

Aus der  
Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie  
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/ Saar  
Direktor: Prof. Dr. med. Matthias Riemenschneider  
Ehemaliger Direktor: Prof. Dr. med. Peter Falkai

**Mikroskopisch-stereologische Untersuchung des posterioren Hippocampus bei  
Schizophrenie: eine postmortem Studie**

***Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin***  
**der Medizinischen Fakultät**  
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES  
2013

vorgelegt von Corinna Steyskal,  
geboren am 07.11.1983 in Erlangen

Datum:

Dekan:

Berichterstatter:

meiner Familie

1	ZUSAMMENFASSUNG	1
1.1	Mikroskopisch-stereologische Untersuchung des posterioren Hippocampus bei Schizophrenie: eine postmortem Studie	1
2	SUMMARY	2
2.1	Stereologic investigation of the posterior part of the hippocampus in schizophrenia: a post mortem study	2
3	EINLEITUNG	3
3.1	Die Gruppe der Schizophrenien	3
3.1.1	Prävalenz und Ätiologie	3
3.1.2	Symptomatik	5
3.1.3	Formen der Schizophrenie	7
3.1.4	Diagnostik	7
3.1.5	Verlauf	8
3.1.6	Therapie	9
3.1.6.1	Multifaktorielle Ansätze	9
3.1.6.2	Pharmakotherapie	10
3.1.6.3	Typische Neuroleptika	10
3.1.6.4	Atypische Antipsychotika	11
3.1.6.5	Wirkeintritt von Psychopharmaka	12
3.2	Der Hippocampus	12
3.3	Ziel der vorliegenden Studie	15
4	MATERIAL UND METHODIK	16
4.1	Material	16
4.1.1	Patientenkollektiv und Kontrollgruppe	16
4.2	Methodik	19
4.2.1	Gewebeaufbereitung	19
4.2.2	Stereologische Analyse	22
4.2.2.1	Ein- und Ausschlusskriterien von Zellen	25
4.2.2.2	Reproduzierbarkeit der Ergebnisse	26
4.3	Statistische Analyse	26
5	ERGEBNISSE	28
5.1	Volumen und Neurone	28

---

5.2	Astrozyten	34
5.3	Oligodendrozyten	37
5.4	Postmortemintervall und Geschlechtsunterschiede	40
5.5	Korrelationen	42
6	DISKUSSION	45
6.1	Volumen	45
6.2	Neurone	46
6.3	Astrozyten	47
6.4	Oligodendrozyten	48
6.4.1	Myelinisierungsprozesse	48
6.5	Postmortem Intervalle	50
6.6	Konfundierende Variablen der vorliegenden Arbeit	50
6.7	Schlussfolgerung	52
7	LITERATURVERZEICHNIS	53
8	DANKSAGUNG	71
9	PUBLIKATIONEN	72

# 1 ZUSAMMENFASSUNG

## 1.1 Mikroskopisch-stereologische Untersuchung des posterioren Hippocampus bei Schizophrenie: eine postmortem Studie

Frühere strukturelle Magnet-Resonanz-Tomographie Untersuchungen und postmortem Studien zeigten einen Volumenverlust des Hippocampus bei Patienten mit Schizophrenie. Die hierbei bemerkte Gewebereduktion besonders innerhalb des posterioren Anteils des Hippocampus ist dabei einer der am besten replizierten Befunde. Die zugrundeliegenden Ursachen sind jedoch unklar und könnten mit Veränderungen zellulärer Subfraktionen zusammenhängen. Um diese Vermutungen zu verifizieren wurde eine stereologische postmortem Studie des posterioren Hippocampus bei 10 schizophrenen Patienten und 10 gesunden Kontrollprobanden durchgeführt. Neben dem Gesamtvolumen wurden Zellzahl und Dichteverhältnisse von Neuronen, Oligodendrozyten und Astrozyten in den Subfeldern des Cornu ammonis (CA) 1, 2/3, 4 und Subiculum ermittelt. Die Untersuchung erfolgte mithilfe eines Stereologie-Equipments systematisch an Nissl-gefärbten histologischen Gesamthirnserienschnitten. Im Vergleich zu der Kontrollgruppe zeigte sich in Gehirnschnitten von an Schizophrenie erkrankten Patienten eine signifikante Abnahme der durchschnittlichen Anzahl der Oligodendrozyten in der linken und in der rechten Cornu ammonis 4 (CA4) Region. Gleichzeitig zeigte sich hier die absolute Anzahl von Neuronen und Astrozyten unverändert im Vergleich zur Kontrollgruppe sowie die Dichte und das Volumen der Neurone ebenfalls unverändert. Die Anzahl der Astrozyten stieg jedoch in beiden Gruppen mit dem Alter an.

