Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie

Direktor: Prof. Dr. med. Dr. phil. Johannes Thome

# Potentielle Biomarker des Suizids - Ergebnisse einer Transkriptom-basierten Pilotstudie an post-mortem-Gewebe

Inauguraldissertation

zur

Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Medizin

der Universitätsmedizin Rostock

vorgelegt von

Karolina Furczyk, geb. 04.03.1984 in Tychy, Polen

aus Rostock

Rostock, den 11. März 2016

urn:nbn:de:gbv:28-diss2017-0133-0

Gutachter:

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Dr. phil. Johannes Thome, Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Universitätsmedizin Rostock

2. Gutachter: Prof. Dr. med. Andreas Büttner, Institut für Rechtsmedizin der Universitätsmedizin Rostock

3. Gutachter: Prof. Dr.med. Jens M. Langosch, Ärztlicher Direktor, Evangelisches Krankenhaus Bethanien gGmbH

Datum der Einreichung: 25. Juli 2016

Datum der Verteidigung: 10. Oktober 2017

# INHALTSVERZEICHNIS

**1. EINLEITUNG ..... 1**

**1.1. Suizid: Definitionen und Einleitung ..... 1**

**1.2. Häufigkeit und Verbreitung des Suizids in Deutschland ..... 2**

**1.3. Neurobiologische Erklärungsansätze ..... 4**

**1.4. Post-Mortem-Studien ..... 5**

**1.5. Aktueller Stand der Post-Mortem-Suizidforschung ..... 6**

**1.6. Biomarker in der Psychiatrie ..... 9**

**1.7. Genexpressionsanalyse ..... 11**

**2. MATERIAL UND METHODEN ..... 16**

**2.1. Probanden und Gewebematerial ..... 16**

**2.2. RNA-Isolierung und RNA-Qualitätskontrolle ..... 20**

**2.3. Genexpressionsanalyse durch Microarray-Hybridisierung ..... 21**

**2.4. Quantitative Echtzeit-PCR (qRT-PCR) ..... 22**

**2.5. Statistische Analyse ..... 26**

2.5.1. Microarray-Daten ..... 26

2.5.2. qRT-PCR Daten ..... 29

**3. ERGEBNISSE ..... 30**

**3.1. Anzahl und Art der unterschiedlich exprimierten Gene nach Gehirnregionen ..... 30**

**3.2. Stark unterschiedlich exprimierte Gene ..... 37**

**3.3. Validierung durch qRT-PCR ..... 37**

**4. DISKUSSION ..... 39**

**4.1. Abgeleitete Hypothesen zur Neurobiologie der Suizidalität ..... 40**

4.1.1. Störung der Neuroplastizität ..... 40

4.1.2. Funktionsstörungen der neurovaskulären Einheit ..... 44

4.1.3. Veränderte Stressantwort ..... 47

4.1.4. Neuroinflammation ..... 48

4.1.5. Störung der Signaltransduktion und der Signaltransmission ..... 51

4.1.6. Die Rolle der regulativen nichtkodierenden RNAs ..... 54

**4.2. Übrige unterschiedlich exprimierte Gene ..... 56**

**4.3. Mögliche Suizid-Biomarker ..... 57**

**4.4. Einschränkungen ..... 57**

**5. ZUSAMMENFASSUNG ..... 61**

**6. ANHANG ..... 63**

**6.1. Thesen ..... 63**

**6.2. Lebenslauf ..... 65**

**6.3. Abbildungsverzeichnis ..... 67**

**6.4. Tabellenverzeichnis ..... 68**

**6.5. Literaturverzeichnis ..... 69**

**DANKSAGUNG ..... 94**

**EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG ..... 95**

## Abkürzungsverzeichnis

| | |
|---|---|
| **5-LO** | Arachidonat-5-Lipoxygenase |
| **Abb.** | Abbildung |
| **ADHS** | Aufmerksamkeitsdefizits-/Hyperaktivitätsstörung |
| **BDNF** | *brain-derived neurotrophic factor* |
| **cAMP** | cyclisches Adenosinmonophosphat |
| **CREB** | cAMP-responsives Element bindendes Protein |
| **Ct** | *cycle of treshold* |
| **DLPFC** | dorsolateraler präfrontaler Cortex |
| **DNA** | Desoxyribonukleinsäure |
| **DSM V** | *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders,* V |
| **FA** | fokale Adhäsion |
| **FC** | *fold change* |
| **FLAP** | Arachidonat-5-Lipoxygenase-aktivierendes Protein |
| **FDR** | False Discovery Rate |
| **GABA** | γ-Aminobuttersäure |
| **GDNF** | Wachstumsfaktor GDNF (g*lial cell line-derived neurotrophic factor)* |
| **GSEA** | *Gene Set Enrichmnent Analysis* |
| **ICD-10** | *International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, 10th Revision* |
| **IL-2** | Interleukin-2 |
| **IL-6** | Interleukin-6 |
| **mRNA** | Boten-RNA |
| **miRNA** | microRNA |
| **nAChR** | nikotinischer Acetylcholinrezeptor |
| **NCAM** | neurales Zelladhäsionsmolekül |
| **NT-3** | Neurotrophin-3 |
| **p75NTR** | p75-Neurotrophin-Rezeptor |
| **PCR** | Polymerase-Kettenreaktion |
| **qRT-PCR** | Quantitative Echtzeit-Polymerase-Kettenreaktion |
| **Rab-3b** | Ras-verwandte Protein-3b |
| **RFU** | Relative Fluoreszenzeinheiten |
| **RIN** | RNA-Integritätsnummer |
| **RNA** | Ribonukleinsäure |
| **rRNA** | ribosomale RNA |
| **snoRNA** | kleine nukleoläre RNA |
| **snRNA** | kleine nukleare RNA |
| **Tab.** | Tabelle |
| **TNFα** | Tumornekrosefaktor alpha |
| **TSG-6** | TNFα-induziertes Protein 6 |
| **UV** | Ultraviolettstrahlung |
| **VEGF** | vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor |

## Abkürzungsverzeichnis

**IL-8** Interleukin-8

**IL-16** Interleukin-16

**WHO** Weltgesundheitsorganisation

## Abbildungsverzeichnis

**Abbildung 1. RNA – Elektrophorese zur Qualitätskontrolle. Beispiel ……21**
**Abbildung 2. DNA – Elektrophorese. Beispiel……24**
**Abbildung 3. Beispielhafte Amplifikationskurven ……26**
**Abbildung 4. Heatmap der unterschiedlich exprimierten Gene……28**
**Abbildung 5. Anzahl der unterschiedlich exprimierten Gene nach Gehirnregionen (Venn-Diagramm)……36**

# Tabellenverzeichnis

**Tabelle 1. Demografische Daten der Suizidenten ..... 19**
**Tabelle 2. Demografische Daten der Kontrollpatienten ..... 20**
**Tabelle 3. Unterschiedlich exprimierte Gene und deren Funktionen ..... 32**
**Tabelle 4. Durch qRT-PCR validierte Gene ..... 38**

# 1. Einleitung

## 1.1. Suizid: Definitionen und Einleitung

Unter dem Begriff **Suizid**, vom Lateinischen „sui caedere“ („sich töten“) abgeleitet**,** versteht man eine Handlung mit Todesfolge, die mit bewusster Absicht durchgeführt wird (Wolfersdorf, 2012). Aus psychiatrischer Sicht gilt der Suizid als Ende einer krankhaften Entwicklung, die zu extremer Hoffnungslosigkeit und Verzweiflung oder Bedrohungsgefühl und Angst führt, sodass Betroffene keinen alternativen Ausweg aus ihrer Situation sehen und im Tod eine endgültige Lösung suchen (Wolfersdorf, 2012).

**Suizidale Handlungen** sind „alle begonnenen, vorbereiteten, abgebrochenen oder durchgeführten“ Handlungen, die mit dem Ziel ausgeübt werden, sich das Leben zu nehmen (Wolfersdorf, 2012). Um einen **Suizidversuch** handelt es sich, wenn diese Handlung überlebt wird, wobei es unwesentlich ist, ob der Grund für das Überleben eine rasche Rettung, eine insuffiziente Methode oder der Abbruch des Selbsttötungsversuchs ist (Wolfersdorf, 2012).

**Suizidalität** bedeutet die Neigung eines Menschen, Suizid zu begehen, und sie lässt sich als „multifaktoriell bedingtes, komplexes und grundsätzlich allen Menschen mögliches Verhalten“ verstehen (Wolfersdorf, 2012).

Die **Suizidziffer** bezeichnet die Anzahl der Suizide pro 100.000 Einwohner (Felber und Winiecki, 2013).

Die unterschiedlichen **Suizidmethoden** werden nach Bochnik als „weiche“ (tödliche Tabletten- oder Drogeneinnahme sowie Vergiftungen anderer Art, einschließlich Vergasung) oder „harte“ (Erhängen, Erschießen, Ertrinken, Sprung in die Tiefe, sich Überfahrenlassen und tiefe Schnitte) klassifiziert (Bochnik, 1962). Die Anwendung von harten Methoden führt in der Regel zu sichtbaren äußeren Veränderungen am Körper.

Suizid ist laut der Weltgesundheitsorganisation (WHO) weltweit eine der Haupttodesursachen in allen Altersgruppen (Saxena et al., 2014). Laut WHO bringen sich jedes Jahr knapp unter 1 Million Menschen um, was annähernd einem Suizidtoten alle 40 Sekunden entspricht (Saxena et al., 2014). Damit ist Suizidalität ein sehr ernstzunehmendes medizinisches und gesellschaftliches, aber auch naturwissenschaftliches Problem, das eine tiefgehende und systematische Erforschung verlangt, um ein besseres Verständnis der ihr zugrunde liegenden Pathogenese und die Entwicklung einer erfolgreichen Therapie zu ermöglichen. Suizide und Suizidversuche sind Ausdruck psychiatrischer Krankheit, beispielsweise einer affektiven und psychotischen Störung, Alkoholabhängigkeit und/oder einer anderen Suchtkrankheit (Wolfersdorf und Mäulen, 1992). Risikofaktoren für Suizid sind unter anderem Stress (Westrin, 2000), impulsiv-aggressives Verhalten (McGirr und Turecki, 2007), chronische Krankheit (Scott et al., 2010) und Hoffnungslosigkeit (Beck et al., 1993). Andererseits gelten eine stabile Partnerschaft, ein gut entwickeltes soziales Netzwerk und ein sicherer finanzieller Status als protektive Faktoren (Au et al., 2009).

### 1.2. Häufigkeit und Verbreitung des Suizids in Deutschland

Die Zahl der Suizide in Deutschland folgte von etwa 1980 bis 2007 einem fallenden Trend, sie stieg dann zunächst in den Jahren 2008 bis 2011 an und fiel im Jahr 2012 wieder (Statistisches Bundesamt, 2015). Im Jahr 2012 starben in Deutschland 9.890 Menschen durch Suizid (12,3 je 100.000 Einwohner). Auf dem Tiefststand im Jahr 2007 waren es 9.402 Personen (11,4 je 100.000 Einwohner), während sich 1980 noch 18.451 Menschen (23,6 je 100.000 Einwohner) das Leben nahmen (Statistisches Bundesamt, 2015).

Der zuletzt starke Rückgang der Suizide soll auf eine verbesserte fachärztliche Versorgung, die Enttabuisierung psychischer Erkrankungen, aber auch auf Probleme der methodischen Erfassung zurückzuführen sein (Rübenach, 2007). Daher wurde die Kategorie der „unklaren Todesursache“ in die ärztlichen Todesbescheinigungen eingeführt, in der es, so wie unter den

vermeintlichen Drogentoten, eine hohe Anzahl von Suizidenten geben dürfte. Deshalb ist bei den offiziellen Suizidraten von einer hohen Dunkelziffer auszugehen (Rübenach, 2007). Es wurde sogar eine inverse Beziehung zwischen den Suizidraten und den Raten unklarer Todesfälle festgestellt (Wedig, 2006). Es wird daher vermutet, dass eine realistische Schätzung der tatsächlichen Suizidzahlen 25 % über der statistisch erfassten Anzahl anzusiedeln ist (Rübenach, 2007). Im Jahr 2010 berichtete die WHO, dass der Anteil der Suizide an allen Todesursachen in Deutschland 1,17% betrug (WHO Mortality Database). Suizide machten damit 30,1% der Todesfälle mit äußerer Ursache aus (zum Vergleich: Stürze durch einen Unfall 28,45 %, Verkehrsunfälle 11,8 %) (Statistisches Bundesamt, 2015).

Die Sterblichkeit durch Suizid hängt stark mit dem Alter und dem Geschlecht zusammen. Insgesamt steigt die Suizidziffer beziehungsweise das Suizidrisiko in Deutschland mit dem Lebensalter (sog. „Ungarisches Muster“) (Schmidtke et al., 2008). Männer begehen in allen Altersgruppen deutlich mehr vollendete Suizide als Frauen. So stellen ältere Männer die Gruppe mit dem höchsten Suizidrisiko dar (Schmidtke et al., 2008).

Zu den am häufigsten verwendeten Suizidmethoden zählen das Erhängen (4.664 Fälle im Jahr 2011), der Sprung in die Tiefe (917 Fälle), die Tabletteneinnahme (898 Fälle) und das Überfahrenlassen (752 Fälle) (Statistisches Bundesamt, 2015).

Gegenüber den vollendeten Suiziden liegt die geschätzte Zahl der Suizidversuche durchschnittlich bei etwa 100.000 bis 150.000 pro Jahr (Rübenach, 2007). Auch hier ist mit einer hohen Dunkelziffer zu rechnen (Rübenach, 2007). Die Häufigkeit der Suizidversuche nach Alter und Geschlecht ist gegenüber den vollendeten Suiziden genau umgekehrt; so ist sie bei jungen Frauen am größten, bei älteren Männern am niedrigsten (Rübenach, 2007). Auf der Basis der WHO/Euro-Multicenter-Studie schätzten Schmidtke und Weinacker 1994, dass die Rate der Suizidversuche bei der deutschen Bevölkerung über 15 Jahren 112 je 100.000 Frauen und 81 je 100.000 Männer betrug. Insgesamt dominieren bei Suizidversuchen die

weichen Methoden der Vergiftung, gefolgt von der Verwendung schneidender oder stechender Gegenstände (Rübenach, 2007).

### 1.3. Neurobiologische Erklärungsansätze

Während viele sozioökonomische und demographische Korrelate des Suizids identifiziert wurden, sind die neurobiologischen Grundlagen immer noch wenig erforscht. Die Untersuchung von mit suizidalem Verhalten assoziierten biologischen Veränderungen, durchgeführt an Biomaterialien wie Blutzellen, Liquor und Plasma von suizidalen Patienten, brachte erste signifikante Ergebnisse und bereitete den Weg für weitere Studien: So wurde eine Beteiligung von serotonergen, dopaminergen und noradrenergen Systemen sowie von Veränderungen in der Hypothalamus-Hypophyse-Nebennierenrinden-Achse an der Suizidalität vorgeschlagen. U. a. wurde ein Zusammenhang zwischen einem niedrigen 5-Hydroxyindolylessigsäure-Spiegel (der Hauptmetabolit von Serotonin) im Liquor sowie einer erhöhten Anzahl von Serotonin-2A-Rezeptoren auf den Thrombozyten und Suizidalität bei psychiatrischen Patienten festgestellt (Nordstrom et al., 1994; Pandey et al., 1995). Des Weiteren soll ein erhöhter 3-Methoxy-4-Hydroxyphenylglycol-Spiegel (der Metabolit von Adrenalin und Noradrenalin) im Liquor sowie eine erhöhte Konzentration von Noradrenalin/Adrenalin im Urin mit einem erhöhten Suizidrisiko einhergehen (Sunnqvist et al., 2008).

Viele Suizidpatienten zeigen auch eine veränderte Dexamethason-Suppression, was einer Hyperaktivität der Hypothalamus-Hypophyse-Nebennierenrinden-Achse entspricht (Coryell und Schlesser, 2001).

Es bleibt jedoch unklar, welche genauen molekularen und zellulären Veränderungen im Gehirn diesen Befunden zugrunde liegen. In diesem Zusammenhang ist die Verfügbarkeit von eindeutig charakterisierten Post-Mortem-Gehirnproben von Suizidopfern für die Forschung besonders wichtig, da Post-Mortem-Studien unter Verwendung von objektiven neurowissenschaftlichen Methoden eine direkte Einsicht in die Neurobiologie des Gehirns der Suizidenten ermöglichen.

### 1.4. Post-Mortem-Studien

Die an von Suizidenten stammenden Post-Mortem-Gehirnproben durchgeführten Studien ermöglichen die Erforschung von molekularen Mechanismen, die an der Pathologie des Suizids beteiligt sein könnten. Wichtig ist jedoch, dass die Post-Mortem-Studien bestimmte Kriterien erfüllen:

In Deutschland muss nach Bundes- und Landesrecht für die Durchführung einer klinischen Studie bereits vor deren Beginn ein positives Votum einer nach Landesrecht gebildeten Ethikkommission eingeholt werden (Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz, 2012). Welche Ethikkommission für die Beurteilung der Studie zuständig ist, hängt davon ab, in welchem Bundesland die geplante Studie angemeldet wird (Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz, 2012).

Von großer Bedeutung ist, dass die Gehirnprobenentnahme für Post-Mortem-Studien standardisiert nach gleichbleibendem Verfahren durchgeführt wird. Idealerweise soll die Probenentnahme nicht später als 48 Stunden nach dem Tod des Probanden stattfinden (Schmitt et al., 2008).

Des Weiteren sollte eine gründliche neuropathologische Untersuchung der Proben mit dem Ziel, eventuelle makroskopische bzw. neurohistologische Veränderungen festzustellen, erfolgen. Dies kann mit dem Entnehmen von bestimmten Hirnregionen kombiniert werden, sodass die genaue Lokalisierung der untersuchten molekularen Prozesse analysiert werden kann (Schmitt et al., 2008).

Um die Qualität des entnommenen Gewebes festzustellen und seine Eignung für die Bestimmung der Proteinkonzentration sowie für die Genexpressionsanalyse festzulegen, sollen der pH–Wert und die RNA-Integritätsnummer (RIN), d. h. das 28S/18S-rRNA Verhältnis der Proben, gemessen werden (Trabzuni et al., 2011).

Da viele psychiatrische Patienten verschiedene Medikamente erhalten und zusätzlich Alkohol- und Drogenmissbrauch oft mit Suizidalität assoziiert sind,

ist eine möglichst genaue toxikologische Analyse des Gewebes beziehungsweise des von dem Probanden entnommenen Bluts zu empfehlen. Wenn möglich, soll eine „psychologische Autopsie“, d. h. die Eruierung der psychiatrischen, somatischen und sozialen Anamnese durchgeführt werden (Pandey und Dwivedi, 2010).

Insgesamt ist die Gewinnung von Gehirnproben nicht nur aus technischen, aber oft auch aus gesetzlichen, gesellschaftlichen und kulturellen Gründen ein komplizierter Prozess. Die Gewinnung von Kontrollproben erweist sich als noch schwieriger als die von Suizidproben, da nur selten eine Sektion erfolgt, wenn die Todesursache eindeutig ist.

Aktuell werden vermehrt spezielle Gehirnbanken (z. B. UK Brain Banks Network, Netherlands Brain Bank) gegründet, die sich mit der Gehirnprobenentnahme und der systematischen Lagerung und Aufbereitung beschäftigen (Bell et al., 2008). Diese können durch das Anbieten von standardisiert entnommenen Proben für Post-Mortem-Studien die Erfüllung der oben genannten Voraussetzungen erleichtern.

### 1.5. Aktueller Stand der Post-Mortem-Suizidforschung

Mithilfe von Post-Mortem-Studien können Hinweise auf die Rolle von verschiedenen Neurotransmittersystemen, von Veränderungen in der zellulären Signaltransduktion und der Neuroplastizität sowie von neuroendokrinologischen Auffälligkeiten in der zu Suizidalität führenden Ätiopathogenese gefunden werden (Furczyk et al., 2013). Es können auch genetische und Proteomanalysen mit dem Ziel durchgeführt werden, die an suizidalem Verhalten beteiligten Gene und Proteine zu identifizieren. So wurden in mehreren kleineren Studien zahlreiche Daten generiert, die jedoch aufgrund der kleinen Stichprobengröße und der sich oft widersprechenden Ergebnisse in weiteren, größeren Studien überprüft werden müssen (Pandey und Dwivedi, 2010). Des Weiteren können die Ergebnisse früherer, an lebenden Probanden durchgeführter Studien überprüft werden, was zu einer

weiteren Verbesserung unseres Verständnisses der Suizid-Neurobiologie führen wird (Pandey und Dwivedi, 2010).

Dies gilt z. B. für die bereits früher beschriebene Rolle der Neurotransmittersysteme beim Suizid. Unter anderem wurden eine unterschiedliche Dichte und Affinität bestimmter serotoninerger sowie adrenerger Rezeptoren in den Gehirnproben von Suizidopfern gegenüber den Kontrollproben nachgewiesen (Gross-Isseroff et al., 1990; Pandey et al., 2006). Die Bindung von Serotonin an Serotonin-Transporter zeigte sich in den Suizidproben reduziert (Arango et al., 1990; Rosel et al., 2000). In einigen Studien waren die Aktivitäten von Tryptophanhydroxlase, dem geschwindigkeitsbestimmenden Enzym der Serotoninsynthese, sowie von Tyrosinhydroxylase, dem geschwindigkeitsbestimmenden Enzym der Katecholaminsynthese, bei Suizidenten hochreguliert (Ordway et al., 1994; Ono et al., 2002). Eine Genexpressionsanalyse der Gehirnproben von schizophrenen und bipolaren Probanden, die durch Suizid starben, wies auf eine mögliche Rolle des GABA-Neurotransmittersystems bei bipolaren und des glutamatergen Neurotransmittersystems bei schizophrenen Suizidenten hin (Kim, 2007).

Weitere für den Suizid spezifische Veränderungen wurden in der zellulären Signaltransduktion festgestellt. So wiesen die verminderte Aktivität von Proteinkinase A (Dwivedi et al., 2002), die erhöhte 3[H]-cAMP-Bindung (Dwivedi et al., 2002) sowie die erhöhte Konzentration des Transkriptionsfaktors CREB (Odagaki et al., 2001; Dwivedi et al., 2003a; Pandey et al., 2007) in den von Suizidenten gewonnenen Gehirnproben auf eine Beteiligung des Adenylatcyclase-Signalsystems in der Pathologie des Suizids hin. Außerdem wurden auch Veränderungen der Proteinkinase-C-Aktivität in den Suizidproben festgestellt (Pandey et al., 2004).

Ein weiteres interessantes Forschungsthema von Post-Mortem-Studien ist die Neuroplastizität. Unter diesem Begriff versteht man funktionelle und strukturelle, adaptive Veränderungen im Bereich des zentralen Nervensystems, die unter anderem Lernvorgänge ermöglichen (Minatohara et

al. 2016). Es wird vermutet, dass die verminderte Neuroplastizität die Möglichkeit der Problemlösung sowie der entsprechenden Reaktion auf belastende Lebensereignisse einschränkt, was zu Hoffnungslosigkeit und im extremen Fall schließlich zu suizidalem Verhalten führen kann. Dafür sprechen die Ergebnisse der Post-Mortem-Studien, in denen eine verminderte Konzentration des neurotrophischen Faktors BDNF (Dwivedi et al., 2003) sowie der Neurotrophin-3 (Karege et al., 2005), eine herabregulierte Expression des BDNF-Gens (Pandey et al., 2008), eine verminderte Zahl von BDNF-Rezeptoren (Ernst et al., 2009) sowie Veränderungen im Polyaminstoffwechsel (Sequeira et al., 2006; Chen et al., 2010) bei Suizidenten nachgewiesen wurden. Diese Moleküle spielen bei neuroplastischen Anpassungsprozessen eine zentrale Rolle und beeinflussen wahrscheinlich auf molekularer Ebene sich auf Verhaltensebene abspielende Konfliktlösungs- sowie Stressbewältigungsstrategien.

