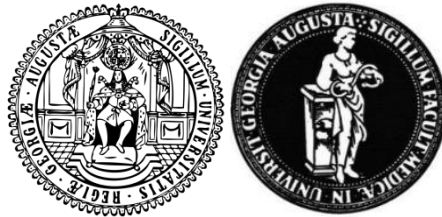


Aus der Abteilung Psychiatrie und Psychotherapie
(Prof. Dr. med. J. Wiltfang)
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen



Immunhistochemische Untersuchung von Oligodendrozyten im post- mortem

Hippokampus bei Schizophrenie

INAUGURAL – DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades

der Medizinischen Fakultät

der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Jawid Shariati

Aus

Kabul

Göttingen 2014

D e k a n: Prof. Dr. Heyo K. Kroemer

I. Berichterstatter: Prof. Dr. med. A. Schmitt

II. Berichterstatter/in: Prof. Dr. Christine Stadelmann-Nessler

III. Berichterstatter/in: Prof. Dr. Bernhard Reuß

Tag der mündlichen Prüfung: 01.06.2017

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|----|
| 1. Zusammenfassung | 1 |
| 2. <u>Einleitung</u> | 2 |
| 2.1 Symptomatik und Diagnostik..... | 3 |
| 2.2 Unterformen der Schizophrenie..... | 5 |
| 2.3 Verlauf der Schizophrenie..... | 6 |
| 2.4 Epidemiologie..... | 7 |
| 2.5 Ätiologie..... | 8 |
| 2.5.1 Genetik..... | 8 |
| 2.5.2 Umweltfaktoren..... | 9 |
| 2.6 Therapie..... | 11 |
| 2.6.1 Typische Neuroleptika..... | 11 |
| 2.6.2 Atypische Antipsychotika..... | 12 |
| 2.7 Hippokampus und Schizophrenie..... | 13 |
| 2.7.1 Hippokampusfunktion..... | 13 |
| 2.7.2 Strukturelle MRT und DTI bei Schizophrenie..... | 14 |
| 2.7.3 Störung der Makrokonnektivität..... | 15 |
| 2.7.4 Post- mortem Befunde auf Zelluläre Ebene..... | 16 |
| 2.7.5 Oligodendrozyten in post- mortem Studien der Schizophrenie..... | 17 |
| 2.8 Ziel der vorliegenden Studie..... | 18 |
| 3. Methodik | 19 |
| 3.1 Patientenkollektiv und Kontrollgruppe..... | 19 |
| 3.2 Gewebematerial..... | 20 |
| 3.3 Materialliste Immunhistochemie..... | 21 |

| | |
|--|-----------|
| 3.4 Immunhistochemische Färbung | 22 |
| 3.5 Die Dichtebestimmung der Oligodendrozyten | 28 |
| 3.5.1 Intra-Rater-Reliabilität..... | 29 |
| 3.6 Statistische Methode..... | 29 |
| 4. Ergebnisse | 30 |
| 4.1 Demographie..... | 30 |
| 4.2 Normalverteilung..... | 30 |
| 4.3 Korrelationen der Volumina OLIG1 und OLIG2 | 31 |
| 4.4 Korrelationen der Zelldichten OLIG1 und OLIG2 | 34 |
| 4.5 Geschlechtseinflüsse | 36 |
| 4.6 Korrelation mit dem Alter..... | 36 |
| 4.7 Korrelation mit der Krankheitsdauer..... | 37 |
| 4.8 Korrelation mit dem Post-mortem-Interval (PMI)..... | 37 |
| 4.9 Diagnosegruppendifferenzen, Ergebnisse der ANCOVA..... | 37 |
| 5. Diskussion | 39 |
| 5.1 Zelldichte der immunhistochemisch gefärbten Oligodendrozyten | 39 |
| 5.2 OLIG1- und OLIG2- Färbung..... | 40 |
| 5.3 Gemessene Volumina im hippocampalen Subregionen..... | 42 |
| 5.4 Konfundierende Variablen | 43 |
| 5.5 Bedeutung für die Schizophrenie..... | 46 |
| 5.5.1 Limitierungen der vorliegenden Studie | 49 |
| 5.5.2 Ausblick in zukünftige Forschungsfelder..... | 50 |
| 6. Literaturverzeichnis | 52 |
| 7. Danksagung | 68 |
| 8. Lebenslauf | 69 |

1. Zusammenfassung:

Die Prävalenz der Schizophrenie beträgt circa 1% und die Erkrankung ist auch aufgrund des Erkrankungsalters im jungen Erwachsenenalter und häufiger sozialer Behinderung eine der weltweit häufigsten Ursachen für Lebensjahre mit gesundheitlicher Belastung. In der Pathogenese der Erkrankung wurde bisher eine neuronale Entwicklungsstörung schon während der Perinatalphase postuliert, die zur Entstehung der Schizophrenie beitragen könnte. Der menschliche Hippokampus ist ein wichtiges Zentrum, das an Gedächtnisprozessen und zusammen mit den Amygdalae an der Regulation des Affekts beteiligt ist. Bei Patienten mit Schizophrenie wurde eine Funktionsstörung des Hippokampus postuliert, so haben die Patienten kognitive Defizite und Störungen der emotionalen Regulation. Durch Studien mittels struktureller Magnetresonanztomographie (sMRT) und post-mortem Studien konnte ein Volumenverlust der medialen Temporalregion, vor allem des Hippokampus, bei Schizophrenie nachgewiesen werden. Insbesondere zeigten Magnet Transfer Imaging (MTI)- und Diffusions-Tensor Imaging (DTI)-Befunde eine Reduktion an Myelin und/oder axonalen Membranen und Störungen der fraktionellen Anisotropie der weißen Substanz als Zeichen der Dyskonnektivität, insbesondere auch im Fornix des Hippokampus. Aktuelle Studien mittels design-basierter Stereologie und Untersuchung von Neuronen, Oligodendrozyten und Astroglia in verschiedenen Subregionen des posterioren Teils des Hippokampus zeigten eine Reduktion der Anzahl und Dichte von Oligodendrozyten in der rechten und linken Subregion der hippokampalen Subregion CA4. Dagegen erwies sich die Anzahl von Neuronen als unverändert. Die Ergebnisse einer verminderten Oligodendrozytenzahl legen eine gestörte Konnektivität von CA4 im posterioren Teil des Hippokampus als möglicher pathologischer Mechanismus nahe. Die pathophysiologischen Hintergründe sind dabei weitgehend nicht verstanden und sind vermutlich auf Veränderungen zellulärer Subfraktionen der Oligodendrozyten zurückzuführen. Die signifikant reduzierte Anzahl der Oligodendrozyten wurde zudem in post-mortem durchgeführten stereologischen Studien mittels Nissl-Färbung detektiert. Deshalb wurden in vorliegender Studie mittels immunhistochemischer Färbung unterschiedlich reife Oligodendrozytenpopulationen im posterioren Hippokampus von schizophrenen Patienten und gesunden Kontrollen untersucht. Des Weiteren sollte durch eine

Immunhistochemie-basierte Quantifizierung die mehr Untersucherabhängige Quantifizierung von Nissl-gefärbten Zellen verifiziert werden. Diesbezüglich untersuchten wir Gewebeschnitte von jeweils 10 Patienten und 10 Kontrollen. Es wurde die Dichte zweier Oligodendrozytenpopulationen in CA1, 2/3, 4, und Subikulum des posterioren Anteils des Hippokampus ermittelt. Die Untersuchung erfolgte mittels spezifischer immunhistochemischer Färbung mit OLIG1- und OLIG2-Antikörpern. Somit erfasste OLIG1 die unreiferen und OLIG2 die weiter gereiften myelinisierenden Oligodendrozyten in Subregionen des Hippokampus.

In unserer Arbeit fanden wir für OLIG1-positive Oligodendrozyten einen Trend zu reduzierter Zelldichte in CA2/3 rechts sowie in CA4 beidseits. Für die OLIG2-immunpositiven Zellen ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen der Patienten- und der Kontrollgruppe. Dies ist ein Nachweis dafür, dass möglicherweise nur eine Subpopulation der Oligodendrozyten mit einem geringeren Reifegrad bei Schizophrenie betroffen ist. Allerdings könnte bei einer Vielzahl von statistischen Tests und nicht durchgeführter Bonferroni-Korrektur für multiples Testen der Befund als falsch positive angesehen werden. Nach unseren Ergebnissen liegt demnach keine Verminderung der immunhistochemisch gemessenen Dichte der Oligodendrozyten bei der Schizophrenie im posterioren Teils von Hippokampus vor. Das Resultat unserer Arbeit scheint demzufolge mit der Hypothese der Pathologie der Oligodendrozyten“ bei der Schizophrenie weniger in Einklang zu stehen und somit das Vorliegen einer Störung der Myelinisierung im posterioren Hippkampus bei Schizophrenie nicht zu unterstützen. Allerdings sind Dichtemessungen im Gegensatz zu stereologischen Untersuchungen einer gesamten Subregion mit methodischen Fehlern behaftet und werden möglicherweise beeinflusst durch unterschiedliche Schrumpfung des Gewebes zum Beispiel durch Krankheitseinfluss, Fixierung und Färbemethoden.

2. Einleitung

Die Schizophrenie ist mit einer Prävalenz von 1% eine häufige und schwere psychiatrische Erkrankung. Der Begriff “Schizophrenie“ stammt aus dem Altgriechischem $\sigma\chi\acute{\iota}\zeta\epsilon\iota\nu$ schizein = “abspalten“ und $\phi\rho\acute{\nu}\nu\phi\rho\epsilon\tilde{\nu}$ = Seele, Zwerchfell.

Sie prägt sich mit einer heterogenen Form aus, die ein vielfältiges, und komplexes klinisches Erscheinungsbild aufweist. Diese Vielfältigkeit betrifft sowohl die Symptome als auch die bislang bekannten Ursachen.

1896 formulierte Emil Kraepelin den Begriff "Dementia Praecox" (Kraepelin 1919), bevor der Begriff "Schizophrenie" vor fast 100 Jahren von Eugen Bleuler eingeführt wurde (McNally 2009). Bleuler bevorzugte den Ausdruck "Schizophrenie" statt "Dementia Praecox", weil für ihn die Spaltung der Persönlichkeit als Hauptsymptom im Vordergrund stand (Stotz-Ingenlath 2000, Azorin et al. 2008). Nach der Publikation seines Buches „Schizophrenie“, erlangte dieser Begriff eine große Bedeutung (Bennett et al. 2006).

2.1. Symptomatik und Diagnostik

Mit Hilfe von Liddles (Liddle, 1987) "Drei-Faktoren-Modell" wird die Symptomatik der Schizophrenie wie folgt beschrieben:

-Positiv-Symptomatik

-Desorganisation

-Negativ-Symptomatik

Unter Positiv-Symptomatik wie zum Beispiel Halluzinationen, Ich-Störungen, Wahn und formale Denkstörungen, versteht man die Symptome, die verglichen mit den Gesunden Personen infolge gesteigerter Produktivität und Aktivität auftreten. Negativ-Symptomatik, wie z.B. Alogie (Sprachverarmung), Antriebsmangel, Apathie, sozialer Rückzug und Aufmerksamkeitsstörungen beschreiben dagegen Ausfälle gegenüber Gesunden.

In den letzten Jahrzehnten hat die Einteilung der Symptomatik nach Positiv- und Negativsymptomatik zunehmend an Interesse gewonnen.

Die Symptome der Schizophrenie werden heute durch die Weiterentwicklung von Eugen Bleulers Grundsymptomen (Störungen des Denkens und Störungen der Affektivität) und akzessorischen Symptomen (Wahn, Halluzinationen und katatone Störungen) in Symptome des ersten und zweiten Ranges nach Kurt Schneider (Tabelle 1) beschrieben (Koehler 1977, Koehler et al.1977).

Man sollte jedoch beachten, dass das klinische Bild der Erkrankung bei den verschiedenen Patienten nicht einheitlich ist.

| Symptome nach Kurt Schneider | Beispiele |
|-------------------------------------|---|
| Symptome ersten Ranges | Wahnwahrnehmungen Akustische Halluzinationen Gedankenlautwerden Gedankenentzug Gedankenausbreitung Gedankeneingebung Beeinflussungserlebnisse |
| Symptome zweiten Ranges | Wahneinfall Sonstige Halluzinationen Affektveränderung |

Tabelle 1

Nach wie vor wird die Diagnose noch klinisch gestellt. Maßgebend für die Diagnose sind klinische Beobachtungen durch den Arzt und Eigen- und Fremdanamnese. Nach ICD-10 müssen mindestens eines der Symptome von der Gruppe 1 bis 4 eindeutig oder es müssen mindestens zwei der Symptome 5 bis 8 (Tabelle 2) über eine Zeitspanne von mindestens einem Monat vorhanden sein (Feighner et al. 1972).

Symptome nach ICD10:

1. Gedankenlautwerden, Gedankeneingebung oder -entzug, Gedankenausbreitung
2. Kontrollwahn, Beeinflussungswahn, Gefühl des Gemachten, Wahnwahrnehmung
3. Kommentierende oder dialogische Stimmen
4. Anhaltender, kulturell unangemessener und völlig unrealistischer Wahn
5. Anhaltende Halluzinationen jeder Sinnesmodalität
6. Gedankenabreißen oder Einschiebungen in den Gedankenfluss
7. Katatone Symptome
8. Negative Symptome wie Apathie, Sprachverarmung, verflachter oder inadäquater Affekt

Tabelle 2: *Symptome der Schizophrenie nach ICD-10*

Für die Diagnosestellung nach DSM-IV oder seit Kurzem nach DSM-V müssen hingegen die Symptome der Erkrankung (Wahn, Halluzinationen, Zerfahrenheit, katatone Störungen, Negativsymptomatik, Verschlechterung der sozialen Adaption) kontinuierlich über einen Zeitraum von mindestens 6 Monaten bestehen. Obwohl es in den diagnostischen Systemen Unterschiede hinsichtlich der erforderlichen Zeiträume gibt, besteht aber auch große Übereinstimmung, was die Einteilung der Symptome anbelangt (Moller 2005, Heckers et al. 2013).

Für die Diagnosestellung ist es notwendig, dass vor der Diagnosestellung alle anderen möglichen organischen Ursachen wie zum Beispiel Epilepsie, Schlaganfall, Störungen durch Substanzmissbrauch, Kopfverletzungen, intrakranielle Tumoren oder zerebrale Vaskulitiden ausgeschlossen werden (Schultz und Andreasen 1999).

2.2 Unterformen der Schizophrenie

Die Schizophrenien können nicht als einheitliches Krankheitsbild definiert werden - stattdessen wird die Bezeichnung "schizophrener Formenkreis" verwendet (Pearlson 2000). Heutzutage wird davon ausgegangen, dass die Schizophrenie eine Gruppe von Krankheiten ist (Henn 1995). Schizophrenie wird in verschiedene Subtypen

unterteilt. Zu denen gehören unter anderem die paranoid-halluzinatorische (ICD-10 F20.0), die hebephrene (ICD-10 F20.1) und die katatone Schizophrenie (ICD-10 F20.3), sonstige Schizophrenien, wie die zoenästhetische (ICD-10 F20.8) sowie ein undifferenzierte Unterform (ICD-10 F20.3), die Schizophrenia simplex (ICD-10 F20.6) und das schizophrene Residuum (ICD-10 F20.5) (Pomarol-Clotet et al. 2010).

2.3. Verlauf der Schizophrenie

Der Ausbruch der Erkrankung ist meist schleichend. Dabei beobachtet man einen schrittweisenden Übergang von möglicherweise bestehenden prämorbidem Persönlichkeitsmerkmalen über das Auftreten von bis zu 5 Jahren vor Ersthospitalisierung bestehenden Prodromalsymptomen bis zur eindeutig psychotischen Erkrankung. (Barbato 1998, Häfner et al. 2013). Häufig kommt es aber nach unspezifischen Prodromalsymptomen wie z.B. Angst, Misstrauen, Schlafstörungen, Appetitlosigkeit, Depression oder aber auch Negativsymptomatik zur Exazerbationen der Erkrankung (Herz und Melville 1980, Häfner et al. 2013).

Man beobachtet folgende Verlaufsformen: kontinuierlich, episodisch mit stabilem Residuum, episodisch mit zunehmendem Residuum oder episodisch remittierend, mit unvollständiger oder vollständiger Remission (Arolt 2007).

Tabelle 3 fasst die Verlaufsformen nach ICD-10 zusammen.

| | |
|----------------|--|
| F 20.x0 | Kontinuierlich |
| F 20.x1 | episodisch, mit zunehmendem Residuum |
| F 20.x2 | episodisch, mit stabilem Residuum |
| F 20.x3 | episodisch remittierend |
| F 20.x4 | unvollständige Remission |
| F 20.x5 | vollständige Remission |
| F 20.x8 | Andere |
| F 20.x9 | Beobachtungszeitraum weniger als ein Jahr |

Tabelle 3: Verlaufsformen der Schizophrenie nach ICD-10 (nach Dilling 2011, S. 88f)

Darüber hinaus wird noch zwischen Frühschizophrenien (erste Manifestation ab dem 20. Lebensjahr), Spätschizophrenien (Erstmanifestation nach dem 40. Lebensjahr) und Altersschizophrenien (Manifestation nach dem 60. Lebensjahr) unterschieden (Arolt 2007).

Prognostische Voraussagen über individuelle Krankheitsverläufe sind dadurch erschwert, dass eine kleine Anzahl der Patienten nur eine einzige Episode, ohne bleibende Beeinträchtigungen aufweist. Es gibt aber Faktoren, anhand deren der Verlauf der Erkrankung prognostiziert wird. Im Zusammenhang mit einer günstigen Prognose stehen Faktoren wie z.B. später Beginn der Erkrankung, weibliches Geschlecht, Ehe, gute soziale Kompetenzen vor dem Krankheitsbeginn, eine kontinuierliche antipsychotische Therapie und ein akuter Ausbruch der Erkrankung mit Positiv-Symptomatik (Jablensky 1995).

Ungefähr ein Drittel der Patienten weist einen günstigen Verlauf mit einer einzigen oder wenigen Episoden mit akuter Positiv-Symptomatik und minimalen Beeinträchtigungen nach Ende der psychotischen Episode auf. Ein weiteres Drittel zeigt aber dagegen signifikante Beeinträchtigungen nach der ersten Krankheitsepisode, hauptsächlich infolge der Negativ-Symptomatik. Das letzte Drittel leidet unter fortschreitenden Residuen und einer chronischen Krankheitsform (Huber et al. 1979, Pearlson 2000).

2.4 Epidemiologie

Die Lebenszeitprävalenz der Schizophrenie liegt in Deutschland durchschnittlich bei 1%. Dabei erkranken Männer und Frauen gleich häufig. Das durchschnittliche Prädilektionsalter liegt zwischen der Pubertät und dem 30. Lebensjahr (Lewis und Lieberman 2000). Männer erkranken allerdings in der Regel drei bis vier Jahre früher als Frauen, leiden an größeren kognitiven Defiziten und sind häufiger mit strukturellen Hirnabnormalitäten belastet (Leung und Chue 2000, Häfner et al. 2013). Für eine multifaktorielle Erkrankung ist die unveränderte Inzidenzrate der Schizophrenie in Bevölkerungen mit unterschiedlichen Kulturen ungewöhnlich (Jablensky 1997). Patienten mit Schizophrenie kommen gehäuft aus niedrigen sozialen Schichten. Dies wurde als kausaler psychosozialer Faktor angenommen.

Diese Tatsache wird jedoch inzwischen mit der Drift-Hypothese beschrieben, wobei davon ausgegangen wird, dass Patienten mit Schizophrenie im Krankheitsverlauf einen geringeren sozioökonomischen Status erlangen, was meist auch mit der Arbeitslosigkeit der Betroffenen verbunden ist (Aro et al. 1995).

2.5. Ätiologie

Schizophrenie ist eine Erkrankung des Gehirns, die zwar seit über einem Jahrhundert intensiv untersucht wird, aber ihre Ätiologie weiterhin viele unklare Faktoren aufweist. Es wurde jedoch festgestellt, dass folgende Risikofaktoren in der Entstehung der Erkrankung eine Rolle spielen:

2.5.1 Genetik

Die familiäre Häufung bei den schizophrenen Erkrankungen ist sehr deutlich, und deutet auf die Relevanz der genetischen Faktoren bei ihrer Entstehung. Dabei ist das Risiko an Schizophrenie zu erkranken bei Verwandten eines Betroffenen im Vergleich zu Verwandten einer Kontrollperson, deutlich höher (Thaker et al. 1993). Das Risiko an Schizophrenie zu erkranken, ist bei Personen, deren Eltern psychisch krank sind, signifikant erhöht. Im Vergleich zu der Kontrollgruppe, wiesen die Nachkommen der an Schizophrenie erkrankten Eltern ein etwa 6-fach erhöhtes Risiko auf, ebenfalls an Schizophrenie zu erkranken (Goldstein et al. 2010). Laut Familienstudien besteht mit zunehmendem Verwandtschaftsgrad ein erhöhtes Erkrankungsrisiko (McGuffin et al. 1995). Gendefekte, deren Folge eine abnorme Aktivität oder Dysfunktion von Neurotransmittern wie zum Beispiel Serotonin und Dopamin zur Folge haben, sind nachgewiesen (Prasad et al. 2002).

Durch Adoptions-, Zwillings- und Familienstudien wurde gezeigt, dass genetische Faktoren die Ätiologie der Schizophrenie sehr stark beeinflussen können. Je näher die genetische Verwandtschaft zu einem Patienten mit Schizophrenie ist, desto höher ist das Erkrankungsrisiko für Schizophrenie (McGuffin et al. 1995). Dabei wird die Konkordanz für Schizophrenie bei monozygoten Zwillingen (MZ), die identisches Genom besitzen, mit der Konkordanz bei zweieiigen Zwillingen, bei denen nur 50%

ihres Genoms identisch ist, verglichen. In verschiedenen Studien wurde eine Konkordanzrate bei monozygoten Zwillingen von etwa 41-65% nachgewiesen, was signifikant höher ist als die Rate von 0-28% bei dizygoten Zwillingen (DZ) (Cardno und Gottesman 2000, Kringlen, 2000, Franzek und Beckmann 1996). Eine Meta-Analyse von 12 Zwillingsstudien bestätigte die Heritabilität für Schizophrenie von 81% (Sullivan et al. 2003). Risikogene können auch bei der Schizophrenie zu einem verminderten Volumen von Substrukturen des Hippocampus beitragen. Es wurde ein Zusammenhang zwischen Neuregulin-1 (NRG1) Haplotyp HAP(ICE) Trägern und einem kleineren relativen hippocampalen Volumen bei schizophrenen Patienten sowie ihren gesunden Verwandten beschrieben (Gruber et al. 2008). Zudem wurde anhand genetischer sowie post-mortem Studien eine abnorme Funktion des disrupted in schizophrenia 1 (DISC1) Gens bei schizophrenen Patienten identifiziert, das eine Rolle in der Entwicklung und in der Plastizität des Nervensystems spielt (Lipska et al. 2006).

