

**Effekte von genetischen Risikofaktoren für
Schizophrenie und Bipolare Störung
auf die kortikale Dicke in gesunden Probanden**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn

Florian Benvenuto Siedek

aus Köln

2015

Angefertigt mit der Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. S. Cichon

2. Gutachter: Prof. Dr. med. H. Boecker

Tag der Mündlichen Prüfung: 23.10.2015

Aus dem Institut für Humangenetik der Universität Bonn

Direktor: Prof. Dr. med. M. M. Nöthen

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	7
1. Einleitung	8
1.1 Genetik der Schizophrenie und der Bipolaren Störung	10
1.2 GWAS (Genomweite Assoziationsstudien)	13
1.3 Die Magnetresonanztomographie	17
1.4 Der Kortex	18
1.5 Ziel der Arbeit	22
2. Material	23
2.1 Probandenkollektiv	24
2.2 Geräte.....	26
2.3 Puffer, Lösungen und Reagenzien.....	28
2.4 Enzyme.....	29
2.5 Reaktionskits	29
2.6 Internet-Datenbanken/Software	30
3. Methoden.....	31
3.1 NHGRI GWAS-Katalog.....	31
3.2 Kraniales MRT	33
3.3 Grundlegende labortechnische Methoden	35
3.4 SNP-Genotypisierung.....	37

3.5 Sequenzierung	39
3.6 Freesurfer-Arbeitsablauf.....	41
4. Ergebnisse	47
4.1 Genotypisierung	47
4.2 Freesurfer-Auswertung.....	52
5. Diskussion	65
5.1 Einordnung in die Literatur	65
5.2 Bewertung der Methoden	80
5.3 Ergebnisdiskussion.....	82
6. Zusammenfassung.....	89
7. Anhang	91
8. Literaturverzeichnis	97
9. Danksagung.....	116
10. Lebenslauf.....	117

Abkürzungsverzeichnis

BD	Bipolar disorder (Bipolare Störung)
Bp	Basenpaare
CWP	Cluster wise probability
CT	Cortical Thickness (Kortikale Dicke)
DLPFC	Dorsolateraler Präfrontaler Kortex
DSM	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
GLM	General Linear Model
GM	Gray matter (graue Substanz)
GWAS	Genome-wide association study (Genomweite Assoziationsstudie)
Hap Map	Haplotype Map
LD	Linkage Disequilibrium
LH	Linke Hemisphäre
MAF	Minore Allelfrequenz (Minor Allele Frequency)
NHGRI	National Human Genome Research Institute (National Institute of Health)
NonRAC	Non Risk-allele carriers (Nicht-Risikoallelträger)
OD	optische Dichte
OE	Illumina [®] HumanOmni Express BeadChip
O1S	Illumina [®] HumanOmni1S BeadChip
RAC	Risk-allele carriers (Risikoallelträger)
RH	Rechte Hemisphäre
ROI	Region of interest
SCZ	Schizophrenie
SD	Standard Deviation (Standardabweichung)
SNP	Single Nucleotide Polymorphism (Einzelnukleotid-Polymorphismus)
VBM	Voxel-based morphometry (Voxel-basierte Volumetrie)
WM	White matter (weiße Substanz)

1. Einleitung

Seit dem Abschluss des Human Genome Projects im Jahre 2003, welches sich dreizehn Jahre lang die Identifizierung aller ca. 20.000-25.000 Gene der menschlichen DNA und die Determinierung der Sequenz der ca. 3,3 Milliarden Basenpaare zur Aufgabe machte, kommt es durch die zunehmende Analyse der erhaltenen Informationen zu enormen Fortschritten in der genetischen Forschung. Dies liegt daran, dass die Entstehung der meisten Krankheiten zumindest teilweise genetisch bedingt ist. Vor allem die interindividuellen Sequenzunterschiede, die als „Genetische Variabilität“ bezeichnet werden, sind für phänotypische Unterschiede zwischen den Menschen verantwortlich und ziehen deshalb das Interesse des Forschungsgebiets auf sich. Dabei wirkt sich die genetische Variation nicht nur auf offensichtliche, von außen erkennbare, physiologische Merkmale wie Körpergröße, Augenfarbe, Hautfarbe oder Haarfarbe aus, sondern auch auf pathologische Merkmale, die z. B. die Veranlagung für eine Erkrankung darstellen.

Um diese interindividuelle genetische Variation, die bei Menschen nur etwa 0,1 % ihrer DNA ausmacht, genauer zu untersuchen, wurde das sogenannte HapMap-Projekt im Jahre 2002 ins Leben gerufen. Hierbei handelt es sich um die Zusammenarbeit internationaler Forschungsgruppen, u. a. aus den USA, Großbritannien, Japan, Kanada und China, welche die Kartographierung der Haplotypen des menschlichen Genoms vorantreiben und dadurch zukünftig die Identifikation der für bestimmte Krankheitsbilder verantwortlichen Gene ermöglichen soll. Die Variabilität des Genoms wird neben genetischen Markern wie Restriktionsfragment-Längenpolymorphismen (RFLPs), Mini-satelliten (Variable Number of Tandem Repeats, VNTRs) und Mikrosatelliten (Short Tandem Repeats, STR) insbesondere durch die häufigsten Marker, nämlich eine Base betreffende DNA-Sequenz-Unterschiede, sogenannte Einzelnukleotid-Polymorphismen (single nucleotide polymorphisms = SNPs) hervorgerufen. Genauer handelt es sich dabei um diallelische Marker, die durch Fehler bei der Replikation entstanden sind. Man geht von ca. 11 Millionen SNPs (Sachidanandam et al., 2001) mit einer minoren Allelfrequenz (MAF) von mindestens 1 % aus. Ein Vorteil der SNPs als genetische Marker ist, dass sie neben ihrem häufigen Auftreten gleichmäßig über das Genom verteilt sind. Auf den Autosomen findet sich im Durchschnitt ein SNP auf 1.331 Basenpaaren (bp), dabei gibt es allerdings Bereiche mit höherer und geringerer Variabilität (Sachidanandam et al., 2001).

Im Rahmen des HapMap-Projekts wurden dabei SNPs mit einer MAF $\geq 5\%$ untersucht. Seine Ergebnisse wurden im Jahre 2005 publiziert (The International HapMap Consortium, 2005). Das HapMap-Projekt entwickelte einen Katalog, der das menschliche Genom in Haplotypblöcke organisiert; ein Haplotyp stellt dabei die Kombination von Allelen dar, die auf dem gleichen Chromosom liegen. Innerhalb der beschriebenen Haplotypblöcke ist dabei das sogenannte Kopplungsungleichgewicht (LD, linkage disequilibrium), bei dem es sich um das überzufällig häufige gemeinsame Auftreten von Allelen im Bereich eines bestimmten Locus handelt, hoch, die genetische Variabilität innerhalb dieser Blöcke somit niedrig. Mit der Kenntnis relativ weniger Marker innerhalb eines Haplotypblocks können viele der umgebenden SNPs durch diese beschrieben werden. Somit kann eine Aussage über mehr SNPs getroffen werden als primär untersucht wurden, was den notwendigen Genotypisierungsaufwand deutlich reduziert.

Ein weiteres Projekt zur Erfassung genetischer Varianten stellt das 1.000 Genomes-Projekt dar, welches mit der Sequenzierung des gesamten Genoms auch seltenere SNPs, sogenannte „rare-variants“ mit einer MAF $\geq 1\%$ erkennen soll (Abecasis et al., 2010).

Grundsätzlich müssen Erkrankungen, die monogen vererbt werden, unterschieden werden von Erkrankungen, deren erbliche Disposition von mehreren Genen bestimmt wird. Bei monogen vererbten Erkrankungen wurden schon in den 1990er Jahren mit Hilfe von Kopplungsuntersuchungen große Fortschritte gemacht bei der Kartierung der verantwortlichen Gene (Jimenez-Sanchez et al., 2001). Dabei spielt die Vererbung innerhalb von Familien eine große Rolle. Durch Untersuchung genetischer Marker kann die chromosomale Lage, in der sich das krankheitsverursachende Gen befindet, zunehmend genauer definiert werden (mittels Kopplungsuntersuchung). Endgültig wird durch Registrierung der Mutation das gesuchte Gen identifiziert.

Die meisten der in der Bevölkerung häufigen Erkrankungen wie Arterielle Hypertonie, Diabetes Mellitus, Gefäßerkrankungen, aber auch neurologische Krankheiten, werden jedoch durch die Wechselwirkung mehrerer geschädigter Gene hervorgerufen, da auch der Phänotyp von einer ungeheuren Komplexität geprägt ist. Hier ist die Suche nach verantwortlichen Genveränderungen wesentlich schwieriger. Zur Erkennung entsprechender Suszeptibilitätsgene bei komplexen Erkrankungen gelten Assoziationsstudien als

geeigneter (Risch und Merikangas, 1996), die mittlerweile von technischer und finanzieller Seite auch genomweit machbar sind.

Zusätzlich führt aber nicht nur die Wechselwirkung unter den entsprechenden Genen zu der Manifestation der Erkrankung, sondern häufig auch die zwischen den Genen und Umweltfaktoren, die somit im Rahmen einer multifaktoriellen Vererbung ebenfalls eine entscheidende und oft unterschätzte Rolle in der Pathologie spielen. Somit stellt sich, wie bereits beschrieben, die Erfassung und Bedeutung von genetischen Ursachen bei polygenetisch bedingten Erkrankungen als deutlich schwieriger dar.

Im Rahmen dieser Dissertation werden die beiden häufigsten psychotischen Erkrankungen untersucht: die Schizophrenie und die Bipolare Störung. Der Fokus liegt hierbei auf häufigen genetischen Varianten mit einer MAF $\geq 10\%$. Somit werden Polymorphismen, also Genvarianten mit einer Auftretenshäufigkeit (Allelfrequenz) von über 10% innerhalb einer Population, die einen deutlich unterscheidbaren Phänotyp hervorrufen, untersucht. Bei Mutationen dagegen handelt es sich um eine dauerhafte Veränderung des Erbgutes, die nicht gezwungenermaßen eine Abweichung des Phänotyps hervorrufen muss und weniger als 1% der Population betrifft.

1.1 Genetik der Schizophrenie und der Bipolaren Störung

Die Schizophrenie stellt eine der häufigsten Diagnosen der Psychiatrie dar mit Störungen des Denkens, der Wahrnehmung und der Affektivität. Man unterscheidet Positivsymptome (Übersteigerungen des normalen Erlebens bis zu unterschiedlichen Formen von manifesten chronischen Halluzinationen) und Negativsymptome (Einschränkungen des normalen Erlebens mit zunehmendem Verlust früher vorhandener Persönlichkeitsmerkmale des Patienten). Hierbei kann es z. B. zu Antriebsarmut, Affektverflachung, Alogie und verminderter Psychomotorik kommen. Mit einer Lebenszeitprävalenz von 1% ist die Schizophrenie eine verbreitete Krankheit mit gleicher Inzidenz bei beiden Geschlechtern.

Bei der Bipolaren Störung handelt es sich ebenfalls um eine häufige Erkrankung, von der, unter Berücksichtigung auch leichterer Fälle, bis zu 3-4% der Bevölkerung in den Industrieländern im Laufe ihres Lebens betroffen sein werden. Sie gehört zu den Affektstörungen und ist gekennzeichnet durch episodische, willentlich nicht kontrol-

liebte und unterschiedliche, teils extreme Auslenkungen des Antriebs, der Aktivität und der Stimmung, die zwischen Depression und Manie schwanken können. Die Depression kann über eine stark niedergedrückte Stimmung, Schlafstörungen und Antriebslosigkeit bis zur Suizidalität verlaufen, wobei die Manie mit weit überhöhter Aktivität, unangemessen gehobener oder gereizter Stimmung, geringem Schlafbedürfnis und Unruhe bis zum Größenwahn ein gegensätzliches Symptom darstellt. Der episodische Verlauf mit zwischenzeitlicher Normalisierung der psychischen Auffälligkeiten und das große Spektrum von Schweregraden erschwert die Diagnose, so dass wahrscheinlich nur ein geringer Teil aller bipolar Erkrankten derzeit korrekt diagnostiziert wird (Severus et al., 2005).

Beide beschriebenen psychiatrischen Krankheitsbilder gehören nach Einteilung der World Health Organization zu den Top10 der „global burden of disease for the 15-to-44 age group“ (Nöthen et al., 2010). Obwohl für die Schizophrenie eine Erbllichkeit zwischen 70 % und 90 % (Sullivan et al., 2003) und für die Bipolare Störung von 60 % bis 80 % (Craddock und Forty, 2006) angenommen wird, gilt die Pathophysiologie und Ätiologie aufgrund der noch nicht vollständig verstandenen Komplexität als weiterhin ungeklärt.

Im Rahmen sogenannter Assoziationsuntersuchungen (engl.: genome-wide association studies - GWAS) werden jedoch seit dem Jahr 2006 zunehmend genetische Risikofaktoren für Schizophrenie und Bipolare Störung identifiziert. Dies wird erst seit wenigen Jahren durch Fortschritte in der Entwicklung von Genotypisierungstechnologien, die mittels DNA-Chips das ganze Genom systematisch auf Hunderttausende von häufigen genetischen Varianten pro Individuum untersuchen können, erleichtert. Die Erfassung neuer genomweit signifikanter SNPs ist dabei sehr von der Anzahl der untersuchten Proben und der Anzahl der untersuchten SNPs abhängig. Im Rahmen solcher GWAS-Untersuchungen (siehe Kap. 1.2) finden sich zunehmend Hinweise, dass sich einzelne Elemente des genetischen Musters der Pathologie der Schizophrenie und der Bipolaren Störung ähneln (Fischer und Carpenter, 2009). Diese Annahme beruht darauf, dass eine Co-Aggregation beider Erkrankungen in Familien (Lichtenstein et al., 2009; Van Snellenberg und De Candia, 2009) und die Assoziation bestimmter „Risiko“-Gene mit beiden Erkrankungen (International Schizophrenia Consortium et al., 2009; Moskvina et

al., 2009) nachgewiesen werden konnte. Zusätzlich gibt es Belege dafür, dass im Rahmen der funktionellen Anatomie beider Erkrankungen ein Überlappen der neuralen Systeme mit entsprechenden Dysfunktionen möglich ist (Ellison-Wright und Bullmore, 2010). Bei der Bipolaren Störung wird von einer Dysfunktion im Bereich des präfrontalen-subkortikalen Netzwerkes in Interaktion mit dem limbischen System (Strakowski et al., 2005), bei der Schizophrenie von einer Dysfunktion im limbischen und frontalen-temporalen-subkortikalen Netzwerk (Assaf et al., 2006; Buchanan et al., 2004; Goghari et al., 2009; Noga et al., 1995; Shenton et al., 1992; Spence et al., 1997) ausgegangen. Funktionsstörungen in diesen Netzwerken gehen möglicherweise mit Strukturveränderungen der beteiligten Hirnabschnitte einher (Bassett und Bullmore, 2009; Horn et al., 2009; Hugdahl et al., 2009). Solche Strukturveränderungen lassen sich teilweise mittels moderner Schnittbildgebung und Auswertungssoftware beurteilen, einschätzen und unter Probanden vergleichen.

Besonders die Kombination der genetischen Forschung und Neurobildgebung gewinnt zum Verständnis der Auswirkung der genetischen Variation auf die neurologische Morphologie zunehmendes Interesse. Neben Strukturveränderungen können auch funktionelle Parameter, wie z. B. die Konnektivität, die Aufschluss über mögliche Verbindungsstörungen zwischen aufeinander angewiesenen Hirnregionen ermöglicht, erfasst werden. Dieser Ansatz des sogenannten Genomic Imaging wurde bereits häufig zur Analyse von genetischen Varianten, meist SNPs (single nucleotide polymorphisms) von mit neurologischen Erkrankungen assoziierten Genen, und deren Effekt auf die Struktur und/oder Funktion bestimmter Hirnabschnitte angewendet. Zahlreiche verschiedene cerebrale Phänotypen zeigen sich beeinflusst im Rahmen des individuellen genetischen Hintergrundes (Lencz et al., 2010). Das ENIGMA (Enhancing NeuroImaging Genetics through Meta-Analysis) Konsortium, ein kollaboratives Netzwerk von Wissenschaftlern, führt eine Meta-Analyse mit Hilfe von 70 Institutionen durch, mit dem Ziel neuroanatomische Effekte in Abhängigkeit von genetischen Varianten zu finden, die eine einzelne Institution aufgrund zu geringer Probandenzahlen nicht leisten kann (Thompson et al., 2014). Es ergibt sich dadurch ein großes Kollektiv in Zusammenarbeit mit dem CHARGE (Cohorts for heart and aging research in genomic epidemiology) Konsortium mit MRT-Datensätzen von insgesamt 24.997 Probanden. Bis jetzt wird u. a. das Hippocampus-Volumen, das intrakranielle Volumen, subkortikale Volumina (ENIGMA 2) und

die Mikrostruktur der weißen Substanz (ENIGMA-DTI) untersucht. Dabei zeigen erste Ergebnisse, dass trotz genomweiter Signifikanz der für SCZ und BD signifikanten SNPs sich nur geringe anatomische Charakteristika finden lassen.

Die in den letzten Jahren zunehmende Bedeutung des Genomic Imaging und die sich immer weiter verbessernde Technik ermöglicht ein zunehmendes Verständnis von molekularen Mechanismen bei multifaktoriellen Erkrankungen. In naher Zukunft dürfte wahrscheinlich das Genomic Imaging in der Lage sein, die individuelle Vulnerabilität gegenüber psychiatrischen Erkrankungen zu erfassen und als Konsequenz die Therapie individuell anzupassen.

1.2 GWAS (Genomweite Assoziationsstudien)

Genomweite Assoziationsstudien sind epidemiologische Untersuchungen der genetischen Variation des menschlichen Genoms. Dabei wird eine Assoziation zwischen bestimmten Phänotypen und bestimmten Haplotypen (bzw. Allelen) gesucht. Es werden Allele identifiziert, die gehäuft mit bestimmten Phänotypen einer Krankheit einhergehen. Von definierten SNPs, die in einem Gen liegen, wird auf die Relevanz eines Gens im Hinblick auf eine Erkrankung geschlossen. GWAS haben meist ein „case-control“-Design, man vergleicht also zwei Gruppen, eine davon mit Ausprägung bestimmter Merkmale einer Erkrankung und eine Kontrollgruppe, die keine entsprechenden Merkmale aufweist und familiär unbelastet ist.

Aus Vollblut wird die darin enthaltene DNA isoliert und mittels unterschiedlicher Techniken sequenziert. Anhand der Ausprägung von SNPs können bei vermehrtem Auftreten eines bestimmten Markers in der Gruppe mit vorhandenem Phänotyp Assoziationen festgestellt werden (Manolio, 2010). Dabei befinden sich diese assoziierten SNPs überraschenderweise häufig nicht im Bereich Protein-codierender Genregionen, sondern in nicht-kodierenden Regionen zwischen zwei Genen oder im Bereich von Introns, deren genetische Information im Rahmen der posttranskriptionalen Modifikation der Proteinbiosynthese beim Spleißen der prä-mRNA verloren geht. Die Information über die Assoziation eines Markers bzw. SNPs mit einem Phänotyp belegt zwar eine Korrelation, kann aber noch keinen statistisch signifikanten kausalen Zusammenhang zwischen der genetischen Variante und einer Erkrankung herstellen. Das gilt insbesondere dann nicht, wenn nicht die kausale Variante sondern nur eine zu dieser in

hohem LD stehende Variante mit einem bestimmten Merkmal assoziiert gefunden wurde. Die weitere Feststellung und Beurteilung eines realen Zusammenhangs zwischen einem Marker eines bestimmten Gens und einer Erkrankung kann nur mittels molekularbiologischer und biochemischer Methoden erforscht werden (Begum et al., 2012).

Hunderte von GWAS wurden bereits durchgeführt. Die Assoziation von multifaktoriellen Erkrankungen mit bestimmten genetischen Varianten versprechen neue Informationen über diese Gesundheitsstörungen. Die stark steigende Anzahl an GWAS in den letzten Jahren und das immer größere Probandenspektrum beruht sicherlich auf der verbesserten Kosten- und Zeiteffizienz technischer Möglichkeiten der genomweiten Genotypisierung. Trotz der Fortschritte in der Chip-basierten Genotypisierung sind die Kosten weiterhin der limitierende Faktor bei groß angelegten Studien wie GWAS.

Eine große Probenanzahl ist jedoch essentiell: Für die vielen getesteten Varianten pro Probe muss bei der statistischen Auswertung ein hohes Signifikanzlevel gelten, meist $p = 5 \times 10^{-8}$, um die Belastung durch multiples Testen zu reduzieren und somit falsch positive Befunde zu vermeiden. Um genomweite Signifikanz mit entsprechend niedrigen p-Werten zu erreichen, ist das Zusammenfügen großer Datensätze von sowohl „cases“ als auch „controls“ von Nöten.

In Zukunft wird am ehesten eine neue Technologie die beschriebenen SNP-arrays ablösen, nämlich das „Next-generation sequencing“. Diese erbringt durch eine vollständige Sequenzierung des gesamten individuellen Genoms nicht nur die Informationen, die man auch mit einem SNP-array erhalten würde, sondern erreicht dabei eine höhere Auflösung und höhere Genauigkeit. Im Rahmen des unausweichlichen technischen Fortschritts wird auch diese Technologie günstiger und schneller und sich damit rasch durchsetzen.

1.2.1 SNP-Genotypisierung mittels DNA-Microarrays

Bei der bereits großen Anzahl bekannter Varianten (SNPs) des menschlichen Genoms, z.Zt. ca. 10 Millionen, ist eine Technologie von Vorteil, die einen möglichst großen Anteil der Ausprägungen der SNPs registriert, zudem jedoch auch schnell und kostengünstig ist. Möglich ist dies mit sogenannten Microarrays, die mit Hilfe von trägerbasierten Systemen (Arrays) tausende von Polymorphismen gleichzeitig auswerten können (Marx-Stölting, 2007). Aufgrund zunehmender Optimierung und Automatisierung steigt die

Effizienz dieser Technologie mit jeder weiteren Evolutionsstufe, sie wird deshalb auch als „Hochdurchsatztechnologie“ bezeichnet. Auf dem Träger befinden sich kurze bekannte DNA-Sequenzen, die bei der Herstellung der Chips mit Hilfe eines photolithographischen Verfahrens mit einer lichtaktivierten Oligonucleotidsynthese in einem geordneten Raster auf dem planaren Träger aufgebracht werden. Dies ermöglicht die Hybridisierung sequenzierter DNA an die auf dem Chip befindlichen spezifischen einzelsträngigen Oligonucleotide nur bei vollständiger Komplementarität, vergleichbar mit einem Schlüssel-Schloss-Prinzip (Ganten und Ruckpaul, 2003).

Für eine erfolgreiche Hybridisierung der zu untersuchenden DNA und Registrierung der entsprechenden Bindungen ist eine genaue Einhaltung des durchzuführenden Protokolls der Hersteller, die sogenannte Prozessierung, entscheidend, da schon kleine Abweichungen zu einem Fehlergebnis führen können. Vereinfacht dargestellt wird zunächst die zu untersuchende DNA der Probanden extrahiert, gereinigt, mittels PCR vervielfältigt, fluoreszenzmarkiert und anschließend mit der DNA auf dem Träger hybridisiert. Mehrere darauffolgende Waschschriffe entfernen verbleibende Fluoreszenz. Schlussendlich wird für jeden mit dem Microarray zu erfassenden SNP eine genaue Ausprägung ermittelt. Dies wird erreicht, indem ein Laser die entsprechende Fluoreszenz an einer für einen gewissen SNP spezifischen Lokalisation registriert.

Zwei amerikanische Hersteller sind führend in der Herstellung und Vermarktung ihrer SNP-Array-Systeme: Affymetrix[®] aus Santa Clara in Kalifornien, und Illumina[®] aus San Diego in Kalifornien. Auch wenn die Prozessierung der zu untersuchenden DNA für die SNP-arrays beider Hersteller unterschiedlicher Chemikalien und Vorgängen bedarf, basieren beide Systeme auf dem bereits beschriebenen Prinzip der komplementären Basenpaarung mit Hybridisierung von fragmentierter Einzelstrang-DNA an die hunderttausenden auf den Chips befindlichen einzigartigen Nukleotidstränge. Die entscheidende Größe für ein entsprechendes Signal stellt dabei die Affinität zwischen zu untersuchender Probe und den bekannten Oligonukleotiden auf den Chips dar. Beide Hersteller geben eine Genauigkeit von über 99,5 % an (LaFramboise, 2009). Im Jahre 2012 ermöglichten die neuesten genomweiten SNP-arrays bei Affymetrix[®] ca. 906.600 SNPs und mehr als 946.000 CNVs (Genome-Wide Human SNP Array 6.0; Affymetrix[®], Santa Clara, CA) und bei Illumina[®] ca. 4,5 Millionen SNPs (Human Omni5 Exome; Illumina[®] Inc., San Diego, CA). Die rasante Weiterentwicklung von Chips mit stetigem Anstieg der

Anzahl nachweisbarer Varianten wurde neben der notwendigen technischen Entwicklung auch von der Zunahme an Studien mit dem Ziel, immer mehr Assoziationen zwischen genomischen Varianten und Erbkrankheiten zu finden, gefördert (LaFramboise, 2009). Obwohl heutige SNP-arrays trotz des enormen Fortschritts weiterhin nur einen geringen Anteil aller bekannten SNPs erfassen können, ist es mittlerweile dennoch möglich, eine Aussage über eine größere Anzahl an SNPs zu machen. Dies ermöglicht das „linkage disequilibrium (LD)“. Zwei SNPs, die in einem hohen LD zueinander stehen, können als Proxies füreinander wirken. Das bedeutet, dass bei einer hohen Korrelation, optimalerweise $r^2=1$, der beiden SNPs miteinander, die Genotypisierung eines der beiden SNPs ausreicht, um eine Aussage über den Genotyp des anderen machen zu können. Somit kann bei einer chipbasierten Genotypisierung von ca. 1 Million SNPs eine größere Aussage über die genetische Variabilität gemacht werden als reine Informationen mittels Array geliefert werden können. Beide Hersteller wählen demnach bevorzugt SNPs aus, die im LD mit zahlreichen Varianten stehen und somit neben den eigentlich erworbenen Informationen ebenfalls Aussagen über die Genotypen ihrer zahlreichen Proxies machen können.

Das Auffinden sogenannter Haplotypblöcke, in denen schon wenig genetische Varianten eine Aussage über einen Großteil der in diesen Blöcken befindlichen Varianten machen können, wurde vom Internationalen HapMap Consortium im Rahmen des HapMap-Projekts (Haplotype Map-Projekts), wie bereits beschrieben, vorangetrieben. Im Jahre 2005 wurden in der ersten Version (phase I) über 1 Millionen SNPs und über 3,1 Millionen SNPs in der zweiten Version (phase II) von 269 Individuen unterschiedlicher Herkunft in einer Karte der Haplotyp-Blockstruktur zusammengefasst (The International HapMap Consortium, 2005; The International HapMap Consortium, 2007). In der dritten Phase (phase III) wurden zusätzlich 1,6 Millionen SNPs von 1.184 Individuen aus 11 Bevölkerungsgruppen und zehn 100-Kilobasen Regionen in 692 dieser Individuen untersucht (The International HapMap 3 Consortium, 2010). Durch dieses Projekt ist es möglich geworden, den Genotypisierungsaufwand, v. a. von SNPs mit einer höheren Allelfrequenz und Lage in einem Haplotypblock, deutlich zu vermindern.

Zusammenfassend kann man sagen, dass aufgrund der zunehmenden Kosten- und Zeiteffizienz, die Zunahme der zu untersuchenden Varianten und der Verbesserung der Auswertbarkeit der entstehenden Datensätze im Rahmen von Microarray-basierten

Genotypisierungen zukünftig weite Bereiche der Diagnostik und Prognostik auf molekularer Basis erfolgen werden. Die somit erfassten individuellen Unterschiede nicht nur der klinischen Symptome der Erkrankung, sondern auch der bekannten molekularen Regelsysteme, ermöglichen bei jedem Patienten eine individuelle Diagnostik und somit auch individuelle Therapie durch u. a. auf jeden Patienten besser abgestimmte medikamentöse Therapie und perfektioniertes Nebenwirkungsmanagement im Rahmen der Pharmakogenetik.

1.3 Die Magnetresonanztomographie

Die Magnetresonanztomographie ohne Invasivität und ohne Strahlenbelastung stellt dabei eine sinnvolle Möglichkeit dar, anatomische und funktionelle Charakteristika an Probanden zu untersuchen, ohne diese zu gefährden. Das Prinzip der Magnetresonanztomographie beruht auf magnetischer Kernresonanz. Bereits 1946 wurde von F. Bloch und G.M. Purcell das Phänomen der Kernspinresonanz unabhängig voneinander entdeckt und zunächst nur für physikalisch-chemische Untersuchungen angewandt (Mansfield und Morris, 1982). Die Verwendung der MRT als bildgebende Methode wurde erst durch die grundlegenden Ideen von P. Lauterbur möglich (Lauterbur, 1973), wofür dieser zusammen mit Sir P. Mansfield im Jahre 2003 den Nobelpreis für Medizin erhielt. Seitdem hat diese Technik einen großen Fortschritt in der medizinischen Bildgebung gebracht mit weiterem Innovationspotential. Die Vorteile bestehen u. a. darin, dass keine ionisierende Strahlung verwendet wird, multiplanare Schichten möglich sind und morphologische, metabolische und funktionelle Informationen erfasst werden können. Ihr hoher Weichteilkontrast ermöglicht hierbei v. a. in der cMRT (kranialen MRT) die Erstellung von aussagekräftigen dreidimensionalen „Karten“ des Hirnparenchyms. Ein Kernresonanzsignal kann dann registriert werden, wenn der zu untersuchende Körper in einem statischen Magnetfeld elektromagnetischen Hochfrequenzfeldern ausgesetzt wird. Zusätzliche Gradientenfelder sind notwendig für Bildinformationen wie z. B. die Lokalisation eines Signals. Diese Technik kann man sich auch zu Nutze machen, um die Kortikalis bzw. Hirnrinde vom Marklager anhand ihrer unterschiedlichen Zellzusammensetzung zu differenzieren. Dies ermöglicht die Erkennung der Markrindengrenze, welche wiederum eine wichtige Voraussetzung für die Bestimmung der kortikalen Dicke darstellt.

1.4 Der Kortex

Der zerebrale Kortex bzw. die Großhirnrinde stellt eine stark gefaltete Schicht des Großhirns dar. Histologisch lässt sich der zerebrale Kortex in sechs horizontale Schichten einteilen, welche durch bestimmte Zelltypen definiert sind. Zu den Neuronen des Kortex gehören die Pyramidenzellen, welche als efferente Zellen mit Glutamat als Transmitter fungieren, die Körnerzellen (bzw. modifizierte Pyramidenzellen), welche als afferente ebenfalls glutamaterge Zellen v. a. Informationen aus dem Thalamus erhalten, und Interneurone, die zwischen diesen beiden Zellen kommunizieren. Neben den Neuronen findet man im Kortex zahlreiche Gliazellen unterschiedlicher Art, welche die Bindesubstanz zwischen den Neuronen mit verschiedenen Aufgaben darstellen: Die Oligodendrocyten bilden die Myelinscheiden, welche mit ihrer lipidreichen Biomembran die Axone umgeben und durch ihre elektrische Isolation die saltatorische Erregungsleitung ermöglichen. Astrozyten stützen das Gewebe und bilden die Blut-, die Hirn- und die Blut-Liquor-Schranke mit Ernährung der umgebenden Neurone. Die Mikroglia gilt als Teil des Immunsystems. Die interzelluläre Matrix ist dabei sehr gering, der Spalt zwischen Nerven- und Gliazellen ist dabei nur zwischen 10 bis 50 nm breit.

Der Kortex kann in fünf bis sechs Lappen (Lobi) eingeteilt werden, die durch tiefe Spalten (Fissurae) voneinander getrennt sind. Die von Alexander Ecker vorgeschlagene Terminologie der Hirnlappen und -windungen besteht seit 1869 unverändert und hat weiterhin Gültigkeit (Ecker, 1869).

Der Kortex besteht aus:

- Frontallappen oder Stirnlappen (Lobus frontalis)
- Parietallappen oder Scheitellappen (Lobus parietalis)
- Occipitallappen oder Hinterhauptslappen (Lobus occipitalis)
- Temporallappen oder Schläfenlappen (Lobus temporalis)
- Insellappen (Lobus insularis)
- Zusammenfassung älterer Teile des Kortex zum Limbischen Lappen (Lobus limbicus)

Diese Einteilung ist nicht nur morphologisch, sondern auch im Rahmen einer funktionellen Unterscheidung sinnvoll, da die unterschiedlichen Lobi spezielle Aufgaben

übernehmen im Hinblick auf Körperfunktionen wie Motorik, Handlungsplanung und Handlungsinitiierung, Sensibilität, Sehen und Hören, Gedächtnis, Emotionen und weitere (Creutzfeldt, 1983). Theodore Brown Rasmussen und sein Vorgänger Wilder Penfield als Direktor des Montreal Neurological Institutes beschrieben den berühmten Homunculus, der den somatosensorischen und motorischen Kortex repräsentiert, und publizierten dies 1950 in ihrem Buch „The Cerebral Cortex of Man. A Clinical Study of Localization of Function.“ (Penfield und Rasmussen, 1950).

1.4.1 Kortikale Dicke (Cortical Thickness)

Wie bereits angesprochen gibt es multiple durch genetische Varianz beeinflusste Endophänotypen, wobei man v. a. zwischen strukturellen und funktionellen unterscheidet. Eine der vielen strukturellen Größen ist die kortikale Dicke. Die kortikale Dicke ist ein vererbliches und quantitatives Merkmal der kortikalen Struktur, welches zusammen mit der kortikalen Fläche das kortikale Volumen beeinflusst. Dabei kann man davon ausgehen, dass die kortikale Dicke anderen genetischen Einflüssen als die kortikale Fläche ausgesetzt ist (Winkler et al., 2010).

Die kortikale Dicke stellt einen Parameter für die Architektur der Neuronen und der Glia in der grauen Substanz dar. Sie beträgt im Durchschnitt 2,5 mm, variiert jedoch zwischen 1 und 4,5 mm in unterschiedlichen Hirnregionen (Fischl und Dale, 2000). Es besteht eine große Variabilität zwischen sowohl erkrankten als auch gesunden Individuen. Der Kortex ist insofern für wissenschaftliche Untersuchungen interessant, als dass er sich zunächst anhand genetischer Grundlagen entwickelt, daraufhin den normalen Altersprozess durchläuft und sich im Rahmen von u. a. neurodegenerativen Erkrankungen verändert (Clarkson et al., 2011). Die Heritabilität ist dabei je nach anatomischer Region des Kortex unterschiedlich (Winkler et al., 2010), exemplarisch stellt sich die Heritabilität postzentral als besonders groß dar. In den letzten Jahren gab es zunehmend Beweise für ähnliche Veränderungen der kortikalen Dicke bei an Schizophrenie- und Bipolarer Störung-Erkrankten bzw. Risikoallelträgern von mit diesen Erkrankungen assoziierten SNPs (Rimol et al., 2010b), was wiederum auf einen ähnlichen Pathomechanismus hinweist (Fischer und Carpenter, 2009). Neben Schizophrenie und Bipolarer Störung wurden bereits weitere neurologische Erkrankungen, wie z. B. Morbus Alzheimer (Gutiérrez-Galve et al., 2009; Knight et al., 2009; Lerch et al., 2005), Multiple Sklerose

(Sailer et al., 2003) oder Chorea Huntington (Rosas et al., 2008) mit einer Veränderung der kortikalen Dicke in Verbindung gebracht.

1.4.2 Messung der kortikalen Dicke

Im Wesentlichen gibt es zwei unterschiedliche automatisierte Methoden zur Bestimmung der kortikalen Dicke anhand eines MRT-Datensatzes, die Oberflächen-basierte und die Voxel-basierte Methode. Zur Veranschaulichung siehe Abbildung 1 (Winkler et al., 2010).

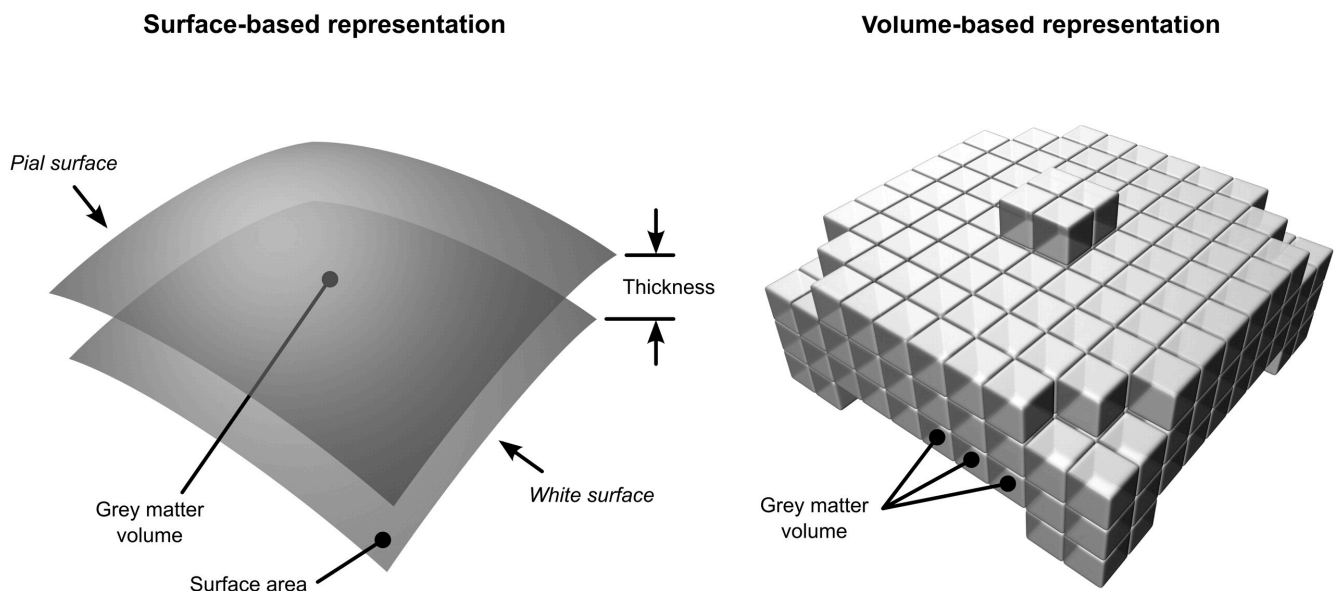


Abb. 1: Hierbei wird die technische Vorgehensweise zwischen der Oberflächen-basierten (surface-based) und der Voxel-basierten (volume-based) Methode verglichen (modifiziert nach Winkler et al., 2010).

Im Vergleich zu einer manuellen Messung der kortikalen Dicke hat eine automatisierte Erfassung wesentliche Vorteile: Sie ist deutlich weniger arbeits- und zeitintensiv und es ist kein erfahrener Neuroanatom zur Auswertung notwendig, somit können viel mehr Daten in kürzerer Zeit verarbeitet werden. Zusätzlich erschwert die teils komplexe Faltung der Hirnoberfläche eine genaue Messung, was in entsprechenden Messfehlern resultieren kann (Fischl und Dale, 2000). Die kortikale Anatomie mit ihrer aus zweidimensionalen Gewebeebenen bestehenden welligen Oberflächenstruktur kann gut durch die Oberflächen-basierte Methode repräsentiert bzw. visualisiert werden. Die Oberflächen-basierte Methode erstellt nach einer initialen Segmentierung der grauen und

weißen Substanz und der liquorhaltigen Räume anhand Lokalisation und Signalintensität im Originaldatensatz ein Dreiecksnetz (siehe Abb. 2), anhand dessen mit einer Genauigkeit unterhalb der Voxelauflösung eine Bestimmung der durch die Pia mater encephali begrenzten Oberfläche und der Grenzfläche zwischen grauer und weißer Substanz ermöglicht wird (Fischl und Dale, 2000). Die Abstände zwischen den Vertices dieser beiden Dreiecksnetze ergeben die kortikale Dicke (siehe Abb. 2 und Abb. 8). Im Gegensatz dazu berechnet die Voxel-basierte Methode die kortikale Dicke in Abhängigkeit der zwischen der pialen Oberfläche und der Grenze zwischen grauer und weißer Substanz befindlichen Voxel. Dazu muss jeder Voxel einer der drei Gewebeklassen (GM, WM, CSF) zugehörig sein und dementsprechend mit Hilfe von automatisierten Registrierungsmethoden eingeteilt werden. Somit ist die Voxel-basierte Methode äußerst abhängig von der Genauigkeit und der Präzision dieser Registrierungsmethoden und des davon genutzten Atlas (Klein et al., 2009).

