

**N-Acetylaspartylglutamat (NAAG) und N-Acetylaspartat (NAA) bei  
Schizophreniepatienten**

Eine in-vivo  $^1\text{H}$ -Magnetresonanzspektroskopische Studie

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

Bonn

**Natascha Louise Haller geb. Fingerhut**

aus Siegburg

2015

Angefertigt mit der Genehmigung  
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Frank Jessen
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Henning Boecker

Tag der Mündlichen Prüfung: 15. Mai 2015

Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie  
Direktor: Prof. Dr. med. Wolfgang Maier

Für Chris und Max



## Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	7
1. Einleitung	9
1.1 Schizophrenie	9
1.1.1 Symptomatik	9
1.1.2 Pathophysiologie der Schizophrenie	10
1.2 Magnetresonanztomographie	11
1.2.1 Das Prinzip der Magnetresonanztomographie	12
1.2.2 Das $^1\text{H}$ -MR-Spektrum	13
1.3 N-Acetylaspartat und N-Acetylaspartylglutamat	15
1.3.1 N-Acetylaspartat	15
1.3.2 N-Acetylaspartylglutamat	17
1.4 $^1\text{H}$ -MRS-Studien bei Schizophrenie-Patienten	20
1.5 Ziel der Studie	22
2. Methoden	24
2.1 Probanden	24
2.2 Neuropsychologische Tests	26
2.2.1 Verbales Gedächtnis	27
2.2.2 Arbeitsgedächtnis	28
2.2.3 Aufmerksamkeit	29
2.3 MR-Spektroskopie	32
2.3.1 $^1\text{H}$ -MRS-Messungen	32
2.3.2 Post-Prozessierung	35
2.3.3 Absolutquantifizierung	35
2.3.4 Trennung von NAA und NAAG	37
2.4 Statistische Methoden	40
3. Ergebnisse	42
3.1 Statistische Auswertung	42
3.2 Gyrus Cinguli Anterior	43
3.3 Präfrontaler Kortex	46

4.	Diskussion	49
4.1	NAAG, GCP II und mGluR3	49
4.1.1	Funktion von mGluR3, GCP II und NAAG	49
4.1.2	NAAG, GCP II und mGluR3 bei Schizophrenie	50
4.1.3	Mögliche Beeinflussung der Ergebnisse durch Medikamente	52
4.1.4	Korrelation von NAAG mit Neuropsychologischen Tests	53
4.2	NAA	53
4.2.1	Vergleich unserer NAA-Ergebnisse mit den Ergebnissen anderer Studien	53
4.2.2	NAA und Kognition	54
4.3	NAA und NAAG	54
4.4	Glutamat und Glutamin	55
4.5	Einschränkungen dieser Studie	56
5.	Zusammenfassung	58
6.	Anhang	60
6.1	Abbildungsverzeichnis	60
6.2	Tabellenverzeichnis	60
6.3	Literaturverzeichnis	61
7.	Danksagung	74

## Abkürzungsverzeichnis

[125I]DCIT	radioaktiv (Iod 125) markiertes N-[N-[(S)-1,3-dicarboxypropyl]carbamoyl]-S-3-iodo-L-tyrosine (DCIT) Analogon
ACC	Anteriorer Gyrus Cinguli
Acetyl-CoA	Acetyl-CoEnzym A
ADP	Adenosin-Diphosphat
ASPA	N-Acetylaspartat Aminohydrolase, auch Aspartoacyclase
Asp-NAT	L-Aspartat-N-Acetyltransferase
ATP	Adenosintriphosphat
CA1	Anatomische Region im Hippocampus (von Cornu ammonis)
Ca <sup>2+</sup>	Calcium (ionisierte Form)
Cho	Cholin / Cholinverbindungen
CRLB	Cramer-Rao lower bounds
GABA	γ-Aminobuttersäure (Gamma-Amino-Butyric Acid)
GCP	Glutamatcarboxypeptidase
Gln	Glutamin
Glx	Glutamat, Glutamin und GABA (zusammengefasst)
HAWIE-R	Hamburg Wechsler Intelligenztest für Erwachsene, revidierte Fassung
<sup>1</sup> H-MRS	Hydrogen( <sup>1</sup> H)-Magnetresonanzspektroskopie
Hz	Hertz
ICD 10	Internationales statistisches Klassifizierungssystem für Krankheiten (International statistical Classification of Diseases)
LY2140023	Agonist am metabotropen Glutamatrezeptor 2 und 3
LY404039	Agonist am metabotropen Glutamatrezeptor 2 und 3
MANOVA	Multivariate Varianzanalyse (Multivariate Analysis of Variance)
mGluR	metabotroper Glutamatrezeptor
MI	Myoinositol
MK-801	Dizocilpin
mRNA	messenger-Ribonukleinsäure

MRS	Magnetresonanztomographie
MRUI	Magnetic Resonance User Interface (Software zur Analyse von MRS-Daten)
ms	Millisekunde
NAA	N-Acetylaspartat
NAAG	N-Acetylaspartylglutamat
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NMR	Magnetresonanztomographie (Nuclear magnetic resonance)
PANSS	Skala zur Beurteilung der Symptome bei Schizophrenie (Positive and Negative Symptom Scale)
PCP	Phencyclidin
(P)Cr	Kreatin und Phosphokreatin
ppm	Einheit für chemische Verschiebung (parts per million)
PRESS	Point-resolved Spektroskopie
SANS	Skala zur Bewertung der Negativsymptome bei Schizophreniepatienten (Scale for Assessment of Negative Symptoms)
TE	Echozeit
TGF $\beta$	Transforming Growth Factor $\beta$
TI	Inversionszeit
TMT	Trail Making Test
TR	Repetitionszeit
VLMT	Verbaler Lern- und Merkfähigkeitstest
VOI	Voxel (Volume of Interest)
WMS-R	Wechsler Gedächtnistest, revidierte Fassung (Wechsler Memory Scale, revised version)
ZJ43	Inhibitor der Glutamatcarboxypeptidase II und III
ZNS	Zentrales Nervensystem

# 1. Einleitung

## 1.1 Schizophrenie

Bei der Schizophrenie handelt es sich um eine schwere psychiatrische Erkrankung mit einem Lebenszeitrisko von ungefähr 1:100 (McGrath und Susser, 2009). Weltweit liegt die jährliche Inzidenz bei 1,7 bis 5,4 Fällen pro 10 000 Einwohnern (Jablensky, 2000).

Schizophrenie ist sowohl für die Erkrankten als auch für deren Angehörige eine sehr belastende Erkrankung. Sie führt zu erheblichen sozialen und beruflichen Einschränkungen.

Darüber hinaus entstehen aufgrund der Tatsache, dass die ersten Symptome sich meist im jungen Erwachsenenalter manifestieren, erhebliche Kosten für Kranken- und Sozialkassen: 60 % der Erkrankten leben in Armut, 5 % werden aufgrund Ihrer Krankheit obdachlos (Javitt und Coyle, 2004).

### 1.1.1 Symptomatik

Die Symptome der Erkrankung lassen sich in Gruppen einteilen: die Positivsymptome, die Negativsymptome und globale Symptome.

Die Gruppe der Positivsymptome umfasst Symptome wie Halluzinationen, Wahn und formale Denkstörungen. Halluzinationen können in allen fünf Sinnesmodalitäten auftreten, jedoch sind akustische Halluzinationen am häufigsten (Tandon et al., 2009). Die Inhalte und der Ausprägungsgrad des Wahns sind von Patient zu Patient sehr unterschiedlich und oft von den individuellen Lebensumständen beeinflusst. In vielen Fällen handelt es sich um Verfolgungswahn aber auch andere Wahninhalte (Größenwahn, Verarmungswahn, Schuldwahn u.s.w.) können vorkommen. Formale Denkstörungen äußern sich in Schwierigkeiten zielgerichtet zu denken, in einer Lockerung der Assoziationen oder in Gedankensprüngen. Dies kann im Schweregrad von leicht umständlichem Denken und Sprechen bis hin zu einem zusammenhangslosen Aneinanderreihen von Wörtern reichen (Andreasen, 1979).

Die Negativsymptome setzen sich aus Defiziten im Bereich des Sozialverhaltens, Verringerung der Affektbreite und passivem Rückzug zusammen (Andreasen und Olsen, 1982; Crow, 1980). Desweiteren kann die Sprachflüssigkeit betroffen sein oder es finden sich stereotype Gedankenmuster.

Weitere Symptome umfassen Beeinträchtigungen der Affektivität, motorische Symptome und kognitive Defizite (Tandon et al., 2009). Affektive Symptome können während psychotischer Phasen (Aleman und Kahn, 2005) Stimmungsschwankungen und Stimmungs labilität sein. Schizophreniepatienten zeigen auch überdurchschnittlich häufig Depressionen, die als Bestandteil der Prodromalphase, während einer psychotischen Episode, als postpsychotische Depression oder auch zwischen den akuten Phasen auftreten können (Planansky und Johnston, 1978). Viele Patienten, die unter Schizophrenie leiden, sind psychomotorisch verlangsamt (Morrens et al., 2007) aber auch stereotype Bewegungsmuster, Manierismen und Katatonie können Symptome der Schizophrenie sein (Morrens et al.; 2006, Ungvari et al., 2007). Fast alle Patienten zeigen kognitive Defizite (Keefe et al. 2005; Saykin et al., 1991). Zu erwähnen sind die Geschwindigkeit mit der Informationen verarbeitet werden (Dickinson et al., 2007), Sprache und Wortflüssigkeit (Henry und Crawford, 2005), Aufmerksamkeit (Fioravanti et al., 2005; Orzack und Kornetsky, 1966), das Arbeitsgedächtnis und das episodische Gedächtnis (Barch und Smith, 2008; Laws, 1999; Lee und Park, 2005; Reichenberg und Harvey, 2007).

### 1.1.2 Pathophysiologie der Schizophrenie

Entsprechend der Dopaminhypothese ist eine Hyperaktivität von Dopaminrezeptoren Grundlage der Symptomatik der Schizophrenie (Carlsson, 1988). Diese Hypothese wird vor allem dadurch gestützt, dass Dopaminrezeptor-Antagonisten die effektive Therapie in der Behandlung von Symptomen der Schizophrenie darstellen (Carlsson, 1988; Wroblewska, 2006). Zur Erklärung der Negativsymptome und der kognitiven Defizite postulierte Weinberger (Weinberger, 1987) ein hypoaktives mesocorticales Dopaminsystem als Grundlage für die Negativ- und kognitiven Symptome und ein hyperaktives mesolimbisches dopaminerges System als Ursache der Positivsymptome.

In jüngerer Zeit gibt es zunehmende Hinweise, dass auch das glutamaterge System eine entscheidende Rolle in der Pathophysiologie der Schizophrenie spielt (Greene, 2001; Tsai und Coyle, 2002). Dies ist begründet durch die Beobachtung von Zukin und Javitt, dass dissoziative Anästhetika, wie Ketamin und Phencyclidine (PCP) sowohl die Positiv- als auch die Negativsymptome der Schizophrenie herbeizuführen vermögen (Javitt und Zukin, 1991; Krystal et al., 1994; Krystal et al., 1999). Diese Substanzen wirken antagonistisch auf den N-Methyl-D-Aspartate (NMDA) Glutamatrezeptor. In postmortem Stu-

dien von Schizophreniekranken konnte außerdem im präfrontalen Kortex im Hippocampus eine reduzierte Expression von Glutamatrezeptoren, insbesondere vom NMDA-Typ, festgestellt werden (Harrison et al., 2003).

Weiter untermauert wird diese Glutamathypothese durch Tierversuche die zeigen, dass einige Effekte, die durch PCP hervorgerufen werden, durch die Gabe von Substanzen die agonistisch auf die metabotropen Glutamatrezeptor (mGluR) der Gruppe II wirken, gehemmt werden können (Cartmell et al., 1999; Moghaddam und Adams, 1998). Diese metabotropen Glutamatrezeptoren 2 (mGluR2) und 3 (mGluR3) haben eine modulatorische Rolle und beeinflussen die Funktion des NMDA-Rezeptors. Sie weisen an der präsynaptischen Membran, der postsynaptischen Membran und an der Membran von Gliazellen unterschiedliche Verteilungsmuster auf (Ghose et al., 2009b). Den überzeugendsten Nachweis, dass mGluR2 und mGluR3 an der Pathogenese der Schizophrenie beteiligt sind, liefert eine aktuelle klinische Studie in der gezeigt wurde dass die Substanz LY2140023, ein neuartiger mGluR2/mGluR3 Agonist, eine antipsychotische Wirkung bei Schizophreniepatienten hat (Patil et al., 2007).

Eine aktuelle Hypothese, die die Dopamin- und die Glutamathypothese vereint, schlägt vor, dass genetische Varianten dazu führen, dass Proteine, die Bestandteile des NMDA-Rezeptor-Komplexes bilden, eine gestörte Funktionalität aufweisen. Dies bewirke eine NMDA-Rezeptor-Hypofunktion, die wiederum zu einer Enthemmung des mesolimbischen Dopaminsystems und konsekutiver Entwicklung von Positivsymptomen führe. Gleichzeitig habe diese NMDA-Rezeptor Hypofunktion eine neurotoxische Wirkung, die morphologische Veränderungen und eine verringerte mesocortikale Dopaminfreisetzung zur Konsequenz habe, die für die negativen Symptome und die kognitiven Defizite verantwortlich sei (Coyle et al., 2003; Dawe et al., 2009; Goff und Coyle, 2001; Laruelle et al., 2003).

## **1.2 Magnetresonanztomographie**

Mittels Magnetresonanztomographie (MRS) lassen sich Veränderungen der biochemischen Zusammensetzung von Geweben feststellen. Die Magnetresonanztomographie ist ein nicht-invasives Untersuchungsverfahren und erfordert weder Kontrastmittel noch Radioaktivität.

### 1.2.1 Das Prinzip der Magnetresonanzspektroskopie

Die Magnetresonanzspektroskopie basiert darauf, dass Atome mit ungerader Kernladungszahl über einen Eigendrehimpuls, den man als Kernspin bezeichnet, verfügen und ein magnetisches Moment besitzen. Das magnetische Moment und der Spin sind einander proportional. Diese Proportionalität kann über folgende Formel beschrieben werden:

$$\text{Magnetisches Moment} = \gamma * \text{Spin}$$

Hierbei ist  $\gamma$  eine für jeden Atomkern charakteristische Konstante, das sogenannte gyromagnetische Verhältnis. Bringt man diese Atomkerne in ein statisches äußeres Magnetfeld, richten sie sich nach der Achse des applizierten Magnetfeldes aus und bewegen sich dabei, ähnlich der Bewegung eines Kreisels (sogenannte Präzessionsbewegung), um die Magnetfeldlinien dieses Hauptfeldes, wobei jeder Atomkern mit einer charakteristischen Frequenz präzediert. Diese Präzessionsfrequenz ist proportional zur Feldstärke des applizierten Magnetfeldes und wird als Larmor-Frequenz bezeichnet. Sie lässt sich wie folgt berechnen:

$$\text{Larmorfrequenz} = -\gamma/2\pi * \text{Feldstärke des statischen Magnetfeldes}$$

Lenkt man durch kurzes Anlegen eines magnetischen Wechselfeldes die Kerne aus ihrer ursprünglichen Position aus, so dass sie nicht mehr parallel zum Hauptfeld sind, sondern gekippt werden, wird in der umgebenden Spule ein Wechselstrom erzeugt der messbar ist. Schaltet man das Wechselfeld aus, verlieren die magnetischen Kernmomente ihre durch das Wechselfeld aufgeprägte Phasenkorrelation und das in der Spule gemessene Signal wird exponentiell schwächer. Diesen Prozess bezeichnet man als T2-Relaxation. Gleichzeitig kehren die Spins der Atomkerne allmählich zurück in ihre Ausgangsposition parallel zum magnetischen Hauptfeld („T1-Relaxation“). Je nach Frequenz des magnetischen Wechselfeldes kann man selektiv bestimmte Atomkerne anregen, für medizinische Zwecke meistens Wasserstoffkerne (Protonen).

Der Effekt, der es bei der  $^1\text{H}$ -Magnetresonanzspektroskopie erlaubt, trotz Anregung nur eines einzigen Atomkerns verschiedene Moleküle zu identifizieren bezeichnet man als „chemical shift“ und wird in parts per million (ppm) gemessen. Der „chemical shift“ Effekt

beruht darauf, dass die Atomkerne in jedem Molekül von Elektronen umgeben sind, die die Kerne vor dem äußeren Magnetfeld schützen und so die Feldstärke, die auf den Nucleus einwirkt, geringfügig herabsetzen. Je nach Aufbau des Moleküls ergeben sich unterschiedliche „Abschirmeffekte“ durch die umgebenden Elektronenwolken, so dass die Wasserstoffkerne in Abhängigkeit von dem Molekül in das sie eingebunden sind, differierende Resonanzfrequenzen haben. Durch Fouriertransformation kann man dieses Resonanzsignal in seine Frequenzkomponenten aufspalten, und die Resonanzlinien einzelnen Molekülen oder Molekülgruppen zuordnen. Die Fläche unter einem „Peak“ ist proportional zur Anzahl der Moleküle, also zur Konzentration der betreffenden chemischen Verbindung, im untersuchten Bereich.

### 1.2.2 Das $^1\text{H}$ -MR-Spektrum

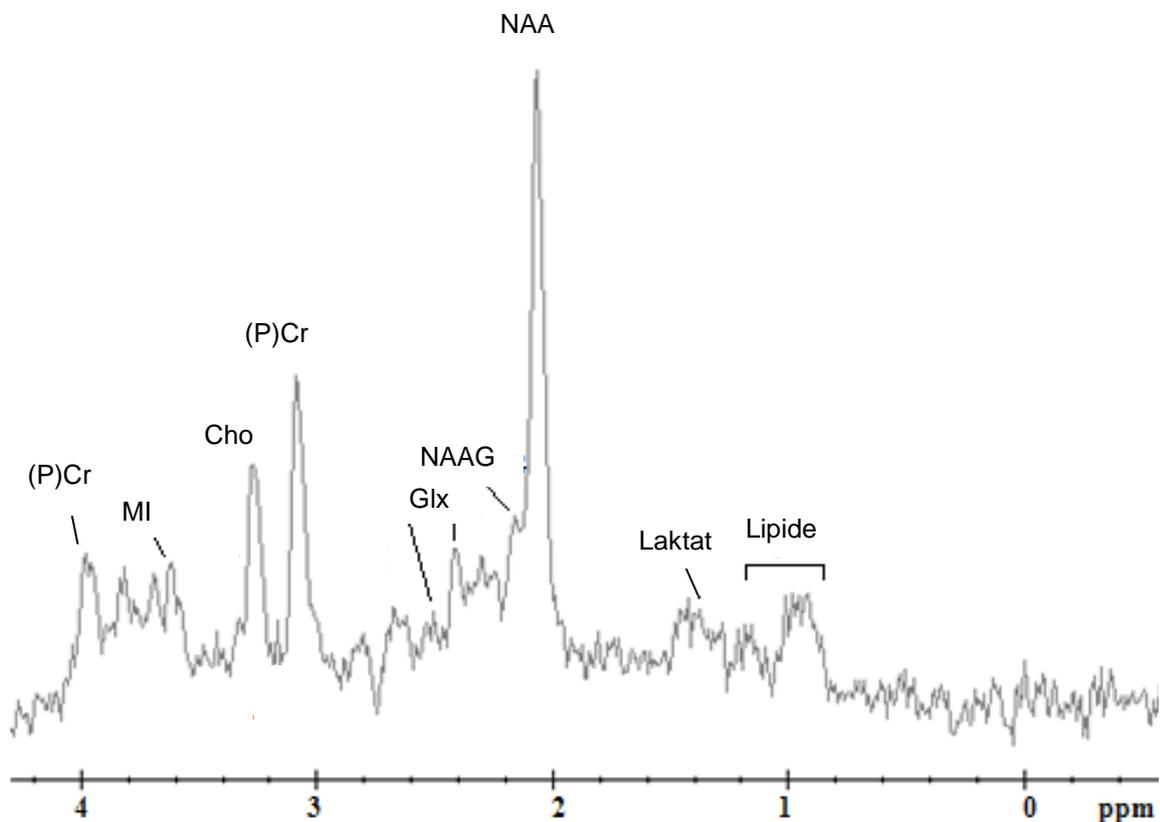
Ein wasserunterdrücktes  $^1\text{H}$ -MR-Spektrum, was bei einer Echozeit von mehr als 100 ms aufgenommen wurde, zeigt drei prominente Peaks.

Der erste Peak liegt bei 3,2 ppm (in der auf Tetramethylbesilan als Referenzsubstanz bezogenen relativen Frequenzskala) und ist Verbindungen zugeordnet, die Cholin enthalten (Cho), hauptsächlich sind dies Membran-Phospholipide. Diese können nur dann gemessen werden, wenn sie frei vorliegen. Sind sie in Zellmembranen gebunden, ist die T<sub>2</sub>-Relaxationszeit zu kurz. Das gemessene Cho-Signal entspricht also den Phospholipiden, die an Auf- oder Abbauvorgängen von Zellmembranen beteiligt sind. Ein erhöhtes Cholin-Signal wird deshalb als Indiz für einen erhöhten Umsatz von Zellmembranen interpretiert (Gill et al., 1990; Gupta et al., 2000; Miller et al., 1996). Mehrere Studien haben gezeigt, dass bei Schizophrenie-Patienten der Cholin-Peak erhöht ist (Bustillo et al., 2002; O'Neill et al., 2004).

Der zweite Peak entspricht Kreatin (Cr) und Phosphokreatin (PCr), zusammengefasst als (P)Cr, und liegt bei 3,0 ppm. Diese beiden Metaboliten sind eng mit dem zellulären ATP-Stoffwechsel verknüpft, so dass Veränderungen im (P)Cr-Peak einen veränderten Energieumsatz reflektieren (Bertolino und Weinberger, 1999; Siesjo, 1978). Ein zweiter, kleinerer (P)Cr Peak lässt sich bei 3,93ppm nachweisen.

Der dritte und größte Peak entspricht der Konzentration von Verbindungen mit einer N-Acetyl-Gruppe. Er liegt bei 2,02 ppm. N-Acetylaspartat (NAA) macht etwa 85-90 % der Signalintensität aus. Die weiteren 10-15 % reflektieren N-Acetylaspartylglutamat

(NAAG), dessen Peak bei 2,05 ppm liegt (Frahm et al., 1991). Obwohl der Abstand zwischen NAA und NAAG im  $^1\text{H}$ -MRS Spektrum sehr klein ist (0,037 ppm), können diese Substanzen in vitro bei hohen Feldstärken klar voneinander getrennt werden (Govindaraju et al., 2000). Bei einer Feldstärke von 3 Tesla ist es auch in vivo möglich, das NAAG-Signal von dem prominenten NAA-Peak abzugrenzen und somit auch die Konzentrationen beider Stoffe getrennt zu ermitteln.



### Abb. 1: Ein typisches $^1\text{H}$ -MR-Spektrum bei 3 Tesla

Zu erkennen sind die drei prominenten Peaks von Cholin (Cho) bei 3,2ppm, Kreatin und Phosphokreatin ((P)Cr) bei 3,0ppm und N-Acetylaspartat (NAA) bei 2,02ppm, sowie die kleineren Peaks von Myo-Inositol (MI) bei 3,56ppm, den Glutamatverbindungen (Glx) bei 2,1ppm und 2,29ppm und der zweite P(Cr)-Peak bei 3,93ppm. Weiterhin erkennt man ansatzweise den Peak, der durch Laktat verursacht wird, bei 1,33ppm und das Signal der freien Lipide bei 0,9-1,3ppm, welche sich jedoch am gesunden Gehirn nicht gut abgrenzen lassen. (modifiziert nach Fountas, 2013)

Weitere Metaboliten, die man im  $^1\text{H}$ -MRS Spektrum bei 1,5 bzw 3 Tesla messen kann, wenn man kürzere Echozeiten (30 ms oder weniger) verwendet, sind Glutamat, Glutamin und GABA, die zu Glx zusammengefasst werden und Peaks bei 2,1 und 2,29 ppm und in der Region zwischen 3,72 und 3,82 ppm verursachen, sowie Myo-Inositol, was dem Peak bei 3,56 ppm zugeordnet ist (Bertolino und Weinberger, 1999).