Dieses Resultat stimmt mit vorangegangenen Studien überein, welche eine verminderte Oligodendrozytenanzahl im präfrontalen Kortex bei Schizophrenie beschreiben [Byne et al., 2006, Hof et al., 2002, Hof et al., 2003, Uranova et al., 2004]. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit könnten ein Hinweis auf die gestörte Konnektivität von Cornu ammonis 4 (CA4) des posterioren Anteils des Hippocampus bei Schizophrenie sein. Dies würde die Theorie unterstützen, dass Pathologien im posterioren Anteil des Hippocampus in die Pathogenese der Schizophrenie involviert sind [Harrison, 2004, Heckers, 2004, Strasser et al., 2005].

## 2 SUMMARY

### 2.1 Stereologic investigation of the posterior part of the hippocampus in schizophrenia: a post mortem study

Structural magnetic resonance imaging and post mortem studies in schizophrenia were able to show volume loss in the hippocampus in schizophrenia before. Especially the tissue reduction in the posterior section of the hippocampus is one of the best replicated results. The exact cause is still unknown and could be in correlation with changes of cellular subfractions within this structure. To address this theory, a stereological post mortem study of posterior hippocampal subregions of 10 patients with schizophrenia and 10 matched controls was conducted. Total cell numbers and densities of neurons, oligodendrocytes, and astrocytes, as well as the total volume of the subfractions Cornu ammonis (CA) 1, 2/3, 4, and subiculum were investigated. The study took place using design-based stereology on Nissl-stained histological sections. Compared to the controls, patients with schizophrenia showed a significant decrease in number of oligodendrocytes of the left and the right Cornu ammonis 4 (CA4). At the same time, the number of neurons and astrocytes was unaltered in comparison with the control group as well as density and volume of neurons was also unaltered. The number of Astrocytes increased though in both groups with age.

These results are in line with earlier studies showing decreased numbers of oligodendrocytes in the prefrontal cortex in schizophrenia [Byne et al., 2006, Hof et al., 2002, Hof et al., 2003, Uranova et al., 2004]. Thus the results may indicate a disturbed connectivity of Cornu ammonis 4 (CA4) of the posterior part of the hippocampus in schizophrenia. This would be in line with other studies showing the involvement of posterior hippocampal pathology in the pathophysiology of schizophrenia [Harrison, 2004, Heckers, 2004, Strasser et al., 2005].

## **3 EINLEITUNG**

### **3.1 Die Gruppe der Schizophrenien**

Die Gruppe der Schizophrenien (abgeleitet aus dem altgriechischen σχίζειν, schizein, „abspalten“ und φρήν, phrēn, „Zwerchfell, Seele“) gehört zu den schwersten psychiatrischen Syndromen. Sie bildet eine heterogene Erkrankung, die hinsichtlich ihres klinischen Erscheinungsbildes sehr vielfältig ist.

Gegen Ende des 19. Jahrhunderts fasste Emil Kraepelin mehrere psychiatrische Krankheitsbilder unter dem Begriff „Dementia Praecox“ zusammen und grenzte diese von den manisch-depressiven Erkrankungen ab [Geraud, 2007, Jablensky, 1997, Mahieu, 2009]. Durch die von dem Schweizer Psychiater Eugen Bleuler im Jahre 1911 erfolgte Reformierung der Konzepte von Kraepelin gewann der Begriff der Schizophrenie an Bedeutung [Tolle, 2007].