2.5.2. Umweltfaktoren

Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen erhöhen das relative Risiko der Erkrankung um das 1,5 bis 2-fache (Verdoux und Sutter 2002). Es ist schon seit längerer Zeit bekannt, dass die Patienten mit Schizophrenie häufiger Geburtskomplikationen, die eine Hypoxie beinhalten, in der Vorgeschichte aufweisen (Geddes und Lawrie 1995, Dalman et al. 1999, Cannon et al. 2002, Clark et al. 2006, Haukvik und Agartz 2010, Schmitt et al. 2014). Das Auftreten von häufigeren Geburts- und Schwangerschaftskomplikationen und deren Folgen wie z.B. das nicht proportionale Verhältnis zwischen Körperlänge und Körpergewicht wurde bei schizophrenen Patienten belegt (Hultman et al. 1997). Die an Schizophrenie erkrankten Patienten weisen eine siebenfach höhere Häufigkeit von perinatalen Hirnschädigungen auf (Jones et al. 1998). Die Verletzung der periventriculären weißen Substanz (PWMI) ist die häufigste Form der Hirnschädigung von Frühgeborenen. Es wird postuliert, dass die Hypoxie-vermittelte vorzeitige Reifung der Oligodendrozyten zu einer Verringerung im Pool von proliferierenden Oligodendrozytenvorläuferzellen führt, was möglicherweise in einer Verringerung der Gesamtzahl von myelinisierenden Zellen im Gehirn mündet. Darüber hinaus kann die

abnorme Entwicklung oder gestörte Funktion der Oligodendrozyten die Myelinisierung des Gehirns negativ beeinflussen (Akundi und Rivkees 2009). Infektionen des Zentralnervensystems während der Schwangerschaft, insbesondere Coxsackie-Virus B5 und Influenza, gehen mit einem erhöhten Risiko einher, im Erwachsenenalter an Schizophrenie oder einer anderen Psychose zu erkranken (Rantakallio et al. 1997). Weitergehende Studien, die auf Tiermodellen basieren, wiesen einen bemerkenswerten Effekt einer perinatalen mütterlichen Infektionen bei der Entwicklung schwerer neuropsychiatrischen Störungen inklusive Symptomatik der Schizophrenie auf (Meyer und Feldon 2009, Ellman et al. 2009, Hagberg et al. 2012, Schmitt et al. 2014). In letzter Zeit weisen mehrere Studien darauf hin, dass auch eine Exposition gegenüber einer nicht-viralen Infektion mit einem erhöhten Risiko für Schizophrenie assoziiert ist (Sorensen et al. 2009). Tiermodelle zeigen darüber hinaus, dass die Exposition gegenüber einem pränatalen Proteinmangel das Risiko von neuropsychiatrischen Störungen wie zum Beispiel Depression, Schizophrenie sowie Aufmerksamkeits-Defizit-Hyperaktivitätsstörung (ADHS) im erwachsenen Alter erhöht. Dabei wurde festgestellt, dass der pränatale Proteinmangel die dopaminerge Neurotransmission im medial-präfrontalen Kortex und die dopaminerge und serotonerge Antwort gegenüber psychosozialem Stress verändert (Mokler et al. 2007). Es wurde zudem im Sinne einer Gen-Umwelt-Interaktion über das Vorhandensein von Risiko-Genen berichtet, die in der neurovaskulären Funktionen involviert sind oder durch zusätzlich durch Geburtskomplikationen hervorgerufene Hypoxie reguliert werden, und somit das Schizophrenie-Erkrankungsrisiko erhöhen (Nicodemus et al. 2008).

Aus anderen Studien liegen Ergebnisse vor, die eine hohe Prävalenz der Schizophrenie bei ethnischen Minderheiten, besonders bei Immigranten afro-karibischer Herkunft in Großbritannien bestätigen. Der psychosoziale Stress, der durch Migration verursacht wird, kann somit als Ursache in Betracht gezogen werden (Cooper 2005). Laut "Vulnerabilitäts-Stress-Modell" beeinflussen genetische und nicht-genetische Faktoren das neuronale Netzwerk. Biologische und psychische Stressoren führen bei Personen mit einer erhöhten Vulnerabilität aufgrund herabgesetzter Verarbeitungskapazität und nicht ausreichenden Bewältigungsstrategien zu einer Funktionsstörung mit dem Auftreten von Symptomen der Schizophrenie (Zubin und Spring 1977).

2.6. Therapie

Nach dem aktuellen Stand der Wissenschaft steht keine kurative Therapieoption der Schizophrenie zu Verfügung. Angesichts der multifaktoriellen Ätiopathogenese wird immer ein mehrdimensionales Therapiekonzept angesetzt. Dies beinhaltet Soziotherapie, Verhaltenstherapie, Arbeitstherapie, Pharmakotherapie sowie Elektrokrampftherapie, die in lebensbedrohlichen katatonen Fällen zum Einsatz kommt. Dabei wird ein möglichst symptomarmes, selbständiges Leben angestrebt.

Eine besondere Rolle in der Behandlung der akuten Episoden sowie der Langzeitprophylaxe spielt die Verwendung von typischen Neuroleptika wie z.B. Haloperidol oder atypischen Antipsychotika wie Clozapin, wobei psychologische und soziotherapeutische Maßnahmen die Therapie ergänzen sollten (Hasan et al. 2012, 2013). Erschwert wird die Therapie jedoch durch die häufig bestehende Non-Compliance der Patienten, nicht zuletzt durch die bestehenden Nebenwirkungen der Medikation (Möller 2005). Der hauptsächliche Unterschied zwischen typischen Neuroleptika und atypischen Antipsychotika ist die geringere Ausprägung oder das Fehlen der extrapyramidalen motorischen Nebenwirkungen bei den Atypika (Breier 1999, Hasan et al. 2012, 2013).

Bei allen Subtypen der Schizophrenie kommen Antipsychotika zum Einsatz. Zwar dauert der Wirkungseintritt einige Tage bis Wochen, jedoch kann die Mehrzahl der Patienten von einer Symptomreduktion, insbesondere der Positiv-Symptomatik, profitieren (Kane 1987).

2.6.1. Typische Neuroleptika

Die typischen Neuroleptika entfalten ihre Wirkung vor allem in den mesolimbischen und nigrostriatalen Anteilen des Gehirns mittels Blockade der Dopamin-D2-Rezeptoren (Bartzokis et al. 2001). Die antipsychotische Wirkung der Neuroleptika tritt erst nach Tagen bis einige Wochen ein, wohingegen eine Blockade des Dopamin-D2-Rezeptors sofort vorhanden ist. Von daher müssen auch andere Neurotransmitter in das Therapiekonzept einbezogen werden, insbesondere da die

möglicherweise involvierten GABAergen (γ -aminobutyric acid) und glutamatergen und acetylcholinergen Transmitter eng miteinander verschaltet sind (Karow 2009).

Als sehr potentes Antipsychotikum verursacht Haloperidol aufgrund der ausgeprägten Dopamin D2-Rezeptorblockade im Striatum starke, jedoch reversible extrapyramidalmotorischen Nebenwirkungen wie Tremor, Akinese, akute Dystonien und Akathasien, die als "funktioneller Parkinsonismus" bezeichnet werden. Dies kann mit Anticholinergika behandelt werden (Lüllman 1999). Die zum Teil schwerwiegenden Nebenwirkungen der typischen Neuroleptika wie z.B. das Maligne Neuroleptische Syndrom, Spätdyskinesien, anticholinerge Effekte, endokrine Veränderungen und kardiovaskuläre Wirkungen wie Tachykardien und orthostatische Hypotension limitieren deren Einsatz. In seltenen Fällen kann es auch zu den gravierenden malignen neuroleptischen Syndromen führen (Barbato 1998). Bei etwa 50-70% der mit typischen Neuroleptika behandelten Patienten werden auch extrapyramidalmotorische Symptome beobachtet (Hoiberg und Nielsen 2006).

2.6.2. Atypische Antipsychotika

Clozapin ist das erste atypische Antipsychotikum, das eine deutlich bessere Wirkung im Vergleich zu den konventionellen Neuroleptika zeigte (Kane et al. 1988).

Im Verlauf wurden mehrere atypische Substanzen wie Olanzapin, Sertindol, Risperidon oder Quetiapin entwickelt (Ichikawa und Meltzer 1999, Hasan et al. 2012, 2013). Diese Gruppe von Antipsychotika ist in ihren chemischen, pharmakologischen und klinischen Eigenschaften nicht homogen (Gründer et al. 2001). Etwa 30-60% der Patienten, bei denen die konventionellen Neuroleptika nicht angeschlagen haben, profitieren von einer Verbesserung der psychotischen Symptome (Buchanan, 1995). Charakteristisch für Substanzen dieser Gruppe ist die Affinität zu mehreren unterschiedlichen Neurotransmitter-Rezeptoren wie zum Beispiel für Serotonin-, Acetylcholin- und muskarinerge Rezeptoren (Kretschmar 1999) .

Zu den Eigenschaften dieser Gruppe gehören (Kinon und Lieberman 1996) :

-Seltener auftretende extrapyramidal-motorische Nebenwirkungen und Spätdyskinesien

- bessere Effektivität hinsichtlich Positiv-, Negativ- oder kognitiver Symptome

Charakteristisch für Clozapin ist die hohe Bindungsaffinität zu alpha-1-adrenergen-, D-1-, D-4-, 5-HAT 1c-, 5-HT 2- und muskarinergen M1-Rezeptoren und niedrige Affinität zu alpha-2-adrenergen-, D-2-, D-3-, D-5-, 5-HT1a-, 5-HT3- und muskarinergen M2-Rezeptoren (Markstein 1994, Reinbold 1998) .

Obwohl Clozapin die beste Effektivität bei der Behandlung der Schizophrenie besitzt, limitiert das erhöhte Risiko für Agranulozytose seinen Einsatz in der Praxis und es wird erst beim Auftreten von Rückfällen der psychotischen Symptomatik eingesetzt. Dieses erfordert eine strenge Überwachung des Blutbildes (Gaszner et al. 2002). Ebenso werden EEG-Veränderungen und bei bis zu 10% der Patienten Krampfanfälle durch Clozapin ausgelöst (Devinsky et al., 1991) . Clozapin führt jedoch viel seltener zum malignen neuroleptischen Syndrom als typische Neuroleptika (Buchanan 1995).

2.7. Hippokampus und Schizophrenie

2.7.1.Hippokampusfunktion

Der menschliche Hippokampus ist an Gedächtnisvorgängen und zusammen mit den Amygdalae an der Regulation des Affekts, der bei der Schizophrenie gestört ist, beteiligt (Heckers und Konradi 2002). Der Hippokampus kann in unterschiedlichen Subregionen wie Cornu Ammonis (CA) 1, 2,3, Subikulum und Gyrus dentatus eingeteilt werden (Amaral und Lavanex 2007). Er ist im medialen Temporallappen, angrenzend der Medialwand des Seitenventrikelunterhorns, lokalisiert. Hier sind mehrere Afferenzen und Efferenzen verschaltet. Somit entsteht unter anderem der Papez-Neuronenkreis, der die Kommunikation vom Hippokampus, Thalamus und Gyrus cinguli gestattet. Das hippokampale System ist beim Menschen am episodischen, verbalen und räumlichem Gedächtnis sowie an der Verbindung zur Amygdala und am emotionalen Gedächtnis beteiligt. Bei Patienten mit geschädigtem Hippokampus ergaben Auffälligkeiten in Form von verbalen Gedächtnisstörungen in neuropsychologischen Testungen, in denen sie aufgefordert wurden, eine räumliche Szene mit vielen Einzelheiten zu beobachten und sich danach an die Lokalisation

jedes einzelnen Objekts zu erinnern (Milner 1968, Jones-Gotman und Milner 1978). Patienten mit Hippokampussklerose und temporaler Epilepsie leiden unter gestörtem verbalen und non-verbal episodischem Gedächtnis (Tudisco Ide et al. 2010). Darüber hinaus ist bei schizophrenen Patienten und in geringer Ausprägung bei Hochrisikopersonen und nichtpsychotischen Verwandten das Hippokampus-assoziierte verbale deklarative Gedächtnis gestört (Cirillo und Seidman 2003). Diese Tatsache unterstreicht die Erblichkeit der kognitiven Kernsymptome und HippokampUSDysfunktion bei der Schizophrenie (Gruber et al. 2008)

2.7.2. Strukturelle MRT und DTI bei Schizophrenie

Die Metaanalyse struktureller Magnet-Resonanz-Tomographie (MRT)-Untersuchungen ergab bei schizophrenen Patienten eine Volumenminderung in unterschiedlichen Gehirnregionen. Betroffene Regionen waren der mediale Temporallappen inklusive dem Hippokampus und parahippokampalem Gyrus (limbisches System), der heteromodale Assoziationskortex sowie der präfrontale und parietale Kortex und der superiore temporale Gyrus. Der Reduktionsgrad der grauen Substanz im fronto-temporo-limbischen Netzwerk beträgt circa 5-10% (Wright et al. 2000, Shenton et al. 2001). Der entorhinale Kortex verbindet die kortikalen Regionen mit dem Hippokampus (Weinberger 1999). Zahlreiche MRT-Studien zeigten eine Volumenverminderung im posterioren Anteil des Hippokampus (Becker et al. 1996, Bogerts et al. 1993, Hirayasu et al., 1998, Narr et al. 2001 , Rametti et al. 2007, Velakoulis et al. 2001, Yamasue et al. 2004), während eine kleinere Anzahl an Studien auch auf eine Volumenreduktion im anterioren Anteil hinwies (Pegues et al. 2003, Szeszko et al. 2003). Ein verkleinertes Hippokampusvolumen wurde bei der Schizophrenie repliziert, und könnte mit neuronaler Atrophie und dem Verlust von Neuropil (Dendriten, Axone) verbunden sein (Harrison 2004, Steen et al. 2006). Ob die Reduktion des Hippokampusvolumens bei der Schizophrenie statisch ist oder während des Krankheitsverlaufs fortschreitet, ist jedoch bislang unbekannt (Steen et al. 2006). Funktionelle MRT-Untersuchungen ergaben bei schizophrenen Patienten eine Hypoaktivität des Hippokampus sowie einen Zusammenhang zwischen der Beeinträchtigung des Arbeitsgedächtnis und einer inadäquaten Konnektivität mit dem dorsolateralen präfrontal Kortex (DLPFC) (Weiss und Heckers, 2001, Glahn et al.

2005). Die hippocampale Aktivität war während des Entschlüsselns und Erkennens von Wörtern reduziert (Jessen et al. 2003). Während der Wort- und Gesichtserkennung, die zum deklarativen Gedächtnis gehören, wiesen schizophrene Patienten eine bilaterale Hypoaktivität des Hippokampus auf (Rametti et al. 2009). Die neuen Entwicklungen in bildgebenden Techniken wie *in vivo* funktionelle MRT(fMRT) und Diffusions-Tensor-Bildgebung (DTI) ermöglichen die Untersuchung der Konnektivitätsstörung in neuronalen Netzwerken. Insbesondere zeigten Magnet Transfer Imaging (MTI) und DTI-Befunde eine Reduktion an Myelin oder axonalen Membranen in kortikalen Regionen und Störungen der fraktionellen Anisotropie (eine Messung der Kohärenz entlang des weißen Substanztrakts) der weißen Substanz, auch im Fornix des Hippokampus (Davis und Donnan 2003). Diese Unterbrechung der Konnektivität in präfronto-temporalen neuronalen Netzwerk kann Symptome der Schizophrenie wie kognitive Defizite und Negativsymptomatik zufolge haben (Rajarethinam et al. 2001, Harrison 2004, Kuroki et al. 2006). Diffusion Tensor Imaging (DTI)- Studien der weißen Substanz des Fornix-Körpers des Hippokampus bei schizophrenen Patienten zeigten eine Verminderung der fraktionellen Anisotropie und unterstützten somit die funktionale und strukturelle Dyskonnektivitätshypothese (Kalus et al. 2004, White et al. 2007). DTI- Untersuchungen zeigten ebenfalls, dass die gestörte Integrität des Fornix zur Konnektivitätsstörung bei der Schizophrenie beiträgt (Takei et al. 2008). Pathophysiologisch liegt der verminderten Konnektivität möglicherweise eine Schädigung von Myelin zugrunde, was die klinischen Symptome der Patienten erklären könnte (Konradi et al. 2012).

2.7.3. Störung der Makrokonnektivität

Eine klassische neurodegenerative Erkrankung mit einhergehender verminderter Neuronenzahl und Astrozytose, scheint bei der Schizophrenie nicht vorzuliegen (Schmitt und Falkai 2014), deshalb wird eine Störung der Neuroplastizität und als Konsequenz dysfunktionaler Neuronen und Synapsen angenommen (Schmitt et al. 2011). Definitionsgemäß bedeutet Neuroplastizität oder synaptische Plastizität die Fähigkeit von Neuronen und Synapsen sich abhängig von Beanspruchung und Einflüssen in ihren Eigenschaften und Morphologie zu verändern. Desweiteren spielt möglicherweise eine gestörte Neubildung von Neuronen im Gyrus dentatus des

Hippokampus oder der subventrikulären Zone als gestörte Neurogenese bei Schizophrenie eine Rolle (Schmitt et al. 2009, Reif et al. 2006). Außerdem könnte zugleich eine Verminderung der Oligodendrozytenzahl, auch bezeichnet als Makrokonnektivitätsstörung mit verminderter Myelinisierung neuronaler Bahnen, durch eine Störung der Erregungsweiterleitung in myelinisierten, axonalen Bahnen, einen Beitrag zur Pathophysiologie der Erkrankung leisten (Schmitt et al. 2009, Hof et al. 2002).

2.7.4. Post-mortem Befunde auf zellulärer Ebene

Post-mortem Studien bei der Schizophrenie bestätigten die strukturellen MRT-Befunde und ergaben einen Volumenverlust im Hippokampus (Heckers 2001). Darüber hinaus zeigten post-mortem Studien einen Volumenverlust in Hippokampussubregionen, welche mit der Positiv-Symptomatik der Schizophrenie assoziiert sein könnte (Bogerts et al. 1990, Bogerts 1997). Bisherige quantitative mikroskopische Studien des Hippokampus deuten auf eine reduzierte Interneuronendichte vor allem von Parvalbumin-immunreaktiven Zellen, ohne Änderungen der Dichte von Pyramidenzellen (Benes et al. 1990, Zhang et al. 2002). Obwohl die Mehrzahl dieser Studien keine Veränderung in der neuronalen Zelldichte nachwies (Arnold et al. 1995, Dwork 1997, Harrison 1999), beschrieb eine Studie von Falkai und Bogerts eine verminderte Pyramidenzellendichte bei Schizophrenie (Falkai und Bogerts 1986). Frühere Studien über den Hippokampus und entorhinalen Kortex beschrieben eine verminderte Gliazelldichte wie auch ein unverändertes neuro-gliales Verhältnis (Falkai und Bogerts 1986, Falkai et al. 1988). Einige Autoren fanden eine Reduktion der Dichte der Gliazellen im Hippokampus von männlichen schizophrenen Patienten (Falkai und Bogerts 1986), eine Astroglieose als Zeichen einer klassischen Neurodegeneration wurde allerdings im Hippokampus übereinstimmend in zweidimensionalen Dichte- und dreidimensionalen stereologischen Untersuchungen nicht entdeckt (Casanova et al. 1990, Schmitt et al. 2009). Eine weitere Studie zeigte jedoch eine Zunahme der Dichte von spezifisch S100B-positiven astroglialen oder oligodendroglialen Zellen bei Patienten mit paranoider Schizophrenie (Steiner et al. 2008). Eine sichere Differenzierung zwischen den verschiedenen glialen Zelltypen ist hierbei jedoch nicht möglich. Zwei

stereologische Studien berichteten zudem keinen Unterschied in der absoluten Neuronenzahl im Hippokampus schizophrener Patienten. Eine Studie untersuchte jedoch nur die gesamte Neuronenzahl (Heckers et al. 1991), während in der anderen Studie zwischen verschiedenen Zelltypen nicht unterschieden wurde und zudem Patienten mit Schizophrenie und mit schizoaffektiven Störungen eingeschlossen wurden (Walker et al. 2002). Die elektronenmikroskopische Untersuchung des post-morten Gewebes zeigten qualitativ strukturelle Abweichungen in Myelinscheiden und quantitativ regressive Veränderungen der Oligodendrozyten im präfrontalen Kortex und im Hippokampus, die auf eine Entwicklungsstörung, Apoptose oder einen nekrotischen Zelltod hinweisen (Kolomeets und Uranova 2008).

2.7.5. Oligodendrozyten in post-mortem Studien der Schizophrenie

Oligodendrozyten sind eine Gruppe hochspezialisierter Gliazellen im zentralen Nervensystem, die für die Bildung lipidreicher Myelinscheiden zuständig sind. Die OLIG1- und OLIG2-Antikörper wurden zur immunhistochemischen Markierung zweier Untergruppen der Oligodendrozyten mit zwar überlappendem aber etwas unterschiedlichem Reifegrad verwendet. OLIG1 dient in dieser Studie als Entwicklungs-Marker zur Detektierung weitgehend unreifer Oligodendrozyten (Lu et al. 2000, Arnett et al. 2004, Ligon et al. 2006), während OLIG2 überwiegend in reiferen Oligodendrozyten vorkommt. Zahlenmäßig sind Oligodendrozyten in der grauen Substanz häufiger als Astrozyten und Mikroglia zu beobachten und funktionieren dort als Satelliten-Zellen der Neurone, die sie trophisch ernähren (Polak und Szuchet 1988). Oligodendrozyten haben einen kleinen, runden Zellkörper und etwa vier bis fünf Ausläufer, und können abhängig vom Durchmesser bis zu 60 Axone myelinisieren (Fawcett 1994, Miller 2002). Je nach Lokalisation werden drei Arten von Oligodendrozyten im Gehirn, nämlich perivaskulär, perineuronal und interfazikulär beschrieben (Connor und Menzies 1996, Yokoo et al. 2004). Oligodendrozyten sind auch in der Nähe von Blutkapillaren lokalisiert und tragen dort zur Aufrechterhaltung der Blut-Hirn-Schranke bei (Descamps et al. 2003). Die gezielte Untersuchung der Oligodendrozyten und des Myelinisierungsprozesses bei Schizophrenie scheint wegweisend zu sein, da es in mehreren Gehirnregionen wie dem präfrontalen Kortex und dem Fornix des Hippokampus einen engen zeitlichen Zusammenhang zwischen Abschluss der Myelinisierung und Manifestation der

Symptome besteht (Goldman-Rakic und Selemon 1997). In letzter Zeit wurde mittels design-basierter Stereologie und Untersuchung von Neuronen, Oligodendrozyten und Astroglia in verschiedenen Subregionen des posterioren Teils von Hippokampus keine Veränderungen der Neuronenanzahl, aber eine Reduktion der Anzahl und Dichte der Oligodendrozyten in der rechten und linken Subregion CA4 festgestellt (Schmitt et al. 2009). Die Ergebnisse einer verminderten Oligodendrozytenzahl lassen auf eine gestörte Konnektivität von CA4 des posterioren Teils des Hippokampus schließen. CA4 ist die tiefe polymorphe Schicht des Gyrus dentatus, die kollaterale Moosfasern der Körnerzellen enthält (Amaral und Lavanex 2007, (Harrison and Eastwood, 2001, Lavanex 2012). Die reduzierte Anzahl der Oligodendrozyten kann entweder durch Defizite bei der Proliferation, ihrer Reifung oder Myelinisierungsprozesse entstehen (Bartzokis et al. 2003). Ultrastrukturelle post-mortem Untersuchungen ergaben eine Atrophie der myelinisierten Axonen und eine Schwellung in periaxonalen Oligodendrozyten im präfrontalen Kortex (Uranova et al. 2007).