Sowohl die Oberflächen-basierte als auch die Voxel-basierte Methode ermöglicht die Analyse zwischen kortikalen Regionen innerhalb eines Individuums aber auch interindividuell (van Essen et al., 1998). Dabei gilt die Voxel-basierte Methode im Vergleich zur Oberflächen-basierten Methode zwar als rechnerisch effizient, jedoch nicht so präzise aufgrund der zur Voxelauflösung verminderten Genauigkeit.

Die Oberflächen-basierte Methode wird häufiger als die Voxel-basierte Methode angewandt, am ehesten wegen der hierfür leicht zugänglichen Software, wie z. B. BrainSuite (Shattuck und Leahy, 2001; Shattuck und Leahy, 2002), BrainVISA (Mangin et al., 1995) und Freesurfer (Dale et al., 1999; Fischl et al., 1999; Fischl und Dale, 2000). Von diesen drei Software-Paketen ist Freesurfer das am häufigsten genutzte (Nakamura et al., 2010).

Die Bestimmung der kortikalen Dicke mittels Freesurfer, welche in unserer Studie verwendet wurde, erwies sich als reproduzierbar und konsistent (Clarkson et al., 2011) bei einer hohen Messgenauigkeit mit einer Standardabweichung von unter 0,5 mm (Fischl und Dale, 2000). Aufgrund dessen können auch geringe fokale Abweichungen der kortikalen Dicke im Rahmen einer diskreten Atrophie bzw. Hypertrophie erfasst und in einem interindividuellen Studienprotokoll zum Nachweis geringer durch genetische oder sonstige Ursachen bedingter Veränderungen ausgewertet werden.

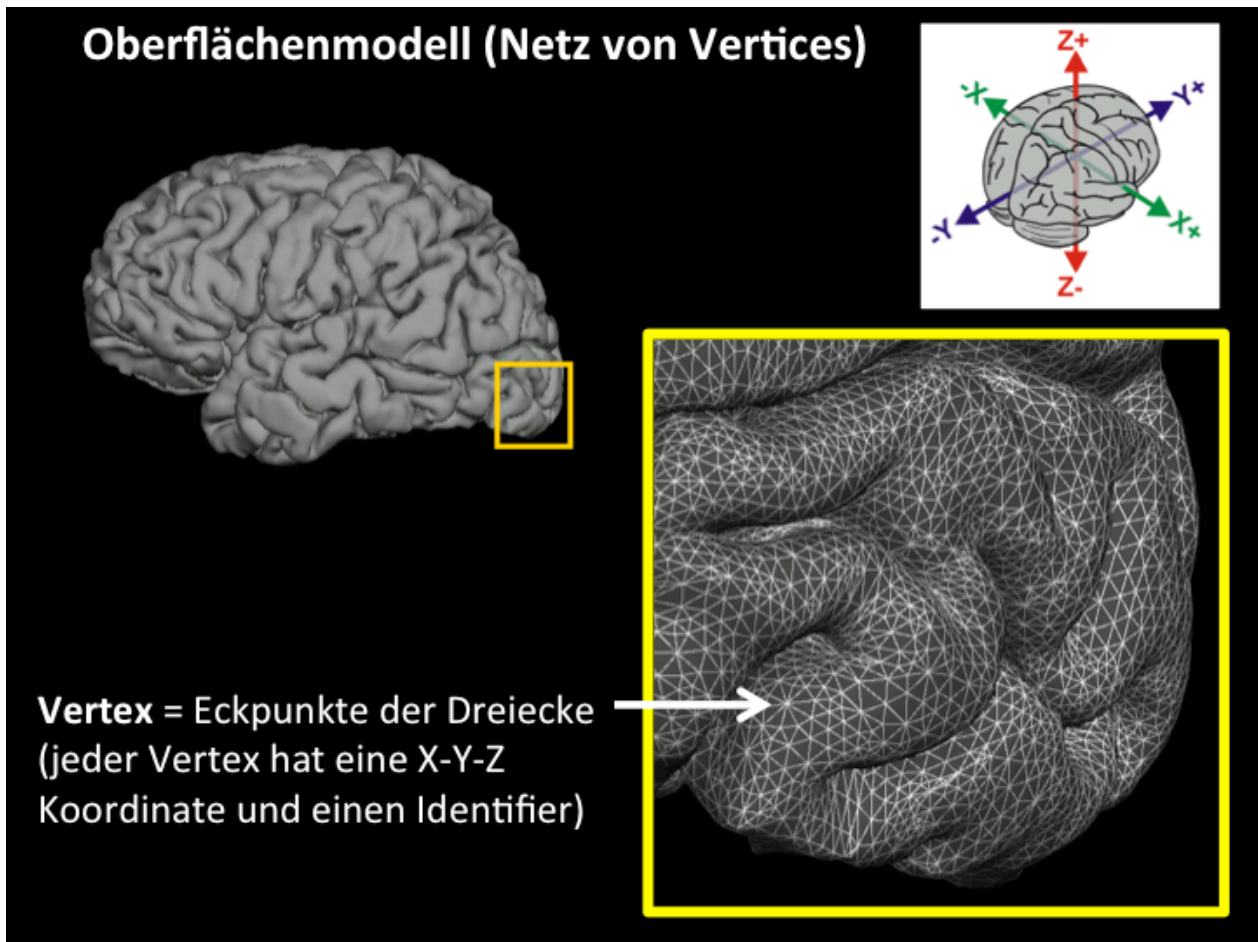


Abb. 2: Oberflächen-basierte Methode zur Berechnung kortikaler Parameter, indem die Oberfläche der Pia mater und der Grenze zwischen der grauen und weißen Substanz mit Hilfe von Dreiecken möglichst genau nachvollzogen wird. Jedes Dreieck wird hierbei durch die drei dazugehörigen Vertices genau im dreidimensionalen Raum identifizierbar (modifiziert nach Athinoula A. Martinos Center for Biomedical Imaging, 2011).

1.5 Ziel der Arbeit

Das Ziel der Arbeit liegt darin, für Schizophrenie und/oder Bipolare Störung genomweit signifikante genetische Varianten (SNPs) bei phänotypisch gesunden Probanden auf einen möglichen Effekt auf den Kortex hin zu untersuchen.

Der Studienablauf wurde folgendermaßen geplant:

1. Mit Hilfe des NHGRI Katalogs (Hindorff et al., 2009; Hindorff et al., 2010) aller publizierten genomweiten Assoziationsstudien (Stand 20.04.2012) werden für

Schizophrenie und/oder Bipolare Störung genomweit signifikante SNPs anhand von speziellen Kriterien extrahiert.

2. Weiter wird von 107 gesunden Probanden sowohl venöses Blut entnommen als auch T1-gewichtete dreidimensionale MRT-Aufnahmen des Gehirns erstellt.
3. Aus dem venösen Blut wird die darin enthaltene DNA extrahiert, und die genomweit signifikanten SNPs mittels zweier unterschiedlicher Illumina[®] Bead-Arrays (Omni Express und Omni1S) genotypisiert. Falls die signifikanten SNPs von beiden Chips nicht erfasst werden bzw. technisch bedingt nicht ausgewertet werden können, werden die Genotypen mit Hilfe von Sanger-Sequenzierung nachgenotypisiert.

Zur gleichen Zeit wird der erworbene MRT-Datensatz mit der Software Freesurfer prozessiert und darauffolgend die kortikale Dicke ermittelt und analysiert.

4. Probanden mit genetischen Unregelmäßigkeiten, Zufallsbefunden in der kranialen MRT oder technischen Problemen im Rahmen der Verarbeitung mittels Freesurfer werden aus den darauffolgenden Schritten der Studie ausgeschlossen.
5. Für alle ausgewählten SNPs erfolgt ein Vergleich der kortikalen Dicke zwischen zwei je nach Genotypkonstellation erstellten Gruppen der verbliebenen Probanden. Entsprechende Ergebnisse werden für multiples Testen korrigiert.
6. Mögliche signifikante Cluster werden je nach Lokalisation anhand des JuBrain-Atlas (Zilles und Amunts, 2010) und zugrundeliegendem SNP beurteilt, in die vorhandene Literatur eingeordnet und entsprechend interpretiert in Bezug auf Schizophrenie und Bipolare Störung. Bei einem Cluster handelt es sich hierbei um einen zusammenhängenden Anteil der kortikalen Fläche, die durch ihre gemeinsame Signifikanz in Korrelation mit einem signifikanten SNP charakterisiert ist.

Sowohl die laborchemische Prozessierung und Auswertung als auch die kortikale Dickenanalyse mittels Freesurfer erfolgte dabei persönlich durch den Autor.

2. Material

2.1 Probandenkollektiv

Im Rahmen dieser Studie wurden 107 Probanden unter dem Studiennamen „Connect 100“ am Institut für Neurowissenschaften und Medizin (INM) des Forschungszentrums Jülich rekrutiert (Roski et al., 2014). Jedem Probanden wurde zur Anonymisierung eine fortlaufende Nummer zugeteilt (Con1-Con107). Die Studie wurde vom Ethikkomitee des Forschungszentrums geprüft und als ethisch zu rechtfertigen akzeptiert. Die Untersuchungen im Rahmen der Studie erfolgten auf der Grundlage der revidierten Deklaration von Helsinki des Weltärztebundes und den entsprechenden gesetzlichen Grundlagen. Alle Probanden erklärten sich nach eingehender Erläuterung der Forschungsziele und ihrer persönlichen Risiken einverstanden und gaben ihre schriftliche Einwilligung. Sie waren europäischer Herkunft und wiesen eine weiße Hautfarbe auf. Alle Probanden waren rechtshändig, erfasst mit dem Edinburgh Handedness Inventory (Oldfield, 1971). Sie wurden von einem Psychiater nach den Kriterien des Mini-Mental State Examination Tests (MMSE) (Folstein et al., 1975) auf neurologische bzw. psychiatrische Erkrankungen hin untersucht. Dabei zeigte keiner Auffälligkeiten, die auf eine entsprechende Erkrankung hinweisen könnten (Mittelwert: $29,2 \pm 1,0$; Minimum: 27). Zusätzlich erfolgten Tests zur Bestimmung von Aufmerksamkeit, Reaktionszeit, Prozessgeschwindigkeit und motorischen Qualitäten, wobei sich ein signifikanter Verlust der Aufmerksamkeit, der Prozessgeschwindigkeit und der motorischen Qualitäten mit zunehmendem Alter der Probanden zeigte, entsprechend den allgemein erwarteten Veränderungen im Rahmen eines normalen Alterungsprozesses.

Von allen 107 Probanden wurden neben weiteren MR-Sequenzen T1-gewichtete hochauflösende Schnittbilder mit Hilfe eines 3-Tesla Tim-Trio Ganzkörper-MRT-Scanners von Siemens (Erlangen, Deutschland) erstellt. Die MRT-Schnittbilder wurden von einem Neuroradiologen auf pathologische Zufallsbefunde hin kontrolliert, was zum Ausschluss dreier Probanden von den weiteren Untersuchungen führte. Aufgrund genetischer Unregelmäßigkeiten bei drei Probanden (siehe Abb. 10) und fehlerhafter Prozessierung des MRT-Datensatzes mittels Freesurfer bei drei weiteren Probanden mussten somit weitere sechs Probanden ausgeschlossen werden. Zur genaueren Erläuterung der Gründe für den Ausschluss siehe Tabelle 9 im Anhang bzw. Kapitel 4.1. Schlussendlich

konnten somit insgesamt 98 Probanden in das weitere Untersuchungsprotokoll eingeschlossen werden (siehe Tab. 1).

Die Probandengruppe bestand aus 45 Männern und 53 Frauen im Alter von 22 bis 71 Jahren mit gleichmäßiger Altersverteilung. Das mittlere Alter betrug 47,2 Jahre mit einer Standardabweichung von 13,8 Jahren. Die Jahre ihrer Ausbildung, als schulische, universitäre und berufliche Tätigkeit lag zwischen 0 und 25 Jahren mit einer mittleren Ausbildungszeit von 14,6 Jahren mit einer Standardabweichung von 4,2 Jahren.

Tab. 1: Probandenkollektiv nach Ausschluss von insgesamt neun Probanden (aufgrund pathologischer Zufallsbefunde im MRT-Datensatz, genetischer Unregelmäßigkeiten und technischer Probleme während des Prozessierungsprozesses der Software Freesurfer)

Studiensample	
Gesunde Probanden	98
Geschlecht (männl. / weibl.)	45 / 53
Händigkeit (links / rechts)	0 / 98
Durchschnittsalter (SD)	47,2 (13,8)
Durchschnittl. Ausbildungsjahre (SD)	14,6 (4,2)

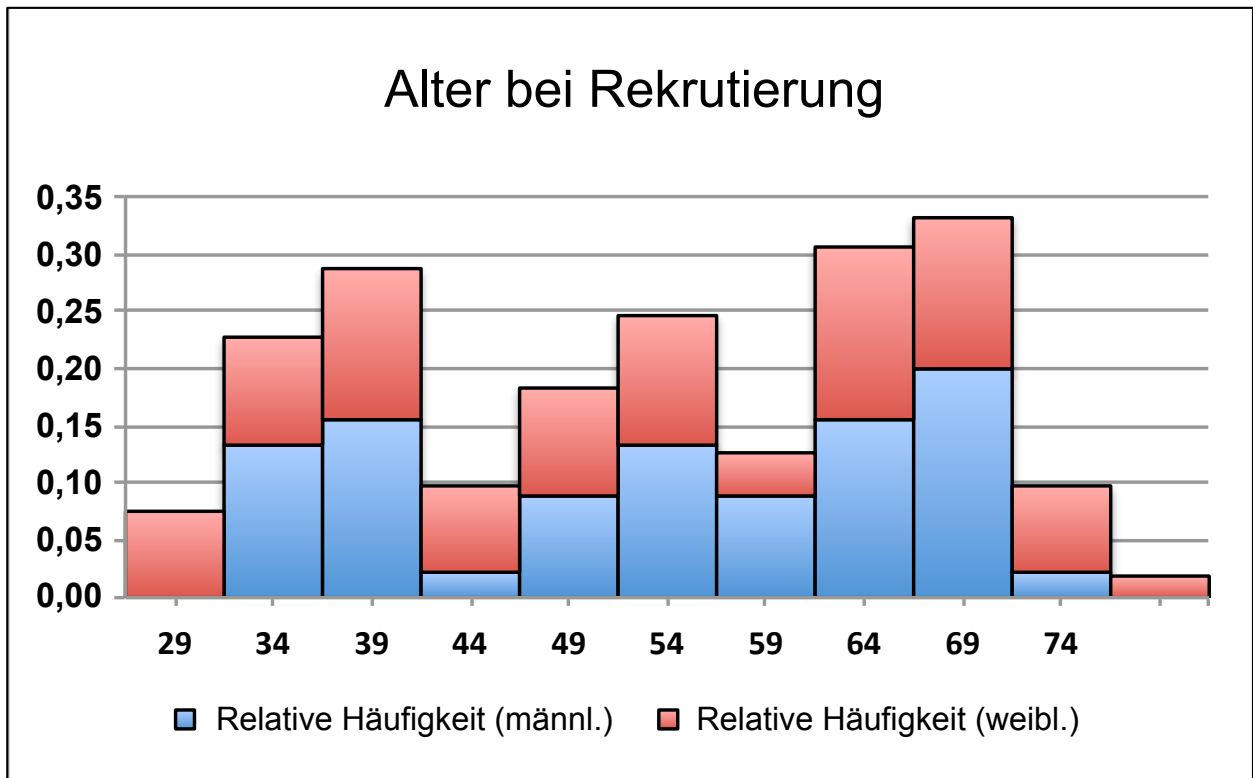


Abb. 3: Altersverteilung mit Angabe der relativen Frequenzen für jeweils beide Geschlechter

2.2 Geräte

Autoklav

Varioklav 135S, Thermo Electron GmbH, Oberschleissheim

D-150, Systec GmbH, Wettenberg

DNA-Verwaltung

2D CYPHER™ Tubes, ABgene, Thermo Scientific

2D CYPHER™ 1,2ml Cluster Tube Racks, ABgene, Thermo Scientific

2D CYPHER™ SmartScan Solo, ABgene, Thermo Scientific

SmartScan™ 96, ABgene, Thermo Scientific, Darmstadt

Eismaschine

AF 100, Scotsman, Mailand, Italien

Elektrophoresekammern	Sub-Cell GT, Bio Rad, München
Gel-Dokumentationssystem	Gel doc XRS, Bio-Rad, München
Genotypisierungssysteme	BeadStation 500GX System, Illumina [®] Inc. Infinium Plus Whole-Genome Genotyping Starter- Manual Option Package, Illumina [®] Inc., San Diego, CA, USA
Magnetrührer	ARE, Velp Scientifica, Usmate, Italien
Mikrowelle	MW 9625, SEVERIN Elektro GmbH, Sundern
Pipettierhilfen	Multipette [®] plus, Eppendorf AG, Hamburg Transferpette [®] , BRAND GmbH & Co. KG Transferpette [®] -8, BRAND GmbH & Co. KG Transferpette [®] -8/-12 electronic, BRAND GmbH & Co. KG, Wertheim
Photometer	Nano Drop ND-1000 UV-Vis Spektrophotometer, Peq Lab Nano Drop ND-8000 UV-Vis Spektrophotometer, Peq Lab, Erlangen
Pipettierroboter	Biomek NX-MC, Beckman/Coulter Biomek NX-S8, Beckman/Coulter, Brea, CA, USA
Power Supply	PowerPac Basic [™] Power Supply, Bio-Rad PowerPac universal [™] Power Supply, Bio-Rad, München
Reinstwasser-System	Milli-Q A10 Synthesis, Millipore, Darmstadt
Schüttler	Unimax 1010 / Polymax 1040, Heidolph, Schwabach
Sequenzier-Automat	AB 3130XL, Applied Biosystems, Thermo Scientific, Darmstadt
Thermocycler	PTC 200, MJ Research PTC 100, MJ Research, Watertown, MA, USA
Zentrifugen	Megafuge 1.0, Heraeus Biofuge A, Heraeus Biofuge fresco, Heraeus, Hanau neoLab-Mini-Zentrifuge, Spectrafuge [®] , Heidelberg

Vortexer

Vortex Genie 2, Scientific Industries, Bohemia, NY,
USA

2.3 Puffer, Lösungen und Reagenzien

• Genotypisierung

Illumina [®] Inc., San Diego, CA, USA	0,1 N NaOH 10 mM Tris-HCl pH 8,0 1 mM EDTA 2-Propanol
---	--

• Reagenzien für die DNA Gel-Elektrophorese

AppliChem, Darmstadt	Agarose Ethidiumbromid (C ₂₁ H ₂₀ N ₃ Br) (10 mg/ml in aqua dest.)
Invitrogen, Karlsruhe	10 x TBE Puffer: 500 mM Tris (NH ₂ C(CH ₂ OH) ₃) 500 mM Borsäure 20 mM EDTA (C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₈), pH 8,0
Merck, Darmstadt	Probenpuffer (BPB-Puffer): 10 x TBE 8 % Ficoll 0,01 % Bromphenolblau (C ₁₉ H ₁₀ Br ₄ O ₅ S)

• Reagenzien für die Sequenzierung

Genecraft, Lüdinghausen	PCR reaction buffer complete 10 x, extra
Nexttec, Leverkusen	dNTPs MgCl ₂

- Längenstandards

Invitrogen, Karlsruhe	100 bp DNA Ladder 1 kbp DNA Ladder
-----------------------	---------------------------------------

2.4 Enzyme

- Polymerasen

Genecraft, Lüdinghausen	BioTherm DNA Polymerase
Labomedic, Bonn	Hot Rescue Taq Polymerase
Quiagen [®] , Hilden	HotStarTaq Polymerase

2.5 Reaktionskits

- DNA-Extraktion

PerkinElmer chemagen Technol. GmbH, Baesweiler	Chemagen Magnetic Separation Module I
---	---------------------------------------

- Genotypisierung

Illumina [®] Inc., San Diego, CA, USA	Golden Gate Kit Infinium II Whole-Genome Genotyping Kit mit HumanOmni Express BeadChip Infinium II Whole-Genome Genotyping Kit mit HumanOmni1S BeadChip
---	---

- Sequenzierung

Applied Biosystems, Thermo Scientific, Darmstadt	BigDye Terminator v3.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit
Quiagen [®] , Hilden	Dye Ex 2.0
Roche, München	High-Pure PCR-Product Purification Kit

2.6 Internet-Datenbanken/Software

ABgene, Thermo Scientific, Darmstadt	ABgene 2D CYPHER™ Pilot Databases ABgene Smart Scan 96 ABgene Smart Scan Solo
Applied Biosystems, Thermo Scientific, Darmstadt	3130xl Data Collection v3.0
Beckman-Coulter, Brea, CA, USA	Biomek® Software 3.2
Bio-Rad, Hercules, CA, USA	Quantity One®
db SNP	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/
Ensembl Genome Browser	http://www.ensembl.org/index.html
FreeSurfer	Software-Paket Version 5.1 Freesurfer-Wiki (https://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/fswiki)
HapMap	http://www.hapmap.org HaploView 4.0
Illumina® Inc., San Diego, CA, USA	BeadScan BeadStudio 2.0
NCBI (National Center for Biotechnology Information)	http://www.ncbi.nlm.nih.gov
NHGRI GWAS-Katalog	http:// www.genome.gov/gwastudies/
OMIM	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=OMIM
Primer 3	http://frodo.wi.mit.edu/
SNP Annotation and Proxy Search (SNAP)	http://www.broadinstitute.org/mpg/snap
UCSC Genome Bioinformatics	http://genome.ucsc.edu

3. Methoden

3.1 NHGRI GWAS-Katalog

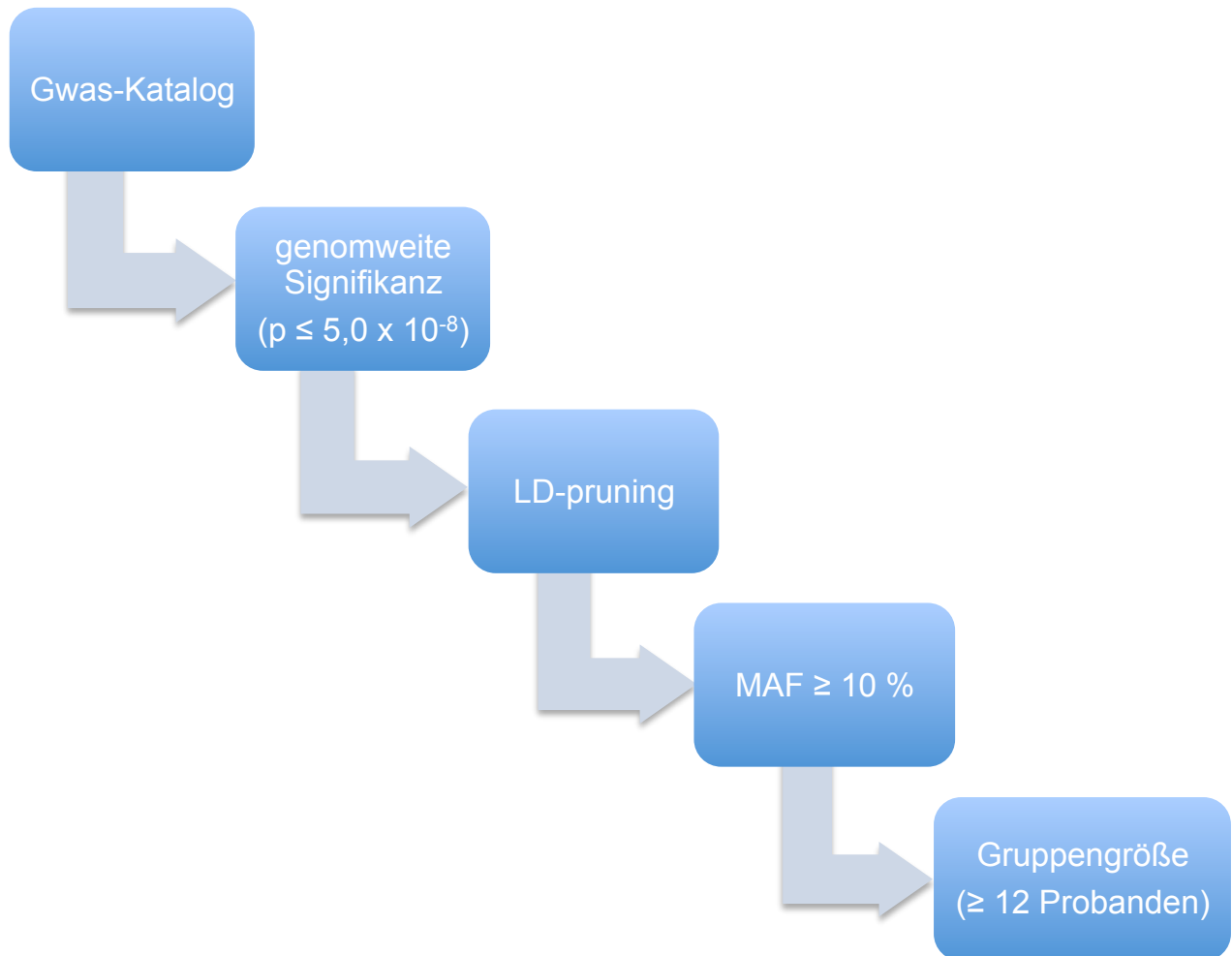
Unter Anwendung spezifischer Qualitätskriterien wurden die für unser Projekt relevanten SNPs zu Schizophrenie und Bipolarer Störung aus dem National Human Genome Research Institute (NHGRI) GWAS-Katalog selektiert.

Zu den Selektionskriterien gehörten:

1. Genomweite Signifikanz mit einem $p \leq 5 \times 10^{-8}$
2. bei SNPs, die im LD zueinander stehen, wurde der weniger signifikante SNP aus der Liste entfernt
3. Minor Allele Frequency (MAF) $\geq 10 \%$
4. nach erfolgter Genotypisierung keine allelabhängigen Gruppengrößen mit weniger als 12 Probanden

Alle SNPs, die diese Kriterien nicht erfüllten, wurden bei unseren Probanden auch nicht mittels Freesurfer auf eine je nach Genotypenkonstellation signifikante kortikale Dickenveränderung hin untersucht. Der NHGRI GWAS-Katalog (Stand 20.04.2012) (Hindorff et al., 2009; Hindorff et al., 2010) enthielt 201 nominell primär mit Bipolarer Störung und 171 nominell primär mit Schizophrenie assoziierte SNPs. Unter der Annahme, dass am ehesten die genomweit signifikanten SNPs einen Effekt auf die Morphologie des Kortex haben könnten, wurden alle nicht genomweit signifikanten SNPs ausgeschlossen. Dadurch reduzierte sich die Anzahl von mit Bipolarer Störung und/oder Schizophrenie assoziierter SNPs auf insgesamt 40 (siehe Abb. 4 und Tab. 2). Die Zahl reduzierte sich weiter auf 37 SNPs nach Ausschluss der SNPs, die in gegenseitigem LD miteinander standen (sog. LD-pruning); hierbei wurde jeweils der SNP mit geringerer Signifikanz ausgeschlossen. Nach Ausschluss aller SNPs mit einer MAF $< 10 \%$ aufgrund des kleinen Probandenkollektivs und somit notwendiger Konzentration auf häufiger vorkommende SNPs reduzierte sich die Anzahl der SNPs auf 29. Nach Ausschluss von Gruppen mit weniger als 12 Probanden zur Reduktion falsch-positiver Befunde verblieben noch 17 SNPs, 11 davon primär mit Bipolarer Störung und 8 davon primär mit Schizophrenie assoziiert (siehe Abb. 4 und Tab. 3). Zwei SNPs sind dementsprechend sowohl mit Bipolarer Störung als auch mit Schizophrenie als genomweit signifikant assoziiert worden.

Das folgende Fließbild (Abb. 4) stellt die Vorgehensweise noch einmal bildlich dar.



201 SNPs für BD → 40 SNPs → 37 SNPs → 29 SNPs → **17 SNPs**
 171 SNPs für SCZ
 BD: 11 SNPs
 SCZ: 8 SNPs

Abb. 4: Ausschlusskriterien für die Auswahl der mit Freesurfer zu untersuchenden genomweit signifikanten SNPs und entsprechende Reduzierung der mit SCZ und/oder BD assoziierter SNPs

Tab. 2: Genomweit signifikante SNPs für BD und/oder SCZ (Stand: 20.04.2012) mit Angabe zur Originalarbeit, Signifikanzlevel, assoziierter Erkrankung, unmittelbar umgebendes Gen und Risikoallel.

SNPs, die genomweite Signifikanz in Assoziation mit Bipolarer Störung und/oder Schizophrenie zeigten

Ergebnis der Originalstudie berichtet im NHGRI GWAS-Katalog, Stand 20.04.2012 (Hindorff et al., 2010)

p-Wert	Studie	Assoziierte Erkrankung	Chrom	Gen(e)	SNP-Name - RA
1,00E-12	Chen DT et al., 2011	BD	3p22.2	<i>TRANK1</i> , intergenic	rs9834970 - C
1,00E-12	Stefansson H et al., 2009	SCZ	6p22.1	<i>MHC, PRSS16</i> , intergenic	rs6932590 - T
2,00E-12	SCZ PGC, 2011	SCZ	6p22.1	<i>TRIM26</i> , intron	rs2021722 - C
7,00E-12	Yue WH et al., 2011	SCZ	6p22.1	<i>NKAPL</i> , missense	rs1635 - G
1,00E-11	Yue WH et al., 2011	SCZ	11p11.2	<i>TSPAN18</i> , intergenic	rs11038167 - A
2,00E-11	SCZ PGC, 2011	SCZ	1p21.3	<i>MIR137</i> , intergenic	rs1625579 - T
1,00E-10	Shi Y et al., 2011	SCZ	8p11.23	<i>LSM1, WHSC1L1</i> , intron	rs16887244 - A
2,00E-10	Chen DT et al., 2011	BD	2q11.2	<i>LMAN2L</i> , intron	rs2271893 - G
2,00E-10	Stefansson H et al., 2009	SCZ	6p21.32	<i>MHC, NOTCH4</i> , intron	rs3131296 - G
3,00E-10	Chen DT et al., 2011	BD	3p21.2	Intergenic	rs7618915 - G
4,00E-10	Chen DT et al., 2011	BD	10q21.2	<i>ANK3</i> , intergenic	rs4948418 - T
2,00E-09	Cichon S et al., 2011	BD	19p13.11	<i>NCAN</i> , UTR-3	rs1064395 - A
2,00E-09	Stefansson H et al., 2009	SCZ	11q24.2	<i>NRGN</i> , intergenic	rs12807809 - T
4,00E-09	Stefansson H et al., 2009	SCZ	18q21.2	<i>TCF4</i> , intron	rs9960767 - C
6,00E-09	Wang KS et al., 2010	BD + SCZ	9q33.1	<i>ASTN2</i> , intergenic	rs11789399 - G
7,10E-09	Sklar P et al., 2011	BD	10q21.2	<i>ANK3</i>	rs10994397 - T
7,40E-09	Rietschel et al., 2011	SCZ	11p11.2	<i>AMBRA1</i> , intronic	rs7112229 - C
8,00E-09	Chen DT et al., 2011	BD	1p31.1	<i>PTGFR</i> , intergenic	rs4650608 - T
9,00E-09	Jiang Y und Zhang H, 2011	BD	16p12.2	<i>NR</i> , intron	rs420259 - A
9,00E-09	Ferreira MA et al., 2008	BD	10q21.2	<i>ANK3</i> , intergenic	rs10994336 - T
1,00E-08	Jiang Y und Zhang H, 2011	BD	6p21.33	<i>NR</i> , intron	rs9378249 - G
1,00E-08	Purcell SM et al., 2009	SCZ	6p22.1	<i>MHC</i>	rs13194053 - T
1,00E-08	O'Donovan et al., 2008	SCZ	2q32.1	<i>ZNF804A</i> , intronic	rs1344706 - T
1,00E-08	Shi Y et al., 2011	SCZ	1q24.2	<i>BRP44, DCAF6</i> , intron	rs10489202 - A
2,00E-08	Baum AE et al., 2008	BD	13q14.11	<i>DGKH</i> , intron	rs1012053 - A
2,00E-08	Sklar P et al., 2011	BD	12p13.33	<i>CACNA1C</i> , intron	rs4765913 - A
2,00E-08	Kerner B et al., 2011	BD	6q27	<i>RP11-252P19.1</i> , intergenic	rs1039002 - T
2,00E-08	SCZ PGC, 2011	SCZ	8p23.2	<i>CSMD1</i> , intron	rs10503253 - A
2,00E-08	SCZ PGC, 2011	SCZ	10q24.32	<i>CNNM2</i> , intron	rs7914558 - G
2,80E-08	SCZ PGC, 2011	SCZ	8q21.3	<i>MMP16</i>	rs7004633 - G
2,90E-08	Green et al., 2012	BD	6q25.2	<i>SYNE1</i> , intronic	rs9371601 - T
3,00E-08	Kerner B et al., 2011	BD	3p26.3	Intergenic	rs2727943 - T
3,00E-08	SCZ PGC, 2011	SCZ	10q24.33	<i>NT5C2</i> , intron	rs11191580 - T
3,00E-08	SCZ PGC, 2011	SCZ	18q21.2	<i>CCDC68</i> , intergenic	rs12966547 - G
3,10E-08	Liu Y et al., 2011	BD	12p13.33	<i>CACNA1C</i> , intronic	rs1006737 - A
4,00E-08	Sklar P et al., 2011	BD	11q14.1	<i>ODZ4</i> , intron	rs12576775 - G
4,00E-08	Wang KS et al., 2010	BD + SCZ	6q15	<i>GABRR1</i> , intergenic	rs12201676 - C
4,00E-08	Huang J et al., 2010	BD II	11p15.4	<i>ADM</i> , intergenic	rs6484218 - A
5,00E-08	SCZ PGC, 2011	SCZ	2q32.3	<i>PCGEM1</i> , intergenic	rs17662626 - A
5,00E-08	Willour VL et al., 2012	SMV in BD	2p25.3	Intergenic	rs300774 - A *

Alle SNPs gelten als genomweit signifikante SNPs mit $p \leq 5,00E-08$. Die SNPs sind nach p-Wert geordnet.

Die folgenden Abkürzungen werden verwendet: BD, Bipolare Störung; SCZ, Schizophrenie; Chrom, chromosomal band; RA, risk allele; SCZ PGC, Schizophrenia Psychiatric GWAS Consortium; SMV, Selbstmordversuch.

* Der assoziierte SNP auf 2p25 befindet sich in einem großem LD-Block, der das Gen *ACP1* (acid phosphatase 1) umfasst, ein Gen, dessen Expression sich signifikant erhöht zeigt bei an BD-Erkr. mit erfolgtem Selbstmord.

Tab. 3: Ausschlusskriterien (AK) nach Genotypisierung der für BD und/oder SCZ genomweit signifikanten SNPs mit Angabe der verwendeten Proxies, RAF, MAF und Gruppenverteilungen je nach Genotypenkonstellation.

Mit Bipolarer Störung und/oder Schizophrenie genomweit assoziierte SNPs (siehe Tab. 2), die in unserer Studie genotypisiert wurden.

Originalstudie		Aktuelle Studie					
p-Wert	Assoziierte Erkrankung	SNP-Name - RA	AK	Proxy	RAF	MAF	Rac/ NonRac
1,00E-12	BD	rs9834970 - C			0,53	0,47	77/21
1,00E-12	SCZ	rs6932590 - T	3		0,70	0,30	90/8
2,00E-12	SCZ	rs2021722 - C	3		0,77	0,23	94/4
7,00E-12	SCZ	rs1635 - G	2		0,99	0,01	98/0
1,00E-11	SCZ	rs11038167 - A	2		0,99	0,01	98/0
2,00E-11	SCZ	rs1625579 - T	3	rs1782810	0,82	0,18	95/3
1,00E-10	SCZ	rs16887244 - A	3		0,71	0,29	89/9
2,00E-10	BD	rs2271893 - G	3		0,28	0,28	89/9
2,00E-10	SCZ	rs3131296 - G	3		0,82	0,18	95/3
3,00E-10	BD	rs7618915 - G	3		0,67	0,33	92/6
4,00E-10	BD	rs4948418 - T	2		0,09	0,09	16/82
2,00E-09	BD	rs1064395 - A			0,19	0,19	31/67
2,00E-09	SCZ	rs12807809 - T	3		0,82	0,18	92/6
4,00E-09	SCZ	rs9960767 - C	2	rs12327270	0,06	0,06	11/87
6,00E-09	BD + SCZ	rs11789399 - G		kgp3812820	0,48	0,48	73/25
7,10E-09	BD	rs10994397 - T	3		0,09	0,09	16/80
7,40E-09	SCZ	rs7112229 - C	1	rs7951579	0,84	0,16	97/1
8,00E-09	BD	rs4650608 - T			0,62	0,38	85/13
9,00E-09	BD	rs420259 - A	3		0,78	0,22	92/6
9,00E-09	BD	rs10994336 - T	1		0,09	0,09	15/83
1,00E-08	BD	rs9378249 - G	2		0,08	0,08	12/86
1,00E-08	SCZ	rs13194053 - T	1		0,80	0,20	95/3
1,00E-08	SCZ	rs1344706 - T			0,61	0,39	80/18
1,00E-08	SCZ	rs10489202 - A			0,28	0,28	49/49
2,00E-08	BD	rs1012053 - A	3		0,88	0,12	97/1
2,00E-08	BD	rs4765913 - A	3	rs4765914	0,80	0,20	93/5
2,00E-08	BD	rs1039002 - T	2		0,05	0,05	9/89
2,00E-08	SCZ	rs10503253 - A			0,24	0,24	37/61
2,00E-08	SCZ	rs7914558 - G		rs2275271	0,56	0,44	79/19
2,80E-08	SCZ	rs7004633 - G			0,20	0,20	38/60
2,90E-08	BD	rs9371601 - T		rs70018 (r ² =0.892)	0,43	0,43	65/33
3,00E-08	BD	rs2727943 - T		kgp6486973	0,14	0,14	25/73
3,00E-08	SCZ	rs11191580 - T	2	rs11191560	0,92	0,08	96/2
3,00E-08	SCZ	rs12966547 - G		rs4309482	0,44	0,44	69/29
3,10E-08	BD	rs1006737 - A		rs2159100	0,31	0,31	53/45
4,00E-08	BD	rs12576775 - G		rs17138171	0,18	0,18	33/65
4,00E-08	BD + SCZ	rs12201676 - C			0,32	0,32	54/44
4,00E-08	BD II	rs6484218 - A			0,12	0,12	24/74
5,00E-08	SCZ	rs17662626 - A	2		0,93	0,07	98/0
5,00E-08	SMV in BD	rs300774 - A		rs300797	0,18	0,18	30/68

Alle SNPs gelten als genomweit signifikante SNPs mit $p \leq 5,00E-08$. Die SNPs sind nach p-Wert geordnet. Ausschlusskriterien: 1, LD-pruning mit $r^2=1$; 2, Minor-Allele-Frequenz mit $< 10\%$; 3, Gruppengröße (< 12). Die folgenden Abkürzungen werden verwendet: BD, Bipolare Störung; SCZ, Schizophrenie; Chrom, chromosomal band; RA, risk allele; SMV, Selbstmordversuch; RAF, risk allele frequency; MAF, minor allele frequency; Rac, risk allele carrier; NonRac, non risk allele carrier; AK, Ausschlusskriterien. Proxy mit $r^2=1$ (wenn nicht anders bezeichnet) wurde verwendet für Genotypisierung von Connect100. In diesen Fällen wurden die durch die Genotyp. erhaltenen Genotypen mittels Sanger-Sequenz. bestätigt.