Einige Stoffe lassen sich erst bei erhöhten Konzentrationen spektroskopisch gut abgrenzen. Hierzu gehören Laktat (1,33 ppm), Alanin (1,48 ppm) und freie Lipide (0,9 und 1,3 ppm). In Abbildung 1 ist ein typisches  $^1\text{H}$ -MR-Spektrum bei 3 Tesla dargestellt.

### **1.3 N-Acetylaspartat und N-Acetylaspartylglutamat**

#### 1.3.1 N-Acetylaspartat

NAA ist eine Aminosäure die in sehr hoher Konzentration im gesamten ZNS vorkommt (Koller et al., 1984; Tallan et al., 1956; Tallan, 1957). Neuronen enthalten hohe Konzentrationen von NAA, in reifen Gliazellen hingegen lässt sich NAA nicht nachweisen (Urenjak et al., 1993). Bereits 1957 zeigte Tallan dass bei Rindern die Konzentration von NAA in der grauen Substanz weitaus höher ist als in der weißen Substanz (Tallan, 1957). Dies konnte später durch immunhistochemische Untersuchungen bei Ratten bestätigt werden (Moffett und Namboodiri, 1995). Innerhalb verschiedener Neuronenpopulationen ist NAA sehr unterschiedlich verteilt. Beispielsweise enthalten die glutamatergen Pyramidenzellen der Lamina Pyramidalis interna des Neokortex weitaus höhere NAA-Konzentrationen als die Neuronen der Lamina multiformis (Moffett und Namboodiri, 1995). Desweiteren konnte in immunhistochemischen Untersuchungen gezeigt werden, dass Mitralzellen des Bulbus olfactorius (Simmons et al., 1991), Neuronen im Tuberculum olfactorium und viele Neuronen des Hirnstamms und Rückenmarks (Moffett et al., 1993) ebenfalls hohe NAA-Konzentrationen aufweisen. Mäßige NAA-Konzentrationen wurden in den Axonen verschiedener Fasertractus, unter anderem dem Corpus Callosum, corticospinaler Bahnen, der Nervi opticii und Tractus Optici, der lateralen Tractus olfactorii und der Stria Terminalis nachgewiesen (Moffett und Namboodiri, 1995).

Die Tatsache, dass NAA im ZNS ausschließlich in Neuronen vorkommt und die Beobachtung, dass NAA bei vielen Krankheiten, denen ein neuronaler Zelluntergang zu-

grunde liegt (z.B. Morbus Alzheimer) oder deren Konsequenz eine Abnahme der Neuroendichte ist, erniedrigt ist (Moffett et al., 2007; Reynolds et al., 2005), führte dazu, dass man NAA lange Zeit als Marker für neuronale Zelldichte betrachtete (Bertolino et al., 2001). Jüngere Beobachtungen zeigten jedoch, dass diese Verringerung des NAA-Signals bei einigen Erkrankungen reversibel ist, so dass NAA heute auch als Marker für Funktionalität und Intaktheit der Neuronen betrachtet wird (Bertolino et al., 2001; Davie et al., 1994; De Stefano et al., 1995; Demougeot et al., 2004).

NAA wird durch Acetylierung von Aspartat durch die L-Aspartat-N-Acetyltransferase (Asp-NAT) synthetisiert (Goldstein, 1969). Die Asp-NAT ist ein membrangebundenes Enzym und nutzt Acetyl-CoA als Substrat für die Acetylierung (Goldstein, 1969; Knizley, 1967). Sie weist eine sehr hohe Substratspezifität für Aspartat auf und ist nur im Nervensystem nachweisbar (Benuck und D'Adamo, 1968; Truckenmiller et al., 1985).

In Untersuchungen an isolierten Mitochondrialpräparaten aus dem Gehirn von Ratten wurde gezeigt, dass NAA in den Mitochondrien aus Aspartat und Acetyl-CoA synthetisiert und dann ins Cytosol transportiert wird. Glutamat und Malat dienten als Aspartat-Quellen, Acetyl-CoA Donatoren waren Pyruvat oder 3-Hydroxy-Butyrat (Patel und Clark, 1979).

NAA kann auch bei der Spaltung von N-Acetylaspartylglutamat entstehen (Slusher et al., 1990), für dessen Synthese es vermutlich auch als Substrat dient (Gehl et al., 2004).

Der Abbau von NAA zu Aspartat und Acetat erfolgt über die N-Acetylaspartat Aminohydrolase (auch als Aminoacylase II oder Aspartoacyclase – ASPA bezeichnet) (D'Adamo et al., 1973). Dieses Enzym ist, wie auch das Substrat NAA, in der weißen Substanz in höheren Konzentrationen vorhanden als in der grauen (Kaul et al., 1991), allerdings ist die ASPA, im Gegensatz zu NAA vor allem in Oligodendrozyten lokalisiert (Klugmann et al., 2003; Madhavarao et al., 2004).

Extrazelluläres NAA wird von Astrozyten über einen speziellen Natrium-abhängigen Transporter aufgenommen (Fujita et al., 2005; Ganapathy und Fujita, 2006; George et al., 2004; Huang et al., 2000) und erscheint in sehr niedriger Konzentration im Urin, was dafür spricht, dass es einen kontinuierlichen Abtransport von NAA aus dem Gehirn gibt (Kelley und Stamas, 1992; Kvittingen et al., 1986; Miyake et al., 1982).

Bis heute sind die genauen Funktionen von NAA im neuronalen Stoffwechsel unbekannt. Es gibt Hinweise, dass der Acetat-Anteil von NAA für die Synthese von cerebral-

en Lipiden genutzt wird, die vor allem postnatal für die Myelinisierung von Axonen von Bedeutung sind (Burri et al., 1991; Chakraborty et al., 2001; D'Adamo und Yatsu, 1966; D'Adamo et al., 1968; Mehta und Namboodiri, 1995). Desweiteren ist nachgewiesen worden, dass NAA mit dem zellulären Energiestoffwechsel verknüpft ist: Bunitian et al. (Buniatian et al., 1965) zeigten an Präparaten aus Rattengehirnen dass die Zugabe von Glukose zu höheren NAA-Werten führt. Patel und Clark konnten einen direkten Zusammenhang zwischen dem Energie-Metabolismus und der NAA-Produktion aufweisen, indem sie zeigten, dass die NAA-Synthese durch ADP stimuliert wird (Patel und Clark, 1979) und eine spätere Studie mit cerebralen Mitochondrienpräparaten von Ratten zeigte, dass die Synthese von NAA verringert ist, wenn der Sauerstoffverbrauch und die ATP Produktion verringert sind (Bates et al., 1996). Weiter untermauert wurden diese Ergebnisse durch jüngere Beobachtungen verschiedener Untersucher, die herausfanden, dass die NAA-Werte nach cerebralem Trauma erniedrigt sind. Diese Verringerungen von NAA-Werten korrelieren mit Verringerungen von ATP, was ebenfalls darauf hinweist, dass NAA-Reduktionen mit einem beeinträchtigten Energiestoffwechsel einhergehen (Gasparovic et al., 2001; Signoretti et al., 2001; Signoretti et al., 2004; Tavazzi et al., 2005; Vagnozzi et al., 2005). Desweiteren gibt es Hinweise, dass NAA eine Rolle bei der Osmoregulation spielen könnte, möglicherweise als Co-Transporter einer molekularen Wasserpumpe, die überschüssiges Wasser aus den Neuronen herausbefördert (Baslow und Guilfoyle, 2002; Baslow, 2002, 2003). Dieselben Autoren postulierten eine Rolle in der Signalübertragung zwischen Axonen und Gliazellen, aufgrund der Tatsache, dass NAA und auch NAAG zwar intrazellulär synthetisiert werden, die Enzyme die diese beiden Stoffe spalten jedoch in Oligodendrozyten und Astrozyten lokalisiert sind (Baslow, 2000; Baslow und Guilfoyle, 2006) und auch andere Autoren haben Hinweise für NAA als Überträger von Informationen von Axonen zu Gliazellen gezeigt (Ledeen et al., 2006; Lieberman et al., 2006).

### 1.3.2 N-Acetylaspartylglutamat

NAAG ist das am häufigsten vorkommende Neuropeptid im menschlichen Nervensystem (Arun et al., 2008; Moffett et al., 2007; Tsai, 2005). Es wurde Mitte der Sechziger Jahre erstmals im Nervensystem von Säugetieren identifiziert (Curatolo et al., 1965a, 1965b; Miyamoto et al., 1966). Verschiedene Studien deuten darauf hin, dass NAAG

enzymatisch aus NAA und Glutamat synthetisiert wird (Arun et al., 2006; Cangro et al., 1987; Gehl et al., 2004; Tyson und Sutherland, 1998; Urazaev et al., 2001). Aus Synapsen freigesetztes NAAG wird im Extrazellularraum von den Glutamatcarboxypeptidasen II und III (GCP II und III) inaktiviert (Bzdega et al., 1997, 2004; Carter et al., 1996; Luthi-Carter et al., 1998). NAAG hat eine agonistische Wirkung am metabotropen Glutamatrezeptor 3 (mGluR3), über die es die Freisetzung von Glutamat zu inhibiert (Wroblewska et al., 1997), und wirkt zusätzlich am NMDA-Rezeptor als nicht-kompetitiver Antagonist (Grunze et al., 1996; Puttfarcken et al.; 1993; Sekiguchi et al., 1989). Diese antagonistische Wirkung ist an GABAergen Interneuronen stärker als an Pyramidenzellen (Grunze et al., 1996). Abbildung 2 zeigt die durch NAA und NAAG vermittelten Interaktionen zwischen Neuronen.

Die Hypothese der NMDA-Rezeptor Dysfunktion als wichtiger Faktor in der Pathogenese der Schizophrenie (Carlsson und Carlsson, 1990; Coyle, 1996; Olney und Farber, 1995; Tamminga, 1998) führen zu der Annahme, dass ein erhöhtes NAAG eine Rolle in der Pathogenese der Schizophrenie spielen könnte.

Tsai et al. (Tsai et al., 1995) stellten in einer postmortem Studie erhöhte NAAG-Konzentrationen und eine verringerte GCP-Aktivität im Hippocampus und im präfrontalen Kortex von Schizophreniekranken im Vergleich zu Kontrollpersonen fest. Ghose et al. konnten im selben Jahr in einer post-mortem Studie nachweisen, dass die Expression von GCPII mRNA in der CA1 Region des anterioren Hippocampus bei Schizophrenen im Vergleich zu gesunden Kontrollen signifikant erniedrigt ist (Ghose et al., 2009a) und postulierten dass NAAG durch ein geringeres Vorkommen des abbauenden Enzyms, ansteigen müsste.

Abbildung 2 zeigt die neuronalen Interaktionen, die durch NAA und NAAG vermittelt werden.



#### 1.4 <sup>1</sup>H-MRS-Studien bei Schizophrenie-Patienten

Bisher wurden zahlreiche <sup>1</sup>H-MRS-Studien durchgeführt, die über verringerte [NAA+NAAG]-Konzentrationen in verschiedenen Hirnregionen berichten. In den bisherigen Studien wurde jedoch immer der kombinierte [NAA+NAAG]-Peak als stellvertretend für die NAA-Konzentration betrachtet, zum einen weil angenommen wurde, dass die wesentlich kleinere NAAG-Fraktion keinen Einfluss auf die Ergebnisse nehme, zum anderen weil es bisher methodisch kaum möglich war, diese beiden, sehr nah bei einander liegenden Peaks getrennt voneinander darzustellen.

Am häufigsten untersucht wurden der präfrontale Kortex und der Hippocampus (Bertolino et al., 1996, 2003; Callicott et al., 2000a; Deicken et al., 2000b; Tanaka et al., 2006; Yurgelun-Todd et al., 1996).

Mehrere Studien haben im präfrontalen Kortex Verringerungen der [NAA+NAAG]-Konzentrationen (Tanaka et al., 2006) beziehungsweise des [NAA+NAAG]/Kreatin Quotienten (Bertolino et al., 2003; Callicott et al., 2000a; Jessen et al., 2006) nachweisen können. Callicott et al. (Callicott et al., 2000a) fanden innerhalb des Patientenkollektivs eine negative Korrelation zwischen dem [NAA+NAAG]/Kreatin Quotienten im dorsolateralen präfrontalen Kortex und den Ergebnissen im „Scale for Assessment of Negative Symptoms“ (SANS) (Andreasen, 1989). Tanaka et al. (Tanaka et al., 2006) verglichen die [NAA+NAAG]-Konzentrationen im linken Frontallappen mit den Ergebnissen des PANSS und ermittelten in der Patientengruppe eine negative Korrelation von [NAA+NAAG]-Konzentration und Negativsymptomatik. In einer Studie von Sigmundsson et al. (Sigmundsson et al., 2003) zeigte sich dagegen eine negative Korrelation von [NAA+NAAG]-Werten und den Ausprägungen der allgemeinen Psychopathologie und Positivsymptomen des PANSS im rechten und linken dorsolateralen präfrontalen Kortex. Eine Korrelation zwischen Negativsymptomen und [NAA+NAAG]-Werten zeigte sich hier nicht (Sigmundsson et al., 2003). Bertolino et al. (Bertolino et al., 2003) untersuchten den Zusammenhang zwischen den [NAA+NAAG]-Kreatin Quotienten und den Leistungen des Arbeitsgedächtnisses und fanden eine signifikante Korrelation dieser beiden Parameter.

Im Temporallappen und speziell im Hippocampus wurden ebenfalls mehrfach erniedrigte [NAA+NAAG]/Kreatin Quotienten bei Schizophreniepatienten ermittelt (Bertolino et al., 1996, 2003; Yurgelun-Todd et al., 1996).

Auch im anterioren Gyrus Cinguli wurden erniedrigte [NAA+NAAG]-Konzentrationen bei Schizophreniekranken festgestellt (Deicken et al., 1997; Jessen et al., 2006). Weitere Regionen, in denen Veränderungen der [NAA+NAAG]-Konzentrationen beziehungsweise des Verhältnisses von [NAA+NAAG] zu Cr festgestellt wurden, sind der Thalamus (Deicken et al., 2000a; Ende et al., 2003; Jakary et al., 2005) und das Cerebellum (Ende et al., 2005). Steen et al. fassten 2005 die Ergebnisse von 64 <sup>1</sup>H-MRS Studien mit Schizophrenen in einer Meta-Analyse zusammen und stellten signifikante Verringerungen der [NAA+NAAG]-Konzentration im medialen Temporallappen und im präfrontalen Kortex fest (Steen et al., 2005).

Die Reduktion des [NAA+NAAG]-Peaks wird in diesen Studien aufgrund der hohen NAA-Konzentrationen im Hirngewebe und des großen spektralen Peaks als Verringerung der cerebralen NAA-Konzentration interpretiert. NAA hat aber, im Gegensatz zu NAAG, keine Funktion als Neurotransmitter und spielt keine Rolle im glutamatergen System. Aus diesem Grunde ist es notwendig getrennte Informationen über NAAG als Komponente der glutamatergen Neurotransmission, und NAA als Indikator für die mitochondriale Funktionalität von Neuronen zu erlangen.

Die separate Messung von cerebralen NAAG- und NAA-Konzentrationen durch in vivo <sup>1</sup>H-MR-Spektroskopie wurde bisher nur in zwei Studien an gesunden, freiwilligen Probanden beschrieben (Edden et al., 2007; Pouwels und Frahm, 1997). Dies liegt daran, dass aufgrund der starken Überlappung dieser beiden Metaboliten eine getrennte Quantifizierung erst bei höheren Feldstärken möglich ist, die Mehrzahl der <sup>1</sup>H-MRS Untersuchungen an Schizophreniepatienten jedoch nach wie vor an Geräten mit Feldstärken unter 3 Tesla durchgeführt wird. Desweiteren wird die getrennte Bestimmung der beiden Metaboliten dadurch erschwert, dass laut bisherigen Studien, die NAAG-Konzentrationen in Abhängigkeit von der untersuchten Hirnregion variieren.

Edden et al (Edden et al., 2007) trennen NAAG von NAA indem sie Spektren in separaten Aquisitionen bearbeiten. Hierbei hängt die Genauigkeit in einem hohen Maße davon ab, die jeweilige andere Komponente mitzubearbeiten. Unsere time-domain-fitting-procedure ähnelte hingegen der Methode von Pouwels und Frahm (Pouwels und Frahm, 1997). Die NAAG Fraktionen von 0,08 und 0,18, die sie für die graue beziehungsweise weiße Substanz des Frontallappens ermittelten, decken sich gut mit unserem

NAAG/NAA – Verhältnis von 0,10, das wir in der Kontrollgruppe der jetzigen Studie ermittelten.

### **1.5 Ziel der Studie**

In dieser  $^1\text{H}$ -MRS Studie führen wir bei 3 Tesla eine getrennte Quantifizierung der cerebralen NAAG- und NAA-Konzentrationen bei Schizophreniepatienten durch und vergleichen diese Messwerte mit denen gesunder Individuen, um krankheitsspezifische Veränderungen in der Konzentration dieser beiden Metaboliten individuell beurteilen zu können.

Das Ziel dieser Studie ist zum einen, die Ergebnisse bisheriger postmortem und in-vitro-Studien, die Hinweise darauf liefern, dass erhöhte NAAG-Konzentration in der Pathogenese der Schizophrenie eine Rolle spielen, zu untermauern. Zum anderen möchten wir untersuchen, ob die Messung des gemeinsamen [NAA+NAAG]-Peaks wirklich eine sinnvolle Methode zur Beurteilung der Konzentrationsänderungen von NAA darstellt oder ob durch diese Methode Schwankungen der NAAG-Konzentration Veränderungen der NAA-Konzentrationen verstärken beziehungsweise maskieren.

Zusätzlich berechnen wir den Quotienten von NAAG/NAA und bestimmen die Absolutkonzentrationen von Cholin, (Phospho-)Kreatin und Myoinositol.

Wir entschieden uns für den linken präfrontalen Kortex und den linken Gyrus Cinguli Anterior als zu untersuchende Zielregionen, da beide als wichtige Hirnregionen für die Pathophysiologie der Schizophrenie betrachtet werden und da in beiden Regionen in vorangegangenen Studien über eine Veränderung der Messwerte für [NAA+NAAG] berichtet wurde (Bertolino et al., 2003; Callicott et al., 2000a; Deicken et al., 1997; Jessen et al., 2006; Tanaka et al., 2006).

Der präfrontale Kortex ist wichtig für die Durchführung von kognitiven und mnemonischen Aufgaben, die insbesondere das Arbeitsgedächtnis in Anspruch nehmen (Goldman-Rakic, 1999; McCarthy et al., 1994; McCarthy et al., 1996). Defizite im Bereich des Arbeitsgedächtnisses gehören zu den typischen neuropsychologischen Defiziten von Patienten mit Schizophrenie und funktionelle Magnetresonanztomographie-Studien haben eine veränderte Aktivierung des präfrontalen Kortex während Aufgaben, die das Arbeitsgedächtnis beanspruchen, zeigen können (Callicott et al., 2000b; Manoach et al., 1999).

Der Gyrus cinguli anterior verbindet sowohl kortikale als auch subkortikale Strukturen wie der Amygdala, dem Thalamus, dem präfrontalen Kortex und dem inferioren Parietallappen miteinander und führt dadurch kognitive Funktionen mit affektiven Erfahrungen zusammen (Deicken et al., 1997). Er spielt eine Rolle für die exekutive Aufmerksamkeit, die einem Individuum die Selbst-Kontrolle von Kognition und Emotionen erlaubt und ermöglicht zwischen relevanten und irrelevanten Aspekten eines Stimulus zu differenzieren (Wang et al., 2005). Funktionelle Bildgebungsstudien haben auf eine Beeinträchtigung der exekutiven Aufmerksamkeit sowie auf Veränderungen der Aktivität im Gyrus Cinguli anterior bei Schizophreniepatienten hingewiesen (Carter et al., 1997; Fletcher et al., 1999; Morey et al., 2005).

Wir führten verschiedene neuropsychologische Tests sowie das „Positive and Negative Syndrome Scale“ - Interview (PANSS) (Kay et al., 1987) durch, um den Zusammenhang zwischen NAA und NAAG-Werten und kognitiver Fähigkeiten sowie klinischem Ausprägungsgrad der Erkrankung bewerten zu können.

## 2. Methoden

### 2.1 Probanden

An der Studie nahmen 20 Patienten der Universitätsklinik Bonn, die die ICD 10 Kriterien für Schizophrenie erfüllten, und 20 gesunde Probanden teil.

Die Patientengruppe bestand aus 14 Männern und 6 Frauen mit einem Durchschnittsalter von 34,5 Jahren (Standardabweichung: 10,2 Jahre). 19 der Patienten waren Rechtshänder, 18 Patienten hatten als Muttersprache Deutsch, die weiteren zwei Patienten verfügten über sehr gute Deutschkenntnisse. Die durchschnittliche Zeit, die seit der ersten Krankheitsepisode vergangen war, betrug 7,2 Jahre (Standardabweichung 8,5 Jahre). Alle Patienten erhielten eine medikamentöse Therapie (11 Patienten erhielten eine Monotherapie, 9 Patienten eine Kombinationstherapie) und befanden sich hierunter bezüglich der Positivsymptome in partieller oder voller Remission. Eine Übersicht über die verschiedenen Medikamente, die die Patienten einnahmen, liefert Tabelle 1.

Medikament	Quetiapin	Olanzapin	Aripiprazol	Risperidon	Lorazepam	Venlafaxin	Paliperidon	Mirtazapin	Clozapin	Duloxetin	Valproat	Reboxetin	Citalopram	Prothipendyl	Perazin
Patienten (n=20)	8	5	5	3	3	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1

**Tab. 1: Medikation der Patienten**

Die Tabelle zeigt jeweils die Anzahl der Patienten, die zum Zeitpunkt unserer Studie das jeweilige Medikament einnahmen. Da manche Patienten mit einer Medikamentenkombination behandelt wurden, ist die Summe der Patienten, welche die jeweiligen Medikamente einnehmen, größer als das untersuchte Patientenkollektiv.

Die Querschnittssymptomatik in der Patientengruppe wurde mit dem Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) für Schizophrenie bewertet (Kay et al., 1987). Hierfür wurde innerhalb von 48 Stunden nach der MR-Untersuchung ein strukturiertes klinisches Interview von zwanzig bis dreißig Minuten Dauer mit den Patienten durchgeführt. Das Interview wurde in allen Fällen von demselben Untersucher durchgeführt und evaluiert, um Interrater-Unterschiede zu vermeiden. Es wurden Fragen zu sieben Positivsymptomen, sieben Negativsymptomen und sechzehn Symptomen allgemeiner Psychopathologie gestellt. Für jedes der abgefragten bzw. zu beurteilenden Symptome

wurden Punkte zwischen 1 (Symptom nicht vorhanden) bis 7 (extreme Ausprägung des Symptoms) vergeben. Die Fragen in dem Interview wurden so gestellt, dass die Patienten über ihre Befindlichkeit und Symptomatik innerhalb der vergangenen Woche berichten sollten. Zwei der Patienten waren nach den MR-Messungen nicht mehr bereit an dem PANSS-Interview teilzunehmen. Eine Auflistung der abgefragten Symptome findet sich in Tabelle 2.

Positivsymptome	Negativsymptome	Allgemeinsymptome
Wahnideen	Affektverarmung	Sorge um körperliche Integrität
Formale Denkstörungen	Emotionaler Rückzug	Angst
Halluzinationen	Mangelnde Beziehungsfähigkeit	Schuldgefühle
Erregung	Passiver/apathischer Rückzug	Gespanntheit
Größenwahn	Erschwertes abstraktes Denkvermögen	Manieriertheit und Positur
Mißtrauen/Verfolgungswahn	Mangelnde Spontaneität und Redefluss	Depressivität
Feindseligkeit	Stereotypes Denken	Motorische Verlangsamung
		Fehlende Kooperationsbereitschaft
		Ungewöhnliche Denkinhalte
		Desorientiertheit
		Aufmerksamkeitsschwäche
		Mangelnde Urteils- und Einsichtsfähigkeit
		Willensstörung
		Verminderte Impulskontrolle
		Selbstbezogenheit
		Aktiver Sozialer Rückzug

**Tab. 2: Abgefragte Symptome im Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS)**  
Für jedes Symptom werden Punkte von 1 (Symptom nicht vorhanden) bis 7 (Symptom extrem ausgeprägt) vergeben.