#### **3.1.1 Prävalenz und Ätiologie**

Die Schizophrenie tritt mit einer weltweiten Prävalenz von ungefähr 1% auf, unabhängig von Rasse und Kultur [Bromet und Fennig, 1999]. Epidemiologische Untersuchungen während des letzten Jahrhunderts bestätigten eine Inzidenzrate von 0,16-0,42 pro 1000 [Jablensky, 2000].

Die Ätiologie zeigte sich unabhängig von Geschlecht, Kultur, Land und Alter. Jedoch zeigt die Häufigkeitsverteilung in verschiedenen sozialen Schichten Unterschiede auf. Personen mit niedrigem sozialen Status und Bewohner von Städten scheinen genauso wie Alleinstehende häufiger betroffen zu sein [Buszewicz und Phelan, 1994, Riecher et al., 1989]. Diese Beobachtungen lassen sich mit der Social-Drift Hypothese nach Ausbruch der Krankheit erklären [Treasaden et al., 2000]. Diese besagt, dass ein an Schizophrenie erkrankter Patient häufig in die unteren Sozialschichten absinkt, da sich aufgrund des Krankheitsbildes die Erwerbsfähigkeit und die soziale Stellung verschlechtert [Silverton und Mednick, 1984].

Der Erkrankungsgipfel bei Männern liegt zwischen 15 und 25 Jahren. Detaillierte Studien zeigten, dass Frauen im Schnitt drei bis vier Jahre später erkranken [Faraone

et al., 1994] was einem protektiven Effekt von Östrogenen zugeschrieben wird. Diese Theorie spiegelt sich auch in einem zweiten Erkrankungsgipfel bei Frauen zum Zeitpunkt der Menopause wieder [Hafner, 1998, Riecher-Rössler und Hafner, 1993]. Jedoch zeigt das kumulative Lebenszeitrisko an Schizophrenie zu erkranken keine geschlechtsspezifischen Unterschiede [Hafner et al., 1991]. Durch den frühen Beginn und den häufig chronischen Verlauf ist die Schizophrenie eine für das öffentliche Gesundheitswesen sehr kostspielige Erkrankung [Kissling et al., 1999, Konnopka et al., 2009, Pearlson, 2000].

Die Schizophrenie ist eine sehr schwere psychiatrische Erkrankung, ersichtlich aus der hohen Suizidrate von 10–20% und den drei- bis fünfmal so vielen Suizidversuchen [Schultz et al., 2007, Siris, 2001]. Komorbiditäten sind häufig [Schultz et al., 2007]. Über 50% der Patienten leiden zusätzlich zur schizophrenen Symptomatik an depressiven Symptomen [Zisook et al., 2007], Substanzmissbrauch [Palomo et al., 2007, Pearlson, 2000, Westermeyer, 2006] oder an internistischen Erkrankungen wie Hypertonie, chronisch obstruktiven Lungenerkrankungen und koronarer Herzkrankheit [Pecinska, 2009]. Bei gleichzeitigem Substanzmissbrauch steht vor allem Nikotinabusus im Vordergrund [Dixon et al., 2007], aber auch Alkohol [Barry et al., 2006] und illegale Drogen [Borras et al., 2007, Potvin et al., 2007]. Darüber hinaus wird Cannabiskonsum als Risikofaktor bei bestehender genetischer Prädisposition für einen Erkrankungsausbruch diskutiert [Arseneault et al., 2004].

Theorien zur Ätiopathogenese der Schizophrenie gehen von einem multifaktoriellen Geschehen aus bei dem genetische Faktoren im Zusammenwirken mit Umweltfaktoren im Vordergrund stehen [Arolt et al., 2007]. Diskutiert werden entwicklungspsychologische Momente, soziokulturelle und psychodynamische Aspekte sowie prä- und perinatale hirnorganische Schäden [Berner, 2001]. Mehrere Gen-Loci, die mit einem jeweils geringgradig erhöhten Schizophrenierisiko einhergehen, sind schon identifiziert worden [Bergen et al., 2012, Cummings et al., 2012, Hamshere et al., 2012, Harrison und Weinberger, 2005, Levinson et al. 2012, Lewis et al., 2003]. Adoptionsstudien zeigten, dass das Erkrankungsrisiko um das Zehnfache steigt wenn Verwandte ersten Grades betroffen sind, sogar auf fast 50% wenn beide Elternteile erkrankt sind [McGuffin et al., 1995]. Zwillingsstudien konnten zeigen, dass der Krankheitsausbruch neben einer genetischen Komponente [Cordeiro et al., 2007,