2.8. Ziel der vorliegenden Studie

Eine stereologische post-mortem Studie, die an Nissl-gefärbten Gehirnschnitten durchgeführt wurde, entdeckte eine signifikante Verminderung der Anzahl von Oligodendrozyten im linken und rechten CA4 im posterioren Hippokampus (Schmitt et al. 2009). Die Unterscheidung zwischen Neuronen und Oligodendrozyten mittels Nissl-Färbung anhand morphologischer Kriterien kann jedoch untersucherabhängig sein. Deshalb untersuchten wir in der vorliegende Studie mittels immunhistochemischer Färbung der Oligodendrozyten im posterioren Hippokampus von schizophrenen Patienten und gesunden Kontrollen, um die stereologischen Befunde an histologisch gefärbten Gehirnschnitten zu validieren. In vorliegender Arbeit wurde eine unterschiedliche Markierung von Oligodendrozyten mittels zweier spezifischer Antikörper (OLIG1 und OLIG2) erwartet. Zudem unterschieden wir in der vorliegenden Arbeit zwischen spezifischer Färbung mit OLIG1 und OLIG2 Antikörpern, um unreifere Oligodendrozyten (OLIG1) und weiter gereifte, myelinisierende Oligodendrozyten (OLIG2) (Arnett et al., 2004, Kuhlmann et al. 2008, Mosebach et al. 2013) mit zu erfassen.

3. Methodik

3.1. Patientenkollektiv und Kontrollgruppe

Das Gewebematerial stammt aus 10 Gehirnen von Patienten mit Schizophrenie (Diagnose nach DSM-IV, Diagnostic Statistical Manual, 4th Revision) und 10 Kontrollgehirnen von Personen ohne neuropsychiatrische Erkrankungen. Als Ausschlusskriterien galten in beiden Gruppen Alkohol- oder Drogenabhängigkeit, Demenz, neurologische Erkrankungen, und Schädel-Hirn Traumata. Neuropathologische Erkrankungen wurden durch Inspektion eines Neuropathologen ausgeschlossen. Die Präparate der Kontrollgruppe bestanden aus histologischen Gehirnschnitten von Personen, deren Krankengeschichte keine neurologische und psychiatrisch Erkrankungen, Alkohol- und Drogenabusus, Trauma, Demenz oder chronische terminale Erkrankungen beinhaltete (n=10, gematcht nach Alter und Geschlecht, 5 Männer, 5 Frauen; Durchschnittsalter 50,2 ±10.0 Jahre, PMI 36,8±20,3h). In der Gruppe der schizophrenen Patienten wurden jeweils 5 Frauen und 5 Männer zwischen 33 und 66 Jahren untersucht (Durchschnittsalter: 55,1 ± 7,6 Jahre). Der Zeitraum zwischen dem ersten Krankenhausaufenthalt der Patienten und dem Todeseintritt wurde als Erkrankungsdauer bezeichnet. Diese betrug in vorliegender Studie 24,7 Jahre. Alle Patienten waren mit typischen Neuroleptika behandelt, die Dosis und Dauer der Medikation lag jedoch nicht vor. Als Post-mortem-Intervall (PMI), wurde die Zeitspanne zwischen dem Tod und der Asservierung des Gewebes definiert. Es lag bei den Kontrollen bei 36,8 ± 20,2 h und bei Patienten mit bei 42 h (Tabelle 4). Für beide Gruppen, an Schizophrenie erkrankte Patienten und Kontrollen, wurden der Mittelwert und der Standardfehler (SEM) des Mittelwertes für alle untersuchten Variablen, getrennt für linke und rechte Hemisphäre ausgewertet. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universität Magdeburg genehmigt. Die Autopsie erfolgte jeweils bei Vorlage einer schriftlichen Einverständniserklärung des Hirnspenders oder eines befugten Angehörigen.

| Kontrollgruppe | | | | | |
|------------------------|------|---|------|-------------------------------|----------------------------|
| Kode | A | G | PMI | Todesursache | |
| N3 | 56 | m | 24 | Herz-Kreislauf-Versagen | |
| N10 | 50 | m | 24 | Myokardinfarkt | |
| N19 | 33 | w | 72 | Herz-Kreislauf-Versagen | |
| N20 | 64 | m | 35 | Herz-Kreislauf-Versagen | |
| N21 | 52 | w | 48 | Herz-Kreislauf-Versagen | |
| N22 | 47 | w | 26 | Karido-polmunale Insuffizienz | |
| N23 | 38 | m | 19 | Myokardinfarkt | |
| N27 | 50 | w | 72 | Aortenaneurysmaruptur | |
| N29 | 47 | m | 24 | Akutes Herzversagen | |
| N34 | 65 | w | 24 | Herz-Kreislauf-Versagen | |
| Mean | 50,2 | | 36,8 | | |
| Patientengruppe | | | | KD | |
| P3 | 48 | m | 24 | 18 | Suizid durch Strangulation |
| P7 | 66 | w | 24 | 30 | Herz-Kreislauf-Versagen |
| P9 | 65 | m | 60 | 26 | Herzinsuffizienz |
| P10 | 46 | m | 48 | 18 | Myokardinfarkt |
| P12 | 53 | w | 48 | 20 | Myokardinfarkt |
| P13 | 60 | w | 48 | 16 | Akute Herzinsuffizienz |
| P14 | 51 | m | 48 | 28 | Herz-Kreislauf-Versagen |
| P18 | 63 | w | 72 | 41 | Suizid durch Strangulation |
| P20 | 47 | m | 24 | 23 | Kammerflimmern |
| P23 | 52 | w | 24 | 28 | Ertrinken |
| Mean | 55,1 | | 42,0 | 24,8 | |

Tabelle 4: Auflistung des Kontroll- und Patientenkollektivs: A (Alter), G(Geschlecht),P (Patient),K (Kontrolle), PMI (Post- mortem Intervall), KD (Krankheitsdauer), (männlich),w (weiblich)

3.2. Gewebematerial

Wir untersuchten jeweils beide Hemisphären. Zur Herstellung der histologischen Präparate wurden die Gehirne zunächst im Ganzen gleichmäßig über 7 Monate in 10%iger phosphatgepufferter Paraformaldehydlösung fixiert (pH 7,0, T 15-20°C). Im Anschluss wurden die Frontal- und Okzipitallappen beider Hemisphären mittels koronarer Schnitte vor dem Genu des Corpus callosum und hinter dem Splenium vom Mittelhirn getrennt. Der vordere und mittlere Block, der den vollständigen Hippokampus enthält, wurden in Paraffin eingebettet. Mit Hilfe eines Mikrotoms (Polycut S Leica) wurde eine koronare Schnittserie mit einer Schnittdicke von 20µm hergestellt. Anschließend folgte eine Dehydratation mittels aufsteigender Ethanolreihe. Jeder 50. Schnitt mit einem Gesamtabstand von 1mm wurde mit Cresyl Violet und Luxol Fast Blue (Klüver-Barrera) gefärbt. Abschließend wurde die aktuelle

Schnittdicke durch Fokussierung der Ober- und Unterfläche mittels Lichtmikroskop mit 1000facher Vergrößerung kontrolliert, indem die Koordinaten der z-Axen der unteren von den Koordinaten der oberen Fläche subtrahiert wurden (Danos et al. 2002). Die mittlere Schnittdicke betrug nach der Fixierung und Färbung $18,9 \pm 1,2\mu\text{m}$, so dass der Distanz zwischen jedem fünfzigsten Schnitt ein Wert von 1 Millimeter zugeordnet werden konnte (Bogerts et al. 1990). Pro Patienten- und Kontrollgehirn lagen jeweils 2 Gehirnschnitte vor, die aus dem posterioren Hippokampus stammen.

3.3. Materialliste Immunhistochemie:

| | |
|--|--|
| Phosphatgepufferte Salzlösung | Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Deutschland |
| Citratpuffer | 190 ml Lösung A (2,101 g Zitronensäure-Monohydrat + 1l Aqua dest.) |
| H ₂ O ₂ 1,5% | Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland |
| Ziegennormalserum G9023 | Sigma-Aldrich, Schnellendorf, Deutschland |
| Streptavidin-biotinylated peroxidase complex | Amersham Biosciences, Little Chalford, Großbritannien (RPN 1051V) |
| Diaminobenzidin | Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland |
| Ammonium nickel(II)sulfat | Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland |
| PBS 0,1M: (Waschpuffer für Hirnschnitte) | 80 ml Base (8,5 NaCl + 18g Di-Natriumhydrogen- phosphat -Dihydrat in 1l Aqua dest.) 12 ml Säure (8,5 NaCl + 13,8g Natriumdihydrogenphosphat-Monohydrat in 1l Aqua dest.) 908 ml Aqua dest. |
| PBS 0,01M: (Antikörperverdünnung und DAB-Färbung) | 1 Päckchen „Phosphate buffered saline powder“ |
| Formaldehyd 37% | CG Chemikalien, Laatzen, Deutschland |
| Ethanol 96% und 99,9% | Berkel AHK, Berlin, Deutschland |
| Chloroform | Merck, Darmstadt, Deutschland |
| Paraplast/ Shandon Histoplast | Thermo Fisher Scientific, Dreieich, Deutschland |
| Xylol | Chemie-Vertrieb Magdeburg, Schönebeck, Deutschland |
| Kresylviolett (Acetat) | Merck, Darmstadt, Deutschland |
| Ethansäure 99-100% | J.T. Baker- Avantor Performance Materials, Deventer, Niederlande |
| EUKIT | O.Kindler GmbH, Freiburg, Deutschland |
| Tri-Natriumcitrat-Dihydrat 294,10 g/mol | Merck, Darmstadt, Deutschland |
| Natrium-Chlorid 58,44 g/mol | Roth, Karlsruhe, Deutschland |
| Di-Natriumhydrogenphosphat- Dihydrat 177,99 g/mol | Merck, Darmstadt, Deutschland |
| Natriumdihydrogenphosphat- Monohydrat 137,99 g/mol | Merck, Darmstadt, Deutschland |
| Ethansäure-Alkohol-Lösung: | 1988 ml Ethanol 12 ml Ethansäure 99-100% |

3.4. Immunhistochemische Färbungen

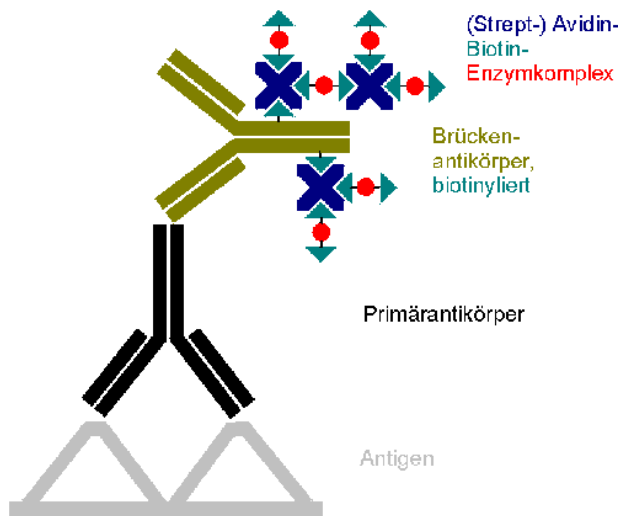
Die Schnitte wurden zuerst mittels Xylol (2x 10 min) entparaffiniert. Anschließend erfolgte eine absteigende Ethanolreihe (100%, 96%, 80%, 70%, 50% jeweils für 5 min) und zweimalige Spülung mit Aqua dest. (Aqua destillata) (2 x 5 min). Die Obejektträger wurden dann in Kresylviolett geschwenkt. Dann wurden sie erneut mit Aqua dest. gespült (2 x 5 min). Nachdem das optimale Färbe-Ergebnis nach Zugabe von Ethansäure-Alkohol-Lösung mikroskopisch kontrolliert wurde, wurden die Schnitte erneut mit Aqua dest. gespült (2 x 5 min). Die gefärbten Schnitte durchliefen dann eine ansteigende Ethanolreihe (96%- 2 x 100%, jeweils 5 min) und konnten, nach 2 x 10-minütiger Behandlung mit Xylol, eingedeckt werden. Sie wurden dann zur Antigen-Demaskierung 4 Minuten lang in Citratpuffer pH6.0/10mM gekocht und 10 Minuten in H₂O₂/PBS, 1.5% gelegt, um die endogene Peroxidase- Aktivität zu unterbinden. Anschließend wurden die Schnitte 4 Minuten in der phosphatgepufferten Salzlösung (PBS) (2 x 5 min) gespült. Danach wurden die Schnitte mit dem Ziegennormalserum 1:10 beträufelt und eine Stunde in der Raumtemperatur inkubiert, um eine unspezifische Bindung des Ziel-Antikörpers zu verhindern. Dann wiederholte man das Waschen mit PBS (2 x5 min). Die Schnitte wurden mit dem primären Antikörper zuerst OLIG 1 mit Konzentration von 1:50 beträufelt. Die abgedeckten Schnitte wurden 2 Tage im Kühlschrank bei 4°C inkubiert. Dann wurden sie nochmal in PBS (2 x 5 min) gespült. So entfernte man nicht gebundene Antikörper und verhinderte eine starke Hintergrundfärbung. Die gespülten Schnitte wurden mit dem sekundären Antikörper als Brückenantikörper (Anti-mouse IgG biotinylated/Healthcare) mit einer Konzentration von 1:100 beträufelt. (Abbildung 1). Hier fungierte die OLIG1 als Antigen. Hinterher wurde eine Spülung mit PBS 2 Mal für jeweils 5 Minuten durchgeführt. Die Schnitte wurden dann mit dem tertiären Antikörper (Streptavidin-biotinylated horseradish peroxidcomplex) mit einer Konzentration von 1:100 beträufelt und eine Stunde in der Raumtemperatur inkubiert. Die inkubierten Schnitte wurden mit PBS (2 x 5 min) gespült. Die Färbung wurde mit DAB/ANV (Diaminobenzidine tetrahydrochlorid) verstärkt. Die

Färbereaktion erfolgte mit DAB/ANV und Ammonium nickel(II)sulfat Hexahydrat/FLUKA (Substrat H_2O_2). DAB wurde 20 Minuten vorher auftauen gelassen und AmmNiSO₄ ebenso lange vorgelöst. 0,5 AmmNiSO₄ wurde in etwas PBS/SIGMA vorgelöst. Die beiden Lösungen wurden dann zusammengegeben und mit PBS auf 25ml aufgefüllt und anschließend gefiltert. Dazu wurde 250 μ L von einer 1 %igen H_2O_2 -Lösung hinzugegeben und die Schnitte wurden damit beträufelt und 10 Minuten in der Raumtemperatur inkubiert. Die Schnitte wurden 2 Mal in destilliertem Wasser gespült. Die Schnitte wurden danach durch die aufsteigende Alkoholreihe geführt. Sie wurden danach eingedeckt und nach zweimaliger Spülung mit Aqua dest. (Aqua destillata) (2 x 5 min) wurden die Objektträger in Kresylviolett geschwenkt und erneut mit Aqua dest. gespült (2 x 5 min). Die Stärke der Färbereaktion wurde durch Zugabe von Ethansäure-Alkohol-Lösung gesteuert und das optimale Farb-Ergebnis mittels mikroskopischer Sichtung kontrolliert. Nach erneutem Spülen mit Aqua dest. (2 x 5 min) durchliefen die gefärbten Schnitte eine ansteigende Ethanolreihe (96% - 2 x 100%, jeweils 5 min) und konnten, nach 2 x 10-minütiger Behandlung mit Xylol, eingedeckt werden.

Für die OLIG2-Färbung wurde Millipore#AB 9610 (ein polyclonaler Antikörper) mit einer Konzentration von 1:150 angesetzt. Als Sekundärantikörper fungierte hier der polyklonale Anti-Kaninchen, um OLIG2 zu detektieren (siehe Tabelle 5). Die Schritte der Immunhistochemie für OLIG2 ist in jedem Punkt genauso wie unter OLIG1 beschrieben (ABC Methode).

| Färbung | Primärantikörper | Sekundärantikörper |
|----------------|--|---|
| Olig1 | Anti-Olig-1 | Anti-Maus |
| Klonalität | Monoklonal | Monoklonal |
| Ursprung | Maus | Ziege |
| Firma | R & D Systems; Abingdon, Großbritannien | GE Healthcare; Freiburg, Deutschland |
| Verdünnung | 1:50 | 1:100 |
| Olig2 | Anti-Olig-2 | Anti-Kaninchen |
| Klonalität | Polyklonal | Polyklonal |
| Ursprung | Kaninchen | Ziege |
| Firma | Millipore/ Merck KGaA; Darmstadt, Deutschland | DakoCyomation; Glostrup, Dänemark |
| Verdünnung | 1:150 | 1:100 |

Tabelle 5: verwendete Primär- und Sekundärantikörper (Mosebach et. al 2014)



(Strept-) **A**vidin-**B**iotin-**C**omplex

ABC-Methode

Abbildung 1: *Prinzip der Immunhistochemie nach der ABC-Methode*

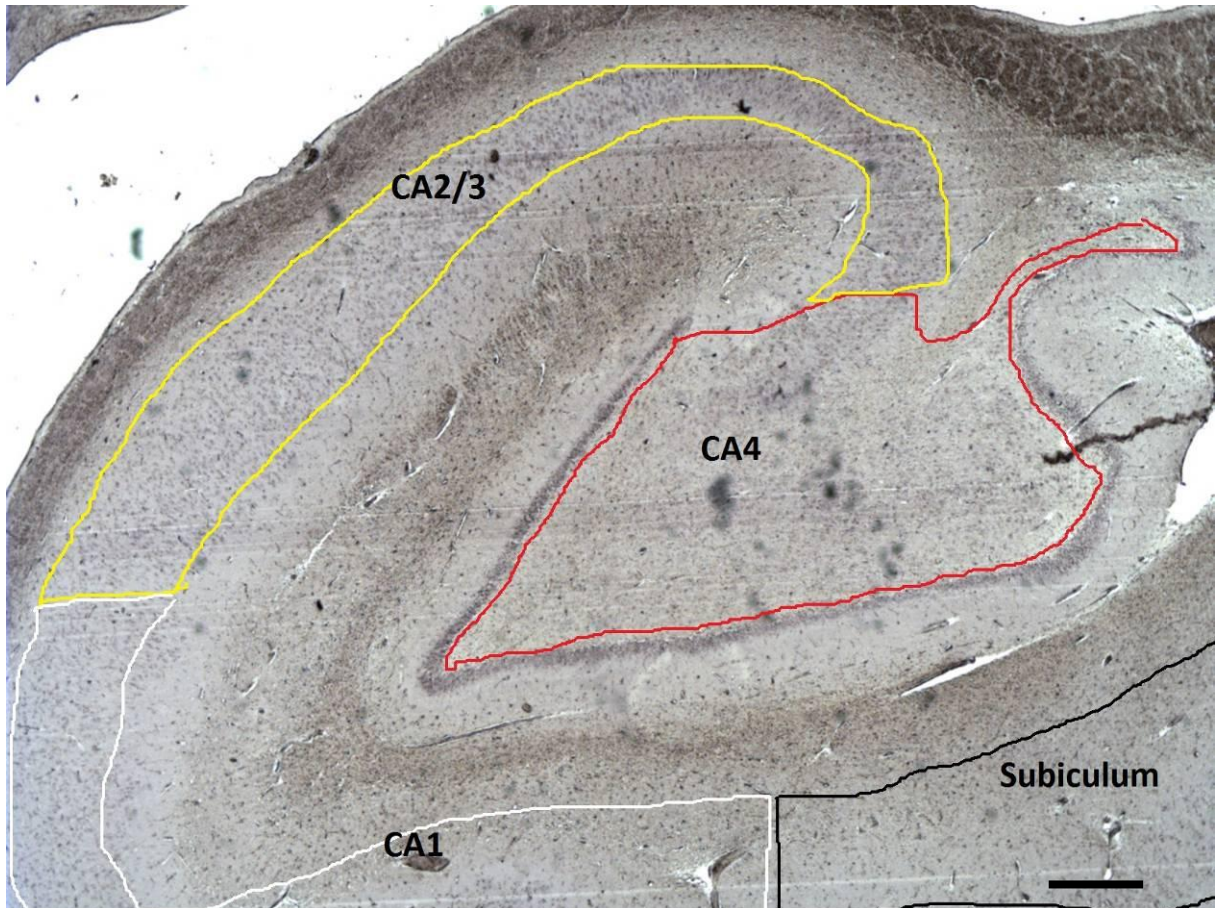


Abbildung 2: Darstellung der Subregionen des posterioren Anteils des Hippokampus in einer koronaren Schnittebene einer Kontrolle. Die Schichtdicke des hochauflösenden photomikrographischen Bildes beträgt 20 μm . Maßstab= 1mm. 20-fache Vergrößerung