In der Probandengruppe lag das Durchschnittsalter bei 30,7 Jahren (Standardabweichung 9,1 Jahre), in der Gruppe waren 11 Männer und 9 Frauen. Alle Probanden waren rechtshändig, einer der Probanden hatte nur mäßige Deutschkenntnisse, bei den anderen war Deutsch die Muttersprache. Keiner der Probanden hatte zum Untersuchungszeitpunkt oder in der Vorgeschichte eine bekannte neurologische, psychiatrische oder schwere internistische Erkrankung. 5 Probandinnen nahmen orale Kontrazeptiva ein, keiner der Probanden nahm weitere regelmäßige Medikamente ein. Drogen- oder Alkoholabusus kamen in der Probandengruppe nicht vor, kein Proband berichtete über eine

schwere Kopfverletzung in der Vergangenheit oder über psychiatrisch erkrankte Angehörige. Tabelle 3 zeigt eine Übersicht der demographischen Daten und der Ergebnisse des PANSS.

Die Untersuchung wurde von der lokalen Ethikkommission der Universität Bonn genehmigt (Votum 150/08). Die Patienten wurden in der Universitätsklinik Bonn direkt angesprochen, ob sie an der Studie teilnehmen wollten. Die Probanden wurden über Ausgänge rekrutiert und erhielten eine Aufwandsentschädigung von 20,00 €. Alle Teilnehmer wurden im Vorfeld ausführlich mündlich und schriftlich über das Studienvorhaben aufgeklärt und partizipierten freiwillig.

	Patienten	Kontrollpersonen	p-Wert
Geschlecht [m/f]	14 / 6	11 / 9	p=0,51
Alter [Jahre]	34,5 (10,2)	30,7 (9,1)	p=0,23
Händigkeit [r/l]	19 / 1	20 / 0	
Höchster Schulabschluss [HS/MR/Abi/Uni]	2 / 6 / 9 / 3	0 / 3 / 16 / 1	p=0,26
Zeit seit erster Krankheitsepisode [Jahre]	7,2 (8,5)		
PANSS, Positivsymptome	10,8 (3,5)		
PANSS, Negativsymptome	13,9 (3,9)		
PANSS, Allgemeinsymptome	26,4 (6,2)		
PANSS, Gesamt	51,0 (11,3)		

**Tab. 3: Demographische Daten und PANSS-Ergebnisse**

Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen bzw. Absolutwerte (Geschlecht, Händigkeit, Schulabschluss). Die Patienten- und die Kontrollgruppe weichen in keiner der Kriterien signifikant voneinander ab.

Abkürzungen: HS, Hauptschulabschluss; MR, Mittlere Reife; Abi, Abitur; Uni, Hochschulabschluss; PANSS, Positive and Negative Symptom Scale

**2.2 Neuropsychologische Tests**

Um die kognitiven Fähigkeiten der Probanden- und Patientengruppe miteinander vergleichen zu können und vor allem um die Korrelation zwischen bestimmten Aufgaben und den Konzentrationen der untersuchten biochemischen Metaboliten beurteilen zu können, wurden innerhalb von 48 h nach der MR-Spektroskopie mit den Teilnehmern an der Studie eine Reihe von neuropsychologischen Tests durchgeführt. Zwei der Patien-

ten waren jedoch nach dem MR-Messungen nicht mehr bereit an den neuropsychologischen Tests teilzunehmen. Die Testbatterie enthielt die deutsche Version des Verbalen Lern- und Merkfähigkeitstests (VLMT) (Helmstaedter, 2001), den Zahlenspannentest (Tewes, 1991) und den Zahlensymboltest (Tewes, 1991) aus der revidierten Fassung des Hamburg Wechsler Intelligenztests für Erwachsene (HAWIE-R), den Blockspannentest (Härting et al., 2000) der deutschsprachigen revidierten Fassung des Wechsler Gedächtnistests (WMS-R), den Buchstaben-Zahlen-Test (Gold et al., 1997) und den Trail Making Test (TMT) A und B (Reitan, 1979).

Um die Anzahl der statistischen Analysen zu reduzieren erstellten wir drei „composite scores“ für die kognitiven Bereiche verbales Gedächtnis, Arbeitsgedächtnis und Aufmerksamkeit. Dazu wurden die unbearbeiteten individuellen Testergebnisse der gesamten Stichprobe (Probanden+Patienten) z-transformiert und im Anschluss für jeden dieser Bereiche die Mittelwerte aus einzelnen Tests berechnet. Der „composite Score“ für den Bereich verbales Gedächtnis setzte sich aus den Ergebnissen der Durchgänge 1-5, sowie 6 und 7 des VLMT zusammen (Cronbach Alpha: 0,95). Zu der kognitiven Domäne des Arbeitsgedächtnisses wurden die Ergebnisse des Zahlenspannentests, des Blockspannentests und des Buchstaben-Zahlen-Tests zusammengefasst (Cronbach Alpha: 0,94). Der Aufmerksamkeitsscore wurde aus den Ergebnissen des TMT-A , TMT-B und des Zahlen-Symbol-Tests abgeleitet (Cronbach Alpha 0,92).

### 2.2.1 Verbales Gedächtnis

Der VLMT besteht aus einer Lern- und einer Interferenzliste, die sich jeweils aus 15 semantisch unabhängigen Wörtern zusammensetzen, sowie aus einer Wiedererkennungsliste, welche die Begriffe aus der Lern- und der Interferenzliste und 20 weitere Wörter enthält. Zu Beginn des VLMT wird die Testperson aufgefordert aufmerksam zuzuhören und sich so viele der vorgelesenen Wörter wie möglich zu merken. Die 15 Begriffe der Lernliste werden im 2-Sekunden-Rhythmus vorgelesen, im direkten Anschluss wird die Testperson aufgefordert, so viele Begriffe wie möglich zu wiederholen. Die Reihenfolge, in der die Begriffe genannt werden, ist hierbei nicht relevant. Die Lernliste wird fünfmal vorgelesen, wobei die Testperson nach jedem Durchgang möglichst viele Wörter wiederholen soll (VLMT 1-5). Danach wird die Interferenzliste vorgelesen, hier soll die Testperson im Anschluss ebenfalls möglichst viele Begriffe wiederholen. Nach einer zeitli-

chen Verzögerung von etwa 30 Minuten wird die Testperson erneut gebeten sich an die Wörter der Lernliste zu erinnern (VLMT 6). Im Anschluss wird die Wiedererkennungsliste vorgelesen, die Testperson soll bei jedem Wort beurteilen, ob es zur Lernliste gehört oder nicht (VLMT 7).

Beim VLMT 1-6 wird jeweils die Anzahl der richtigen Begriffe gezählt, hierbei werden die Durchgänge 1-5 zu einer Gesamtsumme zusammenaddiert. Bei dem Wiedererkennungstest wird die Anzahl der fälschlicherweise in die Lernliste eingeordneten Begriffe von der Anzahl der richtig wiedererkannten Wörter abgezogen.

Um den Composite Score zu berechnen wurden zunächst die individuellen Ergebnisse der Durchgänge 1-5, 6, und 7 aller Studienteilnehmer durch Z-Transformation umgewandelt. Im Anschluss daran wurden diese z-transformierten Ergebnisse jeweils getrennt für die Patienten-Gruppe und die Probanden-Gruppe addiert und der Mittelwert berechnet.

### 2.2.2 Arbeitsgedächtnis

Der Composite Score für das Arbeitsgedächtnis setzt sich aus den erzielten Leistungen im Zahlenspannen-, Blockspannen- und Buchstaben-Zahlen-Test zusammen (Cronbach Alpha: 0,94).

Der Zahlenspannentest besteht aus zwei Teilen. Im ersten Teil des Tests liest der Testleiter der Testperson Zahlen im 1-Sekunden-Rhythmus vor und fordert sie auf, diese nachzusprechen. Die ersten beiden Zahlenreihen bestehen aus 3 Ziffern. Für jede korrekt wiederholte Zahlenreihe wird ein Punkt vergeben. Die Länge der Zahlenreihe wird nach jedem zweiten Durchgang um eine Ziffer erhöht, der Test wird abgebrochen wenn beide Versuche der gleichen Zahlenlänge misslingen oder wenn die letzten beiden Durchgänge mit 9 Ziffern beendet sind. Die maximal mögliche Punktzahl beträgt also 14. Im zweiten Teil des Tests wird der Proband/Patient gebeten, die dargebotenen Zahlenreihen rückwärts zu wiederholen. Es wird mit zwei Zahlen begonnen, im letzten Durchgang werden acht Zahlen vorgelesen. Es sind also ebenfalls maximal 14 Punkte erreichbar. Ein Abbruch des Tests erfolgt, sobald die Testperson bei beiden Versuchen einer Zahlenlänge die Zahlenabfolge nicht korrekt wiedergeben kann.

Für den Blockspannentest wird ein Brett verwendet, auf dem neun Würfel befestigt sind. Auf einer Seite dieser Würfel sind die Zahlen von eins bis neun abgebildet. Diese Seite

zeigt zum Untersucher. Der Untersucher tippt die Würfel in einer vorgegebenen Reihenfolge an, die Testperson wird im ersten Teil des Tests aufgefordert die Würfel im Anschluss in derselben Reihenfolge anzutippen, im zweiten Teil des Tests sollen die Würfel in der umgekehrten Reihenfolge angetippt werden. Wie bei dem Zahlenspannentest gibt es pro Folge zwei Versuche, die Folgen werden jedes Mal um einen Würfel verlängert. Es wird jeweils mit einer Spanne von zwei Würfeln begonnen, der Abbruch erfolgt entweder wenn beide Versuche einer Länge erfolglos waren oder nach acht (vorwärts) beziehungsweise sieben (rückwärts) Würfeln in Folge. Im ersten Teil sind maximal 14, im zweiten Teil maximal 12 Punkte erreichbar.

Beim Buchstaben-Zahlen-Test liest der Testleiter Reihen von Buchstaben und Zahlen vor. Der Patient/Proband wird aufgefordert, zuerst die Zahlen in aufsteigender Reihenfolge und dann die Buchstaben in aufsteigender, alphabetischer Reihenfolge zu wiederholen. Es werden zunächst vier Übungsdurchgänge zunehmenden Schweregrades gemacht, um sicher zu gehen, dass der Patient/Proband den Versuchsaufbau begriffen hat. Es werden insgesamt 24 Buchstaben-Zahlen-Reihen (entsprechend maximal 24 erreichbaren Punkten) dargeboten, jeweils vier derselben Länge. Begonnen wird mit einer Zahl und einem Buchstaben, die längsten Reihen enthalten 3 Ziffern und 4 Buchstaben. Gelingt der Testperson keiner der vier Durchgänge einer Länge wird der Test beendet.

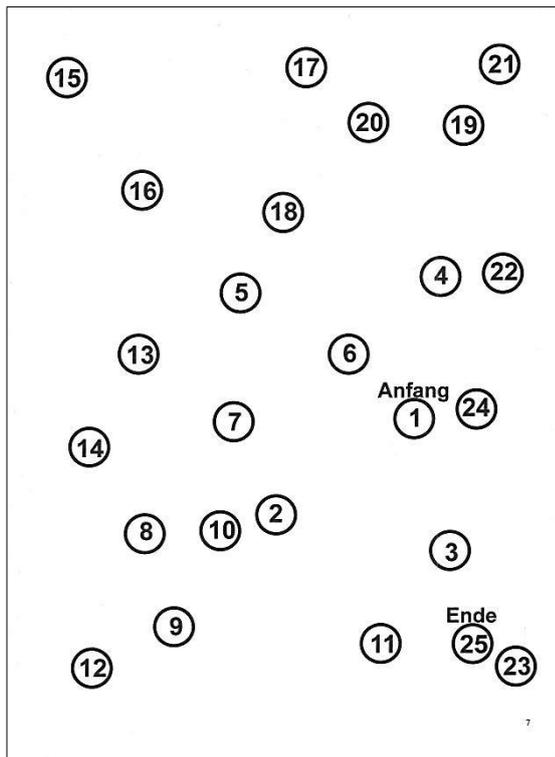
Der Composite-Score wurde berechnet, indem zunächst die individuellen Ergebnisse aller Probanden und Patienten in den drei vorab beschriebenen Tests z-transformiert wurden und anschließend jeweils der Mittelwert für die Patienten- und Probandengruppe getrennt ermittelt wurde.

### 2.2.3 Aufmerksamkeit

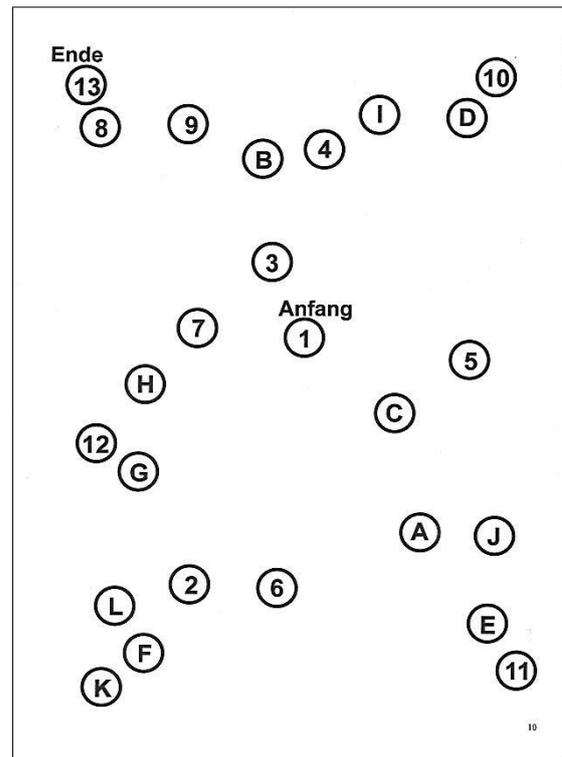
Der Composite Score für die Aufmerksamkeitsleistung setzt sich zusammen aus den Ergebnissen der Trail-Making-Tests A und B und des Zahlensymboltest (Cronbach Alpha: 0,92)

Beim Trail-Making-Test A wird der Testperson ein Blatt vorgelegt auf dem in 25 Kreisen die Zahlen von 1 bis 25 abgebildet sind. Die Ziffer 1 ist mit „Anfang“ markiert, die Zahl 25 mit „Ende“. Die Testperson wird nun gebeten, auf ein Startkommando hin, so schnell wie möglich die Zahlen in aufsteigender Reihenfolge miteinander zu verbinden, dabei stoppt

der Versuchsleiter die Zeit. Macht die Versuchsperson einen Fehler, wird sie sofort darauf hingewiesen, die Zeit läuft dabei weiter. Nach maximal drei Minuten wird der Test beendet. Vor Beginn des Tests wird ein Probedurchgang gemacht, bei dem die Zahlen von eins bis acht abgebildet sind. Der Trail-Making-Test B wird dadurch erschwert, dass sich Zahlen von 1 (Anfang) bis 13 (Ende) und Buchstaben von A bis K in den Kreisen befinden. Die Testperson soll immer abwechselnd eine Zahl und einen Buchstaben abfahren, jeweils in aufsteigender Reihenfolge. Vor Beginn des Tests wird wieder ein Probedurchlauf mit den ersten acht Zahlen/Buchstaben gemacht und der Testleiter vergewissert sich, dass der Patient das Alphabet flüssig beherrscht. Wie im TMT-A wird die Zeit gemessen, die die Testperson benötigt um den Test zu beenden, nach drei Minuten wird der Test vorzeitig beendet. Abbildung 3 zeigt den Versuchsaufbau des TMT-A (Abb. 3a) und TMT-B (Abb. 3b).



a



b

### Abbildung 3: Trail-Making Test A und B

Beim TMT-A (a) sollen möglichst schnell die Zahlen der Reihe nach ohne Absetzen des Stiftes verbunden werden. Beim TMT-B (b) wird die Aufgabenstellung erschwert indem abwechselnd eine Zahl und ein Buchstabe in aufsteigender Reihenfolge verbunden werden müssen. Gemessen wird jeweils die Zeit, die bis zur Fertigstellung benötigt wird.



## 2.3 MR-Spektroskopie (MRS)

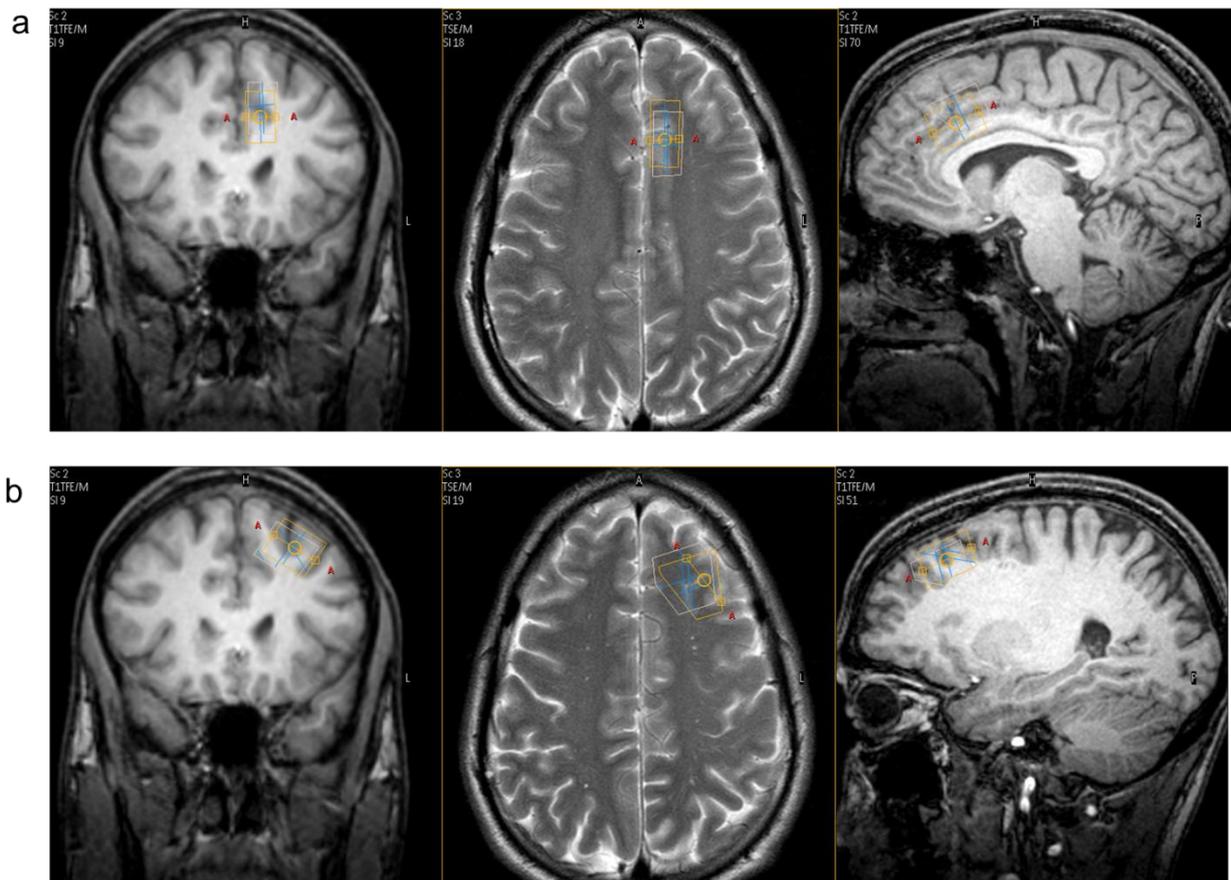
### 2.3.1 $^1\text{H}$ -MRS-Messungen

Sämtliche MRS Untersuchungen wurden an einem 3 Tesla Ganzkörper MR-Gerät (Gyrosan Achieva 3.0 T, Philips Healthcare, Best, Niederlande) mit einer Sende-/Empfangs-Quadratur Kopfspule (Durchmesser 28 cm, Länge 23 cm) durchgeführt. Bewegungsartefakte durch die Patienten wurden durch Schaumstoffblöcke an beiden Seiten des Kopfes und durch eine Stirnfixation mittels Klettstreifen minimiert.

Zunächst wurden Bildgebungsserien (eine sagittale 3D Turbo-Field Echo Sequenz und ein transversales T2 Turbo-Spin-Echo) durchgeführt, um die Platzierung der VOI (Volumes of Interest) anhand der anatomischen Strukturen zu ermöglichen: Hieraus wurde durch Reformatierung noch eine coronare Darstellung erstellt, um Planungsaufnahmen in allen drei Ebenen zu erhalten. Das erste VOI mit einer Ausdehnung von 25 mm entlang der sagittalen Achse, 20 mm entlang der transversalen Achse und 16 mm entlang der longitudinalen Achse (entsprechend 8 cm<sup>3</sup>) wurde im dorsolateralen Bereich des linken Lobus frontalis, vor dem Sulcus precentralis platziert. Das zweite VOI wurde in den anterioren Bereich des Gyrus Cinguli anterior gelegt, so dass die vordere untere Ecke des VOI direkt über der Vorderkante des Corpus Callosum lag, die untere Kante tangential zur oberen Begrenzung des Balkens war und die seitliche Begrenzung parallel zum Hemisphärenspalt lag. Dieses VOI hatte eine Größe von 6 cm<sup>3</sup> mit 25 mm Kantenlänge entlang der sagittalen Achse, 20 mm entlang der longitudinalen Achse und 12 mm entlang der transversalen Achse. Die Ausdehnung dieses zweiten Voxels wurde bewusst auf die linke Hemisphäre beschränkt, um Spektrallinienverbreiterungen, die durch Miteinbeziehung des Hemisphärenspaltes entstehen würden, zu verringern. Die Breite entlang der transversalen Achse konnte nicht größer gewählt werden, da es sonst zu Überlappungen mit dem ersten Voxel im präfrontalen Kortex gekommen wäre.

Die Größe der Voxel wurde so klein wie möglich gehalten, um eine gute Qualität der Spektren zu gewährleisten und möglichst nur das Hirnparenchym der Zielregion einzuschließen. Jedoch konnte die Voxelgröße aufgrund der höheren Anzahl an Signalmittlungen, die bei kleineren Voxeln benötigt werden, und somit zu einer längeren Aufnahmezeit führen, nicht zu gering gewählt werden, da die Untersuchung die praktisch durchführbare Dauer dann überschritten hätte. Abbildung 5 zeigt die Lokalisation und Aus-

dehnung der beiden Voxel. Nach der Auswahl der geeigneten Voxel wurde im Messareal eine sogenannte automatisierte "Shimming-Prozedur" durchgeführt. Hierbei werden in zusätzlichen Gradientenspulen Korrekturfelder erzeugt, die das Magnetfeld der Hauptspule so überlagern, dass sie es in dieser Region noch weiter homogenisieren.



**Abb. 5: Positionierung der  $^1\text{H}$ -MRS Voxel im anterioren Gyrus Cinguli (a) und im linken präfrontalen Kortex (b)** Die Abbildung zeigt die Positionierung der beiden Voxel (gelbe Kästchen) in allen drei Ebenen, einmal im anterioren Gyrus Cinguli (a) und einmal im linken präfrontalen Kortex (b)

Die Volumenselektion erfolgte durch eine  $90^\circ$ - $180^\circ$ - $180^\circ$  Doppelpulch-Anregung (PRESS) (Luyten et al., 1990). Die Spektren wurden mit 1024 Datenpunkten und einer Gesamtbandbreite von 2kHz akquiriert (entspricht einer Frequenzauflösung von 2 Hz). Zunächst wurden wasserunterdrückte Spektren mit einer Echozeit (TE) von 140 ms und einer Repetitionszeit (TR) von 2000 ms aufgenommen. Hieraus wurden später die relativen Metabolitenquotienten von NAA, Cho und Cr bestimmt. Diese Datenakquisitionen

wurden im dorsolateralen präfrontalen Cortex mit 96 Signalmittlungen und im Gyrus Cinguli anterior mit 128 Signalmittlungen durchgeführt. Um auch die Metaboliten mit einer sehr kurzen T2-Relaxationszeit (Glx, Myo-Inositol) bestimmen zu können, wurden zusätzlich Messungen mit einer kurzen Echozeit von 30 ms durchgeführt. Auch diese Spektren wurden wasserunterdrückt und mit TR 2000 ms und 96/128 Signalmittlungen aufgenommen.

