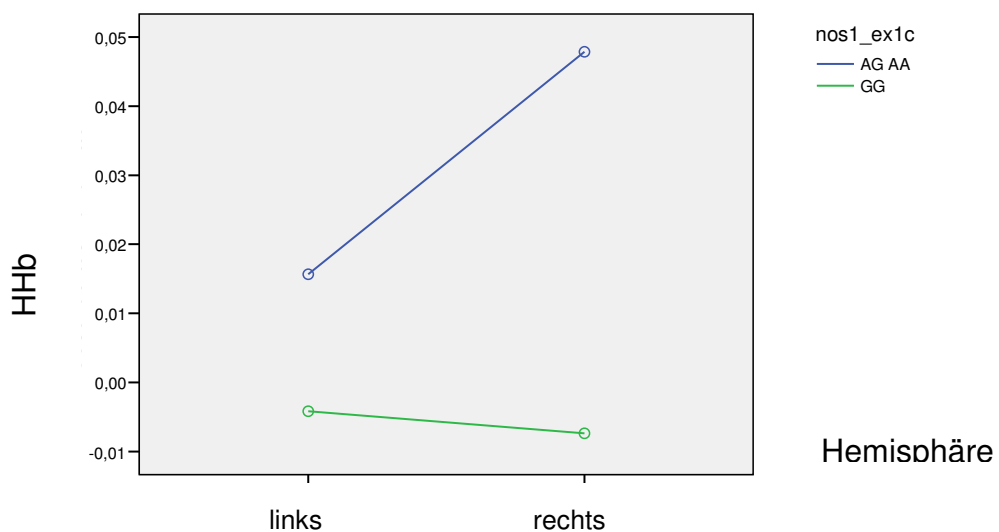


Abbildung 20: Seite x Gruppe x Genotyp-Interaktionseffekt für NOS1-Exon 1c-SNP bezüglich der mittleren Hirnaktivierung (HHb) im VFT.

Patienten, welche das A-Allel tragen, zeigen eine signifikant stärkere Deaktivierung der rechten Hemisphäre im Vergleich zu Trägern des G/G-Genotypes, als Genotyp-Haupteffekt für die rechte Hemisphäre beschrieben. In der linken Hemisphäre ergibt sich kein solcher Effekt im Vergleich von A-Allel-Trägern und G/G-Genotyp Trägern. Diese Tatsache hat bei allen A-Allel-Trägern unter den Patienten eine signifikante Seitendifferenz bezüglich der Aktivierung zur Folge (Hemisphäre x Genotyp-Interaktionseffekt). Patienten, die Träger des A-Allels sind, aktivierten die rechte Hemisphäre signifikant schwächer als die linke. Träger des G/G-Genotypes zeigten hingegen keine signifikante Seitendifferenz bezüglich der Aktivierung.

Für den Parameter **OxyHb** konnte im **VFT** ein statistischer Trend für einen Hemisphäre x Genotyp-Interaktionseffekt ($F= 3,529$; $df= 1,50$; $p= 0,066$) gezeigt werden. Angesichts der o. g. Dreifach-Interaktion für HHb führten wir dieselbe post hoc-Analyse durch und fanden einen statistischen Trend für die Seite x Genotyp-Interaktion, allerdings wiederum nur innerhalb der Patientengruppe ($F= 4,225$, $df= 1,24$; $p= 0,051$). Dieser weist auf einen stärkeren OxyHb Abfall - im Sinne einer Deaktivierung - für A-Allel-Träger im Gegensatz zum G/G-Genotyp hin.

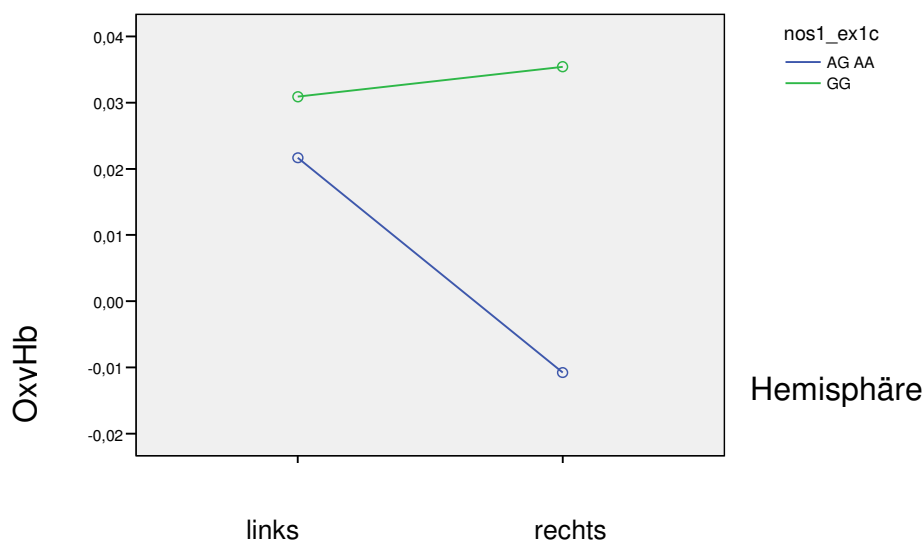


Abbildung 21: Seite x Genotyp-Interaktionseffekt für NOS1-Exon 1c-SNP bezüglich der mittleren Hirnaktivierung (OxyHb) im VFT.

4 Diskussion

4.1 Beteiligung des nitrinergen Systems an der Pathophysiologie der Schizophrenie

4.1.1 NOS-I und Neurotransmission

Das Enzym NOS-I ist in mehrere Signalkaskaden involviert, die nach derzeitigem Wissenstand in der Pathophysiologie der Schizophrenie eine Rolle spielen. Zunächst agiert NOS-I als second messenger des glutamatergen NMDA-R, indem es den atypischen Neurotransmitter und Neuromodulator NO produziert. Klinische Studien ebenso wie Analysen von Kandidatengenomen weisen auf eine wichtige Rolle des glutamatergen Netzwerkes in der Pathophysiologie der Schizophrenie hin (siehe 1.2.3.1). NOS-I ist jedoch nicht nur Teil des glutamatergen Systems; es greift außerdem in serotonerge und dopaminerge Signalwege ein, indem es die Funktion von Monoamin-Transportern moduliert. Dopamin- (DAT) und Serotonintransporter (5HTT) werden durch NO S-nitrosyliert, wodurch der Monoamin-Reuptake inhibiert wird, so dass letztendlich die synaptische Verfügbarkeit des jeweiligen Neurotransmitters erhöht wird (Kiss, Vizi, 2001). Für die Interaktionen mit Monoamintransportern scheint jedoch nicht nur die S-Nitrosylierung als direkte chemische Modifikation von Proteinresten eine Rolle zu spielen. So konnte für die Interaktion zwischen NOS-I und dem 5HTT eine direkte Protein-Protein-Interaktion nachgewiesen werden (Chanrion et al., 2007). Die enge Verknüpfung von NOS-I mit dem serotonergen System findet darüber hinaus Bestätigung in einer Dysregulation des Serotoninsystems bei NOS-I-Knockout-Mäusen (Chiavegatto et al., 2001). Was dopaminerge Signalwege betrifft, konnte gezeigt werden, dass NO multiple Effekte auf striatale Regelkreise und Projektionsneurone ausübt, die in die Regulation des Outputs der Basalganglien und nigro-striataler, dopaminerges Aktivität involviert sind (West, Galloway, Grace, 2002). Die aufgeführten

Beobachtungen zusammengenommen, stellt sich das NOS-I-Produkt, NO, als Bindeglied zwischen glutamaterger Transmission auf der einen Seite und monoaminergem Transmission auf der anderen Seite dar. Besonders die nitrinerge Signaltransduktion an der glutamatergen Synapse und Interaktionen zwischen NO und Dopamin stehen im Zentrum der für Schizophrenie relevanten Signalwege.

4.1.2 *NOS1* und hirnstrukturelle Befunde

Eingangs wurde bereits die Erforschung hirnstruktureller Befunde schizophrener Patienten erläutert, welche sich überwiegend der MRI- und Post-mortem-Untersuchungen bedient. In diesem Zusammenhang konnte trotz widersprüchlicher Ergebnisse insbesondere in der letzten Zeit die Rolle des Hippocampus herausgestellt werden. In Post-mortem-Untersuchungen zum nitrinergen System bei schizophrenen Patienten wurden neben dem Hippocampus aber noch weitere Hirnareale untersucht, welche für ihre Bedeutung in der Pathophysiologie der Erkrankung bekannt sind. So konnten Akbarian et al. (1993) eine signifikant niedrigere Anzahl NADPH-Diaphorase-positiver (d. h. NOS-haltiger) Neurone in der Hippocampus-Formation sowie im Neocortex des lateralen Temporallappen bei schizophrenen Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen aufzeigen. Interessanterweise konnte in der weißen Substanz des lateralen Temporallappen eine erhöhte Anzahl dieser Neurone nachgewiesen werden, was als Hinweis auf Störungen der Hirnentwicklung verstanden werden kann. Des Weiteren konnten im Putamen schizophrener Patienten post mortem NOS-positive Interneurone in verminderter Anzahl oder veränderter Morphologie nachgewiesen werden (Lauer et al., 2005, Fritzen et al., 2007). An dieser Stelle sei erwähnt, dass das alternative *NOS-1*-Exon 1c außer im Hippocampus vor allem im Putamen exprimiert wird, wobei das Risikoallel zu einer verminderten Expression führt. Eine weitere, für die Pathophysiologie relevante Hirnregion stellt der PFC dar. Hier konnte mittels post-mortalen PCR-Untersuchungen eine signifikant höhere Menge an *NOS-1*-mRNA bei schizophrenen Patienten im Vergleich zu Gesunden gezeigt werden

(Baba et al., 2004). Eine veränderte Proteinmenge von NOS-I und NOS-III konnte durch Xing et al. (2002) zwar nicht bestätigt werden, jedoch eine verminderte Aktivität der gesamten Ca^{2+} -abhängigen NOS-Aktivität. Darüber hinaus war die NOS-Aktivität bei Frauen niedriger. Die nitrinerge Signaltransduktion stellt also auch in hirstrukturellen Befunden ein Bindeglied für die in der Pathophysiologie der Schizophrenie-relevanten Hirnareale, wie Hippocampus, Striatum, und dem PFC dar.

4.1.3 NOS1 und adulte Neurogenese

Neben dem direkten und indirekten Einfluss auf neuronale Transmission, kommt NO eine Bedeutung in der Neurogenese zu, die im Rahmen des neurodevelopmentalen Modells zunehmend Aufmerksamkeit in der Erforschung der Pathophysiologie der Schizophrenie gewinnt. In diesem Zusammenhang konnten verschiedene, sowohl prä- als auch postnatale Pathomechanismen, die bei der Schizophrenie vorgeschlagen wurden, mit einer Dysregulation des nitrinergen Systems in Verbindung gebracht werden. Sowohl intrauterine Infektion mit Influenza-Viren im zweiten Trimenon als auch hippocampale Läsionen im pränatalen Lebensabschnitt gehören zu den etablierten Tiermodellen schizophrener Psychosen. Im Tiermodell konnte eine intrauterine Influenza-infektion in Abhängigkeit von Lebensalter und Gehirnregion mit signifikant reduzierter *NOS1*-Expression assoziiert werden (Fatemi et al., 2000). Bezüglich der hippocampalen Läsionierung konnten Jakob und Beckmann (1994) in einer Post-mortem-Analyse von fünf Schizophreniepatienten umschriebene Malformationen und lokale neuronale Migrationsstörungen im limbischen System und entorhinalen Cortex nachweisen. So konnte im Tiermodell bei neonataler Destruktion des ventralen Hippocampus als ein Modell der Schizophrenie eine verminderte Anzahl NOS-positiver Neurone im präfrontalen und entorhinalen Cortex nachgewiesen werden (Bernstein et al., 1999). In Anlehnung an o. g. Ergebnisse wurde eine defizitäre nitrinerge Signaltransduktion als ein neurodevelopmentales Element der Schizophrenie vorgeschlagen. Im Gegensatz dazu steht der tierexperimentellen Nachweis

einer durch neonatale NOS-Inhibition gesteigerten Sensitivität gegenüber D-Amphetamin und PCP im Erwachsenenalter (Black et al., 1999), was zu der Annahme führt, dass sowohl zu hohe, als auch zu niedrige NO-Spiegel während der Hirnentwicklung schädliche Folgen haben können. Verschiedene Pathomechanismen, die bei der Schizophrenie eine Rolle spielen, können also mit dem nitrinergen System in Verbindung gebracht werden.