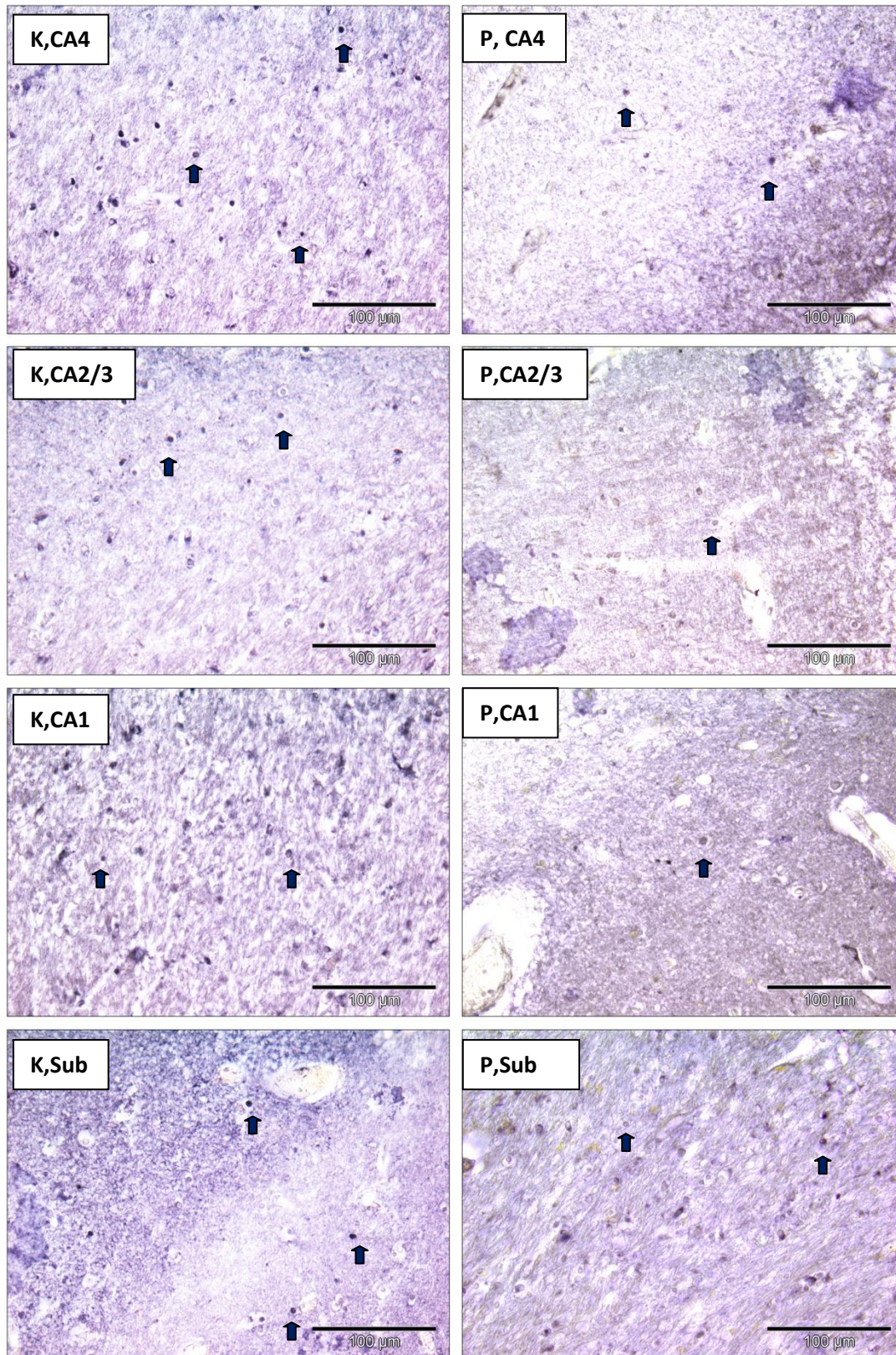


Abbildung 3: Oligodendrozyten (schwarze Pfeile) in OLIG 1-Färbung der Subregionen des Hippokampus, links Kontrolle (K), rechts Patient (P). CA: Cornu Ammonis, Sub: Subiculum

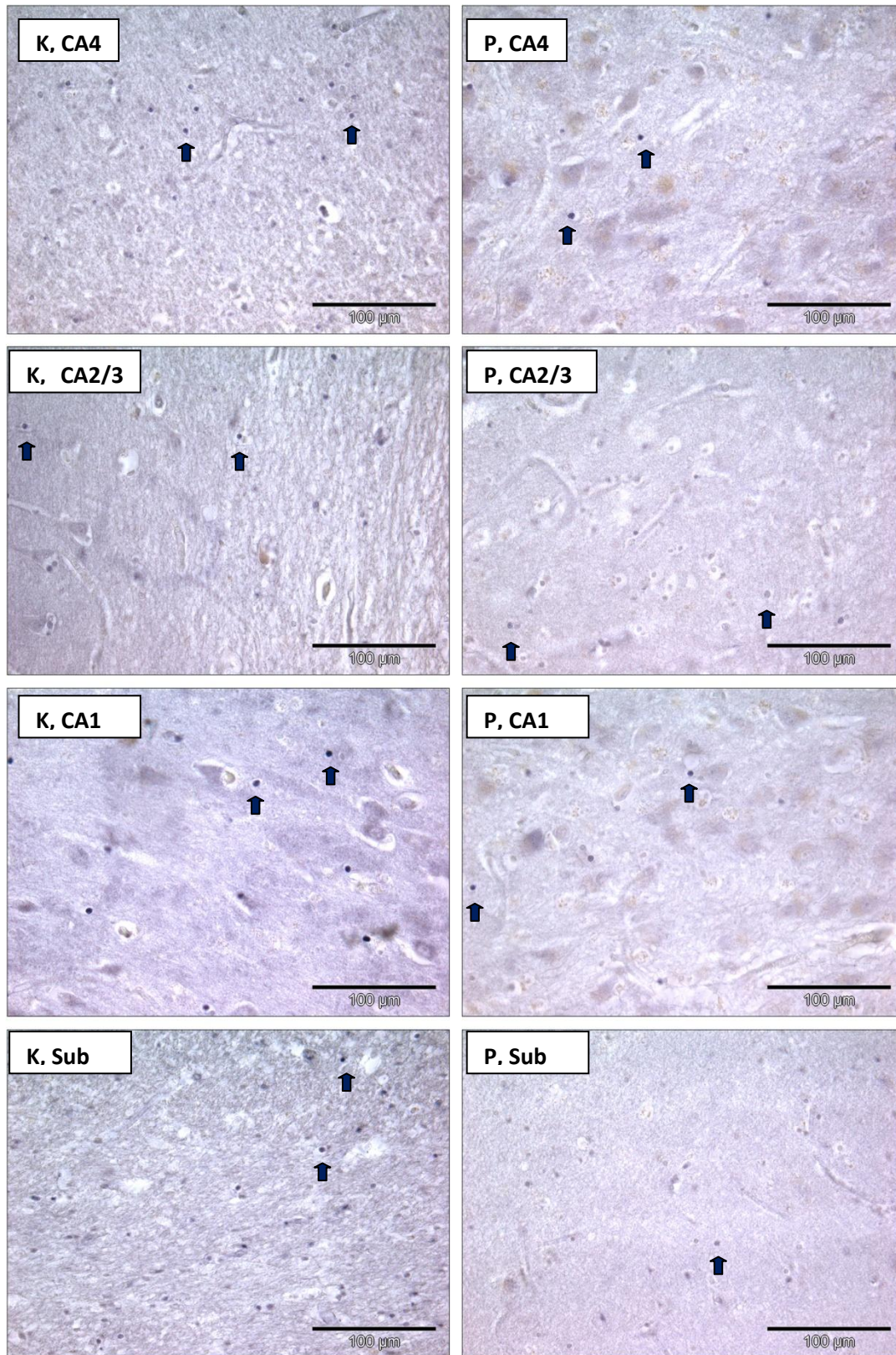


Abbildung 4: Oligodendrozyten (schwarze Pfeile) in OLIG 2-Färbung der Subregionen des Hippokampus. Links Kontrolle (K), rechts Patient (P). CA: Cornu Ammonis, Sub: Subiculum

3.5. Die Dichtebestimmung der Oligodendrozyten

Die Analyse in der vorhandenen Studie wurde bezüglich Diagnose und demographischer Daten verblindet durchgeführt. Im posterioren Hippokampus wurde die auszuwertende Region zwischen dem Korpus geniculatum laterale (CGL) (anterior) und dem Splenium des Korpus Kallosum (posterior) abgegrenzt. Pro Fall wurden 4 Schnitte ausgewertet. Verschiedene Regionen des Hippokampus (CA1, CA2/3, CA4 und Subikulum) wurden abgegrenzt (Price et al. 2001) (Abbildung 2) und unabhängig voneinander ausgewertet. Aufgrund der schwierigen lichtmikroskopischen Unterscheidung zwischen CA2 und CA3 wurde wie bei vorherigen Studien (Schmitt et al. 2009) die beiden CA2 und CA3 Regionen bei der Auswertung als eine Einheit ausgewertet. Mittels eines modifizierten Lichtmikroskops (BX50; Olympus, Tokyo, Japan), Olympus Uplan Apo Objektiven (1,5x, 20x, 40x, 50x, 100x) ausgestattet mit einem dreiachsigen, hochauflösenden computergesteuerten Schrittmotorsystem und einem linearen elektronischen Focusencoder (Microcator) wurde der jeweilige Gehirnschnitt an der stereologischen Arbeitsstelle analysiert. Die Übertragung der mikroskopischen Bilder auf einen 17-inch Monitor erfolgte mit Hilfe einer 3-CCD Color Camera HV-C20 A/AM (Hitachi Kokusai Electric Inc., Tokyo, Japan). Die Auswertung am Computer erfolgte mit Hilfe einer stereologischen Software (Stereoinvestigator, MBF Bioscience, Williston, ND, USA). Die Abgrenzung der ausgewerteten Regionen erfolgte individuell am jeweils vorliegenden Schnitt mit Hilfe einer digitalen Kamera, deren Bild auf den Computerbildschirm übertragen wurde. In der vorliegenden Studie wurden die Oligodendrozyten anhand der OLIG1- oder OLIG2-positiven immunhistochemischen Färbung markiert (Abbildung 3 und 4). Es wurden alle Zellen in den abgegrenzten Subregionen des Hippocampus bei einer 40-fachen Vergrößerung gezählt und es erfolgte eine separate Auswertung der rechten und linken Hemisphäre. Alle Analysen wurden verblindet für die Diagnose durchgeführt, die Gehirnschnitte waren mit Nummern kodiert. Die OLIG-1 oder OLIG-2 immunpositiven Zellen wurden mittels der optischen Dissektormethode ausgewertet. Die ausgewertete Schnittdicke betrug 16 µm und befand sich jeweils im Zentrum des Schnittes. Alle Oligodendrozyten, die sich innerhalb dieses Zählvolumens befanden, wurden ausgewertet. Unter Berücksichtigung der Gewebeschrumpfungsfaktoren, des Volumens der Subregion in den einzelnen Schnitten und der Schnittdicke konnte

eine Berechnung der numerischen Zelldichte (Anzahl der Zellen/ μm^3) erfolgen. Es wurde schließlich der Mittelwert aus der Anzahl der Gehirnschnitte ermittelt. Zusätzlich zur Zelldichte wurde anhand der zwei vorliegenden Schnitte aus dem posterioren Hippokampus das gemittelte gemessene Volumen dieser Schnitte in den Subregionen aufgezeichnet. Hier wurde das Gesamtvolumen von jeweils zwei Schnitten pro Fall, die aus unterschiedlichen Ebenen des posterioren Hippokampus stammten mittels 3-dimensionaler Volumenmessung ermittelt. Eine Volumenmessung für einzelne Regionen wurde hier nicht durchgeführt.

3.5.1 Intra-Rater-Reliabilität

Um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu testen, wurde die Zelldichte in der Region CA4 beider Hemisphären in acht Fällen für OLIG1- und OLIG2-Färbung erneut gemessen. Hierbei ergab sich eine Intra-Rater-Reliabilität mit einem intraclass correlation coefficient (ICC) von >0.8 .

3.6. Statistische Methoden:

Alle Analysen wurden mit SPSS 19 durchgeführt. Es wurden zweiseitige Hypothesentests mit Fehlerwahrscheinlichkeit 1. Art $\alpha = 0.05$ durchgeführt. Die unabhängige Variable war in der vorliegenden Studie die Diagnosegruppe (Kontrollen ($n=10$), schizophrene Patienten ($n=10$)). Die abhängigen Variablen waren jeweils für die OLIG1- und OLIG2-Färbung ausgewerteten Volumina und die Zelldichten in CA1, CA 2/3, CA4 und im Subikulum (links und rechts). Alter, PMI und Geschlecht stellten die intervenierenden Variablen dar.

Mit einfaktorieller Varianzanalyse (ANOVA) wurden die Mittelwerte für Alter und PMI zwischen den Diagnosegruppen schizophrene Patienten und Kontrollen verglichen. Ob zwischen den Gruppen eine signifikante Geschlechtsungleichverteilung bestand, wurde mit dem χ^2 -Test auf Unabhängigkeit überprüft. In der Gruppe der schizophrenen Patienten wurden die deskriptiven Statistiken (Mittelwert, Standardabweichung) der Krankheitsdauer berechnet.

Die Normalverteilung ist eine statistische Verteilung, die in der Natur häufig auftritt und durch den Mittelwert und die Standardabweichung eindeutig charakterisiert wird. Mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test wurde für alle abhängigen Variablen getestet, ob signifikante Abweichungen von der Normalverteilungsannahme vorlagen. Wenn das der Fall war, wurde eine logarithmische Transformation durchgeführt. Falls sich auch für die logarithmierten Variablen Abweichungen von der Normalverteilungsannahme ergaben, wurde eine weitere logarithmische Transformation angewandt.

Um zu untersuchen, ob die Ergebnisse mit den intervenierenden Variablen korrelierten, wurden bivariate Produkt-Moment-Korrelationen nach Pearson zwischen den Zelldichten sowie den ausgewerteten Volumina sowohl mit dem Alter als auch mit dem Post-mortem-Intervall für die Olig 1- und die Olig 2-Färbung in CA1, CA 2/3, CA4 und im Subikulum (links und rechts) getrennt in den Gruppen Kontrollen und schizophrene Patienten berechnet. Für die schizophrenen Patienten wurden die Pearson-Korrelationen zwischen den abhängigen Variablen und der Krankheitsdauer berechnet. Die Analyse auf Geschlechtseinflüsse wurde für die gesamte Stichprobe und für alle abhängigen Variablen mittels einfaktorieller ANOVA durchgeführt.

Als Hauptanalysen wurden für alle abhängigen Variablen Kovarianzanalysen (ANCOVA) mit den Zwischen-Subjekt-Faktoren Diagnose (Kontrollen, schizophrene Patienten) und Geschlecht (männlich, weiblich) durchgeführt. Als Kovariaten wurden dabei Alter, und Post-mortem-Intervall in die Analyse einbezogen.

4. Ergebnisse

4.1. Demographie

Es ergaben sich keine signifikanten Altersunterschiede zwischen den beiden Diagnose-Gruppen. Es zeigte sich ein Trend zu reduzierter PMI bei schizophrenen Patienten ($p=0.051$). Es ergaben sich keine signifikanten Geschlechtsverteilungsdifferenzen zwischen den Gruppen.

4.2. Normalverteilung

OLIG1-Färbung: signifikante Abweichungen von der Normalverteilungsannahme ergaben sich für CA1 (Dichte, rechts), CA2/3 (Volumen rechts), CA4 (Volumen, Dichte rechts). Nach logarithmischer Transformation ergaben sich nur noch für das Volumen von CA4, rechts signifikante Abweichungen von der Normalverteilungsannahme. Nach nochmaliger logarithmischer Transformation ergab sich auch hier keine signifikante Abweichung von der Normalverteilungsannahme mehr. Für die weiteren Auswertungen wurden die transformierten Variablen verwendet.

OLIG2-Färbung: signifikante Abweichungen von der Normalverteilungsannahme ergaben sich für CA1 (Volumen, rechts) und CA4 (Volumen, links). Nach logarithmischer Transformation ergaben sich keine signifikanten Abweichungen von der Normalverteilungsannahme mehr. Für die weiteren Auswertungen wurden deshalb die transformierten Variablen verwendet.

4.3. Korrelationen der Volumina der Schnitte aus der OLIG1- und OLIG2-Färbung:

Um zu überprüfen, wie die Volumina der mit Olig1 und Olig2 gemessenen Schnitte korrelieren, wurden Pearson Korrelationen zwischen diesen Messungen berechnet. Falls sich für mindestens eines der beiden beteiligten Volumina Abweichungen von der Normalverteilungsannahme ergaben (d.h. für CA1 rechts, CA2/3 rechts, CA4

links und rechts), wurden die logarithmisch transformierten Volumina verwendet, um die Korrelationen zu berechnen und die Streudiagramme anzufertigen.

Hohe Korrelationen zwischen den Volumina aus Olig1 und Olig2 ergaben sich in CA4 (links: $r = 0.78$, $p < 0.0005$, rechts: $r = 0.81$, $p < 0.0005$) und mit Abstrichen in CA1 rechts ($r = 0.57$, $p = 0.013$), CA2/3 rechts ($r = 0.58$, $p = 0.010$) und im Subikulum links ($r = 0.68$, $p = 0.002$), während sich in CA1 links ($r = 0.18$, $p = 0.47$), CA2/3 links ($r = 0.39$, $p = 0.13$) und im Subikulum rechts ($r = 0.43$, $p = 0.076$) nur relativ kleine Korrelationen ergaben. (Abbildung 5)

4 Ergebnisse

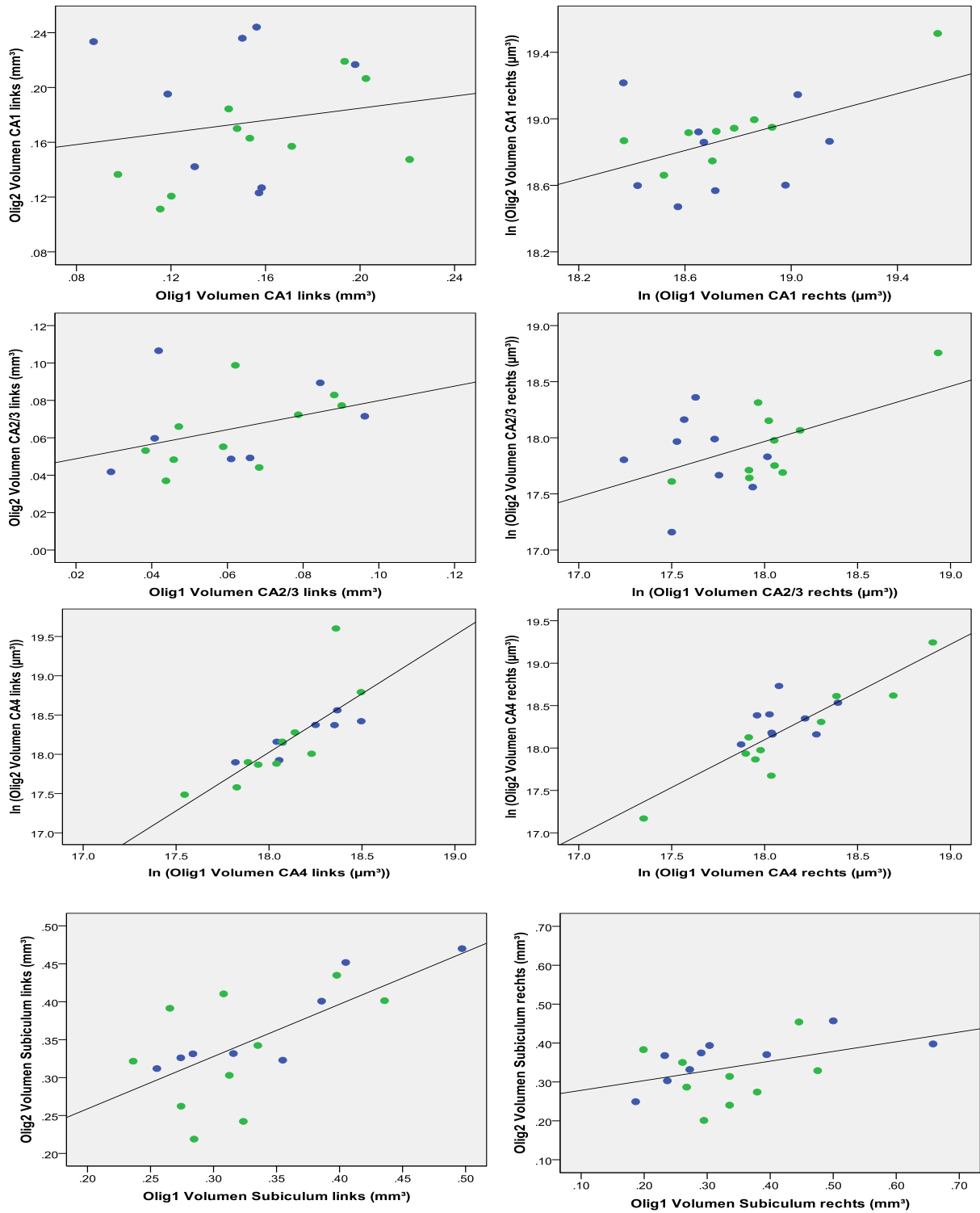


Abbildung 5: Korrelationen der Volumina OLIG1- und OLIG2-Färbung

● Kontrollen ● schizophrene Patienten

4.4. Korrelationen der Zelldichten aus der Olig1- und Olig2-Färbung

Außerdem wurden die sich aus den Olig1- und Olig2-Färbungen ergebenden Zelldichten korreliert. Falls sich für eine der beiden beteiligten Dichten Abweichungen von der Normalverteilungsannahme ergaben (d.h. für CA1 rechts, und CA4 rechts), wurden die Korrelationen zwischen den logarithmisch transformierten Dichten berechnet.