Für die Absolutquantifizierung von NAA, mit dem Wassersignal aus dem Hirnparenchym des Untersuchungsvolumens als internem Referenzwert, wurden Aufnahmen bei TE 80 ms und TR 4000 ms mit 32 Signalmittlungen gemacht. Die längere Repetitionszeit wurde gewählt, um mögliche Einflüsse der unterschiedlichen T1-Relaxationszeiten der Metaboliten weitestgehend zu eliminieren. Zunächst wurde ein nicht-wasserunterdrückter Referenzdatensatz aufgenommen, im direkten Anschluss folgte die Akquisition des wasserunterdrückten Spektrums.

Die Relaxationszeiten der Metaboliten bei 3 Tesla im präfrontalen Kortex und im ACC, die für die Extrapolation zu TE 0 und TE  $\infty$  benötigt wurden, haben wir aus Daten berechnet, die bereits in vorherigen Studien erhoben wurden (Traber et al., 2004). Als T2 Wert für [NAA+NAAG] verwendeten wir im präfrontalen Kortex 279 ms, im ACC 254 ms. Desweiteren gingen wir davon aus, dass die Relaxationszeiten der Acetylkomponenten von NAA und NAAG keinen signifikanten Unterschied aufweisen (Edden et al., 2007).

Um die für die Absolutquantifizierung benötigten relativen Volumenanteile von Wasser im Hirngewebe und im Liquor getrennt voneinander bestimmen zu können, wurde noch eine spektroskopische Relaxometriesequenz ohne Wasserunterdrückung durchgeführt. Die Repetitionszeit betrug 6000 ms (mit dem Ziel, T1-Effekte zu minimieren), die Echozeiten betragen 35, 60, 100, 140, 280, 500 und 800 ms mit je 4 Signalmittlungen.

Bei fünf Personen wurde außerdem eine nicht-wasserunterdrückte Inversion-Recovery-Serie mit unterschiedlichen Inversionszeiten (TI) aufgenommen, um die T1-Relaxationszeiten von Wasser im frontalen Hirngewebe zu bestimmen.

Nach der Akquisition der kompletten Daten aus jedem der beiden Hirnareale wurde eine weitere transversale Turbo-Spin-Echo Aufnahme durchgeführt. Diese diente als Lagekontrolle, um Spektren, bei denen sich die untersuchte Person bewegt hatte, auszuschließen, beziehungsweise um die Positionierung des VOI vor Beginn der nächsten Aufnahmen noch einmal korrigieren zu können.

Aufgrund von Patientenbewegungen mussten die Datensätze des präfrontalen Kortex in zwei Fällen verworfen werden, hieraus resultiert die differierende Anzahl der Datensätze zwischen den beiden untersuchten Hirnregionen.

### 2.3.2 Post-Prozessierung

Für die Postprozessierung wurde das MRUI-Software-Paket (Naressi et al., 2001b; Vanhamme et al., 1997) verwendet. Zunächst wurde eine halbautomatische Vorprozessierung der Daten vorgenommen: Es wurde eine Lorentz-Gauss-Filterung angewendet, wodurch das Signal-Rausch-Verhältnis verbessert wird (Gauss-Filter mit positivem Exponenten) und die Linienbreiten verschmälert werden (Lorentz-Filter mit negativem Exponenten), um die Trennung von NAA und NAAG zu optimieren.

Desweiteren wurde eine zusätzliche Unterdrückung des residuellen Wassersignals vorgenommen.

Die Datensätze wurden in der Zeitdomäne durch ein sogenanntes „zero-filling“ auf 4096 Datenpunkte mit dem Wert 0 ergänzt, was einer geglätteten Interpolation der Messpunkte in der Frequenzdomäne entspricht.

Danach erfolgte die benutzerunabhängige Quantifizierung mittels des AMARES-Algorithmus des MRUI-Software-Pakets. Dieses Programm passt die Signale in der Zeitdomäne an und wandelt sie später durch Fourier-Transformation in ein Frequenzspektrum um.

### 2.3.3 Absolutquantifizierung

Da die Peakintegrale zunächst nur Informationen über die relativen Metabolitenkonzentrationen des untersuchten VOI beinhalten, ist es für die Absolutquantifizierung notwendig, eine Referenzsubstanz zu haben, deren Konzentration im VOI bekannt ist. Bei unseren Messungen stellt das Wassersignal aus dem Hirnparenchym diese interne Referenz dar. Da sich bei in vivo-Messungen von unserer Voxelgröße, trotz der Bemühungen den Liquoranteil möglichst gering zu halten, immer auch Liquor im gemessenen Volumen befindet, ist es zunächst einmal notwendig, das Wassersignal des Hirnparenchyms vom Wassersignal des Liquors zu trennen. Man weiß, dass das Hirnparenchym (über graue und weiße Substanz gemittelt) etwa 72 % Wasser enthält (Kreis, 1993), was einer Konzentration von 40 mol pro Liter Hirngewebe entspricht. Da der Wasseranteil im Hirn-

gewebe eine sehr viel kürzere T2-Relaxationszeit hat als das Wasser im Liquor (ca 65 msec gegenüber 500 ms) ist es möglich, über die durchgeführte T2-Relaxometriesequenz und eine biexponentielle „least-squares-Anpassung“, zu bestimmen wie das Volumenverhältnis von Hirngewebe zu Liquor in der Probe ist. Mit diesen Informationen lässt sich wiederum, unter der Annahme dass NAA ausschließlich im Hirngewebe vorkommt, aus dem Spektrum bei TE 80 ms die Absolutkonzentration von NAA berechnen.

TR [ms]	2000	2000	4000	6000
TE [ms]	30	140	80	35/60/100/140/280/500/800
	ws	ws	us	us
[NAA <sup>1</sup> + NAAG <sup>2</sup> ]			X	
[NAAG]		X		
[NAA]		X		
NAAG / NAA		X		
[Cho <sup>3</sup> ]		X		
[(P)Cr <sup>4</sup> ]		X		
[MI <sup>5</sup> ]	X			
Glx <sup>6</sup> / (P)Cr	X			
Gln <sup>7</sup> / (P)Cr	X			
T2 (H <sub>2</sub> O) und % CSF im MRS-Voxel				X

**Tab. 4: Zur Metabolitenquantifizierung verwendete <sup>1</sup>H-MRS-Sequenzen**

<sup>1</sup>N-Acetylaspartat, <sup>2</sup>N-Acetylaspartylglutamat, <sup>3</sup>Cholin-Verbindungen, <sup>4</sup>Gesamt-Kreatin, <sup>5</sup>Myoinositol, <sup>6</sup>Glutamat/Glutamin/GABA-CH<sub>2</sub>, <sup>7</sup>Glutamin (ws=wasserunterdrückt, us=nicht wasserunterdrückt)

Da die Peaks von Cho und (P)Cr zu nah am Wasserpeak liegen, wurde darauf verzichtet, die Absolutkonzentrationen dieser beiden Metaboliten direkt aus dem TE 80 ms Spektrum in Bezug auf das interne Wassersignal zu berechnen, stattdessen wurden die Konzentrationen von Cho und (P)Cr anhand der Spektren bei TE 140 ms im Verhältnis zu NAA berechnet. Dies war möglich, weil wir über wiederholte anatomische Kontrollaufnahmen eine Bewegung der Patienten und Probanden während der Untersuchung weitestgehend ausgeschlossen haben, und so davon ausgehen können, dass die Position der VOI während der gesamten Untersuchung gleichbleibend war. Myo-Inositol

(MI) wurde ebenfalls im Vergleich zu NAA berechnet, jedoch bei TE 30 ms. Hierbei wurde eine T2 Relaxationszeit von 75 ms bei der Extrapolation von TE 30 ms zu TE 0 verwendet. Die Metaboliten-Quotienten Glx/(P)Cr und Gln/(P)Cr wurden aus den Spektren mit TE 30 ms ermittelt, wobei Glx als Summe der überlappenden Glutamat/Glutamin/GABA-CH<sub>2</sub> Komponenten in Frequenzbereich 2,1-2,4 ppm definiert wurde, der Wert für Glutamin wurde vom Resonanzsignal des 4CH<sub>2</sub> bei 2,47 ppm abgeleitet. Tabelle 4 zeigt die <sup>1</sup>H-MRS Sequenzen aus denen die Metabolitenkonzentrationen und –quotienten berechnet wurden.

#### 2.3.4 Trennung von NAA und NAAG

Auch bei 3 Tesla gelingt es nicht, für NAA und NAAG zwei voneinander getrennte Peaks zu erhalten, allerdings ist der wesentlich kleinere NAAG-Peak, der unter dem NAA-Peak liegt, deutlich besser als kleine Erhebung im linken abfallenden Schenkel des NAA-Peaks abzugrenzen. Der Abstand zwischen den beiden Peaks beträgt etwa 4,6 Hz, deshalb ist es für die Trennung dieser beiden Substanzen wichtig, dass die Linien so schmal wie möglich sind und sich dadurch weniger überlappen. Dies wurde durch die Wahl der Voxelgrößen und die durchgeführten Nachbearbeitungsschritte der Datensätze gewährleistet. Die mittlere Linienbreite der NAA-Methyl-Resonanz betrug (nach Apodisierung) bei TE 140 ms im präfrontalen Voxel 4,4 Hz und im ACC 4,2 Hz. Der Frequenzabstand von 4,6 Hz wurde als fester Wert im AMARES-Programm eingefügt und die Linienbreite beider Komponenten wurde gleich gehalten (Siehe Abbildung 6).

Um die Zuverlässigkeit der Ergebnisse zu optimieren, wurden nur die Spektren für die weitere Evaluation verwendet, deren NAA-Linienbreite weniger als 6 Hz betrug und bei denen die NAAG-Komponente von AMARES mit einer Genauigkeit besser als 50 % (Cramer-Rao lower bounds CRLB) „gefitted“ wurde. Aufgrund dieser Kriterien mussten die gesamten Daten eines Patienten sowie die Daten des ACC eines Probanden vernachlässigt werden. NAAG konnte in beiden Zielregionen mit einem durchschnittlichen CRLB von 13 % ermittelt werden, für NAA lag der CRLB Wert in allen Fällen unter 2,5 % (im Mittel 1,4 %), so dass die Genauigkeit des NAAG/NAA Quotienten fast gänzlich durch die CRLB-Werte der NAAG-Anpassung definiert ist.

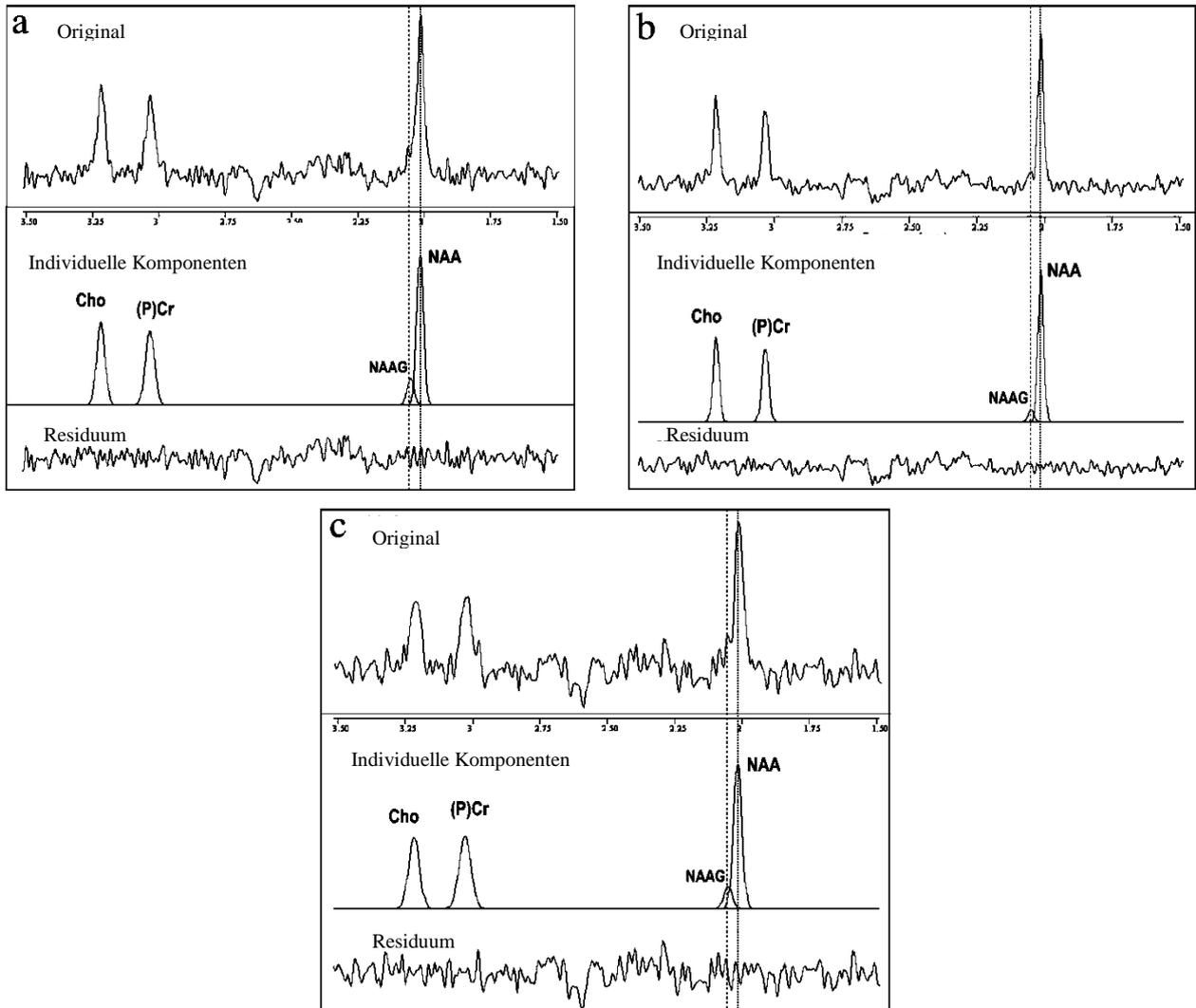
Die angewandte Quantifizierungsmethode zur getrennten Messung von NAA und NAAG wurde ebenfalls in Phantomexperimenten mit Lösungen auf Wasserbasis getestet. Die

Testlösungen enthielten 3 mmol/l NAAG und 25 mmol/l NAA. Während die T1 Werte der Phantomlösungen den in-vivo Werten glichen (Traber et al., 2004), waren die gemessenen T2 Relaxationszeiten wesentlich länger ( $> 750$  ms für NAA und NAAG). Die gemessenen NAAG/NAA Quotienten entsprachen bei allen TE (30/80/140) dem tatsächlichen Quotienten von 0,12 (mit Abweichungen von bis zu 7 %). CRLB von NAAG war 3,2 % und 0,5 % von NAA bei TE 140 ms, dieser Wert stieg auch nicht an, nachdem die Linienbreiten durch Gauss'sche Verbreiterung den in-vivo Linienbreiten angepasst worden waren (Siehe Abbildung 7b).

NAAG wurde aus den wasserunterdrückten Datensätzen mit TE 140 ms und TE 80 ms bestimmt. Aus den Akquisitionen bei TE 30 ms lässt sich die Konzentration von NAAG nicht korrekt bestimmen, da bei dieser kurzen Echozeit die Glx- Signale, die in etwa bei derselben Frequenz (2,0 – 2,14 ppm) liegen, noch zu stark sind und ca. 10 % der Gesamtintensität von NAA+NAAG ausmachen, wie Matrix-Dichte Berechnungen mit Hilfe des NMR-SCOPE Moduls des MRUI-Software Pakets zeigten (Naressi et al., 2001a).

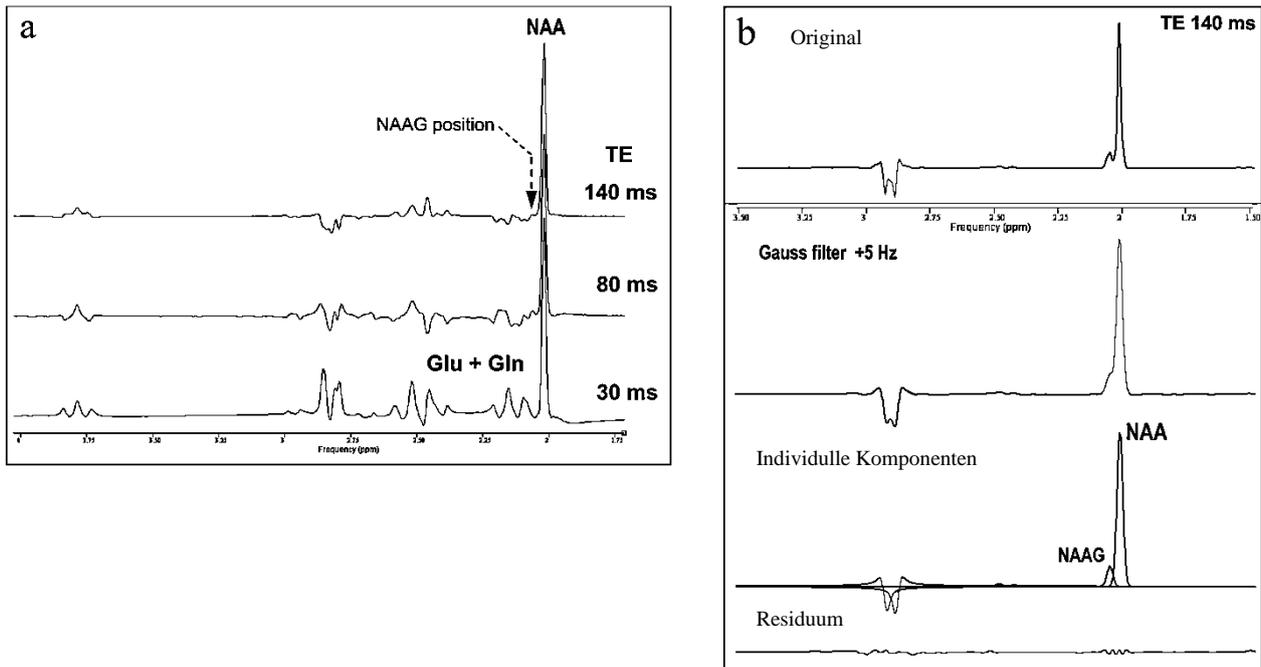
Bei den gewählten, längeren TE wurde diese Signalüberlappung in der NAAG-Position, aufgrund von Phasenverschiebung des gekoppelten Glutamat/Glutamin Spins, mit unter 3 % angegeben, die kürzere T2 Relaxationszeit dieser Komponenten reduziert diesen Signalanteil noch ein bisschen weiter. Diese Berechnungen wurden durch Phantom-Experimente bestätigt, in denen Testlösungen verwendet wurden, die zwar im Vergleich zum Hirngewebe etwa doppelt so hohe Konzentrationen an NAA, Glutamat und Glutamin aufwiesen, deren Konzentrationsverhältnisse jedoch mit 1:0,75:0,3 den in-vivo Konzentrationsverhältnissen des menschlichen Gehirns sehr eng angenähert waren (Ratney et al., 2005). Bei TE 30 ms beträgt die Glx-Komponente bei 2,08 ppm 16 % der Peak-Fläche im Vergleich zu NAA und hat auch bei der NAAG-Frequenz von 2,04 ppm noch ein beträchtliches Restsignal. Bei TE 80 ms beträgt dieses Glx-Restsignal bei 2,05 ppm nur noch 3 % der NAA-Signalintensität und bei TE 140 ms ist es nicht mehr messbar (Siehe Abbildung 7a).

Die Absolutquantifizierung von NAAG wurde über das bei TE 140 ms gemessene Verhältnis NAAG/NAA ebenso wie die von Cho und (P)Cr in Bezug auf den absoluten Wert von NAA berechnet, da auch bei TE 80 ms das darunterliegende Glx-Signal das Spektrum noch beeinflusst.



**Abb. 6: Beispiele der akquirierten 1H-MRS Spektren bei TE=140ms**

- a) Spektrum aus dem anterioren Gyrus cinguli eines Patienten. Oben abgebildet ist das unbearbeitete Spektrum, in der Mitte die individuellen Komponenten, die berechnet wurden: Cholin (Cho), (Phospho)-Kreatinin ((P)Cr), N-Acetylaspartyglutamat (NAAG) und N-Acetylaspartat (NAA) und unten das Restsignal. Die Positionen von NAAG (2,04 ppm) und NAA (2,01 ppm) sind mit den gestrichelten bzw. gepunkteten Linien dargestellt. Die Linienbreite von NAAG und NAA betrug 3,8 Hz und das Verhältnis von NAAG zu NAA, welches über das AMARES Programm berechnet wurde betrug 0,15. Die „Fitting-Genauigkeit“ (CRLB) lag für NAAG bei 8 %, für NAA bei 1,3 %.
- b) Der ACC einer gesunden Kontrollperson. Hier lag die Linienbreite für NAAG und NAA bei 3,4 Hz, das Verhältnis NAAG/NAA betrug 0,08.
- c) Der linke präfrontale Kortex eines Patienten mit einer Linienbreite von 4,7 Hz für NAAG und NAA und einem Verhältnis NAAG/NAA von 0,14.



### Abbildung 7: $^1\text{H}$ -MRS Spektren zweier Phantomlösungen

Spektren von Phantomlösungen, die zur Testung der angewandten Quantifizierungsmethode verwendet wurden:

a) Phantomlösung bestehend aus N-Acetylaspartat (2.5 mmol/l), Glutamat (19 mmol/l) und Glutamin (8 mmol/l). Bei  $\text{TE}=140$  ms (obere Reihe) sind an der N-Acetylaspartylglutamat-Position (Pfeil) keine Signale von Glutamat (Glu) oder Glutamin (Gln) zu erkennen, bei kürzeren Echozeiten hingegen sind die Spektrallinienüberlagerungen mit diesen Komponenten bedeutend.

b) Phantomlösung bestehend aus N-Acetylaspartat (25 mmol/l) und N-Acetylaspartylglutamat (3 mmol/l). Das Originalspektrum (obere Reihe) wurde durch Gauss'sche Linienverbreiterung um 5 Hz den in-vivo Bedingungen angepasst, dadurch wurden die Linien von 2,1 Hz auf 3,5 Hz (mittlere Reihe) verbreitert. In der unteren Reihe ist zu erkennen, dass das in der Phantomlösung bestehende Verhältnis NAAG/NAA von 0,12 auch in dem verbreiterten Spektrum realistisch abgebildet ist.

## 2.4 Statistische Methoden

Die Zusammensetzung der Patienten- und Kontrollgruppe hinsichtlich der Geschlechterverteilung wurde mittels Chi-Quadrat-Test verglichen. Für den Vergleich des Bildungsgrades zwischen den beiden Gruppen verwendeten wir den Trendtest. Die Alterszusammensetzung der beiden Gruppen wurde mit dem t-Test für unverbundene Stichproben verglichen.

Sämtliche Metabolitenkonzentrationen und –quotienten wurden zwischen Patienten- und Probandenkollektiv mit Students t-Test verglichen. Desweiteren untersuchten wir innerhalb der Patientengruppe die Korrelation der Absolutkonzentrationen von NAA und NAAG sowie des NAAG/NAA Quotienten mit den Ergebnissen der PANSS-Unterpunkte mit Hilfe des Pearson Korrelations-Koeffizienten. Die Korrelation der Konzentrationen von NAAG, NAA und NAAG/NAA mit den Ergebnissen der drei kognitiven composite-scores wurde ebenfalls über den Pearson Korrelations-Koeffizienten berechnet, diese Berechnungen wurden für die Patienten- und die Kontrollgruppe getrennt durchgeführt. Sämtliche der genannten Analysen führten wir für jede der beiden Zielregionen getrennt durch.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Statistische Auswertung

Tabelle 5 liefert eine Übersicht der Ergebnisse der neuropsychologischen Tests innerhalb der Patientengruppe im Vergleich zu der Probandengruppe. Tabelle 6 zeigt eine Aufstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Absolutkonzentrationen von NAA, NAAG, Cho, (P)Cr und MI sowie der NAAG/NAA, Glx/(P)Cr und Gln/(P)Cr Quotienten sowohl in der Patienten- als auch in der Probandengruppe.