Greenwood et al., 2007, Maier et al., 1999, Sherrington et al., 1988] zusätzlich von endogenen und exogenen Faktoren abhängt [Cannon et al., 1998] (*Tabelle 1*).

Risikofaktoren	Beispiele	Quellenangabe
Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen	Diabetes mellitus, Rhesus-Inkompatibilität, Prä-Eklampsie, kongenitale Malformationen, Uterusatonie, Missverhältnisse Körpergewicht und Körperlänge, Asphyxie, pränataler Stress	[Cannon et al., 2002, Maki et al., 2005]
Infektionen	Geburt in Winter- /Frühlingsmonaten: Influenzavirus Infektion der Mutter	[Mortensen et al., 1999, Mortensen et al., 2007]
Persönliche Faktoren	Niedriger Intelligenzquotient, abnormes Sozialverhalten vor Erkrankung	[Jablensky, 2000]
Familiäre Interaktionsmuster	Zweideutige Kommunikation, Feindseligkeit	[Miklowitz, 1994]

**Tabelle 1:** Risiko- und prädisponierende Faktoren zur Entstehung einer Schizophrenie

Eine finnische Zwillingsstudie erläuterte bei monozygoten Zwillingen eine Konkordanzrate von 46%, bei dizygoten nur von 9% [Cannon et al., 1998]. Ähnliche Ergebnisse konnten in weiteren Studien dokumentiert werden [Maier et al., 1999, Miklowitz, 1994].

### 3.1.2 Symptomatik

Einzelne für die Schizophrenie pathognomonische Zeichen oder Symptome sind nicht eruiert [Schultz et al., 2007]. Dennoch gibt es regelhaft auftretende Symptome. Die Grundlage der heute verwendeten Unterteilung der schizophrenen Symptome bildet eine Weiterentwicklung von Eugen Bleulers Grundsymptomen (Störungen des Denkens und Störungen der Affektivität) und akzessorischen Symptomen (Wahn, Halluzinationen, katatone Störungen) in Symptome des ersten und zweiten Ranges

durch Kurt Schneider (*Tabelle 2*) [Koehler, 1977, Koehler et al., 1977]. Diese bilden die Grundlage für die heute verwendeten diagnostischen Kriterien im Rahmen des ICD-10 (International Classification of Diseases and Related Health Problems, WHO 1992) oder des DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders).

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

**Tabelle 2:** Symptome nach Kurt Schneider, 1938

Zusätzlich kann die Schizophrenie durch das Drei-Faktoren-Modell nach Liddle [Liddle, 1987] beschrieben werden. Hierbei werden unterschieden:

- Positiv-Symptomatik
- Desorganisation
- Negativ-Symptomatik

Der Begriff der Positiv-Symptomatik umfasst Symptome, die im Vergleich zu Gesunden aufgrund einer gesteigerten Produktivität und Aktivität entstehen. Eine Negativsymptomatik hingegen steht für Defizite gegenüber nicht erkrankten Personen, sei es den Antrieb, das Denken, die Affektivität oder die Kommunikations- und Kontaktfähigkeit betreffend [Addington et al., 1991].

### 3.1.3 Formen der Schizophrenie

Die Schizophrenien sind kein einheitliches Krankheitsbild und werden am häufigsten als „Psychosen des schizophrenen Formenkreises“ bezeichnet [Pearlson, 2000]. Nach ICD-10 werden verschiedene Subtypen der Schizophrenie beschrieben. Hierzu zählen unter anderem die paranoid-halluzinatorische (ICD-10 F20.0), die hebephrene (ICD-10 F20.1), die katatone (ICD-10 F20.2), sonstige Schizophrenien, zum Beispiel die zoenästhetische (ICD-10 F20.8) sowie ein undifferenzierter Subtyp (ICD-10 F20.3), die Schizophrenia simplex (ICD-10 F20.6) und das schizophrene Residuum (ICD-10 F20.5) [Pomarol-Clotet et al., 2009].