Weitere Analysen des Gehirngewebes zeigten, dass die Konzentration von pro- und antiinflammatorischen Zytokinen in den Suizidproben gegenüber deren Konzentration in den Kontrollproben signifikant verändert war. Dies deutet auf die mögliche Rolle einer Störung des immunologischen Systems in der Entwicklung von suizidalen Ideen oder Handlungen hin (Tonelli et al., 2008; Pandey et al., 2012).

Endokrinologische Analysen zeigten eine Hochregulation des Kortikotropin freisetzenden Hormons (Raadsheer et al., 1994; Austin et al., 2003; Merali et al., 2006) sowie eine verminderte Dichte der Bindungsstellen für dieses Hormon (Nemeroff et al., 1988), was mit der bei einigen suizidalen Patienten beschriebenen Hyperaktivität der Hypothalamus-Hypophyse-Nebennierenrinden-Achse übereinstimmt (Coryell und Schlesser, 2001).

Familien- und Zwillingsstudien zeigten deutlich, dass die Neigung zum Suizid auch hereditären Faktoren unterliegt (Brent und Melhem, 2008; Brent 2010). Ein Teil der Post-Mortem-Studien fokussierte auf bestimmte Kandidatengene, andere nutzten genomweite Assoziationsanalysen, um die Gene, die für das Auftreten der Suizidalität determinierend sind, zu identifizieren (s. u.). Die

Suche nach den daran beteiligten Genen brachte jedoch bis jetzt keinen Durchbruch.
Alle diesen Bemühungen sollen nicht nur der Erklärung der dem Suizid zugrunde liegenden Neuropathologie, sondern auch der Entdeckung möglicher biologischer Prädiktoren des Suizidrisikos dienen. Die Suche nach mit Suizid und mit suizidassoziierten psychiatrischen Krankheiten verbundenen biologischen Faktoren, sog. Biomarker, gilt zurzeit als eine sehr wichtige Forschungsrichtung der Neurowissenschaften.

### 1.6. Biomarker in der Psychiatrie

Unter dem Begriff **Biomarker** versteht man ein messbares Merkmal, das als Indikator für normale oder pathologische biologische Prozesse bzw. für das Ansprechen auf eine therapeutische Intervention dienen kann (Biomarkers Definitions Working Group, 2001).

Die Bestimmung und klinische Anwendung von objektiv messbaren, für verschiedene psychische Leiden charakteristischen Biomarkern könnte zu einer deutlichen Verbesserung in der psychiatrischen Diagnostik, Therapie und Prävention führen, da aktuell psychiatrische Diagnosen aufgrund klinischer Phänomenologie, psychopathologischem Befund und der Einordnung von Symptomgruppen in systematisierte Krankheitsklassifikationen (z.B. ICD-10, DSM V) gestellt werden. D. h., der diagnostische Prozess spielt sich ausschließlich auf Symptomebene ab, sodass psychiatrische Diagnosen zwar einem klinischen Befund entsprechen, aber nicht auf diesem zugrunde liegenden neuropathologischen Prozessen beruhen, obwohl sich die sog. biologische Psychiatrie seit Jahrzehnten darum bemüht. Insofern wird bis heute kritisiert, dass psychiatrische Diagnosen keine „echten nosologischen Einheiten“ darstellen.

Zudem kann es vorkommen, dass Patienten, aufgrund von Scham oder Angst vor mit psychischem Leiden verbundenem Stigma, einen Teil ihrer Symptomen verschweigen oder sogar ganz auf die Inanspruchnahme professioneller Hilfe verzichten. Im Fall von Suizidalität kann dies besonders

tragisch sein, weil es letztendlich zu scheinbar überraschenden, unangekündigten und tragischerweise oft vollendeten Suizidversuchen führen kann. Umso wichtiger wäre die Anwendung von objektiven, auf den biologischen Markern basierenden diagnostischen Maßnahmen in der Psychiatrie.

Aktuelle Biomarker-Studien konzentrieren sich u. a. auf strukturelle Veränderungen des Gehirns wie z. B. ein unterschiedliches Volumen des grauen Substanz bei psychotischen (Koutsouleris et al., 2009) sowie das Auftreten von stummen Infarkten bei depressiven (Wu et al., 2014) Patienten. Veränderungen des Zytokin-Systems wurden im Blut von schizophrenen (de Witte et al., 2014), depressiven (Stelzhammer et al., 2014) und bipolaren (Brambilla et al., 2014) Patienten festgestellt. Ebenfalls zeigten sich Marker des oxidativen Stresses bei psychisch Kranken im Vergleich zu Gesunden verändert (Stelzhammer et al., 2014). Außerdem wurde die Messung des Plasmaspiegels von Glycin als möglicher Prädiktor des Ansprechens auf eine antidepressive Therapie vorgeschlagen (Ji et al., 2011). Auf die mit Suizidalität verbundenen biologischen Veränderungen wurde oben bereits hingewiesen.

Trotz intensiver Bemühungen gelang es aber bisher noch nicht, direkt für bestimmte psychiatrische Pathologien verantwortliche oder in die psychische Krankheit involvierte spezifische neurobiologische Faktoren nachzuweisen, die auch im klinischen Alltag anwendbar wären. Eine der Schwierigkeiten dabei ist, dass psychiatrische Diagnosen so komplex sind, dass es unwahrscheinlich ist, dass es für sie einen einzelnen Biomarker geben könnte (Kapur et al., 2012). Zudem können auch phänomenologisch identische oder ähnliche Störungen unterschiedliche neurobiologische Ursachen haben (Zobel und Maier, 2004). Deshalb wurde das Konzept des Endophänotyps eingeführt. Hierbei werden zeitstabile neurobiologische Krankheitskorrelate als Zielphänotypen betrachtet, da sie vermutlich einer weniger komplexen biologischen Determination unterliegen als der Krankheitsphänotyp (Zobel und Maier, 2004). Endophänotyp-spezifische Biomarker könnten daher leichter als krankheitsspezifische identifiziert werden. In diesem Sinne könnte

eventuell Suizidalität als ein bei verschiedenen psychischen Krankheiten auftretender Endophänotyp betrachtet werden.

Ein anderes Problem der Biomarker-Forschung ist das Festhalten an hypothesengeleiteten Ansätzen, was dazu führt, dass viele Studien nur auf bestimmte mutmaßliche Marker oder bestimmte biologische Systeme (wie z. B. auf das immunologische System) fokussieren. Demgegenüber könnten explorative, hypothesenfreie Ansätze neue Erkenntnisse eröffnen, früher unbekannte oder nicht erkannte Markerkandidaten identifizieren und die Entdeckung von Biomarkern für psychische Krankheiten erleichtern (Kapur et al., 2012).

Aktuell steht Psychiatern in der Diagnostik psychischer Störungen kein anerkannter Biomarker zur Verfügung. Abgesehen von der unterstützenden Anwendung des Spiegels von beta-Amyloid 1-42 im Liquor zur Einschätzung des Risikos für die Alzheimer-Krankheit (AD) (Buchhave, 2012) liegen zurzeit keine klinisch relevanten objektiven biologischen Marker für die Diagnostik von psychischen Krankheiten vor. Die Suche nach Biomarkern wird jedoch fortgesetzt in der Hoffnung, solche Tests zukünftig entwickeln zu können. So wurden kürzlich die unterstützende Anwendung von Blutuntersuchungen auf bestimmte Faktoren für die Diagnostik der Schizophrenie (Tomasik et al., 2012) und Depression vorgeschlagen (Bilello et al., 2013).

Ein sehr wichtiger Teil der auf Biomarker fokussierten Forschung stellen genetische Studien dar. Es ist unumstritten, dass sowohl Suizidalität als auch viele psychische Krankheiten genetisch bedingt sind (Sullivan, 2012). Dies gab einen Anreiz zur Suche nach den für die Entstehung des psychischen Leidens verantwortlichen genetischen Faktoren. Dafür können u. a. die Techniken der Genexpressionsanalyse verwendet werden.

### 1.7. Genexpressionsanalyse

Die Untersuchung der Umsetzung der genetischen Information von DNA und RNA in Proteine, auch Genexpressionsanalyse genannt, liefert qualitative und quantitative Informationen über die Aktivität von Genen im untersuchten

biologischen Material. Die Gene werden als aktiv angesehen, wenn sie zum Zeitpunkt der Messung von DNA in RNA umgeschrieben, d. h. transkribiert, und von RNA in die entsprechende Aminosäuresequenz von Proteinen übersetzt werden (Translation) (Berg, 2007a).

Mithilfe einer Genexpressionsanalyse kann die Aktivität bestimmter Gene oder auch der Summe aller zu einem bestimmten Zeitpunkt exprimierten Gene gemessen werden. Dabei werden entweder bekannte, zuvor identifizierte Zielgene oder die Gesamtzahl aller in der Probe exprimierten Gene durch die Anwendung von genspezifischen Sonden nachgewiesen. Die Sonden sind kurze Ketten aus RNA oder DNA, deren Sequenz komplementär zu jener der untersuchten Gene ist. Nach der Hybridisierung, d. h. komplementären Bindung der Sonden an die untersuchten Gene, erfolgt die Detektion der Zahl von Hybridisierungskomplexen, was eine quantitative Messung der Genexpression ermöglicht. Dies kann entweder durch die Anwendung von radioisotopisch markierten Sonden oder durch die Färbung von hybridisierten Komplexen und die folgende Messung der Radioaktivität bzw. der Fluoreszenz erfolgen (Berg, 2007b).

Eine andere Methode ist die sog. Sequenzierung, d. h. das enzymatische „Herausschneiden“ bestimmter genspezifischer Sequenzabschnitte, auch „Tags“ genannt, aus dem untersuchten Material und die nachfolgende quantitative Bestimmung der sequenzierten Tags, wiederum nach entsprechender Markierung oder Färbung (Velculescu et al., 1995).

Alternativ kann auch direkt die Menge bestimmter Genprodukte, also Proteine, gemessen werden. Dabei werden die Proteine hinsichtlich verschiedener Eigenschaften wie Größe, chemische Interaktionen mit anderen Molekülen, elektrische Ladung, isoelektrischer Punkt oder Molekülmasse aufgetrennt und anschließend mit Antikörpern bzw. mittels verschiedener Markierungen oder Färbungen nachgewiesen (Berg, 2007c).

Eine der meist verwendeten Techniken der Genexpressionsanalyse stellt die Microarray-Hybridisierung, auch als die Hybridisierung an „Genchips“ oder

„Biochips“ bezeichnet, dar (Heller, 2002). Diese molekularbiologische Untersuchungsmethode erlaubt die parallele Analyse von mehreren tausend Einzelgenen oder die Genotypisierung von mehreren Regionen des Genoms anhand einer geringen Menge biologischen Probenmaterials. Dies wird durch die Anwendung von „Biochips“, d. h. von Plastik- oder Glasplättchen, auf denen sich eine große Zahl von Testfeldern mit jeweils einer definierten DNA Sequenz befindet, ermöglicht. Die untersuchten DNA-Proben hybridisieren mit den komplementären, auf den Chips aufgetragenen Sonden. Die dadurch entstehenden Hybridisierungskomplexe werden nach Markierung mit einem Fluoreszenzstoff mittels Fluoreszenzspektroskopie oder Fluoreszenzmikroskopie sichtbar gemacht und quantifiziert. Die Messung der Fluoreszenz erfolgt heutzutage automatisiert nach dem Scannen von Biochips unter Einsatz von entsprechenden Computerprogrammen. Die Microarray-Hybridisierung ermöglicht also eine sehr schnelle, gleichzeitige Untersuchung von vielen Proben auf einer Vielzahl von Genen (theoretisch von allen Genen), die zum Zeitpunkt der Messung in dem untersuchten Material exprimiert werden. Mithilfe einer Microarray-Hybridisierung können alle in der Probe vorhandene DNA-Sequenzen (also nicht nur diejenige von bekannten Genen, sowie auch die von verschiedenen Pseudogenen) identifiziert werden. Ein Pseudogen ist ein DNA-Abschnitt, der zwar wie ein Gen aufgebaut ist, jedoch entweder nur eine Duplikaten des funktionellen Gens darstellt oder durch Mutationen außer Kraft gesetzt wurde, sodass es nicht mehr als Vorlage für ein funktionales Protein dient (Vanin, 1985). So entsteht durch die Microarray-Analyse eine komplette Übersicht über die gesamte in der untersuchten Probe vorhandene aktive genetische Information. Eine solche genomweite Genexpressionsanalyse stellt eine geeignete Methode zur Durchführung hypothesenfreier genetischer Vergleichanalysen zwischen verschiedenen Studienpopulationen und Kontrollprobanden dar (Berg, 2007b). So können die Gene, die in den Vergleichgruppen unterschiedlich exprimiert werden und möglicherweise mit der untersuchten Pathologie verbunden sind, bestimmt werden.

Die Expression der so identifizierten Kandidatengene kann dann mit spezifischen, also auf bestimmte Gene beschränkten Methoden, wie z. B.

mithilfe einer qRT-PCR (d. h. quantitativen Echtzeit-Polymerase-Kettenreaktion) überprüft werden. Diese Methode dient der enzymatischen Amplifikation bestimmter Gene und der quantitativen Messung ihrer Expression. Die Amplifikation erfolgt unter Verwendung genspezifischer Primer, die den zu amplifizierenden DNA-Abschnitt flankieren und als Startpunkt für die erste Verknüpfungsreaktion dienen. Es folgt die Messung der Konzentration des Reaktionsprodukts mithilfe der dem Reaktionsgemisch zugesetzten Farbstoffe oder speziellen Sonden und dadurch die Bestimmung des Ausmaßes der Genexpression (Berg, 2007b).

So können durch die initiale hypothesenfreie Genexpressionanalyse und die darauffolgende Verifizierung der Ergebnisse mithilfe einer genspezifischen Methode die potenziellen genetischen Marker bestimmter Pathologien nachgewiesen werden. Damit erfüllt dieser Forschungsansatz auch die Voraussetzungen einer explorativen Suche nach möglichen genetischen Biomarkern der Suizidalität.

### 1.8. Aufgabenstellung und Begründung

Mit vorliegender Arbeit wurden folgende Ziele verfolgt:

1. Durchführung einer Pilotstudie mithilfe einer vergleichenden, genomweiten Genexpressionsanalyse der Gehirnproben von Suizidopfern und Kontrollprobanden.

2. Identifizierung von unterschiedlich exprimierten Genen als Kandidatengene für Suizidalität und Charakterisierung der festgestellten Unterschiede in Genexpression (herauf- und herabregulierte Gene).

3. Verifizierung der Ergebnisse der genomischen Analyse durch Quantifizierung der Expression der unterschiedlich exprimierten Gene mittels qRT-PCR unter Verwendung genspezifischer Primer.

4. Charakterisierung der neurobiologischen Prozesse, in welche die identifizierten Kandidatengene involviert sind und Analyse ihrer möglichen Rolle in der dem Suizid zugrunde liegenden Pathologie.

5. Überprüfung der Methode der Genexpressionsanalyse mit nachfolgender Verifizierung mittels qRT-PCR als hypothesenfreier Forschungsansatz.

Hauptziel dieser Pilotstudie war es, Daten als Planungsgrundlage für spätere weiterführende Studien zu generieren. Mittels einer genomweiten Genexpressionsanalyse der von Suizidenten und Kontrollprobanden gewonnenen Gehirnproben wurde nach mit dem Suizid assoziierten genetischen Faktoren gesucht. Die initiale Genexpressionsanalyse wurde nicht hypothesengeleitet auf bestimmte Gene gerichtet, sondern hypothesengenerierend auf die Bestimmung aller Gene, deren Expression in beiden verglichenen Gruppen statistisch unterschiedlich ist. Ziel dieses hypothesenfreien Verfahrens war es, Gene, deren veränderte Expression möglicherweise mit Suizid assoziiert werden kann, also die Kandidatengene für Suizid, zu identifizieren.

Die Bestimmung von neurobiologischen Prozessen, in denen diese Gene eine wichtige Rolle spielen, könnte zunächst zur Gewinnung neuer Kenntnisse über die dem Suizid zugrunde liegende Pathophysiologie führen. Die generierten Daten sollen später an einer größeren Probenzahl überprüft werden. Nach einer solchen Verifizierung könnten schließlich die Produkte der Kandidatengene oder andere mit ihrer Funktion verbundenen biologischen Marker als mögliche Biomarker der Suizidalität auch klinisch relevant sein.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Probanden und Gewebematerial

Die Hirnproben wurden im Rahmen rechtsmedizinischer Obduktionen in das Institut für Rechtsmedizin der Universität Rostock in den Jahren 2012 und 2013 entnommen. Insgesamt wurden 15 Gehirnproben entnommen, darunter zehn Suizidproben und fünf Kontrollproben. Die demographischen Daten sowie bekannte psychiatrische Diagnosen der Suizidenten und Kontrollprobanden wurden anhand der rechtsmedizinischen und, wenn verfügbar, psychiatrischen Akten erhoben. Für die Durchführung der Studie lag ein positives Votum der Ethikkommission der Universitätsmedizin Rostock vor.

Unter den zehn Suizidenten befanden sich zwei Frauen. Eine 31-jährige in der psychiatrischen Klinik bekannte Patientin mit polyvalentem Substanzmissbrauch starb an einer absichtlichen Überdosierung mit Heroin, Kokain und Benzodiazepinen. Eine 70-jährige ebenfalls bekannte Patientin mit beginnendem demenziellem Syndrom vom Alzheimer Typ (AD) und Depression erstickte, nachdem sie sich eine Plastiktüte über den Kopf gezogen hatte. Unter den acht männlichen Suizidenten befanden sich drei (im Alter von 48, 39 und 28 Jahren), die sich erhängten und so starben. Unter ihnen befand sich ein Patient, der an einer sog. Anpassungsstörung litt. Die anderen beiden hatten keine psychiatrische Vorgeschichte. Unter den übrigen Suizidfällen befand sich ein an akuter paranoider Psychose erkrankter 30-jähriger Mann, der durch absichtliche Methan-Intoxikation starb (Küchenherd), ein 62-jähriger, unter wahnhafter Depression leidender Kranker, der aus der Höhe sprang, ein 44-jähriger ADHS-Patient, der absichtlich Methylphenidat überdosierte sowie ein 73-jähriger Mann ohne bekannte psychiatrische Vorerkrankungen, der durch Strangulation starb. Der durch Methan-Intoxikation gestorbene Patient hatte sich zum Zeitpunkt seines Todes unerlaubt und ohne Absprache von der psychiatrischen Akutstation entfernt. Von den anderen Suizidenten befand sich zum Todeszeitpunkt keiner mehr in psychiatrischer Behandlung.

Unter den Kontrollfällen befanden sich zwei Männer (42 und 57 Jahre), die an Myokardinfarkt starben, ein 47-jährige Mann, der durch Asphyxie aufgrund eines Arbeitsunfalls starb, sowie eine 29-jährige Frau und ein 49-jähriger Mann, die bei einem Unfall ertranken.

Die Post-Mortem-Zeit betrug in den meisten Fällen zwischen 48 und 72 Stunden. Nur im Fall der 70-jährigen Alzheimer-Patientin war diese mit 196 Stunden deutlich länger, die Qualität des Gehirngewebes wurde jedoch durch eine niedrige Umgebungstemperatur aufrechterhalten, was durch die Qualitätsüberprüfung (RNA-Qualitätskontrolle, s. u.) bestätigt wurde.

Von dem anlässlich der Obduktion routinemäßig entnommenen Gehirn wurden nachfolgende Gewebsproben entnommen: präfrontaler Cortex, frontaler Cortex, Striatum, Amygdala, entorhinaler Cortex, Hippocampus, Corpus callosum, occipitaler Cortex, Thalamus, Hypothalamus, Cerebellum, parietaler Cortex. Überwiegend stammten die Proben aus der linken Hemisphäre. Im Rahmen der Pilotstudie wurden von vier Hirnregionen stammende Proben mittels Genexpressionsananalyse untersucht. Dies waren: Amygdala, Hippocampus, Thalamus sowie präfrontaler Cortex.

Wenn ein Verdacht auf Alkoholintoxikation bzw. Alkoholmissbrauch bestand, erfolgte die Bestimmung des Alkoholspiegels im Blut. Bei einem Verdacht auf gemischte Intoxikation bzw. auf Drogen-/Medikamentenabusus wurde ein toxikologisches Screening auf Alkohol, gängige Drogen und Medikamente durchgeführt. Die toxikologische Analyse zeigte im Fall von zwei absichtlichen Überdosierungen die von den Suizidenten eingenommen Substanzen (d. h. Heroin, Kokain und Benzodiazepine in dem einen, Methylphenidat in dem anderen Fall). Andere nachgewiesene Substanzen waren: Citalopram, Mirtazapin, Quetiapin, Donepezil, Metoprolol, Amlodipin im Fall der Alzheimer-Patientin, Risperidon, Olanzapin, Lorazepam bei dem akut psychotisch Kranken, Cannabis bei dem 39-jährigen Mann, der durch Erhängen starb sowie Alkohol bei dem 59-Jährigen, der aufgrund der Asphyxie durch Strangulation starb. In zwei der Kontrollfälle wurde die

toxikologische Analyse nicht durchgeführt, im Fall des ertrunkenen 24-Jährigen wurde Alkoholintoxikation ausgeschlossen, in den zwei übrigen Fällen wurde Alkohol im Blut der ertrunkenen 29-jährigen Frau sowie des an Myokardinfarkt verstorbenen 42-jährigen Mannes nachgewiesen.

Die demographischen und toxikologischen Daten sind in den Tabellen 1 und 2 zusammenfassend dargestellt.

Alle Gehirnproben wurden homogenisiert und bei -80°C tiefgefroren.