	Patienten (n=18)	Kontrollpersonen (n=20)	Differenz
VLMT, immediate Recall (Durchgang 1-5)	50,1 (11,3)	61,9 (7,6)	p=0,001
VLMT, delayed recall (Durchgang 6)	9,3 (3,2)	13,9 (1,1)	p<0,001
VLMT, Wiedererkennung (Durchgang 7)	11,8 (3,7)	14,1 (1,8)	p=0,017
Zahlenspannentest	13,1 (4,3)	19,1 (2,9)	p<0,001
Blockspannentest	13,5 (3,4)	17,9 (2,8)	p<0,001
Buchstaben-Zahlen-Test	13,6 (4,2)	18,5 (3,2)	p<0,001
Zahlen-Symbol-Test	46,1 (13,8)	69,0 (7,1)	p<0,001
Trail-Making-Test A	36,5 (19,6)	25,2 (10,4)	p=0,032
Trail-Making-Test B	76,9 (42,6)	50,9 (17,6)	p=0,018
Composite Score Verbales Gedächtnis	-0,66 (0,96)	0,56 (0,48)	p<0,001
Composite Score Arbeitsgedächtnis	-0,67 (0,86)	0,47 (0,61)	p<0,001
Composite Score Aufmerksamkeit	-0,54 (1,04)	0,46 (0,49)	p<0,001

#### Tab. 5: Neuropsychologische Testergebnisse

Die Tabelle zeigt die Mittelwerte und Standardabweichungen der Ergebnisse, die in den einzelnen neuropsychologischen Tests von den Patienten bzw. Probanden erzielt wurden

VLMT: Verbaler Lern- und Merkfähigkeitstest

	Patienten	Kontrollpersonen	p-Wert
<b>Anteriorer Gyrus Cinguli</b>			
NAA <sup>1</sup> + NAAG <sup>2</sup> [mmol/l]	11,42 (1,02)	11,83 (0,81)	n.s.
NAAG [mmol/l]	1,36 (0,55)	1,05 (0,44)	<i>p=0,067</i>
NAA [mmol/l]	10,16 (0,91)	10,77 (0,79)	<b><i>p=0,030</i></b>
NAAG / NAA	0,14 (0,06)	0,10 (0,04)	<b><i>p=0,046</i></b>
Cho <sup>3</sup> [mmol/l]	2,14 (0,27)	1,99 (0,21)	n.s.
(P)Cr <sup>4</sup> [mmol/l]	9,73 (1,09)	9,47 (0,85)	n.s.
MI <sup>5</sup> [mmol/l]	5,17 (0,71)	5,34 (0,60)	n.s.
Glx <sup>6</sup> / (P)Cr	2,11 (0,30)	2,06 (0,33)	n.s.
Gln <sup>7</sup> / (P)Cr	0,28 (0,08)	0,25 (0,08)	n.s.
<b>Linker Präfrontaler Cortex</b>			
NAA + NAAG [mmol/l]	11,54 (0,53)	11,60 (0,88)	n.s.
NAAG [mmol/l]	0,99 (0,33)	0,99 (0,49)	n.s.
NAA [mmol/l]	10,58 (0,59)	10,64 (1,02)	n.s.
NAAG / NAA	0,10 (0,05)	0,09 (0,05)	n.s.
Cho [mmol/l]	1,96 (0,21)	1,87 (0,22)	n.s.
(P)Cr [mmol/l]	9,05 (0,91)	8,98 (0,69)	n.s.
MI [mmol/l]	4,96 (0,91)	5,10 (0,68)	n.s.
Glx / (P)Cr	1,93 (0,23)	1,89 (0,25)	n.s.
Gln / (P)Cr	0,24 (0,06)	0,24 (0,05)	n.s.

### Tab. 6: 1H-MRS Messwerte

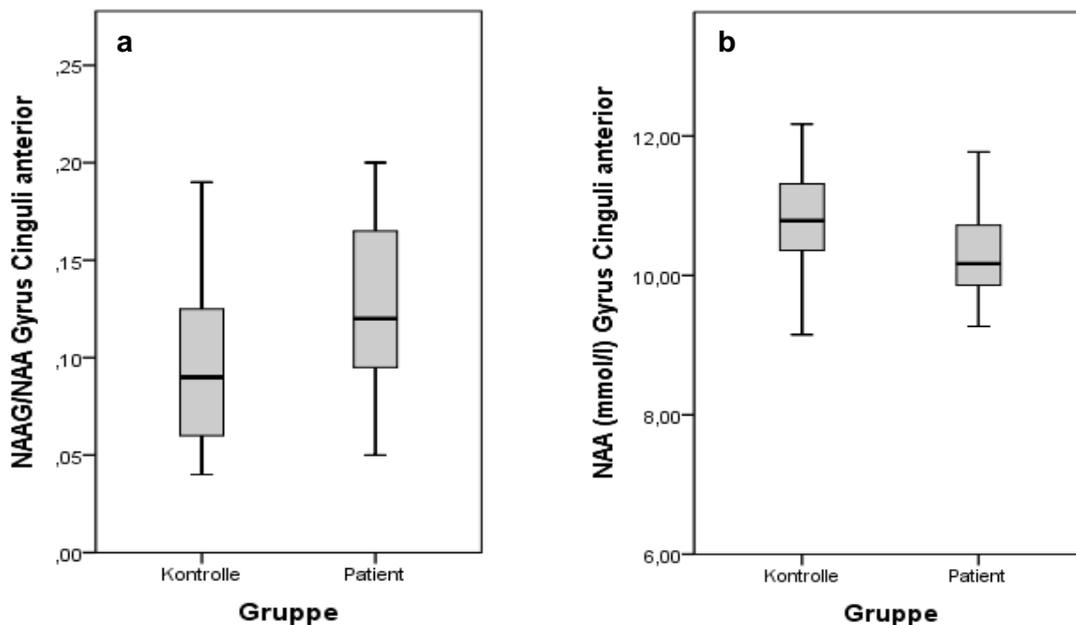
Die Tabelle zeigt Mittelwerte und Standardabweichungen der verschiedenen Metaboliten im anterioren Gyrus cinguli und im linken präfrontalen Kortex jeweils für die Patienten- und die Probandengruppe. Die statistischen Methoden sind im Text beschrieben. Im anterioren Gyrus cinguli ist NAA in der Patientengruppe erniedrigt. Das Verhältnis NAAG/NAA ist erhöht, die Absolutkonzentration von NAAG ist von der Tendenz her ebenfalls erhöht.

<sup>1</sup>N-Acetylaspartat, <sup>2</sup>N-Acetylaspartylglutamat, <sup>3</sup>Cholin-Verbindungen, <sup>4</sup>Gesamtkreatin, <sup>5</sup>Myoinositol, <sup>6</sup>Glutamat/Glutamin/GABA-CH<sub>2</sub>, <sup>7</sup>Glutamin

### 3.2 Gyrus Cinguli Anterior

Im anterioren Gyrus cinguli der Patientengruppe war der Quotient von NAAG/NAA mit einem Mittelwert von 0,14 (Standardabweichung: 0,06) signifikant erhöht (*p=0,046*) gegenüber der Probandengruppe, in der der Mittelwert bei 0,10 (Standardabweichung

0,04) lag. Dies ist in Abbildung 8a graphisch dargestellt. In der Patientengruppe maßen wir eine durchschnittliche NAAG-Konzentration von 1,36 mmol/l (Standardabweichung 0,55 mmol/l). Dies war im Vergleich zu der Probandengruppe, in der die durchschnittliche Konzentration von NAAG bei 1,05 mmol/l (Standardabweichung 0,44 mmol/l) lag, von der Tendenz her erhöht ( $p=0,067$ ). Desweiteren zeigte sich eine signifikante Verringerung ( $p=0,030$ ) der Absolutkonzentration von NAA bei den an Schizophrenie erkrankten Patienten (Mittelwert 10,16 mmol/l, Standardabweichung 0,91 mmol/l) im Vergleich zu dem gesunden Kontrollkollektiv, in dem die NAA-Konzentration im Mittel bei 10,77 mmol/l (Standardabweichung 0,79 mmol/l) lag. Abbildung 8b zeigt diese Verringerung graphisch auf.



**Abb. 8: MR-Messwerte im Gyrus cinguli anterior bei Patienten und Probanden**

a) Der Quotient NAAG/NAA ist in der Kontrollgruppe (n=20, Mittelwert=0,10, Standardabweichung=0,04) signifikant niedriger als in der Patientengruppe (n=19, Mittelwert=0,14, Standardabweichung=0,06) ( $p=0,046$ )

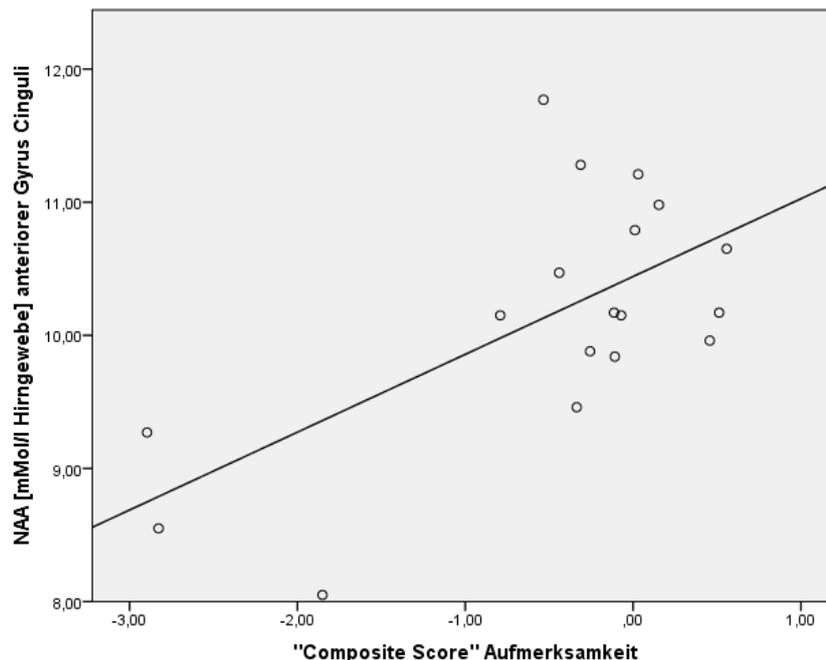
b) Die Absolutkonzentration von NAA (mmol/l) ist in der Patientengruppe (n=19, Mittelwert=10,16, Standardabweichung=0,91) signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe (n=20, Mittelwert=10,77, Standardabweichung=0,79) ( $p=0,030$ )

Die abweichende Fallzahl ergibt sich, da ein Datensatz innerhalb der Probandengruppe nicht verwertbar war.

Die Gesamtkonzentration von NAAG+NAA unterschied sich von Patientengruppe zu Probandengruppe nicht signifikant. Die Konzentrationen der Cholinverbindungen, des Gesamtkreatins und Phosphokreatins sowie des Myoinositols zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen Probanden- und Patientenkollektiv. Auch bei den Quotienten Glx/(P)Cr und Gln/(P)Cr fanden wir keine signifikanten Unterschiede zwischen schizophrenerkrankten Patienten und gesunden Kontrollpersonen.

Die Absolutkonzentrationen von NAAG und NAA korrelierten innerhalb der Patientengruppe weder mit einer der drei Untereinheiten des PANSS noch mit dem Gesamtwert des PANSS-Interviews. Auch der Quotient NAAG/NAA korrelierte weder mit einer der PANSS-Untereinheiten noch mit dem PANSS-Totalwert.

Bezüglich der Korrelation der neuropsychologischen Tests mit den gemessenen Metabolitenkonzentrationen und –quotienten zeigte sich innerhalb der Patientengruppe eine positive Korrelation des Aufmerksamkeits „composite scores“ mit der NAA-Konzentration ( $r=0,64$ ;  $p=0,005$ ). Diese Korrelation ist in Abbildung 9 gezeigt.



**Abb. 9: Korrelation der NAA-Konzentration mit dem „composite Score“ für Aufmerksamkeit innerhalb der Patientengruppe**

Die Abbildung zeigt die positive Korrelation zwischen der Konzentration von N-Acetylaspartat im anterioren Gyrus cinguli im Verhältnis zur Leistung in den neuropsychologischen Tests, die die Aufmerksamkeit beurteilen.

Die geringere Fallzahl ergibt sich daraus, dass einige Messungen nicht verwertbar waren.

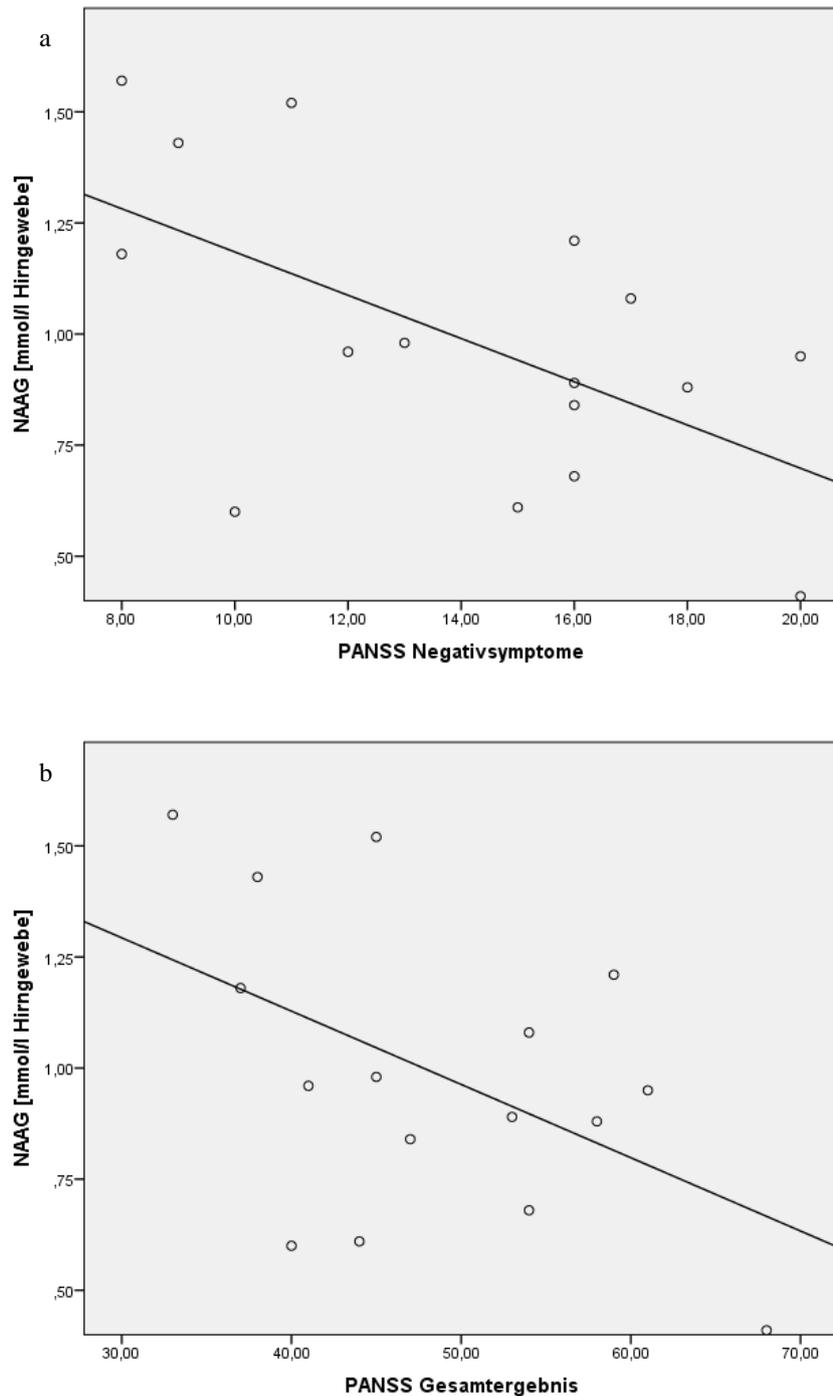
Innerhalb des Kontrollkollektives konnte diese Korrelation nicht nachgewiesen werden. Weder in der Patientengruppe noch in der Probandengruppe korrelierten die Absolutkonzentration von NAAG oder der NAAG/ NAA Quotient mit dem „composite score“ für Aufmerksamkeit. Auch die „composite scores“ für Arbeitsgedächtnis und verbales Gedächtnis korrelierten weder in der Patienten- noch in der Kontrollgruppe mit den gemessenen Werten für NAAG, NAA oder den Quotienten NAAG/NAA.

### 3.3 Präfrontaler Kortex

Im Präfrontalen Kortex zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der NAAG-Konzentration zwischen Patienten- und Probandengruppe. Auch die Konzentration von NAA unterschied sich zwischen den beiden Gruppen nicht signifikant. Weder der Quotient NAAG/NAA noch die Summe der Konzentrationen von NAAG+NAA zeigten signifikante Differenzen zwischen Probanden- und Patientenkollektiv. Bei den Absolutkonzentrationen von Cholin, (Phospho)Kreatin und Myoinositol stellten wir keine signifikanten Gruppenunterschiede fest. Auch die Quotienten Glx/(P)Cr und Gln/(P)Cr unterschieden sich nicht von der Patienten- zur Probandengruppe.

Hinsichtlich der Korrelationen der gemessenen Metabolitenkonzentrationen mit dem Ausprägungsgrad der Krankheitssymptome stellten wir innerhalb der Patientengruppe eine signifikante, negative Korrelation zwischen der Absolutkonzentration von NAAG im linken, präfrontalen Kortex und der Punktzahl für Negativsymptome im PANSS-Interview fest ( $r=-0,58$ ;  $p=0,018$ ). Desweiteren zeigte sich eine signifikante, negative Korrelation zwischen dem PANSS-Gesamtergebnis und der Absolutkonzentration von NAAG im linken präfrontalen Kortex ( $r=-0,50$ ;  $p=0,049$ ). Diese Korrelationen sind in Abbildung 10 dargestellt. Die NAAG-Konzentration korrelierte nicht mit den Positiv- oder Allgemeinsymptomen des PANSS. Die PANSS-Ergebnisse korrelierten weder mit dem Absolutwert für NAA noch mit dem Quotienten NAAG/NAA.

Innerhalb der Patientengruppe korrelierte der „composite score“ für verbales Gedächtnis sowohl mit der NAAG-Konzentration ( $r=0,53$ ;  $p=0,035$ ) sowie mit dem Quotienten NAAG/NAA ( $r=0,54$ ;  $p=0,030$ ) im präfrontalen Kortex (siehe Abbildung 11). Korrelationen zwischen anderen Bereichen der neuropsychologischen Tests und den gemessenen Metabolitenkonzentrationen wiesen wir nicht nach.

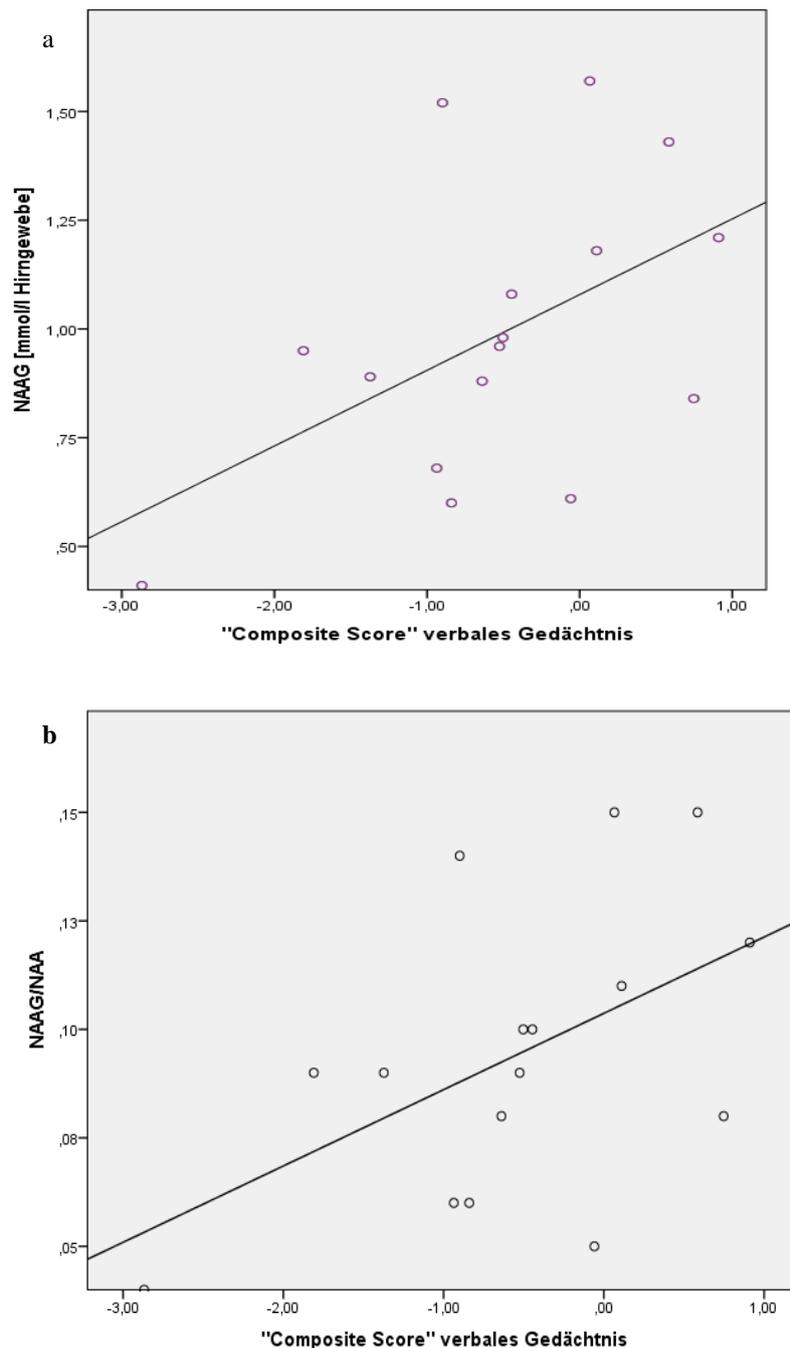


**Abb. 10: Korrelation der NAAG-Konzentration im dorsolateralen präfrontalen Kortex mit den Ergebnissen des PANSS**

a) Negative Korrelation der NAAG-Konzentration im dorsolateralen präfrontalen Kortex der Patienten und der Negativsymptome im PANSS.

b) Negative Korrelation der NAAG-Konzentration im dorsolateralen präfrontalen Kortex der Patienten und des PANSS-Gesamtergebnisses.

Die abweichende Anzahl der Messpunkte ergibt sich daraus, dass bei einigen Patienten einzelne Messungen nicht verwertbar waren.



**Abb. 11: Korrelationen der MRS-Messwerte im dorsolateralen präfrontalen Kortex mit den Ergebnissen der neuropsychologischen Tests**

a) Positive Korrelation der NAAG-Konzentration im dorsolateralen präfrontalen Kortex mit dem „composite score“ für verbales Gedächtnis innerhalb der Patientengruppe.

b) Positive Korrelation des Quotienten NAAG/NAA im dorsolateralen präfrontalen Kortex mit dem „composite score“ für verbales Gedächtnis innerhalb der Patientengruppe.

Die abweichende Anzahl der Messpunkte ergibt sich daraus, dass bei einigen Patienten einzelne Messungen nicht verwertbar waren.

## 4. Diskussion

Die Bestimmung der cerebralen NAAG-Konzentrationen bei Patienten die an Schizophrenie erkrankt sind, ermöglicht eine vertiefte Untersuchung der Pathomechanismen dieser Erkrankung und der Bedeutung der glutamatergen Dysfunktion. Dies ist wiederum wichtig, um potentielle Wirkmechanismen neuer Medikamente zu beurteilen, die möglicherweise neue Therapieoptionen in der Schizophrenie darstellen könnten (Zhou et al., 2005). In dieser ersten Magnetresonanztomographie-Studie zur Konzentration von NAAG bei Schizophreniepatienten fanden wir ein erhöhtes Verhältnis von NAAG zu NAA und einen Trend zu einer erhöhten NAAG-Konzentration im Gyrus Cinguli Anterior innerhalb der Patientengruppe. Im linken präfrontalen Kortex beobachteten wir eine negative Korrelation zwischen der NAAG-Konzentration und den Negativsymptomen des PANSS und eine positive Korrelation der NAAG-Konzentration mit dem episodischen Gedächtnis der Patienten.