Signifikante Korrelationen zwischen den Zelldichten aus Olig1 und Olig2 ergaben sich in CA1 (links: $r = 0.66$, $p = 0.003$, rechts: $r = 0.53$, $p = 0.023$), in CA4 rechts ($r = 0.57$, $p = 0.010$) und im Subikulum links ($r = 0.48$, $p = 0.044$), während sich in CA2/3 (links: $r = 0.33$, $p = 0.19$, rechts: $r = 0.41$, $p = 0.083$), CA4 links ($r = 0.19$, $p = 0.44$) und im Subikulum rechts ($r = 0.30$, $p = 0.23$) keine signifikanten Korrelationen ergaben. (Abbildung 6)

4 Ergebnisse

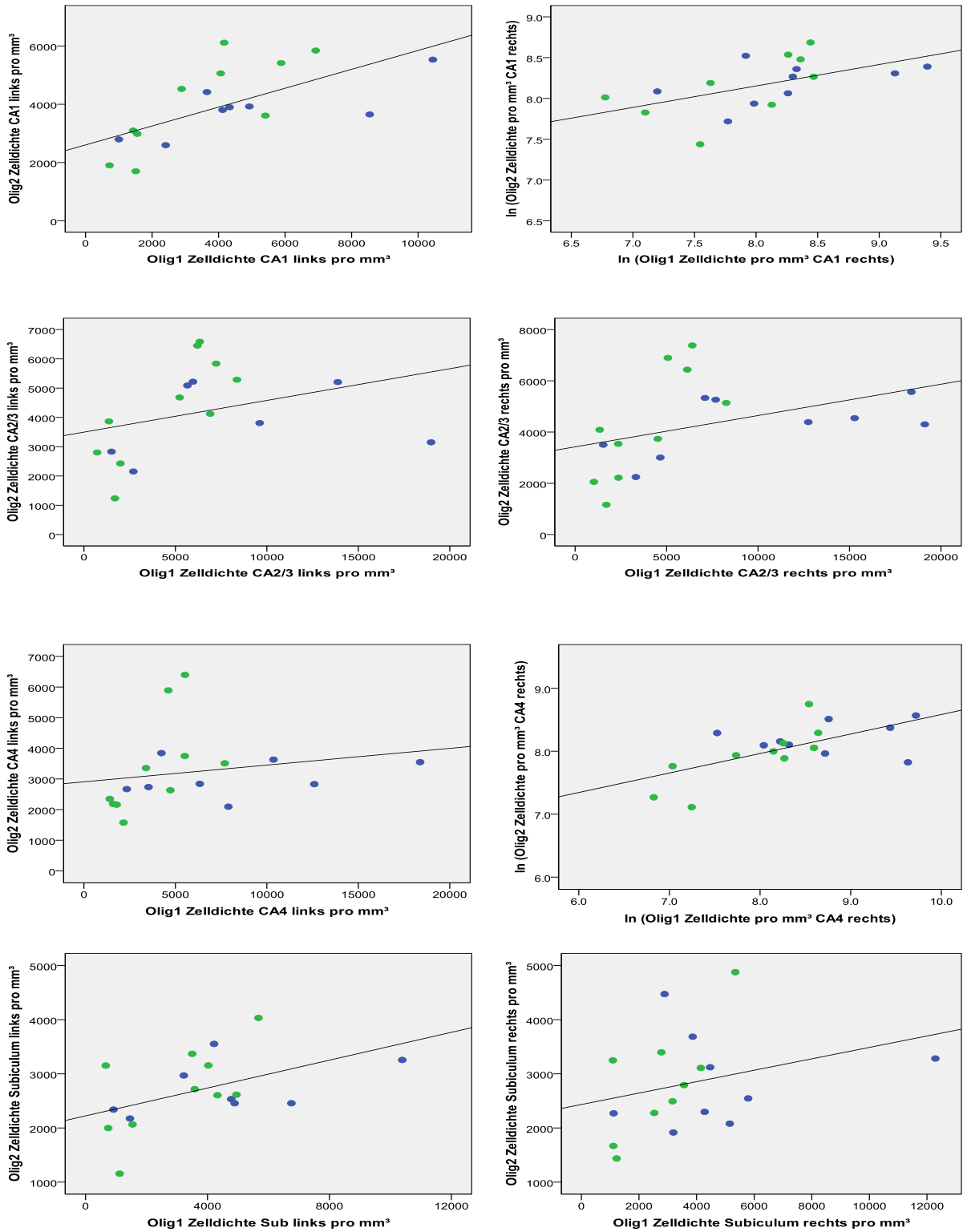


Abbildung 6: Korrelationen der Dichten aus OLIG1- und OLIG2-Färbung

● Kontrollen ● schizophrene Patienten

4.5. Geschlechtseinflüsse

OLIG1-Färbung: Bei den Volumina ergaben sich signifikante Reduktionen im Vergleich weiblich vs. männlich in CA1, links (-20%, $F(1, 17) = 5.0$, $p=0.038$) und in CA4, links (-21%, $F(1, 17) = 5.8$, $p=0.028$). Bei den Zelldichten ergaben sich signifikant erhöhte Werte im Vergleich weiblich vs. männlich in CA1, links (+138%, $F(1, 17) = 9.9$, $p=0.006$), in CA1 rechts (CA1 re:+126%, $F(1, 18) = 9.5$, $p=0.007$), in CA2/3 links (+201%, $F(1, 16) = 8.7$, $p=0.010$) und im Subikulum links (+101%, $F(1, 17) = 5.5$, $p=0.032$).

OLIG2-Färbung: Bei den Zelldichten ergaben sich signifikant erhöhte Werte im Vergleich weiblich vs. männlich in CA1, links (+54%, $F(1, 17) = 11.7$, $p=0.003$), in CA1 rechts (+51%, $F(1, 16) = 13.7$, $p=0.002$), in CA2/3 links (+61%, $F(1, 17) = 10.3$, $p=0.005$), in CA2/3 rechts (+69%, $F(1, 17) = 12.5$, $p=0.003$) und in Sub, links (+33%, $F(1, 17) = 9.3$, $p=0.007$).

4.6. Korrelation mit dem Alter

Die untersuchten Merkmale der Oligodendrozyten (Volumen und Dichte) zeigten in der vorliegenden Studie folgende Korrelation mit dem Alter:

OLIG1-Färbung: Für das Gesamtsample ergab sich eine signifikant negative Korrelation mit dem Alter für die Dichte in CA2/3 links ($r=-0.51$, $p=0.029$). In der Kontrollgruppe zeigten sich ebenfalls signifikant negative Korrelationen in CA2/3 links (Zellzahl: $r=-0.84$, $p=0.008$, Dichte: $r=-0.82$, $p=0.012$) und in CA4 rechts (Dichte: $r=-0.65$, $p=0.041$) sowie eine signifikant positive Korrelation für CA1, rechts, Volumen ($r=0.73$, $p=0.015$).

OLIG2-Färbung: Nur bei den schizophrenen Patienten ergaben sich signifikant negative Korrelationen mit dem Alter für das Volumen in CA1 links ($r=-0.6$, $p=0.046$) und im Subikulum rechts ($r=-0.70$, $p=0.036$).

4.7. Korrelation mit der Krankheitsdauer:

OLIG1-Färbung: Es zeigte sich eine signifikant negative Korrelation der Krankheitsdauer mit dem Olig1-Volumen CA2/3 rechts: $r=-0.70$, $p=0.024$.

OLIG2-Färbung: Es ergab sich eine signifikant negative Korrelation der Krankheitsdauer mit dem Olig 2 -Volumen CA1 links: $r=-0.66$, $p=0.039$.

4.8. Korrelation mit dem Post-mortem-Interval (PMI)

OLIG1-Färbung: In der Kontrollgruppe zeigte sich eine signifikant positive Korrelation und im Subikulum rechts (Zellzahl: $r=0.64$, $p=0.045$), bei den Zelldichten in CA1 rechts ($r=0.65$, $p=0.041$). Bei den schizophrenen Patienten ergaben sich keine signifikanten Korrelationen mit dem PMI.

OLIG2-Färbung: Für die Gesamtstichprobe ergab sich eine signifikant positive Korrelation mit dem PMI für die Zelldichte im Subikulum rechts ($r=0.65$, $p=0.041$). Bei den Kontrollen zeigte sich eine positive Korrelation mit dem PMI in CA2/3 ($r=0.69$, $p=0.039$), Volumen ($r=0.80$, $p=0.010$).

4.9. Diagnosegruppendifferenzen, Ergebnisse der ANCOVA

OLIG1-Färbung: Es ergab sich ein signifikant erhöhtes Volumen der Substruktur CA2/3 rechtsseitig bei schizophrenen Patienten verglichen mit gesunden Kontrollprobanden (CA2/3 re: +49%, $F=(1, 4)$, $p=0.030$). In allen anderen Regionen ergaben sich keine Unterschiede.

Es ergaben sich bei schizophrenen Patienten verglichen mit gesunden Kontrollen Trends zu reduzierter Oligodendrozytendichte und in CA4 rechtshemisphärisch (54%, $F(1, 14)=3.7$ $p=0.074$) sowie zu reduzierter Zelldichte in CA2/3

rechtshemisphärisch (-57%, $F(1, 14), =4.0, p=0.066$) (Abbildung 7 und 8). In den anderen Subregionen fanden sich keine Unterschiede.

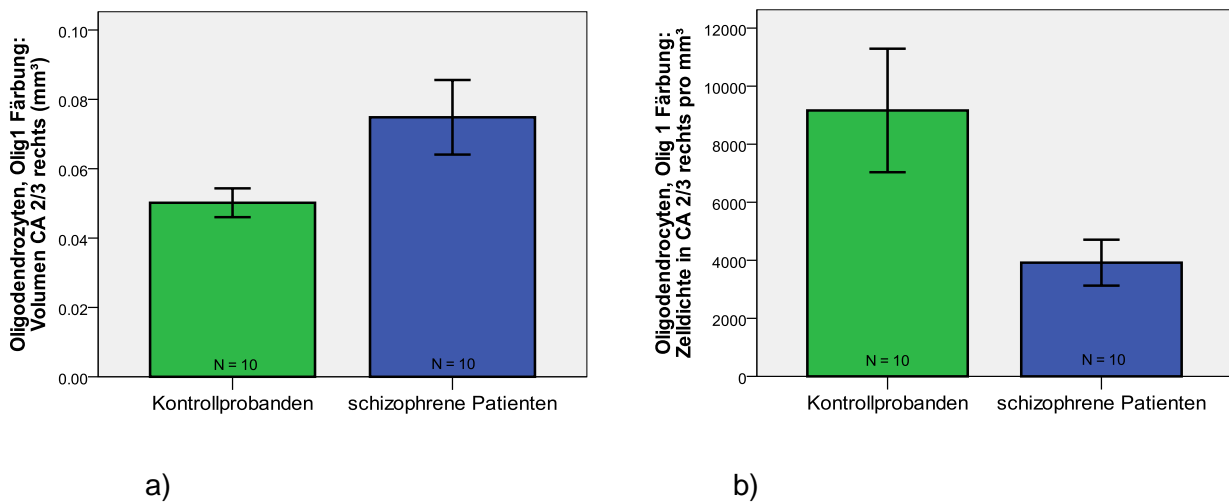


Abbildung 7: *signifikante Volumenzunahme (a) und Trend zu reduzierter Zelldichte in CA2/3 rechts (b) bei Schizophrenie*

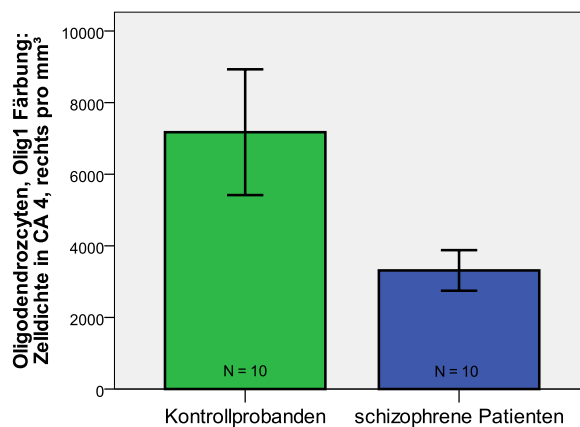


Abbildung 8: *Trend zu reduzierter Zelldichte in der OLIG1-Färbung in CA4 rechts bei Schizophrenie*

OLIG2-Färbung: Es ergaben sich keine signifikanten Effekte oder Trends für den Faktor Diagnose.

5. Diskussion

5.1. Zelldichte der immunhistochemisch gefärbten Oligodendrozyten

In der vorliegenden Studie fanden wir in der linken CA4 Subregion einen Trend zu einer reduzierten Oligodendrozytendichte von OLIG1 immunpositiven Zellen bei schizophrenen Patienten verglichen mit gesunden Kontrollen, jedoch war dieser Unterschied nicht signifikant. Das Ergebnis zeigt zwar keinen Gruppenunterschied, geht jedoch in dieselbe Richtung wie die Resultate einer stereologisch ermittelten reduzierten Oligodendrozytenzahl in der CA4-Region des posterioren Hippokampus bei teilweise demselben Patientenkollektiv (Schmitt 2009). Diese Untersuchungen waren jedoch an histologisch gefärbten Gehirnschnitten ermittelt worden, und unsere an immunhistochemisch gefärbten Gehirnschnitten erhobenen Ergebnisse sind möglicherweise mit weniger Zählfehlern aufgrund Unsicherheiten bei der morphologischen Analyse dieser Zellpopulation behaftet. Mit der in dieser Studie verwendeten immunhistochemischen Methode zur Färbung und Markierung der beiden spezifisch in den Oligodendrozyten vorkommenden OLIG1- und OLIG2-Proteinen konnten wir eine bessere Differenzierung zwischen Oligodendrozyten und Astrozyten sowie alle anderen vorhandenen Zellen im Hippokampus darstellen und somit die Ergebnisse der vorherigen stereologischen Studien (Schmitt et al. 2009) ergänzen. Andererseits haben wir nur eine Dichtemessung an 4 zufällig ausgewählten Gehirnschnitten durchgeführt, die eine Schrumpfung des Gewebes durch Formalinfixierung sowie immunhistochemische Färbungen nur unzureichend berücksichtigt (Williams und Rakic 1988). Der Grund für Diskrepanz zwischen den Ergebnissen der genannten Studien und unseren Ergebnissen kann auch aus der Verwendung unterschiedlicher Färbemethoden stammen. Zudem wurden in der vorliegenden Arbeit nur Subregionen des posterioren Anteils des Hippokampus bei einer relativ kleinen Fallgruppe (10 Patienten und 10 Kontrollen) untersucht und Untersuchungen in größeren Stichproben und im anterioren Hippokampus sollten zusätzlich erfolgen, um unsere Ergebnisse zu verifizieren.

Unsere Ergebnisse weisen darauf hin, dass eine Verminderung der immunhistochemisch gemessenen Oligodendrozytenzahl bei der Schizophrenie nicht

im posterioren Hippokampus und damit nicht in allen bislang untersuchten Gehirnregionen vorkommt. So wurde bei schizophrenen Patienten eine Reduktion der mit CNPase immunhistochemisch gefärbten Oligodendrozytendichte sowie der stereologisch ermittelten Oligodendrozytenzahl im präfrontalen Kortex berichtet (Byne et al. 2006, Hof et al., 2002, Hof et al. 2003, Stark et al. 2004, Tkachev et al. 2003, Uranova et al. 2004, Vostrikov et al. 2008).

Die CA4-Region, in der wir einen Trend zur Reduktion von OLIG-1 positiven Oligodendrozyten fanden, ist die tiefe polymorphe Schicht des Gyrus dentatus (Lavanex 2012). Defizite der Oligodendrozyten-basierenden Myelinisierung könnten hier zu Störungen der Konnektivität im Hippokampus selbst führen.

Unsere Ergebnisse bestätigen nicht die Befunde mehrerer Diffusions-Tensor-Bildgebungs-Studien (DTI) der weißen Substanz des Fornix-Körpers und des posterioren Anteils des Hippokampus bei ersterkrankten und chronischen schizophrenen Patienten. Diese Studien zeigten eine Verminderung der fraktionellen Anisotropie (FA), also der Integrität der weißen Substanz und somit Myelinisierung in diesen Hippokampusregionen, und unterstützten somit die funktionale und strukturelle Dyskonnektivitätshypothese (Kalus et al. 2004, Kuroki et al., 2006, White et al. 2007, Zhou et al., 2008, Fitzsimmons et al., 2009, 2014). Dabei korrelierte die Abnahme der FA im linken Fornix mit dem Ausmaß der Positivsymptomatik (Abdul-Rahman et al. 2011), während eine neuere Studie keine Korrelationen fand (Goghari et al. 2014). Allerdings ist zu bedenken, dass in-vivo DTI-Studien auf Magnetresonanztomographie (MRT) Basis so kleine Strukturen wie CA4 nicht detektieren können und somit bislang keine Alternativen zu histologischen oder immunhistochemischen Untersuchungen am post-mortem Gewebe bestehen.

5.2. OLIG1- und OLIG2- Färbung

OLIG1 und OLIG2 sind sogenannte basic helix-loop-helix Transkriptionsfaktoren im Zentralnervensystem (ZNS), die sequentiell in Motorneuronen und Oligodendrozyten generiert werden, und deren biologische Funktionen in der Entwicklung des ZNS im größten Teil unabhängig voneinander eine Rolle spielt (Meijer et al. 2012). Diese evolutionär gut konservierten Gene sind lokalisiert auf Chromosom 21 und sind

regulatorische Faktoren der Oligodendrozyten. Dabei werden sie als wichtiges Element für die Entwicklung sowie Differenzierung der Oligodendrozyten angesehen werden (Takebayashi et al. 2000, Lu et al. 2000, Fu et al. 2002). Genexpressionsstudien konnten mit einem mRNA-Mikroarray-Ansatz sowie quantitativer Real-Time Polymerase-Kettenreaktion (qPCR) in unterschiedlichen kortikalen Regionen einschließlich dem Brodmann-Areal 32/34 (anteriorer cingulärer Kortex) zeigen, dass neben multiplen Genen auch die Expression von OLIG2 bei schizophrenen Patienten herab reguliert ist (Katsel et al. 2005). Im Hinblick auf die Ursprung der Oligodendrozyten und ihrer Vorläuferzellen sowie ihrer Ähnlichkeiten zu den anderen Zellpopulationen konnte durch Erfassen der OLIG1 und OLIG2 Transkriptionsfaktoren neue anatomische und pathophysiologische Erkenntnisse gewonnen werden (Zhou et al. 2000, Takebayashi et al. 2000, Lu et al. 2000, Lu et al. 2002). Es wird vermutet, dass die veränderte Expression dieser Faktoren mit deutlichen Funktionsveränderungen der Oligodendrozyten verbunden ist. Multiple Sklerose und Gliome sind die ersten Krankheitsbilder, bei denen man die OLIG1 und OLIG2 Expression im menschlichen adulten Hirngewebe untersuchte (Lu et al. 2001, Ligon et al. 2004, Arnett et al. 2004). Tierexperimentelle in vitro-Studien zeigten, dass eine ektope OLIG1 Expression in kortikalen Stammzellen der Ratten zur Induktion von Oligodendrozytenvorläuferzellen führt (Lu et al. 2000). Diese Studien führten dazu, dass die Bedeutung von OLIG1 beim Myelinisierungsprozess in den letzten Jahren diskutiert wurde (Xin et al. 2005). Die Oligodendrozytentranskriptionsfaktoren kommen sowohl in den reiferen Zelltypen als auch in den Oligodendrozyten-Vorläuferzellen des erwachsenen Hirns vor, sodass man sie als zuverlässiger Marker für die Entwicklung der Oligodendrozyten im adulten Hirngewebe betrachten kann (Lu et al. 2000, Ligon et al. 2006). Zur exakten Markierung der beiden spezifischen OLIG1 und OLIG2 Proteine, verwendeten wir die immunhistochemische Methode. In unserer Arbeit fanden wir für OLIG1-positiven Oligodendrozyten ein Trend zu reduzierter Zelldichte in CA2/3 rechts sowie in CA4 beidseits. Für die OLIG2-immunpositiven Zellen ergab sich jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen Patienten- und Kontrollgruppen. Dies spricht dafür, dass möglicherweise nur eine Subpopulation der Oligodendrozyten bei der Schizophrenie mit einem geringeren Reifegrad betroffen ist. Dies wird bestätigt durch den im adulten Gehirn vorliegenden geringeren Reifegrad der OLIG-1 positiven

Oligodendrozyten gegenüber den OLIG-2 positiven Zellen (Arnett et al. 2004, Kuhlmann et al. 2008, Barley et al. 2009, Mosebach et al. 2013). Passend zu dieser Annahme wurde die Hypothese einer Assoziation zwischen einer reduzierten Oligodendrozytenzahl aufgrund eines Proliferationsdefektes mit gestörter Reifung der Oligodendrozyten und einem Mangel an normaler Myelinisierung bei der Schizophrenie aufgestellt (Bartzokis et al. 2003). Übereinstimmend damit fanden Uranova et al. (2007) in Ihrer elektronenmikroskopischen Studie an post-mortem Gewebe aus dem präfrontalen Kortex schizophrener Patienten eine Atrophie der myelinisierten Axone und eine Schwellung in periaxonalen Oligodendrozyten. Derartige mikrostrukturelle Veränderungen sind also auch im Hippokampus nicht auszuschließen, können aber nur an Gehirngewebe mit äußerst kurzen post-mortem Intervallen durchgeführt werden und diese Veränderungen können lichtmikroskopisch nicht detektiert werden.

Die Abweichungen zwischen den Ergebnissen der OLIG1- und OLIG2-Färbung sind auch auf die zeitlichen, strukturellen und funktionellen Unterschiede bei der Expression der beiden Transkriptionsfaktoren zurückzuführen. Es wurde gezeigt, dass OLIG1 und OLIG2 weitgehend überschneidungsfreie Rollen in der Reparatur sowie in der Entwicklung von Geweben und Krankheiten des Nervensystems haben (Meijer et al. 2012).

5.3. Gemessene Volumina in hippokampalen Subregionen

In der vorliegenden Arbeit zeigte sich ein signifikant erhöhtes gemessenes mittleres Volumen der ausgewerteten vier Gehirnschnitte in CA2/3 rechts bei den schizophrenen Patienten. Es gibt eine große Anzahl von strukturellen Magnetresonanztomographie (MRT) -Studien, die ein vermindertes Volumen im posterioren Anteil des Hippocampus oder des gesamten Hippocampus zeigten (Adriano et al. 2012, Becker et al. 1996, Bogerts et al. 1993, Hirayasu et al. 1998, Narr et al. 2001, Rametti et al. 2007, Shepherd et al. 2012, Stein et al. 2012, Velakoulis et al. 2001, Yamasue et al. 2004). Korrespondierend zeigten Bogerts et al. (1990) in einer größeren Stichprobe in post-mortem Gehirnschnitten des Hippokampus eine Volumenreduktion des gesamten Hippokampus bei

Schizophrenie. Eine neue, hochauflösende MRT-Studie hippocampaler Subregionen zeigte, dass die Volumenreduktion des Hippokampus bei schizophrenen Patienten und Patienten mit bipolaren Störungen einem bestimmten Muster folgt, nämlich einer beidseitigen Volumenminderung in CA2/3, CA4/Gyrus Dentatus und Subikulum (Haukvik et al. 2014). Dieses Ergebnis können wir in unserer Untersuchung nicht replizieren, allerdings berechneten wir das Volumen nur anhand von 4 Gewebeschnitten und nicht anhand der gesamten Struktur der posterioren Hippokampus. Zusätzlich ist jedoch zu beachten, dass eine stereologische post-mortem Studie am posterioren Hippokampus, die die gesamte Struktur untersuchte, keinerlei Unterschiede im Volumen der Substrukturen berichtete. Dies ist möglicherweise, genau wie in unserer Studie, ein Effekt der kleinen Gruppengröße, im Gegensatz zur oben genannten MRT-Studie, die über 200 Patienten mit Schizophrenie und 300 gesunde Kontrollprobanden erfasste (Haukvik et al. 2014). Einschränkend lässt sich weiter diskutieren, dass wir die CA2/3 Region als eine Einheit, die aus CA2 und CA3 zusammengesetzt ist betrachten. Diese Abgrenzung bereitet aufgrund ihrer anatomischen Ungenauigkeit in lichtmikroskopischen Untersuchungen Schwierigkeiten und kann somit zu einer mehr oder weniger signifikanten Verschiebung der Grenzlinien bei der Analyse dieser Regionen führen. Auch ist bei unserer Untersuchung zu beachten, dass die Veränderungen wie Schrumpfungprozesse durch Fixierung und Färbung, die die einzelnen Regionen auf jedem Schnitt während des Gewebeaufarbeitungsprozesses erfahren, durchaus zu Volumenabweichungen in den verschiedenen Regionen führen können.