**Tabelle 1.** Demografische Daten der Suizidenten. Abkürzungen: A = Alter; ADHS = Aufmerksamkeitsdefizit-/Hyperaktivitätsstörung; BDZ = Benzodiazepine; G = Geschlecht; M = männlich; N = negativ; ND = nicht durchgeführt; P = positiv; PMZ = Post-Mortem-Zeit; W = weiblich.

| G | A (J.) | PMZ (Std.) | TODESURSACHE | PSYCHIATRISCHE DIAGNOSE | TOXIKOLOGISCHES SCREENING | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ALKOHOL | MEDIKAMENTE /DROGEN |
| W | 31 | 72 | Heroin- und Kokain-Intoxikation | Polyvalenter Substanz-missbrauch | N | Heroin, Kokain, BDZ |
| W | 70 | 196 | Asphyxie | Depression, Demenz vom Alzheimer Typ | N | Citalopram, Mirtazapin, Quetiapin, Donepezil, Metoprolol, Amlodipin |
| M | 48 | 9 | Erhängen | Anpassungs-störung | ND | ND |
| M | 30 | 42 | Methan-Intoxikation | Akute paranoide Psychose | N | Risperidon, Olanzapin, Lorazepam |
| M | 39 | 31 | Erhängen | Keine | N | Cannabis |
| M | 62 | 49 | Sprung aus der Höhe | Depression, wahnhaft | ND | ND |
| M | 59 | 73 | Asphyxie | Keine | P | N |
| M | 27 | 44 | Intoxikation mit Methylphenidat | ADHS | N | Methylphenidat |
| M | 50 | 40 | Ertrinken | Alkohol-abhängigkeit | N | ND |
| M | 28 | 50 | Erhängen | Keine | ND | ND |

**Tabelle 2.** Demografische Daten der Kontrollpatienten. Abkürzungen: A = Alter; G = Geschlecht; M = männlich; MDD = Depression; N = negativ; ND = nicht durchgeführt; P = positiv; PMZ = Most-Mortem-Zeit; W = weiblich.

| G | A (J.) | PMZ (Std.) | TODESURSACHE | PSYCHIATRISCHE DIAGNOSE | TOXIKOLOGISCHES SCREENING | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ALKOHOL | MEDIKAMENTE /DROGEN |
| W | 29 | 70 | Ertrinken | Keine | P | ND |
| M | 47 | 47 | Asphyxie | Keine | ND | ND |
| M | 49 | 24 | Ertrinken | Keine | N | ND |
| M | 42 | 45 | Myokardinfarkt | Keine | P | ND |
| M | 57 | 41 | Myokardinfarkt | Keine | ND | ND |

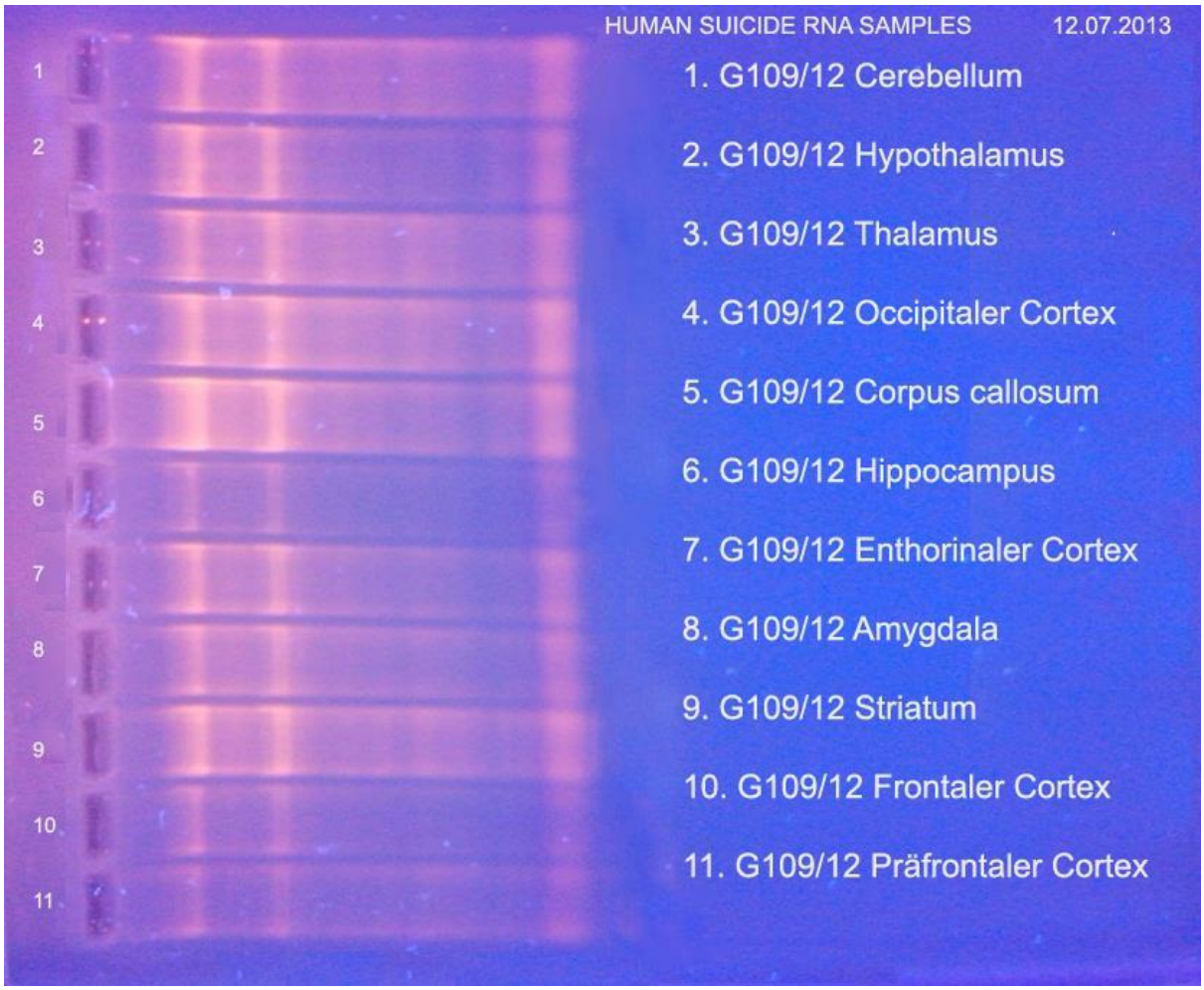
### 2.2. RNA-Isolierung und RNA-Qualitätskontrolle

Die Isolierung der kompletten RNA aus dem homogenisierten Gewebe erfolgte unter Verwendung von TRIzol-Reagent (Invitrogen Life Technologies, Deutschland). Die genomische DNA wurde mithilfe des Rneasy-Plus-Kits beseitigt (Qiagen, Deutschland).

Um die Qualität des gewonnenen Gewebematerials vor der weiteren Verarbeitung der Proben zu überprüfen, wurde unter Verwendung des RNA-6000-nano-Kits unter dem Bioanalyzer-2100-Instrument (Agilent, Deutschland) die RNA-Integritätsnummer gemessen. Der RIN betrug zwischen 6,5 und 8,2, wobei RNA-Qualität von einem RIN > 5 als ausreichend für die qRT-PCR angesehen wird (Trabzuni et al., 2011).

Die RNA wurde durch die Elektrophorese in 2%-igem Agarose-Gel bei einer anliegenden konstanten Spannung von 80 Volt überprüft und mithilfe des fluoreszierenden Farbstoffs Ethidiumbromid bei UV-Licht mit einer Wellenlänge von 254 nm durch Fluoreszenz visualisiert (Abb. 1).

**Abbildung 1.** RNA – Elektrophorese zur Qualitätskontrolle. Beispiel. Zu sehen sind bei den Proben 1–5 sowie 7–9 in hohem Maße vorhandene RNA-Streifen. Bei den Proben 6, 10 und 11 ist die RNA ebenfalls präsent, jedoch in geringem Maße.




### 2.3. Genexpressionsanalyse durch Microarray-Hybridisierung

Aus 200 ng jeder RNA-Probe wurde mithilfe des Whole-Transcript-(WT)-Expression-Kits (Ambion, Deutschland) durch Reverse-Transkription eine doppelsträngige cDNA erzeugt. Zunächst wurden dann durch In-Vitro-Transkription und die erneute Reverse-Transkription einsträngige Sinnstränge von DNA hergestellt. Die Hybridisierungscocktails wurden durch Fragmentierung und Biotin-Markierung der Ziel-DNA nach dem GeneChip-

WT-Terminal-Kit Protokoll (Affymetrix, USA) hergestellt. Die Hybridisierungscocktails wurden auf den GeneChip-Array (Affymetrix, USA) gegeben und die cDNA-Sequenzen hybridisierten an ihren komplementären Gegenpart auf dem GeneChip. Die hybridisierten Proben wurden durch die Zugabe einer Fluoreszenzfärbung identifiziert. Die Microarray-Hybridisierung und Fluoreszenzfärbung erfolgten den Herstelleranweisungen entsprechend unter Verwendung der Fluidics Station 450 (Affymetrix, USA) und des Programmes FS450_0007 (Affymetrix, USA). Die gewonnenen Dateien wurden mithilfe einer Expression-Console Software (Affymetrix, USA) graphisch hergestellt.

Die stabil hohe Qualität der Microarray-Daten wurde durch die Sichtüberprüfung der gescannten Hybridisierungsbilder auf Artefakte sowie durch die Vergleichsanalyse der Rohdaten gegenüber den statistisch normalisierten Daten sichergestellt. Um den Fehler, der durch die Visualisierung von den nur teilweise komplementären, unspezifisch hybridisierten Proben neben den spezifisch hybridisierten Proben entsteht, zu verringern, wurde die explorative Robust-Microarray-Average-(RMA)-Messmethode angewendet (Irizarry, 2003). Dabei werden die Daten hintergrundkorrigiert und doppelt-logarithmisch transformiert. Die Normalisierung der Daten wurde mithilfe der Quantil-Methode (Bolstad, 2003) durchgeführt. Diese statistische Methode dient der Verringerung von systemischen Fehlern, die aus technischen Gründen, wie z. B. durch Intensitätsunterschiede des Farbstoffs, entstehen können.

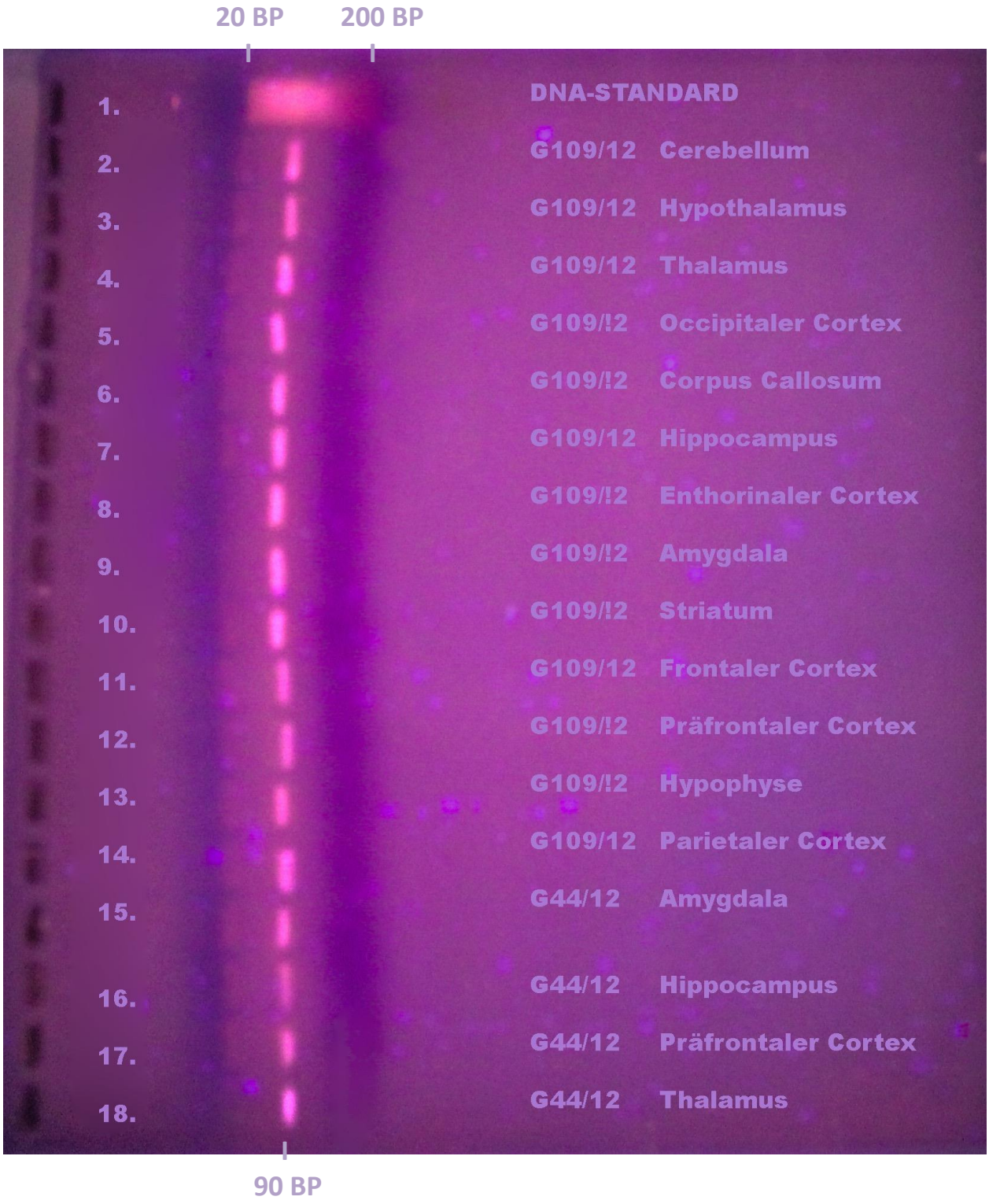
### 2.4. Quantitative Echtzeit-PCR (qRT-PCR)

Zur Verifizierung der durch die Microarray-Hybridisierung gewonnenen Expressionsdaten wurde die qRT-PCR derjenigen stark unterschiedlich exprimierten Genen verwendet, für die kommerzielle Primers erhältlich sind. Dies waren insgesamt zwölf Gene.

Zum Zweck der qRT-PCR wurde die cDNA aus den langen Strängen der gesamten RNA mithilfe des High-Capacity-cDNA-reverse transcription-Kits (Applied Biosystems, USA) synthetisiert.

Die qRT-PCR wurde in PCR-Platten nach dem Step-One-Plus–System-Protokoll (Applied Biosystems) durchgeführt, unter Anwendung von iQ-SYBR-Green-Master Mix (BioRad Laboraties, USA). Zum Ende des Amplifikationsprozesses wurde das PCR-Produkt in Ethidiumbromid-Synergel überprüft, wobei die im elektrischen Feld bewegliche mit Beladungspuffer gemischte cDNA das Gel bei einer anliegenden konstanten Spannung von 120 Volt mit einer zu dem Logarithmus ihres Molekulargewichts proportionalen Geschwindigkeit von der Kathode zur Anode durchwanderte. Die Fragmente wurden bei UV-Licht durch Ethidiumbromid als hellrot-orange Fluoreszenz sichtbar. Die Bestimmung der Fragmentlängen erfolgte durch den Vergleich mit einem mitlaufenden DNA-Marker (Abb. 2).

**Abbildung 2.** DNA – Elektrophorese. Beispiel: Oben ist ein DNA-Marker zu sehen, der 20 bis 200 Basenpaaren (BP) erhält. Von 2 bis 18 zeigen sich Amplifikationsprodukte des hRPL13A–Gens mit der Länge von 90 BP.



Alle Proben wurden in Triplikaten amplifiziert. Die Daten wurden unter Verwendung der ΔΔCt-Methode (Livak und Schmittgen, 2001) analysiert. Hierbei wird die Expression eines Zielgens auf die Expression eines nicht regulierten, konstant exprimierten Referenzgens (sog. „houskeeping-Gen“) bezogen. Als Referenzgene bezeichnet man Gene, die ubiquitär synthetisiert werden, da sie zum Überleben der Zellen notwendig sind und von denen angenommen wird, dass sie konstant exprimiert werden. Aus den Delta-Ct-Werten beider Gruppen wurde anschließend der Delta-Delta-Ct-Wert gebildet. Um den Expressionsunterschied zwischen beiden Gruppen zu ermitteln, wird dieser Wert anschließend in die Formel $2^{-\Delta\Delta Ct}$ eingesetzt. Der $2^{-\Delta\Delta Ct}$-Wert entspricht dem “*fold change*” (FC), also einer x-fachen Änderung des Expressionswerts. Die Formel laute:

$$\Delta Ct = Ct\ Zielgen - Ct\ Referenzgen$$

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct\ Suizidenten - \Delta\ Ct\ Kontrollen$$

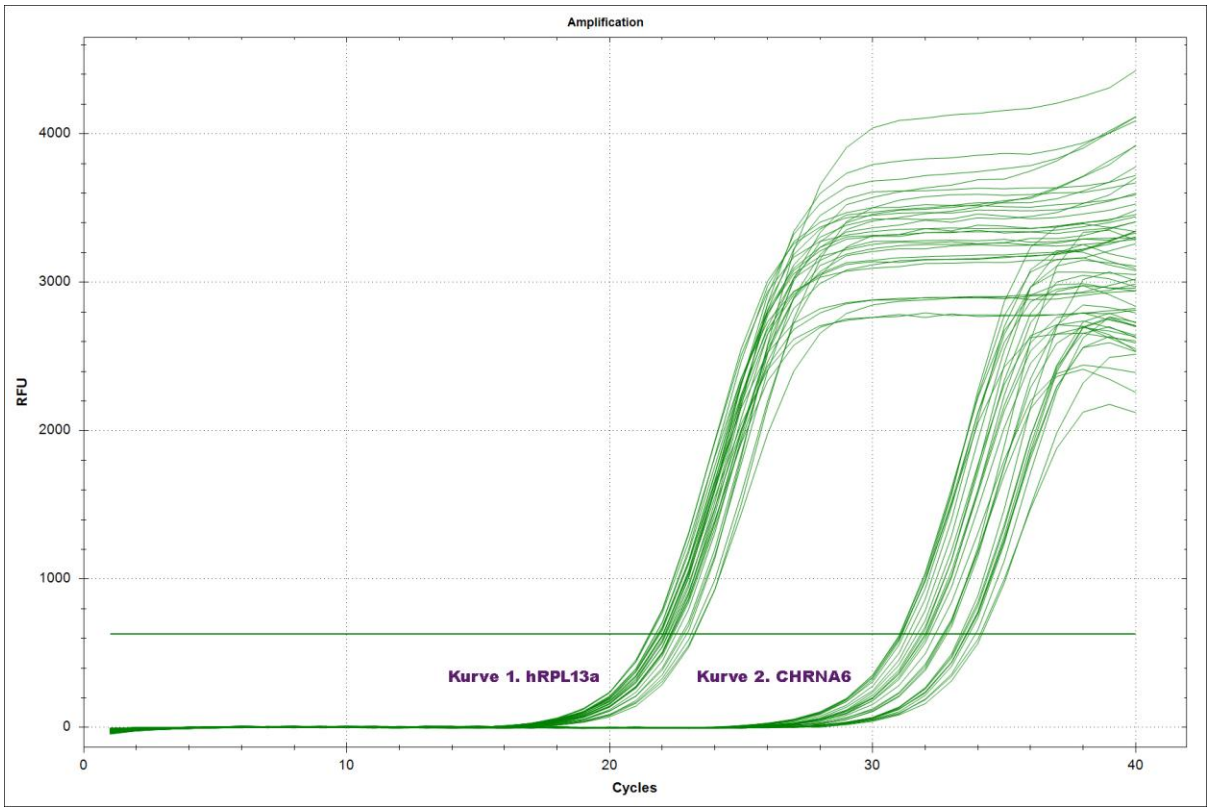
$$Expressionswert\ (\textit{fold change}) = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

Der Ct-Wert entspricht dem Zeitpunkt bzw. dem Zyklus der PCR, in dem sich das Fluoreszenzsignal gerade deutlich von der Hintergrundstrahlung abhebt. Je niedriger der Ct-Wert ist, also je eher sich das Fluoreszenzsignal von der Hintergrundstrahlung abhebt, desto mehr Kopien des Zielgens sind zu Beginn in der Probe enthalten. Die Genexpressionsdaten wurden über einen Abgleich mit dem Mittelwert der Expression des Referenzgens Ribosomalprotein L 13a (hRPL13A) normalisiert. hRPL13A kodiert für eine der Komponenten der großen Untereinheit des Ribosoms, auch Einheit 60S genannt. Die Anwendung dieses Gens als Referenzgens in Genexpressionsstudien wurde bereits in der Literatur beschrieben (Jesnowski et al., 2012).

Der relative Genexpressionswert wurde als das Verhältnis zwischen der Expression der zu bestimmenden Gene und der Referenzgenexpression definiert. Schließlich wurde die relative Expression der ausgewählten Gene in den Suizidproben mit der Expression derselben Gene in den Kontrollproben abgeglichen. Alle Primer wurden durch Eurofinn, Deutschland, hergestellt.

In Abbildung 3 sind beispielhaft die Amplifikationskurven mit unterschiedlichen cDNA-Konzentrationen dargestellt.

**Abbildung 3.** Beispielhafte Amplifikationskurven. Die Expression des Gens CHRNA6 (Kurve 2) in jeder untersuchten Probe wurde über einen Abgleich mit dem Mittelwert der Expression des Housekeeping-Gens hRPL13A in der gleichen Probe (Kurve 1) normalisiert. RFU = Relative Fluoreszenzeinheiten (relative fluorescence units).




## 2.5. Statistische Analyse

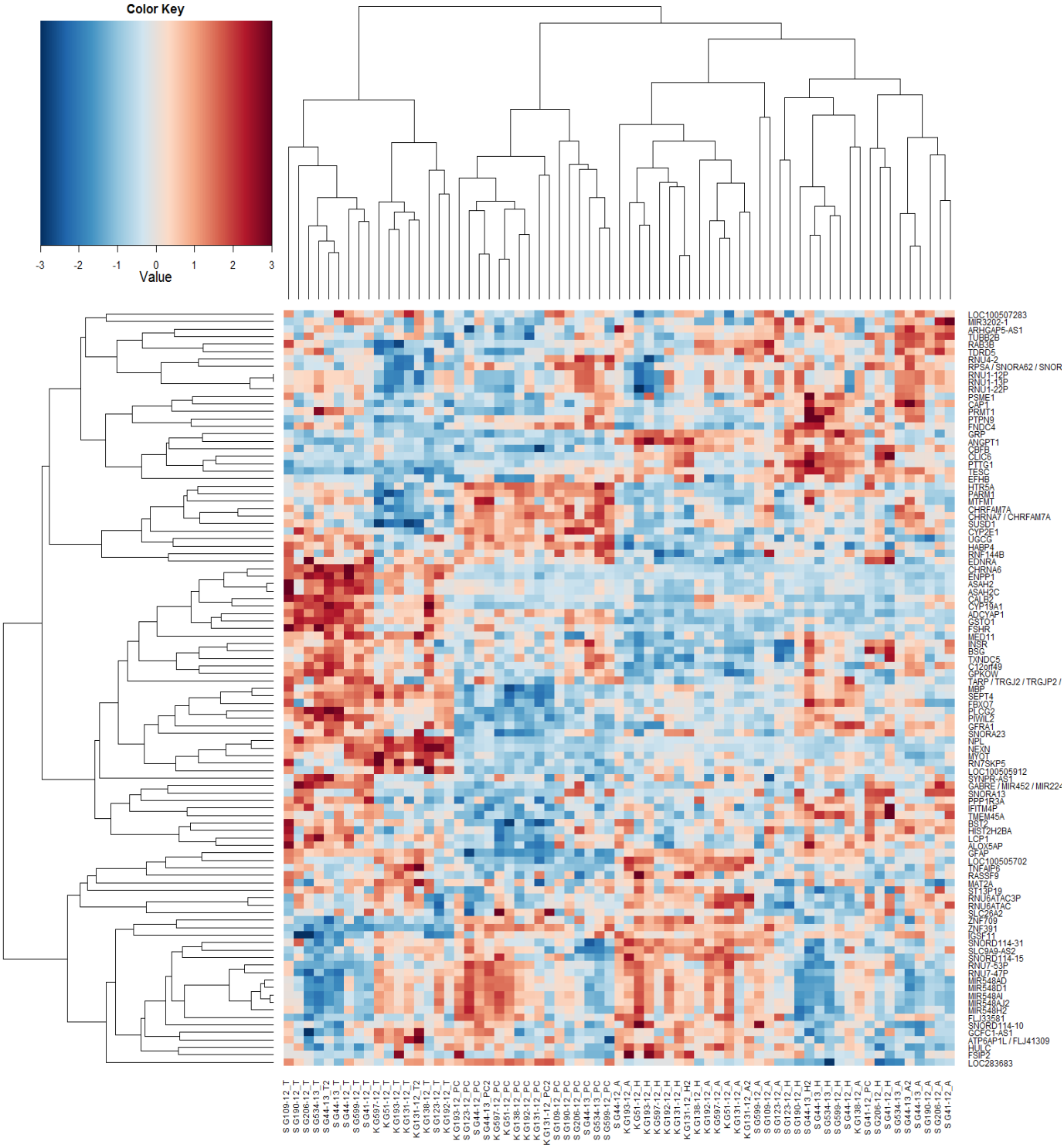
### 2.5.1. Microarray-Daten

Die unterschiedlich exprimierten Gene wurden durch Vergleich der Suizidproben mit den Kontrollproben ermittelt. Das Signifikanzniveau wurde nach der sog. GSEA–Methode mithilfe eines speziellen Permutationstest bestimmt (Subramanian et al., 2005), wobei ein p–Wert von unter 0,05 als

signifikant angenommen wurde. Die statistische Korrektur des Signifikanzniveaus für multiple Testprobleme wurde unter Verwendung der sog. False Discovery Rate (FDR) durchgeführt. Die FDR stellt die erwartete Proportion aller fälschlicherweise positiven Tests im Verhältnis zu allen signifikanten Tests dar (Kendziorski, 2003). Der FDR-Wert für im paarweisen Vergleich zwischen Suizidenten und Kontrollprobanden unterschiedlich exprimierte Gene wurde mit der empirischen Bayes-Methode unter Verwendung der lognormalen Datenmodellierung nach Kendziorkski (2003) berechnet. Ein FDR-Wert von unter 0,05 wurde als signifikant angenommen, was bedeutet, dass von jeweils 100 statistisch signifikanten Ergebnissen maximal fünf fälschlicherweise als positiv ausfallen. Dies lieferte insgesamt 100 regionalspezifische, unterschiedlich exprimierte Gene. Die Expressionswerte wurden zunächst einer agglomerierenden, hierarchischen Cluster-Bildung unterworfen, deren Resultate in Form einer sog. Heatmap dargestellt wurden (Abb. 4). Die Expression der Gene wurde mithilfe eines Farbenspektrums von Rot bis Blau dargestellt, wobei die Intensität der Farben von dunkelblau über hellblau, rosa bis rot den steigenden Expressionswerten entspricht. So sind im Vergleich zum Mittelwert der Expression die blau markierten Gene herab-, die rot markierten Gene wiederum heraufreguliert.