### 4.1 NAAG, GCP II und mGluR3

#### 4.1.1 Funktion von mGluR3, GCP II und NAAG

Die metabotropen Glutamatrezeptoren sind an der präsynaptischen und postsynaptischen Membran sowie an Gliazellen lokalisiert und haben an jeder dieser Lokalisationen spezifische Funktionen (Petralia et al., 1996). Neuronale mGluR3-Rezeptoren modulieren das Glutamat- und das GABA-System, welche beide eine Rolle in der Pathogenese der Schizophrenie spielen (Neale et al., 2000). An der präsynaptischen Membran inhibiert die Aktivierung des mGluR3 die Freisetzung von Glutamat und GABA in den synaptischen Spalt, postsynaptische mGluR3-Rezeptoren modulieren die Funktion des NMDA und des GABA typ A ( $GABA_A$ ) Rezeptors (Neale et al., 2000). Die Aktivierung des mGluR3-Rezeptors an Astrozyten führt zur Bildung der neuroprotektiven Wachstumsfaktoren „transforming growth factor  $\beta_1$ “ und „transforming growth factor  $\beta_2$ “ (Bruno et al., 1998). Diese Proteine beeinflussen zum einen die glutamatergen Funktionen (Kurisaki et al., 2008), zum anderen modulieren sie die synaptische Plastizität (Fukushima et al., 2007) und fördern das Aussprossen von Dendriten (Esquenazi et al., 2002). Des-

weiteren nimmt die Aktivierung des astrozytischen mGluR3-Rezeptors Einfluss auf die Modulation der Mikrozirkulation im Gehirn (Baslow et al., 2005).

Im Präfrontalen Kortex ist die mGluR3-vermittelte Verstärkung der Glutamatwirkung am NMDA-Rezeptor vermutlich verantwortlich für die Aufhebung der PCP-induzierten Symptome durch mGluR3-Agonisten (Homayoun et al., 2005; Olszewski et al., 2008).

#### 4.1.2 NAAG, GCP II und mGluR3 bei Schizophrenie

Bisherige postmortem Studien zur Konzentration und Verteilung von NAAG im Zentralnervensystem von Schizophreniepatienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen liefern kontroverse Ergebnisse. Tsai et al untersuchten die NAAG-Konzentrationen in 8 verschiedenen Hirnregionen und (Tsai et al., 1995) fanden erhöhte NAAG-Konzentrationen nur im Hippocampus von Schizophrenie-Patienten, nicht jedoch im Frontallappen oder im Gyrus Cinguli. In derselben Studie stellten Tsai et al (Tsai et al., 1995) eine erhöhte NAAG-Konzentration im Präfrontalen Kortex von Kontrollpersonen fest, die vor dem Tod neuroleptisch behandelt waren, allerdings nicht an Schizophrenie erkrankt waren. Nudmamud et al (Nudmamud et al., 2003) berichteten hingegen über ein signifikant erniedrigtes NAAG im Gyrus temporalis superior von Patienten. Sie fanden keine signifikanten Unterschiede der NAAG-Konzentrationen zwischen Patienten und Kontrollpersonen im Frontallappen.

In aktuelleren post-mortem Studien wurde die Genexpression des mGluR3 und des NAAG-inaktivierenden Enzyms GCP II untersucht. Guilarte et al. (Guilarte et al., 2008) zeigten mittels quantitativer Autoradiographie eine regional verringerte Bindung des verwendeten Radioligandens [<sup>125</sup>I]DCIT an GCP II. Diese Verringerung war im präfrontalen Kortex sowie im entorhinalen Kortex des Hippocampus signifikant. Eine Studie von Ghose et al. (Ghose et al., 2009b) zeigte hingegen eine erhöhte Expression des GCP II Proteins und eine Reduktion des mGluR3 im dorsolateralen präfrontalen Kortex. In einer weiteren Studie untersuchten Ghose et al. (Ghose et al., 2009a) die Expression von GCP II und mGluR3 im Hippocampus. Dabei stellten sie eine signifikante Verringerung der Expression der GCPII mRNA fest.

In Tierversuchen war die Inhibition der GCP II durch den NAAG-Peptidase-Inhibitor ZJ43 in der Lage, die durch Phencyclidin und Dizocilpin (MK-801) induzierten, Schizophrenie-ähnlichen Symptome wie stereotype Bewegungsmuster und Defizite in der In-

teraktion mit Artgenossen zu reduzieren (Olszewski et al., 2004; Olszewski et al., 2008; Profaci et al., 2011; Takatsu et al., 2011). In einer randomisierten klinischen Studie mit an Schizophrenie erkrankten Patienten konnten Patil et al. (Patil et al., 2007) zeigen, dass der mGluR2/3 Agonist LY404039 im Vergleich zu einem Placebo eine deutliche antipsychotische Wirkung hat.

Ghose et al (Ghose et al., 2009b) schlagen ein Modell vor, das die komplexen Rollen des mGluR3-Rezeptors mit der Hypothese eines dysfunktionellen Glutamatsystems in Zusammenhang stellt. An der postsynaptischen Membran würde eine Verringerung der mGluR3 Rezeptordichte durch den Verlust der signalverstärkenden Wirkung am NMDA-Rezeptor zu einer Abschwächung des glutamatergen Signals führen (Ghose et al., 2009b). Eine verminderte Expression des mGluR3-Rezeptors an der Astrozytenmembran würde die Synthese des „transforming growth factor  $\beta$ “ verringern, was mit der verringerten Größe der präfrontalen Neuronen und der reduzierten Dendritenverzweigung assoziiert sein könnte, die man bei Schizophreniepatienten beobachtet (Ghose et al., 2009b). Außerdem könnte eine reduzierte Aktivierung des mGluR3 Rezeptors zu einer verminderten  $\text{Ca}^{2+}$ -vermittelten Signalisierung und in der Folge zu der verminderten lokalen Durchblutung im dorsolateralen präfrontalen Kortex von Schizophrenen führen, die in zahlreichen Studien beschrieben wird (Ghose et al., 2009b; Hill et al., 2004). Desweiteren führe eine erhöhte Expression der GCP II an Gliazellen durch aktiven enzymatischen Abbau zu einer verringerten NAAG-Konzentration, die eine weitere Reduktion der Aktivierung des mGluR3-Rezeptors zur Folge habe (Ghose et al., 2009b).

In einer aktuellen Publikation wurde die Funktion von NAAG als Agonist am mGluR3-Rezeptor in Frage gestellt (Fricker et al., 2009). Die Autoren beobachteten keine direkte Wirkung von NAAG auf den mGluR3, berichteten aber über modulatorische Effekte von NAAG auf die Antwort des mGluR3-Rezeptors auf glutamaterge Stimulation. Die Ergebnisse dieser Studie unterstreichen die Notwendigkeit detaillierterer Untersuchungen zum Einfluss von NAAG auf das glutamaterge System.

Aufgrund der antipsychotischen Wirkung von mGluR2/3-Antagonisten wie LY404039 bei Menschen (Patil et al., 2007) und der in Tierversuchen gezeigten Verbesserung psychotischer Symptome durch GCP II-Inhibitoren (Olszewski et al., 2004; Olszewski et al., 2008) wird eine erniedrigte NAAG-Konzentration als pathophysiologisches Merkmal der Schizophrenie diskutiert (Ghose et al., 2009b; Tsai, 2005).

Im Gegensatz dazu fanden wir in unserer aktuellen  $^1\text{H}$ -MRS-Studie Hinweise für erhöhte NAAG-Spiegel im Gehirn erkrankter Patienten.

Eine mögliche Erklärung für diese Unterschiede ist, dass die Ursache für die immer wieder diskutierte Hypoaktivität des glutamatergen Systems nicht etwa in einer verringerten NAAG-Konzentration, sondern in einer verringerten Expression des mGluR3 (Ghose et al., 2009b) zu sehen ist. Eine geringere Dichte der mGluR3-Rezeptoren an der postsynaptischen Membran sowie an der Membran von Gliazellen hätte denselben Effekt wie eine verringerte NAAG-Ausschüttung (Ghose et al., 2009b; Tsai, 2005). Aufgrund der fehlenden negativen Rückkopplung an der präsynaptischen Membran käme es zu einem Anstieg der NAAG-Sekretion in den synaptischen Spalt. Dieses erhöhte NAAG könnte jedoch keine verstärkte Wirkung entfalten, da zum einen die Rezeptordichte des mGluR3 den limitierenden Faktor für die Glutamatwirkung am NMDA-Rezeptor darstellt und zum anderen das NAAG im synaptischen Spalt schnell wieder durch die vermehrt exprimierte GCP II inaktiviert würde.

#### 4.1.3 Mögliche Beeinflussung der Ergebnisse durch Medikamente

Ein Faktor, der bei der Interpretation der Ergebnisse unserer und anderer klinischer und postmortem-Studien berücksichtigt werden muss, ist die antipsychotische Medikation der Patienten. Eine aktuelle Untersuchung an menschlichen Neuroblastom-Zellen weist darauf hin, dass eine medikamentöse antipsychotische Therapie möglicherweise die Konzentration von NAAG erhöht (Arun et al., 2008). Dies könnte bedeuten, dass die erhöhten NAAG-Konzentrationen, die post-mortem im Hirngewebe von Schizophreniepatienten nachgewiesen wurden (Tsai et al., 1995), ein Resultat der antipsychotischen Medikation sind. Tsai et al. untersuchten in ihrer postmortem-Studie zur NAAG-Konzentration bei Schizophreniepatienten neben einer Patientengruppe und einer Kontrollgruppe auch noch eine Gruppe von neuroleptisch behandelten Kontrollpersonen (Tsai et al., 1995). Interessanterweise war im Präfrontalen Kortex von neuroleptisch behandelten Kontrollpersonen die NAAG-Konzentration signifikant erhöht, nicht jedoch die von therapierten Patienten (Tsai et al., 1995). Die Wirkung von Neuroleptika auf die NAAG-Konzentration liefert auch eine mögliche Erklärung für die in dieser Studie beobachteten erhöhten NAAG-Konzentrationen im Patientenkollektiv, da alle Patienten eine

neuroleptische Dauertherapie erhielten und keine ausgeprägte Positivsymptomatik aufwiesen. Dies würde die Hypothese unterstützen, dass die Erhöhung von NAAG einen potentiellen Therapieansatz in der Behandlung der Schizophrenie darstellt, wie es bereits in Tierversuchen und klinischen Studien impliziert wurde (Olszewski et al., 2004; Olszewski et al., 2008; Patil et al., 2007).

#### 4.1.4 Korrelation von NAAG mit Neuropsychologischen Tests

Im dorsolateralen präfrontalen Kortex fanden wir eine signifikante inverse Korrelation zwischen dem Gesamtergebnis des PANSS sowie des PANSS Subscores für Negativsymptome und der Konzentration von NAAG. Diese Ergebnisse passen zu der Hypothese, dass eine Erhöhung der NAAG-Konzentration bei Schizophreniepatienten mit einer Verbesserung der Symptome assoziiert ist. Die positive Korrelation zwischen NAAG-Konzentration und den erzielten Ergebnisse bei den Aufgaben die das episodische Gedächtnis beanspruchen spricht ebenfalls dafür, dass sich eine höhere NAAG-Konzentration positiv auf die Symptomatik von Schizophrenen auswirkt.

## 4.2 NAA

### 4.2.1 Vergleich unserer NAA-Ergebnisse mit den Ergebnissen anderen Studien

NAA war im anterioren Gyrus Cinguli der Patientengruppe erniedrigt. Diese Beobachtung steht im Einklang mit vielen, wenn auch nicht allen  $^1\text{H}$ -MRS-Studien, die eine Reduktion des kombinierten NAA+NAAG Peaks beschreiben, der häufig stellvertretend für NAA allein betrachtet wird (Deicken et al., 1997; Jessen et al., 2006; Steen et al., 2005). Die Ergebnisse aus mehreren Studien, die ein reduziertes NAA ( bzw NAA+NAAG) im Frontal-lappen beschreiben, können wir nicht bestätigen. Steen et al. (Steen et al., 2005) führten eine Metaanalyse durch, in der sie die Ergebnisse von 27  $^1\text{H}$ -MRS-Studien verglichen, in denen die graue Substanz des Frontallappens untersucht wurde. Insgesamt kamen sie zu dem Ergebnis, dass die NAA- (bzw NAA+NAAG) Konzentration im Frontallappen von Schizophreniepatienten erniedrigt sei, obwohl einige individuelle Studien (Bertolino et al., 1996; Bertolino et al., 1998a; Bertolino et al., 1998b) keinen signifikanten Unterschied zwischen Patientengruppe und Kontrollkollektiv feststellten. Diese Unterschiede mögen zum Teil dadurch bedingt sein, dass die untersuchten Stu-

dien sich nicht nur in der Anzahl der untersuchten Probanden, sondern auch in Aspekten wie Feldstärke, Platzierung der Voxel, und Ausschlusskriterien für Patienten unterschieden.

#### 4.2.2 NAA und Kognition

Die NAA-Konzentration im anterioren Gyrus cinguli korrelierte innerhalb der Patientengruppe mit der Aufmerksamkeitsleistung. Da NAA als Marker für die Funktionalität neuronaler Mitochondrien sowie auch allgemeiner neuronaler Funktionsfähigkeit angesehen wird, steht diese Korrelation von NAA und Aufmerksamkeitsleistung im Einklang mit Berichten über die entscheidende Rolle, die der anteriore Gyrus Cinguli bei der Modulation von Aufmerksamkeitsprozessen bei schizophreniekranken Personen spielt (Camchong et al., 2008; Wang et al., 2005).

### 4.3 NAA und NAAG

Ein wichtiger Aspekt, der bei der Interpretation unserer Ergebnisse im Vergleich zu der großen Anzahl an bisherigen  $^1\text{H}$ -MRS-Studien zu berücksichtigen ist, ist die Tatsache, dass in unserer Studie NAA und NAAG-Konzentrationen getrennt voneinander ermittelt wurden. In bisherigen  $^1\text{H}$ -MRS-Studien bei Schizophrenen wurde nur der kombinierte NAA+NAAG-Peak gemessen, der Anteil den NAAG ausmacht, wurde vernachlässigt.

In unserer Studie stellten wir zum einen eine gegensinnige Veränderung der NAAG und NAA Konzentrationen bei Patienten im Vergleich zu Kontrollpersonen fest, zum anderen ermittelten wir einen signifikanten Unterschied des Verhältnisses von NAAG/NAA zwischen Schizophreniepatienten und gesunden Probanden. Diese Veränderungen von NAAG, als Komponente der glutamatergen Neurotransmission, und NAA, einem Stoff der nicht auf die neuronale Signaltransmission einwirkt, maskieren sich möglicherweise gegenseitig, was zu falschen Schlussfolgerungen, was die Rolle von beiden individuellen Stoffen im Zusammenhang mit Schizophrenie betrifft, führen könnte. Diese potentielle Fehlerquelle trifft auch auf  $^1\text{H}$ -MRS-Studien zu, die andere Krankheiten betreffen.

#### 4.4 Glutamat und Glutamin

Wir stellten in unserer Studie weder im Gyrus Cinguli anterior noch im dorsolateralen präfrontalen Kortex Unterschiede der Metabolitenquotienten, die Glutamat oder Glutamin enthalten, fest.

In einigen Studien wird berichtet, dass die Glutamatkonzentration in verschiedenen Hirnarealen von Schizophreniekranken erniedrigt sei (Bustillo et al., 2010; Tayoshi et al., 2009; Theberge et al., 2003) andere Untersucher wiederum fanden erhöhte Glutamatkonzentrationen (Olbrich et al., 2008) oder aber keine Unterschiede zu Kontrollgruppen (Shirayama et al.). Marsman et al. führten 2011 eine Meta-Analyse durch, in der sie die Ergebnisse von 28  $^1\text{H}$ -MRS-Studien auswerteten, in denen die Absolutkonzentrationen von Glutamat und Glutamin bei Schizophreniepatienten in verschiedenen Hirnarealen untersucht worden waren (Marsman et al., 2013). In dieser Metaanalyse zeigte sich eine signifikante Verringerung der Glutamatkonzentration in der medialen, frontalen Hirnregion von Schizophreniepatienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen, im Hippocampus und Thalamus fanden sich keine signifikanten Unterschiede der Glutamatkonzentrationen.

Im Hinblick auf Glutamin wurde in einer Studie eine Reduktion der Glutaminkonzentration im Gehirn von unbehandelten Schizophreniepatienten festgestellt (Bustillo et al., 2010). In der im vorausgehenden Abschnitt bereits angeführten Meta-Analyse von Marsman et al. fanden sich im Widerspruch hierzu jedoch signifikant erhöhte Glutaminkonzentrationen in der medialen, frontalen Hirnregion von Schizophreniepatienten im Vergleich zu den untersuchten Kontrollkollektiven (Marsman et al., 2013). Auch diese Ergebnisse werden durch unsere Studie nicht gestützt, wir beobachteten weder im dorsolateralen präfrontalen Kortex noch im anterioren Gyrus Cinguli signifikante Unterschiede des Gln/PCr-Quotienten zwischen Patienten- und Kontrollgruppe.

Insgesamt sind die Ergebnisse der aufgeführten Studien bezüglich Glutamat- und Glutaminkonzentrationen sehr widersprüchlich, dies kann sowohl an unterschiedlichen Mess- und Berechnungsmethoden liegen, als auch daran, dass Krankheitsstadium und medikamentöse Therapie innerhalb der Patientengruppen von Studie zu Studie variieren. Wir untersuchten in unserer Studie nicht die Absolutkonzentrationen von Glutamat und Glutamin, sondern bestimmten das Verhältnis von Glx und Gln zu PCr, auch dies kann Grund dafür sein, dass wir die beobachteten Veränderungen nicht bestätigen kön-

nen. Eine Studie aus dem Jahr 2010 untersuchte ebenfalls das Glx/(P)Cr – Verhältnis im anterioren Gyrus cinguli, die Autoren dieser Studie kommen wie wir zu dem Ergebnis, dass es keine signifikanten Differenzen des Glx/(P)Cr-Verhältnisses zwischen Patienten- und Kontrollgruppe gibt (Reid et al., 2010)

#### **4.5 Einschränkungen dieser Studie**

Bei der Interpretation unserer Ergebnisse gilt es zu bedenken, dass alle Patienten die wir untersuchten, medikamentös behandelt waren und kaum Positivsymptome zeigten. Weiterführende Studien an nicht therapierten Patienten sind notwendig. Desweiteren muss man berücksichtigen, dass die Patienten sich alle in unterschiedlichen Krankheitsphasen befanden und dass die Dauer der Erkrankung zwischen den einzelnen Patienten stark variierte. Eine 2010 veröffentlichte <sup>1</sup>H-MRS-Studie bei 4 Tesla untersuchte unter anderem die NAA-Konzentration im anterioren Gyrus cinguli bei gesunden Kontrollpersonen und bei Schizophreniepatienten in einem frühen Krankheitsstadium, die zuvor nicht oder kaum antipsychotisch therapiert worden waren (Bustillo et al., 2010). Desweiteren wurde das Patientenkollektiv 1, 6 und 12 Monate nach Beginn einer medikamentösen antipsychotischen Therapie untersucht. Zu Beginn dieser Studie wurden in der Patientengruppe niedrigere NAA-Konzentrationen nachgewiesen als im Kontrollkollektiv, in den nachfolgenden Untersuchungen ergaben sich jedoch keine weiteren Reduktionen der NAA-Konzentration. Brugger et al führten eine Meta-Analyse von fast 100 <sup>1</sup>H-MRS Studien durch, in denen NAA-Konzentrationen in verschiedenen Hirnregionen bestimmt wurden, und verglichen das Ausmaß der NAA-Reduktion von Patienten, die erstmalig Symptome der Erkrankung zeigten und Patienten, die schon länger erkrankt waren, jeweils im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen. Es zeigte sich keine weitere NAA-Reduktion von erstmals erkrankten Schizophreniepatienten gegenüber Langzeiterkrankten (Brugger et al., 2011). Unklar bleibt durch diese Studien weiterhin, ob die medikamentöse Therapie eine weitere NAA-Reduktion verhinderte, oder ob die NAA-Konzentration von einer antipsychotischen Medikation nicht beeinflusst wird und im Verlauf der Krankheit stabil bleibt. Bezüglich des Einflusses antipsychotischer Medikamente scheint die Datenlage darauf hinzuweisen, dass die Behandlungsdauer mit typischen Neuroleptika mit einer Reduktion der NAA-Konzentration, vor allem im anterioren Gyrus cinguli korreliert, während die Therapie mit atypischen Neuroleptika einen geringeren

Einfluss auf die NAA-Reduktion zu haben scheint oder die NAA-Werte möglicherweise sogar erhöht (Bertolino et al., 2001; Braus et al., 2001; Braus et al., 2002; Ende et al., 2000). Diese Studien beziehen sich jedoch alle auf NAA, Studien zur Beeinflussung der NAAG-Konzentrationen durch antipsychotisch wirkende Medikamente waren zum Zeitpunkt unserer Studie nicht verfügbar.

Ob also die Veränderungen der Metabolitenkonzentrationen, die wir sehen, nur temporäre Veränderungen sind, die in Zeiten akuter Verschlechterung der Symptomatik verstärkt nachweisbar sind (state marker), oder ob es sich um chronische Veränderungen (trait marker) handelt, die mit der Krankheitsdauer korrelieren, muss in weiteren Studien mit homogeneren Patientengruppen und in weiteren Longitudinalstudien gezeigt werden.

## 5. Zusammenfassung

Ein Ungleichgewicht im neuronalen Glutamat-Stoffwechsel wird als einer der Schlüsselfaktoren im Hinblick auf die Symptome der Schizophrenie angenommen. Das Neuropeptid N-Acetylaspartylglutamat ist an der Modulation der Glutamat-Sekretion im zentralen Nervensystem beteiligt. N-Acetylaspartat ist ein Vorläufer- und Abbauprodukt von N-Acetylaspartylglutamat, spielt jedoch selbst keine Rolle für die glutamaterge Neurotransmission. Es gibt viele Studien, in denen die in-vivo (N-Acetylaspartat + N-Acetylaspartylglutamat)-Konzentrationen mittels  $^1\text{H}$ -Magnetresonanztomographie sowohl bei Schizophreniepatienten als auch gesunden Kontrollpersonen untersucht worden sind, jedoch sind, nicht zuletzt aufgrund der technischen Schwierigkeiten bei der Trennung der  $^1\text{H}$ -Magnetresonanztomographischen Signale von N-Acetylaspartat und N-Acetylaspartylglutamat, bisher keine Studien dazu durchgeführt worden, wie die Konzentration von N-Acetylaspartylglutamat allein zwischen Schizophreniekranken und einem gesunden Kontrollkollektiv variiert.

Wir führten mittels  $^1\text{H}$ -Magnetresonanztomographie an einem 3.0 Tesla Magnetresonanztomographie-Gerät eine getrennte Quantifizierung von N-Acetylaspartylglutamat und N-Acetylaspartat sowohl bei 20 Patienten, die an Schizophrenie erkrankt waren, wie auch an einer Gruppe von 20 gesunden Kontrollpersonen durch. Wir untersuchten zwei für die Schizophrenie als bedeutend angesehene Hirnregionen, zum einen den linken anterioren Gyrus cinguli, zum anderen den linken präfrontalen Kortex. Desweiteren wurden die psychopathologischen Symptome und die kognitive Leistungsfähigkeit beurteilt.

Im anterioren Gyrus cinguli der Patienten war das Verhältnis N-Acetylaspartylglutamat/N-Acetylaspartat signifikant erhöht ( $p=0,046$ ), in der Patientengruppe zeigte sich eine Tendenz zu einer erhöhten N-Acetylaspartylglutamat-Konzentration ( $p=0,066$ ). N-Acetylaspartat hingegen war in dieser Region reduziert ( $p=0,030$ ). Wir beobachteten zudem innerhalb der Patientengruppe eine Korrelation der N-Acetylaspartat-Konzentration im anterioren Gyrus cinguli mit der Aufmerksamkeitsleistung ( $r=0,64$ ;  $p=0,005$ ). Im linken präfrontalen Kortex gab es weder hinsichtlich der Gesamtkonzentrationen von N-Acetylaspartat oder N-Acetylaspartylglutamat noch hinsichtlich des Verhältnisses N-Acetylaspartylglutamat/N-Acetylaspartat einen Unterschied zwischen den beiden Kollektiven, jedoch fanden wir innerhalb des Patientenkollektivs

eine inverse Korrelation von N-Acetylaspartyglutamat mit den Negativsymptomen des „positive and negative symptome scale“ ( $r=-0,58$ ;  $p=0,018$ ) und des „positive and negative symptome scale“-Gesamtscores ( $r=-0,50$ ;  $p=0,035$ ). Außerdem beobachteten wir im linken präfrontalen Kortex eine positive Korrelation zwischen der N-Acetylaspartyglutamat-Absolutkonzentration ( $r=0,53$ ;  $p=0,035$ ) und des Verhältnisses N-Acetylaspartyglutamat/N-Acetylaspartat ( $r=0,54$ ;  $p=0,030$ ) und der verbalen Gedächtnisleistung der Patientengruppe.