### 3.1.4 Diagnostik

Die Diagnosestellung ist auch heute noch klinisch. Sie wird durch die Beobachtungen des Arztes und durch Eigen- und Fremdanamnesen gestellt (*Tabelle 3*). Die beschriebenen Symptome müssen über einen Zeitraum von mindestens einem Monat bestehen. Andere mögliche organische Ursachen, wie zum Beispiel Schlaganfall, Störungen durch Substanzmissbrauch, Kopfverletzungen, intrakranielle Tumore oder cerebrale Vaskulitiden müssen vor der Diagnosestellung ausgeschlossen werden [Schultz und Andreasen, 1999].

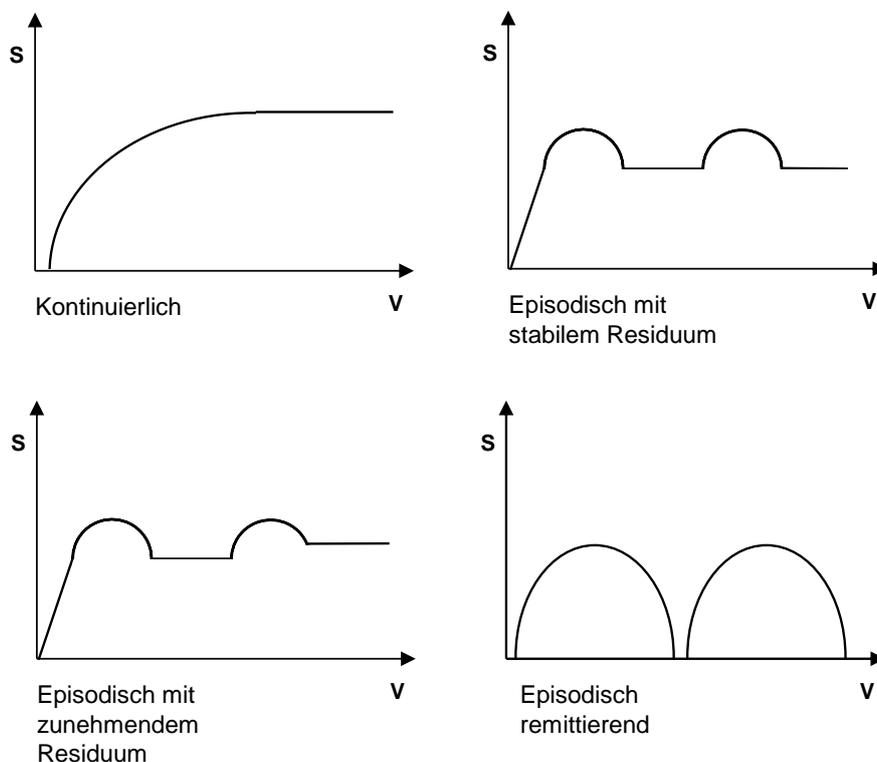
ICD-10
<u>Mindestens ein Merkmal:</u> Gedankenlautwerden, Gedankeneingebung, Gedankenentzug, Gedankenausbreitung, Kontrollwahn, Beeinflussungswahn, Gefühl des Gemachten, Wahnwahrnehmung, kommentierende oder dialogisierende Stimmen.
<u>Oder mindestens zwei Merkmale:</u> Anhaltende Halluzinationen jeder Sinnesmodalität, begleitet von flüchtigen Wahnideen oder lang anhaltenden überwertigen Ideen, Neologismen, Gedankenabreißen (Zerfahrenheit), katatone Symptomatik, negative Symptome wie Apathie, Sprachverarmung, verflachte oder inadäquate Affekte.