Die unterschiedlich exprimierten Gene wurden zunächst nach dem durchschnittlichen Expressionswert-*fold change* (= x-fache Änderung des Expressionswerts) gefiltert, wobei ein FC von über 1,3 als signifikant angenommen wurde. Dies ergab schließlich 31 besonders stark unterschiedlich exprimierte Gene.

**Abbildung 4.** Heatmap der unterschiedlich exprimierten Gene. Zu sehen sind: links die Gene nach den untersuchten Proben sortiert, rechts die einzelnen Gene, oben die Proben nach Ähnlichkeit des Expressionsmusters paarweise in Cluster gruppiert, unten gelistet die einzelnen Proben.



### 2.5.2. qRT-PCR Daten

Die zwölf unterschiedlich exprimierten Gene, deren Primer kommerziell erhältlich waren, wurden durch den Vergleich der FC-Werte der betroffenen Genen von den Kontrollproben mit den Suizidproben in den entsprechenden Gehirnregionen verifiziert. Die FC-Werte der beiden Gruppen wurden unter Verwendung des einseitigen t-Tests analysiert (GraphPad Prism, USA) und ein p-Wert von unter 0,05 wurde als signifikant angenommen.

# 3. Ergebnisse

## 3.1. Anzahl und Art der unterschiedlich exprimierten Gene nach Gehirnregionen

Die initiale, rein quantitative Microarray-Analyse der Gehirnproben wies die Expression von insgesamt 26.774 Genen auf. Dieses Ergebnis stimmt mit anderen ähnlichen Analysen überein, die Expression von circa 30.000 verschiedenen Genen im menschlichen Gehirn aufwiesen, was circa 85 % aller menschlichen Gene entspricht (Hawrylycz et al., 2012; Zeng et al., 2012).

Im Vergleich der Genexpression zwischen der Suizid- und Kontrollgruppe fanden sich schließlich 31 unterschiedlich exprimierte Gene und Pseudogene (in alphabetischer Reihenfolge: ADCYAP1, ALOX5AP, ANGPT1, CALB2, CHRNA6, CLIC6, EDNRA, GFAP, GFRA1, IFITM4P, LOC100505702, MIR548AD, MIR548AI, MIR548AJ2, MIR548H2, NEXN, NPL, PARM1, RAB3B, RNU4-2, RNU6ATAC, RNU6ATAC3P, RNU7-47P, RNU7-53P, SNORA13, SNORD114-10, SNORD114-15, SNORD114-31, SUSD1, TNFAIP6, TUBB2B). Davon war ein Gen (SNORA13) in allen vier untersuchten Gehirnregionen unterschiedlich exprimiert, zwei Pseudogene (RNU7-47P und RNU7-53P) wiesen Expressionsunterschiede in den Amygdala, im Hippocampus und im Thalamus auf, und ein unterschiedlich exprimiertes Gen (ALOX5AP) wurde im Hippocampus, im präfrontalen Cortex sowie im Thalamus nachgewiesen. Weiterhin waren zwei Gene (SNORD114-10 und SNORD114-31) in den Amygdala und im Hippocampus, ein Gen (TNFAIP6) in den Amygdala und im Thalamus, ein Gen (RNU4-2) im Thalamus und im präfrontalen Cortex und ein Gen (PARM1) im Hippocampus und im Thalamus unterschiedlich exprimiert. Außerdem wiesen zehn Gene (ANGPT1, CLIC6, ENDRA, GFRA1, IFITM4P, MIR548AD, MIR548AI, MIR548AJ2, MIR548H2, RNU6ATAC) im Hippocampus, sieben Gene (ADCYAP1, CALB2, CHRNA6, NEXN, NPL, RAB3B, SUSD1) im Thalamus und fünf weitere Gene (GFAP, LOC100505702, RNU6ATAC3P, SNORD114-15, TUBB2B) in den Amygdala Expressionsunterschiede auf (siehe Tab. 3).

Die Verteilung der unterschiedlich exprimierten Gene nach Gehirnregionen ist in Abbildung 5 mithilfe eines Venn-Diagramms dargestellt. Diese Art der Darstellung erlaubt eine rasche, intuitive Erfassung der Anzahl von in den entsprechenden Hirnregionen gleichzeitig verändert exprimierten Genen.

**Tabelle 3.** Unterschiedlich exprimierte Gene und deren Funktionen. Reihenfolge nach der Anzahl der betroffenen Hirnregionen.

| GEN | FUNKTION | AMYGDALA | | HIPPOCAMPUS | | PRÄEFRONTALER CORTEX | | THALAMUS | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | FC | p-Wert | FC | p-Wert | FC | p-Wert | FC | p-Wert |
| SNORA13 | Modifizierung der RNA | **1,87** | **0,01** | **1,9** | **0,01** | **2,5** | **< 0,01** | **1,86** | **0,01** |
| RNU7-47P | snRNA - Pseudogen | **-1,35** | **0,01** | **-1,39** | **< 0,01** | | | **-1,5** | **<0,01** |
| RNU7-53P | snRNA - Pseudogen | **-1,54** | **< 0,01** | **-1,35** | **0,01** | | | **-1,36** | **< 0,01** |
| ALOX5AP | Neuroinflammation | | | **1,34** | **< 0,01** | **1,43** | **< 0,01** | **1,35** | **< 0,01** |
| SNORD 114-10 | gehirnspezifische snoRNA | **-1,37** | **0,04** | **-1,74** | **< 0,01** | | | | |
| SNORD 114-31 | gehirnspezifische snoRNA | **-1,38** | **< 0,01** | **-1,58** | **< 0,01** | | | | |
| TNFAIP6 | Neuroinflammation | **-1,33** | **< 0,01** | | | | | **-1,32** | **< 0,01** |
| PARM1 | Potenzielles Onkogen | | | **1,47** | **< 0,01** | | | **1,71** | **< 0,01** |
| RNU4-2 | An Spleißen und Verarbeitung der pre-mRNA beteiligt | | | | | **1,31** | **< 0,01** | **1,35** | **< 0,01** |
| TUBB2B | Neuroplastizität durch Zellskelett; neurovaskuläre Einheit | **1,38** | **< 0,01** | | | | | | |
| GFAP | Astrozytosis-Marker; neurovaskuläre Einheit | **1,4** | **< 0,01** | | | | | | |
| LOC100505702 | nicht bekannt | **-1,55** | **< 0,01** | | | | | | |

**Tabelle 3.** Fortsetzung

| GEN | FUNKTION | AMYGDALA | | HIPPOCAMPUS | | PRÄEFRONTALER CORTEX | | THALAMUS | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | FC | p-Wert | FC | p-Wert | FC | p-Wert | FC | p-Wert |
| GFAP | Astrozytose-Marker; neurovaskuläre Einheit | **1,4** | **< 0,01** | | | | | | |
| LOC100505702 | nicht bekannt | **-1,55** | **< 0,01** | | | | | | |
| RNU6ATAC3P | mit snRNA verwandtes Pseudogen | **-1,38** | **< 0,01** | | | | | | |
| SNORD114-15 | gehirnspezifische snoRNA; | **-1,39** | **< 0,01** | | | | | | |
| CLIC6 | intrazellulären Chloridkanal; Signaltransmission; möglicherweise in Lernen und Neuroplastizität involviert | | | **1,72** | **< 0,01** | | | | |
| EDNRA | Endothelin-1(ET-1)-Rezeptor, Typ A; Vasokonstriktion; Blutdruck-Regulation; neurovaskuläre Einheit; möglicherweise in Signaltransduktion und Neuroplastizität involviert | | | **1,31** | **< 0,01** | | | | |
| GFRA1 | GDNF-Rezeptor | | | **1,39** | **< 0,01** | | | | |
| ANGPT1 | Angiogenese; Reifung und Stabilisierung der Blutgefäße; neurovaskuläre Einheit; in Neurogenese und Neuroplastizität involviert | | | **-1,32** | **< 0,01** | | | | |

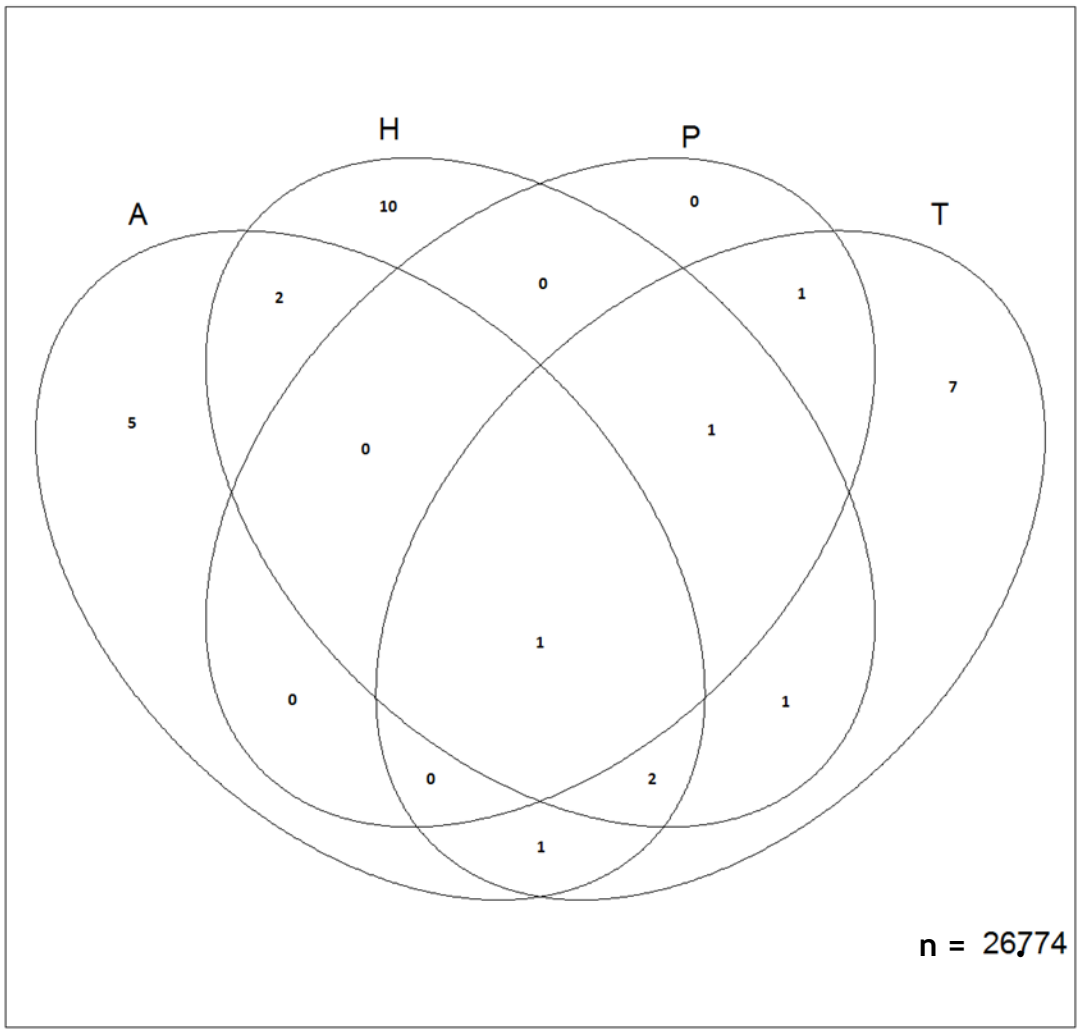
**Tabelle 3.** Fortsetzung

| GEN | FUNKTION | AMYGDALA | | HIPPOCAMPUS | | PRÄEFRONTALER CORTEX | | THALAMUS | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | FC | p-Wert | FC | p-Wert | FC | p-Wert | FC | p-Wert |
| IFITM4P | Interferon-induziertes Transmembranprotein 4 Pseudogen; Neuroinflammation | | | **1,32** | **< 0,01** | | | | |
| RNU6ATAC | erhöht bei zellulärem Stress | | | **-1,55** | **< 0,01** | | | | |
| MIR548AD | microRNA, Regulation von Stabilität und Translation der mRNA | | | **-1,32** | **< 0,01** | | | | |
| MIR548AI | microRNA, Regulation von Stabilität und Translation der mRNA | | | **-1,38** | **< 0,01** | | | | |
| MIR548AJ2 | microRNA, Regulation von Stabilität und Translation der mRNA | | | **-1,38** | **< 0,01** | | | | |
| MIR548H2 | microRNA, Regulation von Stabilität und Translation der mRNA | | | **-1,44** | **< 0,01** | | | | |
| CHRNA6 | alpha-Untereinheit des nikotinischen Acetylcholinrezeptors; Neurotransmission | | | | | | | **1,9** | **< 0,01** |
| ADCYAP1 | antiapoptotisch | | | | | | | **1,32** | **< 0,01** |

**Tabelle 3.** Fortsetzung

| GEN | FUNKTION | AMYGDALA | | HIPPOCAMPUS | | PRÄEFRONTALER CORTEX | | THALAMUS | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | FC | p-Wert | FC | p-Wert | | | FC | p-Wert |
| RAB3B | Vesikelformation und -bewegung; Neurotransmission | | | | | | | **2,13** | **< 0,01** |
| SUSD1 | Kandidatengen für Amyotrophe Lateralsklerose | | | | | | | **1,38** | **< 0,01** |
| NPL | intrazelluläre Adhesion; Neuro-plastizität | | | | | | | **1,31** | **< 0,01** |
| NEXN | Neuroplastizität durch Zellskeleton, Signaltransduktion, neurovaskuläre Einheit | | | | | | | **1,6** | **< 0,01** |
| CALB2 | Signaltransuktion; Modulation der neuronalen Exzitation; antiapoptotisch; in Neuroplastizität involviert | | | | | | | **2,17** | **< 0,01** |

**Abbildung 5.** Anzahl der unterschiedlich exprimierten Gene nach Gehirnregionen (Venn-Diagramm). Abkürzungen: A = Amygdala; H = Hippocampus; n = Anzahl aller exprimierten Gene; P = präfrontaler Cortex; T = Thalamus.



### 3.2. Stark unterschiedlich exprimierte Gene

Das SNORA13-Gen war in allen untersuchten Gehirnregionen durchgehend heraufreguliert, wobei FC zwischen 2,5 im präfrontalen Cortex und 1,86 im Thalamus betrug. Die anderen unterschiedlich exprimierten Gene waren PARM1 (1,47-fach höher exprimiert im Hippocampus und 1,71-fach höher exprimiert im Thalamus von Suizidpatienten im Vergleich zu den Kontrollprobanden), CALB2 (2,17 FC), RAB3B (2,13 FC) und CHRNA6 (1,9 FC), die alle eine Heraufregulation im Thalamus aufwiesen, sowie CLIC6, das im Hippocampus der Suizidpatienten im Vergleich mit den Kontrollen 1,7-mal höher exprimiert war.

Die übrigen Gene und Pseudogene zeigten kleinere Expressionsunterschiede mit FC zwischen über 1,3 und 1,6.

### 3.3. Validierung durch qRT-PCR

Die zwölf mithilfe von qRT-PCR validierten Gene waren: SNORA13, RNU7-47P, ALOX5AP, SNORD114-10, SNORD114-31, TNFAIP6, PARM1, CLIC6, CHRNA6, RAB3B, SUSD1 und CALB2. Eine statistisch signifikante Expressionsveränderung konnte hinsichtlich der folgenden drei Gene festgestellt werden: PARM1, CLIC6 und RB3B (siehe Tab. 4).

**Tabelle 4.** Durch qRT-PCR validierte Gene. Abkürzungen: FC, *fold change*; KE, keine Expression festgestellt; * repliziert durch qRT-PCR

| GEN | FUNKTION | AMYGDALA | | HIPPOCAMPUS | | PRÄEFRONTALER CORTEX | | THALAMUS | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | FC | p-Wert | FC | p-Wert | FC | p-Wert | FC | p-Wert |
| SNORA13 | Modifizierung der RNA | **1,1** | **> 0,05** | **1,2** | **> 0,05** | **1,1** | **> 0,05** | **1,1** | **> 0,05** |
| RNU7-47P | snRNA - Pseudogen | **KE** | **-** | **-1,43** | **> 0,05** | **KE** | **-** | **-1,07** | **> 0,05** |
| ALOX5AP | Neuroinflammation | **1** | **-** | **1,26** | **> 0,05** | **KE** | **-** | **1,43** | **> 0,05** |
| SNORD114-10 | gehirnspezifische snoRNA | **-1,65** | **> 0,05** | **-1,29** | **> 0,05** | | | | |
| SNORD114-31 | gehirnspezifische snoRNA | **1** | **-** | **-1,29** | **> 0,05** | | | | |
| TNFAIP6 | Neuroinflammation | **-1,60** | **> 0,05** | | | | | **-1,63** | **> 0,05** |
| PARM1* | Potenzielles Onkogen | | | **2,11** | **< 0,05** | | | **2,23** | **< 0,05** |
| CLIC6* | intrazellulären Chloridkanal; Signaltransmission; möglicherweise in Lernen und Neuroplastizität involviert | | | **3,36** | **< 0,05** | | | | |
| CHRNA6 | alpha-Untereinheit des nikotinischen Acetyl-cholinrezeptors; Neuro-transmission | | | | | | | **1,21** | **> 0,05** |

**Tabelle 4.** Fortsetzung.

| GEN | FUNKTION | AMYGDALA | | HIPPOCAMPUS | | PRÄEFRONTALER CORTEX | | THALAMUS | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | FC | p-Wert | FC | p-Wert | FC | p-Wert | FC | p-Wert |
| RAB3B* | Vesikelformation und -bewegung; Neuro-transmission | | | | | | | **2,29** | **< 0,05** |
| SUSD1 | Proteinhomöostase; Kandidatgen für Amyotrophe Lateralsklerose | | | | | | | **1,97** | **> 0,05** |
| CALB2 | Signaltransuktion; antiapoptotisch; in Neuroplastizität involviert | | | | | | | **1,26** | **> 0,05** |

# 4. Diskussion

## 4.1. Abgeleitete Hypothesen zur Neurobiologie der Suizidalität

Die Identifizierung von Suizid-assoziierten Genen stellt eine große Herausforderung dar. Die hier durch transkriptomische Analyse der Gehirnproben von Suizidenten nachgewiesenen Expressionsveränderungen bestimmter Gene und Pseudogene weisen auf verschiedene, möglicherweise dem Suizid zugrundeliegende Pathomechanismen hin. Die meisten dieser Gene spielen bei der Neuroplastizität, bei der Stressantwort und bei der Regulation der Translation sowie der Neuroinflammation eine Rolle. Manche weitere Gene sind an innerhalb der neurovaskulären Einheit stattfindenden Prozessen beteiligt. Außerdem war auch die Expression einiger in die intrazelluläre Signaltransduktion involvierten Gene in den Suizidproben im Vergleich mit den Kontrollproben signifikant unterschiedlich. Daraus ergeben sich Hinweise auf mögliche Pathomechanismen, die aufgrund der Ergebnisse unserer Analyse mit suizidalem Verhalten assoziiert sein könnten und die somit eventuell das Kriterium für einen „Biomarker des Suizides“ erfüllen könnten.

### 4.1.1. Störung der Neuroplastizität

Neuronale Schaltkreise des Gehirns unterliegen lebenslangen reaktiven Anpassungsprozessen, die das Lernen neuer Fähigkeiten sowie die Entwicklung entsprechender Reaktionen bei Umweltveränderungen ermöglichen. Auf der zellulären Ebene spiegeln sich diese Prozesse u. a. in der Entstehung neuer Hirnzellen (Neurogenese) und neuer Synapsen wider, wobei auch Zytoskelett-Elemente und extrazelluläre Matrix eine zentrale Rolle spielen (Gallo und Letourneau, 2000; Pittenger und Duman, 2008: Gordon-Weeks und Fournier, 2014). Eine Störung dieser neuronalen Plastizität manifestiert sich unter anderem durch anormale Neurogenese oder Anomalien der Synapsenstruktur wie z. B. strukturelle Veränderungen oder Verlust von Dendriten (Pittenger und Duman, 2008). Es wurde vorgeschlagen, dass diese Veränderungen der Entwicklung psychiatrischer Störungen zugrunde liegen könnten (Duman et al., 1999; Nacher et al., 2013). Weiterhin

kann der Suizid selbst mit spezifischen Störungen der Neuroplastizität, anderen als bei den übrigen psychiatrischen Krankheiten, assoziiert werden (Mann, 1998; Underwood und Arango, 2011). Nach dieser Theorie könnten bei Personen, die einen Suizid begehen, gewöhnliche neuronale Anpassungsprozesse des Gehirns bei belastenden und stressigen Ereignissen aufgrund von unausreichender Neuroplastizität gestört sein. Auf der Verhaltensebene könnte dies zu Hoffnungslosigkeit und Schwierigkeiten bei der Suche nach Alternativlösungen, die ein Weitererleben ermöglichen, führen.

Für die Assoziation zwischen gestörter Neuroplastizität und Suizid sprechen auch Ergebnisse einiger Post-Mortem-Studien, in deren eine mögliche Rolle von BDNF (Dwivedi et al., 2003b; Pandey et al., 2008; Ernst et al., 2009) sowie von NT-3 (Karege et al., 2005) in der Pathogenese von Suizidalität diskutiert wurde.

In diesem Zusammenhang sind die von uns festgestellten Expressionsveränderungen der Gene RAB3B, NEXN, CALB2 (heraufreguliert im Thalamus), TUBB2B (heraufreguliert in der Amygdala), GFRA1 und CLIC6 (heraufreguliert im Hippocampus) und ANGPT1 (herabreguliert im Hippocampus) besonders relevant.

RAB3B kodiert für das Ras-verwandte Protein Rab-3B. Yamamoto et al. (2003) schlugen vor, dass Rab-3B den Transport des apikalen p75-Neurotrophin-Rezeptors (p75NTR) in den Epithelzellen regulieren könnte. Dieser mit allen Neurotrophinen interagierende Rezeptor befindet sich auch an Neuronen (Bamji et al., 1998). Daher könnte die Heraufregulation von RAB3B auf eine veränderte Antwort der thalamischen Nervenzellen auf die neurotrophischen Faktoren hindeuten.

NEXN kodiert für das filamentöse Aktin bindende Protein Nexilin, das wahrscheinlich bei der Zelladhäsion und -migration eine Rolle spielt und auf Zell-Matrix-Adhärenz-Verbindungen lokalisiert ist (Ohtsuka et al., 1998). Nexilin soll die Bildung von Stressfasern und fokalen Adhäsionen (FA)

regulieren (Zhao et al., 2001). Stressfasern sind kontraktile Bündel aus Aktinfilamenten, die bei verschiedenen Zellkulturen präsent sind und eine Schlüsselfunktion bei der Zelladhäsion ausüben (Tojkander et al., 2012). FAs sind Proteinkomplexe, durch die sich das Zellskelett mit der extrazellulären Matrix verbindet und kommuniziert (Fogh et al., 2013). So kann NEXN an der Strukturmodulation der Synapsen beteiligt sein und somit bei der strukturellen Neuroplastizität eine wichtige Rolle spielen (Fogh et al., 2013).