5.4 Konfundierende Variablen

Die vorliegende Arbeit weist einen signifikanten Einfluss des Geschlechts auf die Dichte der Oligodendrozyten und das gemessene Volumen in mehreren Subregionen in beiden Versuchsgruppen auf. Somit zeigten sich bei der Zelldichte eine signifikante Erhöhung bei Frauen verglichen mit Männern sowie eine signifikante Volumenreduktion im Vergleich weiblich vs. männlich. Übereinstimmend mit diesem statistischen Einfluss zeigten tierexperimentelle Studien eine unterschiedliche Regulation von Proliferation und Tod der Oligodendrozyten sowie Myelinproteinen mit erhöhtem Umsatz bei weiblichen verglichen mit männlichen

Ratten (Cerghet et al. 2006). Nicht nur für Oligodendrozyten, sondern auch für Neurone wurde ein Geschlechtsunterschied in tierexperimentellen Studien berichtet (Andrade et al. 2000). Um solche Geschlechtsunterschiede auszuschließen, haben wir in unserer Studie eine gleiche Verteilung männlicher und weiblicher Probanden in beiden Versuchsgruppen angestrebt. Dennoch kann im humanen Gehirn-Gewebe die Geschlechtsunterschiede bezüglich der Oligodendrozytenfunktionen, einschließlich der Myelinisierung nicht ausgeschlossen werden. Zudem gibt es bei schizophrenen Patienten gut dokumentierte Unterschiede zwischen den Geschlechtern wie zum Beispiel das Alter beim Beginn der Erkrankung und der unterschiedliche Verlauf der Erkrankung (Seeman 2000, Häfner et al. 2013).

In der OLIG1-Färbung wurde für die Gesamtstichprobe ein signifikanter Einfluss (negative Korrelation) des Alters mit der Dichte der immunpositiven Oligodendrozyten in unterschiedlichen Regionen in beiden Gruppen nachgewiesen. In der OLIG2-Färbung aber zeigte sich nur bei schizophrenen Patienten ein signifikanter Einfluss des Alters (negative Korrelation) in CA1 linkshemisphärisch und dem Subikulum rechtshemisphärisch. Mehrere post-mortem Studien zeigten, dass eine altersbedingte Zunahme der Oligodendrozytenzahl und progressive Myelinisierung, die bei psychiatrisch gesunden Kontrollprobanden belegt sind bei schizophrenen Patienten unterbrochen werden können (Bartzokis et al. 2003, van Haren et al. 2008, (Vostrikov und Uranova 2011). Zudem wurden bei Patienten mit Schizophrenie im Gegensatz zu Kontrollprobanden eine signifikante altersassoziierte Reduktion der fraktionellen Anisotropie, eine progressive Verringerung der weißen Substanz im Frontallappen, gefunden (Ho et al. 2003, Skelly et al. 2008, Hazlett et al. 2008).

Die Behandlung der Patienten mit typischen Neuroleptika stellt in unserer Arbeit eine Einschränkung dar, da es hierdurch zu Veränderungen in unterschiedlichen Subregionen des Hippokampus bezüglich der Dichte der Oligodendrozyten und dem gemessenen Volumen kommen könnte. Wie es schon unter Zelldichte diskutiert wurde, fanden wir in der vorliegenden Arbeit jedoch keine Korrelation zwischen Erkrankungsdauer, die eng mit der Dauer der Medikation verknüpft ist sowie der Zelldichte. Demzufolge ist der Trend zu reduzierter Oligodendrozyten-Dichte aufgrund der von uns berechneten Korrelationen nicht mit dem Einfluss der

Medikation in Zusammenhang zu bringen, kann jedoch nicht gänzlich ausgeschlossen werden. So scheint die weitere Durchführung von tierexperimentellen Studien zu Klärung dieser Frage sinnvoll zu sein. Eine stereologische tierexperimentelle Studie der grauen Substanz zeigte eine signifikante Reduktion der Anzahl der Astrozyten und eine nichtsignifikante Reduktion der Anzahl der Oligodendrozyten nach Behandlung mit Antipsychotika wie Haloperidol und Olanzapin, während sich die neuronale Dichte als erhöht zeigte (Konopaske et al. 2007, Konopaske et al. 2008). Während im Hippokampus von einer erhöhten Stammzellproliferation unter Behandlung mit atypischen Antipsychotika berichtet wurde, ergaben sich bei der Behandlung mit typischen Neuroleptika keine Unterschiede (Halim et al. 2004, Kodama et al. 2004, Newton und Duman 2007). In einer Studie bei Mäusen, welche drei bis sechs Monate mit Haloperidol behandelt wurden, konnte zwar eine erhöhte Expression von OLIG2 beobachtet werden, jedoch zeigte sich keine Veränderung der Oligodendrozytenzahl (Wang et al. 2010). So ist bislang unklar, ob sich die proliferierenden Stammzellen tatsächlich auch zu Oligodendrozyten ausdifferenzieren. Obwohl eine durch Antipsychotika möglicherweise angeregte Stammzellproliferation zu einer erhöhten Oligodendrozyten-Dichte führen könnte, fanden wir in unserer Arbeit einen Trend zur reduzierten Dichte der OLIG1- immunpositiven Oligodendrozyten, was auf einen eher krankheitsspezifischen Effekt hinweist. Bezüglich der OLIG2 Expression wurde ja auf die Erhöhung nach Haloperidol hingewiesen (Wang et al. 2010), so dass krankheitsbedingte Effekte hier durch Antipsychotikatherapie maskiert werden könnten.

Das post-mortem Intervall (PMI) zeigte in unserer Studie einen signifikanten Einfluss auf die Zellzahl, Zelldichte und Volumen in unterschiedlichen Regionen sowohl hinsichtlich OLIG1-immunopositiver als auch OLIG2-immunopositiver Zellen. Aufgrund neuer Forschungstechniken sind für Gen-und Proteinexpressionsstudien schockgefrorenes Gewebe erforderlich. Die Verwendung von gefrorenem Gewebe besitzt jedoch einige Einschränkungen in der Immunhistochemie, bei der gefrorenes, unfixiertes Gewebe nicht geeignet erscheint. Für immunhistochemische Färbung und histologische Methoden sowie für die stereologische Zellzählung und Dichtebestimmungen sollten das Gewebe in Formalin sowie in Paraffin eingebettet und fixiert werden. In diesem Fall kann das Post-mortem- Intervall länger als 48

Stunden sein. Zu beachten ist, je länger die Zeit zwischen dem Tod der Patienten und dem Fixieren oder Einfrieren des Gewebes ist, desto mehr degradieren die mRNA und Proteine. Zudem können verschiedene Fixierungsmittel auch die Qualität von immunhistochemischen Färbungen beeinflussen. Der pH-Wert des Gewebes als Marker für die Gewebequalität wird durch den agonalen Zustand mit Hypoxie, die Dauer des Todeseintritts sowie die post-mortem Verzögerung bis zur Gewebeasservierung beeinflusst (Buesa et al. 2004). Die suboptimale Kühlung der Leichen oder auch krankheitsbedingte Gehirnschädigung beim Versterben können ebenfalls den pH-Wert des Gewebes beeinflussen. In unserer Studie war der pH-Wert des Gewebes nicht bekannt, aber es erfolgte eine rasche Formalinfixierung und Paraplast-Einbettung um die Strukturen so gut wie möglich zu erhalten. Die OLIG1- und OLIG2-Antikörper markierten immunhistochemisch zwei Subpopulationen der Oligodendrozyten mit zwar überlappendem aber etwas unterschiedlichem Reifegrad. OLIG1 fungierten in dieser Studie als Entwicklungs-Marker zu Detektierung weitgehend unreifer Oligodendrozyten (Lu et al. 2000, Arnett et al. 2004, Ligon et al. 2006), deren Anzahl laut unserer Ergebnisse Veränderungen aufwies. OLIG2 wurden zur Markierung der reiferen Oligodendrozyten verwendet, die in vorliegender Arbeit keine Veränderung zeigten. Dementsprechend liegen Korrelationen zwischen beiden Zellpopulationen nicht in allen Regionen vor.

5.5. Bedeutung für die Schizophrenie

Unsere Ergebnisse konnten das Vorliegen einer Störung der Myelinisierung im posterioren Hippocampus bei der Schizophrenie nicht bestätigen, da wir im Gegensatz zu stereologischen Studien an histologisch gefärbten Gehirnschnitten keinen signifikanten Unterschied der Oligodendrozytendichte zwischen den Patienten und Kontrollen fanden. Demzufolge scheint das Resultat unserer Arbeit mit der Idee, dass die Pathologie der Oligodendrozyten eine wichtige Rolle in der Schizophrenie spielt weniger vereinbar zu sein. Obwohl DTI- und MIT-Studien eine erhöhte fraktionelle Anisotropie berichteten, sind ihre Ergebnisse aufgrund kleiner Patientenkollektive und Auswahl unterschiedlicher Methoden inhomogen (Höistad et al. 2009) und eine andere Studien die Ganz-Trakts-Messungen und Messungen

entlang einzelner Trakte des Fornix durchführte zeigte keine Unterschiede zwischen schizophrenen Patienten und Kontrollen (Goghari 2014).

Der Grund, dass sich die Abnahme der OLIG1 immunpositiven Zellen nur als Trend darstellt könnte daran liegen, dass wir hier eine relativ kleine Patienten- und Kontrollgruppe untersuchten. Hier lagen pro Patient/Kontrolle nur zwei zufällig ausgesuchte Schnitte vor und die Studie wurde anhand der Dichtebestimmung von Oligodendrozyten mit einem spezifischen Marker nur im hinteren Anteil des Hippokampus durchgeführt. Die Immunhistochemische Methode birgt diesen Nachteil in sich, dass die Färbung aus Kostengründen bei den vorliegenden postkartengroßen Ganzhirnschnitten nicht seriell sondern in nur einzelnen Schnitten erfolgt und somit eine stereologische Auswertung nicht möglich ist. Es sind noch weitere Studien mit größerer Patientenkollektiv und Anwendung anderer Marker notwendig um die Befunde der vorliegenden Arbeit zu verifizieren.

Oligodendrozyten sind besonders gegenüber Störfaktoren und Erkrankungen im Laufe der Entwicklung sowie degenerativen Einflüssen während des Lebens sensibel (Bartzokis 2004, Bartzokis 2011, Vostrikov et al. 2007, Marnier et al. 2003, Stark et al. 2004). Eine bedeutende Rolle in der Ätiologie der Schizophrenie können die Umweltfaktoren wie z.B. Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen spielen. Das Auftreten von häufigeren Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen und deren Folgen wie z.B. Verringerung des Hippokampusvolumens (Van Erp et al. 2002) und das nichtproportionale Verhältnis zwischen Körperlänge und Körpergewicht wurde bei schizophrenen Patienten belegt. (Hultman et al. 1997). Die an Schizophrenie erkrankten Personen weisen eine siebenfach höhere Häufigkeit von perinatalen Hirnschädigungen auf (Jones et al. 1998). Man vermutet, dass die Hypoxie-vermittelte vorzeitige Reifung der Oligodendrozyten während der Gehirnentwicklung zu einer Verringerung in dem lebenslangen Pool von proliferierenden Oligodendrozytenvorläuferzellen führt, was hier möglicherweise den Trend zur Verringerung von OLIG1 immunpositiven Zellen bei schizophrenen Patienten widerspiegelt. Dieses Szenario wiederum könnte eine Verringerung der Gesamtzahl von myelinisierenden Zellen im Gehirn zur Folge haben. Somit kann die abnorme Entwicklung oder gestörte Funktion der Oligodendrozyten die Myelinisierung des Gehirns beeinflussen (Kaifu et al. 2003, Akundi und Rivkees 2009). Diese

Vorläuferzellen werden bis zum fünften Lebensjahrzent zur Myelinisierung der Axone im Marklager der präfrontalen, parietalen und temporalen Hirnregionen rekrutiert (McTigue und Tripathi 2008, Butts et al. 2008). Tiermodelle zeigten, dass die Oligodendrozyten besonders hypoxiesensibel sind (Jelinski et al. 1999, Rosin et al. 2005).

In der Pathogenese der Schizophrenie wird seit längerer Zeit das Konzept der "Neuronalen Entwicklungsstörung" diskutiert (Weinberger, 1987, Weinberger und Lipska 1995). Bei der neuronalen Entwicklung handelt sich um einen Zeitraum, der den Prozess der Hirnentwicklung und Reifung beinhaltet und sich auf fast ganzes Leben von pränataler Phase bis in das 20. Lebensjahr oder sogar bis in das mittlere Lebensalter erstreckt (Wood, 1998, Bartzokis et. al 2001). Post-mortem Studien wiesen ein Defizit von perineuronalen Oligodendrozyten bei erwachsenen Patienten mit Schizophrenie auf (Vostrikov et. al 2007). Da Oligodendrozyten trophisch die eingeschlossenen Axone beeinflussen, kann eine perinatale Hypoxie neben verschlechterter Myelinisierung zur Schwellung der Axone führen (Kaur et al. 2006). Die Degeneration der Axone in den langen Bahnen resultiert dann in gestörten Makrokonnektivität und Funktion der Hirnareale führen (Benes, 1989, (Fuster, 1999, Bartzokis 2001).

Risikogene der Schizophrenie sind eine andere mögliche Erklärung für die Volumenveränderungen des Hippokampus. Es wurde ein Zusammenhang zwischen Neuregulin-1 (NRG1) Haplotyp HAP(ICE) Trägern und einem kleineren relativen hippokampalen Volumen bei schizophrenen Patienten sowie ihren gesunden Verwandten beschrieben (Gruber et. al 2008). Dieses Gen ist an der Myelinisierung und in der Proliferation von Oligodendrozyten beteiligt (Corfas et al. 2004, Harrison und Weinberger 2005, Parlapani et al. 2010, Mei und Nave 2014). Bislang ist unklar, ob die Risikovariante eine erhöhte oder erniedrigte Expression von Neuregulin-1 verursacht, aber beide Veränderungen gehen im transgenen Tiermodell auch mit einer verminderten synaptische Plastizität einher, wobei die Überexpression auch mit Schizophrenie-ähnlichem Verhalten der Mäuse einhergeht (Agarwal et al. 2014). Ebenfalls wurde bei der Schizophrenie die abnorme Funktion des disrupted in schizophrenia 1 (DISC1) Risiko-Gens, das in der Entwicklung und in der Plastizität des Nervensystems involviert ist, identifiziert (Harrison und Weinberger 2005, Lipska

et. al 2006). Die beschriebenen Risikogene bei der Schizophrenie haben einzeln betrachtet jedoch nur einen kleinen Effekt auf die Pathogenese der Schizophrenie, da diese Erkrankung polygenetischer Natur ist (Schmitt et al. 2014). Zudem ist die regulatorische Funktion solcher Gene auf molekularer Ebene weitgehend unklar. Andere an der Myelinisierung beteiligte Gene sind zwar nicht als Risikogene der Schizophrenie identifiziert worden, können aber durch eine veränderte Expression in funktionellen Kaskaden einen Einfluss auf die Pathophysiologie der Erkrankung haben. Es wurde gezeigt, dass zum Beispiel MAG (Myelin assoziiertes Glykoprotein), QKI („Quaking homolog“), TF (Transferrin) und CNP (2',3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase) eine enge Assoziation mit Myelinisierungsprozessen und Oligodendrozyt-Neuron-Interaktion aufweisen und im post-mortem Gewebe bei Schizophrenie stark herab reguliert sind (Haroutunian und Davis 2007).

5.5.1. Limitierungen der vorliegenden Studie

Eine Limitierung der vorliegenden explorativen Studie ist, dass die Stichprobe klein war und da wir keine Bonferroni-Korrektur für multiples Testen durchgeführt haben, sollten die Ergebnisse in einer unabhängigen Stichprobe repliziert werden. Es ist deshalb nicht ausgeschlossen, dass der in unserer Studie gefundene Trend der reduzierten Zelldichte in CA4 in der Olig1 Färbung nur ein zufällig positives Ergebnis war und die Interpretation der Daten ist mit Vorsicht durchzuführen. Eine weitere Einschränkung ist die langfristige Behandlung der Patienten mit typischen Neuroleptika, die unsere Ergebnisse beeinflusst haben könnte. Somit kann die Behandlung mit Neuroleptika die Zelldichten in unserer Studie beeinflusst haben. Haloperidol verursachte im Tiermodell die verstärkte Expression von OLIG 2 im Hippokampus und Kortex, wohingegen Quetiapin und Olanzapin die Expression von sowohl OLIG1 als auch OLIG 2 erhöhten (Wang et al. 2010, Giftzahn et al. 2013). Zusätzlich wurde jedoch gezeigt, dass Haloperidol und Clozapin eine schützende Wirkung auf unreife Oligodendrozyten gegen Energie-Entzug ausüben (Steiner et al. 2011). Darüber hinaus verbessert Quetiapin nach Cuprizone-induzierter Demyelinisierung die Regeneration der Oligodendrozyten und Myelin-Reparatur (Zhang et al. 2012). Somit kann die unveränderte Dichte der OLIG 1 - und OLIG 2-positiven Zellen in den Schizophrenie-Patienten in unserer Studie die Folge der

erhöhten Expression von Oligodendrozyten aufgrund langfristiger antipsychotischen Behandlung sein.

Es muss außerdem beachtet werden, dass in dieser Studie keine Bonferroni-Korrektur für multiples Testen durchgeführt wurde. So ist die Entstehung falsch positiver Resultate, also zufälliger Ergebnisse zur Objektivierung der zu untersuchten Zellpopulation bezüglich der Dichtemessung nicht ausgeschlossen.

In der vorliegenden Studie erfolgte die Gewebeentnahme aus unterschiedlichen Ebenen des posterioren Hippokampus, sodass sich in jedem Schnitt unterschiedliche Volumina von Subregionen resultierten. In der vorliegenden Arbeit wurde lediglich jeweils das Gesamtvolumen jedes einzelnen Schnittes mittels 3- dimensionaler Volumenmessung von jeweils zwei Schnitten pro Fall gemessen. Hier wurde keine echte Volumenmessung für einzelne Regionen durchgeführt, sodass eine „interne Validierung“ nicht möglich ist.

5.5.2 Ausblick in zukünftige Forschungsfelder

Wie schon erwähnt hat die immunhistochemische Methodik mit anschließender Dichtemessung der Oligodendrozyten in nur wenigen Schnitten den Nachteil, die Gewebeschrumpfung nur unzureichend zu erfassen und daher ungenauere Ergebnisse zu liefern als die Stereologie. Von daher ist es sinnvoll zukünftig die Oligodendrozyten immunhistochemisch zu färben und sie dann stereologisch anhand seriell gefertigter Schnitte zu untersuchen, was dementsprechend kostenintensiver ist und mehr von dem nur selten erhältlichen Gehirnmateriale verbraucht. Dieser Aufwand scheint aber notwendig zu sein, um die bisherigen Ergebnisse bezüglich der zellulären Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollen zu verifizieren. Neben der OLIG1 und OLIG2 Färbung stellt das sogenannte Myelin-assoziierte Enzym 2',3'-cyclic Nucleotid 3'-phosphodiesterase (CNPase) einen anderen spezifischen Marker dar, der sich zur immunhistochemischen Färbung und stereologischen Untersuchung von Oligodendrozyten bewährte (Patrick et al. 2003).

Man sollte außerdem nicht nur den posterioren Hippokampusanteil sondern auch die anterioren hippokampalen Subregionen bei der Schizophrenie untersuchen. Es ist auch sinnvoll, dass die Oligodendrozyten in Tiermodellen für Risikogene und

Umweltfaktoren in der Ätiologie der Schizophrenie zu untersuchen, damit man mehr Kenntnisse über die Ursache der Veränderungen auf zellulärer Ebene gewinnt. Es gibt mittlerweile Tiermodelle der Schizophrenie mit veränderter Expression des Neuregulin-1 Gens (Deakin et al. 2009, Agarwal et al. 2014), die als möglicher Kandidat zur Untersuchung der Oligodendrozytenzahl dienen können.

6. Literaturverzeichnis

Abdul-Rahman, M.F., Qiu, A., and Sim, K. (2011). Regionally specific white matter disruptions of fornix and cingulum in schizophrenia. *PLoS One* 6, e18652.

Agarwal, A., Zhang, M., Trembak-Duff, I., Unterbarnscheidt, T., Radyushkin, K., Dibaj, P., Martins de Souza, D., Boretius, S., Brzozka, M.M., Steffens, H., et al. (2014). Dysregulated expression of neuregulin-1 by cortical pyramidal neurons disrupts synaptic plasticity. *Cell Rep* 8, 1130–1145.

Akundi, R.S., and Rivkees, S.A. (2009). Hypoxia alters cell cycle regulatory protein expression and induces premature maturation of oligodendrocyte precursor cells. *PLoS One* 4, e4739.

Andrade, J.P., Madeira, M.D., and Paula-Barbosa, M.M. (2000). Sexual dimorphism in the subiculum of the rat hippocampal formation. *Brain Res* 875, 125–137.

Arnett, H.A., Fancy, S.P., Alberta, J.A., Zhao, C., Plant, S.R., Kaing, S., Raine, C.S., Rowitch, D.H., Franklin, R.J., and Stiles, C.D. (2004). bHLH transcription factor Olig1 is required to repair demyelinated lesions in the CNS. *Science* 306, 2111–2115.

Arnold, S.E., Franz, B.R., Gur, R.C., Gur, R.E., Shapiro, R.M., Moberg, P.J., and Trojanowski, J.Q. (1995). Smaller neuron size in schizophrenia in hippocampal subfields that mediate cortical-hippocampal interactions. *Am J Psychiatry* 152, 738–748.

Aro, S., Aro, H., and Keskimaki, I. (1995). Socio-economic mobility among patients with schizophrenia or major affective disorder. A 17-year retrospective follow-up. *Br J Psychiatry* 166, 759–767.

Arolt, V., Reimer, C., and Dilling, H. (2007). *Basiswissen Psychiatrie und Psychotherapie* (Heidelberg: Springer Medizin Verlag).

Azorin, J.M., Kaladjian, A., Besnier, N., and Cermolacce, M. (2008). [Who is Called “Schizophrenic”?]. *Therapie* 63, 231–235.

Barbato A. (1998): *Schizophrenia and Public Health*.

Bartzokis, G. (2004). Age-related myelin breakdown: a developmental model of cognitive decline and Alzheimer’s disease. *Neurobiol Aging* 25, 5–18; author reply 49–62.

Bartzokis, G. (2011). Neuroglialpharmacology: white matter pathophysiologies and psychiatric treatments. *Front Biosci Landmark Ed* 16, 2695–2733.