3.2 Kraniales MRT

Die Rekrutierung der 107 Probanden, die venöse Blutentnahme, psychologische Tests und schlussendlich das kraniale MRT wurden, wie bereits beschrieben, am Forschungszentrum Jülich durchgeführt. Die Probanden wurden hierbei mit Hilfe eines 3-Tesla MR-Scanners von Siemens (Tim-Trio, Siemens Medical Systems, Erlangen, Deutschland) und der entsprechenden Kopfspule untersucht. Hierbei wurden neben Sequenzen zur morphologischen Untersuchung (T1w 3D-MPRAGE, T2w 3D-Space, T2w Flair) auch diffusionsgewichtete Sequenzen eingesetzt (z. B. DTI mit 30/60 directions, HARDI), welche Rückschlüsse auf den Verlauf großer Nervenfaserbündel erlauben. Die von uns für die Verwendung mit Freesurfer benötigten dreidimensionalen T1-gewichteten Sequenzen besaßen folgende Sequenzparameter: 176 Schichten, TR = 2,25 ms, TE = 3,03 ms, TI 900 ms, FOV 256 x 256 mm², flip angle = 9°, Voxel-Auflösung 1 x 1 x 1 mm³.

3.3 Grundlegende labortechnische Methoden

3.3.1 DNA-Extraktion aus Vollblut

Die für die Analyse notwendige Nukleinsäure erhält man durch die Extraktion aus kernhaltigen Leukozyten der Probandenblutproben. Mithilfe von Ethylendiamintetraacetat (EDTA) wird die Koagulation der Blutproben verhindert. Hierbei wird durch diesen Chelatbildner das in der Gerinnungskaskade notwendige Ca²⁺ irreversibel komplexiert. Die Extraktion ist mittels des von Chemagen entwickelten Chemagen Magnetic Separation Module I teils automatisiert. Positiv geladene „Magnetic Beads“ (magnetische Kügelchen) binden an die negativ-geladene DNA und ermöglichen somit die Aufreinigung. Zunächst müssen die Zellkerne der Leukozyten geöffnet werden, um die darin befindliche DNA zu mobilisieren. Dies erreicht man mithilfe eines Kernlysepuffers. Nun kann die freigewordene DNA an die Beads binden und aus der zurückgebliebenen Lösung aus Zelldetritus und anderen Blutbestandteilen entnommen werden. Weitere Waschvorgänge reinigen die DNA von übrig gebliebenen Blutkomponenten wie Proteinen, Salzen, Thrombozyten oder sonstigen Zelltrümmern. Abschließend wird die gereinigte DNA in TE⁴-Puffer (Tris-EDTA-Lösung) gelöst.

3.3.2 Photometrische Konzentrationsbestimmung isolierter DNA

Die nach Extraktion erhaltene DNA wird zur Qualitätskontrolle (Reinheit) und Quantitätsbestimmung (Konzentration) photometrisch untersucht. Hierfür eignet sich das Nano-

Drop ND-1000 Spektrophotometer mit der dazugehörigen Software, welches bereits aus einem Volumen von 1 µl der DNA-Lösung die oben beschriebenen Merkmale bestimmen kann. Die Funktionsweise basiert auf der spezifischen UV-Absorption von Nukleinsäuren und der dadurch gemessenen optischen Dichte (OD) der zu untersuchenden Lösung. Hierbei liegt das Absorptionsmaximum von nicht-DNA-Bestandteilen wie Proteinen, Salzen etc. bei einer Wellenlänge von 280 nm. Das Absorptionsmaximum von DNA liegt bei einer Wellenlänge von 260 nm. Vor diesem Hintergrund und mit Hilfe der gemessenen OD bei 260 nm lässt sich unter Anwendung des Lambert-Beerschen-Gesetzes die Konzentration der DNA berechnen. Die Qualität der DNA, also die Reinheit, wird anhand des Verhältnisses der beiden optischen Dichten ($OD_{260\text{ nm}}/OD_{280\text{ nm}}$) bestimmt. Ein errechneter Wert von 1,7 - 1,8 gilt als akzeptabel, wobei ein Wert von 2,0 eine optimale DNA-Qualität darstellt.

3.3.3 Die Polymerase-Kettenreaktion

Die Polymerase-Kettenreaktion (*Polymerase-chain-reaction*, PCR) ermöglicht die enzymatische in-vitro-Amplifikation von DNA-Abschnitten, deren flankierende Sequenzen auf dem *forward*- und *reverse*-Strang bekannt sein müssen (Mullis und Faloona, 1987). Hierbei kann durch sich wiederholende Zyklen eine exponentielle Vermehrung des zu amplifizierenden DNA-Abschnitts erreicht werden. Ein PCR-Zyklus besteht typischerweise aus drei Schritten:

1. Denaturierung (ca. 96° C)
2. Anlagerung (Annealing) (45 - 65° C)
3. Elongation (72° C)

Im ersten Schritt findet im Rahmen der Hitze-Denaturierung bei ca. 96° C die Trennung der beiden DNA-Stränge durch Lösen der Wasserstoffbrückenbindungen statt. Die hierdurch entstandenen Einzelstränge dienen in den nächsten Schritten als Matrize (Vorlage) für die Synthese neuer komplementärer DNA-Stränge. Um die Anlagerung zu starten, werden synthetische Oligonukleotide (Primer) benötigt, die sich im Rahmen dieses Schrittes spezifisch an die komplementäre DNA-Region auf dem *forward*- und *reverse*-DNA-Strang binden. Ein Primer stellt eine kurze DNA-Sequenz dar, die den zu amplifizierenden DNA-Abschnitt flankiert. Er wird benötigt, da die DNA-Polymerase, im

Rahmen der Elongation, nur an einen DNA-Doppelstrang einzelne komplementäre Nukleotide binden kann. Bei der DNA-Polymerase handelt es sich um eine thermostabile Taq-Polymerase, die pro Minute ca. 1.000 Nukleotide einbauen kann. Die Synthese (Elongation) findet nur in 5' → 3'-Richtung statt, ausgehend von den 3'-OH-Enden der Primer. Als Nukleotide für die Elongation werden die vier Desoxynukleosidtriphosphate (dNTP) der vier Nukleotidbasen Adenin (A), Cytosin (C), Guanin (G) und Thymin (T) benötigt.

Jeder Zyklus ermöglicht eine exponentielle Zunahme der PCR-Produkte. Neben der ursprünglich eingesetzten DNA dienen auch die zunehmend entstehenden synthetisierten DNA-Stränge als Matrize für die Amplifikation. Somit erhält man bei einer typischen Anzahl von 30 - 40 Zyklen eine 10^6 - 10^7 -fache Vermehrung des DNA-Abschnitts. Letztlich folgt die Agarosegelelektrophorese, sie dient der Erfolgskontrolle und ermöglicht zusätzlich die Größenbestimmung von PCR-Produkten.

Für das Gießen eines Agarosegels benötigt man 4,8 g Agarose, die in 240 ml TBE-Puffer gelöst wird. Durch Erhitzen löst sich die Agarose und es entsteht eine durchsichtige Lösung. Nach Abkühlen werden 24 µl Ethidiumbromid zugesetzt.

3.4 SNP-Genotypisierung

Bei diesem Projekt wurde die Genotypisierung mit Hilfe der Bead-Array Technologie der Firma Illumina[®] durchgeführt.

3.4.1 Die Illumina[®] Omni Genotyping BeadChips

Bei dem HumanOmni Express BeadChip (siehe Abb. 5) handelt es sich um einen mehr als 700.000 SNPs umfassenden Genotypisierungs-Chip, der zur Infinium HD-Familie gehört. Die enthaltenen SNPs sind zum größten Teil tagSNPs aus allen drei HapMap Phasen (I + II + III), die auf Grund ihres hohen linkage disequilibrium (LD) eine große Region ihrer Umgebung abbilden können. Hiermit wird ca. 91 % der Variation in europäischen Samples abgedeckt, basierend auf den HapMap-Releases mit einer MAF > 5 %, ausgehend von $r^2 > 0,8$. Auf den OE-Chip können 12 Proben aufgetragen werden. Es wird 200 ng DNA für die Genotypisierung benötigt.

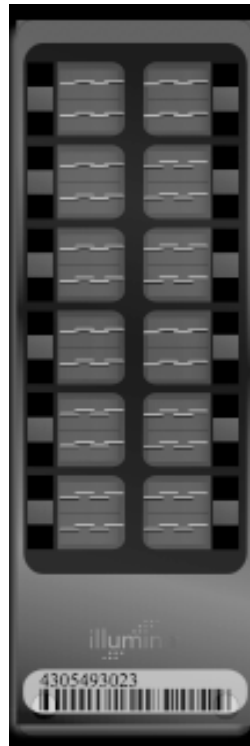


Abb. 5: Illumina® Omni Express Genotyping BeadChip (mit 12 Kammern für 12 Probandenproben) (Illumina® Inc., San Diego, CA, USA)

Der HumanOmni1S BeadChip (siehe Abb. 6) kann ca. 1,2 Millionen SNPs abbilden. Auch er ist Teil der Infinium HD-Familie und kann in Kombination mit dem Omni Express zu einer Erhöhung des Markerrasters auf ca. 1,9 Millionen SNPs verwendet werden. Die mit dem Omni1S untersuchbaren SNPs stammen aus den ersten Veröffentlichungen des 1.000 Genomes Project und ermöglichen eine große Abbildung von Varianten mit einer niedrigen MAF von 2,5 %. Somit werden ca. 82 % der Variation in europäischen Samples abgedeckt, basierend auf den HapMap-Releases mit einer MAF > 2,5 %, ausgehend von $r^2 > 0,8$. Auf den O1S-Chip können 8 Proben aufgetragen werden. Auch hier benötigt man 200 ng DNA für die Genotypisierung.



Abb. 6: Illumina® Omni1S Genotyping BeadChip (mit 8 Kammern für 8 Probandenproben) (Illumina® Inc., San Diego, CA, USA)

3.5 Sequenzierung

Die bei der Microarray-basierten Genotypisierung technisch ausgefallenen SNPs wurden mittels der Methode nach Sanger und Coulson (1975) basierend auf der Kettenabbruchmethode nachsequenziert. Die Sequenzierung wurde mit dem BigDye v3.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit der Firma Applied Biosystems durchgeführt.

Diese Form der Sequenzierung wird ermöglicht, indem mit Fluoreszenz-Farbstoff markierte ddNTPs (Didesoxynukleosidtriphosphat) an DNA-Bruchstücke angehängen und dann in einem Kapillarsystem automatisch detektiert werden. Mittels PCR wird eine ausreichende Menge an DNA-Templates hergestellt.

Tab. 4: Einfacher PCR-Ansatz zur Sequenzierung mit Angabe der benötigten Mengen für einen Reaktionsansatz

Reagenz	Konzentration	Volumen
H ₂ O		15,54 µl
10xPuffer + MgCl ₂		2,50 µl
Forward Primer	10 pmol/µl	1,00 µl
Reverse Primer	10 pmol/µl	1,00 µl
dNTPs	je 1,25 mM	4,00 µl
DNA	20 ng/µl	1,00 µl
Taq Polymerase	5 U/µl	0,05 µl
Total		25,00 µl

Die PCR wird mittels eines MJR PTC 200 Thermocycler durchgeführt. Das PCR-Programm und die verwendeten Annealing-Temperaturen T_A sind:

- 94° C für 3 min
 - 94° C für 30 s
 - T_A ° C für 30 s
 - 72° C für 30 s
 - 72° C für 5 min
 - 12° C für immer
- } 35 Zyklen

Die Agarosegelelektrophorese ermöglicht die Darstellung der PCR-Produkte und dient als Kontrolle. Nur wenn eindeutige Banden nach der PCR im Agarosegel erkennbar sind, können diese Proben auch für die Sequenzierung verwendet werden.

Die Aufreinigung erfolgt mittels des von Roche produzierten High Pure PCR Purification Kits im Rahmen der entsprechenden Herstellerprotokolle. Anschließend kann mit den aufgereinigten PCR-Produkten die eigentliche Sequenzierung erfolgen, das sog. Cycle Sequencing. Mit Hilfe des DyeEx 2.0 Kit der Firma Quiagen werden nach der Cycle Sequencing-Reaktion die überzähligen ddNTPs entfernt, um die Auslesung durch den Laser nicht zu beeinflussen. Daraufhin werden die Proben in eine 96well-Platte überführt und in einem ABI 3120XL Sequencer analysiert.

3.6 Freesurfer-Arbeitsablauf

Wie bereits in der Einleitung beschrieben, ermöglicht die Software Freesurfer die Oberflächen-basierte Analyse des Kortex mit Hilfe von dreidimensionalen MRT-Datensätzen des Gehirns. Durch die genaue Erfassung der kortikalen Oberfläche und der Grenze zwischen der grauen und weißen Substanz ist unter anderem eine Berechnung der kortikalen Dicke möglich (Fischl et al., 2009).

Die frei verfügbare Software Freesurfer wurde am „Athinoula A. Martinos Center for Biomedical Imaging“ am Massachusetts General Hospital entwickelt und seitdem in regelmäßigen Abständen upgedatet. Sie ermöglicht das automatisierte Prozessieren von dreidimensionalen T1-gewichteten MRT-Datensätzen des Gehirns zur Messung unterschiedlicher struktureller Parameter, unter anderem der kortikalen Dicke, der kortikalen Oberfläche und der Ausprägung der kortikalen Faltung. Die erfassten Parameter können sekundär auf einer normalisierten Hirnoberfläche für Darstellungszwecke visualisiert werden.

3.6.1 Rekonstruktion

Die Software ermöglicht durch automatisierte Normalisierung und darauffolgende Segmentierung die Einteilung und Visualisierung der MRT-Bildinformationen in die kortikalen und subkortikalen Strukturen.

Ausgehend von T1-gewichteten MRT-Daten, z. B. im DICOM-Format, deren Auflösung möglichst 1 mm^3 betragen sollte, werden diese zunächst in das mgz-Format überführt, welches Freesurfer nun weiter verarbeiten kann.

Im ersten Schritt der vom Algorithmus durchgeführten Rekonstruktion findet nach der automatisierten Reduktion der Bewegungsartefakte die Transformation des Datensatzes in das Talairach-Koordinatensystem entsprechend des Talairach-Atlas von Jean Talairach und Pierre Tournoux („Co-Planar Stereotaxic Atlas of the Human Brain“, 1988) statt. Dies stellt eine Ausrichtung der MRT-Daten entsprechend der Hauptstrukturen (z. B. linkes und rechtes Cerebrum, Cerebellum, Hirnstamm), der Hirnlappen, der Gyri, der weißen und grauen Substanz und der Brodmann-Areale dar. Hiermit wird eine Vergleichbarkeit und somit auch erst eine Auswertbarkeit zwischen den verschiedenen Gehirnen der Probanden erreicht. Darauffolgend werden Gehirn umgebende Strukturen inkl. Schädel entfernt. Topologische Defekte werden automatisch korrigiert.

Weiter erfolgt die Segmentierung in graue und weiße Substanz durch die Bestimmung der Grenzen zwischen diesen: Nach einer Intensitätsnormalisierung kann der Algorithmus die Grenzen zwischen der Pia mater und dem Übergang zwischen weißer und grauer Substanz anhand der Intensitätsunterschiede der Grauwerte festlegen (siehe Abb. 7). Da der Verlauf der Grenzen zwischen diesen den Ausgang für die strukturellen Berechnungen darstellt, müssen vor der weiteren Bearbeitung des Datensatzes durch Freesurfer die von der Software vorerst festgelegten Grenzen visuell auf eine fehlerhafte Segmentierung überprüft und falls notwendig manuell editiert werden. Wie bereits im Kapitel 1.4.2 beschrieben wird nach der initialen Segmentierung der grauen und weißen Substanz und der liquorhaltigen Räume ein Dreiecksnetz (siehe Abb. 2) erstellt, um eine Bestimmung der kortikalen Oberfläche bzw. der Grenzfläche zwischen der grauen und weißen Substanz unterhalb der Voxelauflösung zu ermöglichen (Fischl und Dale, 2000). Diese Methode erlaubt es, letztendlich Dickenveränderungen im Submillimeter-Bereich zu erfassen, welche im Rahmen des primären MRT-Datensatzes nicht registriert werden könnten.

Vor der Analyse der kortikalen Dicke ermöglicht die Software die Einteilung des Kortex in seine Unterstrukturen (Fischl et al., 2004). Als letzter Schritt erfolgt die eigentliche Berechnung der kortikalen Dicke, indem der kürzeste Abstand zwischen einem Punkt auf der Pia mater und dem Übergang zwischen grauer und weißer Substanz in beiden Richtungen erfasst und dann gemittelt wird (Fischl und Dale, 2000). Bei den verwendeten Punkten beider Grenzflächen handelt es sich dabei um die Eckpunkte (Vertices) des vorbeschriebenen Dreiecksnetzes (siehe Abb. 8). Hierbei überziehen jeweils ca. 150.000 Vertices eine Hemisphäre.

Beide Hirnhälften werden separat voneinander bearbeitet. Diese technische Methode zur Berechnung der kortikalen Dicke wurde gegenüber einer manuellen Erfassung bei Schizophrenie-Erkrankten validiert (Kuperberg et al., 2003), wobei sich die Ergebnisse für die durchschnittliche Dicke und die entsprechende Standardabweichung sowohl bei Patienten als auch bei gesunden Kontrollen stark ähnelten. Es zeigte sich eine kortikale Ausdünnung beidseits temporal und präfrontal bei Schizophrenen gegenüber Kontrollen.

Die folgenden Abbildungen (Athinoula A. Martinos Center for Biomedical Imaging, 2011) sollen die Vorgehensweise der Software Freesurfer bildlich veranschaulichen. Dabei wurden diese durch mich zum besseren Verständnis verändert:

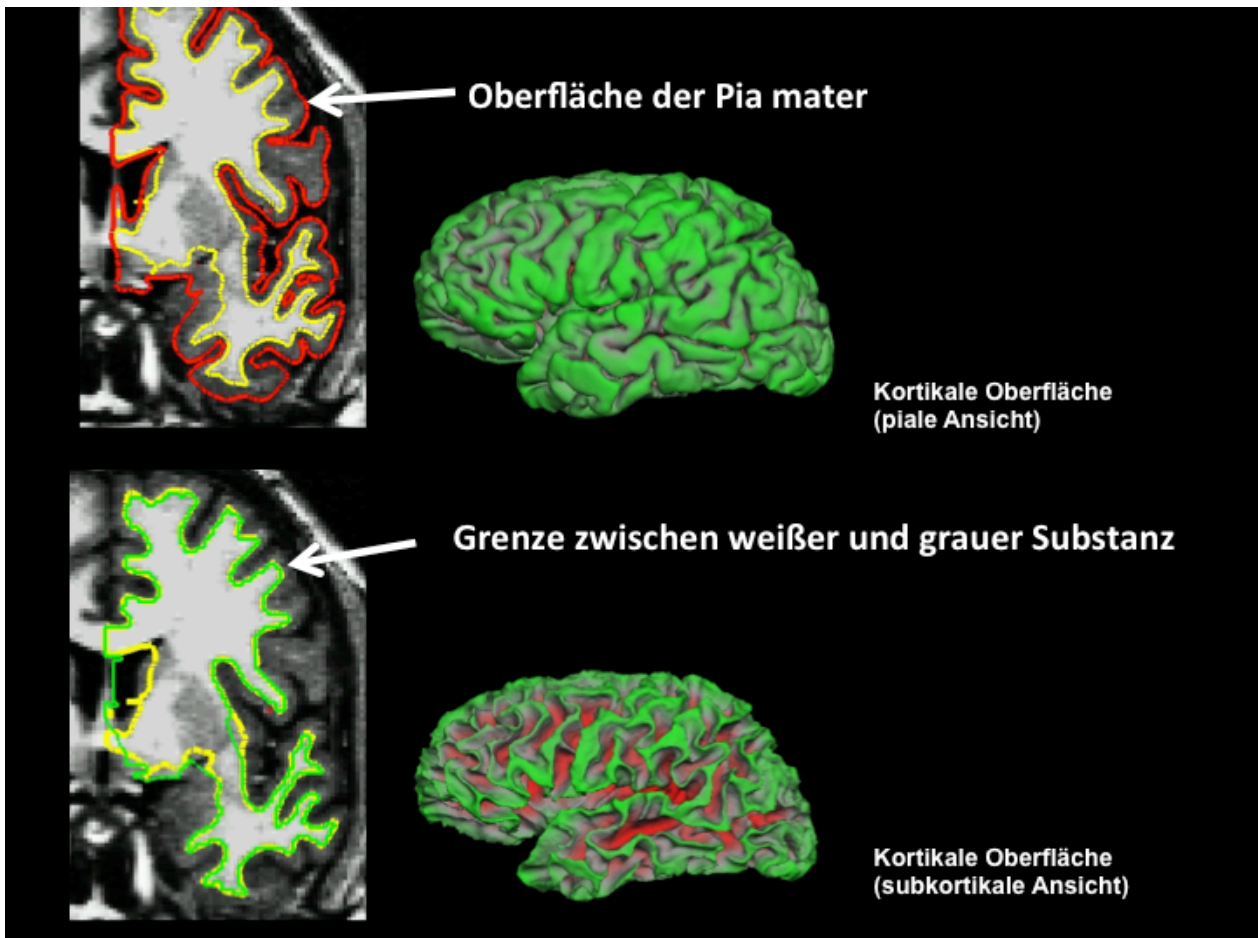


Abb. 7: Links coronare Darstellung der automatisch erfassten Oberfläche der Pia mater (rote Linie) und der Grenze zwischen der grauen und weißen Substanz (gelbe Linie). Rechts dreidimensionale Darstellung der Kortikalis, oben mit vollständiger Darstellung des Kortex (grün = Gyri), unten mit Blick auf die weiße Substanz bei fehlendem Kortex (rot = Sulci) (modifiziert nach Athinoula A. Martinos Center for Biomedical Imaging, 2011).

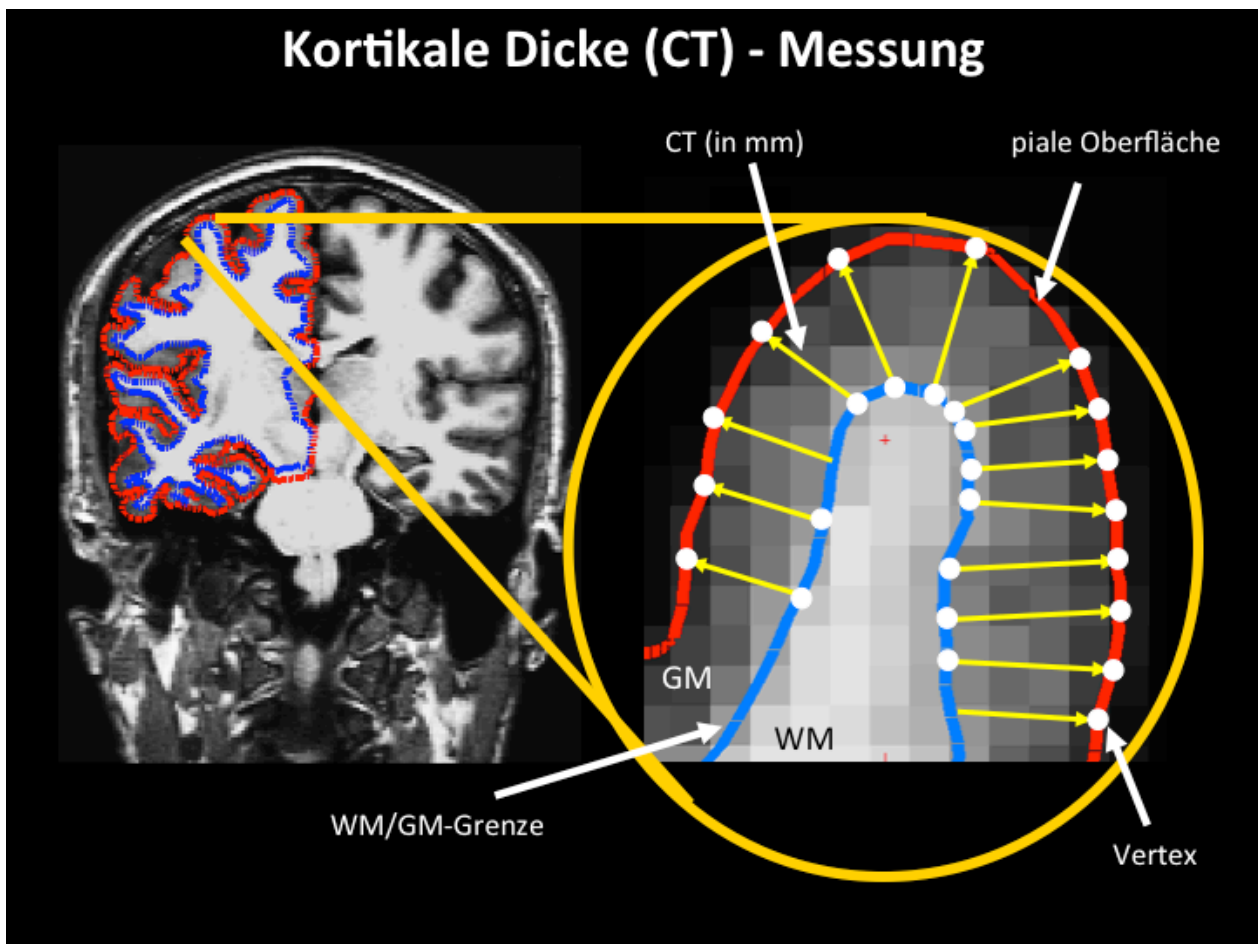


Abb. 8: Die eigentliche Messung der kortikalen Dicke: Hierbei wird die kürzeste Verbindung zwischen der erfassten Pia mater (der äußeren Begrenzung) und der Grenze zwischen der grauen und weißen Substanz in zwei Richtungen gemessen und anschließend gemittelt (rote Linie = Oberfläche der Pia mater; blaue Linie = Grenze zwischen grauer und weißer Substanz; gelbe Linien = kortikale Dicke) (modifiziert nach Athinoula A. Martinos Center for Biomedical Imaging, 2011).

3.6.2 Gruppenanalyse

Nach der Prozessierung der vorhandenen MRT-Datensätze der 98 Probanden war mit Hilfe eines in Freesurfer integrierten Software-tools namens „Qdec“ ein Vergleich von strukturellen Hirnveränderungen, in diesem Fall der kortikalen Dicke, zwischen zwei in Abhängigkeit der Genotypenverteilung gebildeten Gruppen möglich, um Rückschlüsse auf potentiell signifikante Unterschiede zu ziehen.

Um Gruppenanalysen der bereits von Freesurfer für jedes Individuum berechneten Strukturparameter durchführen zu können, wurde ein verallgemeinertes lineares Model (GLM = General linear model) erstellt. Um die kortikalen Dickenwerte auf dieses GLM-

Modell zu übertragen, mussten die Daten über einen ersten Zwischenschritt von der Freesurfer-Software auf ein sphärisches Koordinatensystem übertragen werden. Als zweiter Zwischenschritt musste der Datensatz daraufhin geglättet werden, in diesem Fall unter Verwendung eines Gauss'schen Kernels von 10 mm. Das sogenannte „Smoothing“ bezeichnet eine Methode zur Glättung eines Datensatzes, um wichtige Anteile bei gleichzeitiger Reduktion der störenden Anteile, der sogenannten „noise“, herauszuheben.

Das verallgemeinerte lineare Modell (GLM) ermöglichte es nun, kortikale Dickenveränderungen an jedem Vertex der Oberfläche unter zwei Gruppen direkt miteinander zu vergleichen. In diesem Fall wurden als Kovariablen das Geschlecht und das Alter der Probanden mit in die Berechnung eingeschlossen, um entsprechende Effekte im Rahmen von Gruppenunterschieden auszuschließen.

3.6.3 Statistische Auswertung

Durch die vielen Vertices, die die kortikale Oberfläche und die Grenzfläche zwischen der grauen und der weißen Substanz beschreiben, besteht ein hohes Risiko, dass viele Dickenmessungen zwischen zwei Gruppen sich zunächst allein zufällig als signifikant unterschiedlich herausstellen. Um trotz multiplen Testens signifikante Ergebnisse zu erhalten, muss eine entsprechende Korrektur erfolgen. In diesem Fall wurde die in der Freesurfer-Software integrierte Monte Carlo-Simulation als statistische Methode zur Identifikation „wahrer Signifikanz“ verwendet (Hagler und Sereno, 2006), welche auf dem AlphaSim Algorithmus basiert (Ward, 2000). Dabei wurden 10.000 Iterationen der Monte Carlo-Simulation durchgeführt, um das Risiko, Zufallsbefunde zu erheben, zu reduzieren. Mit Hilfe dieser Methode und einer anschließenden Clusteranalyse können schlussendlich zusammenhängende Cluster identifiziert werden, die Areale mit signifikanten Dickenunterschieden in bestimmten anatomischen Regionen zwischen zwei Probandengruppen beschreiben. Das Signifikanzlevel der erhaltenen Cluster wird hierbei mittels eines sogenannten CWP-Wertes (CWP = Cluster wise probability) angegeben. Dieser Wert beschreibt die Wahrscheinlichkeit, ein Cluster der gleichen Größe oder größer während der Berechnung von signifikanten Clustern zu erhalten. Somit ist der CWP-Wert gleichwertig mit dem üblichen α -Signifikanzniveau von 0,05.

Die sich letztendlich als signifikant herausgestellten Befunde mit kortikaler Dickenabnahme wurden darauffolgend auf den Kortex der entsprechenden Hirnhälfte kartiert und nach den Kriterien des JuBrain-Atlas (Zilles und Amunts, 2010) anatomisch eingeordnet (siehe Kap. 4.2). Falls sich ein Befund in einer vom JuBrain-Atlas noch nicht erfassten Region befand, wurde der Befund nach von Ecker (1869) und Creutzfeldt (1983) vorgeschlagenen anatomischen Kriterien beschrieben.

4. Ergebnisse

4.1 Genotypisierung

Die Genotypisierung der ausgewählten genomweit signifikanten SNPs erfolgte zum großen Teil mittels Illumina[®] SNP-Arrays. Wie bereits beschrieben wird bei der Chip-Auslesung am Ende der Prozessierung mittels Laserlicht für jeden SNP eine bestimmte Fluoreszenzmarkierung erfasst und für jede DNA-Probe dementsprechend eine Aussage über die dazugehörigen Allele gemacht.

Drei Gruppen kommen dadurch zustande:

- Homozygot für das Wildtyp-Allel **AA**
 - Heterozygot **AB**
 - Homozygot für das Risiko-Allel **BB**
- (A = Wildtyp-Allel; B = Risiko-Allel)**

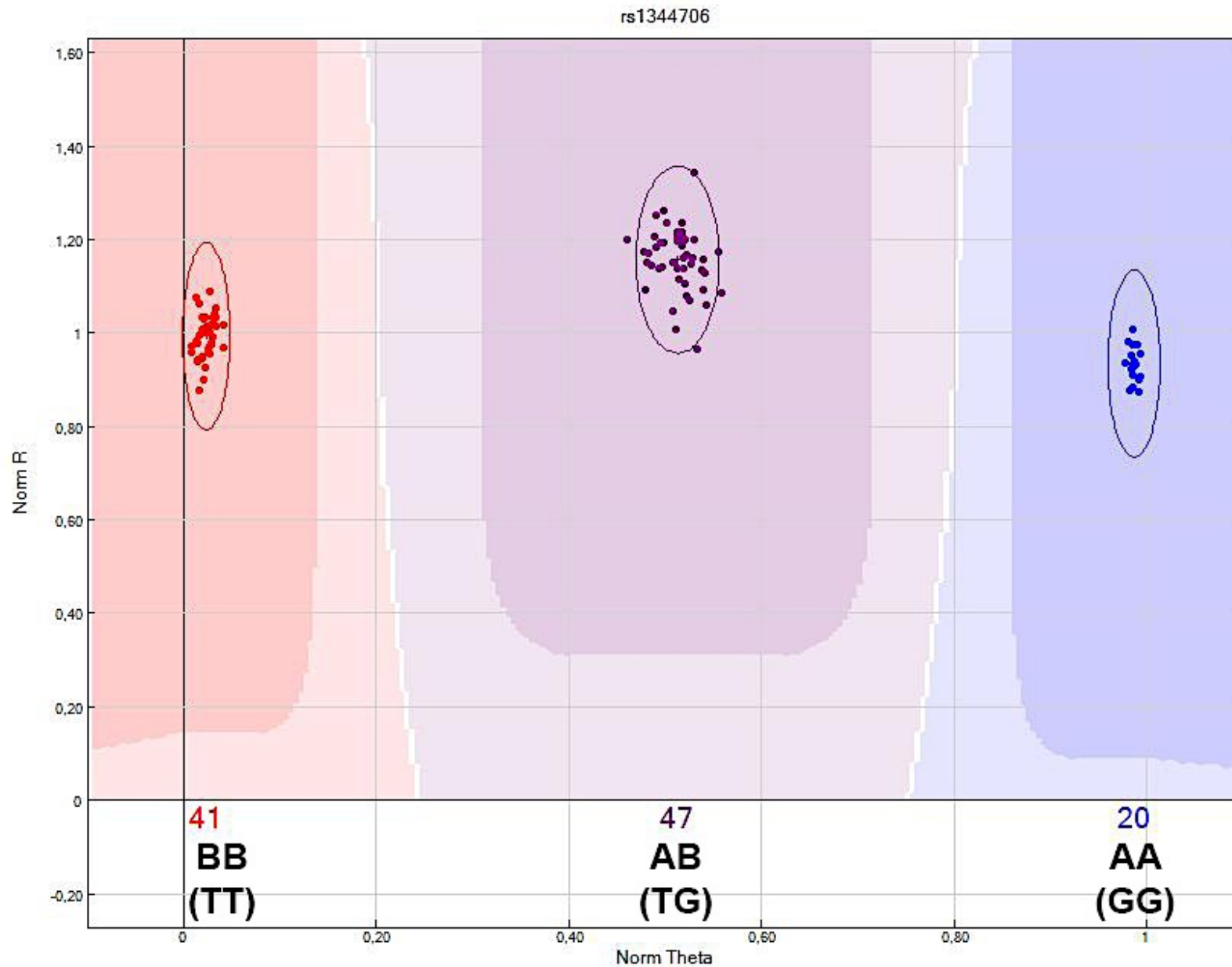


Abb. 9: Illumina®-Cluster Plot exemplarisch für den SNP rs1344706 (*ZNF804A*) mit Zuordnung des entsprechenden Genotyps. Der Cluster Plot kann zur Qualitätskontrolle verwendet werden.

Am Beispiel für den SNP rs1344706 im Gen *ZNF804A* spiegelt ein sog. Cluster-Plot (siehe Abb. 9) die Genotypenverteilung wieder. Anhand eines Cluster-Plots kann man erkennen, ob eine eindeutige Zuordnung der gescannten Fluoreszenzen von jeder Probe in die drei Gruppen möglich war. Die farbigen Punkte sollten sich möglichst in den gleichfarbigen Ovalen befinden. Eine deutliche Abweichung der Punkte von den Ovalen kann eine erschwerte Registrierung der Fluoreszenzmarkierung darstellen, wodurch möglicherweise keine eindeutige Einteilung in eine der drei Genotypgruppen möglich war. Somit stellt der Cluster Plot u. a. eine visualisierte Qualitätskontrolle dar, mit der man mögliche „outlier“ (keinem Genotyp zuordnungsbar) identifizieren kann. In dem in Abbildung 9 gezeigten Fall stellt sich jedoch eine nahezu optimale Situation dar, in der weitgehend alle farbigen Punkte in den gleichfarbigen ovalförmigen Markierungen zu finden sind. Jeder farbige Punkt stellt dabei eine untersuchte Probe dar.

Für den SNP rs1344706 entspricht Thymin (T) dem Risikoallel. Insgesamt wurden 108 Proben untersucht (107 Probanden + 1 Qualitätskontrolle). Von den 108 Proben sind 20 homozygot für das Wildtyp-Allel (AA), was bei diesem SNP dem Genotyp GG an der entsprechenden Position entspricht. 47 Proben sind heterozygot (AB) mit dem Genotyp TG und 41 Proben sind homozygot für das Risiko-Allel (BB), was dem Genotyp TT entspricht.

Für die 40 genomweit signifikanten SNPs, soweit auf den SNP-Arrays repräsentiert, wurden die entsprechenden Genotypen für alle 107 Probanden extrahiert. Wie bereits beschrieben wurden daraufhin unterschiedliche Kriterien angewandt, welche die SNP-Anzahl auf 17 reduzierten (11 BD, 8 SCZ). Von den verbliebenen 17 SNPs wurden 8 SNPs mit Hilfe von Proxybeziehungen zu SNPs, die auf den SNP-Arrays repräsentiert waren, genotypisiert. Bei 7 der 8 SNPs konnte jeweils ein Proxy mit $r^2=1$ gefunden werden. Bei einem SNP (rs9371601) wurde ein Proxy-SNP (rs70018) mit einem $r^2=0,892$ verwendet. In allen 8 Fällen, in denen Proxybeziehungen für eine Genotypisierung genutzt wurden, schloss eine zusätzliche Sanger-Sequenzierung der 8 SNPs eine fälschliche Genotypenverteilung im Rahmen der proxybasierten genomweiten Genotypisierung aus.

Von den 107 Probanden konnte eine erfolgreiche Genotypisierung aller 40 SNPs, in Kombination der SNP-arrays mit der Sanger-Sequenzierung in 8 Fällen, erreicht werden.

Im Rahmen der Auswertung der erfassten genetischen Daten wurden drei genetische Ausreißer gefunden (siehe Abb. 10), die somit für die folgenden Untersuchungen ausgeschlossen werden mussten. Diese drei Probanden haben nach genetischen Kriterien keine rein europäische Herkunft und ihr Einschluss hätte die Ergebnisse verfälschen können entsprechend den Kriterien des Studienprotokolls.

Neben den 3 Probanden, die aufgrund genetischer Unregelmäßigkeiten aus dem weiteren Studienprotokoll ausgeschlossen werden mussten, konnten, wie bereits unter Kapitel 2.1 erläutert, 3 weitere Probanden aufgrund von Zufallsbefunden in den T1-gewichteten Sequenzen des cMRT und 3 weitere Probanden aufgrund von technischen Problemen bei der Bearbeitung ihres MRT-Datensatzes mittels Freesurfer nicht in den weiteren Fortlauf der Studie eingeschlossen werden. Somit ergab sich eine Anzahl von insgesamt 98 Probanden, deren Datensätze vollständig ausgewertet werden konnten.