NPL kodiert für ein Mitglied der N-Acetylneuraminate-Lyase-Subfamilie der (beta/alpha)(8)-Fass-Enzyme, welche die zelluläre Konzentration der N-Acetylneuraminsäure (Sialinsäure) durch ihren Einfluss auf die reversible Konversion von Sialinsäure in N-Acetylmannosamin und Pyruvat reguliert (Chu et al., 2009). N-Acetylneuraminsäure ist ein Hauptbestandteil der zerebralen Ganglioside und der Sialoglykoproteine, die Vorläufer für die Synthese der Polysialinsäure, die wiederum in der posttranslationalen Modifikation von verschiedenen NCAM involviert sind (Schnaar et al., 2014). Eine mögliche Assoziation des gestörten Sialinsäure-Stoffwechsel mit der Neuropathologie von mit erhöhtem Suizidrisiko verbundenen psychischen Störungen wie Depression und Schizophrenie wurde von Gilabert-Juan et al. (2012) beschrieben. NCAM und Ganglioside sind wichtige Komponente der Zell-Zell-Interaktionen, die dem Neuriten-Wachstum, der Entwicklung der synaptischen Verbindungen, dem neuronalen Umbau und der Gedächtnisbildung zugrunde liegen (Wang, 2012). Durch seinen Einfluss auf den Stoffwechsel der Sialinsäure kann NPL in reaktive Veränderungen an Synapsen involviert sein.

Das Transkriptionsprodukt von CALB2, ein intrazellulares Kalzium-bindendes Protein Calbindin, schützt Neuronen gegen Apoptose, indem es die kalziumabhängige Freisetzung von Cytochrom C aus den Mitochondrien hemmt (Christakos und Liu, 2004; Ouh et al., 2013) und soll bei der dem emotionalen Gedächtnis zugrunde liegenden neuronalen Plastizität mitwirken (Bienvenu et al., 2013).

TUBB2B kodiert für Beta-Tubulin, das Guanosintriphosphat bindet und ein Hauptbestandteil der Mikrotubuli ist. TUBB2B ist in der neuronalen Organisation sowie in axonalen Wegfindungsprozessen involviert (Romaniello et al., 2012). Burbaeva et al. (1985) beschrieben eine wichtige Rolle des Tubulins bei Lernprozessen in Ratten. Eine Heraufregulation von TUBB2B wurde in einer Proteomanalyse im präfrontalen Cortex schizophrener Patienten festgestellt (Martins-de-Souza, 2009a), was für eine mögliche Rolle dieses Gens in der Pathogenese dieser mit erhöhtem Suizidrisiko verbundenen psychischen Störung sprechen könnte.

ANGPT1 kodiert für Angiopoetin-1, ein Protein, das in der Subventrikularzone Neurogenese-fördernd wirken (Rosa et al., 2010) und das Neuriten-Wachstum in neuronalen Zellkulturen potenzieren kann (Chen et al., 2009). ANGPT1 ist wahrscheinlich mit Veränderungen der dendritischen Organisation der Neuronen in der II-Schicht des motorischen Cortex, den Körnerzellen des Gyrus dentatus sowie den Pyramidenzellen der CA1-Region des Hippocampus assoziiert (Ward et al., 2005).

GFRA1 kodiert für GDNF-Familie-Alpha 1-Rezeptor (GFRalpha1) für den glialen Wachstumfaktor GDNF (Treanor et al., 1996). GFRalpha1 und Tyrosinkinase Ret sind Bestandteile des GDNF-Rezeptors (Cacalano et al., 1998). Auf eine Stimulation der Tyrosinkinase Ret durch lösliches oder immobilisiertes GFRalpha1 folgt in neurologischen Zellkulturen eine Potenzierung des Neuriten-Wachstums und des neuronalen Überlebens sowie eine lokale Expansion der Axone und Wachstumskegel (Paratcha et al., 2001). Eine Aktivierung der durch GFRalpha1 übertragenen GDNF-Signaltransduktion soll Zellen gegen Beta-Amyloid und oxidativen Stress schützen (Kim et al., 2009). So wirkt GFRA1 als ein potenter neuroprotektiver Faktor, der in das Überleben und die Differenzierung der Neuronen involviert ist.

CLIC6 kodiert für einen intrazellulären Chloridkanal, der mit D2-ähnlichen Dopaminrezeptoren kolokalisiert (Griffon et al., 2003). Seine genaue Funktion ist unbekannt, jedoch könnten die D2-Rezeptoren, die sich auf den

Moosfasern im Hilus des Hippocampus befinden (Gangarossa et al., 2012), im räumlichen Lernvermögen (Crusio und Schwegler, 2005) und in strukturellen Synapsenveränderungen in den Neuronen nach Hibernation eine Rolle spielen (Popov und Bochorova, 1992). Daher könnte auch das Transkriptionsprodukt von CLIC6 durch eine noch nicht näher bekannte Interaktion mit den D2-Rezeptoren an der Neuroplastizität und an Lernprozessen beteiligt sein.

Zusammenfassend könnten die Expressionsveränderungen von o. g. Genen eine anormale Synaptogenese sowie pathologische Regulation des Neuronüberlebens, der Verbindung und Kommunikation mit extrazellulärer Matrix bei den Suizidenten widerspiegeln und so auf eine gestörte Neuroplastizität hindeuten.

### 4.1.2. Funktionsstörungen der neurovaskulären Einheit

Das Konzept der neurovaskulären Einheit umfasst ein System von miteinander integrierten vaskulären und neuronalen Zellen und ihres Milieus, welches für das regelrechte Funktionieren des Gehirns sorgt (Stanimirovic und Friedman, 2012). In der neurovaskulären Einheit interagieren zirkulierende Blutelementen (wie Zytokine, Hormone usw.), die Blutgefäßwand, die extrazelluläre Matrix, Gliazellen und Neuronen. So spielt diese Einheit eine Schlüsselrolle in der Zustellung von Nährstoffen und neuroregulierenden Substanzen sowie in der Regulation von Entzündungsprozessen. Auf zellulärer Ebene sind in die neurovaskulären Einheiten die Neuronen, die Perizyten und die Mikrogliazellen involviert (Stanimirovic und Friedman, 2012).

Shalev et al. (2009) schlugen vor, dass die durch eine lokale Störung der Blut-Hirn-Schranke initiierten pathologischen Ereignisse in der neurovaskulären Einheit zu einer Dysfunktion und Aktivierung der Astrozyten und daraus resultierender entzündlicher Reaktion, einer pathologischen synaptischen Plastizität und Netzwerkkonnektivität führen können, die wiederum verschiedenen psychiatrischen Störungen zugrunde liegen kann. Des

Weiteren beschrieben Wöhrl et al. eine pathologische synaptische Plastizität im Modell für Schizophrenie (2007). Eine Involvierung von aktivierten Astrozyten in der Pathogenese von Depression und Schizophrenie wurde ebenfalls postuliert (Schroeter et al., 2008; Steiner et al., 2008). Daher könnten Funktionsstörungen der neurovaskulären Einheit in Hochrisikogruppen für Suizid eine Rolle spielen. Darüber hinaus wurde berichtet, dass eine Behandlung mit Antidepressiva die Angiogenese und die Neurogenese im Gehirn durch die Veränderungen der VEGF-Signalisierung innerhalb der neurovaskulären Einheiten moduliert, was für eine Rolle dieser Einheit in der Neuroplastizität sprechen könnte (Fornaro et al., 2013). Popa-Wagner et al. (2015) zogen in Betracht, dass die Pathologie der neurovaskulären Einheit verschiedenen Typen der Demenz zugrunde liegt. Demenz betrifft die meist suizidgefährdete Gruppe älterer Menschen. Weiterhin stellen Depression und Psychose, die ihrerseits mit Suizidrisiko assoziiert sind, oft diagnostizierte Komorbiditäten der Demenz dar (Seyfried et al., 2011).

In diesem Zusammenhang kann eine Gruppe der in unserer Analyse identifizierten unterschiedlich exprimierten Gene die neurovaskuläre Einheit beeinflussen. Dazu gehören: ENDRA (heraufreguliert im Hippocampus) und ANGPT1 (herabreguliert im Hippocampus), die in die Funktion von Blutgefäßen involviert sind, TUBB2B (heraufreguliert in den Amygdala), NEXN (heraufreguliert im Thalamus), sowie der Astrozytose-Marker GFAP (heraufreguliert in den Amygdala), die für Elemente des Zytoskeletts kodieren und an der intrazellulären Kommunikation und am Transport sowie an der Zell-Matrix-Interaktion beteiligt sind.

Die mögliche Rolle von TUBB2B und NEXN wurde bereits im Abschnitt 4.2.1 beschrieben.

ENDRA kodiert für einen Endothelin-1-Rezeptor, der wahrscheinlich das Signal für die Endothelin-1-abhängige Vasokonstriktion vermittelt (Patel et al., 1996). Eine ENDRA-Unterregulation wurde bei Ratten nach einer zerebellären Ischämie beobachtet (Kreipke et al., 2011).

Von ANGPT1 kodierte Angiopoetin-1 ist ein Protein mit einer Schlüsselfunktion bei der Vermittlung der wechselseitigen Beeinflussung von dem Endothelium und der umgebenden Matrix und Mesenchym sowie bei der Hemmung der endothelialen Durchlässigkeit (Goddard und Iruela-Arispe, 2013). Es trägt auch zur Reifung und Stabilisierung der Blutgefäße bei (Koh, 2013). Weiterhin wurde eine erhöhte Serumkonzentration des Angiopoetin-1 bei Patienten mit Demenz vom Alzheimer Typ (AD) beschrieben (Schreitmüller et al., 2012).

Das GFAP-Transkriptionsprodukt, also das gliale fibrilläre saure Protein, ist eines der Hauptproteine der Intermediärfilamente der reifen Astrozyten und ein spezifischer Astrozytenmarker, der möglicherweise in die Pathogenese von Depression sowie Schizophrenie involviert ist: So war die Konzentration des GFAP-Proteins im DLPFC und im Cerebellum, die depressiven Patienten entnommen wurden, signifikant niedriger als in den Kontrollproben (Fatemi et al., 2004; Si et al., 2004), anderseits aber signifikant erhöht in der I-Schicht des dorsolateralen präfrontalen Cortex (DLPFC) älterer depressiver Patienten im Vergleich zu den Kontrollproben (Davis et al., 2002). Weiterhin war die GFAP-Expression im Nucleus anteroventralis und mediodorsalis des Thalamus, in der Capsula und im Putamen der Gehirnproben, die depressiven und schizophrenen Patienten entnommen wurden, reduziert (Barley et al., 2009; Martins-de-Souza et al., 2010). Während eine herabregulierte GFAP-Expression im vorderen Temporallappen (Martins-de-Souza et al., 2009b) sowie im Thalamus und im Liquor (Martins-de-Souzaa et al., 2010) in den Gehirnproben von schizophrenen Patienten berichtet wurde, zeigte eine Proteomanalyse einen erhöhten GFAP-Proteinspiegel im DLPFC (Martins-de-Souzaa et al., 2009a). Aktivierende, GFAP-exprimierende Astrozyten sind in die Pathologie der AD involviert und die Caspasenaktivierung mit Spaltung des GFAP kann zu Astrozytenschäden sowie einer daraus resultierenden Hirngewebeschädigung bei AD beitragen (Mouser et al., 2006). So könnte dieses Gen durch noch nicht näher bekannte Mechanismen in die Pathogenese verschiedener mit erhöhtem Suizidrisiko verbundener Krankheiten involviert sein.

Zusammenfassend scheinen diese Expressionsveränderungen dafür zu sprechen, dass Funktionsstörungen der neurovaskulären Einheit in der Pathologie des Suizids eine Rolle spielen.

### 4.1.3. Veränderte Stressantwort

Suizidalität kann als eine pathologische, selbstzerstörerische Reaktion auf starken, akuten oder chronischen Stress betrachtet werden (Westrin, 2000). Drei von den unterschiedlich exprimierten Genen, PARM1 (im Hippocampus und Thalamus heraufreguliert) ADCYAP1 (im Thalamus heraufreguliert) und RNU6ATAC (im Hippocampus herabreguliert), wurden mit der zellulären Stress-Antwort in Verbindung gebracht (Stumm et al., 2007; Younis et al., 2013).

PARM1 kodiert für androgenregulierte Muzin-artige Proteine der Prostata 1. Das Produkt von PARM1 wurde zunächst als spezifisches Transkript, das in den Prostatae von Ratten in Folge von Kastration hochreguliert wurde, beschrieben (Bruyninx et al., 1999). In Kardiomyozyten wurde die Stress-induzierte Expression dieses Gens im endoplasmatischen Retikulum nachgewiesen (Isodono et al., 2010). Da eine ähnliche Stress-Antwort des endoplasmatischen Retikulums auch in den Neuronen beschrieben wurde (Fonseca et al., 2013), könnte die Heraufregulation von PARM1 mit einer zellulären Reaktion auf Stress zusammenhängen.

ADCYAP1 kodiert für das Adenylatzyklase-aktivierende Polypeptid. PACAP und seine Rezeptoren sind im zentralen Nervensystem überwiegend in der Großhirnrinde, im Thalamus, Hippocampus und in den Amygdala verteilt (Köves et al., 1994). PACAP spielt u. a. bei der Regeneration nach einem Hirntrauma und einer damit verbundenen Ischämie eine wichtige Rolle (Johanson et al., 2011), da es vor oxidativem Stress schützt (Stumm et al., 2007). Die neuroprotektive Aktivität dieses Proteins könnte aus seiner Fähigkeit resultieren, die Sekretion von Interleukine-6 (IL-6) im Liquor zu stimulieren (Seki et al., 2006).

RNU6ATAC kodiert für U6atac-snRNA, das im Spleißprozess involviert ist (Matera und Wang, 2014). Younis et al. (2013) berichteten, dass die U6atac-Konzentration durch stressaktivierte Kinase p38MAPK, welche U6atac stabilisiert, rasch erhöht werden kann. Dies wiederum erhöht die Expression von Hunderten der Intron-enthaltenden Gene, die ansonsten durch das limitierende U6atac unterdrückt wird (Younis et al, 2013). So scheint RNU6ATAC in die zelluläre Stress-Antwort involviert zu sein.

Zusammenfassend könnten diese Expressionsveränderungen mit einer veränderten zellulären Stress-Antwort bei Suizidenten assoziiert sein.

### 4.1.4. Neuroinflammation

Eine Aktivierung des immunologischen Systems wurde bereits bei suizidalen Patienten beschrieben, und Konzentrationsveränderungen verschiedener Zytokine und Chemokine, insbesondere der Interleukine IL-6, IL-8, IL-2, VEGF sowie des Tumornekrosefaktors alpha (TNFα) wurden im Blut, Plasma oder Liquor von Suizidgefährdeten nachgewiesen (Übersicht: Serafini et al., 2013). Weiterhin zeigten Post-Mortem-Analysen des präfrontalen Cortex von Suizidenten eine erhöhte mRNA- und Proteinkonzentration von IL-1b, IL-6 und TNFα im frontopolaren Cortex (Pandey et al., 2012) sowie eine erhöhte mRNA-Konzentration von IL-4 bei weiblichen und von IL-13 bei männlichen Suizidenten im orbitofrontalen Cortex (Tonelli et al., 2008). Während primäre Ursachen dieser Veränderungen bislang unbekannt sind, scheinen sie für eine im Gehirn von Suizidenten vorgehende informatorische Reaktion zu sprechen. Erhardt et al. (2013) schlugen vor, dass die Assoziation zwischen Neuroinflammation und Suizid möglicherweise aus der durch Inflammation induzierten Aktivierung der Tryptophan-Degradierung über den Kynurenin-Weg resultieren kann, durch den das Substrat für die Serotoninsynthese genutzt wird. Dies kann aufgrund von daraus resultierendem sekundären Substratmangel die Synthese von Serotonin im Gehirn beeinträchtigen und somit eine der Ursachen für den bei Suizidenten beobachteten Serotoninmangel darstellen (Sadkowski et al., 2013). Außerdem führt der

durch Kynurenin-Weg zur Herstellung eines neurotoxischen N-methyl-D-aspartat– Rezeptoragonisten, nämlich der Quinolinsäure, deren Konzentration im Liquor von Suizidenten erhöht sein soll (Erhardt et al., 2013).

Einige der bei der untersuchten Suizidgruppe unterschiedlich exprimierten Gene sind tatsächlich in Entzündungsprozesse involviert, was ebenfalls für eine immunologische Dysregulation bei Suizidenten spricht. Dies waren: ALOX5AP (heraufreguliert im präfrontalen Cortex, Hippocampus und Thalamus), ADCYAP (heraufreguliert im Thalamus), TNFAIP6 (herabreguliert im Thalamus und in den Amygdala) und IFITMP4 (herabreguliert im Hippocampus).

ALOX5AP kodiert für ein Arachidonat-5-Lipoxygenase-aktivierendes Protein. 5-LO ist ein Enzym, das Arachidonsäure in zwei Schritten zu Leukotrien A4 oxidiert und für seine Funktion FLAP benötigt (Plante et al. 2006). ALOXA5AP soll in der durch eine Aktivierung von Mikroglia vermittelten Neurotoxizität involviert sein (Klegeris und McGeer, 2003). Interessanterweise zeigte eine Post-Mortem-Studie eine Aktivierung der Mikrogliazellen im dorsolateralen präfrontalen Cortex, im anterioren Cingulum und im mediodorsalen Thalamus von depressiven und schizophrenen Suizidenten (Steiner et al., 2008). Da die FLAP-Inhibitoren die Translokation der 5-LO vom Zytosol zur Zellmembran verhindern und ihre enzymatische Aktivität hemmen (Steinhilber 1994, Bair 2012), könnte die Hochregulation des FLAP-Proteins eine gesteigerte Aktivität der 5-LO und dadurch eine vermehrte Produktion von Leukotrienen verursachen. Es gibt zwar unseres Wissens keine Studien, in der eine Rolle von Leukotrienen bei der Pathologie des Suizids untersucht wurde, ein potenzieller Zusammenhang zwischen Leukotrien-modifizierenden Medikamenten und Suizid bewog jedoch die amerikanische Food and Drug Administration dazu, Patienten und Ärzte vor dem möglichen Auftreten von Suizidalität bei der Therapie mit Montelukast, Zafirlukast und Zileuton zu warnen (Schumock et al., 2011). Allerdings lässt sich ein echter Zusammenhang zwischen einer Leukotrien-modifizierenden Therapie und Suizidalität schwer verifizieren, da LTMAs bei der Behandlung von Asthma

und allergischer Rhinitis verordnet werden, die beide ihrerseits selbst mit einem erhöhten Suizidrisiko assoziiert sind (Schumock et al., 2011).

TNFAIP6 kodiert für das durch TNFα induzierte Protein 6, welches ein Bestandteil des Inflammation-assoziierten Proteasennetzwerks ist. Higman (2014) berichtete, dass TSG-6 die Hyaluronsäure bindet und zum Umbau der hyaluronsäurereichen Matrix bei Inflammation beiträgt. Dadurch ist es in Strukturveränderungen in der extrazellulären Matrix sowie in die Regulation der Zellmobilität und Zellaktivität während einer Entzündung involviert. So wird TSG-6 als ein gewebeschützender Faktor während einer Entzündung diskutiert; dementsprechend beschrieben Wisniewski und Vilcek (1997) einen starken antiinflammatorischen Effekt des TSG-6, der auf einer Potenzierung der Plasmininhibition basiert. Im Gehirn wird die positive Auswirkung des TSG-6 im Hirntraumamodell, im Hirnischämiemodell sowie im Modell für Multiple Sklerose (MS) beschrieben. Die Gabe von TSG-6 innerhalb von 24 Stunden nach einem Hirntrauma bei Mäusen führte nach sechs bis zehn Wochen zur Gedächtnisverbesserung, zur Linderung von depressiven Symptomen sowie zur Erhöhung der Neurogenese (Watanabe et al., 2013). Bei einer experimentellen autoimmunologischen Enzephalomyelitis, d. h. einem Mausmodell für MS, kann die Hochregulation von TSG-6 den therapeutischen Effekten der Stammzellenimplantation zugrunde liegen (Fisher-Shoval et al., 2012). Die Hochregulation von TNFAIP6 verbessert möglicherweise die funktionelle Genesung und reduziert bei Ratten die inflammatorische Reaktion nach einer globalen Hirnischämie (Lin et al., 2012). Zusammenfassend wirkt bei Neuroinflammation das Transkriptionsprodukt von TNFAIP6 neuroprotektiv und modulatorisch sowie Neurogenese-fördernd.

Das Gen IFITM4P kodiert für das Interferon-induzierte-Transmembranprotein-4-Pseudogen, ein Mitglied der Interferon-stimulierten Gene mit Antivirus-Aktivität (Diamond und Farzan, 2013).

RNU6ATAC kodiert für U6atac-snRNA, das wahrscheinlich durch die Kinase p38MAPK-abhängige Modulation in die Zytokinproduktion involviert ist.

Das Trankskriptionsprodukt von ADCYAP moduliert die Sekretion von IL-6 im Liquor, die in der Akut-Phase-Reaktion eine Aktivierung von Lymphozyten und eine Synthese von Akut-Phase-Proteinen fördert (Heinrich et al., 2003).

Insgesamt könnten die o. g. Expressionsveränderungen auf eine Imbalance von anti- (TNFAIP6) und proinflammatorischen (ALOXAP, IFITM4P) Faktoren mit veränderter Immunmodulation (RNU6ATAC, ADCYAP) im Gehirn von Suizidenten hindeuten.

Darüber hinaus soll die Neuroinflammation die Neurogenese hemmen (Russo et al., 2011), sodass könnten die entzündliche Prozesse im Hippocampus im Zusammenhang mit dessen Volumenminderung stehen, die bei mit erhöhtem Suizidrisiko assoziierten psychiatrischen Störungen wie Schizophrenie, Depression und chronischer Alkoholabusus beobachtet wurde (Geuze et al., 2005) und damit auch bei Suizidgefährdeten eine Rolle spielen.

### 4.1.5. Störung der Signaltransduktion und der Signaltransmission

Einige unterschiedlich exprimierte Gene könnten in die intrazellulären Signalprozesse involviert sein. Dazu gehören im Thalamus heraufregulierte CALB2, RAB3B, NEXN und CHRNA6 sowie im Hippocampus heraufregulierte ENDRA.

Von RAB3B kodiertes Ras-verwandtes Protein ist bei der Koordination der zellulären Vesikelbewegung in der Zelle (Lledo et al., 1993) und in der Regulation der Hormonfreisetzung in der Hirnanhangsdrüse involviert (Matsuno et al., 2011). Deshalb könnte dieses Protein auch im Thalamus beim intrazellulären Transport und bei der Regulation der Exozytose eine Rolle spielen.

Das Transkriptionsprodukt von NEXN, Nexilin, ist wahrscheinlich in der Signaltransduktion durch FAs involviert, durch die das Zellskelett mit der extrazellulären Matrix kommuniziert (Ohtsuka et al., 1998).

Das Gen CALB2 kodiert für Calbindin, ein intrazellulares Kalzium-bindendes Protein, das zur Troponin-C-Superfamilie gehört. Die Mitglieder dieser Proteinfamilie besitzen sechs Kalzium-bindende EF-Hand-Motive (Lewit-Bentley und Réty, 2000). Calbindin ist in verschiedenen zellulären Funktionen involviert, unter anderem in die gezielte Signaltransduktion sowie in die intrazelluläre Pufferung der Säure durch Kalzium (Schwaller, 2012). Es moduliert auch die neuronale Erregbarkeit (Schwaller, 2012). Stefanits et al. (2014) berichteten über einen Verlust der Calbindin-Immunoreaktivität im Gyrus dentatus von Patienten mit AD und schlugen vor, dass dieser mit dem Krankheitsstadium korrelieren kann. Unter Verwendung eines Gehirnmodells von Meerschweinchen zeigten Zakowski et. al. (2013), dass das Protein im thalamischen anteromedialen Nucleus zusammen mit Calretinin lokalisiert ist. Da der anteromediale Nucleus zahlreiche Efferenzen zum limbischen Cortex sendet und dadurch die subkortikalen Strukturen wie die Amygdala mit dem präfrontalen, cingulären und temporalen Cortex verbindet, könnte eine gestörte intrazelluläre Signaltransduktion in dieser Lokation an der Entwicklung von affektiven Störungen beteiligt sein (Young, 2004). So könnte CALB2 in die Pathogenesese von mit erhöhtem Suizidrisiko assoziierten psychiatrischen Krankheiten involviert sein.