**Tabelle 3:** Kriterien der Schizophrenie nach ICD-10

### 3.1.5 Verlauf

Der Erkrankungsbeginn kann sich perakut (innerhalb einer Woche), akut (innerhalb von ein bis vier Wochen), subakut (innerhalb von zwei bis sechs Monaten) oder chronisch manifestieren. Häufig werden Exazerbationen der Krankheit durch unspezifische Prodromalsymptome wie Misstrauen, Angst, Schlafstörungen, Appetitverlust, Depression, etc. angekündigt [Herz und Melville, 1980].

Die Schizophrenie kann kontinuierlich, episodisch mit stabilem Residuum, episodisch mit zunehmendem Residuum oder episodisch remittierend, mit unvollständiger oder vollständiger Remission verlaufen [Arolt et al., 2007] (*Abbildung 1*).



**Abbildung 1:** Verlaufstypen schizophrener Störungen; S: Symptomatik, V: Verlauf

Des Weiteren wird unterschieden in Frühschizophrenien, deren Erstmanifestation im zweiten Dezennium liegen, in Spätschizophrenien (Manifestation nach dem 40. Lebensjahr) und in Altersschizophrenien (Manifestation nach dem 60. Lebensjahr) [Arolt et al., 2007].

Sehr wenige Schizophrenie-Patienten zeigen nur eine einzige Episode ohne bleibende Beeinträchtigung. Prognostische Voraussagen über individuelle Krankheitsverläufe gestalten sich daher als schwierig. Dennoch existieren Faktoren, die Vermutungen über einen Verlauf zulassen. Weibliches Geschlecht, Ehe, später Beginn der Erkrankung, gute soziale Kompetenzen vor Krankheitsbeginn, eine kontinuierliche antipsychotische Therapie und ein akutes Auftreten mit Positiv-Symptomatik werden dabei in Zusammenhang mit einem günstigen Verlauf gesehen [Jablensky, 1995].

Etwa ein Drittel der Patienten zeigt einen günstigen Verlauf mit wenigen Episoden, akuter Positiv-Symptomatik und minimalen Residuen nach der psychotischen Episode. Ein weiteres Drittel zeigt deutliche Beeinträchtigungen, vor allem durch Negativ-Symptomatik nach der ersten Krankheitsepisode. Das letzte Drittel leidet unter fortschreitenden Residuen [Huber et al., 1979, Pearlson, 2000].

### **3.1.6 Therapie**

#### **3.1.6.1 Multifaktorielle Ansätze**

Bis heute existiert keine kurative Therapiemöglichkeit der Schizophrenie. An der multifaktoriellen Ätiopathogenese orientiert wird zumeist ein mehrdimensionaler Therapieansatz praktiziert. Zum Einsatz kommen dabei Soziotherapie, Verhaltenstherapie, Arbeitstherapie, Pharmakotherapie und in lebensbedrohlichen katatonen Fällen die Elektrokrampftherapie. Es wird versucht Symptome zu reduzieren und den Patienten damit ein selbstständiges, möglichst unabhängiges Leben zu ermöglichen.

Mit dem Zurücktreten der akut-psychotischen Symptome wächst meist die Kooperationsbereitschaft der Patienten. Durch psychoedukative Gruppentherapie können dem Patienten Informationen über Erkrankung, Behandlungsmöglichkeiten und pathogene Einflussfaktoren gegeben werden. In der Psychotherapie finden Methoden verbaler und nonverbaler Kommunikation systematische Anwendung. Soziotherapie soll soziale Fähigkeiten der Patienten fördern und gleichzeitig die Entstehung sozialer Defizite verhindern. Hierzu zählen zum Beispiel Arbeits- und Beschäftigungstherapie, milieutherapeutische Intervention, rehabilitative Maßnahmen und teilstationäre Behandlungen [Birchwood, 1999, Huxley et al., 2000, McFarlane et al., 2003]. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass eine positive Beeinflussung des

Krankheitsverlaufs vor allem im Rahmen einer frühen und dauerhaften multimodalen Behandlung gesehen wird.