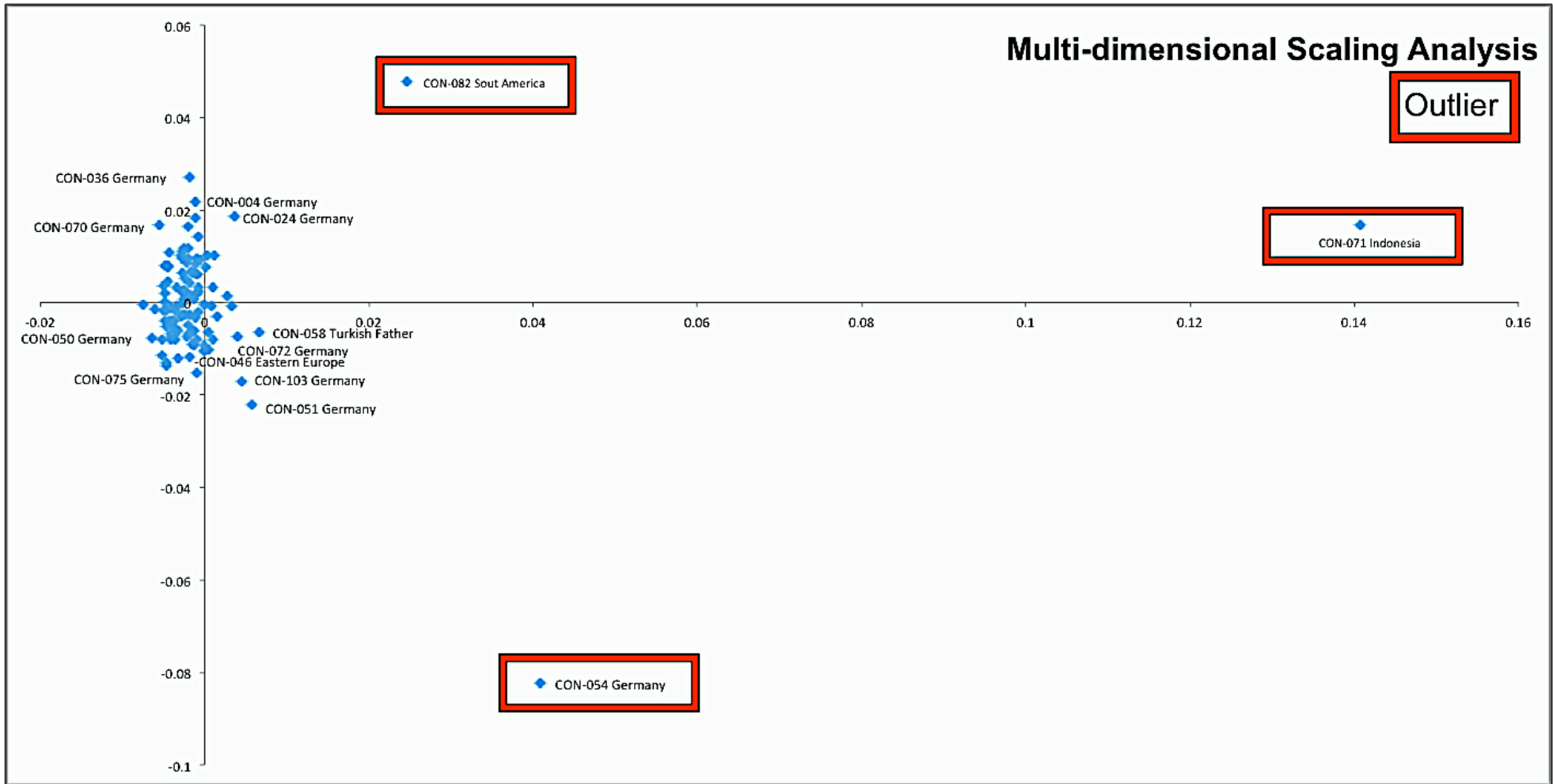


Abb. 10: Multidimensionale Skalierungsanalyse (engl.: Multi-dimensional Scaling Analysis) der mit den Illumina[®] SNP-arrays erfassten genetischen Daten. Die in roten Kästen abgegrenzten anonymisierten Probanden können aufgrund genetischer Inhomogenitäten im Vergleich zum restlichen Kollektiv nicht in die weiteren Untersuchungen eingeschlossen werden, es handelt sich hierbei um sogenannte „outlier“ (Ausreißer).

4.1.1 Erstellung von zwei Genotypgruppen

Zum Vergleich kortikaler Strukturunterschiede mit Hilfe der Software Freesurfer mussten zwei Genotypgruppen geschaffen werden. Dabei sind zwei Gruppenkonstellationen möglich:

- Risikoallelträger (**BB+AB**) **vs.** Nichtrisikoallelträger (**AA**)
- homozygot für das Risikoallel (**BB**) **vs.** heterozygot + Nichtrisikoallelträger (**AB+AA**)

Beide Gruppenkonstellationen sind bei der Untersuchung mittels Freesurfer in der Literatur zu finden. Im Rahmen unseres Studienprotokolls wurde entschieden, Risikoallelträger mit Nichtrisikoallelträgern zu vergleichen (**BB+AB vs. AA**). Dabei geht man davon aus, dass bereits ein mit einer Erkrankung assoziiertes Allel zu einer Veränderung der Genexpression und somit möglicherweise auch zu einer kortikalen Dickenänderung, wenn auch geringeren Ausmaßes (Schultz et al., 2011), führen kann.

4.2 Freesurfer-Auswertung

Für die 17 ausgewählten SNPs wurden, nach erfolgter Prozessierung des MRT-Datensatzes aller 98 Probanden, die entstandenen Gruppen je nach Genotypkonstellation mit Freesurfer analysiert. Dabei wurden Geschlecht und Alter als Kovariate eingeschlossen. Nach erfolgter Monte Carlo-Simulation mit 10.000 Iterationen (siehe Kap. 3.6.3) zum Ausschluss falsch-positiver Ergebnisse konnten bei sieben SNPs teils mehrere zusammenhängende signifikante Cluster gefunden werden. In allen Fällen fand sich in diesen Clustern eine kortikale Dickenabnahme bei den Risikoallelträgern im Vergleich zu den Nichtrisikoallelträgern.

Die folgende Tabelle 5 stellt die SNPs, die Gruppenkonstellationen, die betroffene Hemisphäre, die von der kortikalen Dickenveränderung betroffenen Regionen, die Cluster-Größe und das entsprechende Signifikanzlevel dar.

Tab. 5: SNPs mit nach deren Genotypenkonstellation innerhalb des Probandenkollektivs erreichter Signifikanz. Die erhaltenen Cluster zeigen dabei jeweils eine Dickenminderung des Kortex bei den Risikoallelträgern.

Genetische Risikovarianten mit Effekt auf die Kortikale Dicke in gesunden Probanden									
Geninformationen			Clusteranalysen-Resultate						
Nächstgelegenes Gen oder Transkript	SNP, RA	RAC vs. NonRAC	Hemisphäre	Signifikanter Unterschied in ROI	Dickenänderungen	Fläche (mm ²)	Max p-Wert	CWP	
<i>CNTN6-CNTN4</i> ; intergenic	rs2727943, T	TT + TC (25) vs. CC (73)	Re	lateral occipital, cuneus, lingual gyrus	RAC << NonRAC	3.210,75	2,70E-05	1,00E-04	
			Li	superior parietal, precuneus	(in allen ROIs)	2.805,64	4,60E-04	1,00E-04	
			Li	lateral occipital		2.659,73	7,00E-04	1,00E-04	
			Re	inferior temporal		1.064,05	2,00E-04	1,10E-02	
<i>ADM</i> ; intergenic	rs6484218, A	AA + AG (24) vs. GG (74)	Li	superior parietal, precuneus, cuneus	RAC << NonRAC	4.721,67	1,30E-06	1,00E-04	
			Li	intraparietal sulcus, inferior parietal	(in allen ROIs)	1.062,40	8,10E-05	8,40E-03	
			Re	parahippocampal gyrus		929,84	8,30E-05	2,90E-02	
			Li	lateral occipital, lingual gyrus		861,78	1,80E-03	3,30E-02	
			Re	precentral gyrus		873,06	6,70E-05	4,20E-02	
<i>ZNF804A</i> ; intron	rs1344706, T	TT + TG (80) vs. GG (18)	Re	superior temporal	RAC << NonRAC	1.498,95	1,40E-04	7,00E-04	
<i>SH3YL1</i> ; intergenic	rs300774, A	AA + AC (30) vs. CC (68)	Re	precuneus	RAC << NonRAC	1.341,74	6,80E-04	1,40E-03	
			Re	lateral occipital, fusiform gyrus	(in allen ROIs)	1.134,06	1,40E-03	6,70E-03	
			Li	superior frontal		1.004,03	9,90E-04	1,30E-02	
<i>CSMD1</i> ; intron	rs10503253, A	AA + AC (37) vs. CC (61)	Re	posterior cingulate, precuneus	RAC << NonRAC	1.029,15	2,30E-04	1,40E-02	
<i>GABRR1-GABRR2</i> ; intergenic	rs12201676, C	CC + CT (54) vs. TT (44)	Re	postcentral, rostral superior parietal	RAC << NonRAC	926,88	7,40E-04	2,90E-02	
<i>ODZ4</i> ; intron	rs12576775, G	GG + GA (33) vs. AA (65)	Re	precuneus	RAC << NonRAC	873,91	7,30E-04	4,20E-02	

Befunde sind nach CWP-Wert geordnet.

Folgende Abkürzungen werden verwendet: RA, Risikoallel; RAC, Risikoallelträger; NonRAC, Nicht-Risikoallelträger; Re, Rechts; Li, Links; ROI, Region-of-Interest;

Fläche, Oberfläche des Clusters; Max p-Wert, gibt den p-Wert des Vertex mit der höchsten Signifikanz innerhalb des Clusters an;

CWP, clusterwise p-value (Generelles lineares Modell mit Alter und Geschlecht als Kovariate, korrigiert für multiples Testen)

4.2.1 Detaillierte Darstellung der Ergebnisse

In den jeweils dazugehörigen Abbildungen (Abb. 11-17) werden die signifikanten Cluster zu Darstellungszwecken auf der pialen Oberfläche eines standardisierten dreidimensionalen Gehirnmodells demonstriert.

1. rs27272943 (*CNTN6-CNTN4*)

Bei dem SNP rs27272943 handelt es sich um einen intergenischen SNP in naher Umgebung zu dem Gen *CNTN6-CNTN4*. 25 Risikoallelträger wurden mit 73 Nicht-Risikoallelträgern verglichen bzgl. ihrer kortikalen Dicke. Dabei ergaben sich vier signifikante Cluster, jeweils zwei in beiden Hemisphären, mit einer entsprechenden kortikalen Dickenabnahme.

In der rechten Hemisphäre fand sich das signifikanteste Cluster mit einer CWP= 1×10^{-4} , welches sich über einen Anteil des lateralen Occipitallappens, den dorsalen Cuneus und den dorsalen Gyrus lingualis erstreckt. Mit einer Größe von $3.210,75 \text{ mm}^2$ stellte es für diesen SNP das größte Cluster dar. Die durchschnittliche Dicke des Kortex betrug in dem Cluster für die RAC 1,913 mm und für die NonRAC 2,074 mm, das entsprach einem Dickenunterschied von 7,76 %.

In der linken Hemisphäre lag ein signifikantes Cluster mit einer CWP = 1×10^{-4} mit den größten kortikalen Dickenunterschieden im superioren Parietallappen und im Precuneus. Es hatte eine Größe von $2.805,64 \text{ mm}^2$. Die durchschnittliche kortikale Dicke im Bereich des Clusters betrug für die RAC 2,24 mm und für die NonRAC 2,408 mm, einem Dickenunterschied von 6,98 % entsprechend.

Ein weiteres signifikantes Cluster in der linken Hemisphäre mit einem CWP = 1×10^{-4} zeigte sich zum größten Teil im lateralen Occipitallappen und hatte eine Größe von $2.659,73 \text{ mm}^2$. Der Durchschnitt der kortikalen Dicke betrug für die RAC 2,14 mm und für die NonRAC 2,307 mm, somit bestand ein Dickenunterschied von 7,24 %.

Im rechten inferioren Temporallappen fand sich das letzte signifikante Cluster mit einem CWP = $1,1 \times 10^{-2}$ und mit einer Größe von $1.064,05 \text{ mm}^2$. Der Dickenunterschied lag in diesem Cluster bei 10,29 % bei einer durchschnittlichen kortikalen Dicke des Kortex bei den RAC von 3,05 mm und bei den NonRAC von 3,4 mm.

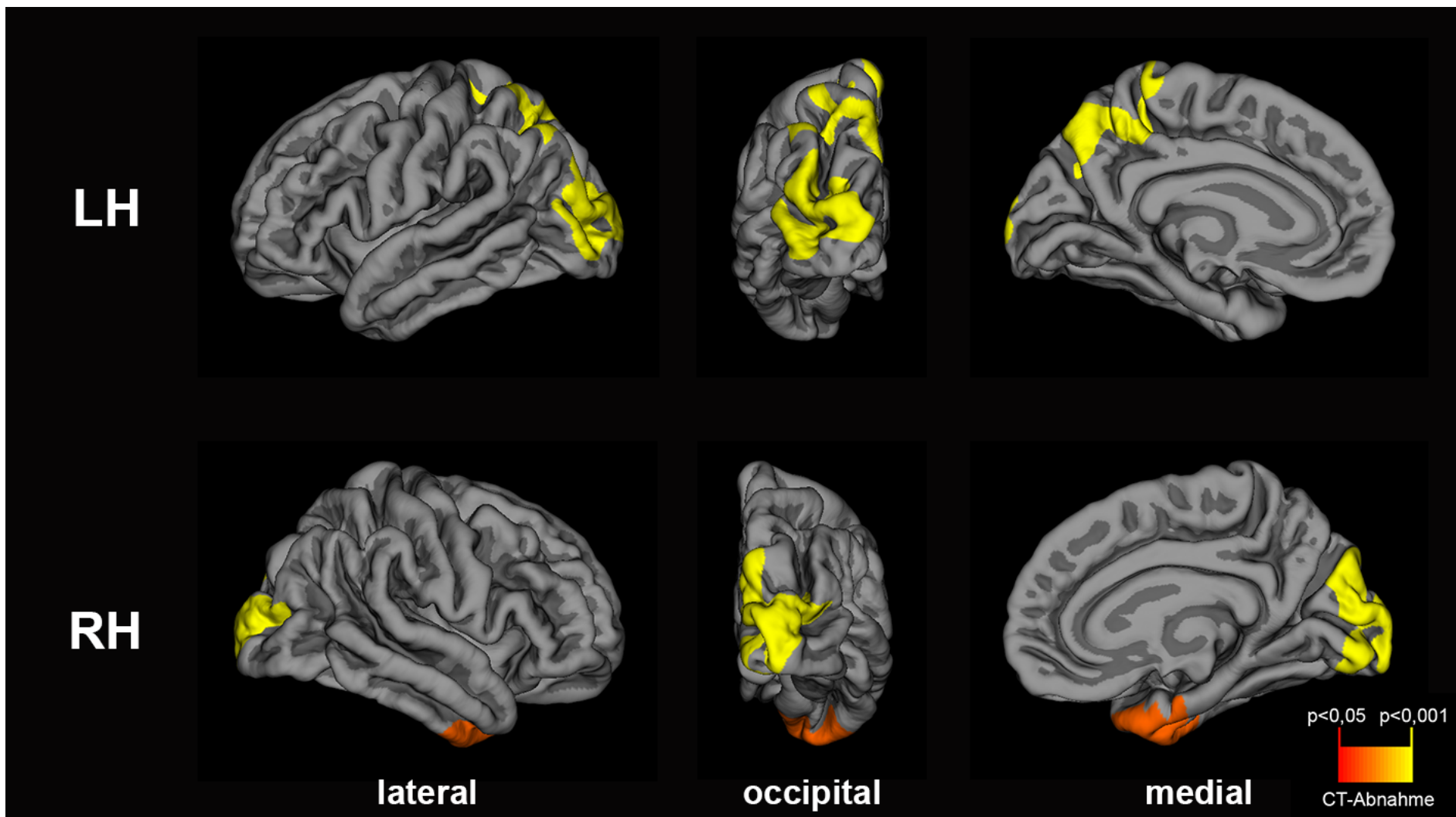


Abb. 11: Signifikante Cluster für SNP rs2727943 (*CNTN6-CNTN4*)

2. rs6484218 (*ADM*)

Der SNP rs6484218 liegt intergenisch in Umgebung zu dem Gen *ADM*. Die kortikale Dicke wurde verglichen zwischen 24 Risikoallelträgern und 74 Nicht-Risikoallelträgern. Im Rahmen der Freesurfer-Analyse ergaben sich fünf signifikante Cluster, wovon drei in der linken und zwei in der rechten Hemisphäre lagen.

In der linken Hemisphäre stellte sich das größte signifikante Cluster für diesen SNP dar mit einem CWP = 1×10^{-4} , dessen Hauptanteile im superioren Parietallappen, dem Precuneus und dem Cuneus lagen. Es hatte eine Größe von 4.721,67 mm². Die durchschnittliche Dicke für das Cluster betrug bei den RAC 1,932 mm und bei den NonRAC 2,092 mm, somit ergab sich ein Dickenunterschied von 7,65 %.

Ein weiteres signifikantes Cluster in der linken Hemisphäre schloss Teile des intraparietalen Sulcus und des inferioren Parietallappen ein mit einem CWP = $8,4 \times 10^{-3}$ und einer Größe von 1.062,4 mm². Hierbei betrug die durchschnittliche Dicke bei den RAC 2,008 mm und bei den NonRAC 2,168 mm, einem Dickenunterschied von 7,38 % entsprechend.

In der rechten Hemisphäre stellte sich im Bereich des Gyrus parahippocampalis ein signifikantes Cluster dar mit einem CWP = $2,9 \times 10^{-2}$ und einer Größe von 929,84 mm². Hierbei ergab sich eine durchschnittliche kortikale Dicke in dem Cluster für die RAC von 2,558 mm und für die NonRAC von 2,793 mm, der Dickenunterschied machte 8,41 % aus.

In der linken Hemisphäre befand sich im lateralen Okzipitallappen und im Gyrus lingualis ein Cluster mit einem CWP = $3,3 \times 10^{-2}$ und einer Größe von 861,78 mm². Der Dickenunterschied betrug 9,04 % bei einer durchschnittlichen kortikalen Dicke für die RAC von 1,962 mm und für die NonRAC von 2,157 mm.

Das Cluster mit niedrigster Signifikanz für diesen SNP fand sich im rechten Gyrus praecentralis mit einem CWP = $4,2 \times 10^{-2}$ und einer Größe von 873,06 mm². Durchschnittlich betrug die kortikale Dicke bei den RAC 2,176 mm und bei den NonRAC 2,374 mm, einem Dickenunterschied von 8,34 % entsprechend.

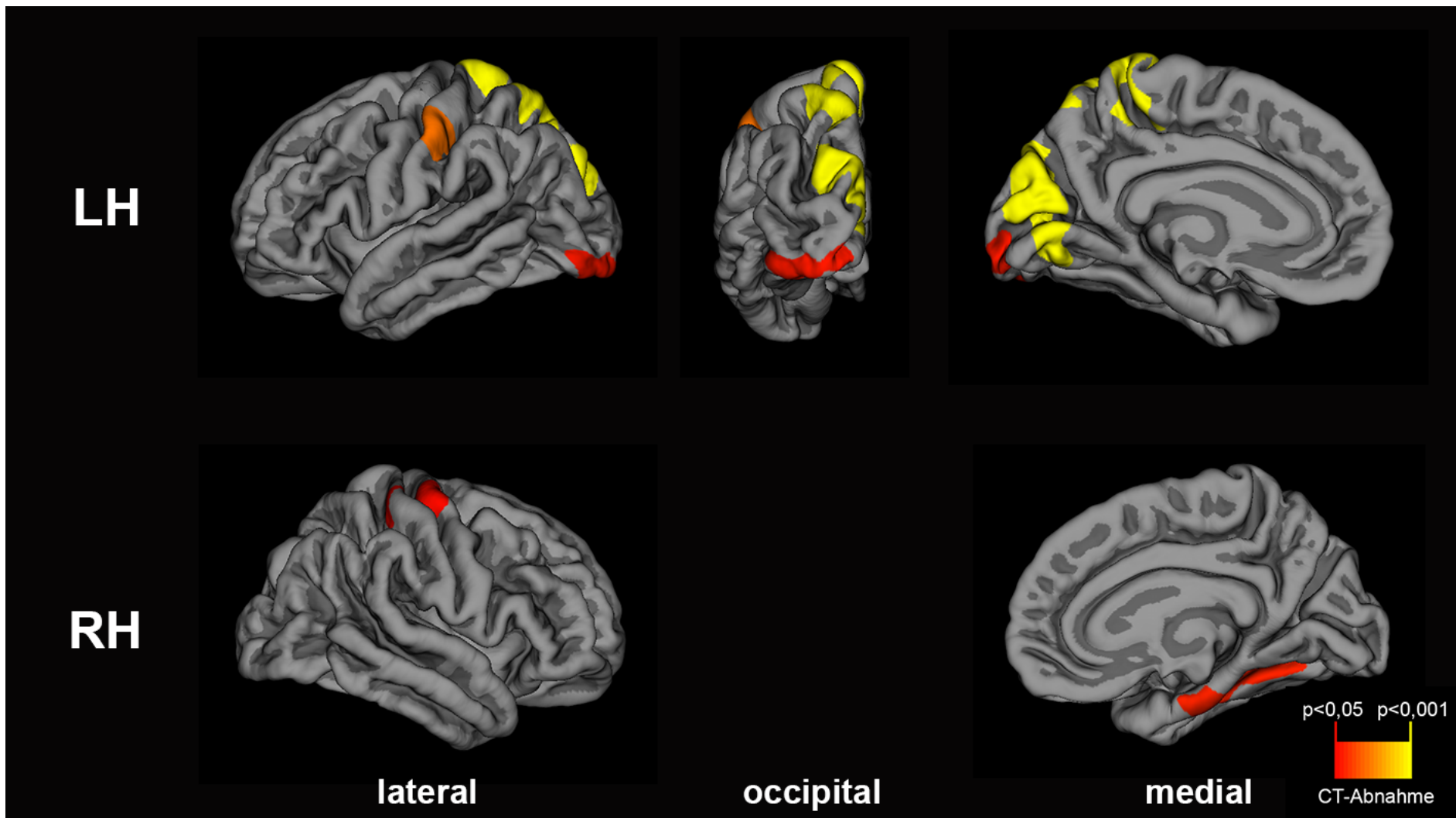


Abb. 12: Signifikante Cluster für SNP rs6484218 (ADM)

3. rs1344706 (*ZNF804A*)

Der SNP rs1344706 liegt intronisch in unmittelbarer Umgebung zu dem Gen *ZNF804A*. 80 Risikoallelträger wurden mit 18 Nicht-Risikoallelträgern verglichen. Das dazugehörige signifikante Cluster fand sich im superioren Temporallappen und hatte einen CWP = 7×10^{-4} bei einer Größe von 1.498,98 mm². Die durchschnittliche Dicke ergab bei den RAC 2,916 mm und bei den NonRAC 3,158 mm mit einem Dickenunterschied von 7,66 %.

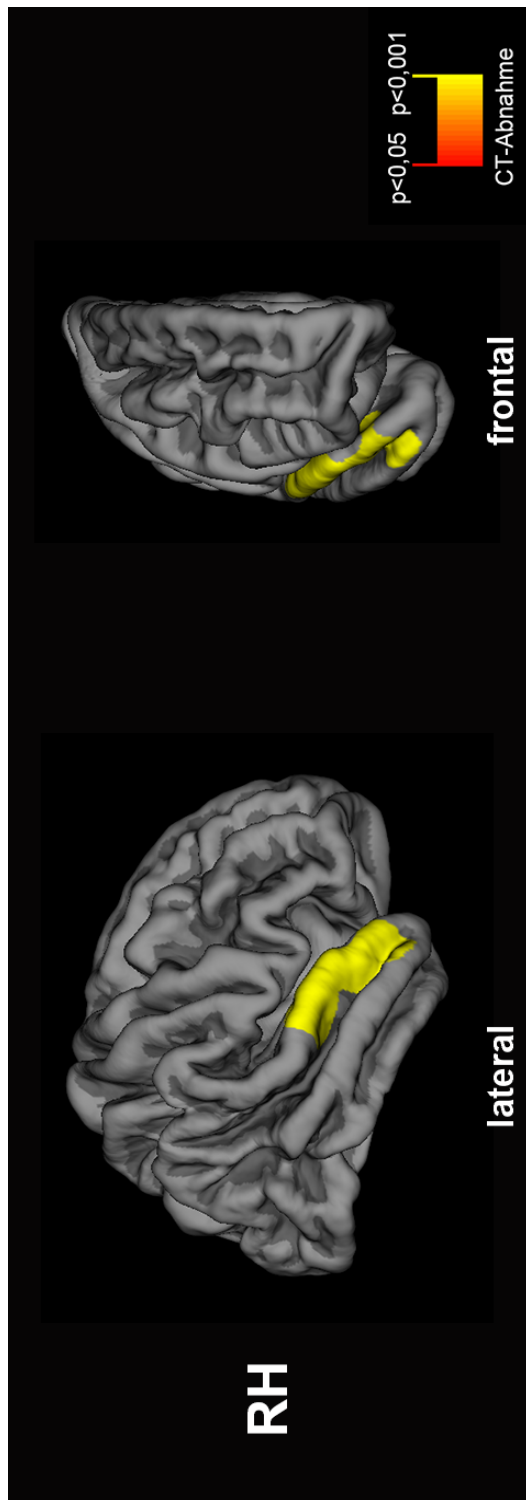


Abb. 13: Signifikantes Cluster für SNP rs1344706 (*ZNF804A*)

4. rs300774 (*SH3YL1*)

Der SNP rs300774 ist intergenisch in Nähe zum Gen *SH3YL1* gelegen. 30 Risikoallelträger wurden in der Freesurfer-Analyse mit 68 Nicht-Risikoallelträgern verglichen. Dabei wurden drei signifikante Cluster gefunden, zwei in der rechten Hemisphäre und eins in der linken Hemisphäre. Ein signifikantes Cluster in der rechten Hemisphäre lag mit dem signifikantesten Anteil im Precuneus mit einem CWP = $1,4 \times 10^{-3}$ und einer Größe von $1.341,74 \text{ mm}^2$. Der Dickenunterschied maß $7,70 \%$ bei einer durchschnittlichen kortikalen Dicke bei den RAC von $1,845 \text{ mm}$ und bei den NonRAC von $1,999 \text{ mm}$. Ein weiteres signifikantes Cluster in der rechten Hemisphäre fand sich hauptsächlich im lateralen Okzipitallappen und im Gyrus fusiformis. Es zeigte sich ein CWP = $6,7 \times 10^{-3}$ bei einer Größe von $1.134,06 \text{ mm}^2$. Die durchschnittliche kortikale Dicke in dem Cluster betrug für die RAC $2,252 \text{ mm}$ und für die NonRAC $2,435 \text{ mm}$, einem Dickenunterschied von $7,52 \%$ entsprechend.

In der linken Hemisphäre zeigte sich das am wenigsten signifikante Cluster im superioren Frontallappen mit einem CWP = $1,3 \times 10^{-2}$ und einer Größe von $1.004,03 \text{ mm}^2$. Der Dickenunterschied lag bei $6,29 \%$ bei einer kortikalen Dicke für die RAC von $2,429 \text{ mm}$ und für die NonRAC von $2,592 \text{ mm}$.

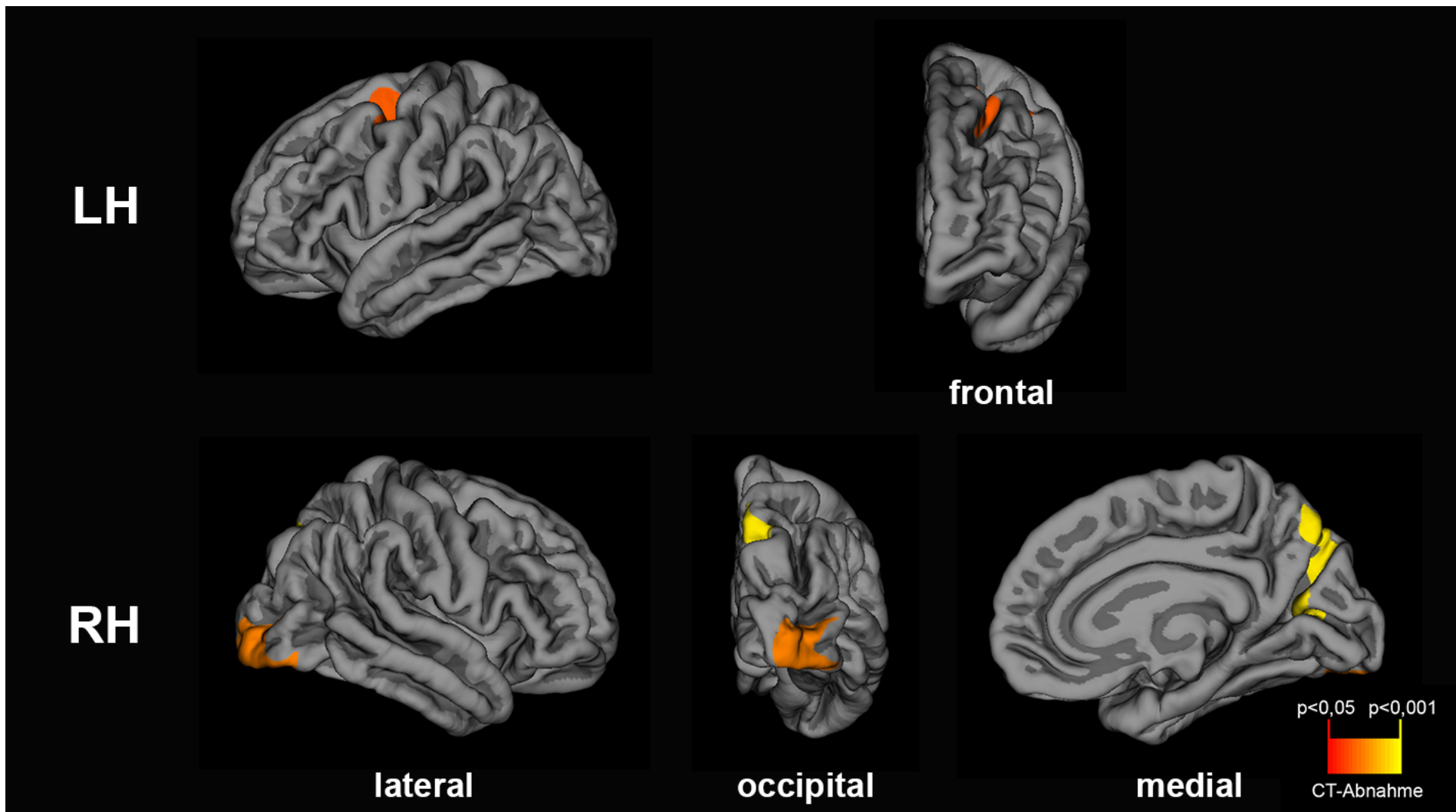


Abb. 14: Signifikante Cluster für SNP rs300774 (*SH3YL1*)

5. rs10503253 (*CSMD1*)

Der SNP rs10503253 liegt in einem Intron mit dem Gen *CSMD1* in naher Umgebung. 37 Risikoallelträger wurden bzgl. der kortikalen Dicke mit 61 Nicht-Risikoallelträgern verglichen. Dabei ergab sich ein signifikantes Cluster in der rechten Hemisphäre vorwiegend im posterioren Gyrus cinguli und im Precuneus liegend mit einem CWP = $1,4 \times 10^{-2}$ und einer Größe von 1.029,15 mm². Die kortikale Dicke betrug in dem Cluster bei den RAC 2,741 mm und bei den NonRAC 2,904 mm. Der Dickenunterschied lag hierbei bei 5,61 %.

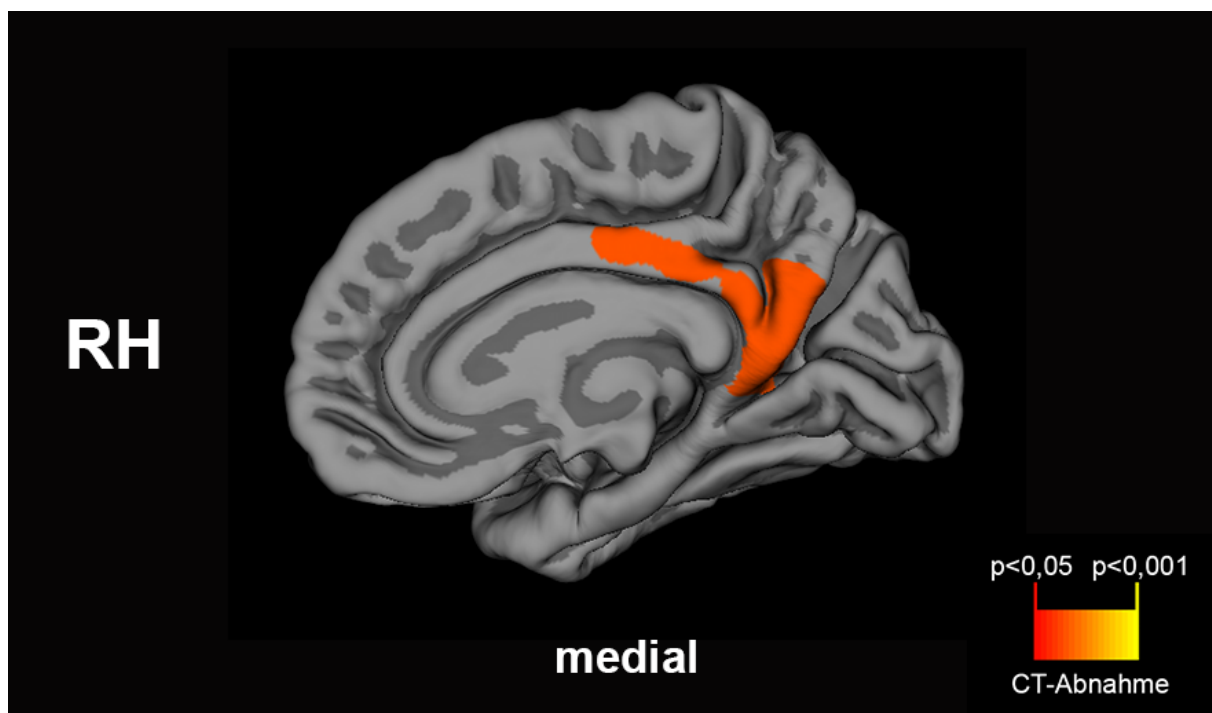


Abb. 15: Signifikantes Cluster für SNP rs10503253 (*CSMD1*)

6. rs12201676 (*GABRR1-GABRR2*)

Der SNP rs12201676 liegt intergenisch in Umgebung zu dem Gen *GABRR1-GABRR2*. 54 Risikoallelträger wurden mit 44 Nicht-Risikoallelträgern verglichen. Ein signifikantes Cluster wurde im Gyrus postcentralis und rostralen superioren Parietallappen gefunden. Das Cluster hatte einen CWP = $2,9 \times 10^{-2}$ und eine Größe von $926,88 \text{ mm}^2$. Der Dickenunterschied lag bei 7,57 % bei einer durchschnittlichen kortikalen Dicke in dem Cluster für die RAC von 1,856 mm und für die NonRAC von 2,008 mm.

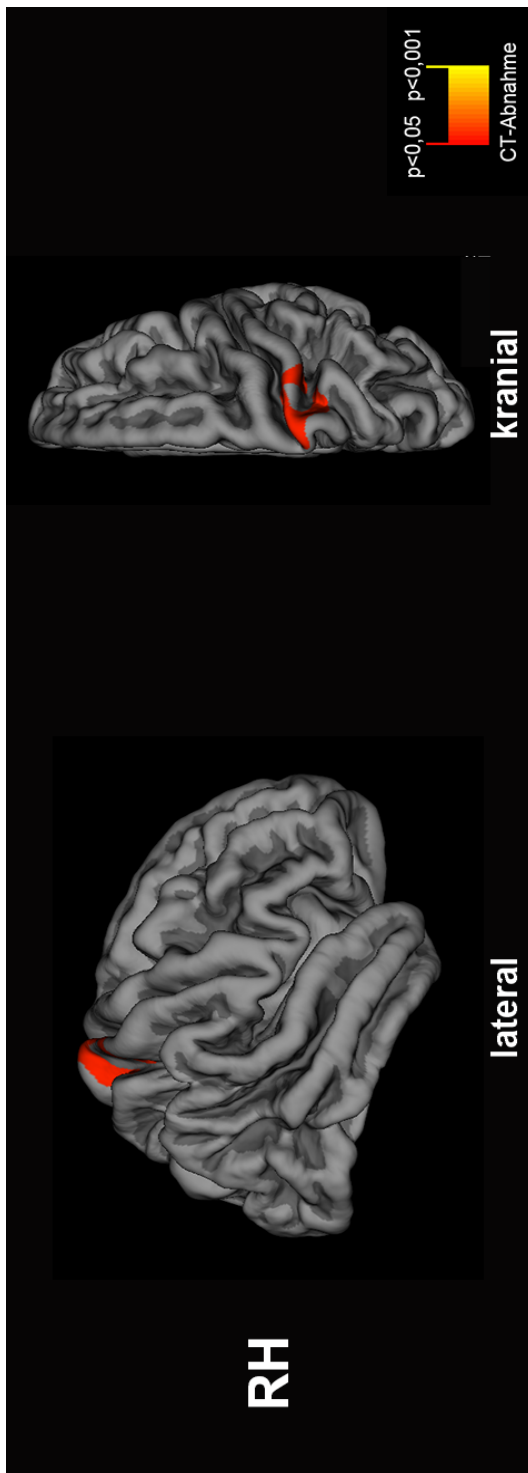


Abb. 16: Signifikantes Cluster für SNP rs12201676 (*GABRR1-GABRR2*)

7. rs12576775 (ODZ4)

Der intronische SNP rs12576775 liegt in Umgebung zu dem Gen *ODZ4*. 33 Risikoallel-träger wurden mit 65 Nicht-Risikoallelträgern verglichen. Dabei stellte sich ein signifikantes Cluster mit überwiegender Lage im Precuneus dar und einem CWP = $4,2 \times 10^{-2}$ mit einer Größe von 873,91 mm². Es ergab sich ein Dickenunterschied von 5,63 % bei einer durchschnittlichen kortikalen Dicke in dem Cluster für die RAC von 2,077 mm und für die NonRAC von 2,201 mm.