4.1.4 NOS1 und neuronale Plastizität

Ähnlich der frühen Hirnentwicklung zeichnet sich die adulte Neurogenese (aN) durch Bildung neuer funktioneller Neurone aus neuronalen Stammzellen aus. Die aN wurde 1965 erstmals im Rattenhirn beschrieben (Altman, Das, 1965(a)) und konnte 1998 durch Eriksson et al. auch am menschlichen Gehirn post mortem mittels Bromodeoxyuridin (BrdU)-Färbung nachgewiesen werden. Die aN hat zu einer neuen Auffassung des Begriffs der neuronalen Plastizität geführt, welche die lebenslange Bildung neuer Neurone und Konnektionen einschließt. Die aN kommt in nur in wenigen Gehirnregionen vor, in der zwischen Striatum und Seitenventrikeln lokalisierten Subventrikulärzellschicht und dem Gyrus dentatus als Teil der Hippocampusformation (Altmann, Das, 1965(b)). Auch die subcortikale weiße Substanz beherbergt neben glialen Progenitorzellen auch zu einem kleinen Teil neurale Stammzellen (Nunes et al., 2003). Aus der Proliferation der neuralen Stammzelle geht die neurale Progenitorzelle hervor, welche im Laufe ihrer Migration in die Körnerzellschicht vom Neuroblasten zur ausdifferenzierten Körnerzelle reift. Einige wenige Neuroblasten entwickeln sich auch zu Gliazellen. Jedoch durchlaufen nur ca. 10 % der neu gebildeten Zellen den Weg zu terminalen Differenzierung (van Praag et al., 2002), so dass zwischen Proliferation neuraler Stammzellen und dem Begriff der Neurogenese differenziert werden muss. Gestörte neuronale Plastizität im Hippocampus stellt möglicherweise einen relevanten Faktor hinsichtlich Ursachen und Verlauf psychiatrischer Erkrankungen einschließlich der Schizophrenie dar.

Studien am menschlichen Gehirn deuten beispielsweise an, dass die hippocampale neurale Stammzellproliferation (NSP) zur Pathophysiologie der Schizophrenie beiträgt. Die gestörte Neurogenese könnte durch fehlerhafte Encodierung neuer Gedächtnisinhalte funktionell relevant werden und auf diese Weise zu den kognitiven Defiziten beitragen, die bei schizophrenen Patienten beobachtet werden können (Reif et al., 2007).

Daneben ist die S-Nitrosylierungs-vermittelte Regulation neuronalen Zelltodes hervorzuheben. So konnte bei schizophrenen Patienten mittels MRI ein progressiver Verlust grauer Substanz nachgewiesen werden, was die Annahme unterstützt, dass abnormal gesteigerte Apoptose von Neuronen (Csernansky, 2007) in der Pathophysiologie der Schizophrenie eine Rolle spielt.

4.2 Einfluss von Antipsychotika auf Hypofrontalität

Davis, Kahn und Davidson (1991) schlussfolgern in ihrem überarbeiteten Konzept der Dopaminhypothese, dass gesteigerte Aktivität innerhalb des mesolimbischen Dopaminpfades für Positivsymptome verantwortlich ist. Der mesolimbische Pfad projiziert unter anderem zum Hippocampus, der Amygdala und dem ventralen Striatum. Striatale Dopaminrezeptoren gehören vorwiegend dem D₂-Typ an. Typische Antipsychotika („first generation antipsychotics“, FGA), deren Wirkmechanismus hauptsächlich auf die Blockade v. a. striataler D₂-Rezeptoren beruht, sind demnach besonders effektiv in der Behandlung von Positivsymptomen (Creese, Burt, Snyder, 1976). Auf Negativsymptome und kognitive Defizite haben FGA hingegen eine eher nachteilige Wirkung. Diese Symptome werden nämlich gemäß der Dopaminhypothese einer Unterstimulation des mesokortikalen Pfades der Dopamintransmission zugeschrieben, also Projektionen von der VTA, vor allem zu Strukturen im frontalen Cortex, wo sich vorwiegend D₁-Dopaminrezeptoren befinden. Aus klinischen Gesichtspunkten bedeutender ist jedoch insbesondere das Nebenwirkungsprofil der FGA, das oftmals ein therapeutisches Limit darstellt. Extrapyramidal motorische Symptome (EPS), welche über eine Blockade von D₂-Rezeptoren innerhalb des nigrostriatalen Pfades erklärt werden können, spielen hierbei die wichtigste Rolle. Mit Entwicklung neuerer, sog. atypischer Antipsychotika („second generation antipsychotics“, SGA) kamen Zweifel an der bisher postulierten strengen Korrelation von antipsychotischer Potenz und D₂-Antagonismus auf, da sie - wenn überhaupt - in viel geringerem Maße EPS hervorrufen und z.B. gezeigt werden konnte, dass das atypische Antipsychotikum Clozapin bei effektiver klinischer Dosierung nur zwischen 0 % und 5 % der D₂-Rezeptoren besetzt (Nordström et al., 1995, Pilowsky et al., 1996). Dem Wirkmechanismus atypischer Antipsychotika wurden daraufhin verschiedene Theorien zugrundegelegt. Kapur und Seemann (2000) nahmen an, dass ihre Bindung am D₂-Rezeptor weniger affin ist im Vergleich zu typischen Antipsychotika und somit eine schnellere Dissoziation von Ligand und Rezeptor

stattfindet. Ein weiteres Erklärungsmodell ist die hohe 5HT_{2A}-Rezeptorbindung im Verhältnis zu einer niedrigen D₂-Rezeptoraffinität, die bei atypischen Antipsychotika - mit Ausnahme von Amisulpirid und Aripiprazol - nachgewiesen werden konnte (Meltzer, Matsubara, Lee 1989). Ein möglicherweise synergistischer Effekt von 5HT_{2A}- und D₂-Rezeptor-antagonismus besteht in einer Erhöhung der präfrontalen Dopaminkonzentration (Rollema et al., 1997), die wahrscheinlich über Stimulation von 5HT_{1A}-Rezeptoren vermittelt wird (Ichikawa, Dai, Meltzer, 2001). Das hohe 5HT_{2A}/D₂-Affinitätsverhältnis könnte also sowohl das günstigere Nebenwirkungsprofil atypischer Antipsychotika hinsichtlich EPS, aber auch deren günstige Effekte auf Negativsymptome und kognitive Defizite erklären, die vornehmlich mit dopaminerger Unterfunktion im präfrontalen Kortex begründet werden. Der Einfluss atypischer Antipsychotika auf frontale Hirnfunktion ist in neuropsychologischer und neurophysiologischer Hinsicht vielfach untersucht worden, wobei die Ergebnisse nicht immer eindeutig sind. Studien, die einen günstigen Einfluss auf die kognitive Leistungsfähigkeit, insbesondere auf frontale Hirnfunktionen wie das Arbeitsgedächtnis zeigen konnten (Weiser et al., 2000, Gallhofer et al., 1996, Harvey et al., 2003) sind zahlreich. Auf neurophysiologischer Ebene hingegen sind die Befunde uneinheitlicher. Honey et al. (1999) konnten zeigen, dass in einer Gruppe von 20 schizophrenen Patienten unter Medikation mit typischen Antipsychotika, bei jenen, die einem Medikamentenwechsel auf Risperidon unterzogen wurden, signifikante Hirnaktivierungssteigerungen im DLPFC und im ACC detektierbar waren. Meisenzahl et al. (2006) wiesen nach 12-wöchiger Behandlung mit Quetiapin eine signifikante Steigerung der Hirnaktivität im VLPFC während einer N-Back-Aufgabe nach, wenngleich die Leistung in diesem Paradigma unbeeinflusst blieb. Miller et al. (2001) konnten in einer PET-Studie zwar keine eindeutigen Aktivierungssteigerungen unter Risperidonmedikation verzeichnen, jedoch eine Minderaktivierung insbesondere des frontalen Kortex unter der Therapie mit Haloperidol feststellen. Snitz et al. (2005) untersuchten in einer fMRI Studie 23 schizophrene Patienten, die größtenteils bislang keine antipsychotische Therapie erhalten hatten. Hypothesengemäß konnte eine frontale Minderaktivierung festgestellt werden. Eine

vierwöchige Therapie mit atypischen Antipsychotika zeigte lediglich in Bezug auf den ACC eine Normalisierung, während der DLPFC unbeeinflusst blieb. Auch Schlagenauf et al. (2008) konnten dem Wechsel von klassischen Antipsychotika zu Olanzapin keinen eindeutig positiven Effekt auf die frontale Hirnanaktivierung zuschreiben. Olanzapin hatte demnach keine aktivitätssteigernden Effekte während der 2-Back Aufgabe, wohl aber während der 0-Back-Aufgabe, die weniger Arbeitsgedächtnisleistung als denn Aufmerksamkeit erfordert.

In vorliegender Arbeit wurde Hypofrontalität mittels Nahinfrarotspektroskopie untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass Patienten während der Beanspruchung des Arbeitsgedächtnisses im Vergleich zu gesunden Kontrollen eine insgesamt niedrigere zerebrale Aktivierung und insbesondere kein frontales Aktivierungsmuster zeigen, was die Hypofrontalitäts-Hypothese unterstützt. Lediglich zwei von 37 Patienten erhielten eine antipsychotische Medikation ausschließlich mit klassischen Antipsychotika, wohingegen 23 Patienten mit atypischen Antipsychotika und neun mit einer Kombination aus beiden Medikamentengruppen behandelt wurden. Drei Patienten erhielten keine antipsychotische Medikation. Diese Studie hatte nicht zum Ziel, den Effekt atypische Antipsychotika auf Hypofrontalität zu untersuchen, so dass für explorative Vergleiche beider Antipsychotikagruppen die Anzahl der mit klassischen Antipsychotika behandelten Patienten zu klein ist. Wie bereits erläutert, sind die Ergebnisse zu den Effekten atypischer Antipsychotika auf neurophysiologische Parameter wie den cerebralen Blutfluss als Korrelat der Hirnaktivität nicht einheitlich. Ginge man dennoch von einem tendentiell positiven Einfluss aus, scheint die deutlich gemessene Hypofrontalität der hier untersuchten Patienten noch frappierender. Andererseits könnte man auch argumentieren, dass atypische Neuroleptika keinen großen Effekt auf die präfrontale Hirnaktivität zu haben scheinen - sofern man dies alleine durch eine bildgebende Untersuchung ohne Vergleichsaufnahmen überhaupt beurteilen kann.

4.3 Schizophrenie und Kognition

4.3.1 Arbeitsgedächtnis und Auswahl kognitiver Paradigmen

4.3.1.1 N-Back-Aufgabe

Mittels elektrophysiologischen, aber auch magnetresonanztomographischen Untersuchungen konnte eine frontale Minderaktivierung, speziell des linken DLPFC bei schizophrenen Patienten festgestellt werden (Hypofrontalitätskonzept, Ingvar und Franzen, 1974). Diese Befunde decken sich mit der ebenfalls vielfach festgestellten, defizitären Arbeitsgedächtnisfunktion schizophrener Patienten, da die anatomischen Korrelate des Arbeitsgedächtnisses in frontalen Hirnregionen zu finden sind. Folglich setzt man kognitive Paradigmen zur Prüfung des Arbeitsgedächtnisses ein, um eben jene Gehirnregionen zu untersuchen.

Die N-Back-Aufgabe eignet sich in besonderem Maße zur Untersuchung des Arbeitsgedächtnisses, da sie viele Ansprüche an mehrere in das Arbeitsgedächtnis involvierte Prozesse stellt (Owen et al., 2005). Beide Aufgabenbedingungen des N-Back erfordern die kurzfristige Speicherung dargebotener Stimuli, ihre kontinuierliche Aktualisierung und das Abrufen der erinnerten Information zum erforderlichen Zeitpunkt in Verbindung mit einer motorischen Antwort. Obwohl auch die N-Back-Aufgaben neben Prozessen des Arbeitsgedächtnisses zahlreiche andere kognitive Funktionen, wie die Vorbereitung und Exekution motorischer Reaktionen erfordern, sind diese zusätzlich zum Arbeitsgedächtnis eingesetzten Funktionen vergleichsweise gering. In einer Meta-Analyse konnten Owen et al. (2005) zeigen, dass die N-Back-Aufgabe den lateralen prämotorischen Cortex, dorsalen cingulären Cortex, medialen prämotorischen Cortex, dorsolateralen präfrontalen Cortex (DLPFC) und ventrolateralen präfrontalen Cortex (VLPFC), sowie mediale und laterale Anteile des posterioren Cortex aktiviert.

Der Vorteil der N-Back-Aufgabe besteht darin, dass sie in verschiedenen Kategorien moduliert werden kann und somit die Möglichkeit einer parametrischen Abstufung der Beanspruchung des Arbeitsgedächtnisses besteht. Neben der Anzahl und Art der dargebotenen Reiztypen (Wörter, Zahlen oder geometrische Figuren) kann beispielsweise die Anzahl der zu speichernden Reize variiert werden. In der einfachsten Version muss also der aktuell dargebotene Reiz mit dem vorhergehenden verglichen werden, in einer schwierigeren Version muss der aktuelle Reiz mit dem Reiz verglichen werden, der drei Reize vorher dargeboten wurde. Mit zunehmender Verzögerung der Reaktion - d. h. dem „n“ des n-back - steigt die Anzahl der für zukünftige Reaktion aufrechtzuerhaltenden Stimuli und damit die Auslastung des Arbeitsgedächtnisses, auch als „working memory load“ bezeichnet (Braver et al., 1997, Callicot et al., 1999). Da mit einer steigenden Anzahl von „n“ die Wahrscheinlichkeit einer erfolgreichen Bearbeitung der Aufgabe und folglich auch deren Validität abnimmt (Callicot et al., 1999), entschieden wir uns lediglich für die 2-Back-Form.