Das CHRNA6-Gen kodiert für eine Alpha6-Untereinheit des nikotinischen Acetylcholinrezeptors (nAChR) und wird als Kandidatengen für bipolare Störung, Nikotin-, Kokain- und Alkoholabhängigkeit diskutiert (Haller et al., 2014). Die nACh-Rezeptoren befinden sich im gesamten Gehirn und sind über kalziumabhängige Signaltransduktion an einer Vielzahl von Hirnfunktionen beteiligt, einschließlich der Kognition, dem Gedächtnis und der Abhängigkeitskrankheiten zugrunde liegenden synaptischen Plastizität sowie der Neuroprotektion (Dajas-Bailador und Wonnacott, 2004). Eine mögliche regionspezifische Funktion der die Alpha-Untereinheit enthaltenden nAch-Rezeptoren im Mittelhirn wurde sowohl bei Aufmerksamkeit und Motivation als auch bei der Entwicklung von Abhängigkeiten und motorischen Störungen beschrieben (Calabresi und Di Filippo, 2008). Im Thalamus transmittieren die nACh-Rezeptoren die exzitatorischen Signale (Papke, 2014). Die afferente,

cholinerge, exzitatorische Projektion zum Thalamus stammt aus zwei Hauptquellen, nämlich vom basalen Vorderhirn sowie von den pedunculopontinen und laterodorsalen Kernen des Hirnstamms, die in die Aufmerksamkeitsmodulation sowie in die Erkennung und Bearbeitung von sensorischen Empfindungen involviert sind (Sun et al., 2013). Die cholinerge Signaltransduktion ist für die Regulation der Transmission von sensorischen Stimuli zum assoziativen Cortex und für die Wahrnehmung ihrer behavioralen Bedeutung zuständig (Mooney et al., 2004). Weiterhin beeinflusst sie durch die Regulation der thalamokortikalen Erregung auch den Tag-Nacht-Rhythmus (Ye et al., 2010). Darüber hinaus moduliert die Aktivierung der cholinergen Rezeptoren im Thalamus die motorische Aktivität bei Ratten (Kolasiewicz et al., 1991). So kann eine Störung dieses Signalsystems eine Dysregulation des Schlaf-Wach-Rhythmus sowie Apathie verursachen (Ye et al., 2010; Sun et al., 2013). Andere Effekte einer solchen Störung können Gleichgültigkeit gegenüber den normalerweise relevanten Stimuli sowie eine Veränderung der lokomotorischen Aktivität sein (Kolasiewicz et al., 1991; Mooney et al., 2004). Alle diese Verhaltensauffälligkeiten sind auch bei suizidalen Patienten klinisch oft zu beobachten. Die pathologische cholinerge Signaltransduktion im Thalamus von Suizidenten könnte sich also auf klinisch-phänomenologischer Ebene dadurch manifestieren, dass diese Patienten Gleichgültigkeit gegenüber der Umgebung entwickeln bzw. dadurch, dass sie unfähig werden, Umweltereignisse situationsadäquat zu interpretieren und entsprechend auf sie zu reagieren. Auf der Verhaltensebene könnten sich diese Veränderungen z. B. durch Antriebslosigkeit, Interesselosigkeit und verminderte Aktivität manifestieren. Dies könnte die Stressbewältigungs- und Anpassungsfähigkeit von Patienten deutlich beeinträchtigen, was wiederum Suizidgedanken oder suizidale Handlungen auslösen könnte.

Das Transkriptionsprodukt von ENDRA ist Endothelin-1-Rezeptor. Sein Ligand Endothelin-1 wirkt auch als Neuropeptid und beeinflusst durch seine Rezeptoren die Aktivität von Ionenkanälen und die Glutamat-Exkretion (Rozyczka et al., 2004), die Durchlässigkeit der Gap-Junction-Kanäle

(Blomstrand et al., 2004) sowie die Kalzium-Signalkaskade (Venance et al., 1997).

Zusammenfassend könnten die o. g. Veränderungen der Genexpression für mit Suizid einhergehende Störungen der neuronalen Signaltransduktion im Thalamus und Hippocampus sowie des intrazellulären Transportes und der Exozytose im Thalamus sprechen.

### 4.1.6. Die Rolle der regulativen nichtkodierenden RNAs

Nichtkodierende RNAs üben eine Schlüsselfunktion bei der Regulation der Genexpression und der Translation aus, und sie gewährleisten dadurch eine schnelle, flexible Zellantwort auf verschiedene Stimuli (Mattick und Makunin, 2006). MicroRNAs (MiRNAs) sind in die posttrankriptionale Regulation der Genexpression involviert, während kleine nukleare RNAs (snRNAs) das Spleißen regulieren und kleine nukleoläre RNAs (snoRNAs) an der Modifikation der ribosomalen RNA beteiligt sind (Mattick und Makunin, 2006). Weiterhin sollen viele vermutete Zielgene der miRNAs in die neuronale Entwicklung (Cheng et al., 2014) und die Synaptogenese (Ziats und Rennert, 2013) involviert sein, sodass sie als Faktoren bei der Entstehung von verschiedenen psychiatrischen Störungen wie z. B. Schizophrenie, Depression, bipolare affektive Störung und Demenz diskutiert werden (Maffioletti et al., 2014). Weiterhin wird die neuronale Expression von snoRNAs durch Stress moduliert (Liu et al., 2010; Sakharov et al., 2012) und sie werden mit der Entstehung von oxidativem Stress (Michel et al., 2011) in Verbindung gebracht. Darüber hinaus ist die gehirnspezifische snoRNA-Familie SNORD115 in der Modifikation der pre-mRNA des Serotonin-Rezeptors vom Subtyp 2c involviert (Kishore und Stamm, 2005). Die gehirnspezifisch exprimierte SnoRNA-Familie SNORD114, die sich auf dem mütterlich-exprimierten Lokus befindet, ist am neuronalen Reifungsprozess beteiligt (Leung et al., 2009).

Unter Verwendung eines Mausmodells für Lernen durch kontextuelle Angstkonditionierung wurden die Expressionsveränderungen von

gehirnspezifischen snoRNAs MBII-48 und MBII-52 festgestellt, die an dem Erkennen der Verbindung zwischen den Stimuli und deren negativen Folgen beteiligt waren (Rogelj et al., 2003). Da diese Veränderungen sehr kurzfristig und 90 Minuten, nicht aber 25 Stunden nach der Behandlung nachweisbar waren, schlugen Rogelj et al. (2003) vor, dass snoRNAs die höheren Hirnfunktionen wie Kognition, emotionales Lernen und Gedächtnis zugrunde liegende noch nicht näher bekannte kurzfristige neurobiologische Veränderungen regulieren könnten.

Einige der bei der untersuchten Suizidgruppe unterschiedlich exprimierten Gene kodieren für verschiedene nichtkodierende RNAs, darunter miRNAs: MIR548AD, MIR548AI, MIR548AJ2, MIR548H2 (herabreguliert im Hippocampus), snoRNAs: SNORA13 (heraufreguliert in allen untersuchten Gehirnregionen), SNORD114-10 (herabreguliert in den Amygdala und im Hippocampus), SNORD114-15 (herabreguliert in den Amygdala), SNORD114-31 (herabreguliert in den Amygdala und im Hippocampus) und mit snRNAs verwandte Gene und Pseudogene: RNU7-47P und RNU7-53P (herabreguliert im Hippocampus, Thalamus und in den Amygdala), RNU4-2 (heraufreguliert im präfrontalen Cortex und Thalamus), RNU6ATAC3P (herabreguliert in den Amygdala).

Das Gen SNORA13 kodiert für ein Mitglied der *box H/ACA*-Familie der snoRNAs, welche die Konversion von Uridin zu Pseudouridin in den ribosomalen Ribonukleinsäuren (rRNA) einleiten. Die snoRNAs modifizieren auch die snRNAs, die einen Bestandteile Spleißosoms darstellen und dadurch in die Spleißenkontrolle involviert sind (snoRNABase, 2015).

SNORD114-31, SNORD114-15 und SNORD114-10 gehören ebenfalls zu der Familie der snoRNAs und sind gehirnspezifisch exprimiert (Matera und Wang, 2014). Ihre Funktion im Gehirn ist noch nicht näher bekannt (Rogelj et al., 2003).

MIR548AD, MIR548AI, MIR548AJ und MIR548H2 kodieren für verschiedene miRNAs, welche die Translation sowie Stabilität von mRNA beeinflussen (Maffioletti et al., 2014). Die funktionelle Anreicherungs-Analyse zeigte, dass die mir-548-Genfamilie an der Regulation des Aktin-Zytoskellets, der MAPK-Signalisierung und der Ubiquitin-abhängigen Proteolyse beteiligt ist (Liang et al., 2012).

Die Pseudogene RNU7-47P und RNU7-53P kodieren für snRNA-Pseudogene, die mit der U7-snRNA-Einheit verwandt sind. Diese Einheit ist am Aufbau der 5‘-Enden von mRNA beteiligt (Soldati und Schümperli, 1988).

RNU4-2 kodiert für ein Mitglied der snRNA–U4-Familie, das durch seine Funktion bei der Entfernung von Intronen während des Spleißens der pre-mRNA in der transkriptionellen Zellflexibilität involviert ist (Bachellerie et al., 2002).

RNU6ATAC3P ist ein mit snRNA verwandtes Pseudogen ohne bekannte Funktion (Gene Database, 2015).

Da die o. g. Gene sehr kurzfristigen Expressionsveränderungen unterliegen, kann die Hypothese aufgestellt werden, dass die unterschiedlich exprimierten, nichtkodierenden RNAs die Marker einer gestörten Hirnfunktion bei hoch akuter Suizidalität, d. h. eines dem Suizid unmittelbar vorausgehenden Zustands, darstellen könnten. Der veränderte Serumspiegel von miRNAs wurde bereits als Marker für Krebserkrankungen erwogen (Skog et al., 2008), sodass eine ähnliche Messung von entsprechenden nichtkodierenden RNAs bei psychiatrischen Patienten zur Suizidrisikoeinschätzung vorstellbar wäre.

### 4.2. Übrige unterschiedlich exprimierte Gene

Die genaue Funktion der übrigen Gene SUSD1 und LOC100505702 bleibt bislang unbekannt.

SUSD1 kodiert für ein Sushi-Domäne-enthaltendes Protein 1, das als Kandidatengen für die Amyotrophe Lateralsklerose (Schymick et al., 2007) und Kinderobesität (Comuzzie et al., 2012) diskutiert wird.

Das Gen LOC100505702 wurde unseres Wissens noch nicht charakterisiert.

### 4.3. Mögliche Suizid-Biomarker

Im Hinblick auf unsere Befunde ist es sehr unwahrscheinlich, dass ein einziges Gen für die Prädisposition eines Patienten für Suizid verantwortlich ist. Vielmehr ergibt sich aus unserer und ähnlichen Studien ein kompliziertes Bild, das auf die komplexe Störung mehrerer Hirnfunktionen bei Suizidalität und damit auf Expressionsveränderungen mehrerer Gene hinweist.
Nichtsdestotrotz wäre eine Anwendung der Expressionsanalyse von hier identifizierten Kandidatengenen für Suizid zur Suizidrisikoeinschätzung bei psychiatrischen Patienten denkbar. Im Hinblick auf ihre mögliche Rolle als genetische Marker der Suizidalität wären die drei Gene, deren unterschiedliche Expression durch beide Genexpressionsanlysen, d. h. sowohl durch Microarray-Analyse, als auch durch qRT-PCR nachgewiesen wurde, nämlich PARM1, CLIC6 und RAB3B, besonders interessant. Eine weitere Möglichkeit könnte die Nutzung von nichtkodierenden RNAs als Biomarker der akuten Suizidalität darstellen. Zu diesem Zweck sind jedoch weitere Studien erforderlich, um festzustellen, ob von uns beschriebene, im Gehirn vorkommende Veränderungen der Genexpression auch im peripheren Blut bzw. der Mundschleimhaut feststellbar sind und damit bei lebenden Patienten untersucht werden können. Schließlich könnten auch die Produkte der Kandidatengene oder andere mit ihrer Funktion verbundene biologische Marker als mögliche Biomarker der Suizidalität klinisch relevant sein.

### 4.4. Einschränkungen

Folgende Punkte im Hinblick auf unsere Pilotstudie müssen kritisch diskutiert werden:

Sowohl die Größe der Suizidgruppe als auch die der Kontrollgruppe war relativ klein, sodass zehn Gehirnproben, die von Suizidenten stammten, mit

fünf Kontrollproben verglichen wurden und dabei Unterschiede hinsichtlich Alter, Geschlecht, Post-Mortem-Zeit, medikamentöser Therapie, Alkohol- und Drogenkonsum sowie in der Suizidgruppe hinsichtlich Suizidmethode und bekannten psychiatrischen Diagnosen bestanden. Der Hauptgrund dafür war, dass das Entnehmen von Gehirnproben von hoher Qualität innerhalb von möglichst kurzer Post-Mortem-Zeit sehr schwer ist, da nicht immer unmittelbar nach dem Suizid oder Unfall eine Obduktion erfolgt. Der Zugang zu Kontrollproben erwies sich dabei als besonders schwierig, weil bei einer natürlichen Todesursache seltener eine Autopsie erfolgt. Mit den wenigen zur Verfügung stehenden Proben war es nicht möglich, eine homogenere Gruppe aufzubauen, um mögliche Störfaktoren zu eliminieren. Auch eine statistische Faktorenanalyse konnte aufgrund der geringen Fallzahl nicht durchgeführt werden. Außerdem lag in einigen Fällen die PMZ deutlich über 24 h und war damit besonders lang. Solche langen Post-Mortem-Zeiten können zur RNA-Degradierung führen und somit gemessene Genexpression beeinflussen. Es erfolgte jedoch jederzeit eine genaue Qualitätskontrolle der Proben durch Messung der RNA-Integritätsnummer sowie durch die verifizierende Elektrophorese, sodass jede Probe zumindest Minimalvoraussetzungen bezüglich der Qualität des genetischen Materials erfüllte.

Darüber hinaus wurden von zwölf sezierten Hirnregionen vier (präfrontaler Cortex, Amygdala, Hippocampus, Thalamus) untersucht. Der Grund dafür war, dass Pilotstudien in der Regel an einer überschaubaren Probenzahl durchgeführt werden, um Ausgangspunkte für weiterführende größere Studien zu liefern. Die untersuchten Hirnregionen wurden aufgrund ihrer Rolle für die Handlungssteuerung, kombinatorisches, problemlösendes und planerisches Denken (präfrontaler Cortex), für das emotionale Gedächtnis und emotionale Bewertung der Sinnreizen (Amygdala), für die Gedächtnisbildung und emotionale Vorgänge (Hippocampus) sowie für die Impulsvermittlung zwischen subkortikalen Zentren und Großhirnrinde (Thalamus) ausgewählt (Trepel, 2012a; Trepel, 2012b). Es war nicht immer möglich, alle Proben von der gleichen Hemisphäre zu entnehmen. Dies könnte die Ergebnisse unserer Studie beeinflussen, da die zwei Hemisphären des Gehirnes verschiedene Rolle spielen, wobei die dominierende, meist linke

Hemisphäre für die Kontrolle aller komplexen Verhaltens- und Kognitionsprozesse zuständig ist (Trepel, 2012a).

Die Validierung von zwölf mittels Microarray-Analyse identifizierten Genen mithilfe von qRT-PCR ließ die Expressionsunterschiede im Fall von drei Genen (25 %) replizieren. Weiterhin konnte im Fall von dem durch Microarray-Analyse identifizierten Gen RNU7-47P (herabreguliert im Hippocampus, Thalamus und den Amygdala) keine Expression mittels qRT-PCR in den Amygdala nachgewiesen werden, ebenfalls konnte die Expression von ALOX5AP (laut Microarray-Analyse im Hippocampus, präfrontalen Cortex und Thalamus heraufreguliert) im präfrontalen Cortex nicht festgestellt werden. Diese Diskrepanz könnte aus der unspezifischen Hybridisierung von nur teilweise komplementären Proben an die Genchips und daraus folgender falscher Identifizierung der hybridisierten Proben während der Microarray-Analyse resultieren. Eine andere Ursache könnte sein, dass alle untersuchten Proben eine Mischung von verschiedenen Zellen (also Neuronen, Gliazellen, in geringem Maße auch Blutzellen usw.) darstellen. Die unterschiedliche zelluläre Zusammensetzung der unter Anwendung von jener Methode analysierten Proben könnte die gemessene Genexpression beeinflussen und damit unterschiedliche Ergebnisse bei der Untersuchung gleicher Hirnregionen durch Microarray-Analyse und qRT-PCR liefern. Ein anderes Problem stellen mögliche Operator-Fehler während des Durchführens von qRT-PCR dar, wobei die Vorbereitung der PCR-Platten als besonders fehleranfällig beschrieben wurde (Bustin und Nolan, 2004). Außerdem wurden bei vielen mittels Microarray-Analyse identifizierten Genen nur diskrete Expressionsunterschiede (>1,3-1,5 FC) festgestellt, die nicht unbedingt mit qRT-PCR nachvollziehbar sind (Rajeevan et al., 2001).

Trotz dieser Probleme und Einschränkungen sind bei der generell kleinen Anzahl der für die Suizidforschung verfügbaren Post-Mortem-Gehirnproben selbst die vorläufigen Ergebnisse dieser Pilotstudie von Bedeutung, da sie zumindest Hinweise auf mögliche neurobiologische Veränderungen und damit potenzielle Biomarker von Suizidalität liefern und Ausgangspunkt für weiterführende Untersuchungen sein können.

## 5. Zusammenfassung

Suizidalität ist ein gravierendes medizinisches Problem, das bei psychiatrischen Patienten von besonders großer Bedeutung ist, weil sie eine Suizidrisikogruppe darstellen. Während viele sozioökonomische und demographische Korrelate des Suizides identifiziert wurden, sind die neurobiologischen Grundlagen immer noch wenig erforscht. Hierbei ermöglichen Post-Mortem-Studien eine direkte Einsicht in die Neurobiologie des Gehirns von Suizidenten, was zur Entdeckung möglicher Biomarker der Suizidalität führen könnte.

Wir führten eine vergleichende, genomweite, hypothesengenerierende Microarray-Genexpressionsanalyse der Gehirnproben von Suizidopfern und Kontrollprobanden durch, um Kandidatengene für Suizid zu identifizieren. Ein Teil der festgestellten Expressionsunterschiede wurde mittels qRT-PCR validiert.

Die Microarray-Analyse lieferte 31 unterschiedlich exprimierte Gene und Pseudogene. Die Ergebnisse deuteten auf eine möglicherweise gestörte Neuroplastizität, eine pathologische Stress-Antwort, eine Neuroinflammation mit gleichzeitiger Herabregulation von neuroprotektiven und antiapoptotischen Faktoren sowie eine gestörte Signaltransduktion bei der Entwicklung von Suizidalität hin. Eine interessante Möglichkeit könnte die Nutzung von nichtkodierender RNA als Biomarker der akuten Suizidalität darstellen.

Diese Befunde beziehen sich auf eine Pilotanalyse von zwei kleinen und heterogenen Probengruppen, sodass idealerweise eine Überprüfung mithilfe einer größeren Studie unter Verwendung von einer größeren Zahl von homogenen Proben erfolgen sollte.

Trotz dieser Probleme und Einschränkungen sind die vorläufigen Ergebnisse dieser Pilotstudie von Bedeutung, da sie Hinweise auf mögliche

neurobiologische Veränderungen und damit potenzielle Biomarker von Suizidalität liefern.

# 6. Anhang

## 6.1. Thesen

1. Suizidalität ist ein medizinisches, gesellschaftliches und naturwissenschaftliches Problem, das eine tiefgehende und systematische Erforschung verlangt.

2. Die neurobiologischen Grundlagen der Suizidalität sind immer noch wenig erforscht, obwohl die Erkennung dieser unser Verständnis der Suizidalität verbessern würde.

3. Die Entwicklung von objektiven, auf biologischen Markern (z. B. Laborparameter, Bildgebungsbefunde) basierenden diagnostischen und therapeutischen Maßnahmen würde zu deutlichen Verbesserungen in der Behandlung von suizidalen Patienten führen.

4. Aktuell ist die Suche nach Biomarkern der Suizidalität ein bedeutsamer Teil der Suizidforschung. Da nachgewiesen wurde, dass die Suizidalität genetisch bedingt ist, stellen hier genetische Studien mit dem Ziel, für die Suizidalität verantwortliche genetische Faktoren zu identifizieren, eine wichtige Richtung dar.

5. Bislang gelang es noch nicht, einen direkt für die Suizidalität verantwortlichen neurobiologischen Faktor zuverlässig und reliabel nachzuweisen. Eine der Schwierigkeiten dabei ist das Festhalten an hypothesengeleiteten Forschungsansätzen, was dazu führt, dass viele Studien nur auf bestimmte vermutete Marker oder bestimmte biologische Systemen fokussieren. Dagegen könnten explorative, hypothesenfreie Ansätze früher unbekannte oder übersehene Biomarkerkandidaten identifizieren und somit die Entdeckung von echten und klinisch relevanten Biomarkern der Suizidalität erleichtern.

6. Post-Mortem-Studien unter Verwendung von objektiven neurowissenschaftlichen Methoden ermöglichen eine Einsicht in die Neurobiologie des Gehirns der Suizidenten, da Hirngewebe das beste Material für Suizidforschung darstellt.

7. Durch die initiale hypothesenfreie Genexpressionanalyse der Gehirnproben von Suizidopfern und Kontrollprobanden, gefolgt von einer Vergleichanalyse von beiden Gruppen, sowie darauffolgende Verifizierung der Ergebnisse mithilfe einer genspezifischen Methode (qRT-PCR), können die potenziellen genetischen Marker der Suizidalität nachgewiesen werden. Dieser Forschungsansatz erfüllt die Voraussetzungen der hypothesenfreien, rein explorativen Suche nach möglichen genetischen Biomarker der Suizidalität.

8. Die nachgewiesenen Expressionsunterschiede deuten auf eine möglicherweise gestörte Neuroplastizität bei Suizidenten hin, eine pathologische Stress-Antwort, eine Neuroinflammation mit gleichzeitiger Herabregulation von neuroprotektiven und antiapoptotischen Faktoren sowie eine gestörte Signaltransduktion bei der Entwicklung von Suizidalität hin. Die mit der Suizidalität assoziierten Funktionsstörungen finden teilweise in der neurovaskulären Einheit statt und involvieren verschiedene strukturelle Elemente des Gehirns. Die nichtkodierenden RNAs können als Biomarker der akuten Suizidalität dienen.

9. Eine Überprüfung der Ergebnisse sollte idealerweise mithilfe einer größeren Studie unter Verwendung von einer größeren Anzahl homogener Gehirnproben erfolgen.