Wir präsentieren in dieser Studie den ersten in-vivo Nachweis einer veränderten N-Acetylaspartyglutamat -Konzentration bei Schizophreniepatienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen. Unsere Ergebnisse legen nahe, dass eine erhöhte N-Acetylaspartyglutamat-Konzentration sich positiv auf die Symptome der Schizophrenie auswirkt.

## 6. Anhang

### 6.1 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Ein typisches $^1\text{H}$ -MRS Spektrum	14
Abb. 2:	NAA und NAAG vermittelte neuronale Interaktionen	19
Abb. 3:	Trail Making Test A und B	30
Abb. 4:	Der Zahlen-Symbol-Test	31
Abb. 5:	Positionierung der $^1\text{H}$ -MRS Voxel im anterioren Gyrus cinguli und im linken präfrontalen Kortex	33
Abb. 6:	Beispiele der akquirierten $^1\text{H}$ -MRS Spektren bei TE 140ms	39
Abb. 7:	$^1\text{H}$ -MRS Spektren zweier Phantomlösungen	40
Abb. 8:	MR-Messwerte im Gyrus cinguli anterior bei Patienten und Probanden	44
Abb. 9:	Korrelation der NAA-Konzentration mit dem „composite Score“ für Aufmerksamkeit innerhalb der Patientengruppe	45
Abb. 10:	Korrelationen der MRS-Messwerte im dorsolateralen präfrontalen Kortex mit den Ergebnissen des PANSS	47
Abb. 11:	Korrelationen der MRS-Messwerte im dorsolateralen präfrontalen Kortex mit den Ergebnissen der neuropsychologischen Tests	48

### 6.2 Tabellenverzeichnis

Tab. 1:	Antipsychotische Medikation der Patienten	24
Tab. 2:	Abgefragte Symptome im PANSS	25
Tab. 3:	Demographische Daten und PANSS Ergebnisse	26
Tab. 4:	Zur Metabolitenquantifizierung verwendete $^1\text{H}$ -MRS Sequenzen	36
Tab. 5:	Neuropsychologische Testergebnisse	42
Tab. 6:	$^1\text{H}$ -MRS Messwerte (Mittelwerte und Standardabweichungen)	43

### 6.3 Literaturverzeichnis

1. Aleman A, Kahn RS. Strange feelings: do amygdala abnormalities dysregulate the emotional brain in schizophrenia? *Prog Neurobiol* 2005; 77: 283-298
2. Andreasen NC. Thought, language, and communication disorders. I. Clinical assessment, definition of terms, and evaluation of their reliability. *Arch Gen Psychiatry* 1979; 36: 1315-1321
3. Andreasen NC, Olsen S. Negative v positive schizophrenia. Definition and validation. *Arch Gen Psychiatry* 1982; 39: 789-794
4. Andreasen NC. The Scale for the Assessment of Negative Symptoms (SANS): conceptual and theoretical foundations. *Br J Psychiatry Suppl* 1989: 49-58
5. Arun P, Madhavarao CN, Moffett JR, Namboodiri MA. Regulation of N-acetylaspartate and N-acetylaspartylglutamate biosynthesis by protein kinase activators. *J Neurochem* 2006; 98: 2034-2042
6. Arun P, Madhavarao CN, Moffett JR, Namboodiri AM. Antipsychotic drugs increase N-acetylaspartate and N-acetylaspartylglutamate in SH-SY5Y human neuroblastoma cells. *J Neurochem* 2008; 106: 1669-1680
7. Barch DM, Smith E. The cognitive neuroscience of working memory: relevance to CNTRICS and schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2008; 64: 11-17
8. Baslow MH. Functions of N-acetyl-L-aspartate and N-acetyl-L-aspartylglutamate in the vertebrate brain: role in glial cell-specific signaling. *J Neurochem* 2000; 75: 453-459
9. Baslow MH, Guilfoyle DN. Effect of N-acetylaspartic acid on the diffusion coefficient of water: a proton magnetic resonance phantom method for measurement of osmolyte-obligated water. *Anal Biochem* 2002; 311: 133-138
10. Baslow MH. Evidence supporting a role for N-acetyl-L-aspartate as a molecular water pump in myelinated neurons in the central nervous system. An analytical review. *Neurochem Int* 2002; 40: 295-300
11. Baslow MH. Brain N-acetylaspartate as a molecular water pump and its role in the etiology of Canavan disease: a mechanistic explanation. *J Mol Neurosci* 2003; 21: 185-190
12. Baslow MH, Dyakin VV, Nowak KL, Hungund BL, Guilfoyle DN. 2-PMPA, a NAAG peptidase inhibitor, attenuates magnetic resonance BOLD signals in brain of anesthetized mice: evidence of a link between neuron NAAG release and hyperemia. *J Mol Neurosci* 2005; 26: 1-15
13. Baslow MH, Guilfoyle DN. Functions of N-acetylaspartate and N-acetylaspartylglutamate in brain: evidence of a role in maintenance of higher brain integrative activities of information processing and cognition. *Adv Exp Med Biol* 2006; 576: 95-112; discussion 361-113
14. Bates TE, Strangward M, Keelan J, Davey GP, Munro PM, Clark JB. Inhibition of N-acetylaspartate production: implications for 1H MRS studies in vivo. *Neuroreport* 1996; 7: 1397-1400
15. Benarroch EE. N-acetylaspartate and N-acetylaspartylglutamate: neurobiology and clinical significance. *Neurology* 2008; 70: 1353-1357
16. Benuck M, D'Adamo AF Jr. Acetyl transport mechanisms. Metabolism of N-acetyl-L-aspartic acid in the non-nervous tissues of the rat. *Biochim Biophys Acta* 1968; 152: 611-618

17. Bertolino A, Nawroz S, Mattay VS, Barnett AS, Duyn JH, Moonen CT, Frank JA, Tedeschi G, Weinberger DR. Regionally specific pattern of neurochemical pathology in schizophrenia as assessed by multislice proton magnetic resonance spectroscopic imaging. *Am J Psychiatry* 1996; 153: 1554-1563
18. Bertolino A, Kumra S, Callicott JH, Mattay VS, Lestz RM, Jacobsen L, Barnett IS, Duyn JH, Frank JA, Rapoport JL, Weinberger DR. Common pattern of cortical pathology in childhood-onset and adult-onset schizophrenia as identified by proton magnetic resonance spectroscopic imaging. *Am J Psychiatry* 1998a; 155: 1376-1383
19. Bertolino A, Callicott JH, Elman I, Mattay VS, Tedeschi G, Frank JA, Breier A, Weinberger DR. Regionally specific neuronal pathology in untreated patients with schizophrenia: a proton magnetic resonance spectroscopic imaging study. *Biol Psychiatry* 1998b; 43: 641-648
20. Bertolino A, Weinberger DR. Proton magnetic resonance spectroscopy in schizophrenia. *Eur J Radiol* 1999; 30: 132-141
21. Bertolino A, Callicott JH, Mattay VS, Weidenhammer KM, Rakow R, Egan MF, Weinberger DR. The effect of treatment with antipsychotic drugs on brain N-acetylaspartate measures in patients with schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2001; 49: 39-46
22. Bertolino A, Sciota D, Brudaglio F, Altamura M, Blasi G, Bellomo A, Antonucci N, Callicott JH, Goldberg TE, Scarabino T, Weinberger DR, Nardini M. Working memory deficits and levels of N-acetylaspartate in patients with schizophreniform disorder. *Am J Psychiatry* 2003; 160: 483-489
23. Braus DF, Ende G, Weber-Fahr W, Demirakca T, Henn FA. Favorable effect on neuronal viability in the anterior cingulate gyrus due to long-term treatment with atypical antipsychotics: an MRSI study. *Pharmacopsychiatry* 2001; 34: 251-253
24. Braus DF, Ende G, Weber-Fahr W, Demirakca T, Tost H, Henn FA. Functioning and neuronal viability of the anterior cingulate neurons following antipsychotic treatment: MR-spectroscopic imaging in chronic schizophrenia. *Eur Neuropsychopharmacol* 2002; 12: 145-152
25. Brugger S, Davis JM, Leucht S, Stone JM. Proton magnetic resonance spectroscopy and illness stage in schizophrenia--a systematic review and meta-analysis. *Biol Psychiatry* 2011; 69: 495-503
26. Bruno V, Battaglia G, Casabona G, Copani A, Caciagli F, Nicoletti F. Neuroprotection by glial metabotropic glutamate receptors is mediated by transforming growth factor-beta. *J Neurosci* 1998; 18: 9594-9600
27. Buniatian HC, Hovhannissian VS, Aprikian GV. The participation of N-acetyl-L-aspartic acid in brain metabolism. *J Neurochem* 1965; 12: 695-703
28. Burri R, Steffen C, Herschkowitz N. N-acetyl-L-aspartate is a major source of acetyl groups for lipid synthesis during rat brain development. *Dev Neurosci* 1991; 13: 403-411
29. Bustillo JR, Rowland LM, Lauriello J, Petropoulos H, Hammond R, Hart B, Brooks WM. High choline concentrations in the caudate nucleus in antipsychotic-naive patients with schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2002; 159: 130-133
30. Bustillo JR, Rowland LM, Mullins P, Jung R, Chen H, Qualls C, Hammond R, Brooks WM, Lauriello J. (1)H-MRS at 4 Tesla in minimally treated early schizophrenia. *Mol Psychiatry* 2010; 15: 629-636

31. Bzdega T, Turi T, Wroblewska B, She D, Chung HS, Kim H, Neale JH. Molecular cloning of a peptidase against N-acetylaspartylglutamate from a rat hippocampal cDNA library. *J Neurochem* 1997; 69: 2270-2277
32. Bzdega T, Crowe SL, Ramadan ER, Sciarretta KH, Olszewski RT, Ojeifo OA, Rafalski VA, Wroblewska B, Neale JH. The cloning and characterization of a second brain enzyme with NAAG peptidase activity. *J Neurochem* 2004; 89: 627-635
33. Callicott JH, Bertolino A, Egan MF, Mattay VS, Langheim FJ, Weinberger DR. Selective relationship between prefrontal N-acetylaspartate measures and negative symptoms in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2000a; 157: 1646-1651
34. Callicott JH, Bertolino A, Mattay VS, Langheim FJ, Duyn J, Coppola R, Goldberg TE, Weinberger DR. Physiological dysfunction of the dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia revisited. *Cereb Cortex* 2000b; 10: 1078-1092
35. Camchong J, Dyckman KA, Austin BP, Clementz BA, McDowell JE. Common neural circuitry supporting volitional saccades and its disruption in schizophrenia patients and relatives. *Biol Psychiatry* 2008; 64: 1042-1050
36. Cangro CB, Namboodiri MA, Sklar LA, Corigliano-Murphy A, Neale JH. Immunohistochemistry and biosynthesis of N-acetylaspartylglutamate in spinal sensory ganglia. *J Neurochem* 1987; 49: 1579-1588
37. Carlsson A. The current status of the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 1988; 1: 179-186
38. Carlsson M, Carlsson A. Interactions between glutamatergic and monoaminergic systems within the basal ganglia--implications for schizophrenia and Parkinson's disease. *Trends Neurosci* 1990; 13: 272-276
39. Carter CS, Mintun M, Nichols T, Cohen JD. Anterior cingulate gyrus dysfunction and selective attention deficits in schizophrenia: [15O]H<sub>2</sub>O PET study during single-trial Stroop task performance. *Am J Psychiatry* 1997; 154: 1670-1675
40. Carter RE, Feldman AR, Coyle JT. Prostate-specific membrane antigen is a hydrolase with substrate and pharmacologic characteristics of a neuropeptidase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 749-753
41. Cartmell J, Monn JA, Schoepp DD. The metabotropic glutamate 2/3 receptor agonists LY354740 and LY379268 selectively attenuate phencyclidine versus d-amphetamine motor behaviors in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 291: 161-170
42. Chakraborty G, Mekala P, Yahya D, Wu G, Ledeen RW. Intraneuronal N-acetylaspartate supplies acetyl groups for myelin lipid synthesis: evidence for myelin-associated aspartoacylase. *J Neurochem* 2001; 78: 736-745
43. Coyle JT. The glutamatergic dysfunction hypothesis for schizophrenia. *Harv Rev Psychiatry* 1996; 3: 241-253
44. Coyle JT, Tsai G, Goff D. Converging evidence of NMDA receptor hypofunction in the pathophysiology of schizophrenia. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 1003: 318-327
45. Crow TJ. Positive and negative schizophrenic symptoms and the role of dopamine. *Br J Psychiatry* 1980; 137: 383-386
46. Curatolo A, D'AP, Lino A, Brancati A. Distribution of N-Acetyl-Aspartic and N-Acetyl-Aspartyl-Glutamic Acids in Nervous Tissue. *J Neurochem* 1965a; 12: 339-342
47. Curatolo A, D'Arcangelo P, Lino A, Brancati A. [Brain concentration of glutamic, aspartic, N-acetylaspartic and N-acetylaspartyl-glutamic acids in rats chronically treated with aspartic and N-acetylaspartic acids]. *Boll Soc Ital Biol Sper* 1965b; 41: 588-590

48. D'Adamo AF, Jr., Yatsu FM. Acetate metabolism in the nervous system. N-acetyl-L-aspartic acid and the biosynthesis of brain lipids. *J Neurochem* 1966; 13: 961-965
49. D'Adamo AF, Jr., Gidez LI, Yatsu FM. Acetyl transport mechanisms. Involvement of N-acetyl aspartic acid in de novo fatty acid biosynthesis in the developing rat brain. *Exp Brain Res* 1968; 5: 267-273
50. D'Adamo AF, Jr., Smith JC, Woiler C. The occurrence of N-acetylaspartate amidohydrolase (aminoacylase II) in the developing rat. *J Neurochem* 1973; 20: 1275-1278
51. Davie CA, Hawkins CP, Barker GJ, Brennan A, Tofts PS, Miller DH, McDonald WI. Serial proton magnetic resonance spectroscopy in acute multiple sclerosis lesions. *Brain* 1994; 117 ( Pt 1): 49-58
52. Dawe GS, Hwang EH, Tan CH. Pathophysiology and animal models of schizophrenia. *Ann Acad Med Singapore* 2009; 38: 425-426
53. De Stefano N, Matthews PM, Arnold DL. Reversible decreases in N-acetylaspartate after acute brain injury. *Magn Reson Med* 1995; 34: 721-727
54. Deicken RF, Zhou L, Schuff N, Weiner MW. Proton magnetic resonance spectroscopy of the anterior cingulate region in schizophrenia. *Schizophr Res* 1997; 27: 65-71
55. Deicken RF, Johnson C, Eliaz Y, Schuff N. Reduced concentrations of thalamic N-acetylaspartate in male patients with schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2000a; 157: 644-647
56. Deicken RF, Johnson C, Pegues M. Proton magnetic resonance spectroscopy of the human brain in schizophrenia. *Rev Neurosci* 2000b; 11: 147-158
57. Demougeot C, Marie C, Giroud M, Beley A. N-acetylaspartate: a literature review of animal research on brain ischaemia. *J Neurochem* 2004; 90: 776-783
58. Dickinson D, Ramsey ME, Gold JM. Overlooking the obvious: a meta-analytic comparison of digit symbol coding tasks and other cognitive measures in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 2007; 64: 532-542
59. Edden RA, Pomper MG, Barker PB. In vivo differentiation of N-acetyl aspartyl glutamate from N-acetyl aspartate at 3 Tesla. *Magn Reson Med* 2007; 57: 977-982
60. Ende G, Braus DF, Walter S, Weber-Fahr W, Soher B, Maudsley AA, Henn FA. Effects of age, medication, and illness duration on the N-acetyl aspartate signal of the anterior cingulate region in schizophrenia. *Schizophr Res* 2000; 41: 389-395
61. Ende G, Braus DF, Walter S, Weber-Fahr W, Henn FA. Multiregional 1H-MRSI of the hippocampus, thalamus, and basal ganglia in schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2003; 253: 9-15
62. Ende G, Hubrich P, Walter S, Weber-Fahr W, Kammerer N, Braus DF, Henn FA. Further evidence for altered cerebellar neuronal integrity in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2005; 162: 790-792
63. Esquenazi S, Monnerie H, Kaplan P, Le Roux P. BMP-7 and excess glutamate: opposing effects on dendrite growth from cerebral cortical neurons in vitro. *Exp Neurol* 2002; 176: 41-54
64. Fioravanti M, Carlone O, Vitale B, Cinti ME, Clare L. A meta-analysis of cognitive deficits in adults with a diagnosis of schizophrenia. *Neuropsychol Rev* 2005; 15: 73-95

65. Fletcher P, McKenna PJ, Friston KJ, Frith CD, Dolan RJ. Abnormal cingulate modulation of fronto-temporal connectivity in schizophrenia. *Neuroimage* 1999; 9: 337-342
66. Fountas KN. *Novel Frontiers of Advanced Neuroimaging*. 1 ed.: InTech; 2013; <http://www.intechopen.com/books/novel-frontiers-of-advanced-neuroimaging> (Zugriffsdatum: 19.11.2013)
67. Frahm J, Michaelis T, Merboldt KD, Hanicke W, Gyngell ML, Bruhn H. On the N-acetyl methyl resonance in localized <sup>1</sup>H NMR spectra of human brain in vivo. *NMR Biomed* 1991; 4: 201-204
68. Fricker AC, Mok MH, de la Flor R, Shah AJ, Woolley M, Dawson LA, Kew JN. Effects of N-acetylaspartylglutamate (NAAG) at group II mGluRs and NMDAR. *Neuropharmacology* 2009; 56: 1060-1067
69. Fujita T, Katsukawa H, Yodoya E, Wada M, Shimada A, Okada N, Yamamoto A, Ganapathy V. Transport characteristics of N-acetyl-L-aspartate in rat astrocytes: involvement of sodium-coupled high-affinity carboxylate transporter NaC3/NaDC3-mediated transport system. *J Neurochem* 2005; 93: 706-714
70. Fukushima T, Liu RY, Byrne JH. Transforming growth factor-beta2 modulates synaptic efficacy and plasticity and induces phosphorylation of CREB in hippocampal neurons. *Hippocampus* 2007; 17: 5-9
71. Ganapathy V, Fujita T. Identity of the high-affinity sodium/carboxylate cotransporter NaC3 as the N-acetyl-L-aspartate transporter. *Adv Exp Med Biol* 2006; 576: 67-76; discussion 361-363
72. Gasparovic C, Arfai N, Smid N, Feeney DM. Decrease and recovery of N-acetylaspartate/creatine in rat brain remote from focal injury. *J Neurotrauma* 2001; 18: 241-246
73. Gehl LM, Saab OH, Bzdega T, Wroblewska B, Neale JH. Biosynthesis of NAAG by an enzyme-mediated process in rat central nervous system neurons and glia. *J Neurochem* 2004; 90: 989-997
74. George RL, Huang W, Naggar HA, Smith SB, Ganapathy V. Transport of N-acetylaspartate via murine sodium/dicarboxylate cotransporter NaDC3 and expression of this transporter and aspartoacylase II in ocular tissues in mouse. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1690: 63-69
75. Ghose S, Chin R, Gallegos A, Roberts R, Coyle J, Tamminga C. Localization of NAAG-related gene expression deficits to the anterior hippocampus in schizophrenia. *Schizophr Res* 2009a; 111: 131-137
76. Ghose S, Gleason KA, Potts BW, Lewis-Amezcuca K, Tamminga CA. Differential expression of metabotropic glutamate receptors 2 and 3 in schizophrenia: a mechanism for antipsychotic drug action? *Am J Psychiatry* 2009b; 166: 812-820
77. Gill SS, Thomas DG, Van Bruggen N, Gadian DG, Peden CJ, Bell JD, Cox IJ, Menon DK, Iles RA, Bryant DJ, et al. Proton MR spectroscopy of intracranial tumours: in vivo and in vitro studies. *J Comput Assist Tomogr* 1990; 14: 497-504
78. Goff DC, Coyle JT. The emerging role of glutamate in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2001; 158: 1367-1377
79. Gold JM, Carpenter C, Randolph C, Goldberg TE, Weinberger DR. Auditory working memory and Wisconsin Card Sorting Test performance in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 1997; 54: 159-165

80. Goldman-Rakic PS. The physiological approach: functional architecture of working memory and disordered cognition in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 1999; 46: 650-661
81. Goldstein FB. The enzymatic synthesis of N-acetyl-L-aspartic acid by subcellular preparations of rat brain. *J Biol Chem* 1969; 244: 4257-4260
82. Govindaraju V, Young K, Maudsley AA. Proton NMR chemical shifts and coupling constants for brain metabolites. *NMR Biomed* 2000; 13: 129-153
83. Greene R. Circuit analysis of NMDAR hypofunction in the hippocampus, in vitro, and psychosis of schizophrenia. *Hippocampus* 2001; 11: 569-577
84. Grunze HC, Rainnie DG, Hasselmo ME, Barkai E, Hearn EF, McCarley RW, Greene RW. NMDA-dependent modulation of CA1 local circuit inhibition. *J Neurosci* 1996; 16: 2034-2043
85. Guilarte TR, Hammoud DA, McGlothan JL, Caffo BS, Foss CA, Kozikowski AP, Pomper MG. Dysregulation of glutamate carboxypeptidase II in psychiatric disease. *Schizophr Res* 2008; 99: 324-332
86. Gupta RK, Cloughesy TF, Sinha U, Garakian J, Lazareff J, Rubino G, Rubino L, Becker DP, Vinters HV, Alger JR. Relationships between choline magnetic resonance spectroscopy, apparent diffusion coefficient and quantitative histopathology in human glioma. *J Neurooncol* 2000; 50: 215-226
87. Harrison PJ, Law AJ, Eastwood SL. Glutamate receptors and transporters in the hippocampus in schizophrenia. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 1003: 94-101
88. Härting C, Neufeld H, Kessler J. Die Wechsler Memory Scale - revised (WMS-r). Deutsche Version. Göttingen: Hogrefe; 2000
89. Helmstaedter C LM, Lux S. Verbaler Lern- und Merkfähigkeitstest (VLMT). Göttingen: Beltz; 2001
90. Henry JD, Crawford JR. A meta-analytic review of verbal fluency deficits in schizophrenia relative to other neurocognitive deficits. *Cogn Neuropsychiatry* 2005; 10: 1-33
91. Hill K, Mann L, Laws KR, Stephenson CM, Nimmo-Smith I, McKenna PJ. Hypofrontality in schizophrenia: a meta-analysis of functional imaging studies. *Acta Psychiatr Scand* 2004; 110: 243-256
92. Homayoun H, Jackson ME, Moghaddam B. Activation of metabotropic glutamate 2/3 receptors reverses the effects of NMDA receptor hypofunction on prefrontal cortex unit activity in awake rats. *J Neurophysiol* 2005; 93: 1989-2001
93. Huang W, Wang H, Kekuda R, Fei YJ, Friedrich A, Wang J, Conway SJ, Cameron RS, Leibach FH, Ganapathy V. Transport of N-acetylaspartate by the Na(+)-dependent high-affinity dicarboxylate transporter NaDC3 and its relevance to the expression of the transporter in the brain. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 295: 392-403
94. Jablensky A. Epidemiology of schizophrenia: the global burden of disease and disability. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2000; 250: 274-285
95. Jakary A, Vinogradov S, Feiwell R, Deicken RF. N-acetylaspartate reductions in the mediodorsal and anterior thalamus in men with schizophrenia verified by tissue volume corrected proton MRSI. *Schizophr Res* 2005; 76: 173-185
96. Javitt DC, Zukin SR. Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1991; 148: 1301-1308
97. Javitt DC, Coyle JT. Decoding schizophrenia. *Sci Am* 2004; 290: 48-55