4.3.1.2 Verbal Fluency Test (VFT)

Das zweite gewählte Paradigma zur Prüfung der präfrontale Hirnfunktion ist der Wortflüssigkeitstest (*Verbal Fluency Test*, VFT), der innerhalb jener Arbeitsgedächtnisaufgaben, welche die Manipulation von Information in den Vordergrund stellen, zu den Generierungsaufgaben zählt (Fletcher, Henson 2001). Der VFT existiert in zwei verschiedenen Versionen, der Buchstaben und der Kategorie-Version. Er erfordert die Generierung möglichst vieler Wörter mit einem vorgegebenen Anfangsbuchstaben bzw. Wörtern aus derselben Kategorie (z. B. Tiere, Dinge, die man in einem Supermarkt kaufen kann) in einem bestimmten Zeitrahmen. Innerhalb der Generierungsaufgaben nimmt der VFT gewissermaßen eine Sonderstellung ein, da er nicht nur die Abfrage von Worten beinhaltet, sondern auch die Entwicklung neuer Strategien zur Unterstützung der Wortgenerierung. Wird eine Versuchsperson demnach aufgefordert, so viele Tiere wie möglich zu nennen, werden möglicherweise zunächst Haustiere, dann wilde Tiere usw. genannt werden. Mit dem VFT wird sowohl der LPFC, die

SMA, als auch temporale Areale der linken Hemisphäre, insbesondere das Broca-Areal aktiviert (Dickins et al., 2001, Ravnkilde et al., 2002).

Ob die Buchstaben- oder die Kategorie Version besser geeignet ist um die PFC-Aktivierung zu detektieren, wird kontrovers diskutiert. Martin et al. (1994) verglichen den Einfluss einer vorwiegend frontal vermittelten Aufgabe und den einer dorso-temporal vermittelten Aufgabe auf die gleichzeitige Bearbeitung des Buchstaben-VFT. Es konnte gezeigt werden, dass vor allem die frontal-medierte Aufgabe die Wortflüssigkeit im Buchstaben-VFT beeinträchtigt, wohingegen es sich bei der Kategorie Version gegensätzlich verhält. Daraus lässt sich schließen, dass der Wortgenerierung in der Buchstaben- und der Kategorie-Version des VFT unterschiedliche Prozesse zugrunde liegen und dass die Abfrage von Wörtern, die mit dem selben Buchstaben beginnen, höhere Ansprüche an frontal-medierte Suchprozesse stellt als an temporal vermitteltes semantisches Wissen. Dementsprechend konnte bei Gesunden, die beide Versionen gleich gut bearbeiteten, die Aktivierung des PFC in einer fNIRS-Untersuchung mittels der Buchstaben-Version deutlicher gezeigt werden. Bei schizophrenen Patienten hingegen verhielt es sich gegensätzlich, was vermuten ließ, dass die semantische Version des lexikalen Zugriffs höhere Ansprüche an den PFC stellt als die Buchstaben-Version (Kubota et al., 2005). Möglicherweise vermochte die Buchstaben Version aber gerade deshalb hemisphärische Asymmetrien in MRI- und NIRS-Untersuchungen deutlicher herauszustellen (Billingsley et al., 2004, Hori et al., 2008). Trotz teilweise widersprüchlicher Meinungen bezüglich der unterschiedlichen Einbeziehung zahlreicher Gehirnregionen in der Buchstaben- versus der Kategorie-Version des VFT, sprechen bisherige Arbeiten eher dafür, dass die Buchstaben-Version des VFT größere Ansprüche an frontal-medierte Prozesse stellt als die Kategorie-Version. Aus diesem Grund entschieden wir uns in vorliegender Arbeit für die Buchstaben-Version des VFT. Wir konnten damit neben einer deutlichen frontalen Minderaktivierung bei Patienten auch eine leichte hemisphärische Asymmetrie zugunsten der linken Hemisphäre sowohl bei Patienten als auch bei Kontrollen aufzeigen.

4.3.2 Funktionelle Bildgebung

4.3.2.1 Funktionelle Bildgebung im Vergleich mit neuropsychologischer Testung

Die funktionelle Bildgebung bietet einige Vorteile gegenüber der Neuropsychologie hinsichtlich des Verständnisses der funktionellen Aufteilung des frontalen Kortex. Zunächst liefert die funktionelle Bildgebung eine relativ präzise räumliche Charakterisierung des frontalen Cortex, der in Größe und Lokalisation interindividuell variieren kann. Sofern die NIRS-Kanäle nach der internationalen 10 – 20-Regel platziert werden, kann man diesem Anspruch - zumindest im Rahmen der allgemeinen Schwierigkeiten der anatomischen Gliederung neuronaler Phänomene - gerecht werden. Allerdings gilt zu beachten, dass nicht jede regionale Hirnaktivierung zwangsläufig notwendig für die Aufgabenbearbeitung ist, sondern auch ein Epiphänomen der Aktivierung an anderer Stelle darstellen kann (Fletcher, Henson, 2001). Gedächtnisdefizite in Folge frontaler Läsionen sind oft subtil und können mittels verschiedener Strategien zur Umgehung des frontalen Cortex möglicherweise kompensiert werden, was in der neuropsychologischen Testung zu Verhaltensdaten führen könnte, die mit jenen gesunder Kontrollen vergleichbar wären. In der funktionellen Bildgebung wie der fNIRS hingegen können Verhaltensdaten mit dem entsprechenden cerebralen Aktivierungsmuster korreliert werden und so individuelle Strategien der Gedächtnisprozesse aufgezeigt werden. Da die fNIRS ein dynamisches Bild des Gedächtnisprozesses liefert, ist sie außerdem in der Lage, verschiedene Etappen des Gedächtnisprozesses darzustellen.

4.3.2.2 Funktionelle Bildgebung mit fNIRS

Die NIRS ist mittlerweile zu einer häufig angewandten Methode der funktionellen Bildgebung in der Psychiatrie geworden, nicht zuletzt aufgrund der relativen Kostengünstigkeit, der Transportfähigkeit und der Nichtinvasivität des Verfahrens, welche die Untersuchung vereinfachen und somit das Patienten-

kollektiv erweitern können. Im Vergleich mit einer häufig angewandten elektrophysiologischen Untersuchungsmethode, dem EEG, erlangt die fNIRS eine ebenso gute räumliche und zeitliche Auflösung. Die räumliche Auflösung der fNIRS erreicht jedoch nicht die Sensitivität einer fMRI- oder PET-Untersuchung. Mit der Elektrodenplatzierung nach dem international anerkannten und mit anatomischen Landmarken korrelierten 10-20-System (Steinmetz, Fürst, Meyer, 1989) wird versucht dem Anspruch der räumlichen Auflösung gerecht zu werden. Amunts und Kollegen (1999) konnten bezüglich des Broca-Areals als Beispiel einer solchen Landmarke eine zehnfache Größendifferenz alleine innerhalb einer Gruppe von zehn Individuen feststellen. Eine präzise Elektrodenplatzierung für die fNIRS-Messung ist also Voraussetzung, jedoch nicht Garantie für exakte räumliche Auflösung. Ein weiteres Problem der räumlichen Auflösung in der fNIRS geht aus der Lichtstreuung durch Gewebe hervor, was bedeutet, dass die räumliche Auflösung mit der Tiefe der Aufzeichnung abnimmt, so dass nur corticale Aktivierungsmuster registriert werden können. Die Aufzeichnung von Aktivierung in tiefer gelegenen Arealen, wie dem Hippocampus ist somit leider nicht möglich, was insbesondere in der Schizophrenieforschung einen großen Nachteil darstellt. Der in vorliegender Arbeit relevante präfrontale Kortex gehört zu den oberflächlicher gelegenen Hirnarealen und ist damit der fNIRS sehr gut zugänglich. Die im Vergleich zu PET-und fMRI-Untersuchungen geringere räumliche Auflösung muss also stets vor dem Hintergrund der Fragestellung betrachtet werden. PET und fMRI bergen außerdem den Nachteil einer schlechteren zeitlichen Auflösung, so dass die fNIRS die einzige funktionelle Bildgebungsmethode darstellt, die eine akzeptable räumliche Auflösung mit einer exzellenten zeitlichen Auflösung verbindet, sicherlich um den Preis der ausschließlich corticalen Bildgebung.

4.4 *NOS1*-Promoter-Polymorphismen und präfrontale Hirnfunktion

4.4.1 *NOS1* Ex1f-VNTR

Zuvor wurde bereits erwähnt, dass der VNTR von *NOS1*-Exon 1f die Schwere der Psychopathologie beeinflusst. Lange Promoter-Allele waren in der Studie von Reif et al. (2006) mit weniger schwerer Psychopathologie assoziiert. Außerdem konnte gezeigt werden, dass beim Vorliegen von langen Allelen die *NOS1*-Expression im Vergleich zu kurzen Allelen gesteigert ist. Folglich gelten Träger der kurzen Allele (SS-Genotyp) als Risikoallel-Träger. Passend dazu zeigten diese Probanden niedrigere P300-Amplituden der Antwort-Inhibition im Continuous-Performance-Test (CPT) im Sinne einer erniedrigten cerebralen Aktivierung frontaler Strukturen.

4.4.1.1 Verhaltensdaten

Für die Verhaltensdaten konnten bezüglich des *NOS1* Ex1f-VNTR weder im N-Back, noch im VFT signifikante Effekte gezeigt werden. Dies war auch in der o. g. genannten Studie (Reif et al., 2006) – im Gegensatz zu *NOS1*-Exon 1c-SNP (rs41279104) – nicht gelungen. Eine mögliche Ursache hierfür könnte sein, dass die beiden Promoter-Varianten für unterschiedliche Exons kodieren, die in unterschiedlichen Hirnarealen exprimiert werden. So findet man *NOS1*-Exon 1f v.a. in den Basalganglien, Exon 1c hingegen im Hippocampus, frontalem Cortex und Basalganglien. Das Verteilungsmuster für Exon 1f-VNTR ist spezifischer und die frontale Expression nur sehr gering. Da mit den gewählten kognitiven Paradigmen vorwiegend frontale Hirnareale angesprochen wurden, ist es gut möglich, dass dieser Promoter-Polymorphismus hier keinen Effekt zeigt, zumal

auch die Stichprobe relativ klein ist für die Detektion geringer Geneffekte, wie sie bei Verhaltensmaßen anzunehmen sind.

4.4.1.2 Aktivierung

Bezüglich des VNTR von *NOS1*-Exon 1f ergab sich für die Gruppe aller Probanden (Patienten und Kontrollen) im VFT zunächst eine niedrige HHb-Konzentration für den SS-Genotyp, wobei die HHb-Konzentration in der rechten Hemisphäre unter der in der linken Hemisphäre lag ($p = 0,058$), was knapp den Signifikanzgrenzwert verfehlte. Unter 4.4.2.2. werden die möglichen Interpretationsmöglichkeiten der HHb-Konzentrationsänderungen erläutert. Eine verminderte HHb-Konzentration kann einerseits Begleiterscheinung einer relativ vermehrten venösen Oxygenierung i. S. einer cerebralen Aktivierung sein. Andererseits kann ein Abfall der HHb-Konzentration als Zeichen der Minderaktivierung gelten, wenn man eine verminderte oder ausbleibende venöse Dilatation zugrunde legt, welche als Begleitmechanismus einer Aktivierung auftreten würde.

Eine vermehrte cerebrale Aktivierung bei SS-Genotyp-Trägern im Vergleich zu Trägern langer Allele während einer N-Back-Aufgabe konnte durch Kopf et al. (in Revision, 2011) in einer Gruppe von 56 gesunden Probanden gezeigt werden. Auch hier wurden keine Unterschiede bezüglich der Verhaltensdaten festgestellt. Als Zeichen der cerebralen Aktivierung war ein Anstieg von Oxy-Hb definiert worden, HHb ging nicht mit in die Analysen ein. Interessanterweise wurde neben dem VLPFC und dem DLPFC auch der parietale Cortex (Brodmann Areale 7, 39, 40) untersucht. Das in der vorliegenden Arbeit verwendete Probe-Set schließt den parietalen Assoziationskortex nur teilweise mit ein (Kanäle 10, 11, 14, 15). Kopf et al. deuteten die vermehrte cerebrale Aktivierung bei gleichzeitig im Vergleich zu Trägern des langen Allels unveränderten Verhaltensdaten als kompensatorischen Mechanismus, auf welchen Risikoallelträger zum Ausgleich einer defizitärer Arbeitsgedächtnisfunktion zurückgreifen. Da auch in vorliegender Arbeit keine Unterschiede bezüglich der Verhaltensdaten gesehen werden konnten, würde die Deutung einer niedrigen

HHb-Konzentration als Zeichen der cerebralen Aktivierung die Überlegung von Kopf et al. unterstützen.