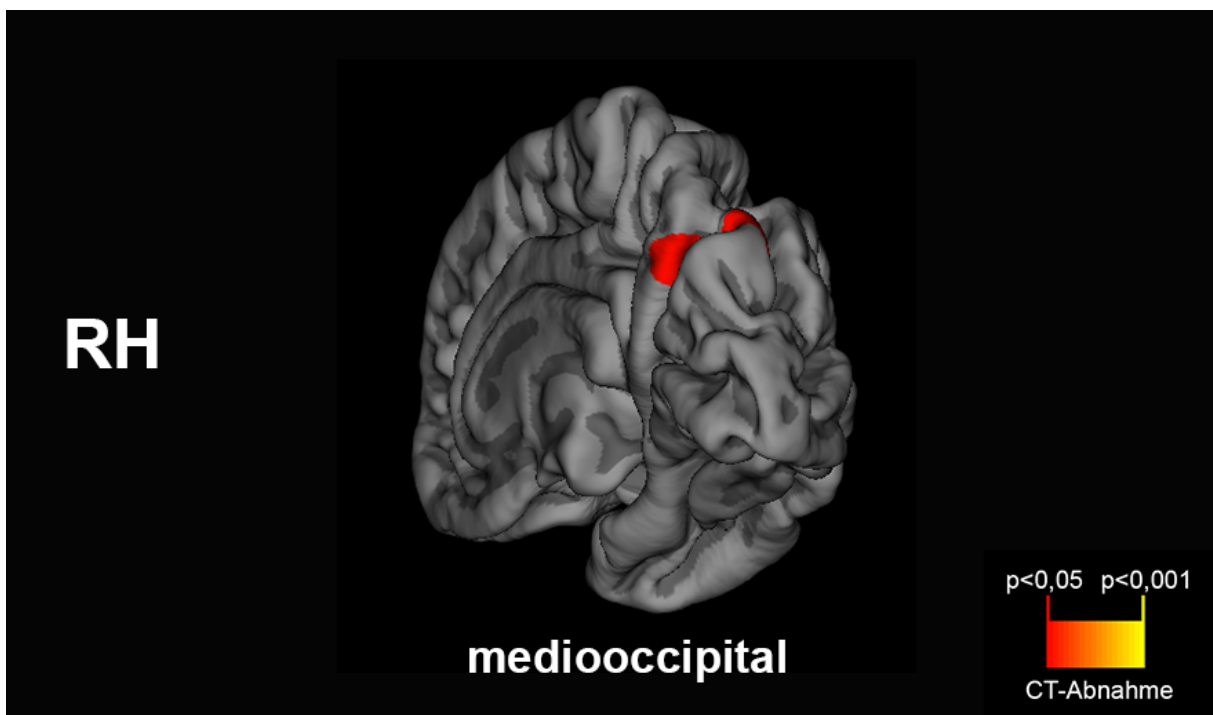


Abb. 17: Signifikantes Cluster für SNP rs12576775 (*ODZ4*)

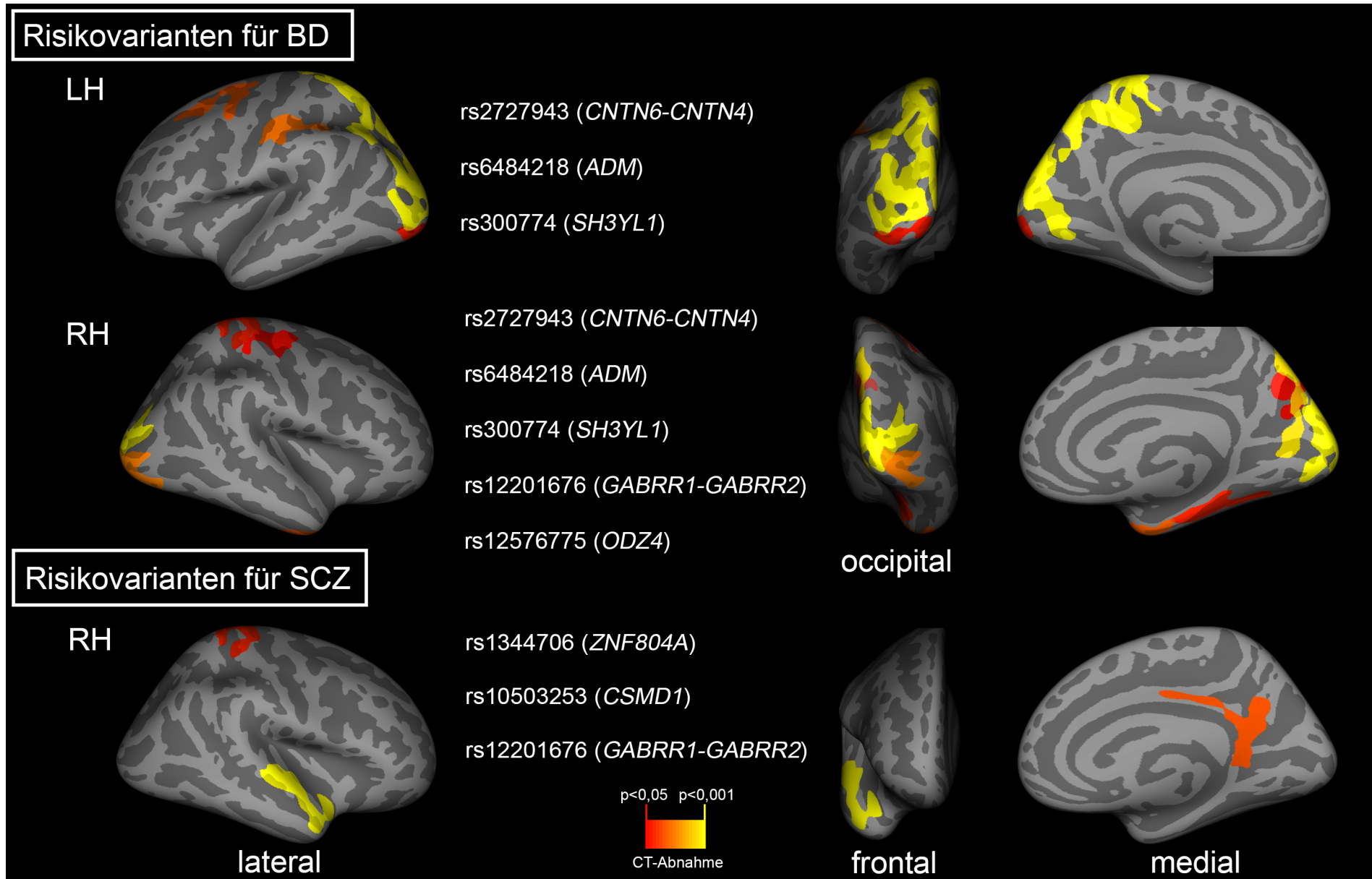


Abb. 18: Zusammenfassung der Ergebnisse der Korrelationen zwischen kortikalen Dickenveränderungen und Genotypenverteilung bezüglich der Assoziation mit BD und SCZ. Dabei wird die Signifikanz der erhobenen Ergebnisse farblich dargestellt (zunehmend von rot nach gelb). Darstellung der Hirnoberfläche im „inflated view“ zur verbesserten Darstellung der Ausdehnung unserer Befunde.

5. Diskussion

In der vorliegenden Studie wurden 107 gesunde Probanden sowohl genetisch als auch kernspintomographisch untersucht. Nach Vortests verblieben die genetischen und tomographischen Datensätze von 98 Probanden, die miteinander verglichen werden konnten, eingeteilt in zwei Gruppen, nämlich Risikoallelträger (BB vs. AB) und Nicht-Risikoallelträger (AA). Genetisch untersucht wurden 40 für BD und/oder SCZ genomweit signifikante SNPs, der Gruppenvergleich wurde letztlich für 17 SNPs durchgeführt. Dabei fanden sich bei 7 von 17 für BD und/oder SCZ genomweit signifikanten SNPs signifikante kortikale Dickenunterschiede, nämlich Verminderungen der kortikalen Dicke, in einer oder beiden Hirnhemisphären im Vergleich von gesunden Risikoallelträgern mit Nicht-Risikoallelträgern (siehe Kap. 4). Dabei ist dies, nach unserem Wissen, die erste Studie, die einen Studienaufbau mit systematischer Auswahl der zu untersuchenden SNPs (siehe Abb. 4), Analyse der kortikalen Dicke mittels Freesurfer und darauffolgender Korrelation dieser Parameter miteinander gewählt hat.

In den folgenden Abschnitten sollen zunächst neuroanatomische, genetische und Genomic Imaging-Vorbefunde, jeweils für SCZ und/oder BD, aufgezeigt werden. Daraufhin erfolgt eine kritische Betrachtung der von uns angewandten Methoden, wie z. B. die SNP-Auswahl, die Gruppengröße und -verteilung und die Software Freesurfer. Im Weiteren werden die Lokalisationen der gefundenen signifikanten Cluster anatomisch und funktionell eingeordnet und in den derzeitigen wissenschaftlichen Kontext gestellt. Abschließend wird exemplarisch für einen SNP (rs1344706 - *ZNF804A*), dessen Bedeutung in der Literatur am besten belegt ist, eine genauere Interpretation der Ergebnisse erfolgen.

5.1 Einordnung in die Literatur

5.1.1 Neuroanatomische Vorbefunde:

Für Patienten mit SCZ und/oder BD gibt es zahlreiche neuroanatomische Studien ohne genetisches Korrelat, die zeigen konnten, dass sich bei diesen Erkrankten im Vergleich zu Gesunden signifikant häufiger eine alterierte Neuroanatomie nachweisen lässt.

Dies betrifft eine Reihe anatomischer Merkmale, die mittels MRT und geeigneter Auswertungssoftware erfasst und analysiert werden können.

Exemplarisch haben Doring et al. (2011) 27 Patienten mit Bipolarer Störung und 40 gesunde Probanden untersucht und ein signifikant niedrigeres Hippocampus-Volumen bei den Patienten festgestellt. Dies ist insofern interessant, als dass der Hippocampus u. a. dafür zuständig ist, emotional relevante Daten in den deklarativen Speicher zu übertragen (Doring et al., 2011). Zusätzlich ist der Hippocampus Teil unseres Belohnungssystems (Vanni-Mercier et al. 2009) mit Dopamin als dazugehörigem Botenstoff.

Nesvag et al. (2013) haben an 207 Schizophrenie-Erkrankten und 206 Gesunden eine Studie zur kortikalen Faltung durchgeführt und gefunden, dass die kortikale Faltung bei Schizophrenie-Erkrankten links präzentral, rechts temporal und im Bereich des rechten Precuneus reduziert war. Die kortikale Faltung oder Gyrierung wird während der embryonalen bzw. fetalen Entwicklung festgelegt, somit entsteht möglicherweise schon während dieser Phase eine entsprechende Prädisposition, die erst später relevant wird.

Rimol et al. (2012) fanden bei 173 an Schizophrenie-Erkrankten und 139 an Bipolarer Störung-Erkrankten im Vergleich mit 207 gesunden Probanden ausgeprägte Verminderungen des kortikalen Volumens, jeweils anteilig alle Lobi betreffend, vor allem bedingt durch eine Reduktion der kortikalen Dicke.

Neben Rimol et al. (2012) gab es weitere Studien, die eine Reduktion der kortikalen Dicke sowohl bei Schizophrenie als auch bei Bipolarer Störung beschrieben:

Die Studie von Schultz et al. (2010a) war dabei die erste Oberflächen-basierte Studie, die den gesamten Kortex bei Schizophrenen mit erster Episode untersuchte; die Autoren fanden dabei eine signifikante Ausdünnung des Kortex präfrontotemporal, im anterioren Cingulum und in parietalen Arealen. Eine weitere Studie von Schultz et al. (2010b) zeigte bei schon länger an Schizophrenie-Erkrankten eine diffuse kortikale Ausdünnung, die den dorsolateralen präfrontalen Kortex, den lateralen temporalen Kortex, den Precuneus und den Gyrus lingualis betraf.

Ehrlich et al. (2012) untersuchten 131 Schizophrene und 138 gesunde Probanden und konnten eine Korrelation zwischen kognitiven Defiziten und regionaler kortikaler Ausdünnung, z. B. im rechten mittleren und superioren Temporallappen, nachweisen.

Lyoo et al. (2006) beschrieben bei 25 an Bipolarer Störung-Erkrankten im Vergleich zu 21 Gesunden eine signifikante kortikale Ausdünnung, u. a. in mehreren präfrontalen Kortices.

Besonders aussagekräftig ist die Meta-Analyse von Ellison-Wright und Bullmore aus dem Jahre 2010:

In dieser wurden systematisch voxel-basierte Studien, die Veränderungen der grauen Substanz des gesamten Hirns bei Patienten mit SCZ oder BD untersuchten und diese Veränderungen mittels dreidimensionaler Koordinaten stereotaktisch codierten, eingeschlossen. Letztlich wurden, nach Anwendung von Exklusionskriterien, 42 SCZ-Studien mit 2.058 Patienten und 2.131 Kontrollen und 14 BD-Studien mit 366 Patienten und 497 Kontrollen in die Meta-Analyse inkludiert.

Dabei wurde in 13 der 14 Studien zur Neuroanatomie von Patienten mit Bipolarer Störung insbesondere eine Abnahme der grauen Substanz festgestellt, vorwiegend in der rechten und linken Insel und im anterioren Cingulum. Einzelne Befunde, die eine Zunahme der grauen Substanz beschrieben, zeigten sich in der Meta-Analyse als nicht konsistent.

Alle 42 Schizophrenie-Studien wiesen insbesondere eine Abnahme der grauen Substanz nach, vor allem in beiden Inseln und sich weiter ausdehnend in den DLPFC, den superioren temporalen Kortex, den Thalamus, das anteriore und posteriore Cingulum und den medialen Gyrus frontalis. In der Meta-Analyse stellte sich bei den Schizophrenie-Studien jedoch auch eine kortikale Dickenzunahme, die den rechten Globus pallidus und den linken Nucleus caudatus betraf, als konsistent dar.

Insgesamt war die Abnahme der grauen Substanz ausgeprägter bei den Schizophrenen als bei den Bipolaren, die betroffenen Regionen überlappten sich dabei in großen Anteilen.

Zusammenfassend zeigt die genannte Literatur, dass sich bereits in „case-control“-Designs mit schizophrenen oder bipolaren Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden sowohl kortikale Dickenabnahmen als auch Volumenabnahmen des Kortex und des Hippocampus oder eine Abnahme der grauen Substanz nachweisen lassen.

Diese Veränderungen der Endophänotypen für die beiden Krankheitsbilder bestätigen die Annahme von Bassett und Bullmore (2009), Horn et al. (2009) und Hugdahl et al.

(2009), die davon ausgingen, dass Funktionsstörungen auch mit entsprechenden Strukturveränderungen der beteiligten Hirnabschnitte einhergehen. Mit dem Wissen, dass bestimmte Risikogene sowohl mit der Schizophrenie als auch der Bipolaren Störung assoziiert sind (International Schizophrenia Consortium et al., 2009; Moskvina et al., 2009), kann man schließen, dass die Dysfunktion bestimmter Gene mit einer Veränderung des Endophänotyps, in diesem Fall des Kortex, einhergehen. Anatomische Alterationen als Veränderungen der kortikalen Strukturen können Ursache einer gestörten Funktion des neuronalen Netzwerkes sein, was wir als schizophrene oder bipolare Verhaltensmuster wahrnehmen.

5.1.2 Genetische Vorbefunde:

Wie bereits im Kapitel 1.2 beschrieben ermöglichen GWAS einen vorbekannten Phänotyp mit bestimmten Haplotypen (bzw. Allelen) zu assoziieren. Von genomweit signifikanten SNPs für eine Erkrankung erwartet man einen krankheitsverursachenden Effekt. Dabei hat der genomweite Ansatz den Vorteil, dass das gesamte Genom und nicht vorausgewählte Varianten bzw. Gene untersucht werden und somit die Analyse auch unerwartete Gene als mögliches Risikogen zum Vorschein bringen kann, er wird deshalb auch als „hypothesenfrei“ bezeichnet (Hirschhorn und Daly, 2005). Allerdings werden, trotz großer technischer Fortschritte in den letzten Jahren, vor allem häufige Haplotypen mit einem Phänotyp assoziiert, seltenere Varianten bleiben unentdeckt. Außerdem wird keine direkte Kausalität zwischen Gen und Erkrankung, sondern nur eine Korrelation zwischen Polymorphismen, meist SNPs, und Phänotypen beschrieben, so dass weitere Untersuchungen die erfassten Ergebnisse bestätigen müssen (Ermann und Glimcher, 2012). Das größte Problem, GWAS-Ergebnisse einzuordnen, ist aber sicherlich das limitierte Wissen über die Funktion großer Teile des menschlichen Genoms. Somit ist auch die Funktion vieler Gene, die sich in der Nähe genomweit signifikanter SNPs befinden, weiterhin unklar. Viele genomweit signifikante SNPs liegen in Introns, die herausgespleißt werden, oder in nicht-codierenden Genregionen. Der Effekt solcher Genvarianten lässt sich mit der üblichen Vorstellung der Proteinbiosynthese nicht in Einklang bringen, da aus diesen DNA-Abschnitten kein fehlerhaftes Protein entstehen kann, das einen Funktionsverlust oder eine Funktionsabweichung mit daraus folgender Entstehung eines pathologischen Phänotypen hervorrufen könnte. Das unvollständige Wissen über regulatorische Mechanismen verstärkt zusätzlich die Unklar-

heit, inwiefern, und, wenn ja, in welchem Maße, eine Verbindung zwischen assoziierter Variante mit der tatsächlichen Funktion besteht (Krawczak, 2014; Kriebel et al., 2012). Dennoch sieht man an der großen Anzahl von GWAS, die nominell primär mit BD (201) und/oder SCZ (166) assoziierte SNPs nachweisen (Stand: 20.04.2012), das große Interesse, dem genetischen Hintergrund dieser beiden häufigen psychiatrischen Krankheitsbilder auf die Spur zu kommen. Die Notwendigkeit, die Anzahl falsch-positiver Ergebnisse aufgrund der vielen getesteten Varianten mit Hilfe der Bonferroni-Korrektur für multiples Testen durch einen konservativen Grenzwert von $p = 5 \times 10^{-8}$ möglichst klein zu halten, reduziert die Menge genomweit signifikanter SNPs für BD und SCZ deutlich (BD=21, SCZ=21) (siehe Tab. 2).

Exemplarisch werden einzelne für unsere Studie interessante GWAS und ihre Besonderheiten aufgezählt:

In der Publikation von Cichon et al. (2011) wurde die genetische Variante rs1064395 beschrieben, die sich in Assoziation mit BD als genomweit signifikant herausstellte. Dabei ergab sich in der kombinierten Analyse aller vorliegenden samples (8.441 Patienten, 35.362 Kontrollen) ein $p = 2,14 \times 10^{-9}$. Der SNP liegt im untranslatierten Bereich (3'-UTR) des Gens *NCAN* auf dem Chromosom 19p13.11. *NCAN* wurde zunächst im Rattengehirn beschrieben, in dem es insbesondere in der ersten Woche nach Geburt exprimiert wird (Rauch et al., 1992). Es codiert das Protein Neurocan, welches ein Glycoprotein der extrazellulären Matrix darstellt und in die Zelladhäsion und Zellmigration involviert zu sein scheint. Im Rahmen der Studie wurde bei postnatalen Mäusen mittels RNA-Hybridisierung die stärkste Expression im Kortex und im Hippocampus gezeigt, beim Menschen wurde mittels Transkriptionsanalysen eine hohe Konzentration von Neurocan im Hippocampus nachgewiesen. Diese anatomischen Regionen sind bekanntermaßen entscheidend für die Kognition und Emotionsregulation und wurden bereits in zahlreichen Studien mit BD in Verbindung gebracht (Frey et al., 2007). Letztendlich stellt somit *NCAN* einen Suszeptibilitätsfaktor für BD dar.

In der Studie von O'Donovan et al. (2008) fand sich in der Meta-Analyse der durchgeführten GWAS mit SCZ als genetischem Merkmal (7.308 Patienten, 12.834 Kontrollen) für den SNP rs1344706 ein $p = 1,95 \times 10^{-7}$. Der SNP liegt intronisch im Gen *ZNF804A* auf dem Chromosom 2q32.1. Das codierte Gen hat keine bekannte Funktion,

allerdings enthält es Zinkionen und DNA-Bindungsstellen, was auf eine mögliche Rolle in der Regulation der Genexpression schließen lässt. In einer weiteren Analyse wurden die Genotypen von 1.865 an BD-Erkrankten mit den bereits untersuchten Genotypen der SCZ-Patienten kombiniert und zusammen mit den vorliegenden Kontrollen in einer zweiten für SCZ und BD kombinierten Meta-Analyse zusammengefasst (9.173 SCZ + BD-Patienten, 12.834 Kontrollen). Hierbei verbesserte sich der p-Wert für den SNP rs1344706 deutlich ($p = 9,96 \times 10^{-9}$). Dies weist darauf hin, dass an *ZNF804A* angrenzende Risikoallele einen breiteren psychiatrischen Phänotyp als nur das Krankheitsbild der Schizophrenie beeinflussen. Weitere pathophysiologische Beurteilungen der Ergebnisse blieben im Rahmen dieser Studie leider aus.

Sklar et al. (2011) (Psychiatric GWAS Consortium Bipolar Disorder Working Group) bestätigten einen SNP (rs4765913) im bereits als genomweit signifikant beschriebenen Gen *CACNA1C* und fanden ein neues BD-Suszeptibilitätsgen, nämlich *ODZ4*, mit Hilfe eines intronisch gelegenen SNPs (rs12576775). Dabei ergab sich in der Meta-Analyse der kombinierten GWAS (11.974 BD-Patienten, 51.792 Kontrollen) ein $p = 1,52 \times 10^{-8}$ für den SNP rs4765913 (*CACNA1C*) und ein $p = 4,4 \times 10^{-8}$ für den SNP rs12576775 (*ODZ4*). Der SNP rs4765913 liegt intronisch im Gen *CACNA1C* auf Chromosom 12p13.33; dabei codiert *CACNA1C* die α -Untereinheit des L-Typ spannungsabhängigen Kalziumkanals. Dieser spannungsabhängige Kalziumkanal spielt anscheinend eine wichtige Rolle in der Pathogenese der Bipolaren Störung, indem er über die Genregulation einen direkten Effekt auf die Transkription hat und somit möglicherweise die neuronale Plastizität beeinflusst (Gomez-Ospina et al., 2006). Eine Stimmungsstabilisierung unter Therapie mit Ionenkanalfunktion-verändernden Medikamenten konnte bereits nachvollzogen werden. Insbesondere die Blockierung der vorbeschriebenen L-Typ Kalziumkanäle zeigte Wirksamkeit im Rahmen der BD-Therapie (Levy und Janicak, 2000). Der SNP rs12576775 liegt im ersten Intron von *ODZ4* auf Chromosom 11q14.1; das Gen *ODZ4* stellt das menschliche Homolog des *Drosophila* Paarreglens *ten-m* (*odz*) dar. Teneurin-4 (*Ten-4/ODZ4*) ist ein Transmembranprotein und wird exprimiert v. a. im Nervensystem, aber auch im mesenchymalen Gewebe (Suzuki et al., 2012). Die Genfamilie der Teneurine (ODZ) regulieren die Transkriptionsaktivität und unterstützen das Wachstum von Neuriten und die Zelladhäsion. Außerdem zeigen sie eine regulierende Funktion auf Transkriptionsfaktoren (Young und Leamey, 2009). Mittlerweile

wurde *ODZ4* in einer weiteren GWAS (24.025 BD-Patienten, 24.025 Kontrollen) als Risikogen für BD bestätigt (Mühleisen et al., 2014).

5.1.3 Genomic Imaging-Vorbefunde:

Mit dem Fortschritt sowohl in der Humangenetik als auch in der MR-Bildgebung findet sich zunehmend eine Integration dieser beiden Felder, um u. a. genetische Auswirkungen auf die Hirnanatomie besser zu verstehen oder im Hinblick auf bestehende Alterationen der Hirnanatomie, neue dafür verantwortliche Gene zu finden. Insbesondere seit Ende des Human Genome Projects im Jahre 2003 stieg die Anzahl der jährlich publizierten „Imaging Genomics“-Artikel von 5 im Jahre 2003 bis auf 14 im Jahre 2006 (Glahn et al., 2007). Von einer exponentiell zunehmenden Anzahl ist somit auch in den darauffolgenden Jahren bis heute auszugehen.

Wichtige Genomic Imaging-Vorbefunde werden in den Tabellen 6 bis 8 dargestellt.

Tab. 6: Genomic Imaging-Vorbefunde von strukturellen und funktionellen Hirnparenchymveränderungen für SNPs, die in dieser Studie mit einer signifikanten kortikalen Dickenabnahme assoziiert waren

Genomic Imaging-Vorbefunde von strukturellen und funktionellen Parametern des Hirnparenchyms für SNPs, für die in unserer Studie eine signifikante Abnahme der kortikalen Dicke gezeigt werden konnte						
SNP, RA	Gen	Studie	assoziierte Erkrankung	untersuchtes Merkmal	Befund	betroffene anatomische Region
rs1344706, T	ZNF804A	Esslinger C et al., 2009	SCZ	Funktionelle Konnektivität	Reduktion bei Gesunden in RAC	innerhalb DLPFC und zwischen DLPFC bds.
rs1344706, T	ZNF804A	Lencz T et al., 2010	SCZ	GM-Volumen	Reduktion bei Gesunden in RAC	linker Gyrus angularis, Gyrus frontalis inferior, Gyrus cinguli
rs1344706, T	ZNF804A	Donohoe G et al., 2011	SCZ	GM-Volumen	Reduktion bei Patienten vs. Gesunden in RAC	Gyrus temporalis superior /medialis, Gyrus frontalis superior, Gyrus parietalis inferior, Insula, Thalamus, Gyrus cinguli
rs1344706, T	ZNF804A	Donohoe G et al., 2011	SCZ	GM-Volumen	Zunahme bei Patienten in RAC	Hippocampus
rs1344706, T	ZNF804A	Esslinger C et al., 2011	SCZ	Funktionelle Konnektivität	Reduktion bei Gesunden in RAC	rechter DLPFC, interhemisphärisch präfrontal
rs1344706, T	ZNF804A	Cousijn H et al., 2012	SCZ	Hirnvolumen	kein sign. Effekt (Gesunde)	
rs1344706, T	ZNF804A	Schultz C et al., 2013	SCZ	Kortikale Fläche	Reduktion bei Patienten in RAC	linker Gyrus temporalis superior /medialis, DLPFC bds., rechter Okzipitallappen
rs1344706, T	ZNF804A	Schultz C et al., 2013	SCZ	Kortikale Fläche	Reduktion bei Gesunden in RAC	links superior frontal, Gyrus cinguli anterior
rs10503253, A	CSMD1	Rose E et al., 2013	SCZ	Hirnvolumen	kein sign. Effekt (Gesunde)	
rs10503253, A	CSMD1	Rose E et al., 2013	SCZ	kortikale Aktiv. (SWM-Task)	Reduktion bei Gesunden in RAC	Gyrus occipitalis medialis, Cuneus
rs12576775, G	ODZ4	Heinrich et al., 2013	BD	BOLD-Signal (Aktivität)	Zunahme bei Gesunden in RAC	Amygdala

Genomic Imaging-Vorbefunde sind nach Erscheinungsjahr der dazugehörigen Publikation geordnet.
 Folgende Abkürzungen werden verwendet: RA, Risikoallel; RAC, Risikoallelträger (Risk-allele-carrier); GM, Graue Substanz (Grey matter);
 BOLD, Blood-oxygenation-level-dependent; SWM-Task, Spatial-Memory-Working Task; DLPFC, Dorsolateraler Präfrontaler Kortex; kortikale Akt., kortikale Aktivität.
 Hervorgehoben ist die anatomische Region, für die wir in unserer Studie für den SNP rs1344706 eine signifikante kortikale Dickenabnahme zeigen konnten.

Tab. 7: Genomic Imaging-Vorbefunde für kortikale Dickenänderungen für SNPs, die von uns nicht untersucht wurden

Genomic Imaging-Vorbefunde von kortikalen Dickenänderungen für weitere, von uns nicht untersuchte SNPs

SNP, RA	Gen	Studie	assoziierte Erkrankung	untersuchtes Merkmal	Befund	betroffene anatomische Region
rs2391191, A	DAOA	Schultz C et al., 2011	SCZ	CT	Reduktion bei Patienten in RAC	Gyrus temporalis medialis, inferiorer Parietallappen, lateraler Occipitallappen
rs2391191, A	DAOA	Schultz C et al., 2011	SCZ	CT	kein sign. Effekt (Gesunde)	
rs6675281, Phe	DISC1	Brauns S et al., 2011	SCZ	CT	Reduktion bei Gesunden in RAC	linker Gyrus supramarginalis
rs821616, Cys	DISC1	Brauns S et al., 2011	SCZ	CT	Reduktion bei Gesunden in RAC	rechter Gyrus occipitalis lateralis
rs3738401, Gln	DISC1	Brauns S et al., 2011	SCZ	CT	Reduktion bei Gesunden in RAC	linker Gyrus occipitalis lateralis
rs1322784, C	DISC1	Brauns S et al., 2011	SCZ	CT	Reduktion bei Gesunden in RAC	rechter Gyrus temporalis superior , Gyrus lingualis
rs11122359, G	DISC1	Brauns S et al., 2011	SCZ	CT	Reduktion bei Gesunden in RAC	rechter Cuneus, Okzipitallappen
rs1938526, G	ANK3	Cassidy C et al., 2014	erste psychot. Episode	CT	Reduktion bei Patienten in RAC	Gyrus frontalis superior/medialis/inferior, Gyrus lingualis, Gyrus parahippocampalis, Gyrus cinguli, Gyrus supramarginalis, Precuneus, Gyrus occipitalis medialis, Gyrus temporalis medialis

Genomic Imaging-Vorbefunde sind nach Erscheinungsjahr der dazugehörigen Publikation geordnet.

Folgende Abkürzungen werden verwendet: RA, Risikoallel; RAC, Risikoallelträger (Risk-allele-carrier);CT, Kortikale Dicke.

Hervorgehoben ist die anatomische Region, für die wir in unserer Studie für den SNP rs1344706 eine signifikante kortikale Dickenabnahme zeigen konnten.

Tab. 8: Genomic Imaging-Vorbefunde von kortikalen Dickenänderungen für SNPs, die in dieser Studie mit einer signifikanten kortikalen Dickenabnahme assoziiert waren

Genomic Imaging-Vorbefunde von kortikalen Dickenänderungen für SNPs, für die in unserer Studie eine signifikante Dickenabnahme gezeigt werden konnte						
SNP, RA	Gen	Studie	assoziierte Erkrankung	untersuchtes Merkmal	Befund	betroffene anatomische Region
rs1344706, T	<i>ZNF804A</i>	Voineskos A et al., 2011	SCZ	CT	Reduktion bei Gesunden in RAC	linker Gyrus temporalis superior , Gyrus cinguli bds.
rs1344706, T	<i>ZNF804A</i>	Schultz C et al., 2013	SCZ	CT	Zunahme bei Patienten in RAC	linker DLPFC, orbitofrontal, Frontallappen, Temporallappen (u.a. Gyrus temporalis superior)
rs1344706, T	<i>ZNF804A</i>	Schultz C et al., 2013	SCZ	CT	nicht sign. Reduktion bei Gesunden in RAC	Gyrus temporal superior/medialis bds.
rs1344706, T	<i>ZNF804A</i>	Bergmann O et al., 2013	SCZ	CT	kein sign. Effekt (Patienten/Gesunde)	
rs12576775, G	<i>ODZ4</i>	Tesli et al., 2013	BD	CT	kein sign. Effekt (SCZ/BD/Gesunde)	

Genomic Imaging-Vorbefunde sind nach Erscheinungsjahr der dazugehörigen Publikation geordnet.

Folgende Abkürzungen werden verwendet: RA, Risikoallel; RAC, Risikoallelträger (Risk-allele-carrier); CT, Kortikale Dicke; DLPFC, Dorsolateraler Präfrontaler Kortex.

Hervorgehoben ist die anatomische Region, für die wir in unserer Studie für den SNP rs1344706 eine signifikante kortikale Dickenabnahme zeigen konnten.

Hierbei fällt in Tabelle 6 und 8 auf, dass der intronisch in dem Gen *ZNF804A* gelegene SNP rs1344706 häufig für Fragestellungen bzgl. einer möglichen morphologischen bzw. funktionellen Hirnparenchymveränderung Verwendung findet. Das liegt sicherlich daran, dass es als einer der wichtigsten Suszeptibilitätsgene für Schizophrenie gilt und der SNP rs1344706 als einer der ersten hoch signifikant mit dieser Erkrankung assoziiert gefunden wurde (O'Donovan et al., 2008).

In der **Tabelle 6** werden Publikationen aufgelistet, die sowohl signifikante als auch keine relevanten Befunde von verschiedenen strukturellen (Kortikale Dicke, Kortikale Faltung, Hirnvolumen, GM-Volumen) als auch funktionellen (Funktionelle Aktivität, kortikale Aktivität, BOLD-Signal) Parametern des Hirnparenchyms beschreiben für SNPs, für die in unserer Studie eine signifikante Dickenabnahme gezeigt werden konnte.

Dabei werden bei Donohoe et al. (2011), Lencz et al. (2010) und Schultz et al. (2013) jeweils signifikante Abnahmen des Volumens der grauen Substanz bzw. der kortikalen Fläche sowohl bei erkrankten als auch bei gesunden Risikoallelträgern für den SNP rs1344706 (*ZNF804A*) beschrieben. Donohoe et al. (2011) dagegen zeigen eine signifikante Zunahme des Volumens der grauen Substanz in erkrankten Risikoallelträgern für den SNP rs1344706, allerdings nur im Hippocampus; sie schließen daraus, dass die Schizophrenie mit einem weitgehend intakten Volumen der grauen Substanz einhergeht. Neben der überwiegend beschriebenen Reduktion des Volumens bzw. der Fläche des Kortex wird auch die Abnahme der funktionellen Parameter, wie die Konnektivität bzw. kortikale Aktivität, beschrieben, exemplarisch bei gesunden Risikoallelträgern für den SNP rs1344706 bzw. rs10503253 (*CSMD1*) (Esslinger et al., 2009; Esslinger et al., 2011; Rose et al., 2013), insbesondere innerhalb oder zwischen den dorsolateralen präfrontalen Kortices, aber auch okzipital. Dies weist möglicherweise darauf hin, dass beim Vorhandensein von genetischen Prädispositionen für psychiatrische Erkrankungen, in diesem Fall im Rahmen von SNPs, durch diese verursachte höhergradige strukturelle Aberrationen auch zu funktionellen Dysfunktionen führen können (Esslinger et al., 2009). Die einzige Aktivitätszunahme, gemessen am Sauerstoffgehalt der roten Blutkörperchen (BOLD-Kontrast), findet sich bei Heinrich et al. (2013) bei gesunden Risikoallelträgern für den mit Bipolarer Störung assoziierten SNP rs125767775 (*ODZ4*) in der Amygdala. Die Amygdala ist als Teil des limbischen Systems wichtig für die Bewertung und Verarbeitung von Emotionen. Heinrich et al. (2013) diskutieren, dass eine Aktivitätserhöhung

der Amygdala ein zunehmendes Ungleichgewicht zwischen der Amygdala und dem Striatum erzeugen kann und dadurch möglicherweise psychiatrische Erkrankungen provoziert werden (Yacubian et al. 2006). Das Striatum ist Bestandteil neuronaler Regelkreise und entscheidend für das Zusammenwirken von Motivation, Emotion, Kognition und Bewegung. Cousjin et al. (2012) und Rose et al. (2013) finden bei der Messung des Hirnvolumens keine signifikanten Volumenunterschiede zwischen gesunden Risikoallelträgern und Nicht-Risikoallelträgern. In beiden Publikationen wurde hierbei jedoch die Voxel-basierte Methode (VBM) anstatt der Oberflächen-basierten Methode, wie in unserer Studie, verwendet.

In der **Tabelle 7** werden Publikationen aufgezeigt, die signifikante oder nicht signifikante kortikale Dickenänderungen gefunden haben für SNPs, die in unserer Studie nicht untersucht wurden.

Exemplarisch fanden Brauns et al. (2011) für fünf SNPs im Gen Disrupted in schizophrenia 1 (*DISC1*) signifikante kortikale Dickenabnahmen bei gesunden Risikoallelträgern mit Hilfe von Freesurfer. Die signifikanteste Dickenabnahme bestand für den SNP rs6675281 (Leu607Phe) bei den Risikoallelträgern (Phe-Trägern) im linken Gyrus supramarginalis als Teil des inferioren Parietallappens. Hierbei fand sich ein CWP = 8×10^{-4} bei einer durchschnittlichen kortikalen Dicke der Leu-Homozygoten von 2,62 mm und der Phe-Träger von 2,38 mm, was einer Reduktion von 9,16 % entspricht. Dabei kann eine regionale Reduktion der kortikalen Dicke im Parietallappen möglicherweise eine Dysfunktion im neuronalen Netzwerk verursachen, insbesondere des „working memory“, welches bei Schizophrenen als beeinträchtigt gilt (Brauns et al., 2011). *DISC1* spielt bekanntermaßen eine wichtige Rolle bei der Gehirnentwicklung und gilt als ein Kandidatengen für Schizophrenie. Es wurde beschrieben, dass *DISC1* die Proliferation neuronaler Progenitorzellen vermittelt (Mao et al., 2009) und durch Proteininteraktionen die neuronale Migration, das Neuritenwachstum und die Entwicklung des zerebralen Kortex beeinträchtigt (Brandon et al., 2009; Kamiya et al., 2005). Neben der kortikalen Dickenabnahme zeigte sich eine erhöhte neuronale Aktivität im linken DLPFC während des „working memory-task“ in den Risikoallelträgern für den SNP rs6675281. Dies wurde von Brauns et al. (2011) als mögliche Folge einer verminderten kortikalen Effizienz erklärt, so dass Risikoallelträger gegebenenfalls für die gleichen Aufgaben mehr neuronale Aktivität benötigen als Nicht-Risikoallelträger.

Schultz et al. (2011) dagegen fanden zwar eine kortikale Dickenabnahme bei Risikoallelträgern des SNPs rs2391191 im Gen D-amino oxidase activator (*DAOA*), allerdings nur bei an Schizophrenie-Erkrankten und nicht bei gesunden Risikoallelträgern. Es fand sich jeweils ein zusammenhängendes Cluster in beiden Hemisphären, das anteilig den mittleren temporalen, inferioren parietalen und lateralen occipitalen Kortex einschließt (rechts: CWP = 0,0179; links: CWP = 0,0108). Schultz et al. (2011) schlossen daraus, dass der untersuchte SNP einen Einfluss auf die zerebrale Morphologie und möglicherweise die pathophysiologische Entstehung der Schizophrenie hat. Das Produkt des Gens *DAOA*, nämlich die D-amino acid oxidase (*DAAO*), interagiert mit dem biochemischen Produkt des Gens *G72*, welches als Suszeptibilitätsgen für Schizophrenie gilt (Chumakov et al., 2002; Schumacher et al., 2004). Über eine genetische Dysfunktion von *DAOA* und eine entsprechende Hyperaktivität von *DAAO* könnten verminderte D-Serin Mengen eine reduzierte Funktion des glutamatergen Systems verursachen und eine Unterstimulation der NMDA-Rezeptoren hervorrufen (Habl et al., 2009; Hashimoto et al., 2003; Madeira et al., 2008; Sacchi et al., 2008). Dabei gilt die Dysfunktion der NMDA-Rezeptoren als ein pathophysiologischer Faktor der Schizophrenie (Coyle et al., 2003). Dies bekräftigt die Vermutung von bestehenden Modellen der Neuroentwicklung (du Bois und Huang, 2007), dass die glutamaterge Dysregulation mit einem Prozess der kortikalen Ausdünnung assoziiert ist als neuropathologisches Merkmal der Schizophrenie. Obwohl man davon ausgehen kann, dass die beschriebenen Mechanismen nicht nur in erkrankten, sondern auch in gesunden Risikoallelträgern bestehen (Schultz et al., 2011), wurden keine signifikanten kortikalen Dickenänderungen in den gesunden Risikoallelträgern gefunden. Schultz et al. (2011) gehen davon aus, dass bei Gesunden, trotz des genetischen Risikostatus als Risikoallelträger, kompensatorische Mechanismen, wie geringere synaptische Schrumpfung oder verminderte altersbezogene Dickenveränderungen (Hulshoff Pol et al., 2002; Huttenlocher und Dabholkar, 1997), eine relevante kortikale Dickenabnahme verhindern und somit der kritische Punkt der Manifestation der Erkrankung nicht erreicht wird.

In der **Tabelle 8** werden Publikationen genannt, die ebenfalls eine signifikante oder nicht signifikante kortikale Dickenänderung beschrieben haben für SNPs, für die in unserer Studie eine signifikante Dickenabnahme gezeigt werden konnte.

Voineskos et al. (2011) fanden für homozygote Risikoallelträger für den SNP rs1344706 (*ZNF804A*) signifikante kortikale Dickenabnahmen im linken Gyrus temporalis superior, im rechten Gyrus cinguli anterior und linken Gyrus cinguli posterior, jeweils anatomische Regionen, die sowohl bei der Schizophrenie als auch bei der Bipolaren Störung Funktionsstörungen aufweisen (Balog et al., 2011; Walters et al., 2010). Das anteriore Cingulum ist besonders wichtig für die Emotionsregulation und die Steuerung der Aufmerksamkeit, ein Schaden dieser Struktur kann zu psychiatrischen Auffälligkeiten führen. Das posteriore Cingulum spielt eine Rolle bei kognitiven Funktionen, z. B. beim Speichern bzw. Abrufen von Informationen im Gedächtnis („working memory“). Der Gyrus temporalis superior enthält sowohl die primäre Hörrinde, zuständig für die auditive Wahrnehmung, als auch das Wernicke-Areal, verantwortlich für die semantische Verarbeitung der Sprache, also das Sprachverständnis. Dabei findet sich das Wernicke-Areal bei Rechtshändern meist linkshemisphärisch, so dass in der Studie von Voineskos et al. (2011), in der alleinig Rechtshänder untersucht wurden, eine subklinische Beeinflussung des Sprachzentrums möglich erscheint.