98. Jessen F, Scherk H, Traber F, Theyson S, Berning J, Tepest R, Falkai P, Schild HH, Maier W, Wagner M, Block W. Proton magnetic resonance spectroscopy in subjects at risk for schizophrenia. *Schizophr Res* 2006; 87: 81-88
99. Jessen F, Fingerhut N, Sprinkart AM, Kuhn KU, Petrovsky N, Maier W, Schild HH, Block W, Wagner M, Traber F. N-acetylaspartylglutamate (NAAG) and N-acetylaspartate (NAA) in patients with schizophrenia. *Schizophr Bull* 2013; 39: 197-205
100. Kaul R, Casanova J, Johnson AB, Tang P, Matalon R. Purification, characterization, and localization of aspartoacylase from bovine brain. *J Neurochem* 1991; 56: 129-135
101. Kay SR, Fiszbein A, Opler LA. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr Bull* 1987; 13: 261-276
102. Keefe RS, Eesley CE, Poe MP. Defining a cognitive function decrement in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2005; 57: 688-691
103. Kelley RI, Stamas JN. Quantification of N-acetyl-L-aspartic acid in urine by isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry. *J Inher Metab Dis* 1992; 15: 97-104
104. Klugmann M, Symes CW, Klaussner BK, Leichtlein CB, Serikawa T, Young D, During MJ. Identification and distribution of aspartoacylase in the postnatal rat brain. *Neuroreport* 2003; 14: 1837-1840
105. Knizley H, Jr. The enzymatic synthesis of N-acetyl-L-aspartic acid by a water-insoluble preparation of a cat brain acetone powder. *J Biol Chem* 1967; 242: 4619-4622
106. Koller KJ, Zaczek R, Coyle JT. N-acetyl-aspartyl-glutamate: regional levels in rat brain and the effects of brain lesions as determined by a new HPLC method. *J Neurochem* 1984; 43: 1136-1142
107. Kreis R, Ernst T, Ross BD. Absolute quantitation of water and metabolites in the human brain. II. Metabolite concentrations. *J Magn Reson* 1993; 102: 9-19
108. Krystal JH, Karper LP, Seibyl JP, Freeman GK, Delaney R, Bremner JD, Heninger GR, Bowers MB, Jr., Charney DS. Subanesthetic effects of the non-competitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. *Arch Gen Psychiatry* 1994; 51: 199-214
109. Krystal JH, D'Souza DC, Petrakis IL, Belger A, Berman RM, Charney DS, Abi-Saab W, Madonick S. NMDA agonists and antagonists as probes of glutamatergic dysfunction and pharmacotherapies in neuropsychiatric disorders. *Harv Rev Psychiatry* 1999; 7: 125-143
110. Kurisaki A, Inoue I, Kurisaki K, Yamakawa N, Tsuchida K, Sugino H. Activin induces long-lasting N-methyl-D-aspartate receptor activation via scaffolding PDZ protein activin receptor interacting protein 1. *Neuroscience* 2008; 151: 1225-1235
111. Kvittingen EA, Guldal G, Borsting S, Skalpe IO, Stokke O, Jellum E. N-acetylaspartic aciduria in a child with a progressive cerebral atrophy. *Clin Chim Acta* 1986; 158: 217-227
112. Laruelle M, Kegeles LS, Abi-Dargham A. Glutamate, dopamine, and schizophrenia: from pathophysiology to treatment. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 1003: 138-158
113. Laws KR. A meta-analytic review of Wisconsin Card Sort studies in schizophrenia: general intellectual deficit in disguise? *Cogn Neuropsychiatry* 1999; 4: 1-30; discussion 31-35

114. Ledeen RW, Wang J, Wu G, Lu ZH, Chakraborty G, Meyenhofer M, Tyring SK, Matalon R. Physiological role of N-acetylaspartate: contribution to myelinogenesis. *Adv Exp Med Biol* 2006; 576: 131-143; discussion 361-133
115. Lee J, Park S. Working memory impairments in schizophrenia: a meta-analysis. *J Abnorm Psychol* 2005; 114: 599-611
116. Lieberman EM, Achreja M, Urazaev AK. Synthesis of N-acetylaspartyl-glutamate (NAAG) and N-acetylaspartate (NAA) in axons and glia of the crayfish medial giant nerve fiber. *Adv Exp Med Biol* 2006; 576: 303-315; discussion 361-303
117. Luthi-Carter R, Barczak AK, Speno H, Coyle JT. Hydrolysis of the neuropeptide N-acetylaspartylglutamate (NAAG) by cloned human glutamate carboxypeptidase II. *Brain Res* 1998; 795: 341-348
118. Luyten PR, Marien AJ, Heindel W, van Gerwen PH, Herholz K, den Hollander JA, Friedmann G, Heiss WD. Metabolic imaging of patients with intracranial tumors: H-1 MR spectroscopic imaging and PET. *Radiology* 1990; 176: 791-799
119. Madhavarao CN, Moffett JR, Moore RA, Viola RE, Namboodiri MA, Jacobowitz DM. Immunohistochemical localization of aspartoacylase in the rat central nervous system. *J Comp Neurol* 2004; 472: 318-329
120. Manoach DS, Press DZ, Thangaraj V, Searl MM, Goff DC, Halpern E, Saper CB, Warach S. Schizophrenic subjects activate dorsolateral prefrontal cortex during a working memory task, as measured by fMRI. *Biol Psychiatry* 1999; 45: 1128-1137
121. Marsman A, van den Heuvel MP, Klomp DW, Kahn RS, Luijten PR, Hulshoff Pol HE. Glutamate in Schizophrenia: A Focused Review and Meta-Analysis of 1H-MRS Studies. *Schizophr Bull* 2013; 39(1): 120-129
122. McCarthy G, Blamire AM, Puce A, Nobre AC, Bloch G, Hyder F, Goldman-Rakic P, Shulman RG. Functional magnetic resonance imaging of human prefrontal cortex activation during a spatial working memory task. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 8690-8694
123. McCarthy G, Puce A, Constable RT, Krystal JH, Gore JC, Goldman-Rakic P. Activation of human prefrontal cortex during spatial and nonspatial working memory tasks measured by functional MRI. *Cereb Cortex* 1996; 6: 600-611
124. McGrath JJ, Susser ES. New directions in the epidemiology of schizophrenia. *Med J Aust* 2009; 190: S7-9
125. Mehta V, Namboodiri MA. N-acetylaspartate as an acetyl source in the nervous system. *Brain Res Mol Brain Res* 1995; 31: 151-157
126. Miller BL, Chang L, Booth R, Ernst T, Cornford M, Nikas D, McBride D, Jenden DJ. In vivo 1H MRS choline: correlation with in vitro chemistry/histology. *Life Sci* 1996; 58: 1929-1935
127. Miyake M, Morino H, Mizobuchi M, Kakimoto Y. N-acetyl-L-aspartic acid, N-acetyl-alpha-L-aspartyl-L-glutamic acid and beta-citryl-L-glutamic acid in human urine. *Clin Chim Acta* 1982; 120: 119-126
128. Miyamoto E, Kakimoto Y, Sano I. Identification of N-acetyl-alpha-aspartylglutamic acid in the bovine brain. *J Neurochem* 1966; 13: 999-1003
129. Moffett JR, Namboodiri MA, Neale JH. Enhanced carbodiimide fixation for immunohistochemistry: application to the comparative distributions of N-acetylaspartylglutamate and N-acetylaspartate immunoreactivities in rat brain. *J Histochem Cytochem* 1993; 41: 559-570

130. Moffett JR, Namboodiri MA. Differential distribution of N-acetylaspartylglutamate and N-acetylaspartate immunoreactivities in rat forebrain. *J Neurocytol* 1995; 24: 409-433
131. Moffett JR, Ross B, Arun P, Madhavarao CN, Namboodiri AM. N-Acetylaspartate in the CNS: from neurodiagnostics to neurobiology. *Prog Neurobiol* 2007; 81: 89-131
132. Moghaddam B, Adams BW. Reversal of phencyclidine effects by a group II metabotropic glutamate receptor agonist in rats. *Science* 1998; 281: 1349-1352
133. Morey RA, Inan S, Mitchell TV, Perkins DO, Lieberman JA, Belger A. Imaging frontostriatal function in ultra-high-risk, early, and chronic schizophrenia during executive processing. *Arch Gen Psychiatry* 2005; 62: 254-262
134. Morrens M, Hulstijn W, Lewi PJ, De Hert M, Sabbe BG. Stereotypy in schizophrenia. *Schizophr Res* 2006; 84: 397-404
135. Morrens M, Hulstijn W, Sabbe B. Psychomotor slowing in schizophrenia. *Schizophr Bull* 2007; 33: 1038-1053
136. Naressi A, Couturier C, Devos JM, Janssen M, Mangeat C, de Beer R, Graveron-Demilly D. Java-based graphical user interface for the MRUI quantitation package. *MAGMA* 2001a; 12: 141-152
137. Naressi A, Couturier C, Castang I, de Beer R, Graveron-Demilly D. Java-based graphical user interface for MRUI, a software package for quantitation of in vivo/medical magnetic resonance spectroscopy signals. *Comput Biol Med* 2001b; 31: 269-286
138. Neale JH, Bzdega T, Wroblewska B. N-Acetylaspartylglutamate: the most abundant peptide neurotransmitter in the mammalian central nervous system. *J Neurochem* 2000; 75: 443-452
139. Nudmamud S, Reynolds LM, Reynolds GP. N-acetylaspartate and N-Acetylaspartylglutamate deficits in superior temporal cortex in schizophrenia and bipolar disorder: a postmortem study. *Biol Psychiatry* 2003; 53: 1138-1141
140. O'Neill J, Levitt J, Caplan R, Asarnow R, McCracken JT, Toga AW, Alger JR. 1H MRSI evidence of metabolic abnormalities in childhood-onset schizophrenia. *Neuroimage* 2004; 21: 1781-1789
141. Olbrich HM, Valerius G, Rusch N, Buchert M, Thiel T, Hennig J, Ebert D, Van Elst LT. Frontolimbic glutamate alterations in first episode schizophrenia: evidence from a magnetic resonance spectroscopy study. *World J Biol Psychiatry* 2008; 9: 59-63
142. Olney JW, Farber NB. Glutamate receptor dysfunction and schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 1995; 52: 998-1007
143. Olszewski RT, Bukhari N, Zhou J, Kozikowski AP, Wroblewski JT, Shamimi-Noori S, Wroblewska B, Bzdega T, Vicini S, Barton FB, Neale JH. NAAG peptidase inhibition reduces locomotor activity and some stereotypes in the PCP model of schizophrenia via group II mGluR. *J Neurochem* 2004; 89: 876-885
144. Olszewski RT, Wegorzewska MM, Monteiro AC, Krolikowski KA, Zhou J, Kozikowski AP, Long K, Mastropaolo J, Deutsch SI, Neale JH. Phencyclidine and dizocilpine induced behaviors reduced by N-acetylaspartylglutamate peptidase inhibition via metabotropic glutamate receptors. *Biol Psychiatry* 2008; 63: 86-91
145. Orzack MH, Kornetsky C. Attention dysfunction in chronic schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 1966; 14: 323-326

146. Patel TB, Clark JB. Synthesis of N-acetyl-L-aspartate by rat brain mitochondria and its involvement in mitochondrial/cytosolic carbon transport. *Biochem J* 1979; 184: 539-546
147. Patil ST, Zhang L, Martenyi F, Lowe SL, Jackson KA, Andreev BV, Avedisova AS, Bardenstein LM, Gurovich IY, Morozova MA, Mosolov SN, Neznanov NG, Reznik AM, Smulevich AB, Tochilov VA, Johnson BG, Monn JA, Schoepp DD. Activation of mGlu2/3 receptors as a new approach to treat schizophrenia: a randomized Phase 2 clinical trial. *Nat Med* 2007; 13: 1102-1107
148. Petralia RS, Wang YX, Niedzielski AS, Wenthold RJ. The metabotropic glutamate receptors, mGluR2 and mGluR3, show unique postsynaptic, presynaptic and glial localizations. *Neuroscience* 1996; 71: 949-976
149. Planansky K, Johnston R. Depressive syndrome in schizophrenia. *Acta Psychiatr Scand* 1978; 57: 207-218
150. Pouwels PJ, Frahm J. Differential distribution of NAA and NAAG in human brain as determined by quantitative localized proton MRS. *NMR Biomed* 1997; 10: 73-78
151. Profaci CP, Krolikowski KA, Olszewski RT, Neale JH. Group II mGluR agonist LY354740 and NAAG peptidase inhibitor effects on prepulse inhibition in PCP and D-amphetamine models of schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl)* 2011; 216: 235-243
152. Puttfarcken PS, Handen JS, Montgomery DT, Coyle JT, Werling LL. N-acetyl-aspartylglutamate modulation of N-methyl-D-aspartate-stimulated [3H]norepinephrine release from rat hippocampal slices. *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 266: 796-803
153. Ratiney H, Sdika M, Coenradie Y, Cavassila S, van Ormondt D, Graveron-Demilly D. Time-domain semi-parametric estimation based on a metabolite basis set. *NMR Biomed* 2005; 18: 1-13
154. Reichenberg A, Harvey PD. Neuropsychological impairments in schizophrenia: Integration of performance-based and brain imaging findings. *Psychol Bull* 2007; 133: 833-858
155. Reid MA, Stoeckel LE, White DM, Avsar KB, Bolding MS, Akella NS, Knowlton RC, den Hollander JA, Lahti AC. Assessments of function and biochemistry of the anterior cingulate cortex in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2010; 68: 625-633
156. Reitan R. Trail Making Test (TMT). Weinheim: Beltz; 1979
157. Reynolds LM, Cochran SM, Morris BJ, Pratt JA, Reynolds GP. Chronic phencyclidine administration induces schizophrenia-like changes in N-acetylaspartate and N-acetylaspartylglutamate in rat brain. *Schizophr Res* 2005; 73: 147-152
158. Saykin AJ, Gur RC, Gur RE, Mozley PD, Mozley LH, Resnick SM, Kester DB, Stafiniak P. Neuropsychological function in schizophrenia. Selective impairment in memory and learning. *Arch Gen Psychiatry* 1991; 48: 618-624
159. Sekiguchi M, Okamoto K, Sakai Y. Low-concentration N-acetylaspartylglutamate suppresses the climbing fiber response of Purkinje cells in guinea pig cerebellar slices and the responses to excitatory amino acids of *Xenopus laevis* oocytes injected with cerebellar mRNA. *Brain Res* 1989; 482: 87-96
160. Shirayama Y, Obata T, Matsuzawa D, Nonaka H, Kanazawa Y, Yoshitome E, Ikehira H, Hashimoto K, Iyo M. Specific metabolites in the medial prefrontal cortex are associated with the neurocognitive deficits in schizophrenia: a preliminary study. *Neuroimage* 2010; 49: 2783-2790

161. Siesjo BK. Brain energy metabolism and catecholaminergic activity in hypoxia, hypercapnia and ischemia. *J Neural Transm Suppl* 1978; 17-22
162. Sigmundsson T, Maier M, Toone BK, Williams SC, Simmons A, Greenwood K, Ron MA. Frontal lobe N-acetylaspartate correlates with psychopathology in schizophrenia: a proton magnetic resonance spectroscopy study. *Schizophr Res* 2003; 64: 63-71
163. Signoretti S, Marmarou A, Tavazzi B, Lazzarino G, Beaumont A, Vagnozzi R. N-Acetylaspartate reduction as a measure of injury severity and mitochondrial dysfunction following diffuse traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2001; 18: 977-991
164. Signoretti S, Marmarou A, Tavazzi B, Dunbar J, Amorini AM, Lazzarino G, Vagnozzi R. The protective effect of cyclosporin A upon N-acetylaspartate and mitochondrial dysfunction following experimental diffuse traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2004; 21: 1154-1167
165. Simmons ML, Frondoza CG, Coyle JT. Immunocytochemical localization of N-acetyl-aspartate with monoclonal antibodies. *Neuroscience* 1991; 45: 37-45
166. Slusher BS, Robinson MB, Tsai G, Simmons ML, Richards SS, Coyle JT. Rat brain N-acetylated alpha-linked acidic dipeptidase activity. Purification and immunologic characterization. *J Biol Chem* 1990; 265: 21297-21301
167. Steen RG, Hamer RM, Lieberman JA. Measurement of brain metabolites by 1H magnetic resonance spectroscopy in patients with schizophrenia: a systematic review and meta-analysis. *Neuropsychopharmacology* 2005; 30: 1949-1962
168. Takatsu Y, Fujita Y, Tsukamoto T, Slusher BS, Hashimoto K. Orally active glutamate carboxypeptidase II inhibitor 2-MPPA attenuates dizocilpine-induced prepulse inhibition deficits in mice. *Brain Res* 2011; 1371: 82-86
169. Tallan HH, Moore S, Stein WH. N-Acetyl-L-aspartic acid in brain. *J Biol Chem* 1956; 219: 257-264
170. Tallan HH. Studies on the distribution of N-acetyl-L-aspartic acid in brain. *J Biol Chem* 1957; 224: 41-45
171. Tamminga CA. Schizophrenia and glutamatergic transmission. *Crit Rev Neurobiol* 1998; 12: 21-36
172. Tanaka Y, Obata T, Sassa T, Yoshitome E, Asai Y, Ikehira H, Suhara T, Okubo Y, Nishikawa T. Quantitative magnetic resonance spectroscopy of schizophrenia: relationship between decreased N-acetylaspartate and frontal lobe dysfunction. *Psychiatry Clin Neurosci* 2006; 60: 365-372
173. Tandon R, Nasrallah HA, Keshavan MS. Schizophrenia, "just the facts" 4. Clinical features and conceptualization. *Schizophr Res* 2009; 110: 1-23
174. Tavazzi B, Signoretti S, Lazzarino G, Amorini AM, Delfini R, Cimatti M, Marmarou A, Vagnozzi R. Cerebral oxidative stress and depression of energy metabolism correlate with severity of diffuse brain injury in rats. *Neurosurgery* 2005; 56: 582-589; discussion 582-589
175. Tayoshi S, Sumitani S, Taniguchi K, Shibuya-Tayoshi S, Numata S, Iga J, Nakataki M, Ueno S, Harada M, Ohmori T. Metabolite changes and gender differences in schizophrenia using 3-Tesla proton magnetic resonance spectroscopy (1H-MRS). *Schizophr Res* 2009; 108: 69-77
176. Tewes U. Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991 (HAWIE-R). Bern: Huber; 1991

177. Theberge J, Al-Semaan Y, Williamson PC, Menon RS, Neufeld RW, Rajakumar N, Schaefer B, Densmore M, Drost DJ. Glutamate and glutamine in the anterior cingulate and thalamus of medicated patients with chronic schizophrenia and healthy comparison subjects measured with 4.0-T proton MRS. *Am J Psychiatry* 2003; 160: 2231-2233
178. Traber F, Block W, Lamerichs R, Gieseke J, Schild HH. <sup>1</sup>H metabolite relaxation times at 3.0 tesla: Measurements of T1 and T2 values in normal brain and determination of regional differences in transverse relaxation. *J Magn Reson Imaging* 2004; 19: 537-545
179. Truckenmiller ME, Namboodiri MA, Brownstein MJ, Neale JH. N-Acetylation of L-aspartate in the nervous system: differential distribution of a specific enzyme. *J Neurochem* 1985; 45: 1658-1662
180. Tsai G, Passani LA, Slusher BS, Carter R, Baer L, Kleinman JE, Coyle JT. Abnormal excitatory neurotransmitter metabolism in schizophrenic brains. *Arch Gen Psychiatry* 1995; 52: 829-836
181. Tsai G, Coyle JT. Glutamatergic mechanisms in schizophrenia. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2002; 42: 165-179
182. Tsai SJ. Central N-acetyl aspartylglutamate deficit: a possible pathogenesis of schizophrenia. *Med Sci Monit* 2005; 11: HY39-45
183. Tyson RL, Sutherland GR. Labeling of N-acetylaspartate and N-acetylaspartylglutamate in rat neocortex, hippocampus and cerebellum from [<sup>1</sup>-<sup>13</sup>C]glucose. *Neurosci Lett* 1998; 251: 181-184
184. Ungvari GS, Goggins W, Leung SK, Gerevich J. Schizophrenia with prominent catatonic features ('catatonic schizophrenia'). II. Factor analysis of the catatonic syndrome. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2007; 31: 462-468
185. Urazaev AK, Grossfeld RM, Fletcher PL, Speno H, Gafurov BS, Buttram JG, Lieberman EM. Synthesis and release of N-acetylaspartylglutamate (NAAG) by crayfish nerve fibers: implications for axon-glia signaling. *Neuroscience* 2001; 106: 237-247
186. Urenjak J, Williams SR, Gadian DG, Noble M. Proton nuclear magnetic resonance spectroscopy unambiguously identifies different neural cell types. *J Neurosci* 1993; 13: 981-989
187. Vagnozzi R, Signoretti S, Tavazzi B, Cimatti M, Amorini AM, Donzelli S, Delfini R, Lazzarino G. Hypothesis of the postconcussive vulnerable brain: experimental evidence of its metabolic occurrence. *Neurosurgery* 2005; 57: 164-171; discussion 164-171
188. Vanhamme L, van den Boogaart A, Van Huffel S. Improved method for accurate and efficient quantification of MRS data with use of prior knowledge. *J Magn Reson* 1997; 129: 35-43
189. Wang K, Fan J, Dong Y, Wang CQ, Lee TM, Posner MI. Selective impairment of attentional networks of orienting and executive control in schizophrenia. *Schizophr Res* 2005; 78: 235-241
190. Weinberger DR. Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 1987; 44: 660-669
191. Wroblewska B, Wroblewski JT, Pshenichkin S, Surin A, Sullivan SE, Neale JH. N-acetylaspartylglutamate selectively activates mGluR3 receptors in transfected cells. *J Neurochem* 1997; 69: 174-181

192. Wroblewska B. NAAG as a neurotransmitter. *Adv Exp Med Biol* 2006; 576: 317-325; discussion 361-313
193. Yurgelun-Todd DA, Renshaw PF, Gruber SA, Ed M, Wateraux C, Cohen BM. Proton magnetic resonance spectroscopy of the temporal lobes in schizophrenics and normal controls. *Schizophr Res* 1996; 19: 55-59
194. Zhou J, Neale JH, Pomper MG, Kozikowski AP. NAAG peptidase inhibitors and their potential for diagnosis and therapy. *Nat Rev Drug Discov* 2005; 4: 1015-1026

## 7. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Frank Jessen, der mir bei dieser Arbeit stets mit Rat und Tat zur Seite gestanden hat. Seine Anregungen und kritischen Kommentare haben zum guten Gelingen dieser Arbeit maßgeblich beigetragen.

Ich möchte mich auch besonders bei Herrn Dr. Frank Träger bedanken, der mir ebenfalls über den gesamten Zeitraum als Ansprechpartner für jegliche Fragen zur Verfügung stand und mich insbesondere bei der Planung, Durchführung und Auswertung der MR-Spektroskopischen Untersuchungen unterstützte und geduldig die notwendigen physikalischen Hintergründe erläuterte.

Des Weiteren möchte ich mich bei den Herren Dr. Wolfgang Block und Alois M. Sprinkart bedanken, die mir ebenfalls im Hinblick auf die MR-Spektroskopischen Aufnahmen unterstützend zur Seite standen. Auch Herrn Prof. H.H. Schild, der als Direktor der radiologischen Klinik die Durchführung dieser Arbeit in diesem Umfang ermöglichte möchte ich danken, sowie dem gesamten Team der radiologischen Klinik, die mich vom ersten Tag an so freundlich empfangen haben.

Ich bedanke mich bei Herr Prof. Michael Wagner und bei Frau Nadine Petrovsky für die Unterstützung bei der Auswahl und Durchführung der geeigneten Neuropsychologischen Tests.

Ich danke den Ärzten und dem Pflegepersonal der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie für ihre Unterstützung bei der Auswahl der geeigneten Patienten und für die freundliche und offene Art mit der ich stets empfangen wurde.

Mein Besonderer Dank gilt natürlich auch den Patienten und Probanden, die bereit waren an dieser Studie teilzunehmen. Ohne diese freundliche Bereitschaft wäre diese Dissertation nicht möglich gewesen.

Abschließend möchte ich mich bei meinen Eltern und meiner Familie bedanken, die mich nicht nur während der Erstellung dieser Arbeit, sondern auch in jeder anderen Lebenslage stets moralisch sowie finanziell unterstützt hat.