Eine cerebrale Minderaktivierung bei Risikoallel-Trägern würde im Einklang stehen mit o.g. Vorbefunden, die eine verminderte *NOS1*-Expression und geringere cerebrale Aktivierung (niedrigerer P300-Amplituden) bei Vorhandensein von kurzen Allelen im VNTR nahelegen. Dass das Aktivierungsdefizit zu Lasten der rechten Hemisphäre ausfällt, würde in das physiologische Aktivierungsmuster während des VFT passen. Ob dem HHb-Abfall nun eine Minder- oder Mehraktivierung zugrunde liegt, ist letztendlich nicht geklärt und soll im Rahmen eines knapp den Signifikanzgrenzwert verfehlenden Ergebnisses hier nicht weiter diskutiert werden.

4.4.2 *NOS1*-Exon 1c-SNP (rs41279104)

Wie eingangs erläutert, führt das Risikoallel von *NOS1*-Exon 1c-SNP (rs41279104) zu einer um ca. 30 % verminderten Exon 1c-Expression. Möglicherweise ist diese Herunterregulierung von einer entsprechenden Hochregulierung von *NOS1*-Exon 1f begleitet. Da im frontalen Cortex vor allem Exon 1c exprimiert wird, könnte das Risikoallel entweder zu einer generell verminderten *NOS1*-Expression führen oder aber zu einem veränderten Expressionsmuster anderer alternativer erster Exons mit bislang unbekanntem funktionellen Konsequenzen. Indes führen möglicherweise auch beide Möglichkeiten zu einer Beeinträchtigung des NO-Signalweges im präfrontalen Cortex.

4.4.2.1 Verhaltensdaten

In vorliegender Arbeit wurde die frontale Hirnfunktion zum einen mit den Leistungsdaten bei der Bearbeitung der Arbeitsgedächtnisaufgaben VFT und N-Back gemessen und zum anderen mit den cerebralen Aktivierungsmustern

während der Bearbeitung o. g. Aufgaben, aufgezeichnet mit NIRS. Erwartungsgemäß bearbeiteten schizophrene Patienten beide Aufgaben allgemein schlechter, für den **2-Back-Test** konnte indes darüber hinaus eine signifikante Korrelation mit dem Risikoallel gezeigt werden. Da sich im 1-Back keine Korrelation mit dem Risikoallel ergab, kann man annehmen, dass die durch das Risikoallel verursachte Dysfunktion des glutamatergen Systems erst bei höheren Ansprüchen an das Arbeitsgedächtnis manifest wird. Mit dem „n“ des n-back steigt die Anzahl der für zukünftige Reaktionen aufrecht zu erhaltenden Stimuli und damit die Auslastung der Arbeitsgedächtniskapazität. Eine Dysfunktion des Arbeitsgedächtnisses könnte sich mit steigendem working-memory-load also akzentuieren, was in vorliegender Arbeit für das Risikoallel gezeigt werden konnte. Darüber hinaus sind beim 1-Back vorwiegend Aufmerksamkeits- als denn Arbeitsgedächtnisprozesse involviert, die bei der 2-Back-Aufgabe im Vordergrund stehen.

Die Verhaltensdaten im **VFT** bei Patienten unterschieden sich nicht signifikant in Abhängigkeit vom Genotyp. Folglich führt das Risikoallel per se wohl nicht zu schlechteren Verhaltensdaten. Unterstützt wird diese Annahme durch die von Reif et al. (2006) untersuchten Einflüsse von *NOS1*-Exon 1c auf präfrontale Hirnfunktion. Im VFT konnten hier bei erkrankten Risikoallel-Trägern ebenfalls keine veränderten Verhaltensdaten festgestellt werden. Im CPT konnte das Risikoallel sogar mit weniger Auslassfehlern und reduzierten P300-Latenzen assoziiert werden. Vor dem Hintergrund, dass das Risikoallel zu einer verminderten *NOS1*-Exon 1c-Transkription führt, könnte man in der folglich verminderten exzitatorischen NO-Signaltransduktion eine erhöhte Aufmerksamkeit bezüglich einzelner Reize sehen. Dies würde gut zu dem pathophysiologischen Konzept der Schizophrenie passen, welches einen hyperglutamatergen Zustand in frontalen Hirnarealen beschreibt.

Die Tatsache, dass das Risikoallel möglicherweise sogar günstige Effekte auf Informationsverarbeitung hat und gleichzeitig eine Krankheitsdisposition bedeutet, könnte helfen die hohe Prävalenz der Schizophrenie von 1% zu

erklären. Wie bereits erwähnt, konnte auch im **1-Back** keine Beeinträchtigung der Verhaltensdaten im Abhängigkeit vom Risikoallel festgestellt werden. Unter der Annahme, dass die Bearbeitung des 1-Back aufgrund eines niedrigeren Working-Memory-Load weniger verschiedene Arbeitsgedächtnisprozesse involviert als der 2-Back, könnte man den 1-Back-Aufgabentyp auch als Maß der generellen Aufmerksamkeit betrachten. So könnte man die vorliegenden Ergebnisse auch dahingehend deuten, dass *NOS1*-Exon 1c-SNP die präfrontale Hirnfunktion eher in Bezug auf das differenzierte Arbeitsgedächtnisprozesse kompromittiert, als dass er die Aufmerksamkeit beeinflusst. Diese Überlegung wäre ebenfalls übereinstimmend mit dem o. g. Konzept von Reif et al. (2006).

Wie eingangs erwähnt, führt das Risikoallel von *NOS1*-Exon 1c-SNP (rs41279104) über eine um 30 % verminderte *NOS1*-Exon 1c-Transkription zu einer *defizitären* *NOS1*-Expression mit bisher nicht identifizierten funktionellen Konsequenzen. Vor allem im präfrontalen Kortex, wo so gut wie kein Exon 1f exprimiert wird und damit auch keine kompensatorische Hochregulierung desselben das Defizit ausgleichen könnte, ist von einer Beeinträchtigung der NO-vermittelten Signaltransduktion auszugehen. Im Falle einer funktionellen Beeinträchtigung durch das Risikoallel muss der komplexe Regelkreis GABAerger und glutamaterger Signaltransduktion in verschiedenen Hirnarealen berücksichtigt werden. So führt eine glutamaterge Dysfunktion, wie sie durch das Risikoallel von *NOS1*-Exon 1c (rs41279204) hervorgerufen werden kann, im frontalen Kortex via Disinhibition GABAerger Interneurone zu einer glutamatergen Hyperaktivität. Ob dies nun positive Konsequenzen auf die Informationsverarbeitung haben kann, im Sinne einer besseren Reizfilterung und Aufmerksamkeit (Reif et al., 2006) oder ob dies vielmehr zu einer Beeinträchtigung der präfrontal vermittelten Arbeitsgedächtnisfunktion führt, ist nicht definitiv geklärt. Letztere Möglichkeit wird durch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit insofern unterstützt, als hier das Risikoallel unter Patienten zu langsamerer Reaktionszeit im 2-Back-Test führte. Die Verhaltensdaten im 1-Back und im VFT lassen jedoch keine Korrelation mit dem Risikoallel zu und

deuten möglicherweise auf eine unbeeinträchtigte Aufmerksamkeit hin, was ebenso konsistent mit den Ergebnissen von Reif et al. (2006) wäre.

Konzentriert man sich auf die Beeinträchtigung der Verhaltensdaten im 2-Back durch das Risikoallel des *NOS1*-Exon 1c-SNP (rs41279104) und dessen Rolle in der glutamatergen Signaltransduktion, so sind pharmakologische Studien an Nagern interessant, die eine kompromittierte präfrontale NO-Signaltransduktion mit einer gestörten NMDA-R-Funktion assoziieren konnten. Hierbei dient die durch PCP-induzierte verminderte Signaltransduktion an NMDA-R dazu, eine Unterfunktion des NMDA-R zu imitieren. An dieser Stelle sei auf das eingangs erläuterte Konzept der Disinhibition GABAerger Interneurone durch Glutamat verwiesen, das zu einem hyperglutamatergen Zustand im präfrontalen Cortex führt. Als behaviorales Paradigma wird häufig die bei Schizophrenen abgeschwächte Präpulsinhibition (PPI) herangezogen, die als ein frontal-medierter Prozess angesehen wird. PPI bezeichnet die Applikation eines akustischer Reizes als Puls vor einem Schreckreiz, wodurch die Reaktion auf letzteren abgeschwächt wird (Grillon et al., 1992). Klamer et al. (2005) konnten zeigen, dass PCP als Modell einer NMDA-R-Unterfunktion neben einer Beeinträchtigung der PPI die Bewegungsaktivität in Nagern positiv zu beeinflussen vermag. Dass die gestörte NMDA-R-Funktion NO-abhängig ist, konnte von derselben Arbeitsgruppe gezeigt werden. Durch Applikation des NOS-Inhibitors N(G)- Nitro-L-Arginin-Methyl-Ester (L-NAME) konnte die PCP-induzierten Effekte auf PPI und Hyperlokomotion aufgehoben werden, im Sinne einer Antagonisierung des hyperglutamatergen Zustandes. L-NAME vermag auch weitere Effekte der PCP-Applikation im Tierversuch aufzuheben, die dem Modell der Schizophrenie sehr nahe kommen, wie z. B. die Störung des räumlichen oder des Arbeitsgedächtnisses, wobei die alleinige L-NAME-Verabreichung keine (Wass et al., 2006) oder nur dosisabhängige Effekte zeigt (Pitsikas et al., 2003). Letztgenannte Erkenntnis verdeutlicht, dass die Beziehungen zwischen PCP, dem NMDA-R und NOS-Inhibition sehr komplex und noch nicht vollständig verstanden sind. Die Ergebnisse vorliegender Arbeit können zumindest die Theorie einer gestörten NOS-I-Funktion als Grundlage

einer kompromittierten glutamatergen Signaltransduktion im präfrontalen Cortex weiter unterstützen.

4.4.2.2 Aktivierung

Veränderungen im cerebralen Aktivierungsmuster als Funktion des Genotyps konnten für das **N-Back-Paradigma** nicht gezeigt werden. Für den **VFT** konnte jedoch eine in Abhängigkeit vom Risikoallel signifikant höhere Deaktivierung der rechten Hemisphäre bei Patienten beobachtet werden, als **HHb-Anstieg** detektiert. Als Muster der cerebralen Aktivierung wurde der Anstieg von OxyHb bei gleichzeitigem Abfall von HHb definiert. Konzentrationsänderungen an deoxygeniertem Hämoglobin sind auf zwei Mechanismen zurückführen, die beide Folge eines erhöhten Sauerstoffbedarfes während einer kognitiven Beanspruchung sind: Zum einen die Dilatation venöser Gefäße, die zu einem Anstieg der HHb-Konzentration führt und zum anderen die venöse Oxygenierung, die die HHb-Konzentration wiederum sinken lässt. Je nachdem, welcher Mechanismus überwiegt, kann ein Anstieg, ein Abfall oder auch keine Änderung der HHb-Konzentration in der fNIRS-Messung zu verzeichnen sein. Aufgrund dieser Tatsachen erklärten Hoshi, Kobayshi, Tamura (2001) OxyHb zum sensitivsten Parameter der fNIRS-Messung. Plichta et al. (2006) verglichen ebenfalls die NIRS-Parameter OxyHb und HHb. HHb zeigte niedrigere t-Werte und insgesamt weniger Kanäle mit Aktivierung. Letzteres könne aber auch als erhöhte räumliche Spezifität gedeutet werden, die jedoch stets begleitet ist von weniger statistischer Power und damit verminderter Reproduzierbarkeit. Somit erklärten auch sie einen OxyHb-Anstieg bei gleichzeitigem HHb-Abfall als Indikator für kortikale Aktivierung. Es ist folglich also nicht völlig geklärt, ob der HHb-Anstieg als Folge venöser Dilatation ein Hinweis auf cerebrale Aktivierung ist oder ob er vielmehr Ausdruck einer verminderten venösen Oxygenierung ist, was wiederum auf eine cerebrale Minderaktivierung schließen ließe.

Für eine cerebrale **Minderaktivierung** in Abhängigkeit vom Risikoallel spräche auch der statistische Trend einer betont rechtshemisphärischen Minderakti-

vierung bei Betrachtung des sensitiveren Parameters OxyHb. Ginge man von einer verminderten cerebralen Aktivierung der rechten Hemisphäre in Abhängigkeit vom Risikoallel aus, könnte man dies als Ausdruck einer generell verminderten frontalen Aktivierung werten, die sich hier vorwiegend in der rechten Hemisphäre zeigt. Hierbei ist jedoch zu beachten, dass das verwendete Probe-Set neben dem frontalen Kortex auch Teile des temporalen und parietalen Cortex einschließt. Wenn man also von rechtshemisphärischer Minderaktivierung spricht, ist hierbei nicht nur der präfrontale Kortex eingeschlossen, dessen Funktion vor allem mit *NOS1* assoziiert ist. Um hier genauer zu differenzieren, müsste man den relevanten präfrontalen Hirnregionen einzelne Kanäle zuordnen.