Interessanterweise fanden Schultz et al. (2013) mittels Freesurfer bei an Schizophrenie-Erkrankten homozygoten Risikoallelträgern für den SNP rs1344706 (*ZNF804A*) eine signifikante kortikale Dickenzunahme im Vergleich zu erkrankten heterozygoten und homozygoten Nicht-Risikoallelträgern in mehreren Regionen in beiden Hemisphären (links: dorsolateral präfrontal, ventrolateral präfrontal, medial superior frontal, orbitofrontal, Gyrus temporalis superior/medius/inferior, inferior parietal; rechts: dorsolateral präfrontal, inferior frontal, medial superior frontal, Gyrus temporalis superior/medius/inferior, inferior parietal, lateral occipital, Parahippocampus). Dabei zeigte sich keine Korrelation zwischen den Ergebnissen und der Einnahme von Neuroleptika. Beim Vergleich der kortikalen Dicke zwischen gesunden Risiko- und Nicht-Risikoallelträgern konnten kortikale Dickenabnahmen beidseits temporal und rechts ventrolateral präfrontal nachvollzogen werden, allerdings ohne Signifikanz. Im direkten Vergleich, in Abhängigkeit der Diagnose, zwischen gesunden und kranken heterozygoten bzw. homozygoten Nicht-Risikoallelträgern stellte sich beidseits insbesondere temporal eine signifikant reduzierte kortikale Dicke bei den Schizophrenen dar. Bei erkrankten homozygoten Risikoallelträgern war die kortikale Dicke dagegen beidseits temporal erhöht im Vergleich zu gesunden homozygoten Risikoallelträgern, jedoch nicht

signifikant. Neben der kortikalen Dickenanalyse wurde u. a. auch eine Expressionsanalyse durchgeführt, die eine verminderte Genexpression des Gens *ZNF804A* bei zunehmender Anzahl an Risikoallelen im präfrontalen Kortex von Patienten nachwies; die vermehrte Genexpression von *ZNF804A* bei zunehmender Anzahl an Risikoallelen in Gesunden wurde bereits in einer vorangegangenen Publikation beschrieben (Riley et al., 2010). Die Hauptaussage der Publikation von Schultz et al. (2013) beinhaltet somit den divergenten Effekt des Risikoallels des SNPs rs1344706 (*ZNF804A*) auf die kortikale Dicke und die Genexpression in Abhängigkeit der Diagnose (Gesund vs. Erkrankt). Dabei stellt die gegensätzliche Genexpression möglicherweise ein Indiz für den protektiven Effekt auf morphologische Veränderungen des Kortex bei an Schizophrenie Erkrankten dar. Schultz et al. (2013) diskutieren, dass eine mögliche Ursache für die konträre Genexpression unterschiedliche epistatische Interaktionen aufgrund eines differierenden genetischen Hintergrundes bei Erkrankten und Gesunden sein könnte (Sivakumaran et al., 2011).

Sowohl Bergmann et al. (2013) als auch Tesli et al. (2013) finden für den SNP rs1344706 (*ZNF804A*) bzw. rs12576775 (*ODZ4*) keine signifikanten Dickenänderungen des Kortex.

Die vorgestellten Publikationen sowie unsere eigenen Ergebnisse zeigen für mit BD und/oder SCZ assoziierte genetische Varianten morphologische Veränderungen sowohl des Kortex als auch anderer anatomischer Regionen, z. B. des Hippocampus. Somit wird der Verdacht auf eine Korrelation zwischen Neuroanatomie, bei bekanntermaßen hoher Heritabilität insbesondere des Kortex (McDonald et al., 2004; Winkler et al., 2010), und genetischer Disposition für BD/SCZ erhärtet.

Dabei ist davon auszugehen, dass nicht ein globaler genetischer Faktor die Morphologie des Kortex, in unserem Fall die kortikale Dicke, als Ganzes, sondern im Rahmen regional spezifischer Heritabilität das individuelle genetische Muster die kortikale Struktur beeinflusst, ohne sich an traditionell definierte Hirnstrukturen zu halten (Rimol et al., 2010a).

5.2 Bewertung der Methoden

5.2.1 SNP-Auswahl

Die SNP-Auswahl erfolgte, wie bereits beschrieben, stufenweise unter Verwendung gewisser Ausschlusskriterien (siehe Kap. 3.1 und Abb. 4). Letztlich wurden nur 17 SNPs von 40 möglichen untersucht, 11 für BD und 8 für SCZ. Dies lag nicht nur an den strengen Qualitätskriterien, die für die eingeschlossenen SNPs galten, sondern letztlich auch an der geringen Größe des Probandensamples. Gruppengrößen, exemplarisch die Gruppe von Risikoallelträgern für einen SNP, mit weniger als 12 Probanden sind für eine vergleichende kortikale Dickenanalyse nicht sinnvoll. Unterhalb dieser von uns festgelegten Grenze würden möglicherweise schon kleine individuelle anatomische Abweichungen einen großen Gesamteffekt erzielen und falsch-positive Ergebnisse erzeugen. Bei einem größeren Probandenkollektiv wären seltener Gruppen mit weniger als 12 Probanden entstanden, was letztlich die Analyse mit mehr als 17 SNPs zugelassen und vermutlich weitere Ergebnisse zum Vorschein gebracht hätte. Die Verwendung von SNPs mit einer MAF $< 10\%$ erschien ebenfalls für eine Analyse mit dieser Anzahl an Probanden nicht sinnvoll, somit konnten seltener Varianten nicht untersucht werden, die möglicherweise in einem größeren Probandensample eine signifikante Dickenänderung des Kortex gezeigt hätten.

5.2.2 Probandenkollektiv

Das Probandenkollektiv bestand primär aus 107 Probanden. Nach Ausschluss von insgesamt 9 Probanden aufgrund genetischer, anatomischer und technischer Unregelmäßigkeiten sank die Anzahl der Probanden auf 98. Die Probanden waren alle gesund und wiesen keine psychiatrischen Auffälligkeiten auf. Ein case-control-Design, also ein Vergleich zwischen SCZ- oder BD-Erkrankten und gesunden Probanden, hätte möglicherweise größere Effekte mit anderen oder größeren Clustern ergeben. Es ist jedoch interessant, dass auch schon bei einem unausgewählten Kollektiv mit gesunden Probanden, allein in Abhängigkeit der Genotypenverteilung der Risikovarianten, signifikante kortikale Dickenunterschiede zu finden waren. Dies wirft die Frage auf, ob bereits erkennbare Veränderungen in bestimmten kortikalen Regionen den Verdacht auf eine erhöhte Erkrankungswahrscheinlichkeit für eine dieser beiden Erkrankungen zulassen und allein die Ausprägung der Veränderung, in diesem Fall die kortikale Dicke, eine Aussage darüber ermöglicht, ob und wie stark ein Patient betroffen sein wird.

5.2.3 Genotypisierung

Die Genotypisierung des Samples erfolgte mit Hilfe von Genotyping BeadChip-Arrays, nämlich dem Illumina® Omni Express und dem Illumina® Omni1S (siehe Kap. 3.5). Durch die Kombination dieser beiden Chips wurden ca. 1,9 Millionen SNPs untersucht. Die Genotypisierung war für alle Probanden mit einer „Call rate“ der SNPs von über 99 % höchst erfolgreich, das heißt, dass für über 99 % aller auf den beiden Chips befindlichen SNPs auch ein Genotyp ermittelt werden konnte. Falls ein SNP nicht auf dem OE bzw. O1S abgebildet war, konnten für diese SNPs dennoch die entsprechenden Genotypenverteilungen durch Proxybeziehungen ermittelt werden. In diesen Fällen wurden die Genotypen dieser SNPs zusätzlich durch Sanger-Sequenzierung bestätigt. Somit ließ sich für die Probanden die Genotypenverteilung aller 40 SNPs bestimmen. Im Rahmen der Qualitätskontrolle wurde eine visuelle Kontrolle der Illumina®-Cluster Plots für alle 40 SNPs durchgeführt ohne einen „outlier“, also eine fehlerhafte oder unmögliche Genotypenbestimmung registriert zu haben. Wie im Kapitel 4.1 beschrieben wurden drei genetische Ausreißer, die nach genetischen Gesichtspunkten nicht rein europäischer Herkunft waren, von der weiteren Analyse ausgeschlossen.

5.2.4 Einteilung in Genotypgruppen

Die Erstellung zweier Gruppen von Probanden für jeden SNP, anhand der entsprechenden Genotypenverteilung, ist die übliche Methode bei Erfassung genotypenabhängiger anatomischer Unterschiede. Hierbei wurden in diesem Fall, wie im Kapitel 4.1.1 beschrieben, jeweils Gruppen mit Risikoallelträgern und Nicht-Risikoallelträgern miteinander verglichen. Dabei gingen wir davon aus, dass bereits ein Risikoallel, also bei einer heterozygoten Genotypenverteilung, einen potentiellen Effekt hinsichtlich einer anatomischen Veränderung erbringen könnte. Für eine Gruppenkonstellation, bei der nur die homozygoten Risikoallelträger mit den heterozygoten Risikoallelträgern und den Probanden mit den Wildtypallelen verglichen würden, könnte jedoch sprechen, dass das Wildtypallel bei heterozygoten Risikoallelträgern möglicherweise einen protektiven Effekt hat und bei Heterozygoten somit keine relevanten anatomischen Veränderungen zu erwarten wären. In diesem Fall ginge man davon aus, dass allein homozygote Risikoallelträger, denen das protektive Wildtypallel fehlt, kortikale Dickenänderungen zeigen. Die Festlegung der Gruppeneinteilungen beeinträchtigt die Gruppengrößen. Hätten wir uns für die andere Gruppenkonstellation entschieden, wären zum Teil weitere SNPs

mittels Freesurfer analysiert, die von uns untersuchten SNPs wären hingegen zum Teil ausgeschlossen und nicht mittels Freesurfer untersucht worden. Somit scheint es keine Ideallösung bezüglich der Einteilung der Genotypgruppen zu geben.

5.2.5 Freesurfer

Die Software Freesurfer ist, wie bereits beschrieben, ein validiertes Tool für die kortikale Dickenauswertung ausgehend von T1-gewichteten MRT-Datensätzen (Fischl und Dale, 2000). Dabei stellt sich die vollautomatisierte Prozessierung als zeiteffiziente und zu meist verlässliche Bearbeitung des MRT-Datensatzes dar. Dennoch mussten, wie auch zum Teil in anderen Publikationen beschrieben (Bergmann et al., 2013; Ehrlich et al., 2012; Nesvag et al., 2013; Panizzon et al., 2009; Schultz et al., 2010a; Schultz et al., 2010b; Schultz et al., 2011; Schultz et al., 2013), nach dem Processing-Step visuelle Kontrollen der automatisierten Segmentierung in allen Schnittebenen des Datensatzes der Probanden erfolgen. Falls erforderlich wurden manuelle Editierungen der Segmentierung in allen hierfür nötigen Schnittebenen durch mich durchgeführt, um eine regelrechte Registrierung der pialen Oberfläche bzw. der GM-/WM-Grenze zu gewährleisten. Während der Editierung war mir die Genotypenverteilung der Probanden nicht bekannt, so dass keine Beeinflussung möglich war. Trotzdem stellt der für eine regelrechte Festlegung der Grenzoberflächen des Kortex notwendige manuelle Eingriff in den automatisierten Segmentierungsprozess der Software Freesurfer eine mögliche Fehlerquelle dar, die Platz für Missbrauch schafft. Es wird sich mit zukünftigen Updates der Software Freesurfer zeigen, ob sich die automatisierte Segmentierung der anatomischen Grenzen weiter verbessert und eine manuelle Editierung bald nicht mehr nötig sein wird.

5.3 Ergebnisdiskussion

5.3.1 Anatomische Einordnung der gefundenen Cluster:

Zwei unserer Befunde lagen im Frontallappen, der eine links im Gyrus frontalis superior (rs300774 - *SH3YL1*), der in einer Studie anteilig für die Selbstwahrnehmung bzw. das Selbstbewusstsein zuständig gefunden wurde (Goldberg, 2006), ein weiterer im rechten Gyrus praecentralis (rs6484218 - *ADM*), von dem die Pyramidenbahn ausgeht und so-

mit die sogenannte Primär-motorische Rinde bildet als Ort der unmittelbaren Bewegungssteuerung.

Vier Befunde befanden sich im rechten Temporallappen: Einer lag im Gyrus temporalis superior (rs1344706 - *ZNF804A*), welcher das sensorische Sprachzentrum, das sogenannte Wernicke-Zentrum, zum Verständnis von Sprache enthält, bei Rechtshändern, wie in unserem Fall, jedoch meist links liegt. Weiter enthält der superiore Anteil des Temporallappens den primären auditorischen Kortex in der Tiefe des Sulcus lateralis. Dieser ist zuständig für das Verarbeiten von Tönen bzgl. Frequenz und Amplitude. Zusätzlich zeigt sich dieses Areal als kritische Struktur bzgl. sozialer Kognition bei Patienten mit Autismus und dem Interpretieren von Mimik (Bigler et al., 2007; Jou et al., 2010). Bei schizophrenen Patienten fanden sich bereits strukturelle Aberrationen des Gyrus temporalis superior, u. a. im Hinblick auf das kortikale Volumen (Kasai et al., 2003). Weitere Erkrankungen, die mit dem superioren Temporallappen assoziiert worden sind, sind die posttraumatische Belastungsstörung, die dissoziative Störung (Hopper et al., 2007) und Zwangsstörungen (Yoo et al., 2008). Ein weiterer unserer Befunde lag im Gyrus temporalis inferior (rs2727943 - *CNTN6-CNTN4*), welcher vor allem visuelle Stimuli prozessiert, diese kurzzeitig speichert und mit darauffolgenden visuellen Wahrnehmungen vergleicht. Somit hat dieser Gyrus einen wichtigen Anteil beim Identifizieren von Objekten. Der Gyrus parahippocampalis (rs6484218 - *ADM*) und der Gyrus fusiformis (rs300774 - *SH3YL1*), in dem jeweils ein Befund (rs6484218 - *ADM*) bzw. Anteil eines Befundes (rs300774 - *SH3YL1*) lokalisiert war, sind wichtig für das optische Erkennen. Dabei spielt ein Teil des Gyrus parahippocampalis, die sogenannte „Parahippocampal Place Area“, eine wichtige Rolle beim Erkennen von Gebäuden (Aguirre et al., 1998; Epstein und Kanwisher, 1998). Der Gyrus fusiformis, besonders rechtsseitig, ist dagegen wichtig für das Erkennen von Gesichtern (Kanwisher et al., 1997).

Insgesamt elf und somit die meisten Cluster bzw. Clusteranteile befanden sich im Parietallappen:

Zwei lagen anteilig im linken superioren Anteil bzw. im oberen Parietallappchen (rs2727943 - *CNTN6-CNTN4*; rs6484218 - *ADM*), welcher für die visuelle Steuerung von Bewegungen und Erkennung von Reizen im betrachterbezogenen Raum zuständig ist

zur Ermöglichung einer räumlichen Aufmerksamkeit. Neuere Arbeiten beschreiben jedoch auch noch weitere Leistungen des superioren Parietallappens beim Verarbeiten von Informationen im sogenannten Arbeitsgedächtnis („working memory“) (Koenigs et al., 2009). Neben der Beobachtung von sich bewegenden Objekten ist der rostrale parietale Anteil (rs12201676 - *GABRR1-GABRR2*), in dem sich ein weiterer Teil eines Befundes zeigte, zusätzlich aktiviert bei Bewegung des Individuums selbst. Ein Teil eines gefundenen Clusters fand sich im linken inferioren Anteil bzw. unteren Parietallappchen (rs6484218 - *ADM*), wo das räumliche Denken und „quasi-räumliche“ Prozesse wie Rechnen und Lesen ermöglicht werden. Zusätzlich ist dieses Areal für das Erkennen von Emotionen in facialen Stimuli wichtig (Radua et al., 2010). Sie wird als Teil des „Theory of Mind-Networks“ beschrieben im Rahmen der Mentalisierungstheorie, nach deren Konzept die dazugehörigen anatomischen Regionen den Menschen befähigen, das Bewusstsein anderer nachzuvollziehen und dementsprechend deren Gefühle, Bedürfnisse, Absichten, Ideen, Erwartungen und Meinungen zu vermuten (Kobayashi et al., 2007).

Die meisten Befundanteile innerhalb des Parietallappens waren im linksseitigen (rs2727943 - *CNTN6-CNTN4*; rs6484218 - *ADM*) bzw. rechtsseitigen (rs300774 - *SH3YL1*; rs12201676 - *GABRR1-GABRR2*; rs12576775 - *ODZ4*) Precuneus lokalisiert. Er ist zuständig für das räumlich-visuelle Vorstellungsvermögen und das episodische Gedächtnis. Er ist anteilig für die Selbsterkenntnis, insbesondere für das Selbstbild, und die Selbstreferenz verantwortlich (Cavanna und Trimble, 2006). Außerdem gehört er, wie auch das untere Parietallappchen, zum „Theory of Mind-Network“. Zusätzlich scheint er eine Funktion bei sprachlicher Kommunikation mit Bekannten unter Einbeziehung biographischer Informationen zu haben (Sassa et al., 2007). Die aufgezählten Funktionen des Precuneus lassen bereits erahnen, dass Störungen zu Verhaltensauffälligkeiten führen können. Diesbezüglich wurde kürzlich die Schizophrenie mit dem Precuneus in Verbindung gebracht (Hirjak et al., 2014). Zusätzlich sind Erkrankungen wie die Borderline-Persönlichkeitsstörung oder die Anorexia nervosa als mögliche Folge einer Störung des Precuneus bekannt (Irle et al., 2007; Matsumoto et al., 2006).

Ein weiterer Befund projizierte sich zum Teil auf den rechten postcentralen Gyrus (rs12201676 - *GABRR1-GABRR2*) als Teil des Parietallappens. Dieser gilt als das

primär somatosensorische Zentrum, dessen Störung bereits mit der Schizophrenie (Chen et al., 2013) assoziiert wurde.

Insgesamt sieben Befunde bzw. Befundanteile lagen im Okzipitallappen, der die primäre und sekundäre Sehrinde beherbergt. Somit sind seine Funktionen insbesondere auf das Sehen und Farbenerkennen fokussiert. Jeweils zwei Cluster zeigten sich im linken bzw. anteilig im rechten lateralen Okzipitallappen (rs2727943 - *CNTN6-CNTN4*; rs6484218 - *ADM*). Im linken (rs6484218 - *ADM*) bzw. rechten (rs2727943 - *CNTN6-CNTN4*) Cuneus, als Teil des Okzipitallappens, fand sich jeweils ein Clusteranteil. Der Cuneus erhält visuelle Informationen von der Retina und ist in die einfache visuelle Prozessierung involviert und somit v. a. für die visuelle und räumliche Aufmerksamkeit, aber auch für autobiographische Erinnerungen (Addis et al., 2004) zuständig. Zusätzlich zu seinen typischen Funktionen wie der visuellen Prozessierung stellten Haldane et al. (2008) fest, dass die Hemmungskontrolle in bipolaren Patienten mit dem Volumen der entsprechenden grauen Substanz abnimmt. Ein Befund lag anteilig im Gyrus lingualis (rs2727943 - *CNTN6-CNTN4*), der, wie die anderen Regionen des Okzipitallappens, v. a. zuständig ist für die visuelle Prozessierung, allerdings auch eine Rolle im logischen Denken und dem Codieren von visuellen Erinnerungen spielt. Außerdem ist er wichtig für die Identifikation und Erkennung von Worten (Mechelli et al., 2000).

5.3.2 Ergebnisse für rs1344706 (*ZNF804A*)

Genetische epidemiologische Studien weisen daraufhin, dass sowohl die Entstehung einer Schizophrenie als auch einer Bipolaren Störung insbesondere durch genetische (Craddock und Forty, 2006; Sullivan et al., 2003) und weniger durch Umweltfaktoren (Kety, 1987) beeinflusst wird. Dies ist der Grund für das große Interesse der neurogenetischen Forschung, diesen Erkrankungen zugrunde liegende Gene zu finden und ihre Rolle in der Pathologie aufzuschlüsseln. Aus der Vorstellung heraus, dass die Kombination seltener und häufiger genetischer Risikovarianten mit unterschiedlicher Penetranz sowohl die SCZ als auch die BD hervorrufen können (Mowry und Gratten, 2012) werden im Rahmen von hypothesenfreien GWAS immer neue mit SCZ/BD assoziierte Varianten gesucht.

Der intronisch in dem Gen *ZNF804A* (2q32.1) gelegene SNP rs1344706 zeigte in der Publikation von O'Donovan et al. (2008) eine hochgradige Assoziation mit dem

Krankheitsbild der Schizophrenie. Somit wurde *ZNF804A* als erstes genomweit signifikantes Gen für psychotische Störungen identifiziert. In Kombination mit dem Krankheitsbild der Bipolaren Störung stieg die Signifikanz dieses SNPs bis auf einen p-Wert von $9,96 \times 10^{-9}$. Das zeigt, dass dieser SNP bzw. das dazugehörige Gen einen breiteren Phänotyp beeinflusst als zunächst angenommen. Die genetische Assoziation zwischen *ZNF804A* und Schizophrenie wurde unabhängig voneinander repliziert (Purcell et al., 2009; Riley et al., 2009; Steinberg et al., 2011). Eine Meta-Analyse mit 60.000 Probanden bestätigte nochmals die Assoziation von rs1344706 und Schizophrenie ($p = 2,5 \times 10^{-11}$) und in Kombination mit Schizophrenie und Bipolarer Störung ($p = 4,1 \times 10^{-13}$) (Williams et al., 2011). Mittels fine-mapping zeigte sich der SNP rs1344706 als die mit hoher Wahrscheinlichkeit die Krankheiten verursachende Variante (Williams et al., 2011). Hill und Bray (2011) fanden heraus, dass das Risikoallel vom SNP rs1344706 die Bindung von nicht-identifizierten Proteinen an die Genregion von *ZNF804A* verhindert und somit die Genexpression durch die Behinderung der Transkription reduziert. Dabei stellte sich heraus, dass insbesondere in der frühen fötalen Gehirnentwicklung diese verminderte Genexpression auftritt im Vergleich zum Erwachsenen Gehirn (Hill und Bray, 2012). Letztlich könnte somit die Migration, der Auswuchs von Neuronen und die Synapsenformation gestört sein (Hill et al., 2012). Möglicherweise wird dadurch bereits im Fötus die Krankheitsentstehung initiiert im Rahmen von mikroskopischen und makroskopischen Hirnparenchymveränderungen und daraus folgenden funktionellen Veränderungen der Hirnstrukturen. Dieser Prozess der gestörten Hirnentwicklung könnte aber noch mehrere Jahre postnatal fortbestehen.

In den Tabellen 6 und 8 lassen sich, wie bereits unter Kapitel 5.1.3 genauer erläutert, wichtige Vorbefunde für den SNP rs1344706 und mögliche Effekte des Risikoallels in erkrankten oder gesunden Probanden nachvollziehen. Die überwiegend gefundene Reduktion struktureller bzw. funktioneller Parameter des Hirnparenchyms, insbesondere des Kortex, lässt sich anhand der zuvor beschriebenen Einschränkung der Genexpression von *ZNF804A* bei Risikoallelträgern erklären mit daraus folgender veränderter Genregulation für die Zellmigration und das Zellwachstum wichtiger Gene (Hill et al., 2012). Die divergente Auswirkung des Risikoallels auf die kortikale Dicke von rs1344706 zwischen an Schizophrenie-Erkrankten und Gesunden, beschrieben von Schultz et al. (2013), lässt sich dagegen nicht mit dem vorgestellten Modell erklären.

Anderenfalls würde man bei Erkrankten eine noch deutlichere Dickenabnahme des Kortex in für Schizophrenie assoziierten Regionen im Vergleich zu Gesunden erwarten, vor allem dann, wenn man davon ausgeht, dass ab einem gewissen Grad der kortikalen Atrophie der pathologische Phänotyp in Erscheinung tritt. Diese Differenzen weisen jedoch darauf hin, dass die unterschiedlichen genetischen Hintergründe der Erkrankten im Vergleich zu Gesunden möglicherweise verschiedene epistatische Interaktionen vorweisen, die sich mit unseren Modellen nicht immer in Einklang bringen lassen. Dies zeigt, dass das individuelle genetische Konstrukt und seine Folgen auf die Morphologie noch viel komplexer sind als von uns angenommen.

Die betroffenen anatomischen Regionen in den Vorbefunden zeigen, dass, unabhängig ob Zunahme oder Reduktion des funktionellen bzw. morphologischen Merkmals, bestimmte Regionen überdurchschnittlich häufig mit entsprechenden Veränderungen bei Risikoallelträgern für den SNP rs1344706 assoziiert gefunden wurden; hierzu zählt der DLPFC und der superiore Temporallappen (Gyrus temporalis superior). Dies sind Regionen, die bekanntermaßen funktionell mit Schizophrenie und Bipolarer Störung assoziiert sind (Rimol et al., 2010b). Dazu passend (Donohoe et al., 2011; Schultz et al., 2013; Voineskos et al., 2011) fand sich in unserer Studie bei Risikoallelträgern ein signifikantes Cluster im rechten superioren Temporallappen, zum größten Teil den Gyrus temporalis superior betreffend (siehe Kap. 4.2.1), mit einer kortikalen Dickenabnahme von durchschnittlich 0,242 mm (7,66 %). Der Gyrus temporalis superior ist nicht nur für die auditive Wahrnehmung und das Sprachverständnis (siehe Kap. 5.1.3) zuständig, sondern spielt auch eine wichtige Rolle in der sozialen Kognition durch Interaktion mit der Amygdala und dem präfrontalen Kortex (Bigler et al., 2007). Einschränkung muss man sagen, dass sich unser Befund rechtshemisphärisch befindet, das Hörzentrum bei Rechtshändern, wie in unserem Kollektiv, meist jedoch kontralateral, also linkshemisphärisch liegt.

Die absolute Dickenabnahme im Bereich des Gyrus temporalis superior von durchschnittlich 0,242 mm stellte sich ausgeprägter dar als bei Voineskos et al. (2011) (ca. 0,15 mm) und Schultz et al. (2013) (ca. 0,14 mm), jeweils bei gesunden Risikoallelträgern. Dabei ist zu beachten, dass in beiden Publikationen homozygote Risikoallelträger als eine Gruppe mit heterozygoten und homozygoten Nicht-Risikoallelträgern als zweite Gruppe verglichen wurden, was möglicherweise einen

reduzierten Effekt bei diesen Autoren beobachten ließ, wenn man davon ausgeht, dass bereits **ein** Risikoallel eine Minderexpression von *ZNF804A* verursacht. Rimol et al. (2010b) findet für den Gyrus temporalis superior nur sehr geringe kortikale Dickenabnahmen im Vergleich zwischen Schizophrenen und Gesunden (0,06 mm) und Bipolaren und Gesunden (0,03 mm); dabei handelte es sich allerdings nur um eine neuroanatomische Arbeit ohne Berücksichtigung des genetischen Risikostatus der Patienten bzw. Probanden für assoziierte SNPs. Oertel-Knöchel et al. (2015) fanden eine Differenz der kortikalen Dicke des linken Gyrus temporalis superior von ca. 0,26 mm (12,5 %) zwischen BD-Erkrankten und gesunden Probanden. Eine aktuelle Publikation von Nenadic et al. (2015) beschreibt kortikale Dickenabnahmen des linken Gyrus temporalis superior von ca. 0,12 mm (4,2 %) und des rechten von nur ca. 0,07 mm (5,4 %), allerdings wurden auch hier keine genetischen Informationen berücksichtigt. Beim Vergleich der nominellen kortikalen Dickenabnahmen muss bedacht werden, dass sich die absoluten Dickenwerte für den linken bzw. rechten Gyrus temporalis superior bei Gesunden bereits deutlich unterscheiden: Nenadic et al. (2015): 2,866 mm (links)/1,285 mm (rechts); Oertel-Knöchel et al. (2015): 2,455 mm (links); Rimol et al. (2010): 2,59 mm (links)/2,65 (rechts); Schultz et al. (2010a): 2,92 mm (rechts); Schultz et al. (2010b): 2,79 mm (rechts)/2,79 mm (links); Schultz et al. (2013): ca. 3,08 mm/2,94 mm (links); Voineskos et al. (2011): ca. 3,52 mm/3,37 mm (links). Dies kann an den unterschiedlichen Kollektiven liegen, der verwendeten Software oder individuellen Eingriffen in den Segmentierungsprozess bei der Verwendung von Freesurfer im Rahmen der Editierung der pialen Oberfläche bzw. der GM-/WM-Grenzen (siehe Kap. 5.2.5). Die von uns erfassten durchschnittlichen Dicken unseres gefundenen Clusters im linken Gyrus temporalis superior von 3,158 mm für NRAC und 2,916 mm für RAC erscheinen dabei im mittleren Drittel zu liegen und nicht zu weit nach oben oder unten abzuweichen.

6. Zusammenfassung

Das noch junge Feld des Genomic Imaging hilft bei dem Verständnis der Pathophysiologie neuropsychiatrischer und neurodegenerativer Erkrankungen durch die Untersuchung von Risikogenen mit bildgebenden Verfahren. Dabei können mögliche strukturelle und/oder funktionelle Veränderungen des Gehirns, ausgelöst durch genetische Varianten, helfen, die Entwicklung solcher Erkrankungen aufzuschlüsseln. Eine der untersuchten Merkmale des Hirnparenchyms ist die kortikale Dicke, welche als reproduzierbarer Biomarker mit bekanntermaßen hoher Heritabilität gilt. Für sowohl die Schizophrenie als auch die Bipolare Störung, beides Krankheiten mit großem genetischen Einfluss, wurden bereits kortikale Dickenänderungen in Abhängigkeit des genetischen Hintergrundes der Probanden in vorangegangenen Studien beschrieben.

In unserer Studie untersuchten wir 98 gesunde Probanden mit Hilfe einer Software namens Freesurfer auf mögliche kortikale Dickenänderungen und verglichen dabei Risikoallelträger mit Nicht-Risikoallelträgern für mit Schizophrenie und/oder Bipolarer Störung assoziierten SNPs. Hierbei konzentrierten wir uns besonders auf die Auswahl der SNPs und schlossen nur genomweit signifikante Varianten nach strengen Kriterien in die Studie ein. Bei 7 von 17 untersuchten SNPs fanden wir signifikante neuroanatomische Veränderungen, nämlich kortikale Dickenabnahmen, zwischen den beiden gebildeten Probandengruppen in Abhängigkeit ihres Risikostatus. Dabei entsprachen die gefundenen Hirnregionen mit signifikant verminderter Kortexdicke zum großen Teil den bekanntermaßen funktionell mit Schizophrenie und/oder Bipolarer Störung assoziierten Arealen, z. B. den superioren Temporallappen (rs1344706 - *ZNF804A*). Unsere Studie steht somit in Einklang mit der bereits vorhandenen Literatur. Hierbei stellt sie, nach unserem Wissen, die erste Publikation mit solch systematischer Auswahl der zu untersuchenden SNPs und ihre Korrelation mit der kortikalen Dicke dar.

Inwiefern diese morphologischen Auffälligkeiten bereits pränatal, in der Kindesentwicklung oder im Erwachsenenalter entstehen und wie sehr Umweltfaktoren diese noch beeinflussen, ist noch nicht vollständig geklärt. Es gibt jedoch Hinweise darauf, dass bereits in der fötalen Entwicklung, in Abhängigkeit des Risikostatus für mit SCZ/BD assoziierten SNPs, Veränderungen der Genexpression transkriptions-regulatorische Auswirkungen haben, die letztlich zu einer veränderten Morphologie und dementsprech-

end möglicherweise erhöhtem Erkrankungsrisiko führen. Es ist wahrscheinlich, dass dieser Prozess auch postnatal während der Hirnentwicklung fortbesteht. Obwohl bekannt ist, dass Umweltfaktoren weniger als der genetische Hintergrund in der Entstehung dieser psychiatrischen Erkrankungen eine Rolle spielen, muss insbesondere der soziale und kognitive Einfluss der Umgebung auf die Hirnentwicklung und Altersprozesse, wie die altersbedingte oder dementielle Atrophie, zukünftig genauer analysiert und in folgenden Studien mehr berücksichtigt werden.

Eine klinische Relevanz der Korrelation von genetischem Hintergrund mit der Neuroanatomie bestünde dann, wenn durch die Kombination aus genetischem und neuroanatomischem Befund die Wahrscheinlichkeit von psychiatrischen Erkrankungen, wie Schizophrenie oder Bipolare Störung, vorhergesagt werden könnte. Dies würde helfen, durch neue medikamentöse, psychotherapeutische oder interventionelle Therapien, das Lebenszeitrisiko von Gesunden mit erhöhter Erkrankungswahrscheinlichkeit zu senken oder sogar die Entstehung einer entsprechenden Pathologie vollständig zu verhindern. Ob die Untersuchung eines erhöhten Erkrankungsrisikos und die Information des Patienten darüber ethisch vertretbar ist, müsste durch die daran beteiligten Fachgesellschaften genau erörtert und, falls zugelassen, unter strenger Reglementierung angewandt werden.

Unsere Studie stellt einen Beitrag zur neurogenetischen und neuroanatomischen Grundlagenforschung dar. Unsere Ergebnisse und deren Interpretationen müssen durch weitere Studien, mit möglichst großer Probandenzahl, Einschluss von schizophrenen und/oder bipolaren Patienten und der Erweiterung auf weitere genetische Marker, verifiziert und konkretisiert werden. Insbesondere longitudinale Studien mit Vergleich kortikaler Dickenänderungen zwischen Schizophrenen, Bipolaren und Gesunden über große Zeiträume wären hochinteressant, um die Auswirkungen kortikaler Dickenänderungen besser zu verstehen. Möglicherweise könnten kortikale Grenzwerte gefunden werden, die zwischen Pathologie und Zufallsbefund differenzieren lassen.

7. Anhang

Tab. 9 (Teil 1): Angabe der Daten der Probanden des Kollektivs „Connect100“ mit vergebener Identifikationsnummer, Geburtsdatum, Geschlecht, Händigkeit, Ausbildungszeit und Herkunft. Aufzählung der Gründe für einen Ausschluss aus der Studie (farblich markiert) vor Weiterverarbeitung der Daten mittels Freesurfer.

Anonymisiertes Probandenkollektiv Connect100 mit Angabe der Gründe für einen Ausschluss aus der Studie (Teil 1)									
Connect100 - Daten						Ausschlussgründe			
Proband	Geburtsdat.	Geschlecht	Händigkeit	Ausbildungszeit	Herkunft	Auffälligkeiten im MRT	Prozessierung fehlerhaft	genetische Outlier	Ausschluss
CON-001	18.11.1971	weiblich	rechts	13					
CON-002	16.3.1972	weiblich	rechts	10					
CON-003	10.5.1952	männlich	rechts	9					
CON-004	29.8.1961	männlich	rechts	13					
CON-005	17.8.1969	männlich	rechts	10					
CON-006	18.10.1979	weiblich	rechts	18					
CON-007	15.6.1981	männlich	rechts	18					
CON-008	20.11.1986	weiblich	rechts	17			ja		ja
CON-009	24.5.1967	männlich	rechts	16	niederländisch				
CON-010	2.3.1955	weiblich	rechts	14					
CON-011	4.7.1980	männlich	rechts	22					
CON-012	26.11.1986	männlich	rechts	17		ja			ja
CON-013	10.12.1984	weiblich	rechts	19					
CON-014	30.6.1979	männlich	rechts	18					
CON-015	1.2.1985	weiblich	rechts	10					
CON-016	21.11.1985	weiblich	rechts	16					
CON-017	26.12.1955	weiblich	rechts	10					
CON-018	6.1.1952	männlich	rechts	13					
CON-019	10.9.1954	männlich	rechts	17					
CON-020	23.7.1987	weiblich	rechts	12					
CON-021	15.6.1946	männlich	rechts	11					
CON-022	20.12.1953	männlich	rechts	9					
CON-023	3.1.1959	männlich	rechts	22					
CON-024	28.8.1961	männlich	rechts	17					
CON-025	10.3.1972	männlich	rechts	10					
CON-026	3.8.1957	weiblich	rechts	21					
CON-027	4.3.1955	weiblich	rechts	19					
CON-028	20.7.1959	männlich	rechts	23					
CON-029	25.12.1987	weiblich	rechts	17					
CON-030	15.12.1979	weiblich	rechts	16					
CON-031	6.7.1948	männlich	rechts	9					
CON-032	7.3.1944	männlich	rechts	13		ja			ja
CON-033	10.2.1964	weiblich	rechts	20					
CON-034	19.2.1962	männlich	rechts	17					
CON-035	16.9.1988	männlich	rechts	15			ja		ja
CON-036	13.2.1969	männlich	rechts	25					
CON-037	9.1.1954	weiblich	rechts	18					
CON-038	24.5.1984	männlich	rechts	20					
CON-039	16.4.1951	männlich	rechts	16					
CON-040	9.9.1950	weiblich	rechts	16					
CON-041	12.6.1955	männlich	rechts	19					
CON-042	2.12.1955	weiblich	rechts	15					
CON-043	28.11.1982	männlich	rechts	18					
CON-044	13.11.1980	männlich	rechts	20					
CON-045	31.3.1982	männlich	rechts	20					
CON-046	2.2.1982	weiblich	rechts	12	osteuropäisch				
CON-047	17.10.1983	männlich	rechts	16	osteuropäisch				
CON-048	18.12.1987	weiblich	rechts	16					
CON-049	9.3.1956	männlich	rechts	9					
CON-050	15.7.1950	weiblich	rechts	11,5					
CON-051	20.12.1978	weiblich	rechts	17					

Die Händigkeit wurde mit dem Edinburgh Handedness Inventory (Oldfield, 1971) erfasst.

Tab. 9 (Teil 2): Angabe der Daten der Probanden des Kollektivs „Connect100“ mit vergebener Identifikationsnummer, Geburtsdatum, Geschlecht, Händigkeit, Ausbildungszeit und Herkunft. Aufzählung der Gründe für einen Ausschluss aus der Studie (farblich markiert) vor Weiterverarbeitung der Daten mittels Freesurfer.

Connect100 - Daten						Ausschlussgründe			
Proband	Geburtsdat.	Geschlecht	Händigkeit	Ausbildungszeit	Herkunft	Auffälligkeiten im MRT	Prozessierung fehlerhaft	genetische Outlier	Ausschluss
CON-052	15.8.1974	männlich	rechts	10		ja			<u>ja</u>
CON-053	3.5.1982	männlich	rechts	16					
CON-054	12.11.1979	männlich	rechts	14	nicht europäisch			ja	<u>ja</u>
CON-055	12.4.1988	weiblich	rechts	17					
CON-056	28.2.1965	männlich	rechts	19					
CON-057	21.5.1949	männlich	rechts	25					
CON-058	8.10.1974	männlich	rechts	18	türkischer Vater		ja		<u>ja</u>
CON-059	11.11.1946	männlich	rechts	18					
CON-060	2.12.1961	männlich	rechts	23					
CON-061	15.3.1982	weiblich	rechts	12					
CON-062	6.1.1979	weiblich	rechts	14					
CON-063	27.11.1976	weiblich	rechts	16					
CON-064	7.2.1976	männlich	rechts	13					
CON-065	8.8.1979	männlich	rechts	8					
CON-066	7.6.1969	männlich	rechts	16					
CON-067	12.6.1968	weiblich	rechts	10					
CON-068	20.12.1954	männlich	rechts	14					
CON-069	8.2.1953	weiblich	rechts	12					
CON-070	21.1.1966	weiblich	rechts	7					
CON-071	31.8.1973	männlich	rechts	18	indonesisch			ja	<u>ja</u>
CON-072	13.6.1963	weiblich	rechts	13					
CON-073	20.4.1945	weiblich	rechts	8					
CON-074	30.11.1969	weiblich	rechts	12					
CON-075	16.5.1968	weiblich	rechts	12					
CON-076	8.5.1949	männlich	rechts	13					
CON-077	6.9.1939	weiblich	rechts	10					
CON-078	17.9.1943	männlich	rechts	12					
CON-079	10.3.1965	weiblich	rechts	10					
CON-080	16.6.1942	weiblich	rechts	10					
CON-081	23.3.1962	weiblich	rechts	13					
CON-082	15.8.1980	männlich	rechts	11	südamerikanisch			ja	<u>ja</u>
CON-083	26.6.1956	weiblich	rechts	19					
CON-084	25.6.1953	weiblich	rechts	8					
CON-085	8.6.1962	männlich	rechts	16					
CON-086	6.3.1979	weiblich	rechts	10					
CON-087	21.8.1972	weiblich	rechts	17					
CON-088	4.6.1948	männlich	rechts	7					
CON-089	1.10.1971	weiblich	rechts	13					
CON-090	30.7.1947	männlich	rechts	10					
CON-091	17.8.1948	weiblich	rechts	10					
CON-092	14.2.1962	weiblich	rechts	13					
CON-093	30.6.1967	weiblich	rechts	13					
CON-094	7.1.1953	weiblich	rechts	10					
CON-095	22.3.1943	weiblich	rechts	15					
CON-096	4.7.1945	weiblich	rechts	17					
CON-097	21.10.1983	männlich	rechts	19					
CON-098	8.8.1976	männlich	rechts	20					
CON-099	8.12.1964	weiblich	rechts	13					
CON-100	8.5.1946	männlich	rechts	18,5					
CON-101	29.9.1948	weiblich	rechts	10					
CON-102	20.4.1979	weiblich	rechts	17					
CON-103	12.9.1948	weiblich	rechts	12					
CON-104	2.5.1948	weiblich	rechts	15					
CON-105	12.2.1956	männlich	rechts	18					
CON-106	26.7.1947	männlich	rechts	13					
CON-107	5.12.1947	weiblich	rechts	10					

Die Händigkeit wurde mit dem Edinburgh Handedness Inventory (Oldfield, 1971) erfasst.