Bartzokis, G., Beckson, M., Lu, P.H., Nuechterlein, K.H., Edwards, N., and Mintz, J. (2001). Age-related changes in frontal and temporal lobe volumes in men: a magnetic resonance imaging study. *Arch Gen Psychiatry* 58, 461–465.

Bartzokis, G., Nuechterlein, K.H., Lu, P.H., Gitlin, M., Rogers, S., and Mintz, J. (2003). Dysregulated brain development in adult men with schizophrenia: a magnetic resonance imaging study. *Biol Psychiatry* 53, 412–421.

Becker, T., Elmer, K., Schneider, F., Schneider, M., Grodd, W., Bartels, M., Heckers, S., and Beckmann, H. (1996). Confirmation of reduced temporal limbic structure volume on magnetic resonance imaging in male patients with schizophrenia. *Psychiatry Res* 67, 135–143.

Benes, F.M. (1989). Myelination of cortical-hippocampal relays during late adolescence. *Schizophr Bull* 15, 585–593.

Benes, F.M., Kwok, E.W., Vincent, S.L., and Todtenkopf, M.S. (1998). A reduction of nonpyramidal cells in sector CA2 of schizophrenics and manic depressives. *Biol Psychiatry* 44, 88–97.

Bennett, M.E., Bellack, A.S., and Gearon, J.S. (2006). Development of a comprehensive measure to assess clinical issues in dual diagnosis patients: The Substance Use Event Survey for Severe Mental Illness. *Addict Behav* 31, 2249–2267.

Bogerts, B. (1997). The temporolimbic system theory of positive schizophrenic symptoms. *Schizophr Bull* 23, 423–435.

Bogerts, B., Falkai, P., Hupats, M., Greve, B., Ernst, S., Tapernon-Franz, U., and Heinzmann, U. (1990). Post-mortem volume measurements of limbic system and basal ganglia structures in chronic schizophrenics. Initial results from a new brain collection. *Schizophr Res* 3, 295–301.

Bogerts, B., Lieberman, J.A., Ashtari, M., Bilder, R.M., Degreef, G., Lerner, G., Johns, C., and Masiar, S. (1993). Hippocampus-amygdala volumes and psychopathology in chronic schizophrenia. *Biol Psychiatry* 33, 236–246.

Breier, A. (1999). Cognitive deficit in schizophrenia and its neurochemical basis. *Br J Psychiatry Suppl* 16–18.

Buchanan, R.W. (1995). Clozapine: efficacy and safety. *Schizophr Bull* 21, 579–591.

Buesa, C., Maes, T., Subirada, F., Barrachina, M., and Ferrer, I. (2004). DNA chip technology in brain banks: confronting a degrading world. *J Neuropathol Exp Neurol* 63, 1003–1014.

Butts, B.D., Houde, C., and Mehmet, H. (2008). Maturation-dependent sensitivity of oligodendrocyte lineage cells to apoptosis: implications for normal development and disease. *Cell Death Differ* 15, 1178–1186.

Byne, W., Kidkardnee, S., Tatusov, A., Yiannoulos, G., Buchsbaum, M.S., and Haroutunian, V. (2006). Schizophrenia-associated reduction of neuronal and oligodendrocyte numbers in the anterior principal thalamic nucleus. *Schizophr Res* 85, 245–253.

Cannon, M., Jones, P.B., and Murray, R.M. (2002). Obstetric complications and schizophrenia: historical and meta-analytic review. *Am J Psychiatry* *159*, 1080–1092.

Cardno, A.G., and Gottesman, I. (2000). Twin studies of schizophrenia: from bow-and-arrow concordances to star wars Mx and functional genomics. *Am J Med Genet* *97*, 12–17.

Casanova, M.F., Stevens, J.R., and Kleinman, J.E. (1990). Astrocytosis in the molecular layer of the dentate gyrus: a study in Alzheimer's disease and schizophrenia. *Psychiatry Res* *35*, 149–166.

Cerghet, M., Skoff, R.P., Bessert, D., Zhang, Z., Mullins, C., and Ghandour, M.S. (2006). Proliferation and death of oligodendrocytes and myelin proteins are differentially regulated in male and female rodents. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *26*, 1439–1447.

Cirillo, M.A., and Seidman, L.J. (2003). Verbal declarative memory dysfunction in schizophrenia: from clinical assessment to genetics and brain mechanisms. *Neuropsychol Rev* *13*, 43–77.

Clark, D.A., Mancama, D., Kerwin, R.W., and Arranz, M.J. (2006). Expression of the alpha1A-adrenergic receptor in schizophrenia. *Neurosci Lett* *401*, 248–251.

Connor, J.R., and Menzies, S.L. (1996). Relationship of iron to oligodendrocytes and myelination. *Glia* *17*, 83–93.

Cooper, B. (2005). Schizophrenia, social class and immigrant status: the epidemiological evidence. *Epidemiol Psychiatr Soc* *14*, 137–144.

Corfas, G., Roy, K., and Buxbaum, J.D. (2004). Neuregulin 1-erbB signaling and the molecular/cellular basis of schizophrenia. *Nat. Neurosci.* *7*, 575–580.

Dalman, C., Allebeck, P., Cullberg, J., Grunewald, C., and Koster, M. (1999). Obstetric complications and the risk of schizophrenia: a longitudinal study of a national birth cohort. *Arch Gen Psychiatry* *56*, 234–240.

Danos, P., Baumann, B., Bernstein, H.G., Stauch, R., Krell, D., Falkai, P., and Bogerts, B. (2002). The ventral lateral posterior nucleus of the thalamus in schizophrenia: a post-mortem study. *Psychiatry Res* *114*, 1–9.

Davis, S.M., and Donnan, G.A. (2003). Ischemic penumbra: MRI or PET. *Stroke* *34*, 2536.

Deakin, I.H., Law, A.J., Oliver, P.L., Schwab, M.H., Nave, K.A., Harrison, P.J., and Bannerman, D.M. (2009). Behavioural characterization of neuregulin 1 type I overexpressing transgenic mice. *Neuroreport* *20*, 1523–1528.

Descamps, L., Coisne, C., Dehouck, B., Cecchelli, R., and Torpier, G. (2003). Protective effect of glial cells against lipopolysaccharide-mediated blood-brain barrier injury. *Glia* *42*, 46–58.

Devinsky, O., Honigfeld, G., and Patin, J. (1991). Clozapine-related seizures. *Neurology* 41, 369–371.

Dilling H, M.W., Schmidt MH (Hrsg.) (2011). Internationale Klassifikation psychischer Störungen. ICD-10 Kapitel V (F). Klinisch-diagnostische Leitlinie (Bern: Huber).

Dwork, A.J. (1997). Postmortem studies of the hippocampal formation in schizophrenia. *Schizophr Bull* 23, 385–402.

Ellman, L.M., Yolken, R.H., Buka, S.L., Torrey, E.F., and Cannon, T.D. (2009). Cognitive functioning prior to the onset of psychosis: the role of fetal exposure to serologically determined influenza infection. *Biol Psychiatry* 65, 1040–1047.

Falkai, P., and Bogerts, B. (1986). Cell loss in the hippocampus of schizophrenics. *Eur Arch Psychiatry Neurol Sci* 236, 154–161.

Falkai, P., Bogerts, B., and Rozumek, M. (1988). Limbic pathology in schizophrenia: the entorhinal region--a morphometric study. *Biol Psychiatry* 24, 515–521.

Fawcett, J. (1994). Astrocytes and axon regeneration in the central nervous system. *J Neurol* 242, S25–S28.

Feighner, J.P., Robins, E., Guze, S.B., Woodruff, R.A., Jr., Winokur, G., and Munoz, R. (1972). Diagnostic criteria for use in psychiatric research. *Arch Gen Psychiatry* 26, 57–63.

Fitzsimmons, J., Kubicki, M., Smith, K., Bushnell, G., Estepar, R.S., Westin, C.F., Nestor, P.G., Niznikiewicz, M.A., Kikinis, R., McCarley, R.W., et al. (2009). Diffusion tractography of the fornix in schizophrenia. *Schizophr Res* 107, 39–46.

Fitzsimmons, J., Hamoda, H.M., Swisher, T., Terry, D., Rosenberger, G., Seidman, L.J., Goldstein, J., Meshulam-Gately, R., Petryshen, T., Wojcik, J., et al. (2014). Diffusion tensor imaging study of the fornix in first episode schizophrenia and in healthy controls. *Schizophr Res* 156, 157–160.

Franzek, E., and Beckmann, H. (1996). [Genetic heterogeneity of schizophrenia. Results of a systematic twin study]. *Nervenarzt* 67, 583–594.

Fu, H., Qi, Y., Tan, M., Cai, J., Takebayashi, H., Nakafuku, M., Richardson, W., and Qiu, M. (2002). Dual origin of spinal oligodendrocyte progenitors and evidence for the cooperative role of Olig2 and Nkx2.2 in the control of oligodendrocyte differentiation. *Development* 129, 681–693.

Fuster, J.M. (1999). Synopsis of function and dysfunction of the frontal lobe. *Acta Psychiatr Scand Suppl* 395, 51–57.

Gaszner, P., Makkos, Z., and Kosza, P. (2002). Agranulocytosis during clozapine therapy. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 26, 603–607.

- Geddes, J.R., and Lawrie, S.M. (1995). Obstetric complications and schizophrenia: a meta-analysis. *Br J Psychiatry* 167, 786–793.
- Glahn, D.C., Ragland, J.D., Abramoff, A., Barrett, J., Laird, A.R., Bearden, C.E., and Velligan, D.I. (2005). Beyond hypofrontality: a quantitative meta-analysis of functional neuroimaging studies of working memory in schizophrenia. *Hum Brain Mapp* 25, 60–69.
- Goghari, V.M., Billiet, T., Sunaert, S., and Emsell, L. (2014). A diffusion tensor imaging family study of the fornix in schizophrenia. *Schizophr Res*.
- Goldman-Rakic PS, S.L. (1997). Functional and anatomical aspects of prefrontal pathology in schizophrenia. *Schizophr Bull* 23(3), 437–458.
- Goldstein, J.M., Buka, S.L., Seidman, L.J., and Tsuang, M.T. (2010). Specificity of familial transmission of schizophrenia psychosis spectrum and affective psychoses in the New England family study's high-risk design. *Arch Gen Psychiatry* 67, 458–467.
- Gruber, O., Falkai, P., Schneider-Axmann, T., Schwab, S.G., Wagner, M., and Maier, W. (2008). Neuregulin-1 haplotype HAP(ICE) is associated with lower hippocampal volumes in schizophrenic patients and in non-affected family members. *J Psychiatr Res* 43, 1–6.
- Gründer, G., Vernaleken, I., and Benkert, O. (2001). [Which properties make a neuroleptic “atypical”?]. *Nervenarzt* 72, 833–843.
- Häfner, H., Maurer, K., and an der Heiden, W. (2013). ABC Schizophrenia study: an overview of results since 1996. *Soc. Psychiatry Psychiatr. Epidemiol.* 48, 1021–1031.
- Hagberg, H., Gressens, P., and Mallard, C. (2012). Inflammation during fetal and neonatal life: implications for neurologic and neuropsychiatric disease in children and adults. *Ann Neurol* 71, 444–457.
- Halim, N.D., Weickert, C.S., McClintock, B.W., Weinberger, D.R., and Lipska, B.K. (2004). Effects of chronic haloperidol and clozapine treatment on neurogenesis in the adult rat hippocampus. *Neuropsychopharmacology* 29, 1063–1069.
- Haroutunian, V., and Davis, K.L. (2007). Introduction to the special section: Myelin and oligodendrocyte abnormalities in schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol* 10, 499–502.
- Harrison, P.J. (1999). The neuropathology of schizophrenia. A critical review of the data and their interpretation. *Brain* 122 (Pt 4), 593–624.
- Harrison, P.J. (2004). The hippocampus in schizophrenia: a review of the neuropathological evidence and its pathophysiological implications. *Psychopharmacol. Berl* 174, 151–162.
- Harrison, P.J., and Eastwood, S.L. (2001). Neuropathological studies of synaptic connectivity in the hippocampal formation in schizophrenia. *Hippocampus* 11, 508–519.

- Harrison, P.J., and Weinberger, D.R. (2005). Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Mol Psychiatry* 10, 40–68; image 5.
- Hasan, A., Falkai, P., Wobrock, T., Lieberman, J., Glenthøj, B., Gattaz, W.F., Thibaut, F., and Møller, H.J. (2012). World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP) Guidelines for Biological Treatment of Schizophrenia, part 1: update 2012 on the acute treatment of schizophrenia and the management of treatment resistance. *World J Biol Psychiatry* 13, 318–378.
- Haukvik, U.K., and Agartz, I. (2010). [Do obstetric complications increase the risk of schizophrenia?]. *Tidsskr Laegeforen* 130, 270–272.
- Haukvik, U.K., Westlye, L.T., Mørch-Johnsen, L., Jørgensen, K.N., Lange, E.H., Dale, A.M., Melle, I., Andreassen, O.A., and Agartz, I. (2014). In Vivo Hippocampal Subfield Volumes in Schizophrenia and Bipolar Disorder. *Biol. Psychiatry*.
- Hazlett, E.A., Buchsbaum, M.S., Haznedar, M.M., Newmark, R., Goldstein, K.E., Zelmanova, Y., Glanton, C.F., Torosjan, Y., New, A.S., Lo, J.N., et al. (2008). Cortical gray and white matter volume in unmedicated schizotypal and schizophrenia patients. *Schizophr Res* 101, 111–123.
- Heckers, S. (2001). Neuroimaging studies of the hippocampus in schizophrenia. *Hippocampus* 11, 520–528.
- Heckers, S., and Konradi, C. (2002). Hippocampal neurons in schizophrenia. *J Neural Transm* 109, 891–905.
- Heckers, S., Heinsen, H., Geiger, B., and Beckmann, H. (1991). Hippocampal neuron number in schizophrenia. A stereological study. *Arch Gen Psychiatry* 48, 1002–1008.
- Heckers, S., Barch, D.M., Bustillo, J., Gaebel, W., Gur, R., Malaspina, D., Owen, M.J., Schultz, S., Tandon, R., Tsuang, M., et al. (2013). Structure of the psychotic disorders classification in DSM-5. *Schizophr Res* 150, 11–14.
- Henn, F.A. (1995). [Neurobiology of schizophrenia]. *Schweiz Arch Neurol Psychiatr* 146, 224–229.
- Herz, M.I., and Melville, C. (1980). Relapse in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 137, 801–805.
- Hirayasu, Y., Shenton, M.E., Salisbury, D.F., Dickey, C.C., Fischer, I.A., Mazzoni, P., Kiser, T., Arakaki, H., Kwon, J.S., Anderson, J.E., et al. (1998). Lower left temporal lobe MRI volumes in patients with first-episode schizophrenia compared with psychotic patients with first-episode affective disorder and normal subjects. *Am J Psychiatry* 155, 1384–1391.
- Ho, B.-C., Andreasen, N.C., Nopoulos, P., Arndt, S., Magnotta, V., and Flaum, M. (2003). Progressive structural brain abnormalities and their relationship to clinical outcome: a longitudinal magnetic resonance imaging study early in schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry* 60, 585–594.

Hof, P.R., Haroutunian, V., Copland, C., Davis, K.L., and Buxbaum, J.D. (2002). Molecular and cellular evidence for an oligodendrocyte abnormality in schizophrenia. *Neurochem Res* 27, 1193–1200.

Hof, P.R., Haroutunian, V., Friedrich, V.L., Jr., Byne, W., Buitron, C., Perl, D.P., and Davis, K.L. (2003). Loss and altered spatial distribution of oligodendrocytes in the superior frontal gyrus in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 53, 1075–1085.

Hoiberg, M.P., and Nielsen, B. (2006). Antipsychotic treatment and extrapyramidal symptoms amongst schizophrenic inpatients. *Nord J Psychiatry* 60, 207–212.

Höistad, M., Segal, D., Takahashi, N., Sakurai, T., Buxbaum, J.D., and Hof, P.R. (2009). Linking white and grey matter in schizophrenia: oligodendrocyte and neuron pathology in the prefrontal cortex. *Front. Neuroanat.* 3, 9.

Huber, G., Gross, G., and Schuttler, R. (1979). [Schizophrenia. Clinical course and social psychiatric long term examinations of schizophrenic patients hospitalized in Bonn from 1945-1959]. *Monogr Gesamtgeb Psychiatr Psychiatry Ser* 21, 1–399.

Hultman, C.M., Ohman, A., Cnattingius, S., Wieselgren, I.M., and Lindstrom, L.H. (1997). Prenatal and neonatal risk factors for schizophrenia. *Br J Psychiatry* 170, 128–133.

Ichikawa, J., and Meltzer, H.Y. (1999). Relationship between dopaminergic and serotonergic neuronal activity in the frontal cortex and the action of typical and atypical antipsychotic drugs. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 249 Suppl 4, 90–98.

Jablensky, A. (1995). Schizophrenia: recent epidemiologic issues. *Epidemiol Rev* 17, 10–20.

Jablensky, A. (1997). The 100-year epidemiology of schizophrenia. *Schizophr. Res.* 28, 111–125.

Jelinski, S.E., Yager, J.Y., and Juurlink, B.H. (1999). Preferential injury of oligodendroblasts by a short hypoxic-ischemic insult. *Brain Res* 815, 150–153.

Jessen, F., Scheef, L., Gerneshausen, L., Tawo, Y., Kockler, M., Kuhn, K.U., Maier, W., Schild, H.H., and Heun, R. (2003). Reduced hippocampal activation during encoding and recognition of words in schizophrenia patients. *Am J Psychiatry* 160, 1305–1312.

Jones, P.B., Rantakallio, P., Hartikainen, A.L., Isohanni, M., and Sipila, P. (1998). Schizophrenia as a long-term outcome of pregnancy, delivery, and perinatal complications: a 28-year follow-up of the 1966 north Finland general population birth cohort. *Am J Psychiatry* 155, 355–364.

Jones-Gotman, M., and Milner, B. (1978). Right temporal-lobe contribution to image-mediated verbal learning. *Neuropsychologia* 16, 61–71.

Kaifu, T., Nakahara, J., Inui, M., Mishima, K., Momiyama, T., Kaji, M., Sugahara, A., Koito, H., Ujike-Asai, A., Nakamura, A., et al. (2003). Osteopetrosis and thalamic

hypomyelinosis with synaptic degeneration in DAP12-deficient mice. *J Clin Invest* 111, 323–332.

Kalus, P., Buri, C., Slotboom, J., Gralla, J., Remonda, L., Dierks, T., Strik, W.K., Schroth, G., and Kiefer, C. (2004). Volumetry and diffusion tensor imaging of hippocampal subregions in schizophrenia. *Neuroreport* 15, 867–871.

Kane, J.M. (1987). Treatment of schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 13, 133–156.

Kane, J., Honigfeld, G., Singer, J., and Meltzer, H. (1988). Clozapine for the treatment-resistant schizophrenic. A double-blind comparison with chlorpromazine. *Arch Gen Psychiatry* 45, 789–796.

Karow, T. and L.-R., R. (2009). *Pharmakologie und Toxikologie* (Pulheim).

Katsel, P., Davis, K.L., Gorman, J.M., and Haroutunian, V. (2005). Variations in differential gene expression patterns across multiple brain regions in schizophrenia. *Schizophr. Res.* 77, 241–252.

Kaur, C., Sivakumar, V., Ang, L.S., and Sundaresan, A. (2006). Hypoxic damage to the periventricular white matter in neonatal brain: role of vascular endothelial growth factor, nitric oxide and excitotoxicity. *J Neurochem* 98, 1200–1216.

Kinon, B.J., and Lieberman, J.A. (1996). Mechanisms of action of atypical antipsychotic drugs: a critical analysis. *Psychopharmacol. Berl* 124, 2–34.

Kodama, M., Fujioka, T., and Duman, R.S. (2004). Chronic olanzapine or fluoxetine administration increases cell proliferation in hippocampus and prefrontal cortex of adult rat. *Biol Psychiatry* 56, 570–580.

Koehler, K. (1977). [First rank symptoms of schizophrenia (Kurt Schneider): Are they still of any importance? (author's transl)]. *Fortschr Neurol Psychiatr Grenzgeb* 45, 405–411.

Koehler, K., Guth, W., and Grimm, G. (1977). First-rank symptoms of schizophrenia in Schneider-oriented German centers. *Arch Gen Psychiatry* 34, 810–813.

Kolomeets, N.S., and Uranova, N.A. (2008). [Pathology of oligodendroglia and myelinated fibers of the hippocampus in schizophrenia (an ultrastructural and morphometric study)]. *Zh Nevrol Psikhiatr Im Korsakova* 108, 52–60.

Konopaske, G.T., Dorph-Petersen, K.A., Pierri, J.N., Wu, Q., Sampson, A.R., and Lewis, D.A. (2007). Effect of chronic exposure to antipsychotic medication on cell numbers in the parietal cortex of macaque monkeys. *Neuropsychopharmacology* 32, 1216–1223.

Konopaske, G.T., Dorph-Petersen, K.A., Sweet, R.A., Pierri, J.N., Zhang, W., Sampson, A.R., and Lewis, D.A. (2008). Effect of chronic antipsychotic exposure on astrocyte and oligodendrocyte numbers in macaque monkeys. *Biol Psychiatry* 63, 759–765.

Konradi, C., Sullivan, S.E., and Clay, H.B. (2012). Mitochondria, oligodendrocytes and inflammation in bipolar disorder: evidence from transcriptome studies points to intriguing parallels with multiple sclerosis. *Neurobiol Dis* 45, 37–47.

Kraepelin (1919). *Dementia praecox and paraphrenia* (Edinburgh: Livingstone).

Kretzschmar R (1999). *Psychopharmaka in Pharmakologie und Toxikologie* (Schattauer Verlag).

Kringlen, E. (2000). Twin studies in schizophrenia with special emphasis on concordance figures. *Am J Med Genet* 97, 4–11.

Kuhlmann, T., Miron, V., Cui, Q., Wegner, C., Antel, J., and Bruck, W. (2008). Differentiation block of oligodendroglial progenitor cells as a cause for remyelination failure in chronic multiple sclerosis. *Brain* 131, 1749–1758.

Kuroki, N., Shenton, M.E., Salisbury, D.F., Hirayasu, Y., Onitsuka, T., Ersner-Hershfield, H., Yurgelun-Todd, D., Kikinis, R., Jolesz, F.A., and McCarley, R.W. (2006). Middle and inferior temporal gyrus gray matter volume abnormalities in first-episode schizophrenia: an MRI study. *Am J Psychiatry* 163, 2103–2110.

Lavanex P.: Functional anatomy, development, and pathology of the hippocampus. In: Batsch T (ed): *The clinical neurobiology of the hippocampus, an integrative view*. Oxford University Press 2012, pp. 10-38

Leung, A., and Chue, P. (2000). Sex differences in schizophrenia, a review of the literature. *Acta Psychiatr Scand Suppl* 401, 3–38.