Eine Erweiterung der NIRS-Kanäle auf temporale Areale wäre auch im Zusammenhang mit dem Konzept der fronto-temporalen Diskonnektivität (Frith et al., 1995) bei schizophrenen Patienten interessant. Frith et al. konnten zeigen, dass der Anstieg des cerebralen Blutflusses im DLPFC bei gesunden Kontrollpersonen im VFT an einen relativen Abfall des cerebralen Blutflusses im linken superioren temporalen Gyrus gekoppelt ist. Schizophrene Patienten wiesen hingegen kein solches Aktivierungsmuster auf; bei ihnen konnte sogar eine relative Mehraktivierung im linken temporalen superioren Gyrus gezeigt werden. Man könnte folglich die Ergebnisse vorliegender Studie, nämlich die verminderte Aktivierung der rechten Hemisphäre, die sowohl präfrontale als temporale Areale einschließt, als relative Minderaktivierung im Vergleich zur linken Hemisphäre betrachten. Demnach würde das Risikoallel dazu führen, dass der physiologische Abfall des cerebralen Blutflusses im linken DLPFC ausbleibt und als relative Minderaktivierung der rechten Seite imponiert. Diese Auslegung vorliegender Ergebnisse wäre konsistent mit dem vielfach unterstützten Konzept der fronto-temporalen Diskonnektivität bei schizophrenen Patienten (Frith et al., 1995, Fletcher et al., 1996, Friston et al., 1996, Burns et al., 2003).

Wie bereits erläutert, kann man den rechtshemisphärische HHb-Anstieg auch als **Aktivierungsmuster** infolge venöser Dilatation betrachten. Vor dem Hintergrund, dass unter Bearbeitung eines VFT vor allem die linke Hemisphäre, d. h. der linke DLPFC und das überwiegend linkshemisphärisch lokalisierte Broca-Areal beansprucht werden, könnte man die rechtshemisphärische Mehraktivierung bei Patienten in Abhängigkeit vom Risikoallel als einen Kompensationsmechanismus in Reaktion auf verminderte frontale Aktivierung betrachten. In diesem Zusammenhang ist interessant, dass sich die Verhaltensdaten im VFT bei Patienten, wie oben bereits erwähnt, nicht signifikant in Abhängigkeit vom Genotyp unterscheiden. Eine mögliche Ursache dafür könnte die genannte kompensatorische rechtshemisphärische Mehraktivierung sein, die sich hinter dem HHb-Anstieg verbergen könnte. Eine - wenn auch unphysiologische - Mehraktivierung könnte demnach eine defizitäre Arbeitsgedächtnisfunktion ausgleichen. Dafür spräche auch, dass in der 2-Back-Aufgabe, wo keine veränderte cerebrale Aktivierung in Abhängigkeit vom Genotyp herausgestellt werden konnte, die Verhaltensdaten im 2-Back bei Patienten mit Risikoallel signifikant differierten.

5 Zusammenfassung

Kognitive Defizite in Aufgaben, welche die präfrontale Hirnfunktion, wie das Arbeitsgedächtnis und die Wortflüssigkeit, involvieren, gelten als Schlüsselkomponente der Schizophrenie. Dies führte zur „Hypofrontalitätsthese der Schizophrenie“, die allgemein anerkannt ist, obwohl sie sich bislang definitiver molekularer Grundlagen entbehrt. Störungen der glutamatergen Neurotransmission mögen eine Rolle spielen, jedoch wurden andere Komponenten bisher kaum untersucht. Kürzlich wurde die Promotorregion von NOS-1, die Einfluss auf glutamaterge Neurotransmission nimmt, wiederholt mit Schizophrenie assoziiert. Daher untersuchten wir zwei funktionale Promoter-Polymorphismen des *NOS1*-Gens hinsichtlich ihres Einflusses auf die präfrontale Hirnfunktion schizophrener Patienten. Einer der beiden Promoter-Polymorphismen (rs41279104), dessen selteneres Allel zu reduzierter Expression des *NOS1*-Transkriptes führt, wurde bereits als Risikovariante für schizophrene Psychosen beschrieben. Es wurden 43 an chronischer Schizophrenie leidende Patienten sowie 44 gesunde Kontrollpersonen für rs41279104 und *NOS1* Exon 1f-VNTR genotypisiert und mittels funktioneller Nahinfrarotspektroskopie (fNIRS) untersucht, während sie eine Arbeitsgedächtnis- (N-Back-Test) und eine Wortflüssigkeitsaufgabe (VFT) bearbeiteten, die als Indikator für präfrontale Hirnfunktionen etabliert sind. Nach dem Matching hinsichtlich des Genotypes verblieben Verhaltens- und Hirnaktivierungsdaten von 26 Patienten und 28 Kontrollen, die zu rs41279104 und *NOS1* ex1f-VNTR in Beziehung gesetzt wurden. Gesunde Kontrollen zeigten eine signifikante Aktivierung großer Areale des lateralen präfrontalen Cortex während beider Aufgaben, wohingegen Aufgaben-assoziierte Veränderungen der cerebralen Oxygenierung bei Patienten signifikant reduziert waren. Schizophrene Patienten bearbeiteten außerdem beide Aufgaben schlechter. Das rs41279104 Risikoallel (Genotyp AA/AG) konnte mit langsamerer Reaktionszeit im 2-Back-Test sowie bei Patienten mit reduzierter rechtshemisphärischer Aktivierung des frontalen Cortex während des VFT in Verbindung gebracht werden.

Unsere fNIRS-Daten erweitern vorangegangene Studien, welche eine gestörte präfrontale Hirnfunktion bei Schizophrenie andeuten und lassen darauf schließen, dass eine genetische Variation von *NOS1* eine Rolle in dieser kognitiven Dysfunktion spielt, womöglich durch Beeinflussung glutamaterger Neurotransmission.

6 Literaturverzeichnis

- Abi-Dargham, A., Laruelle, M., 2005. Mechanisms of actions of second generation antipsychotic drugs in schizophrenia: insights from brain imaging studies. *European Psychiatry*, 20, 15-27.
- Akbarian S., Viñuela A., Kim J. J., Potkin S. G., Bunney W. E. Jr., Jones E. G., 1993. Distorted distribution of nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate- diaphorase neurons in temporal lobe of schizophrenics implies anomalous cortical development. *Archives of General Psychiatry*, 50, 178-87.
- Altman, J., Das, G. D., 1965(a). Post-natal origin of microneurons in the rat brain. *Nature*, 207, 953-956.
- Altman, J., Das, G. D., 1965(b). Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis. *The Journal of Comparative Neurology*, 124, 319-335.
- Altshuler L. L., Conrad, A., Kovelman, J. A., Scheibel, A., 1987. Hippocampal pyramidal cell orientation in schizophrenia. A controlled neurohistologic study of the Yakovlev collection. *Archives of General Psychiatry*, 44, 1094-1098.
- Amunts, K., Schleicher, A., Bürgel, U., Mohlberg, H., Uylings, H. B., Zilles, K., 1999. Broca's region revisited. Cytoarchitecture and intersubject variability. *The Journal of Comparative Neurology*, 412, 319-341.
- Andreasen, N., Nasrallah, H. A., Dunn, V., Olson, S. C., Ehrhardt, J. C., Coffman, J. A., Crossett, J. H., 1986. Structural abnormalities in the frontal system in schizophrenia. A magnetic resonance imaging study. *Archives of General Psychiatry*, 43, 136-144.
- Andreasen, N. C., Rezai, K., Allinger, R., Swayze, Flaum, M., Kirchner, P., Cohen, G., O'Leary, D. S., 1992. Hypofrontality in neuroleptic-naive patients and in patients with chronic schizophrenia. Assessment with xenon 133 single photon emission computed tomography and the Tower of London. *Archives of General Psychiatry*, 49, 943-958.
- Angrist, B., van Kamen, D. P., 1984. CNS stimulants as a tool in the study of schizophrenia. *Trends in Neurosciences*, 7, 388-390.
- Baba, H., Suzuki, T., Arai, H., Emson, P. C., 2004. Expression of nNOS and soluble guanylate cyclase in schizophrenic brain. *Neuroreport*, 15, 677-680.
- Baddeley, A., 1986. *Working memory*. Oxford University Press, Oxford.
- Baddeley, A., 1992. Working memory. *Science*, 255, 556-559.
- Baddeley, A., 2003. Working memory: looking back and looking forward. *Nature Reviews Neuroscience*, 4, 829-839.
- Baddeley, A., 2000. The episodic buffer: a new component of working memory? *Nature Reviews Neuroscience*, 4, 829-839.
- Bernstein, H. G., Grecksch, G., Becker, A., Höllt, V., Bogerts, B., 1999. Cellular changes in rat brain areas associated with neonatal hippocampal damage. *Neuroreport*, 10, 2307-2311.

- Billingsley, R. L., Simos, P. G., Castillo, E. M., Sarkari, S., Breier, J. I., Pataraiia, E., Papanicolaou, A. C., 2004. Spatio-temporal cortical dynamics of phonemic and semantic fluency. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, 26, 1031-1043.
- Biver, F., Goldman, S., Luxen, A., Delvenne, V., DeMaertelaer, V., DeLaFuente, J., Mendlewicz, J., Lotstra, F., 1995. Altered frontostriatal relationship in unmedicated schizophrenic patients. *Psychiatry Research*, 61, 161-171.
- Boks, M. P., Rietkerek, T., van de Beek, M. H., Sommer, I. E., de Koning, T. J., Kahn, R. S., 2007. Reviewing the role of the genes G72 and DAAO in glutamate neurotransmission in schizophrenia. *European Neuropsychopharmacology*, 17, 567-572.
- Black, M. D., Selk, D. E., Hitchcock, J. M., Wettstein, J. G., Sorensen, S. M., 1999. On the effect of neonatal nitric oxide synthase inhibition in rats: a potential neurodevelopmental model of schizophrenia. *Neuropharmacology*, 38, 1299-1306.
- Bleuler, Eugen, 1911. *Dementia praecox oder die Gruppe der Schizophrenien*. Deuticke, Leipzig und Wien.
- Blum-Degen, D., Heinemann, T., Lan, J., Pedersen, V., Leblhuber, F., Paulus, W., Riederer, P., Gerlach, M., 1999. Characterisation and regional distribution of nitric oxide synthase in the human brain during normal ageing. *Brain Research*, 834, 128-135.
- Braver, T. S., Cohen, J. D., Nystrom, L. E., Jonides, J., Smith, E. E., Noll, D. C., 1997. A parametric study of prefrontal cortex involvement in human working memory. *Neuroimage*, 5, 49-62.
- Brenman, J. E., Christopherson, K. S., Craven, S.E., McGee, A. W., Bredt, D. S., 1996. Cloning and characterisation of postsynaptic density 93, a nitric oxide synthase interacting protein. *Journal of Neuroscience*, 16, 7407-7415.
- Britsch, S., 2007. The neuregulin-I/ErbB signaling system in development and disease. *Advances in Anatomy, Embryology and Cell Biology*, 190, 1-65.
- Buchsbaum, M. S., Haier, R. S., Potkin, S. G., Nuechterlein, K., Bracha, H. S., Katz, M., Lohr, J., Wu, J., Lottenberg, S., Jerabek, P. A., 1992. Frontostriatal disorder of cerebral metabolism in never-medicated schizophrenics. *Archives of General Psychiatry*, 49, 935-942.
- Buonanno, A., Kwon, O. B., Yan, L., Gonzalez, C., Longart, M., Hoffman, D., Vullhorst, D., 2008. Neuregulins and neuronal plasticity : possible relevance in schizophrenia. *Novartis Foundation Symposium*, 289, 165-177, discussion 177-179, 193-195.
- Burette, A., Zabel, U., Weinberg, R. J., Schmidt, H. H., Valtschanoff, J. G., 2002. Synaptic localization of nitric oxide synthase and soluble guanyl cyclase in the hippocampus. *Journal of Neuroscience*, 22, 8961-8970.
- Burns, J., Job, D., Bastin, M. E., Whalley, H., Macqillivray, T., Johnstone, E. T., Lawrie, S .M., 2003. Structural disconnectivity in schizophrenia: a diffusion tensor magnetic resonance imaging study. *British Journal of Psychiatry*, 138, 439-443.