## 6.2. Lebenslauf

### Persönliche Daten

| | |
|---|---|
| Name | Furczyk |
| Vorname | Karolina |

**Publikationen**

Furczyk K, Schutová B, Michel TM, Thome J, Büttner A: The neurobiology of suicide - A Review of post-mortem studies. *J Mol Psychiatry* 2013, 1:2

Furczyk K, Thome J: Adult ADHD and suicide. *Atten Defic Hyperact Disord* 2014, 6:153-158

Freiesleben S, Furczyk K: A systematic review of agomelatine-induced liver injury. *J Mol Psychiatry* 2015, 3:4

Coogan AN, Schutová B, Husung S, Furczyk K, Baune BT, Kropp P, Häßler F, Thome J: The circadian system in Alzheimer's disease: disturbances, mechanisms, and opportunities. Biol Psychiatry 2013, 74:333-339

Furczyk K, Górniak E, Skowronek R, Gajda M, Krysta K, Krupka-Matuszczyk I: The way the young people see the mentally ill: a questionnaire study. *Psychiatr Danub* 2011, 23 Suppl. 1:46-49

Agius M, Darby L, Furczyk K, Holland J, Khosravi-Nik M, Vyas V, Zhang J: Depression management – from neurobiology to a shared care approach. *Psychiatr Danub* 2011, 23 Suppl. 1:73-78

Górniak E, Furczyk K, Krysta K: The frequency of law breaking and compulsory hospitalization among the mentally ill people in Katowice, Poland. *Activitas Nervosa Superior* 2011, 53:146-149

Krysta K, Górniak E, Furczyk K: Persistent depression in the course of Cushing's syndrome - a case report. *Post.Psychiatr.Neurol* 2010, 19:305-307

## 6.3. Abbildungsverzeichnis

**Abbildung 1. RNA – Elektrophorese zur Qualitätskontrolle. Beispiel .....21**
**Abbildung 2. DNA – Elektrophorese. Beispiel.....24**
**Abbildung 3. Beispielhafte Amplifikationskurven .....26**
**Abbildung 4. Heatmap der unterschiedlich exprimierten Gene.....28**
**Abbildung 5. Anzahl der unterschiedlich exprimierten Gene nach Gehirnregionen (Venn-Diagramm).....36**

## 6.4. Tabellenverzeichnis

**Tabelle 1. Demografische Daten der Suizidenten ..... 19**
**Tabelle 2. Demografische Daten der Kontrollpatienten ..... 20**
**Tabelle 3. Unterschiedlich exprimierte Gene und deren Funktionen ..... 32**
**Tabelle 4. Durch qRT-PCR validierte Gene ..... 38**

## 6.5. Literaturverzeichnis

Arango V, Ernsberger P, Marzuk PM, Chen JS, Tierney H, Stanley M, Reis DJ, Mann JJ: Autoradiographic demonstration of increased serotonin 5-HT2 and beta- adrenergic receptor binding sites in the brain of suicide victims. *Arch Gen Psychiatry* 1990, 47:1038–1047

Au AC, Lau S, Lee MT: Suicide ideation and depression: the moderation effects of family cohesion and social self-concept. *Adolescence* 2009, 44:851–868

Austin MC, Janosky JE, Murphy HA: Increased corticotropin-releasing hormone immunoreactivity in monoamine-containing pontine nuclei of depressed suicide men. *Mol Psychiatry* 2003, 8:324–332

Bachellerie JP, Cavaillé J, Hüttenhofer A: The expanding snoRNA world. *Biochimie* 2002, 84:775–790

Bair AM, Turman MV, Vaine CA, Panettieri, Jr. RA, Sobermana RJ: The nuclear membrane leukotriene synthetic complex is a signal integrator and transducer. *Mol Biol Cell* 2012, 23:4456–4464

Bamji SB, Majdan M, Pozniak CD, Belliveau DJ, Aloyz R, Kohn J, Causing CG, Miller FD: The p75 Neurotrophin Receptor Mediates Neuronal Apoptosis and Is Essential for Naturally Occurring Sympathetic Neuron Death. *J Cell Biol* 1998, 140:911–923

Barley K, Dracheva S, Byne W: Subcortical oligodendrocyte- and astrocyte-associated gene expression in subjects with schizophrenia, major depression and bipolar disorder. *Schizophr Res* 2009, 112:54–64

Beck AT, Steer RA, Beck JS, Newman CF: Hopelessness, depression, suicidal ideation, and clinical diagnosis of depression. *Suicide Life Threat Behav* 1993, 23:139–145

Bell JE, Alafuzoff I, Al-Sarraj S, Arz T: Management of a twenty-first century brain bank: experience in the BrainNet Europe consortium. *Acta Neuropathol* 2008, 115:497–507

Berg JM: DNA, RNA und Der Fluss der genetischen Information. In: Berg JM, Stryer L, Tymoczko JL: Stryer Biochemistry. W. H. Freeman, 2007a, 7. Auflage, korr

Berg JM: Erforschung der Gene und Genome. In: Berg JM, Stryer L, Tymoczko JL: Stryer Biochemistry. W. H. Freeman, 2007b, 7. Auflage, korr

Berg JM: Erforschung der Proteine und Proteome. In: Berg JM, Stryer L, Tymoczko JL: Stryer Biochemistry. W. H. Freeman, 2007c, 7. Auflage, korr

Bienvenu TC, Busti D, Magill PJ, Ferraguti F, Capogna M: Cell-type-specific recruitment of amygdala interneurons to hippocampal theta rhythm and noxious stimuli in vivo. *Neuron* 2012, 74:1059–1074

Bilello JA, Thurmond LM, Smith KM: Use of the MDDScore biomarker panel for the detection of major depressive order in centralized intractable pain. *Biol Psychiatry* 2013, 75:261S

Biomarkers Definitions Working Group: Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001, 69:89-95

Blomstrand F, Venance L, Sirén AL, Ezan P, Hanse E, Glowinski J, Ehrenreich H, Giaume C: Endothelins regulate astrocyte gap junctions in rat hippocampal slices. *Eur J Neurosci* 2004, 19:1005–1015

Bochnik HJ: Verzweiflung. In: Bürger-Prinz H (Hrsg): Randzonen menschlichen Verhaltens. Ferdinand Enke Verlag, 1962

Bolstad BM, Irizarry RA, Åstrand M, Speed TP: A comparison of normalization methods for high density oligonucleotide array data based on variance and bias. *Bioinformatics* 2003, 19:185–193

Brambilla P, Bellani M, Isola M, Bergami A, Marinelli V, Dusi N, Rambaldelli G, Tansella M, Finardi AM, Martino G, Perlini C, Furlan R: Increased M1/decreased M2 signature and signs of Th1/Th2 shift in chronic patients with bipolar disorder, but not in those with schizophrenia. *Transl Psychiatry* 2014, 4:e406

Brent D: What family studies teach us about suicidal behavior: implications for research, treatment, and prevention. *Eur Psychiatry* 2010, 25:260–263

Brent DA, Melhem N: Familial transmission of suicidal behavior. *Psychiatr Clin North Am* 2008, 31:157–177

Bruyninx M, Hennuy B, Cornet A, Houssa P, Daukandt M, Reiter E, Poncin J, Closset J, Hennen G: A novel gene overexpressed in the prostate of castrated rats: hormonal regulation, relationship to apoptosis and to acquired prostatic cell androgen independence. *Endocrinology* 1999, 140:4789–4799

Buchhave P, Minthon L, Zetterberg H, Wallin Å, Blennow K, Hansson O: Cerebrospinal fluid levels of ß-amyloid 1–42, but not of tau, are fully changed already 5 to 10 years before the onset of alzheimer dementia. *Arch Gen Psychiatry* 2012, 69:98–106

Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz, 2012 [online] http://www.gesetze-im-internet.de. Abrufdatum: 10. Februar 2016

Burbaeva GSh, Kamenskiĭ AA, Kliushnik TP, Ignatov SA, Zaĭko SD: Effect of immunization with neurospecific proteins and tubulin on learning in the rat. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova* 1985, 35:747–752

Bustin SA, Nolan T: Pitfalls of quantitative real-time reverse-transcription polymerase chain reaction. *J Biomol Tech* 2004, 15:155**–**166

Cacalano G, Fariñas I, Wang LC, Hagler K, Forgie A, Moore M, Armanini M, Phillips H, Ryan AM, Reichardt LF, Hynes M, Davies A, Rosenthal A: GFRalpha1 is an essential receptor component for GDNF in the developing nervous system and kidney. *Neuron* 1998, 21:53–62

Calabresi P, Di Filippo M: ACh/dopamine crosstalk in motor control and reward: a crucial role for alpha 6-containing nicotinic receptors? *Neuron* 2008, 60:4–7

Chen GG, Fiori LM, Moquin L, Gratton A, Mamer O, Mechawar N, Turecki G: Evidence of altered polyamine concentrations in cerebral cortex of suicide completers. *Neuropsychopharmacology* 2010, 35:1477–1484

Chen X, Fu W, Tung CE, Ward NL: Angiopoietin-1 induces neurite outgrowth of PC12 cells in a Tie2-independent, beta1-integrin-dependent manner. *Neurosci Res* 2009, 64:348-–354

Cheng TL, Wang Z, Liao Q, Zhu Y, Zhou WH, Xu W, Qiu Z: MeCP2 suppresses nuclear microRNA processing and dendritic growth by regulating the DGCR8/Drosha complex. *Dev Cell* 2014, 28:547–560

Christakos S, Liu Y: Biological actions and mechanism of action of calbindin in the process of apoptosis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2004, 89-90:401–404

Chu HY, Zheng QC, Zhao YS, Zhang HX: Homology modeling and molecular dynamics study on N-acetylneuraminate lyase. *J Mol Model* 2009, 15:323–328

Comuzzie AG, Cole SA, Laston SL, Voruganti VS, Haack K, Gibbs RA, Butte NF: Novel genetic loci identified for the pathophysiology of childhood obesity in the Hispanic population. *PLoS One* 2012, 7:e51954

Coryell W, Schlesser M: The dexamethasone suppression test and suicide prediction. *Am J Psychiatry* 2001, 158:748–753

Crusio WE, Schwegler H: Learning spatial orientation tasks in the radial-maze and structural variation in the hippocampus in inbred mice. *Behav Brain Funct* 2005, 1:3

Dajas-Bailador F, Wonnacott S: Nicotinic acetylcholine receptors and the regulation of neuronal signalling. *Trends Pharmacol Sci* 2004, 25:317–324

Davis S, Thomas A, Perry R, Oakley A, Kalaria RN, O'Brien JT: Glial fibrillary acidic protein in late life major depressive disorder: an immunocytochemical study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002, 73:556–560

de Witte L, Tomasik J, Schwarz E, Guest PC, Rahmoune H, Kahn RS, Bahn S: Cytokine alterations in first-episode schizophrenia patients before and after antipsychotic treatment. *Schizophr Res* 2014, 154:23–29

Diamond MS, Farzan M: The broad-spectrum antiviral functions of IFIT and IFITM proteins. *Nat Rev Immunol* 2013, 13:46–57

Duman RS, Malberg J, Thome J: Neural plasticity to stress and antidepressant treatment. *Biol Psychiatry* 1999, 46:1181–1191

Dwivedi Y, Conley RR, Roberts RC, Tamminga CA, Pandey GN: [(3)H]cAMP binding sites and protein kinase a activity in the prefrontal cortex of suicide victims. *Am J Psychiatry* 2002, 159:66–73

Dwivedi Y, Rao JS, Rizavi HS, Kotowski J, Conley RR, Roberts RC, Tamminga CA, Pandey GN: Abnormal expression and functional characteristics of cyclic adenosine monophosphate response element binding protein in postmortem brain of suicide subjects. *Arch Gen Psychiatry* 2003a, 60:273–282

Dwivedi Y, Rizavi HS, Conley RR, Roberts RC, Tamminga CA, Pandey GN: Altered gene expression of brain-derived neurotrophic factor and receptor tyrosine kinase B in postmortem brain of suicide subjects. *Arch Gen Psychiatry* 2003b, 60:804–815

Erhardt S, Lim CK, Linderholm KR, Janelidze S, Lindqvist D, Samuelsson M, Lundberg K, Postolache TT, Träskman-Bendz L, Guillemin GJ, Brundin L: Connecting inflammation with glutamate agonism in suicidality. *Neuropsychopharmacology* 2013, 38:743–752

Ernst C, Deleva V, Deng X, Sequeira A, Pomarenski A, Klempan T, Ernst N, Quirion R, Gratton A, Szyf M, Turecki G: Alternative splicing, methylation state, and expression profile of tropomyosin-related kinase B in the frontal cortex of suicide completers. *Arch Gen Psychiatry* 2009, 66:22–32

Fatemi SH, Laurence JA, Araghi-Niknam M, Stary JM, Schulz SC, Lee S, Gottesman II: Glial fibrillary acidic protein is reduced in cerebellum of subjects with major depression, but not schizophrenia. *Schizophr Res* 2004, 69:317–323

Felber W, Winiecki P: Suizid-Statistik – aktuelle ausgewählte statistisch-epidemiologische Daten zu Deutschland und Osteuropa mit Kommentaren. 2012 [online] http://www.suizidprophylaxe.de/Suizidstatistik.pdf. Abrufdatum: 01. Dezember 2015

Fisher-Shoval Y, Barhum Y, Sadan O, Yust-Katz S, Ben-Zur T, Lev N, Benkler C, Hod M, Melamed E, Offen D: Transplantation of placenta-derived mesenchymal stem cells in the EAE mouse model of MS. J Mol Neurosci 2012, 48:176–184

Fogh BS, Multhaupt HA, Couchman JR: Protein kinase C, focal adhesions and the regulation of cell migration. *J Histochem Cytochem* 2014, 62:172–184

Fonseca ACRG, Ferreiro E, Oliveira CR, Cardosoa SM, Pereira CF: Activation of the endoplasmic reticulum stress response by the amyloid-beta 1–40 peptide in brain endothelial cells. *Biochim Biophys Acta* 2013, 1832:2191–2203

Fornaro M, Rocchi G, Escelsior A, Contini P, Ghio M, Colicchio S, De Berardis D, Amore M, Fornaro P, Martino M: VEGF plasma level variations in duloxetine-treated patients with major depression. *J Affect Disord* 2013, 151:590–595

Furczyk K, Schutová B, Michel TM, Thome J, Büttner A: The neurobiology of suicide - A Review of post-mortem studies. *Journal of Molecular Psychiatry* 2013, 1:2

Gallo G, Letourneau PC: Neurotrophins and the dynamic regulation of the neuronal cytoskeleton. *J Neurobiol* 2000, 44:159–173

Gangarossa G, Longueville S, De Bundel D, Perroy J, Hervé D, Girault JA, Valjent E: Characterisation of Dopamine D1 and D2 Receptor-Expressing Neurons in the Mouse Hippocampus. *Hippocampus* 2012, 22:2199–2207

Gene Database 2016 [online] http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene. Abrufdatum: 10. Februar 2016

Geuze E, Vermetten E, Bremner JD: MR-based in vivo hippocampal volumetrics: 2. Findings in neuropsychiatric disorders. *Mol Psychiatry* 2005, 10:160–184

Gilabert-Juan J, Varea E, Guirado R, Blasco-Ibáñez JM, Crespo C, Nácher J: Alterations in the expression of PSA-NCAM and synaptic proteins in the dorsolateral prefrontal cortex of psychiatric disorder patients. *Neurosci Lett* 2012, 530:97–102

Goddard LM, Iruela-Arispe ML: Cellular and molecular regulation of vascular permeability. *Thromb Haemost* 2013, 109:407–415

Gordon-Weeks P, Fournier AE: Neuronal cytoskeleton in synaptic plasticity and regeneration. *J Neurochem* 2014, 129:206–212

Griffon N, Jeanneteau F, Prieur F, Diaz J, Sokoloff P: CLIC 6, a member of intracellular chloride channel family, interacts with dopamine D2-like receptors. *Brain Res Mol Brain Res* 2003, 17:47–57

Gross-Isseroff R, Dillon KA, Fieldust SJ, Biegon A: Autoradiographic analysis of alpha 1-noradrenergic receptors in the human brain postmortem. Effect of suicide. *Arch Gen Psychiatry* 1990, 47:1049–1053

Haller G, Kapoor M, Budde J, Xuei X, Edenberg H, Nurnberger J, Kramer J, Brooks A, Tischfield J, Almasy L, Agrawal A, Bucholz K, Rice J, Saccone N, Bierut L, Goate A: Rare missense variants in CHRNB3 and CHRNA3 are associated with risk of alcohol and cocaine dependence. *Hum Mol Genet* 2014, 23:810–819

Hawrylycz MJ, Lein ES, Guillozet-Bongaarts AL, Shen EH, Ng L, Miller JA, van de Lagemaat LN, Smith KA, Ebbert A, Riley ZL, Abajian C, Beckmann CF, Bernard A, Bertagnolli D, Boe AF, Cartagena PM, Chakravarty MM, Chapin M, Chong J, Dalley RA, Daly BD, Dang C, Datta S, Dee N, Dolbeare TA, Faber V, Feng D, Fowler DR, Goldy J, Gregor BW, Haradon Z, Haynor DR, Hohmann JG, Horvath S, Howard RE, Jeromin A, Jochim JM, Kinnunen M, Lau C, Lazarz ET, Lee C, Lemon TA, Li L, Li Y, Morris JA, Overly CC, Parker PD, Parry SE, Reding M, Royall JJ, Schulkin J, Sequeira PA, Slaughterbeck CR, Smith SC, Sodt AJ, Sunkin SM, Swanson BE, Vawter MP, Williams D, Wohnoutka P, Zielke HR, Geschwind DH, Hof PR, Smith SM, Koch C, Grant SG, Jones AR: An anatomically comprehensive atlas of the adult human brain transcriptome. *Nature* 2012, 489:391–399

Heinrich PC, Behrmann I, Haan S, Hermanns HM, Müller-Newen G, Schaper F: Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. *Biochem J* 2003, 374:1–20

Heller MJ: DNA microarray technology: Devices, Systems, and Applications. *Annu Rev Biomed Eng* 2002, 4:129–153

Higman VA: A Refined Model for the TSG-6 Link Module in Complex with Hyaluronan. *J Biol Chem* 2014, 289: 5619–5634

Irizarry RA, Hobbs B, Collin F, Beazer-Barclay YD, Antonellis KJ, Scherf U, Speed TP: Exploration, normalization, and summaries of high density oligonucleotide array probe level data. *Biostatistics* 2003, 4:249–264

Isodono K, Takahashi T, Imoto H, Nakanishi N, Ogata T, Asada S, Adachi A, Ueyama T, Oh H, Matsubara H: PARM-1 is an endoplasmic reticulum molecule involved in endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in rat cardiac myocytes. *PLoS One* 2010, 5:e9746

Jesnowski R, Backhaus C, Ringel J, Löhr M: Ribosomal highly basic 23-kDa protein as a reliable standard for gene expression analysis. *Pancreatology* 2002, 2:421–424

Ji Y, Hebbring S, Zhu H, Jenkins GD, Biernacka J, Snyder K, Drews M, Fiehn O, Zeng Z, Schaid D, Mrazek DA, Kaddurah-Daouk R, Weinshilboum RM: Glycine and a glycine dehydrogenase (GLDC) SNP as citalopram/escitalopram response biomarkers in depression: pharmacometabolomics-informed pharmacogenomics. *Clin Pharmacol Ther* 2011, 89:97–104

Johanson C, Stopa E, Baird A, Sharma H: Traumatic brain injury and recovery mechanisms: peptide modulation of periventricular neurogenic regions by the choroid plexus-CSF nexus. *J Neural Transm* 2011, 118:115–133

Kapur S, Phillips AG, Insel TR: Why has it taken so long for biological psychiatry to develop clinical tests and what to do about it? *Mol Psychiatry* 2012, 17:1174–1179

Karege F, Vaudan G, Schwald M, Perroud N, La Harpe R: Neurotrophin levels in postmortem brains of suicide victims and the effects of antemortem diagnosis and psychotropic drugs. *Brain Res Mol Brain Res* 2005, 136:29–37

Kendziorski CM, Newton MA, Lan H, Gould MN: On parametric empirical Bayes methods for comparing multiple groups using replicated gene expression profiles. *Stat Med* 2003 22:3899–3914

Kim S, Choi K-H, Baykiz AF, Gershenfeld HK: Suicide candidate genes associated with bipolar disorder and schizophrenia: An exploratory gene expression profiling analysis of post-mortem prefrontal cortex. *BMC Genomics* 2007, 8:413

Kim MH, Kim HB, Acharya S, Sohn HM, Jun JY, Chang IY, You HJ: Ape1/Ref-1 induces glial cell-derived neurotropic factor (GDNF) responsiveness by upregulating GDNF receptor alpha1 expression. *Mol Cell Biol* 2009, 29:2264–2277

Kishore S, Stamm S: The snoRNA HBII-52 regulates alternative splicing of the serotonin receptor 2C. *Science* 2006, 311:230–232

Klegeris A, McGeer PL: Toxicity of human monocytic THP-1 cells and microglia toward SH-SY5Y neuroblastoma cells is reduced by inhibitors of 5-lipoxygenase and its activating protein FLAP. *J Leukoc Biol* 2003, 73:369–378

Koh GY: Orchestral actions of angiopoietin-1 in vascular regeneration. *Trends Mol Med* 2013, 19:31–39

Kolasiewicz W, Sauss C, Block F, Sontag KH: Behavioural effects after cholinergic stimulation of the reticular thalamic nucleus in rats. *J Neural Transm Gen Sect* 1992, 87:163–173

Koutsouleris N, Meisenzahl EM, Davatzikos C, Bottlender R, Frodl T, Scheuerecker J, Schmitt G, Zetzsche T, Decker P, Reiser M, Möller HJ, Gaser C: Use of neuroanatomical pattern classification to identify subjects in at-risk mental states of psychosis and predict disease transition. *Arch Gen Psychiatry* 2009, 66:700–712

Köves K, Görcs TJ, Kausz M, Arimura A: Present status of knowledge about the distribution and colocalization of PACAP in the forebrain. *Acta Biol Hung* 1994, 45:297–321

Kreipke CW, Reynolds CA, Schafer PC, Schafer S, Pirooz R, Rafols JA: Endothelin receptors A and B are expressed in distinct cellular compartments of rat hippocampus following global ischemia: an immunocytochemical study. *Neurol Res* 2011, 33:162–168

Leung KN, Vallero RO, DuBose AJ, Resnick JL, LaSalle JM: Imprinting regulates mammalian snoRNA-encoding chromatin decondensation and neuronal nucleolar size. *Hum Mol Genet* 2009, 18:4227–4238

Lewit-Bentley A, Réty S: EF-hand calcium-binding proteins. *Curr Opin Struct Biol* 2000, 10:637–643

Liang T, Guo L, Liu C: Genome-wide analysis of mir-548 gene family reveals evolutionary and functional implications. *J Biomed Biotechnol* 2012:679563

Lin QM, Zhao S, Zhou LL, Fang XS, Fu Y, Huang ZT: Mesenchymal stem cells transplantation suppresses inflammatory responses in global cerebral ischemia: contribution of TNF-α-induced protein 6. *Acta Pharmacol Sin* 2013, 34:784–792

Liu ZH et al.: Small ncRNA expression and regulation under hypoxia in neural progenitor cells. *Cell Mol Neurobiol* 2011, 31:1–5

Livak KJ, Schmittgen TD: Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods* 2001, 25:402–408

Lledo PM, Vernier P, Vincent JD, Mason WT, Zorec R: Inhibition of Rab3B expression attenuates Ca(2+)-dependent exocytosis in rat anterior pituitary cells. *Nature* 1993, 364:540–544

Maffioletti E, Tardito D, Gennarelli M, Bocchio-Chiavetto L: Micro spies from the brain to the periphery: new clues from studies on microRNAs in neuropsychiatric disorders. *Front Cell Neurosci* 2014, 8:75

Mann JJ: The neurobiology of suicide. *Nat Med* 1998, 4:25–30

Martins-de-Souza D et al: Proteomic analysis of dorsolateral prefrontal cortex indicates the involvement of cytoskeleton, oligodendrocyte, energy metabolism and new potential markers in schizophrenia. *J Psychiatr Res* 2009a, 43:978–986

Martins-de-Souza D, Gattaz WF, Schmitt A, Rewerts C, Marangoni S, Novello JC, Maccarrone G, Turck CW, Dias-Neto E: Alterations in oligodendrocyte proteins, calcium homeostasis and new potential markers in schizophrenia anterior temporal lobe are revealed by shotgun proteome analysis. *J Neural Transm* 2009b, 116:275–289

Martins-de-Souza D, Maccarrone G, Wobrock T, Zerr I, Gormanns P, Reckow S, Falkai P, Schmitt A, Turck CW: Proteome analysis of the thalamus and cerebrospinal fluid reveals glycolysis dysfunction and potential biomarkers candidates for schizophrenia. *J Psychiatr Res* 2010, 44:1176–1189

Matera AG, Wang Z: A day in the life of the spliceosome. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014, 15:108–121

Matsuno A Mizutani A, Okinaga H, Takano K, Yamada S, Yamada SM, Nakaguchi H, Hoya K, Murakami M, Takeuchi M, Sugaya M, Itoh J, Takekoshi S, Osamura RY: Functional molecular morphology of anterior pituitary cells, from hormone production to intracellular transport and secretion. *Med Mol Morphol* 2011, 44:63–70

Mattick JS, Makunin IV: Non-coding RNA. *Hum Mol Genet* 2006, 15(Spec No 1):R17–29

McGirr A, Turecki G: The relationship of impulsive aggressiveness to suicidality and other depression-linked behaviors. *Curr Psychiatry Rep* 2007, 9:460–466

Merali Z, Kent P, Du L, Hrdina P, Palkovits M, Faludi G, Poulter MO, Bedard T, Anisman H:Corticotropin-releasing hormone, arginine vasopressin, gastrin-releasing peptide, and neuromedin B alterations in stress-relevant brain regions of suicides and control subjects. *Biol Psychiatry* 2006, 59:594–602

Michel CI, Holley CL, Scruggs BS, Sidhu R, Brookheart RT, Listenberger LL, Behlke MA, Ory DS, Schaffer JE: Small nucleolar RNAs U32a, U33, and U35a are critical mediators of metabolic stress. *Cell Metab* 2011, 14:33–44

Minatohara K, Akiyoshi M, Okuno H: Role of Immediate-Early Genes in Synaptic Plasticity and Neuronal Ensembles Underlying the Memory Trace. *Front Mol Neurosci* 2016, 8:78

Mooney DM, Zhang L, Basile C, Senatorov VV, Ngsee J, Omar A, Hu B: Distinct forms of cholinergic modulation in parallel thalamic sensory pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004, 101:320–324

Mouser PE, Head E, Ha KH, Rohn TT: Caspase-mediated cleavage of glial fibrillary acidic protein within degenerating astrocytes of the Alzheimer's disease brain. Am J Pathol 2006, 168:936–946

Nacher J, Guirado R, Castillo-Gómez E: Structural Plasticity of Interneurons in the Adult Brain: Role of PSA-NCAM and Implications for Psychiatric Disorders. *Neurochem Res* 2013, 38:1122–1133

Nemeroff CB, Owens MJ, Bissette G, Andorn AC, Stanley M: Reduced corticotropin releasing factor binding sites in the frontal cortex of suicide victims. *Arch Gen Psychiatry* 1988, 45:577–579

Nordstrom P, Samuelsson M, Asberg M, Traskman-Bendz L, Aberg-Wistedt A, Nordin C, Bertilsson L: CSF 5-HIAA predicts suicide risk after attempted suicide. *Suicide Life Threat Behav* 1994, 24:1–9.