Liddle, P.F. (1987). The symptoms of chronic schizophrenia. A re-examination of the positive-negative dichotomy. *Br J Psychiatry* 151, 145–151.

Ligon, K.L., Kesari, S., Kitada, M., Sun, T., Arnett, H.A., Alberta, J.A., Anderson, D.J., Stiles, C.D., and Rowitch, D.H. (2006). Development of NG2 neural progenitor cells requires Olig gene function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103, 7853–7858.

Lipska, B.K., Mitkus, S.N., Mathew, S.V., Fatula, R., Hyde, T.M., Weinberger, D.R., and Kleinman, J.E. (2006). Functional genomics in postmortem human brain: abnormalities in a DISC1 molecular pathway in schizophrenia. *Dialogues Clin Neurosci* 8, 353–357.

Lu, Q.R., Yuk, D., Alberta, J.A., Zhu, Z., Pawlitzky, I., Chan, J., McMahon, A.P., Stiles, C.D., and Rowitch, D.H. (2000). Sonic hedgehog--regulated oligodendrocyte lineage genes encoding bHLH proteins in the mammalian central nervous system. *Neuron* 25, 317–329.

Lu, Q.R., Cai, L., Rowitch, D., Cepko, C.L., and Stiles, C.D. (2001). Ectopic expression of Olig1 promotes oligodendrocyte formation and reduces neuronal survival in developing mouse cortex. *Nat Neurosci* 4, 973–974.

- Lu, Q.R., Sun, T., Zhu, Z., Ma, N., Garcia, M., Stiles, C.D., and Rowitch, D.H. (2002). Common developmental requirement for Olig function indicates a motor neuron/oligodendrocyte connection. *Cell* 109, 75–86.
- Lüllman H, M.K. (1999). Neuroleptika in Pharmakologie und Toxikologie (Seite: 310-315: Thieme).
- Markstein, R. (1994). Bedeutung neuer Dopaminrezeptoren für die Wirkung von Clozapin; Pharmakologie und Klinik eines atypischen Neuroleptikums: Neuere Aspekte der klinischen Praxis (Berlin, Heidelberg: Springer).
- Marner, L., Nyengaard, J.R., Tang, Y., and Pakkenberg, B. (2003). Marked loss of myelinated nerve fibers in the human brain with age. *J. Comp. Neurol.* 462, 144–152.
- McGuffin, P., Owen, M.J., and Farmer, A.E. (1995). Genetic basis of schizophrenia. *Lancet* 346, 678–682.
- McNally, K. (2009). Eugene Bleuler's four As. *Hist Psychol* 12, 43–59.
- McTigue, D.M., and Tripathi, R.B. (2008). The life, death, and replacement of oligodendrocytes in the adult CNS. *J Neurochem* 107, 1–19.
- Mei, L., and Nave, K.A. (2014). Neuregulin-ERBB signaling in the nervous system and neuropsychiatric diseases. *Neuron* 83, 27–49.
- Meijer, D.H., Kane, M.F., Mehta, S., Liu, H., Harrington, E., Taylor, C.M., Stiles, C.D., and Rowitch, D.H. (2012). Separated at birth? The functional and molecular divergence of OLIG1 and OLIG2. *Nat. Rev. Neurosci.* 13, 819–831.
- Meyer, U., and Feldon, J. (2009). Prenatal exposure to infection: a primary mechanism for abnormal dopaminergic development in schizophrenia. *Psychopharmacol. Berl* 206, 587–602.
- Miller, R.H. (2002). Regulation of oligodendrocyte development in the vertebrate CNS. *Prog Neurobiol* 67, 451–467.
- Milner B, C.C., Teuber HL (1968). Further analysis of the hippocampal manestic syndrome: 14-year follow-up study of HM. *Neuropsychologia* 6, 215–234.
- Mokler, D.J., Torres, O.I., Galler, J.R., and Morgane, P.J. (2007). Stress-induced changes in extracellular dopamine and serotonin in the medial prefrontal cortex and dorsal hippocampus of prenatally malnourished rats. *Brain Res* 1148, 226–233.
- Moller, P. (2005). [Schizophrenia and the self--existential perspectives on comprehension and evaluation]. *Tidsskr Laegeforen* 125, 1022–1025.
- Möllerr H. (2005). Schizophrenie in Psychiatrie und Psychotherapie (Stuttgart: Georg Thieme Verlag).
- Mosebach, J., Keilhoff, G., Gos, T., Schiltz, K., Schoeneck, L., Dobrowolny, H., Mawrin, C., Muller, S., Schroeter, M.L., Bernstein, H.G., et al. (2013). Increased

nuclear Olig1-expression in the pregenual anterior cingulate white matter of patients with major depression: a regenerative attempt to compensate oligodendrocyte loss? *J Psychiatr Res* 47, 1069–1079.

Narr, K.L., Thompson, P.M., Sharma, T., Moussai, J., Blanton, R., Anvar, B., Edris, A., Krupp, R., Rayman, J., Khaledy, M., et al. (2001). Three-dimensional mapping of temporo-limbic regions and the lateral ventricles in schizophrenia: gender effects. *Biol Psychiatry* 50, 84–97.

Newton, S.S., and Duman, R.S. (2007). Neurogenic actions of atypical antipsychotic drugs and therapeutic implications. *CNS Drugs* 21, 715–725.

Nicodemus, K.K., Marenco, S., Batten, A.J., Vakkalanka, R., Egan, M.F., Straub, R.E., and Weinberger, D.R. (2008). Serious obstetric complications interact with hypoxia-regulated/vascular-expression genes to influence schizophrenia risk. *Mol Psychiatry* 13, 873–877.

P., A.D.L. (2007). Hippocampal neuroanatomy. In P Andersen, R Morris, D Amaral, T Bliss, J O'Keefe, eds. *The hippocampus book*. (Oxford University Press), p. pp 37–114.

Parlapani, E., Schmitt, A., Wirths, O., Bauer, M., Sommer, C., Rueb, U., Skowronek, M.H., Treutlein, J., Petroianu, G.A., Rietschel, M., et al. (2010). Gene expression of neuregulin-1 isoforms in different brain regions of elderly schizophrenia patients. *World J. Biol. Psychiatry Off. J. World Fed. Soc. Biol. Psychiatry* 11, 243–250.

Patrick, G.N., Bingol, B., Weld, H.A., and Schuman, E.M. (2003). Ubiquitin-mediated proteasome activity is required for agonist-induced endocytosis of GluRs. *Curr. Biol. CB* 13, 2073–2081.

Pearlson, G.D. (2000). Neurobiology of schizophrenia. *Ann Neurol* 48, 556–566.

Pegues, M.P., Rogers, L.J., Amend, D., Vinogradov, S., and Deicken, R.F. (2003). Anterior hippocampal volume reduction in male patients with schizophrenia. *Schizophr Res* 60, 105–115.

Polak, P.E., and Szuchet, S. (1988). Plasma membrane of cultured oligodendrocytes: I. Isolation, purification, and initial characterization. *Glia* 1, 39–53.

Pomarol-Clotet, E., Salvador, R., Murray, G., Tandon, S., and McKenna, P.J. (2010). Are there valid subtypes of schizophrenia? A grade of membership analysis. *Psychopathology* 43, 53–62.

Prasad, S., Semwal, P., Deshpande, S., Bhatia, T., Nimgaonkar, V.L., and Thelma, B.K. (2002). Molecular genetics of schizophrenia: past, present and future. *J Biosci* 27, 35–52.

Price, J.L., Ko, A.I., Wade, M.J., Tsou, S.K., McKeel, D.W., and Morris, J.C. (2001). Neuron number in the entorhinal cortex and CA1 in preclinical Alzheimer disease. *Arch Neurol* 58, 1395–1402.

- Rajarethinam, R., DeQuardo, J.R., Miedler, J., Arndt, S., Kirbat, R., Brunberg, J.A., and Tandon, R. (2001). Hippocampus and amygdala in schizophrenia: assessment of the relationship of neuroanatomy to psychopathology. *Psychiatry Res* 108, 79–87.
- Rametti, G., Segarra, N., Junque, C., Bargallo, N., Caldu, X., Ibarretxe, N., and Bernardo, M. (2007). Left posterior hippocampal density reduction using VBM and stereological MRI procedures in schizophrenia. *Schizophr Res* 96, 62–71.
- Rametti, G., Junque, C., Vendrell, P., Catalan, R., Penades, R., Bargallo, N., and Bernardo, M. (2009). Hippocampal underactivation in an fMRI study of word and face memory recognition in schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 259, 203–211.
- Rantakallio, P., Jones, P., Moring, J., and Von Wendt, L. (1997). Association between central nervous system infections during childhood and adult onset schizophrenia and other psychoses: a 28-year follow-up. *Int J Epidemiol* 26, 837–843.
- Reif, A., Fritzen, S., Finger, M., Strobel, A., Lauer, M., Schmitt, A., and Lesch, K.P. (2006). Neural stem cell proliferation is decreased in schizophrenia, but not in depression. *Mol Psychiatry* 11, 514–522.
- Reinbold, H. (1998). *Psychogenicum, Taschenbuch mit Themen aus der Psychiatrie. Biochemie der Psychopharmaka, Differenzierter Umgang mit Neuroleptika* (Dortmund: PsychoGen Verlag).
- Rosin, C., Colombo, S., Calver, A.A., Bates, T.E., and Skaper, S.D. (2005). Dopamine D2 and D3 receptor agonists limit oligodendrocyte injury caused by glutamate oxidative stress and oxygen/glucose deprivation. *Glia* 52, 336–343.
- Schmitt, A., and Falkai, P. (2014). The neuropathology of schizophrenia: new insights from postmortem studies. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 264, 269–270.
- Schmitt, A., Steyskal, C., Bernstein, H.G., Schneider-Axmann, T., Parlapani, E., Schaeffer, E.L., Gattaz, W.F., Bogerts, B., Schmitz, C., and Falkai, P. (2009). Stereologic investigation of the posterior part of the hippocampus in schizophrenia. *Acta Neuropathol* 117, 395–407.
- Schmitt, A., Hasan, A., Gruber, O., and Falkai, P. (2011). Schizophrenia as a disorder of disconnectivity. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 261 Suppl 2, S150–S154.
- Schmitt, A., Malchow, B., Keeser, D., Falkai, P., and Hasan, A. (2014). [Neurobiology of schizophrenia : New findings from the structure to the molecules.]. *Nervenarzt*.
- Schultz, S.K., and Andreasen, N.C. (1999). Schizophrenia. *Lancet* 353, 1425–1430.
- Seeman, M.V. (2000). Women and schizophrenia. *Medscape Womens Health* 5, 2.
- Shenton, M.E., Dickey, C.C., Frumin, M., and McCarley, R.W. (2001). A review of MRI findings in schizophrenia. *Schizophr Res* 49, 1–52.

- Shepherd, A.M., Laurens, K.R., Matheson, S.L., Carr, V.J., and Green, M.J. (2012). Systematic meta-review and quality assessment of the structural brain alterations in schizophrenia. *Neurosci Biobehav Rev* 36, 1342–1356.
- Skelly, L.R., Calhoun, V., Meda, S.A., Kim, J., Mathalon, D.H., and Pearlson, G.D. (2008). Diffusion tensor imaging in schizophrenia: relationship to symptoms. *Schizophr Res* 98, 157–162.
- Sorensen, H.J., Mortensen, E.L., Reinisch, J.M., and Mednick, S.A. (2009). Association between prenatal exposure to bacterial infection and risk of schizophrenia. *Schizophr Bull* 35, 631–637.
- Stark, A.K., Uylings, H.B.M., Sanz-Arigita, E., and Pakkenberg, B. (2004). Glial cell loss in the anterior cingulate cortex, a subregion of the prefrontal cortex, in subjects with schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* 161, 882–888.
- Steen, R.G., Mull, C., McClure, R., Hamer, R.M., and Lieberman, J.A. (2006). Brain volume in first-episode schizophrenia: systematic review and meta-analysis of magnetic resonance imaging studies. *Br J Psychiatry* 188, 510–518.
- Stein, J.L., Medland, S.E., Vasquez, A.A., Hibar, D.P., Senstad, R.E., Winkler, A.M., Toro, R., Appel, K., Bartecek, R., Bergmann, Ø., et al. (2012). Identification of common variants associated with human hippocampal and intracranial volumes. *Nat. Genet.* 44, 552–561.
- Steiner, J., Bernstein, H.G., Bielau, H., Farkas, N., Winter, J., Dobrowolny, H., Brisch, R., Gos, T., Mawrin, C., Myint, A.M., et al. (2008). S100B-immunopositive glia is elevated in paranoid as compared to residual schizophrenia: a morphometric study. *J Psychiatr Res* 42, 868–876.
- Stotz-Ingenlath, G. (2000). Epistemological aspects of Eugen Bleuler's conception of schizophrenia in 1911. *Med. Health Care Philos.* 3, 153–159.
- Sullivan, P.F., Kendler, K.S., and Neale, M.C. (2003). Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. *Arch Gen Psychiatry* 60, 1187–1192.
- Szeszko, P.R., Goldberg, E., Gunduz-Bruce, H., Ashtari, M., Robinson, D., Malhotra, A.K., Lencz, T., Bates, J., Crandall, D.T., Kane, J.M., et al. (2003). Smaller anterior hippocampal formation volume in antipsychotic-naive patients with first-episode schizophrenia. *Am J Psychiatry* 160, 2190–2197.
- Takebayashi, H., Yoshida, S., Sugimori, M., Kosako, H., Kominami, R., Nakafuku, M., and Nabeshima, Y. (2000). Dynamic expression of basic helix-loop-helix Olig family members: implication of Olig2 in neuron and oligodendrocyte differentiation and identification of a new member, Olig3. *Mech Dev* 99, 143–148.
- Takei, K., Yamasue, H., Abe, O., Yamada, H., Inoue, H., Suga, M., Sekita, K., Sasaki, H., Rogers, M., Aoki, S., et al. (2008). Disrupted integrity of the fornix is associated with impaired memory organization in schizophrenia. *Schizophr Res* 103, 52–61.

Thaker, G., Moran, M., Adami, H., and Cassady, S. (1993). Psychosis proneness scales in schizophrenia spectrum personality disorders: familial vs. nonfamilial samples. *Psychiatry Res* 46, 47–57.

Tkachev, D., Mimmack, M.L., Ryan, M.M., Wayland, M., Freeman, T., Jones, P.B., Starkey, M., Webster, M.J., Yolken, R.H., and Bahn, S. (2003). Oligodendrocyte dysfunction in schizophrenia and bipolar disorder. *Lancet* 362, 798–805.

Tudesco Ide, S., Vaz, L.J., Mantoan, M.A., Belzunces, E., Noffs, M.H., Caboclo, L.O., Yacubian, E.M., Sakamoto, A.C., and Bueno, O.F. (2010). Assessment of working memory in patients with mesial temporal lobe epilepsy associated with unilateral hippocampal sclerosis. *Epilepsy Behav* 18, 223–228.

Uranova, N.A., Vostrikov, V.M., Orlovskaya, D.D., and Rachmanova, V.I. (2004). Oligodendroglial density in the prefrontal cortex in schizophrenia and mood disorders: a study from the Stanley Neuropathology Consortium. *Schizophr Res* 67, 269–275.

Uranova, N.A., Vostrikov, V.M., Vikhрева, O.V., Zimina, I.S., Kolomeets, N.S., and Orlovskaya, D.D. (2007). The role of oligodendrocyte pathology in schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol* 10, 537–545.

Van Erp, T.G., Saleh, P.A., Rosso, I.M., Huttunen, M., Lonnqvist, J., Pirkola, T., Salonen, O., Valanne, L., Poutanen, V.P., Standertskjold-Nordenstam, C.G., et al. (2002). Contributions of genetic risk and fetal hypoxia to hippocampal volume in patients with schizophrenia or schizoaffective disorder, their unaffected siblings, and healthy unrelated volunteers. *Am J Psychiatry* 159, 1514–1520.

Van Haren, N.E., Hulshoff Pol, H.E., Schnack, H.G., Cahn, W., Brans, R., Carati, I., Rais, M., and Kahn, R.S. (2008). Progressive brain volume loss in schizophrenia over the course of the illness: evidence of maturational abnormalities in early adulthood. *Biol Psychiatry* 63, 106–113.

Velakoulis, D., Stuart, G.W., Wood, S.J., Smith, D.J., Brewer, W.J., Desmond, P., Singh, B., Copolov, D., and Pantelis, C. (2001). Selective bilateral hippocampal volume loss in chronic schizophrenia. *Biol Psychiatry* 50, 531–539.

Verdoux, H., and Sutter, A.L. (2002). Perinatal risk factors for schizophrenia: diagnostic specificity and relationships with maternal psychopathology. *Am J Med Genet* 114, 898–905.

Vostrikov, V., and Uranova, N. (2011). Age-related increase in the number of oligodendrocytes is dysregulated in schizophrenia and mood disorders. *Schizophr Res Treat.* *2011*, 174689.

Vostrikov, V., Orlovskaya, D., and Uranova, N. (2008). Deficit of pericapillary oligodendrocytes in the prefrontal cortex in schizophrenia. *World J Biol Psychiatry* 9, 34–42.

- Vostrikov, V.M., Uranova, N.A., and Orlovskaya, D.D. (2007). Deficit of perineuronal oligodendrocytes in the prefrontal cortex in schizophrenia and mood disorders. *Schizophr Res* 94, 273–280.
- Walker, M.A., Highley, J.R., Esiri, M.M., McDonald, B., Roberts, H.C., Evans, S.P., and Crow, T.J. (2002). Estimated neuronal populations and volumes of the hippocampus and its subfields in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 159, 821–828.
- Wang, H., Xu, H., Niu, J., Mei, F., Li, X., Kong, J., Cai, W., and Xiao, L. (2010). Haloperidol activates quiescent oligodendroglia precursor cells in the adult mouse brain. *Schizophr Res* 119, 164–174.
- Weinberger, D.R. (1987). Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry* 44, 660–669.
- Weinberger, D.R. (1999). Cell biology of the hippocampal formation in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 45, 395–402.
- Weinberger, D.R., and Lipska, B.K. (1995). Cortical maldevelopment, anti-psychotic drugs, and schizophrenia: a search for common ground. *Schizophr. Res.* 16, 87–110.
- Weiss, A.P., and Heckers, S. (2001). Neuroimaging of declarative memory in schizophrenia. *Scand J Psychol* 42, 239–250.
- White, T., Kendi, A.T., Lehericy, S., Kendi, M., Karatekin, C., Guimaraes, A., Davenport, N., Schulz, S.C., and Lim, K.O. (2007). Disruption of hippocampal connectivity in children and adolescents with schizophrenia--a voxel-based diffusion tensor imaging study. *Schizophr Res* 90, 302–307.
- Wood, S.J. (1998). Helping brain injured children and their families. *Prof. Care Mother Child* 8, 137–138.
- Wright, A.K., Norrie, L., and Arbuthnott, G.W. (2000). Corticofugal axons from adjacent “barrel” columns of rat somatosensory cortex: cortical and thalamic terminal patterns. *J Anat* 196 (Pt 3), 379–390.
- Xin, M., Yue, T., Ma, Z., Wu, F.F., Gow, A., and Lu, Q.R. (2005). Myelinogenesis and axonal recognition by oligodendrocytes in brain are uncoupled in Olig1-null mice. *J Neurosci* 25, 1354–1365.
- Yamasue, H., Iwanami, A., Hirayasu, Y., Yamada, H., Abe, O., Kuroki, N., Fukuda, R., Tsujii, K., Aoki, S., Ohtomo, K., et al. (2004). Localized volume reduction in prefrontal, temporolimbic, and paralimbic regions in schizophrenia: an MRI parcellation study. *Psychiatry Res* 131, 195–207.
- Yokoo, H., Nobusawa, S., Takebayashi, H., Ikenaka, K., Isoda, K., Kamiya, M., Sasaki, A., Hirato, J., and Nakazato, Y. (2004). Anti-human Olig2 antibody as a useful immunohistochemical marker of normal oligodendrocytes and gliomas. *Am J Pathol* 164, 1717–1725.

Zhang, B., Tan, Z., Zhang, C., Shi, Y., Lin, Z., Gu, N., Feng, G., and He, L. (2002). Polymorphisms of chromogranin B gene associated with schizophrenia in Chinese Han population. *Neurosci Lett* 323, 229–233.

Zhou, Q., Wang, S., and Anderson, D.J. (2000). Identification of a novel family of oligodendrocyte lineage-specific basic helix-loop-helix transcription factors. *Neuron* 25, 331–343.

Zhou, Y., Shu, N., Liu, Y., Song, M., Hao, Y., Liu, H., Yu, C., Liu, Z., and Jiang, T. (2008). Altered resting-state functional connectivity and anatomical connectivity of hippocampus in schizophrenia. *Schizophr Res* 100, 120–132.

Zubin, J., and Spring, B. (1977). Vulnerability--a new view of schizophrenia. *J Abnorm Psychol* 86, 103–126.

7. Danksagung:

Ein besonderes Wort des Dankes möchte ich an dieser Stelle an meine Doktormutter Frau Professor Andrea Schmitt richten. Ohne ihre professionelle und warmherzige Begleitung und Anregungen wäre der Abschluss meiner Dissertation nicht denkbar gewesen.

8. Lebenslauf:

Mein Name ist Jawid Shariati. Ich wurde am 20.06.1980 in Kabul geboren. Die schulische Ausbildung habe ich im Iran abgeschlossen. 2002 reiste ich in die Bundesrepublik Deutschland. 2006 habe ich die Feststellungsprüfung des niedersächsischen Studienkollegs in Hannover abgelegt und im gleichen Jahr das Studium der Humanmedizin an der Georg-August-Universität-Göttingen begonnen. 2009 wurde ich als Stipendiat in die Friedrich-Ebert-Stiftung aufgenommen. Im Februar/März 2011 habe ich eine Famulatur in der Allgemeinmedizin in „Royal North Shore Hospital“ des Universitätsklinikums in Sydney abgeleistet. Die Anästhesiologie habe ich als Wahlfach des praktischen Jahres im „Albert-Schweizer-Krankenhaus in Northheim“, den Innere-Abschnitt im „Evangelisches Krankenhaus Göttingen-Weende“ und den Chirurgie-Abschnitt in „General Hospital Singapore“ in Singapur abgeleistet. 2012 habe ich das Studium der Humanmedizin mit 2. Staatsexamen abgeschlossen. Als approbierter Arzt habe ich von Dezember 2012 bis März 2013 in der Psychiatrie und Psychotherapie der „Sankt Ansgar Klinik“ in Twistringen gearbeitet. Seit April 2013 arbeite ich als Assistenzarzt im Bereich Innere Medizin und Kardiologie.