- Burstyn, J. N., Yu, A. E., Dierks, E. A., Hawkins, B. K., Dawson J. H., 1995. Studies of the heme coordination and ligand binding properties of soluble guanylyl cyclase (cGC) characterization of Fe(II)sGC and FE(II)sGC(CO) by electronic absorption and magnetic circular dichroism spectroscopies and failure of CO to activate the enzyme. *Biochemistry*, 34, 5896-5903.
- Buttenschøn, H. N., Mors, O., Ewald, H., McQuillin, A., Kalsi, G., Lawrence, J., Gurling, H., Kruse, T.A., 2004. No association between a neuronal nitric oxide synthase (NOS1) gene polymorphism on chromosome 12q24 and bipolar disorder. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics. The official publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 124B(1), 73-75.
- Callicott, J. H., Mattay, V. S., Bertolino, A., Finn, K., Coppola, R., Frank, J.A., Goldberg, T. E., Weinberger, D. R., 1999. Physiological characteristics of capacity constraints in working memory as revealed by functional MRI. *Cerebral Cortex*, 9, 20-26.
- Cannon, T. D., Rosso, I. M., Bearden, C. E., Sanchez, L. E., Hadley, T., 1999. A prospective cohort study of neurodevelopmental processes in the genesis and epigenesis of schizophrenia. *Development and Psychopathology*, 11 (3). 467-458.
- Chanrion, B., Mannoury la Cour, C., Bertaso, F., Lerner-Natoli, M., Freissmuth, M., Millan, M. J., Bockaert, J., Marin, P., 2007. Physical interaction between the serotonin transporter and neuronal nitric oxide synthase underlies reciprocal modulation of their activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 10, 8119-8124.
- Chiavegatto, S., Dawson, V. L., Mamounas, L. A., Koliatsos, V. E., Dawson, T. M., Nelson, R. J., 2001. Brain serotonin dysfunction accounts for aggression in male mice lacking neuronal nitric oxide synthase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98, 1277-1281.
- Chua, S. E., McKenna, P. J., 1995. Schizophrenia- a brain disease? A critical review of structural and functional cerebral abnormality in the disorder. *British Journal of Psychiatry*, 166, 563-582.
- Chung, H. T., Pae, H. O., Choi, B .M., Billiar, T. R., Kim, Y. M., 2001. Nitric oxide as a bioregulator of apoptosis.. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 282, 1075-1079.
- Cornblatt, B. A., Keilp, J. G., 1994. Impaired attention, genetics, and the pathophysiology of schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 20, 31-46.
- Conrad, A. J., Abebe, T., Austin, R., Forsythe, S., Scheibel, A. B., 1991. Hippocampal pyramidal cell disarray in schizophrenia as a bilateral phenomenon. *Archives of General Psychiatry*, 48, 413-417.
- Creese, I., Burt, D. R., Snyder, S. H., 1976. Dopamine receptor binding predicts clinical and pharmacological potencies of antischizophrenic drugs. *Science*, 192, 481-483.

- Crow, T. J., Ball, J., Bloom, S. R., Brown, R., Bruton, C. J., Colter, N., Frith, C. D., Johnstone, E. C., Owens, D. G. C., Roberts, G. W., 1989. Schizophrenia as an abnormality of development of cerebral asymmetry. A post mortem study and a proposal concerning the genetic basis of the disease. *Archives of General Psychiatry*, 46, 1145-1150.
- Crow, T. J., 1990. Temporal lobe asymmetries as the key to the aetiology of schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 16, 433-443.
- Csernansky, J. G., Bardgett, M. E., 1998. Limbic-cortical neuronal damage and the pathophysiology of schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 24, 231-248.
- Csernansky, J. G., 2007. Neurodegeneration in schizophrenia: evidence from in vivo neuroimaging studies. *The Scientific World Journal*, 7, 135-143.
- Cui, H., Nishiguchi, N., Yanagi, M., Fukutake, M., Mouri, K., Kitamura, N., Hashimoto, T., Shirakawa, O., Hishimoto, A., 2010. A putative cis-acting polymorphism in the NOS1 gene is associated with schizophrenia and NOS1 immunoreactivity in the postmortem brain. *Schizophrenia Research*, 121, 172-178.
- Davis, K. L., Kahn, R. S., Ko, G., Davidson, M., 1991. Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *American Journal of Psychiatry*, 148, 1474-1486.
- Dickins, D. W., Singh, K. D., Roberts, N., Burns, P., Downes, J. J., Jimmieson, P., Bentall, R. P., 2001. An fMRI study of stimulus equivalence. *Neuroreport*, 12(2), 405-411.
- Downen, M., Zhao, M. L., Lee, P., Weidenheim, K. M., Dickson, D. W., Lee, S.C., 1999. Neuronal nitric oxide synthase expression in developing and adult CNS. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 58, 12-21.
- Duncan, J., Owen, A. M., 2000. Common regions of the human frontal lobe recruited by diverse cognitive demands. *Trends in Neuroscience*, 23, 475-483.
- Ebert, Dieter, 2005. *Psychiatrie systematisch*. Bremen. UNI-MED Verlag.
- Ebmeier, K. P., Lawrie, S. M., Blackwood, D. H., Johnstone, E. C., Goodwin, G. M., 1995. Hypofrontality revisited: a high resolution single photon emission computed tomography study in schizophrenia. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 58, 452-456.
- Ehlis, A.-C., Herrmann, M. J., Plichta, M. M., Fallgatter, A. J., 2007. Cortical activation during two verbal fluency task in schizophrenic patients and healthy controls as assessed by multi-channel near-infrared spectroscopy. *Psychiatry Research*, 156, 1-13.
- D'Eposito, M., Postle, B. R., Ballard, D., Lease, J., 1999. Maintenance versus manipulation of information held in working memory: an event-related fMRI study. *Brain and Cognition*, 41, 66-86.
- Eriksson, P. S., Perfilieva, E., Björk-Eriksson, T., Alborn, A. M., Nordborg, C., Peterson, D. A., Gage, F. H., 1998. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nature Medicine*, 4, 1313-1317.

- Falkai, P., Bogerts, B., 1986. Cell loss in the hippocampus of schizophrenics. *European Archives Psychiatry and Neurological Science*, 236, 154-161.
- Falkai, P., Bogerts, B., Rozumek, M., 1988. Limbic pathology in schizophrenia: the entorhinal region- a monomorphic study. *Biological Psychiatry*, 24, 515-521.
- Fallgatter, A. J., Ehlis, A.-C., Wagener, A., Michel, T., Herrmann, M. J., 2004. Nahinfrarotspektroskopie in der Psychiatrie, *Nervenarzt*, 75, 911-916.
- Fang, C., Tang, W., Tang, R. Q., Wang, L., Zhou, G. Q., Hunag, K., Li, X. W., Feng, G. Y., He, M., Du, L. Z., Zhu, S. M., Xing, Y. L., Sang, H., He, I., Shi, Y. Y., 2008. Family-based association studies of CAPON and schizophrenia in the Chinese Han population. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*, 32, 1210-1213.
- Faraone, S. V., Seidmann, L. J., Kremen, W. S., Pepple, J. R., Lyons, M. J., Tsuang, M. T., 1995. Neuropsychological functioning among the nonpsychotic relatives of schizophrenic patients: a diagnostic efficiency analysis. *Journal of Abnormal Psychology*, 104, 286-304.
- Fatemi, S. H., Cuadra, A. E., El-Fakahany, E. E., Sidwell, R. W., Thuras, P., 2000. Prenatal viral infection causes alterations in nNOS expression in developing mouse brains. *Neuroreport*, 11, 1493-1496.
- Fletcher, P. C., Frith, C. D., Grasby, P. M., Friston, K. J., Dolan, R. J., 1996. Local and distributed effect of apomorphine on fronto-temporal function in acute unmedicated schizophrenia. *Neuroscience*, 16, 7055-7062.
- Fletcher, P. C., Henson, R. N. A., 2001. Frontal lobes and human memory. Insights from functional neuroimaging. *Brain*, 124, 849-881.
- Friston, K. J., Frith, C. D., Fletcher, P., Liddle, P. F., Frackowiak, R. S., 1996. Functional topography: multidimensional scaling and functional connectivity in the brain. *Cerebral Cortex*, 6, 156-164.
- Frith, C. D., Friston, K. J., Herold, S., Silbersweig, D., Fletcher, P., Cahill, C., Dolan, R. J., Frackowiack R. S. J., Liddle, P. F., 1995. Regional brain activity in chronic schizophrenic patients during the performance of a verbal fluency task. *British Journal of Psychiatry*, 167, 343-349.
- Fritzen, S., Lauer, M., Schmitt, A., Töpner, T., Strobel, A., Lesch, K. P., Reif, A., 2007. NO synthase-positive striatal interneurons are decreased in schizophrenia. *European Neuropsychopharmacology*, 17, 595-599.
- Fatemi, S. H., Cuadra, A. E., El-Fakahany, E. E., Sidwell, R. W., Thuras, P., 2000. Prenatal viral infection causes alterations in nNOS expression in developing mouse brains. *Neuroreport*, 11, 1493-1496.
- Gallhofer, B., Bauer, U., Lis, S., Krieger, S., Gruppe, H., 1996. Cognitive dysfunction in schizophrenia: comparison of treatment with atypical antipsychotic agents and conventional neuroleptic drugs. *European Neuropsychopharmacology*, 6 Suppl 2, S13-20.
- Galynker II, Cai, J., Ongseng, F., Finestone, H., Dutta, E., Serseni, D., 1998. Hypofrontality and negative symptoms in major depressive disorder. *Journal of Nuclear* 39, 608-612.

- Galynker II, Dutta, E., Vilkas, N., Ongseng, F., Finestone, H., Gallagher, R., Serseni, D., Rosenthal, R. N., 2000. Hypofrontality and negative symptoms in patients with dementia of Alzheimer type. *Neuropsychiatry, Neuropsychology and Behavioural Neurology*, 13, 53-59.
- Giedd, J. N., Vaituzis, A. C., Hamburger, S. D., Lange, N., Rajapakse, J. C., Kaysen, D., Vauss, Y. C., Garrick, N., 1995. Quantitative MRI of the temporal lobe, amygdala and hippocampus in normal human development: Ages 4-18. *Society for Neuroscience Abstracts*, 21, 154.
- Goldman-Rakic, P. S., 1994. Working memory dysfunction in schizophrenia. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neuroscience*, 6, 348-357.
- Green, M. F., 1996. What are the functional consequences of neurocognitive deficits in schizophrenia? *American Journal of Psychiatry*, 153, 321-330.
- Grillon, C., Ameli, R., Charney, D. S., Krystal, J., Braff, D., 1992. Startle gating deficits occur across prepulse intensities in schizophrenic patients. *Biological Psychiatry*, 32, 939-943.
- Gruber, O., von Cramon, D. Y., 2003. The functional neuroanatomy of human working memory revisited- Evidence from 3-T fMRI studies using classical dopamine-specific interference tasks. *Neuroimage*, 19, 797-809.
- Gruber, O., Goschke, T., 2004. Executive control emerging from dynamic interactions between brain systems mediating language, working memory and attentional processes. *Acta Psychologica*, 115, 105-121.
- Grunze, H. C., Rainnie, D. G., Hasselmo, M. E., Barkai, E., Hearn, E. F., McCarley, R. W., Green, R. W., 1996. *The Journal of Neuroscience*, 16, 2034-2043.
- Harrison, P. J., Law, A. J., Eastwood, S. L., 2003. Glutamate receptors and transporters in the hippocampus in schizophrenia. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1003, 94-101.
- Harvey, P. D., Green, M. F., McGurk, S. R., Meltzer, H. Y., 2003. Changes in cognitive functioning with risperidone and olanzapine treatment: a large-scale, double-blind, randomized study. *Psychopharmacology (Berl)*, 169, 404-411.
- Hess, D. T., Matsumoto, A., Kim, S. O., Marshall, H. E., Stamler, J. S., 2005. Protein S-nitrosylation: purview and parameters. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 6, 150-166.
- Hollister, J. M., Laing, P., Mednick, S. A., 1996. Rhesus incompatibility as a risk factor for schizophrenia in male adults. *Archives of General Psychiatry*, 53, 19-24.
- Honey, G. D., Bullmore, E. T., Soni, W., Varatheesan, M., Williams, S. C., Sharma, T., 1999. Differences in frontal cortical activation by a working memory task after substitution of risperidone for typical antipsychotic drugs in patients with schizophrenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 96, 13432-13437.

- Hong, J. T., Kim, H. C., Kim, H. S., Lee, Y. M., Oh, K. W., 2005. The role of nitric oxide on glutamatergic modulation of dopaminergic activation. *Pharmacological research*, 52, 298-301.
- Hori, H., Ozeki, Y., Terada, S., Kunugi, H., 2008. Functional near-infrared spectroscopy reveals altered hemispheric laterality in relation to schizotypy during verbal fluency. *Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry*, 32, 1944-1951.
- Hoshi, Y., Tamura, M., 1997. Near-infrared optical detection of sequential brain activation in the prefrontal cortex during mental tasks. *Neuroimage*, 5, 292-297
- Hoshi, Y., Kobayashi, N., Tamura, M., 2001. Interpretation of a near-infrared spectroscopy signal: a study with a newly developed perfused rat brain model. *Journal of Applied Psychology*, 90, 1657-1662.
- Ichikawa, J., Dai, J., Meltzer, H. Y., 2001. DOI, a 5HT_{2A/2C} receptor agonist, attenuates clozapine-induced cortical dopamine release. *Brain Research*, 907, 151-155.
- Ingvar, D. H., Franzen, G., 1974. Distribution of cerebral activity in chronic schizophrenia. *Lancet*, 2, 1484-1486.
- Jaffrey, S. R., Snowman, A. M., Eliasson, M. J., Cohen, N. A., Snyder, S. H., 1998. CAPON: a protein associated with neuronal nitric oxide synthase that regulates its interactions with PSD95. *Neuron*, 20, 115-124.
- Jakob, H., Beckmann, H., 1986. Prenatal developmental disturbances in the limbic allocortex in schizophrenics. *Journal of Neural Transmission*, 65, 303-326.
- Jakob, H., Beckmann, H., 1994. Circumscribed malformation and nerve cell alterations in the entorhinal cortex of schizophrenics. Pathogenetic and clinical aspects. *Journal of Neural Transmission. General Section*, 98, 83-106
- Jemth, P., Gianni, S., 2007. PDZ domains. folding and binding. *Biochemistry*, 46, 8701-8708.
- Jetse, D. V., Lohr, J. B., 1989. Hippocampal pathologic findings in schizophrenia. A morphometric study. *Archives of General Psychiatry*, 46, 1019-1024.
- Johnstone, E. C., Crow, T. J., Frith, C. D., Husband, J., Kreel, L., 1976. Cerebral ventricular size and cognitive impairment in chronic schizophrenia. *Lancet*, 2, 924-926.
- Kapur, S., Seemann, P., 2000. Antipsychotic agents differ in how fast they come off the dopamine D₂ receptors. Implications for atypical antipsychotic action. *Journal of Psychiatry & Neuroscience*, 25, 161-166.
- Kebir, O., Tabbane, K., 2008. Working memory in schizophrenia: a review. *Encephale*, 34, 289-298.
- Keefe, R. S., Perkins, D. O., Gu, H., Zipursky, R. B., Christensen, B. K., Lieberman, J. A., 2006. A longitudinal study of neurocognitive function in individuals at-risk for psychosis. *Schizophrenia Research*, 88, 26-35.