Odagaki Y, Garcia-Sevilla JA, Huguelet P, La Harpe R, Koyama T, Guimon J: Cyclic AMP-mediated signaling components are upregulated in the prefrontal cortex of depressed suicide victims. *Brain Res* 2001, 898:224–231

Ono H, Shirakawa O, Kitamura N, Hashimoto T, Nishiguchi N, Nishimura A, Nushida H, Ueno Y, Maeda K: Tryptophan hydroxylase immunoreactivity is altered by the genetic variation in postmortem brain samples of both suicide victims and controls. *Mol Psychiatry* 2002, 7:1127–1132

Ohtsuka T, Nakanishi H, Ikeda W, Satoh A, Momose Y, Nishioka H, Takai Y: Nexilin: a novel actin filament-binding protein localized at cell-matrix adherens junction. *J Cell Biol* 1998, 143:1227–1238

Ordway GA, Widdowson PS, Smith KS, Halaris A: Agonist binding to alpha 2-adrenoceptors is elevated in the locus coeruleus from victims of suicide. *J Neurochem* 1994, 63:617–624

Ouh IO, Kim YM, Gim SA, Koh PO: Focal cerebral ischemic injury decreases calbindin expression in brain tissue and HT22 cells. *Lab Anim Res* 2013, 29:156–161

Pandey GN, Dwivedi Y: What can post-mortem studies tell us about the pathoetiology of suicide? *Future Neurol* 2010, 5:701–720

Pandey GN, Dwivedi Y, Ren X, Rizavi HS, Faludi G, Sarosi A, Palkovits M: Regional distribution and relative abundance of serotonin(2c) receptors in human brain: effect of suicide. *Neurochem Res* 2006, 31:167–176

Pandey GN, Dwivedi Y, Ren X, Rizavi HS, Roberts RC, Conley RR: Cyclic AMP response element-binding protein in post-mortem brain of teenage suicide victims: specific decrease in the prefrontal cortex but not the hippocampus. *Int J Neuropsychopharmacol* 2007, 10:621–629

Pandey GN, Dwivedi Y, Rizavi HS, Ren X, Conley RR: Decreased catalytic activity and expression of protein kinase C isozymes in teenage suicide victims: a postmortem brain study. *Arch Gen Psychiatry* 2004, 61:685–693

Pandey GN, Pandey SC, Dwivedi Y, Sharma RP, Janicak PG, Davis JM: Platelet serotonin-2A receptors: a potential biological marker for suicidal behavior. *Am J Psychiatry* 1995, 152: 850–855

Pandey GN, Ren X, Rizavi HS, Conley RR, Roberts RC, Dwivedi Y : Brain-derived neurotrophic factor and tyrosine kinase B receptor signalling in post-mortem brain of teenage suicide victims. *Int J Neuropsychopharmacol* 2008, 11:1047–1061

Pandey GN, Rizavi HS, Ren X, Fareed J, Hoppensteadt DA, Roberts RC, Conley RR, Dwivedi Y: Proinflammatory cytokines in the prefrontal cortex of teenage suicide victims. *J Psychiatr Res* 2012, 46:57–63

Papke RL: Merging old and new perspectives on nicotinic acetylcholine receptors. *Biochem Pharmacol* 2014, 89:1–11

Paratcha G, Ledda F, Baars L, Coulpier M, Besset V, Anders J, Scott R, Ibáñez CF: Released GFRalpha1 potentiates downstream signaling, neuronal survival, and differentiation via a novel mechanism of recruitment of c-Ret to lipid rafts. *Neuron* 2001, 29:171–184

Patel TR, McCauley MA, MaCulloch J: Endothelin receptor mediated constriction and dilatation in feline cerebral resistance arterioles in vivo. *Eur J Pharmacol* 1996, 307:41–48

Pittenger C, Duman RS: Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. *Neuropsychopharmacology* 2008, 33:88–109

Plante H, Picard S, Mancini J, Borgeat P: 5-Lipoxygenase-activating protein homodimer in human neutrophils: evidence for a role in leukotriene biosynthesis. *Biochem J* 2006, 393:211–218

Popa-Wagner A, Buga AM, Popescu B, Muresanu D: Vascular cognitive impairment, dementia, aging and energy demand. A vicious cycle. *J Neural Transm* 2015, 122 Suppl 1:47–54

Popov VI, Bocharova LS. Hibernation – induced structural changes in synaptic contacts between mossy fibres and hippocampal pyramidal neurons. *Neuroscience* 1992, 48:53–62

Raadsheer FC, Hoogendijk WJ, Stam FC, Tilders FJ, Swaab DF: Increased numbers of corticotropin-releasing hormone expressing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus of depressed patients. *Neuroendocrinology* 1994, 60:436–444

Rajeevan MS, Ranamukhaarachchi DG, Vernon SD, Unger ER: Use of real-time quantitative PCR to validate the results of cDNA array and differential display PCR technologies. *Methods* 2001, 25:443–-451

Rogelj B, Hartmann CE, Yeo CH, Hunt SP, Giese KP: Contextual fear conditioning regulates the expression of brain-specific small nucleolar RNAs in hippocampus. *Eur J Neurosci* 2003, 18:3089–3096

Romaniello R, Tonelli A, Arrigoni F, Baschirotto C, Triulzi F, Bresolin N, Bassi MT, Borgatti R: A novel mutation in the β-tubulin gene TUBB2B associated with complex malformation of cortical development and deficits in axonal guidance. *Dev Med Child Neurol* 2012, 54:765–769

Rosa AI, Gonçalves J, Cortes L, Bernardino L, Malva JO, Agasse F: The angiogenic factor angiopoietin-1 is a proneurogenic peptide on subventricular zone stem/progenitor cells. *J Neurosci* 2010, 30:4573–4584

Rosel P, Arranz B, San L, Vallejo J, Crespo JM, Urretavizcaya M, Navarro MA: Altered 5-HT(2A) binding sites and second messenger inositol trisphosphate (IP(3)) levels in hippocampus but not in frontal cortex from depressed suicide victims. *Psychiatry Res* 2000, 99:173–181

Rozyczka J, Figiel M, Engele J: Endothelins negatively regulate glial glutamate transporter expression. *Brain Pathol* 2004, 14:406–414

Russo I, Barlati S, Bosetti F: Effects of neuroinflammation on the regenerative capacity of brain stem cells. *J Neurochem* 2011, 116:947–956

Rübenach SP: Todesursache Suizid. In: Wirtschaft und Statistik. 2007 [online] https://www.destatis.de/DE/Publikationen/WirtschaftStatistik/Gesundheitswesen/AktuellSuizid.pdf?__blob=publicationFile. Abrufdatum: 10. Februar 2016

Sadkowski M, Dennis B, Clayden RC, Elsheikh W, Rangarajan S, Dejesus J, Samaan Z: The role of the serotonergic system in suicidal behavior. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2013, 9:1699–1716

Sakharov DA, Maltseva DV, Riabenko EA, Shkurnikov MU, Northoff H, Tonevitsky AG, Grigoriev AI: Passing the anaerobic threshold is associated with substantial changes in the gene expression profile in white blood cells. *Eur J Appl Physiol* 2012, 112:963–972

Saxena S, Krug E, Chestnov O (Koordinatoren der Arbeitsgruppen): Preventing suicide: a global imperative. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, 2014 [online] http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/131056/1/9789241564779_eng.pdf?ua=1&ua=1. Abrufdatum: 05. Januar 2016

Schmidtke A, Sell R, Löhr C: Epidemiologie von Suizidalität im Alter. *Z Gerontol Geriat* 2008, 41:3–13

Schmidtke A, Weinacker B: Suizidalität in der Bundesrepublik und in den einzelnen Bundesländern: Situationen und Trends. Suizidprophylaxe 1994, 78:37–39

Schmitt A, Parlapani E, Bauer M, Heinsen H, Falkai P: Is brain banking of psychiatric cases valuable for neurobiological research? *Clinics* 2008, 63:255–266

Schnaar RL, Gerardy-Schahn R, Hildebrandt H: Sialic acids in the brain: gangliosides and polysialic Acid in nervous system development, stability, disease, and regeneration. *Physiol Rev* 2014, 94:461–518

Schreitmüller B, Leyhe T, Stransky E, Köhler N, Laske C: Elevated angiopoietin-1 serum levels in patients with Alzheimer's disease. *Int J Alzheimers Dis* 2012:324016

Schroeter ML, Abdul-Khaliq H, Krebs M, Diefenbacher A, Blasig IE: Serum markers support disease-specific glial pathology in major depression. *J Affect Disord* 2008, 111:271–280

Schumock GT, Lee TA, Joo MJ, Valuck RJ, Stayner LT, Gibbons RD: Association between leukotriene-modifying agents and suicide: what is the evidence? *Drug Saf* 2011, 34:533–544

Schwaller B: The use of transgenic mouse models to reveal the functions of Ca2+ buffer proteins in excitable cells. *Biochim Biophys Acta* 2012, 1820:1294–1303

Schymick JC, Scholz SW, Fung HC, Britton A, Arepalli S, Gibbs JR, Lombardo F, Matarin M, Kasperaviciute D, Hernandez DG, Crews C, Bruijn L, Rothstein J, Mora G, Restagno G, Chiò A, Singleton A, Hardy J, Traynor BJ: Genome-wide genotyping in amyotrophic lateral sclerosis and neurologically normal controls: first stage analysis and public release of data. *Lancet Neurol* 2007, 6:322–328

Scott KM, Hwang I, Chiu WT, Kessler RC, Sampson NA, Angermeyer M, Beautrais A, Borges G, Bruffaerts R, de Graaf R, Florescu S, Fukao A, Haro JM, Hu C, Kovess V, Levinson D, Posada-Villa J, Scocco P, Nock MK: Chronic physical conditions and their association with first onset of suicidal behavior in the world mental health surveys. *Psychosom Med* 2010, 72:712–719

Seki T, Hinohara Y, Taki C, Nakatani M, Ozawa M, Nishimura S, Takaki A, Itho H, Takenoya F, Shioda S: PACAP stimulates the release of interleukin-6 in cultured rat Müller cells. *Ann N Y Acad Sci* 2006,1070:535–539

Sequeira A, Gwadry FG, Ffrench-Mullen JM, Canetti L, Gingras Y, Casero RA Jr, Rouleau G, Benkelfat C, Turecki G: Implication of SSAT by gene expression and genetic variation in suicide and major depression. *Arch Gen Psychiatry* 2006, 63:35–48

Serafini G, Pompili M, Seretti ME, Stefani H, Palermo M, Coryell W, Girardi P: The role of inflammmatory cytokines in suicidal behavior: A systematic review. *Eur Neuropsychopharmacol* 2013, 23:1672–1686

Seyfried LS, Kales HC, Ignacio RV, Conwell Y, Valenstein M: Predictors of suicide in patients with dementia. *Alzheimers Dement* 2011, 7:567–573

Shalev H, Serlin Y, Friedman: Breaching the blood-brain barrier as a gate to psychiatric disorder. *Cardiovasc Psychiatry Neurol* 2009:278531

Si X, Miguel-Hidalgo JJ, O'Dwyer G, Stockmeier CA, Rajkowska G: Age-dependent reductions in the level of glial fibrillary acidic protein in the prefrontal cortex in major depression. *Neuropsychopharmacology* 2004, 29:2088–2096

Skog J, Würdinger T, van Rijn S, Meijer DH, Gainche L, Sena-Esteves M, Curry WT Jr, Carter BS, Krichevsky AM, Breakefield XO: Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers. *Nat Cell Biol* 2008, 10:1470–1476

snoRNABase 2016 [online] http://www-snorna.biotoul.fr, Abrufdatum: 10. Februar 2016

Soldati D, Schümperli D: Structural and functional characterization of mouse U7 small nuclear RNA active in 3' processing of histone pre-mRNA. *Mol Cell Biol* 1988, 8:1518–1524

Stanimirovic DB, Friedman A: Pathophysiology of the neurovascular unit: disease cause or consequence? *J Cereb Blood Flow Metab* 2012, 32:1207–1221

Statistisches Bundesamt, Informationssystem der Gesundheitsberichterstattung, 2015 [online] http://www.destatis.de. Abrufdatum: 2. Februar 2016

Stefanits H, Wesseling C, Kovacs GG: Loss of Calbindin immunoreactivity in the dentate gyrus distinguishes Alzheimer's disease from other neurodegenerative dementias. *Neurosci Lett* 2014, 566:137–141

Steiner J, Bielau H, Brisch R, Danos P, Ullrich O, Mawrin C, Bernstein HG, Bogerts B: Immunological aspects in the neurobiology of suicide: elevated microglial density in schizophrenia and depression is associated with suicide. *J Psychiatr Res* 2008, 42:151–157

Steinhilber D: 5-Lipoxygenase: enzyme expression and regulation of activity. *Pharm Acta Helv* 1994, 69:3–14

Stelzhammer V, Haenisch F, Chan MK, Cooper JD, Steiner J, Steeb H, Martins-de-Souza D, Rahmoune H, Guest PC, Bahn S: Proteomic changes in serum of first onset, antidepressant drug-naïve major depression patients. *Int J Neuropsychop* 2014, 17:1599–1608

Stumm R, Kolodziej A, Prinz V, Endres M, Wu DF, Höllt V: Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide is up-regulated in cortical pyramidal cells after focal ischemia and protects neurons from mild hypoxic/ischemic damage. *J Neurochem* 2007, 103:1666–1681

Subramanian A, Tamayo P, Mootha VK, Mukherjee S, Ebert BL, Gillette MA, Paulovich A, Pomeroy SL, Golub TR, Lander ES, Mesirov JP: Gene set enrichment analysis: A knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles. *PNAS* 2005, 102:15545–15550

Sullivan PF, Daly MJ, O'Donovan M: Genetic architectures of psychiatric disorders: the emerging picture and its implications. *Nat Rev Genet* 2012, 13:537–551

Sun YG, Pita-Almenar JD, Wu CS, Renger JJ, Uebele VN, Lu HC, Beierlein M: Biphasic cholinergic synaptic transmission controls action potential activity in thalamic reticular nucleus neurons. *J Neurosci* 2013, 33:2048–2059

Sunnqvist C, Westrin A, Traskman-Bendz L: Suicide attempters: biological stressmarkers and adverse life events. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2008, 258:456–462

Tojkander S, Gateva G, Lappalainen P: Actin stress fibers--assembly, dynamics and biological roles. *J Cell Sci* 2012, 125:1855–1864

Tomasik J, Schwarz E, Guest PC, Bahn S: Blood test for schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2012, 262 Suppl 2:79–83

Tonelli LH et al.: Elevated cytokine expression in the orbitofrontal cortex of victims of suicide. *Acta Psychiatr Scand* 2008, 117:198–206

Trabzuni D Ryten M, Walker R, Smith C, Imran S, Ramasamy A, Weale ME, Hardy J: Quality control parameters on a large dataset of regionally dissected human control brains for whole genome expression studies. J Neurochem 2011, 119:275–282

Treanor JJ, Goodman L, de Sauvage F, Stone DM, Poulsen KT, Beck CD, Gray C, Armanini MP, Pollock RA, Hefti F, Phillips HS, Goddard A, Moore MW, Buj-Bello A, Davies AM, Asai N, Takahashi M, Vandlen R, Henderson CE, Rosenthal A: Characterization of a multicomponent receptor for GDNF. *Nature* 1996, 382:80–83

Trepel M: Großhirn (Telencephalon) und funktionelle Bahnsysteme. In: Trepel M: Neuroanatomie. Struktur und Funktion. Elsevier GmbH, 2012a, 5. Auflage

Trepel M: Zwischenhirn (Diencephalon). In: Trepel M: Neuroanatomie. Struktur und Funktion. Elsevier GmbH, 2012b, 5. Auflage

Underwood MD, Arango V: Evidence for neurodegeneration and neuroplasticity as part of the neurobiology of suicide. *Biol Psychiatry* 2011 70:306–307

Vanin EF, Processed pseudogenes: characteristics and evolution. *Annu Rev Genet* 1985, 19:253–272

Velculescu VE, Zhang L, Vogelstein B, Kinzler KW: Serial Analysis of Gene Expression, *Science* 1995, 270:484–-487

Venance L, Stella N, Glowinski J, Giaume C: Mechanism involved in initiation and propagation of receptor-induced intercellular calcium signaling in cultured rat astrocytes. *J Neurosci* 1997, 17:1981–1992

Wang B: Molecular mechanism underlying sialic acid as an essential nutrient for brain development and cognition. *Adv Nutr* 2012, 3:465–472

Ward NL, Putoczki T, Mearow K, Ivanco TL, Dumont DJ: Vascular-specific growth factor angiopoietin 1 is involved in the organization of neuronal processes. *J Comp Neurol* 2005, 482:244–256

Watanabe J, Shetty AK, Hattiangady B, Kim DK, Foraker JE, Nishida H, Prockop DJ: Administration of TSG-6 improves memory after traumatic brain injury in mice. *Neurobiol Dis* 2013, 59:86-99

Wedig M P: Unterschätzte Suizidraten durch unterschiedliche Erfassung in Gesundheitsämtern: Regel und übliches Vorgehen. *Dtsch Arztebl* 2006, 103:A-2956/B-2574/C-2475

Westrin A: Stress system alterations and mood disorders in suicidal patients. A review. *Biomed Pharmacother* 2000, 54:142-145

WHO Mortality Database, 2016 [online]
http://www.who.int/healthinfo/mortality_data/en/. Abrufdatum: 03. Januar 2016

Wisniewski HG, Vilcek J: TSG-6: an IL-1/TNF-inducible protein with anti-inflammatory activity. *Cytokine Growth Factor Rev* 1997, 8:143–56

Wöhrl R, Eisenach S, Manahan-Vaughan D, Heinemann U, von Haebler D: Acute and long-term effects of MK-801 on direct cortical input evoked homosynaptic and heterosynaptic plasticity in the CA1 region of the female rat. *Eur J Neurosci* 2007, 26:2873–2883

Wolfersdorf M: Suizidalität. In: Berger M (Hrsg): Psychische Erkrankungen. Klinik und Therapie. Urban & Fischer, 2012, 4. Auflage

Wolfersdorf M, Mäulen B: Suizidprävention bei psychisch Kranken. In: Weder H, Wolfersdorf M, Welz R (Hrsg.): Therapie bei Suizidgefährdung. Ein Handbuch. Roderer Verlag, 2000

Wu RH, Feng C, Xu Y, Hua T, Liu XY, Fang M: Late-onset depression in the absence of stroke: associated with silent brain infarctions, microbleeds and lesion locations. *Int J Med Sci* 2014, 11:587–592

Yamamoto Y, Nishimura N, Morimoto S, Kitamura H, Manabe S, Kanayama HO, Kagawa S, Sasaki T: Distinct roles of Rab3B and Rab13 in the polarized transport of apical, basolateral, and tight junctional membrane proteins to the plasma membrane. *Biochem Biophys Res Commun* 2003, 308:270–275

Ye M, Hayar A, Strotman B, Garcia-Rill E: Cholinergic modulation of fast inhibitory and excitatory transmission to pedunculopontine thalamic projecting neurons. *J Neurophysiol* 2010, 103:2417–2432

Young KA: Elevated Neuron Number in the Limbic Thalamus in Major Depression. *Am J Psychiatry* 2004, 161:1270–1277

Younis I, Dittmar K, Wang W, Foley SW, Berg MG, Hu KY, Wei Z, Wan L, Dreyfuss G: Minor introns are embedded molecular switches regulated by highly unstable U6atac snRNA. *Elife* 2013, 30:2:e00780

Zakowski W, Bogus-Nowakowska K, Robak A: Embryonic and postnatal development of calcium-binding proteins immunoreactivity in the anterior thalamus of the guinea pig. *J Chem Neuroanat* 2013, 53:25–32

Zeng H, Shen EH, Hohmann JG, Oh SW, Bernard A, Royall JJ, Glattfelder KJ, Sunkin SM, Morris JA, Guillozet-Bongaarts AL, Smith KA, Ebbert AJ, Swanson B, Kuan L, Page DT, Overly CC, Lein ES, Hawrylycz MJ, Hof PR, Hyde TM, Kleinman JE, Jones AR: Large-scale cellular-resolution gene profiling in human neocortex reveals species-specific molecular signatures. *Cell* 2012, 149:483–496

Zhao Y, Wei YJ, Cao HQ, Ding JF: Molecular Cloning of NELIN, a Putative Human Cytoskeleton Regulation Gene. *Acta Biochim Biophys Sin* 2001, 33:19–24

Ziats MN, Rennert OM: Identification of differentially expressed microRNAs across the developing human brain. *Mol Psychiatry* 2014, 19:848–852

Zobel A, Maier W: Endophänotypen - ein neues Konzept zur biologischen Charakterisierung psychischer Störungen. *Nervenarzt* 2004 75:205–214

## Danksagung

Zu großem Dank bin ich Herrn Prof. Dr. med. Dr. phil. Johannes Thome für die Auswahl eines äußerst vielversprechenden Themas und das in mich gesetzte Vertrauen verpflichtet. Darüber hinaus sind die fachlichen Diskussionen und die mir gewährte wissenschaftliche Freiheit beim Bearbeiten des Themas der Grundstein für das Gelingen der Arbeit gewesen.

Herrn Prof. Dr. med. Andreas Büttner danke ich besonders für die Kooperation hinsichtlich der Gehirnprobenentnahme und seine hervorragende Betreuung sowie ständige Hilfsbereitschaft.

Weiterhin gilt mein außerordentlicher Dank Herrn Prof. Dr. Aurel Popa-Wagner, der mich geduldig in die Experimentelle Forschung eingearbeitet hat und seine Expertise, vor allem in Sachen praktischer Laborarbeit, bereitwillig teilte. Die aus den Diskussionen gewonnenen Anregungen waren unverzichtbar.

Herrn Dr. biol. hum. Claus-Jürgen Scholz danke ich für die Kooperation im Zusammenhang mit der Durchführung von Microarray-Analyse und die tatkräftige Unterstützung zur Lösung technischer Fragestellungen.

Frau Adriana Uzoni gilt mein Dank für die immer ausgesprochen angenehme Atmosphäre im Laboralltag, die wertvollen Diskussionen und die produktive wissenschaftliche Zusammenarbeit.

Mein persönlicher Dank gilt meiner Familie für ihre Unterstützung und ihr Verständnis.

## Eidesstattliche Versicherung

Ich, Karolina Furczyk, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Datum Unterschrift