Tab. 10: Informationen über die GWAS mit Erstbeschreibung der mit BD und/oder SCZ assoziierten SNPs, die im Rahmen dieser Studie einen signifikanten kortikalen Effekt zeigten

Genomweite Assoziationsstudien (GWAS) mit assoziierten SNPs, die in unserer Studie eine Abnahme der kortikalen Dicke zeigten							
SNP, RA	Nächstgelegenes Gen oder Transkript	assoziierte Erkrankung	p-Wert bei Entdeckung	Samples bei Entdeckung	kombinierter p-Wert	Ursprüngliche Studie (GWAS)	
rs2727943, T	<i>CNTN6-CNTN4</i> ; intergenic	BD	3,00E-08	1.000 Betroffene, 1.034 Kontrollen	3,00E-08	Kerner B et al., 2011	
rs6484218, A	<i>ADM</i> ; intergenic	BD	4,00E-08	402 SCZ, 1.021 BD I, 493 BD II, 1.210 MDD, 1.060 Kontrollen	4,00E-08	Huang J et al., 2010	
rs1344706, T	<i>ZNF804A</i> ; intron	SCZ	8,00E-07	642 Betroffene, 2.937 Kontrollen	1,00E-08	O'Donovan et al., 2008	
rs300774, A	<i>SH3YL1</i> ; intergenic	SMV bei BD	2,00E-06	1.201 BD mit, 1.497 BD ohne vorbek. Selbstmordversuch	5,00E-08	Willour VL et al., 2012	
rs10503253, A	<i>CSMD1</i> ; intron	SCZ	4,00E-07	9.394 Betroffene, 12.462 Kontrollen	2,00E-08	Schizophrenia Psychiatric GWAS Consortium, 2011	
rs12201676, C	<i>GABRR1-GABRR2</i> ; intergenic	BD + SCZ	3,00E-04 BD; 3,00E-05 SCZ	653 BD und 1.034 Kontrollen, 1.172 SCZ und 1.379 Kontrollen	4,00E-08	Wang KS et al., 2010	
rs12576775, G	<i>ODZ4</i> ; intron	BD	3,00E-07	7.481 Betroffene, 9.250 Kontrollen	4,00E-08	Sklar P et al., 2011	

GWAS sind nach dem CWP-Wert geordnet, der sich für den jeweiligen SNP in unserer Studie fand.

Folgende Abkürzungen werden verwendet: BD, Bipolare Störung; SCZ, Schizophrenie; MDD, engl. major depressive disorder (schwere depressive Episode); SMV, Selbstmordversuche.

Tab. 11: Darstellung der Ergebnisse mit Angabe der mit kortikaler Ausdünnung assoziierten SNPs und zusätzlichen Clusterinformationen

Genetische Risikovarianten, die einen Effekt auf gesunde Probanden zeigten, mit detaillierten Clusterinformationen												
Geninformationen		Clusteranalysen-Resultate										
Nächstgelegenes Gen oder Transkript	SNP, RA	Hemisphäre	CWP	CWP-Low	CWP-High	Max p-Wert	Fläche (mm ²)	NVtxs	TalX	TalY	TalZ	Signifikanter Unterschied in ROI
<i>CNTN6-CNTN4</i> ; intergenic	rs2727943, T	Re	1,00E-04	<1,00E-06	2,00E-04	2,70E-05	3.210,75	4.270	5,4	-86	11,8	lateral occipital, cuneus, lingual gyrus
		Li	1,00E-04	<1,00E-06	2,00E-04	4,60E-04	2.805,64	6.247	-37,9	-59,6	41,8	superior parietal, precuneus
		Li	1,00E-04	<1,00E-06	2,00E-04	7,00E-04	2.659,73	3.900	-34,1	-77	26,8	lateral occipital
		Re	1,10E-02	9,50E-03	1,21E-02	2,00E-04	1.064,05	1.886	44,4	-10,7	-33	inferior temporal
<i>ADM</i> ; intergenic	rs6484218, A	Li	1,00E-04	<1,00E-06	2,00E-04	1,30E-06	4.721,67	8.359	-14,1	-36,8	68,5	superior parietal, precuneus, cuneus
		Li	8,40E-03	7,20E-03	9,60E-03	8,10E-05	1.062,40	2.446	-41,3	-37,3	37,5	intraparietal sulcus, inferior parietal
		Re	2,90E-02	2,70E-02	3,03E-02	8,30E-05	929,84	1.865	25,8	-21,8	-22	parahippocampal gyrus
		Li	3,30E-02	3,10E-02	3,53E-02	1,80E-03	861,78	1.132	-12,5	-92,8	-2,1	lateral occipital, lingual gyrus
		Re	4,20E-02	3,87E-02	4,38E-02	6,70E-05	873,06	2.077	33,9	-19,7	43,9	precentral gyrus
<i>ZNF804A</i> ; intron	rs1344706, T	Re	7,00E-04	4,00E-04	1,00E-03	1,40E-04	1.498,95	2.953	44,3	-1,1	-18,1	superior temporal
<i>SH3YL1</i> ; intergenic	rs300774, A	Re	1,40E-03	9,00E-04	1,90E-03	6,80E-04	1.341,74	2.076	10,8	-69,2	45,2	precuneus
		Re	6,70E-03	5,70E-03	7,80E-03	1,40E-03	1.134,06	1.430	26,5	-95	0,3	lateral occipital, fusiform gyrus
		Li	1,30E-02	1,07E-02	1,35E-02	9,90E-04	1.004,03	1.978	-23,9	15,1	39,8	superior frontal
<i>CSMD1</i> ; intron	rs10503253, A	Re	1,40E-02	1,22E-02	1,52E-02	2,30E-04	1.029,15	2.419	5	-54	16,5	posterior cingulate, precuneus
<i>GABRR1-GABRR2</i> ; intergenic	rs12201676, C	Re	2,90E-02	2,64E-02	3,06E-02	7,40E-04	926,88	2.168	19,8	-28,4	56,6	postcentral, rostral superior parietal
<i>ODZ4</i> ; intron	rs12576775, G	Re	4,20E-02	3,86E-02	4,37E-02	7,30E-04	873,91	1.490	12	-62,7	36,9	precuneus

Befunde sind nach CWP-Wert geordnet.

Folgende Abkürzungen werden verwendet: Re, Rechts; Li, Links; CWP, clusterwise p-value (GLM mit Alter/Geschlecht als Kovariate, korrigiert für multiples Testen);

ROI, Region-of-Interest; CWP-Low und CWP-High, 90% Konfidenzintervall für CWP; Max p-Wert, gibt den p-Wert des Vertex mit der höchsten Signifikanz innerhalb des Clusters an;

Fläche, Oberfläche des Clusters; NVtxs, Anzahl der Vertices im Cluster (jeder Vertex stellt nicht die gleiche Fläche dar); TalX, Y, Z, Talairach-Koordinaten (MNI305) des Vertex mit der größten Signifikanz.

Tab. 12 (Teil 1): Farbliche Darstellung der Genotypenverteilung für 98 Probanden (nach Ausschluss von 9 Probanden) für die Risikovarianten, die mit einer signifikanten kortikalen Ausdünnung assoziiert waren. Die aufgrund des Genotyps erfolgte Gruppeneinteilung zur weiteren Analyse mit Freesurfer kann nachvollzogen werden.

Genotypenverteilung und darauf basierende Einteilung in Genotypgruppen, Nicht-Risikoallelträger (NonRAC) und Risikoallelträger (RAC), zur Analyse mit Freesurfer

Proband (Connect100)	Genetische Risikovarianten mit Effekt auf die Kortikale Dicke in gesunden Probanden													
	rs2727943		rs6484218		rs1344706		rs300774		rs10503253		rs12201676		rs12576775	
CON-001	TC	2	GG	1	GT	2	AC	2	AC	2	TT	1	AA	1
CON-002	TC	2	AG	2	GG	1	CC	1	CC	1	TT	1	AA	1
CON-003	CC	1	GG	1	GT	2	AC	2	CC	1	TT	1	AA	1
CON-004	TC	2	GG	1	GG	1	CC	1	AC	2	TC	2	AA	1
CON-005	CC	1	AG	2	GT	2	AC	2	AC	2	TC	2	AA	1
CON-006	CC	1	GG	1	GT	2	AC	2	CC	1	TT	1	AA	1
CON-007	CC	1	GG	1	TT	2	CC	1	AC	2	TC	2	GG	2
CON-009	CC	1	AG	2	TT	2	AC	2	AC	2	TC	2	GA	2
CON-010	CC	1	AG	2	GG	1	CC	1	AA	2	TC	2	AA	1
CON-011	CC	1	GG	1	GG	1	CC	1	CC	1	TC	2	AA	1
CON-013	CC	1	GG	1	GT	2	CC	1	AC	2	TT	1	GA	2
CON-014	CC	1	GG	1	GT	2	CC	1	AC	2	TT	1	AA	1
CON-015	CC	1	GG	1	GT	2	CC	1	CC	1	TC	2	AA	1
CON-016	CC	1	GG	1	TT	2	CC	1	CC	1	TC	2	AA	1
CON-017	CC	1	GG	1	TT	2	CC	1	AC	2	TC	2	GA	2
CON-018	CC	1	GG	1	TT	2	CC	1	CC	1	TC	2	AA	1
CON-019	CC	1	GG	1	TT	2	AC	2	AC	2	TC	2	GA	2
CON-020	TC	2	GG	1	GT	2	AC	2	AC	2	TC	2	AA	1
CON-021	CC	1	GG	1	GT	2	AC	2	CC	1	TC	2	AA	1
CON-022	CC	1	AG	2	GT	2	CC	1	AC	2	TC	2	GG	2
CON-023	CC	1	GG	1	GT	2	AA	2	CC	1	TC	2	GA	2
CON-024	CC	1	AG	2	TT	2	CC	1	AC	2	TC	2	AA	1
CON-025	CC	1	GG	1	TT	2	CC	1	AA	2	TT	1	AA	1
CON-026	CC	1	GG	1	GT	2	CC	1	AA	2	TT	1	AA	1
CON-027	CC	1	GG	1	GG	1	CC	1	CC	1	TT	1	AA	1
CON-028	TT	2	AG	2	TT	2	CC	1	AC	2	TT	1	AA	1
CON-029	CC	1	GG	1	GT	2	CC	1	AC	2	TC	2	AA	1
CON-030	CC	1	AG	2	GG	1	CC	1	CC	1	TT	1	AA	1
CON-031	CC	1	AG	2	GT	2	AA	2	CC	1	TC	2	GA	2
CON-033	CC	1	GG	1	GG	1	CC	1	CC	1	TT	1	AA	1
CON-034	CC	1	AG	2	TT	2	CC	1	CC	1	TC	2	GA	2
CON-036	CC	1	GG	1	TT	2	CC	1	CC	1	TC	2	AA	1
CON-037	CC	1	GG	1	TT	2	AC	2	CC	1	TT	1	AA	1
CON-038	TC	2	AG	2	GG	1	CC	1	CC	1	TT	1	GA	2
CON-039	TC	2	GG	1	GT	2	AC	2	AC	2	TT	1	GA	2
CON-040	TC	2	GG	1	GG	1	CC	1	CC	1	TT	1	AA	1
CON-041	CC	1	GG	1	GG	1	AC	2	AA	2	TC	2	GA	2
CON-042	TC	2	GG	1	GT	2	CC	1	AC	2	TT	1	AA	1
CON-043	CC	1	AG	2	TT	2	CC	1	CC	1	TC	2	AA	1
CON-044	CC	1	GG	1	GT	2	CC	1	CC	1	TT	1	AA	1
CON-045	CC	1	AG	2	GG	1	AC	2	CC	1	TC	2	GA	2
CON-046	CC	1	GG	1	GG	1	CC	1	AA	2	TT	1	AA	1
CON-047	TC	2	GG	1	GT	2	AC	2	CC	1	TT	1	AA	1
CON-048	CC	1	GG	1	GG	1	CC	1	AC	2	TT	1	GA	2
CON-049	TC	2	GG	1	GT	2	AC	2	AA	2	TT	1	AA	1
CON-050	TC	2	GG	1	TT	2	AA	2	CC	1	TC	2	AA	1
CON-051	CC	1	AG	2	GT	2	CC	1	AA	2	TC	2	AA	1
CON-053	TC	2	AG	2	GT	2	CC	1	AC	2	TC	2	GA	2
CON-055	CC	1	GG	1	GG	1	CC	1	CC	1	TC	2	GA	2
CON-056	CC	1	GG	1	GT	2	CC	1	CC	1	TT	1	AA	1
CON-057	CC	1	AG	2	TT	2	CC	1	CC	1	TC	2	GA	2

Die SNPs sind von links nach rechts mit absteigendem CWP-Wert in der Freesurfer-Analyse geordnet.
Nukleotidbasen: Adenin (A), Cytosin (C), Guanin (G), Thymin (T)

Allel-Klassifikation: homozygot für Nicht-Risikoallel
heterozygot
homozygot für Risikoallel

Gruppen-Klassifikation: Nicht-Risikoallelträger (NonRAC)
Risikoallelträger (RAC)

Tab. 12 (Teil 2): Farbliche Darstellung der Genotypenverteilung für 98 Probanden (nach Ausschluss von 9 Probanden) für die Risikovarianten, die mit einer signifikanten kortikalen Ausdünnung assoziiert waren. Die aufgrund des Genotyps erfolgte Gruppeneinteilung zur weiteren Analyse mit Freesurfer kann nachvollzogen werden.

Genotypenverteilung und darauf basierende Einteilung in Genotypgruppen, Nicht-Risikoalleleträger (NonRAC) und Risikoalleleträger (RAC), zur Analyse mit Freesurfer

Proband (Connect100)	Genetische Risikovarianten mit Effekt auf die Kortikale Dicke in gesunden Probanden																							
	rs2727943		rs6484218		rs1344706		rs300774		rs10503253		rs12201676		rs12576775											
CON-059	CC	1	AG	2	TT	2	AC	2	CC	1	CC	2	GA	2										
CON-060	CC	1	GG	1	GG	1	AC	2	AC	2	TC	2	GA	2										
CON-061	TC	2	GG	1	GT	2	CC	1	CC	1	TT	1	AA	1										
CON-062	TC	2	GG	1	GT	2	CC	1	CC	1	TC	2	GA	2										
CON-063	CC	1	GG	1	TT	2	CC	1	CC	1	TC	2	AA	1										
CON-064	CC	1	GG	1	TT	2	CC	1	CC	1	CC	2	GG	2										
CON-065	CC	1	GG	1	GT	2	AA	2	CC	1	TT	1	AA	1										
CON-066	TC	2	GG	1	GT	2	CC	1	CC	1	TT	1	GA	2										
CON-067	CC	1	GG	1	TT	2	CC	1	CC	1	TT	1	AA	1										
CON-068	TC	2	AG	2	GT	2	CC	1	CC	1	TT	1	AA	1										
CON-069	CC	1	GG	1	GT	2	CC	1	CC	1	TT	1	AA	1										
CON-070	CC	1	AG	2	TT	2	CC	1	CC	1	TC	2	GA	2										
CON-072	CC	1	GG	1	TT	2	CC	1	AC	2	TC	2	GA	2										
CON-073	CC	1	GG	1	GT	2	CC	1	AC	2	TT	1	AA	1										
CON-074	CC	1	GG	1	GT	2	CC	1	CC	1	TC	2	AA	1										
CON-075	TC	2	GG	1	GT	2	AC	2	CC	1	TT	1	AA	1										
CON-076	TC	2	GG	1	TT	2	CC	1	AC	2	TC	2	GA	2										
CON-077	TC	2	GG	1	TT	2	CC	1	CC	1	TC	2	GA	2										
CON-078	CC	1	GG	1	TT	2	CC	1	CC	1	TC	2	AA	1										
CON-079	CC	1	GG	1	GG	1	AC	2	CC	1	TC	2	AA	1										
CON-080	CC	1	GG	1	TT	2	CC	1	CC	1	TT	1	AA	1										
CON-081	CC	1	GG	1	TT	2	CC	1	CC	1	TC	2	AA	1										
CON-083	CC	1	GG	1	TT	2	CC	1	CC	1	TT	1	AA	1										
CON-084	TC	2	GG	1	GT	2	CC	1	CC	1	TC	2	AA	1										
CON-085	CC	1	GG	1	GT	2	CC	1	AC	2	TT	1	GA	2										
CON-086	CC	1	GG	1	TT	2	CC	1	CC	1	TT	1	GA	2										
CON-087	CC	1	AG	2	GG	1	CC	1	CC	1	TT	1	AA	1										
CON-088	CC	1	GG	1	TT	2	CC	1	AC	2	TC	2	AA	1										
CON-089	CC	1	GG	1	GT	2	CC	1	CC	1	TT	1	AA	1										
CON-090	CC	1	GG	1	TT	2	CC	1	AA	2	TT	1	AA	1										
CON-091	CC	1	AG	2	GT	2	AC	2	CC	1	CC	2	AA	1										
CON-092	CC	1	GG	1	TT	2	CC	1	AC	2	CC	2	GA	2										
CON-093	CC	1	GG	1	TT	2	CC	1	CC	1	TC	2	AA	1										
CON-094	CC	1	AG	2	TT	2	AC	2	CC	1	CC	2	AA	1										
CON-095	TC	2	GG	1	TT	2	AC	2	CC	1	TT	1	AA	1										
CON-096	CC	1	AG	2	TT	2	AC	2	AA	2	CC	2	AA	1										
CON-097	TT	2	GG	1	TT	2	AC	2	AC	2	TT	1	AA	1										
CON-098	CC	1	GG	1	TT	2	CC	1	CC	1	TT	1	AA	1										
CON-099	CC	1	GG	1	GT	2	CC	1	CC	1	CC	2	AA	1										
CON-100	CC	1	GG	1	TT	2	AC	2	CC	1	TC	2	GA	2										
CON-101	CC	1	GG	1	TT	2	CC	1	AC	2	TT	1	AA	1										
CON-102	TC	2	GG	1	GG	1	CC	1	CC	1	CC	2	AA	1										
CON-103	CC	1	GG	1	GT	2	AC	2	CC	1	TC	2	AA	1										
CON-104	CC	1	GG	1	TT	2	CC	1	CC	1	TT	1	GA	2										
CON-105	TC	2	AG	2	GT	2	CC	1	CC	1	TC	2	GA	2										
CON-106	CC	1	GG	1	GT	2	CC	1	AC	2	CC	2	AA	1										
CON-107	CC	1	GG	1	GT	2	AA	2	CC	1	TT	1	GA	2										

Die SNPs sind von links nach rechts mit absteigendem CWP-Wert in der Freesurfer-Analyse geordnet.
Nukleotidbasen: Adenin (A), Cytosin (C), Guanin (G), Thymin (T)

Allel-Klassifikation:

homozygot für Nicht-Risikoallele
heterozygot
homozygot für Risikoallele

Gruppen-Klassifikation:

Nicht-Risikoalleleträger (NonRAC)
Risikoalleleträger (RAC)

8. Literaturverzeichnis

- Abecasis GR, Altshuler D, Auton A, Brooks LD, Durbin RM, Gibbs RA, Hurles ME, McVean GA. A map of human genome variation from population-scale sequencing. *Nature* 2010; 467: 1061 – 1073
- Addis DR, McIntosh AR, Moscovitch M, Crawley AP, McAndrews MP. Characterizing spatial and temporal features of autobiographical memory retrieval networks: A partial least squares approach. *Neuroimage* 2004; 23: 1460–1471
- Aguirre GK, Zarahn E, D'Esposito M. An area within human ventral cortex sensitive to “building” stimuli: evidence and implications. *Neuron* 1998; 21: 373–383
- Assaf M, Rivkin PR, Kuzu CH, Calhoun VD, Kraut MA, Groth KM, Yassa MA, Hart J, Pearlson GD. Abnormal object recall and anterior cingulate overactivation correlate with formal thought disorder in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2006; 59: 452–459
- Athinoula A. Martinos Center for Biomedical Imaging at the Massachusetts General Hospital, 2011: FreeSurferWiki. <http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/fswiki> (Zugriffsdatum: 06/2011-09/2013)
- Balog Z, Kiss I, Kéri S. ZNF804A may be associated with executive control of attention. *Genes, Brain Behav* 2011; 10: 223–227
- Bassett DS, Bullmore ET. Human brain networks in health and disease. *Curr Opin Neurol* 2009; 22: 340–347
- Baum AE, Akula N, Cabanero M, Cardona I, Corona W, Klemens B, Schulze TG, Cichon S, Rietschel M, Nöthen MM, Georgi A, Schumacher J, Schwarz M, Abou Jamra R, Höfels S, Propping P, Satagopan J, Detera-Wadleigh SD, Hardy J, McMahon FJ. A genome-wide association study implicates diacylglycerol kinase eta (DGKH) and several other genes in the etiology of bipolar disorder. *Mol Psychiatry* 2008; 13:197–207
- Begum F, Ghosh D, Tseng GC, Feingold E. Comprehensive literature review and statistical considerations for GWAS meta-analysis. *Nucleic Acids Res* 2012; 40: 3777–3784
- Bergmann O, Haukvik UK, Brown AA, Rimol LM, Hartberg CB, Athanasiu L, Melle I, Djurovic S, Andreassen OA, Dale AM, Agartz I. ZNF804A and cortical thickness in schizophrenia and bipolar disorder. *Psychiatry Res* 2013; 212: 154–157

- Bigler ED, Mortensen S, Neeley ES, Ozonoff S, Krasny L, Johnson M, Lu J, Provencal SL, McMahon W, Lainhart JE. Superior temporal gyrus, language function, and autism. *Dev Neuropsychol* 2007; 31: 217–238
- Brandon NJ, Millar JK, Korth C, Sive H, Singh KK, Sawa A. Understanding the role of *DISC1* in psychiatric disease and during normal development. *J Neurosci* 2009; 29: 12768–12775
- Brauns S, Gollub RL, Roffman JL, Yendiki A, Ho BC, Wassink TH, Heinz A, Ehrlich S. *DISC1* is associated with cortical thickness and neural efficiency. *Neuroimage* 2011; 57: 1591-1600
- Buchanan RW, Francis A, Arango C, Miller K, Lefkowitz DM, McMahon RP, Barta PE, Pearlson GD. Morphometric Assessment of the Heteromodal Association Cortex in Schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2004; 161: 322–331
- Cassidy C, Buchy L, Bodnar M, Dell’elce J, Choudhry Z, Fathalli F, Sengupta S, Fox R, Malla A, Lepage M, Iyer S, Joober R. Association of a risk allele of *ANK3* with cognitive performance and cortical thickness in patients with first-episode psychosis. *J Psychiatry Neurosci* 2014; 39: 31–39
- Cavanna AE, Trimble MR. The precuneus: A review of its functional anatomy and behavioural correlates. *Brain* 2006; 129: 564–583
- Chen DT, Jiang X, Akula N, Shugart YY, Wendland JR, Steele CJM, Kassem L, Park JH, Chatterjee N, Jamain S, Cheng A, Leboyer M, Muglia P, Schulze TG, Cichon S, Nöthen MM, Rietschel M, McMahon FJ. Genome-wide association study meta-analysis of European and Asian-ancestry samples identifies three novel loci associated with bipolar disorder. *Mol Psychiatry* 2011; 18: 195-205
- Chen YL, Tu PC, Lee YC, Chen YS, Li CT, Su TP. Resting-state fMRI mapping of cerebellar functional dysconnections involving multiple large-scale networks in patients with schizophrenia. *Schizophr Res* 2013; 149: 26–34
- Chumakov I, Blumenfeld M, Guerassimenko O, Cavarec L, Palicio M, Abderrahim H, Bougueleret L, Barry C, Tanaka H, La Rosa P, Puech A, Tahri N, Cohen-Akenine A, Delabrosse S, Lissarrague S, Picard FP, Maurice K, Essioux L, Millasseau P, Grel P, Debailleul V, Simon AM, Caterina D, Dufaure I, Malekzadeh K, Belova M, Luan JJ, Bouillot M, Sambucy JL, Primas G, Saumier M, Boubkiri N, Martin-Saumier S, Nasroune M, Peixoto H, Delaye A, Pinchot V, Bastucci M, Guillou S, Chevillon M, Sainz-Fuertes R, Meguenni S, Aurich-Costa J, Cherif D, Gimalac A, van Duijn C, Gauvreau D, Ouellette G, Fortier I, Raelson J, Sherbatich T, Riazanskaia N, Rogaev E, Raeymaekers P, Aerssens J, Konings F, Luyten W, Macciardi F, Sham PC, Straub RE, Weinberger DR, Cohen N, Cohen D. Genetic and physiological data implicating the new human gene *G72* and the gene for D-amino acid oxidase in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 13675–13680

- Cichon S, Mühleisen TW, Degenhardt F, Mattheisen M, Miró X, Strohmaier J, Steffens M, Meesters C, Herms S, Weingarten M, Priebe L, Haenisch B, Alexander M, Vollmer J, Breuer R, Schmääl C, Tessmann P, Moebus S, Wichmann HE, Schreiber S, Müller-Myhsok B, Lucae S, Jamain S, Leboyer M, Bellivier F, Etain B, Henry C, Kahn JP, Heath S, Hamshere M, O'Donovan MC, Owen MJ, Craddock N, Schwarz M, Vedder H, Kammerer-Ciernioch J, Reif A, Sasse J, Bauer M, Hautzinger M, Wright A, Mitchell PB, Schofield PR, Montgomery GW, Medland SE, Gordon SD, Martin NG, Gustafsson O, Andreassen O, Djurovic S, Sigurdsson E, Steinberg S, Stefansson H, Stefansson K, Kapur-Pojkic L, Oruc L, Rivas F, Mayoral F, Chuchalin A, Babadjanova G, Tiganov AS, Pantelejeva G, Abramova LI, Grigoriu-Serbanescu M, Diaconu CC, Czerski PM, Hauser J, Zimmer A, Lathrop M, Schulze TG, Wienker TF, Schumacher J, Maier W, Propping P, Rietschel M, Nöthen MM. Genome-wide Association Study Identifies Genetic Variation in Neurocan as a Susceptibility Factor for Bipolar Disorder. *Am J Hum Genet* 2011; 88: 372–381
- Clarkson MJ, Cardoso MJ, Ridgway GR, Modat M, Leung KK, Rohrer JD, Fox NC, Ourselin S. A comparison of voxel and surface based cortical thickness estimation methods. *Neuroimage* 2011; 57: 856-865
- Cousijn H, Rijpkema M, Harteveld A, Harrison PJ, Fernández G, Franke B, Arias-Vásquez A. Schizophrenia risk gene ZNF804A does not influence macroscopic brain structure: an MRI study in 892 volunteers. *Mol Psychiatry* 2012; 17: 1155-1157
- 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
- Craddock N, Forty L. Genetics of affective (mood) disorders. *Eur J Hum Genet* 2006; 14: 660-668
- Creutzfeldt OD. *Cortex Cerebri*. Heidelberg: Springer, 1983
- Dale AM, Fischl B, Sereno MI. Cortical surface-based analysis. I. Segmentation and surface reconstruction. *Neuroimage* 1999; 9: 179–194
- Donohoe G, Rose E, Frodl T, Morris D, Spoletini I, Adriano F, Bernardini S, Caltagirone C, Bossù P, Gill M, Corvin AP, Spalletta G. ZNF804A risk allele is associated with relatively intact gray matter volume in patients with schizophrenia. *Neuroimage*. 2011; 54: 2132–2137
- Doring TM, Kubo TT, Cruz LC Jr, Juruena MF, Fainberg J, Domingues RC, Gasparetto EL. Evaluation of hippocampal volume based on MR imaging in patients with bipolar affective disorder applying manual and automatic segmentation techniques. *J Magn Reson Imaging* 2011; 33: 565–572

- du Bois TM, Huang XF. Early brain development disruption from NMDA receptor hypofunction: Relevance to schizophrenia. *Brain Res Rev* 2007; 53: 260–270
- Ecker A. Die Hirnwindungen des Menschen: nach eigenen Untersuchungen; insbesondere über die Entwicklung derselben beim Fötus und mit Rücksicht auf das Bedürfnis der Ärzte. Braunschweig: Vieweg, 1869
- Ehrlich S, Brauns S, Yendiki A, Ho BC, Calhoun V, Schulz SC, Gollub RL, Sponheim SR. Associations of Cortical Thickness and Cognition in Patients With Schizophrenia and Healthy Controls. *Schizophr Bull* 2012; 38: 1050-1062
- Ellison-Wright I, Bullmore E. Anatomy of bipolar disorder and schizophrenia: a meta-analysis. *Schizophr Res* 2010; 117: 1–12
- Epstein R, Kanwisher N. A cortical representation of the local visual environment. *Nature* 1998; 392: 598–601
- Ermann J, Glimcher LH. After GWAS: mice to the rescue?. *Curr Opin Immunol* 2012; 24: 564–570
- van Essen DC, Drury HA, Joshi S, Miller MI. Functional and structural mapping of human cerebral cortex: Solutions are on the surfaces. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 788–795
- Esslinger C, Kirsch P, Haddad L, Mier D, Sauer C, Erk S, Schnell K, Arnold C, Witt SH, Rietschel M, Cichon S, Walter H, Meyer-Lindenberg A. Cognitive state and connectivity effects of the genome-wide significant psychosis variant in ZNF804A. *Neuroimage* 2011; 54: 2514–2523
- Esslinger C, Walter H, Kirsch P, Erk S, Schnell K, Arnold C, Haddad L, Mier D, Opitz von Boberfeld C, Raab K, Witt SH, Rietschel M, Cichon S, Meyer-Lindenberg A. Neural mechanisms of a genome-wide supported psychosis variant. *Science* 2009; 324: 605
- Ferreira MAR, O'Donovan MC, Meng YA, Jones IR, Ruderfer DM, Jones L, Fan J, Kirov G, Perlis RH, Green EK, Smoller JW, Grozeva D, Stone J, Nikolov I, Chambert K, Hamshere ML, Nimgaonkar VL, Moskvina V, Thase ME, Caesar S, Sachs GS, Franklin J, Gordon-Smith K, Ardlie KG, Gabriel SB, Fraser C, Blumenstiel B, Defelice M, Breen G, Gill M, Morris DW, Elkin A, Muir WJ, McGhee KA, Williamson R, MacIntyre DJ, MacLean AW, St CD, Robinson M, Van Beck M, Pereira ACP, Kandaswamy R, McQuillin A, Collier DA, Bass NJ, Young AH, Lawrence J, Ferrier IN, Anjorin A, Farmer A, Curtis D, Scolnick EM, McGuffin P, Daly MJ, Corvin AP, Holmans PA, Blackwood DH, Gurling HM, Owen MJ, Purcell SM, Sklar P, Craddock N. Collaborative genome-wide association analysis supports a role for ANK3 and CACNA1C in bipolar disorder. *Nat Genet* 2008; 40: 1056–1058

- Fischer BA, Carpenter WT. Will the Kraepelinian dichotomy survive DSM-V? *Neuropsychopharmacology* 2009; 34: 2081–2087
- Fischl B, Dale AM. Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 11050–11055
- Fischl B, Sereno MI, Dale AM. Cortical surface-based analysis. II: Inflation, flattening, and a surface-based coordinate system. *Neuroimage* 1999; 9: 195–207
- Fischl B, Van Der Kouwe A, Destrieux C, Halgren E, Ségonne F, Salat DH, Busa E, Seidman LJ, Goldstein J, Kennedy D, Caviness V, Makris N, Rosen B, Dale AM. Automatically Parcellating the Human Cerebral Cortex. *Cereb Cortex* 2004; 14: 11–22
- Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. Mini-Mental State: A practical method for grading the state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975; 12: 189–198
- Frey BN, Andreazza AC, Nery FG, Martins MR, Quevedo J, Soares JC, Kapczinski F. The role of hippocampus in the pathophysiology of bipolar disorder. *Behav Pharmacol* 2007; 18: 419–430
- Ganten D, Ruckpaul K. *Grundlagen der Molekularen Medizin*. Heidelberg: Springer, 2003
- Glahn DC, Paus T, Thompson PM. Imaging genomics: mapping the influence of genetics on brain structure and function. *Hum Brain Mapp* 2007; 28: 461–463
- Goghari VM, Sponheim SR, MacDonald AW. The functional neuroanatomy of symptom dimensions in schizophrenia: A qualitative and quantitative review of a persistent question. *Neurosci Biobehav Rev* 2010; 34: 468–486
- Goldberg E. *The Wisdom Paradox: How Your mind can grow stronger as your Brain*. New York: Penguin, 2006
- Gomez-Ospina N, Tsuruta F, Barreto-Chang O, Hu L, Dolmetsch R. The C Terminus of the L-Type Voltage-Gated Calcium Channel CaV1.2 Encodes a Transcription Factor. *Cell* 2006; 127: 591–606
- Green EK, Grozeva DV, Forty E, Gordon-Smith K, Russell E, Farmer A, Hamshere ML, Jones IR, Jones L, McGuffin P, Moran JL, Purcell S, Sklar P, Owen MJ, O'Donovan MC, Craddock NJ. Association at SYNE1 in both bipolar disorder and recurrent major depression. *Mol Psychiatry* 2012; 18: 614–617
- Gutiérrez-Galve L, Lehmann M, Hobbs NZ, Clarkson MJ, Ridgway GR, Crutch S, Ourselin S, Schott JM, Fox NC, Barnes J. Patterns of cortical thickness according to APOE genotype in alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2009; 28: 476–485

- Habl G, Zink M, Petroianu G, Bauer M, Schneider-Axmann T, Von Wilmsdorff M, Falkai P, Henn FA, Schmitt A. Increased d-amino acid oxidase expression in the bilateral hippocampal CA4 of schizophrenic patients: A post-mortem study. *J Neural Transm* 2009; 116: 1657–65
- Hagler DJ, Sereno MI. Spatial maps in frontal and prefrontal cortex. *Neuroimage* 2006; 29: 567–577
- Haldane M, Cunningham G, Androutsos C, Frangou S. Structural brain correlates of response inhibition in Bipolar Disorder I. *J Psychopharmacol* 2008; 22: 138–143
- Hashimoto K, Fukushima T, Shimizu E, Komatsu N, Watanabe H, Shinoda N, Nakazato M, Kumakiri C, Okada S, Hasegawa H, Imai K, Iyo M. Decreased serum levels of D-serine in patients with schizophrenia: evidence in support of the N-methyl-D-aspartate receptor hypofunction hypothesis of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 2003; 60: 572–576
- Heinrich A, Lourdasamy A, Tzschoppe J, Vollstädt-Klein S, Bühler M, Steiner S, Bach C, Poustka L, Banaschewski T, Barker G, Büchel C, Conrod P, Garavan H, Gallinat J, Heinz A, Ittermann B, Loth E, Mann K, Martinot JL, Paus T, Pausova Z, Smolka M, Ströhle A, Struve M, Witt S, Flor H, Schumann G, Rietschel M, Nees F. The risk variant in ODZ4 for bipolar disorder impacts on amygdala activation during reward processing. *Bipolar Disord* 2013; 15: 440–445
- Hill MJ, Bray NJ. Allelic differences in nuclear protein binding at a genome-wide significant risk variant for schizophrenia in ZNF804A. *Mol Psychiatry* 2011; 16: 787–789
- Hill MJ, Bray NJ. Evidence that schizophrenia risk variation in the ZNF804A gene exerts its effects during fetal brain development. *Am J Psychiatry* 2012; 169: 1301–1308
- Hill MJ, Jeffries AR, Dobson RJB, Price J, Bray NJ. Knockdown of the psychosis susceptibility gene ZNF804A alters expression of genes involved in cell adhesion. *Hum Mol Genet* 2012; 21: 1018–1024
- Hindorff LA, MacArthur J, Morales J, Junkins HA, Hall PN, Klemm AK, Manolio TA, 2010: A Catalog of Published Genome-Wide Association Studies. <http://www.genome.gov/gwastudies/> (Zugriffsdatum: 20.04.2012)
- Hindorff LA, Sethupathy P, Junkins HA, Ramos EM, Mehta JP, Collins FS, Manolio TA. Potential etiologic and functional implications of genome-wide association loci for human diseases and traits. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 9362–9367
- Hirjak D, Wolf RC, Stieltjes B, Hauser T, Seidl U, Schröder J, Thomann PA. Cortical signature of neurological soft signs in recent onset schizophrenia. *Brain Topogr* 2014; 27: 296–306

- Hirschhorn JN, Daly MJ. Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. *Nat Rev Genet* 2005; 6: 95–108
- Hopper JW, Frewen PA, Van Der Kolk BA, Lanius RA. Neural correlates of reexperiencing, avoidance, and dissociation in PTSD: Symptom dimensions and emotion dysregulation in responses to script-driven trauma imagery. *J Trauma Stress* 2007; 20: 713–725
- Horn H, Federspiel A, Wirth M, Müller TJ, Wiest R, Wang JJ, Strik W. Structural and metabolic changes in language areas linked to formal thought disorder. *Br J Psychiatry* 2009; 194: 130–138
- Huang J, Perlis RH, Lee PH, Rush AJ, Fava M, Sachs GS, Lieberman J, Hamilton SP, Sullivan P, Sklar P, Purcell S, Smoller JW. Cross-disorder genomewide analysis of schizophrenia, bipolar disorder, and depression. *Am J Psychiatry* 2010; 167: 1254–1263
- Hugdahl K, Løberg EM, Nygård M. Left temporal lobe structural and functional abnormality underlying auditory hallucinations in schizophrenia. *Front Neurosci* 2009; 3: 34–45
- Hulshoff Pol HE, Schnack HG, Bertens MGBC, van Haren NEM, van der Tweel I, Staal WG, Baaré WFC, Kahn RS. Volume changes in gray matter in patients with schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2002; 159: 244–250
- Huttenlocher PR, Dabholkar AS. Regional differences in synaptogenesis in human cerebral cortex. *J Comp Neurol* 1997; 387: 167–178
- International Schizophrenia Consortium, Purcell SM, Wray NR, Stone JL, Visscher PM, O'Donovan MC, Sullivan PF, Sklar P. Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Nature* 2009; 460: 748–752
- Irlé E, Lange C, Weniger G, Sachsse U. Size abnormalities of the superior parietal cortices are related to dissociation in borderline personality disorder. *Psychiatry Res* 2007; 156: 139–149
- Jiang Y, Zhang H. Propensity score-based nonparametric test revealing genetic variants underlying bipolar disorder. *Genet Epidemiol* 2011; 35:125–132
- Jimenez-Sanchez G, Childs B, Valle D. Human disease genes. *Nature* 2001; 409: 853–855
- Jou RJ, Minshew NJ, Keshavan MS, Vitale MP, Hardan AY. Enlarged right superior temporal gyrus in children and adolescents with autism. *Brain Res* 2010; 1360: 205–212
- Kamiya A, Kubo K, Tomoda T, Takaki M, Youn R, Ozeki Y, Sawamura N, Park U, Kudo C, Okawa M, Ross CA, Hatten ME, Nakajima K, Sawa A. A schizophrenia-