- Kircher, T., Gauggel, S., 2008. Neuropsychologie der Schizophrenie: Symptome, Kognition und Gehirn. Springer Medizin Verlag, Heidelberg.
- Kishimoto, J., Spurr, N., Liao, M., Lih, L., Emson, P., Xu, W., 1992. Localization of brain nitric oxide synthase (NOS) to human chromosome 12. *Genomics*, 14, 802-804. Erratum in *Genomics* 1993, 15, 265.
- Kiss, J. P., Vizi, E. S., 2001. Nitric oxide: a novel link between synaptic and nonsynaptic transmission. *Trends in Neuroscience*, 24, 211-215.
- Klamer, D., Zhang, J., Engel, J. A., Svensson, L., 2005. Selective interaction of nitric oxide synthase inhibition with phencyclidine: behavioural and NMDA receptor binding studies in the rat. *Behavioural Brain Research*, 159, 95-103.
- Klemm, S., Schmidt, B., Knappe, S., Blanz, B., 2006. Impaired working speed and executive functions as frontal lobe dysfunctions in young first-degree relatives of schizophrenic patients. *European Child and Adolescent Psychiatry*, 15, 400-408.
- Kopf, J., Schecklmann, M., Hahn, T., Dresler, T., Dieler, A., Herrmann, M. J., Fallgatter, A. J., Reif, A., 2011. NOS1 ex1f-VNTR affects brain oxygenation during an N-back task. *Neuroimage*, 57, 1617-1623.
- Kovelman, J. A., Scheibel, A. B., 1984. A neurohistological correlate of schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 19, 1601-1621.
- Konradi, C., Heckers, S., 2003. Molecular aspects of glutamate dysregulation: implications for schizophrenia and its treatment. *Pharmacology and Therapeutics*, 97, 153-179.
- Kraepelin, E., 1893. *Psychiatrie*. 4. Auflage. Abel (Meixner), Leipzig.
- Kremeyer, B., Garcia, J., Kymäläinen, H., Wratten, N., Restrepo, G., Palacio, C., Miranda, A. L., Lopez, C., Restrepo, M., Bedoya, G., Brzustowicz, L. M., Ospina-Duque, J., Arbelaez, M. P., Ruiz-Linares, A., 2009. Evidence for a role of the NOS1AP (CAPON) gene in schizophrenia and its clinical dimensions: an association study in a South American population isolate. *Human Heredity*, 67, 163-173. Erratum in: *Human Heredity* 2009, 67, 217.
- Kristiansen, L. V., Beneyto, M., Haroutunian, V., Meador-Woodruff, J. H., 2006. Changes in NMDA receptor subunits and interacting PSD proteins in dorsolateral prefrontal and anterior cingulate cortex indicate abnormal regional expression in schizophrenia. *Molecular Psychiatry*, 11, 737-747.
- Kubota, Y., Toichi, M., Shimizu, M., Mason, R. A., Coconcea, C. M., Findling, R. L., Yamamoto, K., Calabrese, J. R., 2005. Prefrontal activation during verbal fluency tests in schizophrenia- a nearinfrared spectroscopy (NIRS) study. *Schizophrenia Research*, 77, 65-73.
- Laruelle, M., Kegeles, L. S., Abi-Dargham, A., 2003. Glutamate, dopamine, and schizophrenia. from pathophysiology to treatment. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1003, 138-158.
- Lau, C. G., Takeuchi, K., Rodenas-Ruano, A., Tkayasu, Y., Murphy, J., Bennett, M. V., Zukin, R. S., 2009. Regulation of NMDA receptor Ca²⁺ signalling and synaptic plasticity. *Biochemical Society Transactions*, 37, 1369-1374.

- Lauer, M., Johannes, S., Fritzen, S., Senitz, D., Riederer, P., Reif, A., 2005. Morphological abnormalities in nitric-oxide-synthase-positive striatal interneurons of schizophrenic patients. *Neuropsychobiology*, 52, 111-117.
- Ledo, A., Barbosa, R. M., Gerhardt, G. A., Cadenas, E., Laranjinha, J., 2005. Concentration dynamics of nitric oxide in rat hippocampal subregions evoked by stimulation of the NMDA glutamate receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102, 17483-17488.
- Lee, J., Park, S., 2005. Working memory impairments in schizophrenia. a meta-analysis. *Journal of Abnormal Psychology*, 114, 599-611.
- Lipton, S. A., Choi, Y. B., Takahashi, H., Zhang, D., Li, W., Godzik, A., Bankston, L. A., 2002. Cysteine regulation of protein function-as exemplified by NMDA-receptor modulation. *Trends in Neurosciences*, 25, 474-480.
- Liou, Y. J., Tsai, S. J., Hong, C. J., Liao, D. L., 2003. Association analysis for the CA repeat polymorphism of the neuronal nitric oxide synthase (NOS1) gene and schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 65, 57-59.
- Luby, E. D., Cohen, B. D., Rosenbaum, G., Gottlieb, J. S., Kelley, R., 1959. Study of a new schizophrenomimetic drug; sernyl. A.M.A. *Archives of Neurological Psychiatry*, 81, 363-369.
- Ma, X., Wang, Q., Sham, P. C., Liu, X., Rabe-Hesketh, S., Sun, X., Hu, J., Meng, H., Chen, W., Chen, E. Y., Deng, W., Chan, R. C., Murray, R. M., Collier, D. A., Li, T., 2007. Neurocognitive deficits in first-episode schizophrenic patients and their first-degree relatives. *American Journal of Medical Genetics Part B. Neuropsychiatric Genetics*, 144, 407-416.
- Madeira, C., Freitas, M. E., Vargas-Lopes, C., Wolosker, H., Panizzutti, R., 2008. Increased brain D-amino acid oxidase (DAAO) activity in schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 101, 76-83.
- Manoach, D. S., Press, D. Z., Thangaraj, V., Searl, M. M., Goff, D. C., Halpern, E., Saper, C. B., Warach, S., 1999. Schizophrenic subjects activate dorsolateral prefrontal cortex during a working memory task, as measured by fMRI. *Biological Psychiatry*, 45, 1128-1137.
- Manoach, D. S., 2003. Prefrontal cortex dysfunction during working memory performance in schizophrenia. reconciling discrepant findings. *Schizophrenia Research*, 60, 285-298.
- Marshall, H. E., Stamler, J. S., 2001. Inhibition of NF-kappa B by S-nitrosylation. *Biochemistry*, 40, 1688-1693.
- Martin, A., Wiggs, C. L., Lalonde, F., Mack, C., 1994. Word retrieval to letter and semantic cues. a double dissociation in normal subjects using interference task. *Neuropsychologia*, 32, 1487-1494.
- McCarley, R. W., Shenton, M. E., O'Donnell, B. F., Faux, S. F., Kikins, R., Nestor, P. G., Jolesz, F. A., 1993. Auditory and P300 abnormalities and left posterior superior temporal gyrus volume reduction in schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*, 50, 190-197.

- McCarley, R. W., Wible, C. G., Frumin, M., Hirayasu, Y., Levitt, J. J., Fischer, I. A., Shenton, M. E., 1999. MRI anatomy of schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 45, 1099-1119.
- Meador-Woodruff, J. H., Healy, D. J., 2000. Glutamate receptor expression in schizophrenic brain. *Brain Research. Brain Research Reviews*, 31, 288-294.
- Mechri, A., Saoud, M., Khiari, G., D'Amato, T., Dalery, J., Gaha, L., 2001. Glutamatergic hypothesis of schizophrenia: clinical research studies with ketamine. *Encephale*, 27, 53-59.
- Mednick, S. A., Machon, R. A., Huttunen, M. O., Bonnett, D., 1988. Adult schizophrenia following prenatal exposure to an influenza epidemic. *Archives of General Psychiatry*, 45, 189-192.
- Meisenzahl E. M., Scheuerecker, J., Zipse, M., Ufer, S., Wiesmann, M., Frodl, T., Koutsouleris, N., Zetsche, T., Schmitt, G., Riedel, M., Spellmann, I., Dehning, S., Linn, J., Brückmann, H., Möller, H. J., 2006. Effects of treatment with the atypical neuroleptic quetiapine on working memory function. A functional MRI follow-up-investigation. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 256, 522-531.
- Meltzer, H. Y., Matsubara, S., Lee, J. C., 1989. The ratios of serotonin₂ and dopamine₂ affinities differentiate atypical and typical antipsychotic drugs. *Psychopharmacology Bulletin*, 25, 390-392.
- Miller, S. A., Dykes, D. D., Polesky, H. F., 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, 16, 1215.
- Miller, D. D., Andreasen, N. C., O'Leary, D. S., Watkins, G. L., Boles Ponto, L. L., Hichwa, R. D., 2001. Comparison of the effects of risperidone and haloperidol on regional cerebral blood flow in schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 49, 704-715.
- Moghaddam, B., Adams, B., Verma, A., Daly, D., 1997. Activation of glutamatergic neurotransmission by ketamine: a novel step in the pathway from NMDA receptor blockade to dopaminergic and cognitive disruptions associated with the prefrontal cortex. *The Journal of Neuroscience*, 17, 2921-2927.
- Möller, H. J., Laux, G., Deister, A., 2001. *Psychiatrie und Psychotherapie*. Stuttgart, Georg Thieme Verlag.
- Nordström, A. L., Farde, L., Nyberg, S., Karlsson, P., Halldin, C., Sedvall, G., 1995. D₁, D₂ and 5HT₂ receptor occupancy in relation to clozapine serum concentration: a PRT study of schizophrenic patients. *American Journal of Psychiatry*, 152, 1444-1449.
- Nott, A., Watson, P. M., Robinson, J. D., Crepalsi, L., Riccio, A., 2008. *Nature*, 455, 411-415.
- Numakawa, T., Yagasaki, Y., Ishimoto, T., Okada, T., Suzuki, T., Iwata, N., Ozaki, N., Taguchi, T., Tatsumi, M., Kamijima, K., Straub, R.E., Weinberger, D.R., Kunugi, H., Hashimoto, R., 2004. Evidence of novel neuronal functions of dysbindin, a susceptibility gene for schizophrenia. *Human Molecular Genetics*, 13, 2699-2708.

- Nunes, M. C., Roy, N. S., Keyoung, H. M., Goodman, R. R., McKhann, G. 2nd, Jiang, L., Kang, J., Nedergaard, M., Goldman, S.A., 2003. Identification and isolation of multipotential neural progenitor cells from the subcortical white matter of the adult brain. *Nature Medicine*, 9, 439-447.
- Owen, M. J., Williams, N. M., O'Donovan, M. C., 2004. Recent advances in the genetics of schizophrenia: New findings promise new insights. *Molecular Psychiatry*, 9, 14-27.
- Owen, A. M., 1997. The functional organization of working memory processes in human lateral frontal cortex: the contribution of functional neuroimaging. *European Journal of Neuroscience*, 9, 1329-1339.
- Owen, A. M., McMillan, K. M., Laird, A. R., Bullmore, E. 2005. N-back working memory paradigm: a meta analysis of normative functional neuroimaging studies. *Human Brain Mapping*, 25, 46-59.
- Paredella, E., Catafau, A. M., Bernardo, M., Lomeña, F., González-Monclús, E., Setoain, J., 1994. Prefrontal dysfunction in young acute neuroleptic-naïve schizophrenic patients: arresting and activation SPECT study. *Psychiatry Research*, 55, 131-139.
- Paz, R. D., Tardito, S., Atzori, M., Tsenq, K. Y., 2008. Glutamatergic dysfunction in schizophrenia: from basic neuroscience to clinical psychopharmacology. *European Neuropsychopharmacology*, 18, 773-786.
- Pilowsky, L. S., Busatto, G. F., Taylor, M., Costa, D.C., Sharma, T., Sigmundsson, T., Ell, P. J., Nohria, V., Kerwin, R. W., 1996. Dopamine D₂ receptor occupancy in vivo by the novel atypical antipsychotic olanzapine--a ¹²³I IBZM single photon emission tomography (SPET) study. *Psychopharmacology (Berlin)*, 124, 148-153.
- Pitsikas, N., Rigamonti, A. E., Bonomo, S. M., Cella, S. G., Muller, E. E., 2003. Molsidomine antagonizes L-NAME-induced acquisition deficits in a recognition memory task in the rat. *Pharmacological Research*, 47, 311-315.
- Plichta, M. M., Herrmann, M. J., Baehne, C. G., Ehlis, A.-C., Richter, M. M., Pauli, P., Fallgatter, A. J., 2006. Event-related functional near-infrared spectroscopy (fNIRS). Are the measurements reliable? *Neuroimage*, 31, 116-124.
- Van Praag, H., Schinder, A. F., Christie, B. R., Toni, N., Palmer, T. D., Gage, F. H., 2002. Functional neurogenesis in the adult hippocampus. *Nature*, 415, 1030-1034.
- Ramsey, N. F., Koning, H. A., Welles, P., Cahn, W., van der Linden, J. A., Kahn, R. S., 2002. Excessive recruitment of neural systems subserving logical reasoning in schizophrenia. *Brain*, 125, 1793-1807.

- Ravnkilde, B., Videbech, P., Rosenberg, R., Gjedde, A., Gade, A., 2002. Putative tests of frontal lobe function: a PET-study of brain activation during Stroop's Test and verbal fluency. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, 24, 534-547.
- Reif, A., Herterich, S., Strobel, A., Ehlis, A.-C., Saur, D., Jacob, C. P., Wienker, T., Töpner, T., Fritzen, S., Walter, U., Schmitt, A., Fallgatter, A. J., Lesch, K. P., 2006. A neuronal nitric oxide synthase (NOS1) polymorphism associated with schizophrenia modifies prefrontal cortex function. *Molecular Psychiatry*, 11, 286-300.
- Reif, A., Schmitt, A., Fritzen, S., Lesch, K. P., 2007. Neurogenesis in schizophrenia: dividing neurons in a divided mind? *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 257, 290-299.
- Riccio, A., Alvania, R. S., Lonze, B. E., Ramanan, N., Kim, T., Huang, Y., Dawson, T. M., Snyder, S. H., Ginty, D. D., 2006. A nitric oxide signalling pathway controls CREB-mediated gene expression in neurons. *Molecular Cell*, 21, 283-294.
- Roberts, G. W., Bruton, C. J., 1990. Notes from the graveyard: neuropathology and schizophrenia. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 16, 3-16.
- Rollema, H., Lu, Y., Schmidt, A. W., Zorn, S. H., 1997. Clozapine increases dopamine release in prefrontal cortex by 5HT1A receptor activation. *European Journal of Pharmacology*, 338, R3-5.
- Saur, D., Seidler, B., Paehge, H., Schusdziarra, V., Allescher, H. D., 2002. Complex regulation of human neuronal nitric-oxide synthase exon 1c gene transcription. Essential role of Sp and ZNF family members of transcription factors. *The Journal of Biological Chemistry*, 277, 25798-25814.
- Saur, D., Vanderwinden, J. M., Seidler, B., Schmid, R. M., DeLaet, M. H., Allescher, H. D., 2004. Single-nucleotide promoter polymorphism alters transcription of neuronal nitric oxide synthase exon 1c in infantile hypertrophic pyloric stenosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101, 1662-1667.
- Sayed, N., Kim, D. D., Fioramonti, X., Iwahashi, T., Duran, W. N., Beuve, A., 2008. Nitroglycerin-induced S-nitrosylation and desensitisation of soluble guanyl cyclase contribute to nitrate tolerance. *Circulation Research*, 103, 606-614.
- Schecklmann, M., Ehlis, A.-C., Plichta, M. M., Bouter, H. K., Metzger, F. G., Fallgatter, A. J., 2007. Altered frontal brain function in detoxified alcohol dependent patients with unaffected verbal fluency performance. *Psychiatry Research*, 156, 129-138.
- Schlagenauf, F., Wüstenberg, T., Schmack, K., Dinges, M., Wrase, J., Kolowski, M., Kienast, T., Bauer, M., Gallinat, J., Juckel, G., Heinz, A., 2008. Switching schizophrenia patients from typical neuroleptics to olanzapine: effects on BOLD response during attention and working memory. *European Neuropsychopharmacology*, 18, 589-599.

- Shenton, M. E., Kikins, R., Jolesz, F. A., Pollak, S. D., LeMay, M., Wible, C. G., Hokama, H., Martin, J., Metcalf, D., Coleman, M., McCarley, R. W., 1992. Abnormalities in the left temporal lobe and thought disorder in schizophrenia. *New England Journal of Medicine*, 327, 604-612.
- Shenton, M. E., Dickey, C. C., Frumin, M., McCarley, R. W., 2001. A review of MRI findings in schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 49, 1-52.
- Shinkai T., Ohmori, O., Hori, H., Nakamura, J., 2002. Allelic association of the neuronal nitric oxide (NOS1) synthase gene with schizophrenia. *Molecular Psychiatry*, 7, 560-563.
- Silberberg, G., Ben-Shachar, D., Navon, R., 2010. Genetic analysis of nitric oxide synthase 1 variants in schizophrenia and bipolar disorder. *American Journal of Medical Genetics Part B. Neuropsychiatric Genetics*, 153B, 1318-1328.
- Singh, A. K., Dan, I., 2006 Exploring the false discovery rate in multichannel NIRS. *Neuroimage*, 33, 542-549
- Snitz, B. E., MacDonald, A., 3rd, Cohen, J. D., Cho, R. Y., Becker, T., Carter, C. S., 2005. Lateral and medial hypofrontality in first-episode schizophrenia: functional activity in a medication-naïve state and effects of short-term atypical antipsychotic treatment. *American Journal of Psychiatry*, 162, 2322-2329.
- Snyder, S. H., 1976. The dopamine hypothesis of schizophrenia: focus on the dopamine receptor. *American Journal of Psychiatry*, 133, 197-202.
- Steinmetz, H., Fürst, G., Meyer, B. U., 1989. Craniocerebral topography within the international 10-20 system. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 72, 499-506.
- Strangmann, G., Boas, D. A., Sutton, J. P., 2002. Non-invasive neuroimaging using near-infrared light. *Biological Psychiatry*, 52, 679-693.
- Sullivan, P. F., Kendler, K. S., Neale, M. C., 2003. Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. *Archives of General Psychiatry*, 60, 1187-1192.
- Susser, E., Neugebauer, R., Hoek, H. W., Brown, A. S., Lin, S., Labowitz, Gorman, J. M. I., 1996. Schizophrenia after prenatal famine. *Archives of General Psychiatry*, 53, 25-31.
- Snyder, S. H., Ferris, C. D., 2000. Novel neurotransmitters and their neuropsychiatric relevance. *American Journal of Psychiatry*, 157, 1738-1751.
- Taga, G., Konishi Y., Maki, A., Tachibana, T., Fujiwara, M., Koizumi, H., 2000. Spontaneous oscillation of oxy- and deoxy- hemoglobine changes with a phase difference throughout the occipital cortex of newborn infants observed using non-invasive optical topography. *Neuroimage Letters*, 282, 101-104.
- Tang, W., Huang, K., Tang, R., Zhou, G., Du, L., Feng, G., He, L., Shi, Y., 2008. Evidence for association between the 5' flank of the NOS1 gene and schizophrenia in the Chinese population. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 11, 1063-1071.

- Velakoulis, D., Wood, S. J., Wong, M. T., McGorry, P. D., Yung, A., Phillips, L., Smith, D., Brewer, W., Proffitt, T., Desmond, P., Pantelis, C., 2006. Hippocampal and amygdala volumes according to psychosis stage and diagnosis: a magnetic resonance imaging study of chronic schizophrenia. First-episode psychosis and ultra-high-risk individuals. *Archives of General Psychiatry*, 63, 139-149.
- Villringer, A., Planck, J., Hock, C., Schleinkofer, L., Dirnagl, U., 1993. Near infrared spectroscopy (NIRS). a new tool to study hemodynamic changes during activation of brain function in human adults. *Neuroscience Letters*, 154, 101-104.
- Wang, L., Mamah, D., Harms, M. P., Karnik, M., Price, J. L., Gado, M. H., Thompson, P. A., Barch, D. M., Miller, M. L., Csernansky, J. G., 2008. Progressive deformation of deep brain nuclei and hippocampal-amygdala formation in schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 64, 1060-1068.
- Wass, C., Archer, T., Palsson, E., Fejgin, K., Alexandersson, A., Klamer, D., Engel, J. A., Svensson, L., 2006. Phencyclidine affects memory in a nitric oxide-dependent manner. working memory and reference memory. *Behavioral Brain Research*, 174, 49-55.
- Weiser, M., Shneider-Beeri, M., Nakash, N., Brill, N., Bawnik, O., Reiss, S., Hocherman, S., Davidson, M., 2000. Improvement in cognition associated with novel antipsychotic drugs. a direct drug effect or reduction of EPS? *Schizophrenia Research*, 46, 81-89.
- Weinberger, D. R., Berman, K. F., Zec, R. F., 1986. Physiologic dysfunction of dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia. I. Regional blood flow evidence. *Archives of General Psychiatry*, 43, 114-124.
- Weinberger, D. R., 1987. Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*, 44, 660-669.
- Weinberger, D. R., Berman, K. F., Suddath, R., Torrey, E.F., 1992. Evidence of dysfunction of a prefrontal-limbic network in schizophrenia: a magnetic resonance imaging and regional cerebral blood flow study of discordant monozygotic twins. *American Journal of Psychiatry*, 149, 890-897.
- West, A. R., Galloway, M. P., Grace, A. A., 2002. Regulation of striatal dopamine neurotransmission by nitric oxide: effector pathways and signalling mechanisms. *Synapse*, 44, 227-245.
- Wolf, R. C., Vasic, N., Walter, H., 2006(a). Das Arbeitsgedächtniskonzept in der Schizophrenie, Überblick und Ausblick. *Fortschritte der Neurologie-Psychiatrie*, 74, 449-468.
- Wolf, R. C., Vasic, N., Walter, H., 2006(b). Differential activation of ventrolateral prefrontal cortex during working memory retrieval. *Neuropsychologia*, 44, 2558-2563.
- Xing, G., Chavko, M., Zhang, L. X., Yang, S., Post, R. M., 2002. Decreased calcium-dependent constitutive nitric oxide synthase (cNOS) activity in prefrontal cortex in schizophrenia and depression. *Schizophrenia Research*, 58, 21-30.

- Xu, B., Wratten, N., Charych, E. I., Buyske, S., Firestein, B. L., Brzustowicz, L. M., 2005. Increased expression in dorsolateral prefrontal cortex of CAPON in schizophrenia and bipolar disorder. *PloS Medicine*, 2, e263.
- Yu, Y. W., Chen, T. J., Wang, Y. C., Liou, Y. J., Hong, C. J., Tsai, S. J., 2003. Association analysis of neuronal nitric oxide synthase gene polymorphism with major depression and fluoxetine response. *Neuropsychobiology*, 47, 137-140.
- Zhao, G., Deng, H., Yang, Y., Chen, Y., 2009. Advances in the studies of the dysbindin gene in schizophrenia. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*, 26, 175-178.

IV. Danksagung

Besonders danken möchte ich Herrn Prof. Dr. Andreas Reif für die Vergabe dieser Arbeit, seine kompetente und engagierte Betreuung, sowie für die stete Ansprechbarkeit und Geduld.

Herrn Prof. Dr. J. Deckert möchte ich für die Möglichkeit zur Promotion an seiner Klinik danken.

Bei Herrn Prof. Dr. A. Fallgatter, vormals Leiter des Labors für Psychophysiologie und dem jetzigen Leiter, PD Dr. M. J. Herrmann möchte ich mich für die Möglichkeit zur Durchführung meiner Untersuchungen in ihrem Labor bedanken.

Weiterhin danke ich Dr. A.-C. Ehlis für ihre Mitbetreuung und Herrn Dr. M. Schecklmann für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung.

Mein Dank geht auch an alle Mitarbeiter der Labors der Universitätsklinik für Psychiatrie und Psychotherapie.

Den Patienten und Kontrollpersonen gilt mein Dank für ihre geduldige Teilnahme an der Untersuchung.

Meinen Eltern möchte ich danken, dass sie mir das Medizinstudium und diese Promotionsarbeit ermöglicht haben.

V. Publikationen

Hahn T., Marquand A., Plichta M. M., Ehlis A.-C., Schecklmann M. W., Dresler T., Jarczok T. A., Eirich E., Leonhard C., Reif A., Lesch K.-P., Brammer M. J., Mourao-Miranda J., Fallgatter A. J., (2011). A Novel approach to probabilistic biomarker-based classification using functional Near-Infrared Spectroscopy. In press at Human Brain Mapping.