- associated mutation of *DISC1* perturbs cerebral cortex development. *Nat Cell Biol* 2005; 7: 1167–1178
- Kanwisher N, McDermott J, Chun MM. The fusiform face area: a module in human extrastriate cortex specialized for face perception. *J Neurosci* 1997; 17: 4302–4311
- Kasai K, Shenton ME, Salisbury DF, Hirayasu Y, Lee CU, Ciszewski AA, Yurgelun-Todd D, Kikinis R, Jolesz FA, McCarley RW. Progressive decrease of left superior temporal gyrus gray matter volume in patients with first-episode schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2003; 160: 156–164
- Kerner B, Lambert CG, Muthén BO. Genome-wide association study in bipolar patients stratified by co-morbidity. *PLoS One* 2011; 6: 28477
- Kety SS. The significance of genetic factors in the etiology of schizophrenia: results from the national study of adoptees in Denmark. *J Psychiatr Res* 1987; 21: 423–429
- Klein A, Andersson J, Ardekani BA, Ashburner J, Avants B, Chiang MC, Christensen GE, Collins DL, Gee J, Hellier P, Song JH, Jenkinson M, Lepage C, Rueckert D, Thompson P, Vercauteren T, Woods RP, Mann JJ, Parsey RV. Evaluation of 14 nonlinear deformation algorithms applied to human brain MRI registration. *NeuroImage* 2009; 46: 786–802
- Knight WD, Kim LG, Douiri A, Frost C, Rossor MN, Fox NC. Acceleration of cortical thinning in familial Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2011; 32: 1765–1773
- Kobayashi C, Glover GH, Temple E. Cultural and linguistic effects on neural bases of "Theory of Mind" in American and Japanese children. *Brain Res* 2007; 1164: 95–107
- Koenigs M, Barbey AK, Postle BR, Grafman J. Superior parietal cortex is critical for the manipulation of information in working memory. *J Neurosci* 2009; 29: 14980–14986
- Krawczak M. Genomweite Assoziationsstudien (GWAS). In Lenk C, Duttge G, Fangerau H, Hrsg. *Handbuch Ethik und Recht der Forschung am Menschen*. Heidelberg: Springer, 2014: 39-43
- Kriebel J, Illig T, Grallert H. Genomweite Assoziationsstudien (GWAS) - Möglichkeiten und Grenzen. *BIOSpektrum* 2012; 18: 508-510
- Kuperberg GR, Broome MR, McGuire PK, David AS, Eddy M, Ozawa F, Goff D, West WC, Williams SCR, van der Kouwe AJW, Salat DH, Dale AM, Fischl B. Regionally localized thinning of the cerebral cortex in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 2003; 60: 878–888

- LaFramboise T. Single nucleotide polymorphism arrays: A decade of biological, computational and technological advances. *Nucleic Acids Research* 2009; 37: 4181–4193
- Lauterburg PC. Image Formation by Induced Local Interactions: Examples Employing Nuclear Magnetic Resonance. *Nature* 1973. 242: 190-191
- Lencz T, Szeszko PR, DeRosse P, Burdick KE, Bromet EJ, Bilder RM, Malhotra AK. A schizophrenia risk gene, *ZNF804A*, influences neuroanatomical and neurocognitive phenotypes. *Neuropsychopharmacology* 2010; 35: 2284–2291
- Lerch JP, Pruessner JC, Zijdenbos A, Hampel H, Teipel SJ, Evans AC. Focal decline of cortical thickness in Alzheimer's disease identified by computational neuroanatomy. *Cereb Cortex* 2005; 15: 995–1001
- Levy NA, Janicak PG. Calcium channel antagonists for the treatment of bipolar disorder. *Bipolar Disord* 2000; 2: 108–119
- Lichtenstein P, Yip BH, Björk C, Pawitan Y, Cannon TD, Sullivan PF, Hultman CM. Common genetic determinants of schizophrenia and bipolar disorder in Swedish families: a population-based study. *Lancet* 2009; 373: 234–239
- Liu Y, Blackwood DH, Caesar S, de Geus EJC, Farmer A, Ferreira MAR, Ferrier IN, Fraser C, Gordon-Smith K, Green EK, Grozeva D, Gurling HM, Hamshere ML, Heutink P, Holmans PA, Hoogendijk WJ, Hottenga JJ, Jones L, Jones IR, Kirov G, Lin D, McGuffin P, Moskvina V, Nolen WA, Perlis RH, Posthuma D, Scolnick EM, Smit AB, Smit JH, Smoller JW, St Clair D, van Dyck R, Verhage M, Willemsen G, Young a H, Zandbelt T, Boomsma DI, Craddock N, O'Donovan MC, Owen MJ, Penninx BWJH, Purcell S, Sklar P, Sullivan PF. Meta-analysis of genome-wide association data of bipolar disorder and major depressive disorder. *Mol Psychiatry* 2011; 16: 2–4
- Lyo IK, Sung YH, Dager SR, Friedman SD, Lee JY, Kim SJ, Kim N, Dunner DL, Renshaw PF. Regional cerebral cortical thinning in bipolar disorder. *Bipolar Disord* 2006; 8: 65–74
- Madeira C, Freitas ME, Vargas-Lopes C, Wolosker H, Panizzutti R. Increased brain d-amino acid oxidase (DAAO) activity in schizophrenia. *Schizophr Res* 2008; 101: 76–83
- Mangin JF, Frouin V, Bloch I, Régis J, López-Krahe J. From 3D magnetic resonance images to structural representations of the cortex topography using topology preserving deformations. *J Math Imaging Vis* 1995; 5: 297–318
- Manolio TA. Genomewide Association Studies and Assessment of the Risk of Disease. *N Engl J Med* 2010; 363: 166–176
- Mansfield P, Morris PG. *NMR Imaging in biomedicine*. New York: Academic Press, 1982

- Mao Y, Ge X, Frank CL, Madison JM, Koehler AN, Doud MK, Tassa C, Berry EM, Soda T, Singh KK, Biechele T, Petryshen TL, Moon RT, Haggarty SJ, Tsai LH. Disrupted in Schizophrenia 1 Regulates Neuronal Progenitor Proliferation via Modulation of GSK3 β / β -Catenin Signaling. *Cell* 2009; 136: 1017–1031
- Marx-Stölting L. Pharmakogenetik und Pharmakogentests: Biologische, wissenschaftstheoretische und ethische Aspekte des Umgangs mit genetischer Variation. Münster: LIT, 2007
- Matsumoto R, Kitabayashi Y, Narumoto J, Wada Y, Okamoto A, Ushijima Y, Yokoyama C, Yamashita T, Takahashi H, Yasuno F, Suhara T, Fukui K. Regional cerebral blood flow changes associated with interoceptive awareness in the recovery process of anorexia nervosa. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2006; 30: 1265–1270
- McDonald C, Bullmore ET, Sham PC, Chitnis X, Wickham H, Bramon E, Murray RM. Association of genetic risks for schizophrenia and bipolar disorder with specific and generic brain structural endophenotypes. *Arch Gen Psychiatry* 2004; 61: 974–984
- Mechelli A, Humphreys GW, Mayall K, Olson A, Price CJ. Differential effects of word length and visual contrast in the fusiform and lingual gyri during reading. *Proc Biol Sci* 2000; 267: 1909–1913
- Moskvina V, Craddock N, Holmans P, Nikolov I, Pahwa JS, Green E, Owen MJ, O'Donovan MC. Gene-wide analyses of genome-wide association data sets: evidence for multiple common risk alleles for schizophrenia and bipolar disorder and for overlap in genetic risk. *Mol Psychiatry* 2009; 14: 252–260
- Mowry BJ, Gratten J. The emerging spectrum of allelic variation in schizophrenia: current evidence and strategies for the identification and functional characterization of common and rare variants. *Mol Psychiatry* 2012; 18: 38–52
- Mühleisen TW, Leber M, Schulze TG, Strohmaier J, Degenhardt F, Treutlein J, Mattheisen M, Forstner AJ, Schumacher J, Breuer R, Meier S, Herms S, Hoffmann P, Lacour A, Witt SH, Reif A, Müller-Myhsok B, Lucae S, Maier W, Schwarz M, Vedder H, Kammerer-Ciernioch J, Pfennig A, Bauer M, Hautzinger M, Moebus S, Priebe L, Czerski PM, Hauser J, Lissowska J, Szeszenia-Dabrowska N, Brennan P, McKay JD, Wright A, Mitchell PB, Fullerton JM, Schofield PR, Montgomery GW, Medland SE, Gordon SD, Martin NG, Krasnow V, Chuchalin A, Babadjanova G, Pantelejeva G, Abramova LI, Tiganov AS, Polonikov A, Khusnutdinova E, Alda M, Grof P, Rouleau GA, Turecki G, Laprise C, Rivas F, Mayoral F, Kogevinas M, Grigoriu-Serbanescu M, Propping P, Becker T, Rietschel M, Nöthen MM, Cichon S. Genome-wide association study reveals two new risk loci for bipolar disorder. *Nat Commun* 2014; 5: 3339
- Mullis KB, Faloona FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol* 1987; 155: 335–350

- Nakamura K, Fox R, Fisher E. CLADA: Cortical longitudinal atrophy detection algorithm. *Neuroimage* 2011; 54: 278–289
- Nenadic I, Yotter RA, Sauer H, Gaser C. Patterns of cortical thinning in different subgroups of schizophrenia. *Br J Psychiatry* 2015; 206: 479–483
- Nesvåg R, Schaer M, Haukvik UK, Westlye LT, Rimol LM, Lange EH, Hartberg CB, Ottet MC, Melle I, Andreassen OA, Jönsson EG, Agartz I, Eliez S. Reduced brain cortical folding in schizophrenia revealed in two independent samples. *Schizophr Res* 2014; 152: 333–338
- Noga JT, Aylward E, Barta PE, Pearlson GD. Cingulate gyrus in schizophrenic patients and normal volunteers. *Psychiatry Res* 1995; 61: 201–208
- Nöthen MM, Nieratschker V, Cichon S, Rietschel M. New findings in the genetics of major psychoses. *Dialogues Clin Neurosci* 2010; 12: 85–93
- O'Donovan MC, Craddock N, Norton N, Williams H, Peirce T, Moskvina V, Nikolov I, Hamshere M, Carroll L, Georgieva L, Dwyer S, Holmans P, Marchini JL, Spencer CC, Howie B, Leung HT, Hartmann AM, Möller HJ, Morris DW, Shi Y, Feng G, Hoffmann P, Propping P, Vasilescu C, Maier W, Rietschel M, Zammit S, Schumacher J, Quinn EM, Schulze TG, Williams NM, Giegling I, Iwata N, Ikeda M, Darvasi A, Shifman S, He L, Duan J, Sanders AR, Levinson DF, Gejman PV, Cichon S, Nöthen MM, Gill M, Corvin A, Rujescu D, Kirov G, Owen MJ, Buccola NG, Mowry BJ, Freedman R, Amin F, Black DW, Silverman JM, Byerley WF, Cloninger CR. Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up. *Nat Genet* 2008; 40: 1053–1055
- Oertel-Knöchel V, Reuter J, Reinke B, Marbach K, Feddern R, Alves G, Prvulovic D, Linden DEJ, Knöchel C. Association between age of disease-onset, cognitive performance and cortical thickness in bipolar disorders. *J Affect Disord* 2015; 174: 627–635
- Oldfield RC. The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. *Neuropsychologia* 1971; 9: 97–113
- Panizzon MS, Fennema-Notestine C, Eyler LT, Jernigan TL, Prom-Wormley E, Neale M, Jacobson K, Lyons MJ, Grant MD, Franz CE, Xian H, Tsuang M, Fischl B, Seidman L, Dale A, Kremen WS. Distinct genetic influences on cortical surface area and cortical thickness. *Cereb Cortex* 2009; 19: 2728–2735
- Penfield W, Rasmussen T. *The Cerebral Cortex of Man: A Clinical Study of Localization of Function*. New York: Macmillan, 1950
- Purcell SM, Wray NR, Stone JL, Visscher PM, O'Donovan MC, Sullivan PF, Sklar P. Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Nature* 2009; 460: 748–752

- Radua J, Phillips ML, Russell T, Lawrence N, Marshall N, Kalidindi S, El-Hage W, McDonald C, Giampietro V, Brammer MJ, David AS, Surguladze SA. Neural response to specific components of fearful faces in healthy and schizophrenic adults. *Neuroimage* 2010; 49: 939–946
- Rauch U, Karthikeyan L, Maurel P, Margolis RU, Margolis RK. Cloning and primary structure of neurocan, a developmentally regulated, aggregating chondroitin sulfate proteoglycan of brain. *J Biol Chem* 1992; 267: 19536–19547
- Riley B, Thiselton D, Maher BS, Bigdeli T, Wormley B, McMichael GO, Fanous AH, Vladimirov V, O'Neill FA, Walsh D, Kendler KS. Replication of association between schizophrenia and ZNF804A in the Irish Case-Control Study of Schizophrenia sample. *Mol Psychiatry* 2010; 15: 29–37
- Rimol LM, Hartberg CB, Nesvåg R, Fennema-Notestine C, Hagler DJ, Pung CJ, Jennings RG, Haukvik UK, Lange E, Nakstad PH, Melle I, Andreassen OA, Dale AM, Agartz I. Cortical thickness and subcortical volumes in schizophrenia and bipolar disorder. *Biol Psychiatry* 2010b; 68: 41–50
- Rimol LM, Nesvåg R, Hagler DJ, Bergmann O, Fennema-Notestine C, Hartberg CB, Haukvik UK, Lange E, Pung CJ, Server A, Melle I, Andreassen OA, Agartz I, Dale AM. Cortical volume, surface area, and thickness in schizophrenia and bipolar disorder. *Biol Psychiatry* 2012; 71: 552–560
- Rimol LM, Panizzon MS, Fennema-Notestine C, Eyer LT, Fischl B, Franz CE, Hagler DJ, Lyons MJ, Neale MC, Pacheco J, Perry ME, Schmitt JE, Grant MD, Seidman LJ, Thermenos HW, Tsuang MT, Eisen SA, Kremen WS, Dale AM. Cortical Thickness Is Influenced by Regionally Specific Genetic Factors. *Biol Psychiatry* 2010a; 67: 493–499
- Risch N, Merikangas K. The Future of Genetic Studies of Complex Human Diseases. *Science* 1996; 273: 1516–1517
- Rietschel M, Mattheisen M, Degenhardt F, Genetic Risk and Outcome in Psychosis (GROUP) Investigators, Mühleisen TW, Kirsch P, Esslinger C, Herms S, Demontis D, Steffens M, Strohmaier J, Haenisch B, Breuer R, Czerski PM, Giegling I, Strengman E, Schmael C, Mors O, Mortensen PB, Hougaard DM, Orntoft T, Kapelski P, Priebe L, Basmanav FB, Forstner AJ, Hoffmann P, Meier S, Nikitopoulos J, Moebus S, Alexander M, Mössner R, Wichmann HE, Schreiber S, Rivandeneira F, Hofman A, Uitterlinden AG, Wienker TF, Schumacher J, Hauser J, Maier W, Cantor RM, Erk S, Schulze TG, Stefansson H, Steinberg S, Gustafsson O, Sigurdsson E, Petursson H, Kong A, Stefansson K, Pietiläinen OPH, Tuulio-Henriksson A, Paunio T, Lonnqvist J, Suvisaari J, Peltonen L, Ruggeri M, Tosato S, Walshe M, Murray R, Collier DA, Clair DS, Hansen T, Ingason A, Jakobsen KD, Duong L, Werge T, Melle I, Andreassen OA, Djurovic S, Bitter I, Réthelyi JM, Abramova L, Kaleda V, Golimbet V, Jönsson EG, Terenius L, Agartz I, Van Winkel R, Kenis G, De Hert M, Veldink J, Wiuf C, Didriksen M, Craddock N, Owen MJ, O'Donovan MC, Børglum AD, Rujescu D, Walter H,

- Meyer-Lindenberg A, Nöthen MM, Ophoff RA, Cichon S. Association between genetic variation in a region on chromosome 11 and schizophrenia in large samples from Europe. *Mol Psychiatry* 2011; 12: 1–12
- Rosas HD, Salat DH, Lee SY, Zaleta AK, Pappu V, Fischl B, Greve D, Hevelone N, Hersch SM. Cerebral cortex and the clinical expression of Huntington's disease: Complexity and heterogeneity. *Brain* 2008; 131: 1057–1068
- Rose EJ, Morris DW, Hargreaves A, Fahey C, Greene C, Garavan H, Gill M, Corvin A, Donohoe G. Neural effects of the CSMD1 genome-wide associated schizophrenia risk variant rs10503253. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2013; 162: 530–537
- Roski C, Caspers S, Lux S, Hoffstaedter F, Bergs R, Amunts K, Eickhoff SB. Activation shift in elderly subjects across functional systems: an fMRI study. *Brain Struct Funct* 2014; 219: 707–718
- Sacchi S, Bernasconi M, Martineau M, Mothet JP, Ruzzene M, Pilone MS, Pollegioni L, Molla G. pLG72 modulates intracellular D-serine levels through its interaction with D-amino acid oxidase: Effect on schizophrenia susceptibility. *J Biol Chem* 2008; 283: 22244–22256
- Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt S, Kakol J, Stein L, Marth G, Sherry S, Mullikin J, Mortimore B, Willey D, Hunt S, Cole C, Coggill P, Rice C, Ning Z, Rogers J, Bentley D, Kwok P, Mardis E, Yeh R, Schultz B, Cook L, Davenport R, Dante M, Fulton L, Hillier L, Waterston R, McPherson J, Gilman B, Schaffner S, Van Etten W, Reich D, Higgins J, Daly M, Blumenstiel B, Baldwin J, Stange-Thomann N, Zody M, Linton L, Lander E, Altshuler D, International SNP Map Working Group. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature* 2001; 409: 928–933
- Sailer M, Fischl B, Salat D, Tempelmann C, Schönfeld MA, Busa E, Bodammer N, Heinze HJ, Dale A. Focal thinning of the cerebral cortex in multiple sclerosis. *Brain* 2003; 126: 1734–1744
- Sanger F, Coulson AR. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *J Mol Biol* 1975; 94: 441–448
- Sassa Y, Sugiura M, Jeong H, Horie K, Sato S, Kawashima R. Cortical mechanism of communicative speech production. *Neuroimage* 2007; 37: 985–992
- Schizophrenia Psychiatric Genome-Wide Association Study (GWAS) Consortium. Genome-wide association study identifies five new schizophrenia loci. *Nat Genet* 2011; 43: 969–976
- Schultz CC, Koch K, Wagner G, Roebel M, Nenadic I, Schachtzabel C, Reichenbach JR, Sauer H, Schlösser RGM. Complex pattern of cortical thinning in

- schizophrenia: results from an automated surface based analysis of cortical thickness. *Psychiatry Res* 2010b; 182: 134–140
- Schultz CC, Koch K, Wagner G, Roebel M, Schachtzabel C, Gaser C, Nenadic I, Reichenbach JR, Sauer H, Schlösser RGM. Reduced cortical thickness in first episode schizophrenia. *Schizophr Res* 2010a; 116: 204–209
- Schultz CC, Nenadic I, Koch K, Wagner G, Roebel M, Schachtzabel C, Mühleisen TW, Nöthen MM, Cichon S, Deufel T, Kiehntopf M, Rietschel M, Reichenbach JR, Sauer H, Schlösser RGM. Reduced Cortical Thickness is Associated with the Glutamatergic Regulatory Gene Risk Variant DAOA Arg30Lys in Schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 2011; 36: 1747–1753
- Schultz CC, Nenadic I, Riley B, Vladimirov VI, Wagner G, Koch K, Schachtzabel C, Mühleisen TW, Basmanav B, Nöthen MM, Deufel T, Kiehntopf M, Rietschel M, Reichenbach JR, Cichon S, Schlösser RGM, Sauer H. ZNF804A and Cortical Structure in Schizophrenia: In Vivo and Postmortem Studies. *Schizophr Bull* 2013; 40: 532-541
- Schumacher J, Jamra RA, Freudenberg J, Becker T, Ohlraun S, Otte ACJ, Tullius M, Kovalenko S, Van Den Bogaert A, Maier W, Rietschel M, Propping P, Nöthen MM, Cichon S. Examination of G72 and D-amino-acid oxidase as genetic risk factors for schizophrenia and bipolar affective disorder. *Mol Psychiatry* 2004; 9: 203–207
- Severus WE, Grunze H, Kleindienst N, Frangou S, Moeller HJ. Is the prophylactic antidepressant efficacy of lithium in bipolar I disorder dependent on study design an lithium level?. *J Clin Psychopharmacol* 2005; 25: 457-462
- Shattuck DW, Leahy RM. Automated graph-based analysis and correction of cortical volume topology. *IEEE Trans Med Imaging* 2001; 20: 1167–1177
- Shattuck DW, Leahy RM. Brainsuite: An automated cortical surface identification tool. *Med Image Anal* 2002; 6: 129–142
- Shattuck DW, Sandor-Leahy SR, Schaper KA, Rottenberg DA, Leahy RM. Magnetic resonance image tissue classification using a partial volume model. *Neuroimage* 2001; 13: 856–876
- Shenton ME, Kikinis R, Jolesz FA, Pollak SD, LeMay M, Wible CG, Hokama H, Martin J, Metcalf D, Coleman M. Abnormalities of the left temporal lobe and thought disorder in schizophrenia. A quantitative magnetic resonance imaging study. *N Engl J Med* 1992; 327: 604–612
- Shi Y, Li Z, Xu Q, Wang T, Li T, Shen J, Zhang F, Chen J, Zhou G, Ji W, Li B, Xu Y, Liu D, Wang P, Yang P, Liu B, Sun W, Wan C, Qin S, He G, Steinberg S, Cichon S, Werge T, Sigurdsson E, Tosato S, Palotie A, Nöthen MM, Rietschel M, Ophoff RA, Collier DA, Rujescu D, Clair DS, Stefansson H, Stefansson K, Ji J, Wang Q, Li W,

- Zheng L, Zhang H, Feng G, He L. Common variants on 8p12 and 1q24.2 confer risk of schizophrenia. *Nat Genet* 2011; 43: 1224–1227
- Sivakumaran S, Agakov F, Theodoratou E, Prendergast JG, Zgaga L, Manolio T, Rudan I, McKeigue P, Wilson JF, Campbell H. Abundant pleiotropy in human complex diseases and traits. *Am J Hum Genet* 2011; 89: 607–618
- Sklar P, Ripke S, Scott LJ, Andreassen OA, Cichon S, Craddock N, Edenberg HJ, Nurnberger JI, Rietschel M, Blackwood D, Corvin A, Flickinger M, Guan W, Mattingsdal M, McQuillin A, Kwan P, Wienker TF, Daly M, Dudbridge F, Holmans PA, Lin D, Burmeister M, Greenwood TA, Hamshere ML, Muglia P, Smith EN, Zandi PP, Nievergelt CM, McKinney R, Shilling PD, Schork NJ, Bloss CS, Foroud T, Koller DL, Gershon ES, Liu C, Badner JA, Scheftner WA, Lawson WB, Nwulia EA, Hipolito M, Coryell W, Rice J, Byerley W, McMahon FJ, Schulze TG, Berrettini W, Lohoff FW, Potash JB, Mahon PB, McInnis MG, Zöllner S, Zhang P, Craig DW, Szelinger S, Barrett TB, Breuer R, Meier S, Strohmaier J, Witt SH, Tozzi F, Farmer A, McGuffin P, Strauss J, Xu W, Kennedy JL, Vincent JB, Matthews K, Day R, Ferreira MA, O'Dushlaine C, Perlis R, Raychaudhuri S, Ruderfer D, Hyoun PL, Smoller JW, Li J, Absher D, Thompson RC, Meng FG, Schatzberg AF, Bunney WE, Barchas JD, Jones EG, Watson SJ, Myers RM, Akil H, Boehnke M, Chambert K, Moran J, Scolnick E, Djurovic S, Melle I, Morken G, Gill M, Morris D, Quinn E, Mühleisen TW, Degenhardt FA, Mattheisen M, Schumacher J, Maier W, Steffens M, Propping P, Nöthen MM, Anjorin A, Bass N, Gurling H, Kandaswamy R, Lawrence J, McGhee K, McIntosh A, McLean AW, Muir WJ, Pickard BS, Breen G, St Clair D, Caesar S, Gordon-Smith K, Jones L, Fraser C, Green EK, Grozeva D, Jones IR, Kirov G, Moskvina V, Nikolov I, O'Donovan MC, Owen MJ, Collier DA, Elkin A, Williamson R, Young AH, Ferrier IN, Stefansson K, Stefansson H, Thornorgeirsson T, Steinberg S, Gustafsson O, Bergen SE, Nimgaonkar V, Hultman C, Landén M, Lichtenstein P, Sullivan P, Schalling M, Osby U, Backlund L, Frisén L, Langstrom N, Jamain S, Leboyer M, Etain B, Bellivier F, Petursson H, Sigursson E, Müller-Mysok B, Lucae S, Schwarz M, Schofield PR, Martin N, Montgomery GW, Lathrop M, Oskarsson H, Bauer M, Wright A, Mitchell PB, Hautzinger M, Reif A, Kelsoe JR, Purcell SM. Large-scale genome-wide association analysis of bipolar disorder identifies a new susceptibility locus near *ODZ4*. *Nat Genet* 2011; 43: 977–983
- Van Snellenberg JX, de Candia T. Meta-analytic Evidence for Familial Coaggregation of Schizophrenia and Bipolar Disorder. *Arch Gen Psychiatry* 2009; 66: 748–755
- Spence SA, Brooks DJ, Hirsch SR, Liddle PF, Meehan J, Grasby PM. A PET study of voluntary movement in schizophrenic patients experiencing passivity phenomena (delusions of alien control). *Brain* 1997; 120: 1997–2011
- Stefansson H, Steinberg S, Petursson H, Gustafsson O, Gudjonsdottir IH, Jonsdottir GA, Palsson ST, Jonsson T, Saemundsdottir J, Bjornsdottir G, Böttcher Y, Thorlacius T, Haubenberger D, Zimprich A, Auff E, Hotzy C, Testa CM, Miyatake LA, Rosen AR, Kristleifsson K, Rye D, Asmus F, Schöls L, Dichgans M, Jakobsson F, Benedikz J, Thorsteinsdottir U, Gulcher J, Kong A, Stefansson K. Variant in the

sequence of the LINGO1 gene confers risk of essential tremor. *Nat Genet* 2009; 41: 277–279

Steinberg S, Mors O, Børglum AD, Gustafsson O, Werge T, Mortensen PB, Andreassen OA, Sigurdsson E, Thorgeirsson TE, Böttcher Y, Olason P, Ophoff RA, Cichon S, Gudjonsdottir IH, Pietiläinen OPH, Nyegaard M, Tuulio-Henriksson A, Ingason A, Hansen T, Athanasiu L, Suvisaari J, Lonnqvist J, Paunio T, Hartmann A, Jürgens G, Nordentoft M, Hougaard D, Norgaard-Pedersen B, Breuer R, Möller HJ, Giegling I, Glenthøj B, Rasmussen HB, Mattheisen M, Bitter I, Réthelyi JM, Sigmundsson T, Fossdal R, Thorsteinsdottir U, Ruggeri M, Tosato S, Strengman E, Kiemeny LA, Melle I, Djurovic S, Abramova L, Kaleda V, Walshe M, Bramon E, Vassos E, Li T, Fraser G, Walker N, Toulopoulou T, Yoon J, Freimer NB, Cantor RM, Murray R, Kong A, Golimbet V, Jönsson EG, Terenius L, Agartz I, Petursson H, Nöthen MM, Rietschel M, Peltonen L, Rujescu D, Collier DA, Stefansson H, St Clair D, Stefansson K. Expanding the range of ZNF804A variants conferring risk of psychosis. *Mol Psychiatry* 2011; 16: 59–66

Strakowski SM, Delbello MP, Adler CM. The functional neuroanatomy of bipolar disorder: a review of neuroimaging findings. *Mol Psychiatry* 2005; 10: 105–116

Sullivan PF, Kendler KS, Neale MC. Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. *Arch Gen Psychiatry* 2003; 60: 1187–1192

Suzuki N, Fukushi M, Kosaki K, Doyle AD, de Vega S, Yoshizaki K, Akazawa C, Arikawa-Hirasawa E, Yamada Y. Teneurin-4 is a novel regulator of oligodendrocyte differentiation and myelination of small-diameter axons in the CNS. *J Neurosci* 2012; 32: 11586–11599

Talairach J, Tournoux P. *Co-Planar Stereotaxic Atlas of the Human Brain*. New York: Thieme, 1988

Tesli M, Egeland R, Sørnderby IE, Haukvik UK, Bettella F, Hibar DP, Thompson PM, Rimol LM, Melle I, Agartz I, Djurovic S, Andreassen OA. No evidence for association between bipolar disorder risk gene variants and brain structural phenotypes. *J Affect Disord* 2013; 151: 291–297

The International HapMap 3 Consortium. Integrating common and rare genetic variation in diverse human populations. *Nature* 2010; 467: 52–58

The International HapMap Consortium. A haplotype map of the human genome. *Nature* 2005; 437: 1299–1320

The International HapMap Consortium. A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. *Nature* 2007; 449: 851–861

Thompson PM, Stein JL, Medland SE, Hibar DP, Vasquez AA, Renteria ME, Toro R, Jahanshad N, Schumann G, Franke B, Wright MJ, Martin NG, Agartz I, Alda M, Alhusaini S, Almasy L, Almeida J, Alpert K, Andreasen NC, Andreassen OA,

Apostolova LG, Appel K, Armstrong NJ, Aribisala B, Bastin ME, Bauer M, Bearden CE, Bergmann O, Binder EB, Blangero J, Bockholt HJ, Bøen E, Bois C, Boomsma DI, Booth T, Bowman IJ, Bralten J, Brouwer RM, Brunner HG, Brohawn DG, Buckner RL, Buitelaar J, Bulayeva K, Bustillo JR, Calhoun VD, Cannon DM, Cantor RM, Carless MA, Caseras X, Cavalleri GL, Chakravarty MM, Chang KD, Ching CRK, Christoforou A, Cichon S, Clark VP, Conrod P, Coppola G, Crespo-Facorro B, Curran JE, Czisch M, Deary IJ, de Geus EJC, den Braber A, Delvecchio G, Depondt C, de Haan L, de Zubicaray GI, Dima D, Dimitrova R, Djurovic S, Dong H, Donohoe G, Duggirala R, Dyer TD, Ehrlich S, Ekman CJ, Elvsåshagen T, Emsell L, Erk S, Espeseth T, Fagerness J, Fears S, Fedko I, Fernández G, Fisher SE, Foroud T, Fox PT, Francks C, Frangou S, Frey EM, Frodl T, Frouin V, Garavan H, Giddaluru S, Glahn DC, Godlewska B, Goldstein RZ, Gollub RL, Grabe HJ, Grimm O, Gruber O, Guadalupe T, Gur RE, Gur RC, Göring HHH, Hagenaars S, Hajek T, Hall GB, Hall J, Hardy J, Hartman CA, Hass J, Hatton SN, Haukvik UK, Hegenscheid K, Heinz A, Hickie IB, Ho BC, Hoehn D, Hoekstra PJ, Hollinshead M, Holmes AJ, Homuth G, Hoogman M, Hong LE, Hosten N, Hottenga JJ, Hulshoff Pol HE, Hwang KS, Jack CR, Jenkinson M, Johnston C, Jönsson EG, Kahn RS, Kasperaviciute D, Kelly S, Kim S, Kochunov P, Koenders L, Krämer B, Kwok JBJ, Lagopoulos J, Laje G, Landen M, Landman BA, Lauriello J, Lawrie SM, Lee PH, Le Hellard S, Lemaître H, Leonardo CD, Li CS, Liberg B, Liewald DC, Liu X, Lopez LM, Loth E, Lourdasamy A, Luciano M, Macciardi F, Machielsen MWJ, Macqueen GM, Malt UF, Mandl R, Manoach DS, Martinot JL, Matarin M, Mather KA, Mattheisen M, Mattingsdal M, Meyer-Lindenberg A, McDonald C, McIntosh AM, McMahon FJ, McMahon KL, Meisenzahl E, Melle I, Milaneschi Y, Mohnke S, Montgomery GW, Morris DW, Moses EK, Mueller BA, Muñoz Maniega S, Mühleisen TW, Müller-Myhsok B, Mwangi B, Nauck M, Nho K, Nichols TE, Nilsson LG, Nugent AC, Nyberg L, Olvera RL, Oosterlaan J, Ophoff RA, Pandolfo M, Papalampropoulou-Tsiridou M, Pappmeyer M, Paus T, Pausova Z, Pearlson GD, Penninx BW, Peterson CP, Pfennig A, Phillips M, Pike GB, Poline JB, Potkin SG, Pütz B, Ramasamy A, Rasmussen J, Rietschel M, Rijpkema M, Risacher SL, Roffman JL, Roiz-Santiañez R, Romanczuk-Seiferth N, Rose EJ, Royle NA, Rujescu D, Ryten M, Sachdev PS, Salami A, Satterthwaite TD, Savitz J, Saykin AJ, Scanlon C, Schmaal L, Schnack HG, Schork AJ, Schulz SC, Schür R, Seidman L, Shen L, Shoemaker JM, Simmons A, Sisodiya SM, Smith C, Smoller JW, Soares JC, Sponheim SR, Sprooten E, Starr JM, Steen VM, Strakowski S, Strike L, Sussmann J, Sämann PG, Teumer A, Toga AW, Tordesillas-Gutierrez D, Trabzuni D, Trost S, Turner J, Van den Heuvel M, van der Wee NJ, van Eijk K, van Erp TGM, van Haren NEM, van 't Ent D, van Tol MJ, Valdés Hernández MC, Veltman DJ, Versace A, Völzke H, Walker R, Walter H, Wang L, Wardlaw JM, Weale ME, Weiner MW, Wen W, Westlye LT, Whalley HC, Whelan CD, White T, Winkler AM, Wittfeld K, Woldehawariat G, Wolf C, Zilles D, Zwiers MP, Thalamuthu A, Schofield PR, Freimer NB, Lawrence NS, Drevets W, Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative, EPIGEN Consortium, IMAGEN Consortium, Saguenay Youth Study (SYS) Group. The ENIGMA Consortium: large-scale collaborative analyses of neuroimaging and genetic data. *Brain Imaging Behav* 2014; 8: 153–182

- Vanni-Mercier G, Mauguière F, Isnard J, Dreher JC. The hippocampus codes the uncertainty of cue-outcome associations: an intracranial electrophysiological study in humans. *J Neurosci* 2009; 29: 5287–5294
- Voineskos AN, Lerch JP, Felsky D, Tiwari A, Rajji TK, Miranda D, Lobaugh NJ, Pollock BG, Mulsant BH, Kennedy JL. The ZNF804A gene: characterization of a novel neural risk mechanism for the major psychoses. *Neuropsychopharmacology* 2011; 36: 1871–1878
- Walters JTR, Corvin A, Owen MJ, Williams H, Dragovic M, Quinn EM, Judge R, Smith DJ, Norton N, Giegling I, Hartmann AM, Möller HJ, Muglia P, Moskvina V, Dwyer S, O'Donoghue T, Morar B, Cooper M, Chandler D, Jablensky A, Gill M, Kaladjeva L, Morris DW, O'Donovan MC, Rujescu D, Donohoe G. Psychosis susceptibility gene ZNF804A and cognitive performance in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 2010; 67: 692–700
- Wang KS, Liu XF, Aragam N. A genome-wide meta-analysis identifies novel loci associated with schizophrenia and bipolar disorder. *Schizophr Res* 2010; 124:192–199
- Ward BD. Simultaneous inference for fMRI data. AFNI 3dDeconvolve Documentation. Milwaukee: Medical College of Wisconsin, 2000
- Williams HJ, Norton N, Dwyer S, Moskvina V, Nikolov I, Carroll L, Georgieva L, Williams NM, Morris DW, Quinn EM, Giegling I, Ikeda M, Wood J, Lencz T, Hultman C, Lichtenstein P, Thiselton D, Maher BS, Malhotra AK, Riley B, Kendler KS, Gill M, Sullivan P, Sklar P, Purcell S, Nimgaonkar VL, Kirov G, Holmans P, Corvin A, Rujescu D, Craddock N, Owen MJ, O'Donovan MC. Fine mapping of ZNF804A and genome-wide significant evidence for its involvement in schizophrenia and bipolar disorder. *Mol Psychiatry* 2011; 16: 429–441
- Willour VL, Seifuddin F, Mahon PB, Jancic D, Pirooznia M, Steele J, Schweizer B, Goes FS, Mondimore FM, Mackinnon DF, Perlis RH, Lee PH, Huang J, Kelsoe JR, Shilling PD, Rietschel M, Nothen M, Cichon S, Gurling H, Purcell S, Smoller JW, Craddock N, Depaulo JR Jr, Schulze TG, McMahon FJ, Zandi PP, Potash JB. A genome-wide association study of attempted suicide. *Mol Psychiatry* 2012; 17: 433–444
- Winkler AM, Kochunov P, Blangero J, Almasy L, Zilles K, Fox PT, Duggirala R, Glahn DC. Cortical thickness or grey matter volume? The importance of selecting the phenotype for imaging genetics studies. *Neuroimage* 2010; 53: 1135–1146
- Yacubian J, Gläscher J, Schroeder K, Sommer T, Braus DF, Büchel C. Dissociable systems for gain- and loss-related value predictions and errors of prediction in the human brain. *J Neurosci* 2006; 26: 9530–9537

- Yoo SY, Roh MS, Choi JS, Kang DH, Ha TH, Lee JM, Kim IY, Kim SI, Kwon JS. Voxel-based morphometry study of gray matter abnormalities in obsessive-compulsive disorder. *J Korean Med Sci* 2008; 23: 24–30
- Young TR, Leamey CA. Teneurins: Important regulators of neural circuitry. *Int J Biochem Cell Biol* 2009; 41: 990–993
- Yue WH, Wang HF, Sun LD, Tang FL, Liu ZH, Zhang HX, Li WQ, Zhang YL, Zhang Y, Ma CC, Du B, Wang LF, Ren YQ, Yang YF, Hu XF, Wang Y, Deng W, Tan LW, Tan YL, Chen Q, Xu GM, Yang GG, Zuo XB, Yan H, Ruan YY, Lu TL, Han X, Ma XH, Cai LW, Jin C, Zhang HY, Yan J, Mi WF, Yin XY, Ma WB, Liu Q, Kang L, Sun W, Pan CY, Shuang M, Yang FD, Wang CY, Yang JL, Li KQ, Ma X, Li LJ, Yu X, Li QZ, Huang X, Lv LX, Li T, Zhao GP, Huang W, Zhang XJ, Zhang D. Genome-wide association study identifies a susceptibility locus for schizophrenia in Han Chinese at 11p11.2. *Nat Genet* 2011; 43:1228–1231
- Zilles K, Amunts K. Centenary of Brodmann's map - conception and fate. *Nat Rev Neurosci* 2010; 11: 139–145

9. Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Markus M. Nöthen danke ich für seine Unterstützung, für die hervorragenden Arbeitsmöglichkeiten und die Bereitstellung der notwendigen Arbeitsmaterialien und Geräte an seinem Institut für Humangenetik der Universität Bonn.

Meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. rer. nat. Sven Cichon danke ich für den Vorschlag der Thematik. Er begeisterte mich für die Fragestellung, wies mich im Institut ein und stand immer für weiterführende, hilfreiche Gespräche und die abschließende Beurteilung zur Verfügung.

Ein besonderer Dank gilt Dr. rer. nat. Thomas Mühleisen für die Betreuung der Arbeit und die Durchsicht des Manuskripts. Ich danke ihm für seine jederzeit hilfreiche wissenschaftliche und menschliche Unterstützung und seine Diskussionsbereitschaft während der Durchführung, Auswertung und Zusammenstellung dieser Arbeit.

Vielfach war ich auf die Unterstützung weiterer Mitarbeiter des Instituts für Humangenetik der Universität Bonn angewiesen. Zusätzlich danke ich den folgenden Personen für die anregende Beratung und das gute Arbeitsklima: Dr. Christiane Stieber, Dr. Lutz Priebe, Dr. Stefanie Heilmann, Dr. Franziska Degenhardt, Timo Heß, Jessica Becker, Anne Böhmer, Dr. Tilmann Kleppi, Jan-Erik Bolz, Stefan Herms, Gunhild van Loon, Margrieta Alblas, Peter Tessmann, Sandra Barth, Nadine Fricker, Sandra Rausch.

Desweiteren möchte ich folgenden Mitarbeitern des Instituts für Neurowissenschaften und Medizin des Forschungszentrums Jülich für die Zusammenstellung des Patientenkollektivs, die Bereitstellung der MRT-Datensätze und die Einführung in die Auswertung der strukturellen und funktionellen Bildgebung danken: Prof. Dr. Dr. Karl Zilles, Prof. Dr. Katrin Amunts, PD Dr. Dr. Svenja Caspers, Prof. Dr. Simon Eickhoff, Prof. Dr. Silke Lux, Dr. Felix Hoffstaedter, Dr. Christian Roski.

Der größte Dank geht an die 107 gesunden Probanden, die sich freundlicherweise für diese Studie zur Verfügung gestellt haben.