### **3.1.6.2 Pharmakotherapie**

Seit 1951/52 steht in der akuten Erkrankungsphase die Psychopharmakotherapie im Vordergrund. Die französischen Psychiater Delay und Deniker setzten das heute in Deutschland nicht mehr erhältliche Phenothiazinderivat Chlorpromazin ein [Davis et al., 1991]. Chlorpromazin wirkt schwach antipsychotisch, zeigt extrapyramidalmotorische Störungen als Nebenwirkung und ist stark sedierend [Karow und Lang-Roth, 2009].

In der heutigen Pharmakotherapie kommt der Behandlung mit Neuroleptika (Antipsychotika) die grösste Bedeutung zu. Eine Einteilung der Neuroleptika erfolgte entweder aufgrund ihrer chemischen Struktur oder nach der Wirkungsintensität [Karow und Lang-Roth, 2009]. Die heute verwendete Einteilung legt größeren Wert auf die Wirkungen, welche auf unterschiedlichen Rezeptorprofilen basieren. So wird von typischen (klassischen) Neuroleptika und atypischen Antipsychotika gesprochen.

### **3.1.6.3 Typische Neuroleptika**

Das Hauptmerkmal der typischen Neuroleptika ist ihre antagonistische Wirkung an Dopamin-D<sub>2</sub>-Rezeptoren. Carlsson stellte aufgrund der guten antipsychotischen Wirkungsweise dieser Medikamentengruppe die Dopaminhypothese zur Pathogenese der Schizophrenien auf. Er nahm an, dass eine Überaktivität des zerebralen dopaminergen Systems die Ursache für diese Erkrankungsgruppe darstellt [Carlsson, 1988].

Genauer betrachtet tritt die antipsychotische Wirkung der Neuroleptika erst nach Tagen oder Wochen ein, eine Dopamin-D<sub>2</sub>-Rezeptorblockade ist aber sofort vorhanden. Es muss daher zusätzlich eine Beteiligung anderer Transmitter in Betracht gezogen werden, da eine enge Verschaltung dopaminerg, acetylcholinerg, glutamaterg und GABAerg Systeme besteht [Karow und Lang-Roth, 2009]. Aufgrund von Interaktionen zwischen Dopamin und Glutamat sollte man die bereits erwähnte Dopamintheorie in engem Zusammenhang mit einer Glutamattheorie sehen. Postuliert

wird eine Unterfunktion von Glutamat am NMDA-Rezeptor als deren Folge es zur Ausbildung der Negativsymptomatik bei Schizophrenie kommt [Doreulee et al., 2009].

Der gemeinsame Wirkmechanismus der in ihrer chemischen Struktur teils sehr unterschiedlichen typischen Neuroleptika ist die Dopamin-D<sub>2</sub>-Rezeptorblockade vor allem in mesolimbischen und nigrostrialen Regionen des Gehirns [Barbato, 1998], wobei die klinische Potenz direkt mit der D<sub>2</sub>-Blockade korreliert [Farde et al., 1992]. Diese Medikamente verbessern eindeutig die produktive Symptomatik, zeigen aber nur eine ungenügende Wirkung auf Minus-Symptome und kognitive Störungen [Karow und Lang-Roth, 2009].

Der Gebrauch typischer Neuroleptika wird durch einige teils gravierende Nebenwirkungen eingeschränkt. Diese unerwünschten Arzneimittelwirkungen umfassen Spätdyskinesien, anticholinerge Effekte, endokrine Veränderungen und kardiovaskuläre Wirkungen wie Tachykardien und orthostatische Hypotension. Zudem kann es selten zu schwerwiegenden malignen neuroleptischen Syndromen kommen [Barbato, 1998, Diederich und Goetz, 1998]. Extrapiramidalmotorische Symptome werden bei 50-70% der Patienten bei Behandlung mit typischen Neuroleptika vorgefunden [Hoiberg und Nielsen, 2006]. Schlechtes Ansprechen auf die Behandlung während der ersten psychotischen Episode, die Höhe der benötigten Medikamentendosis, die Dauer der Einnahme, das Vorhandensein von extrapyramidalen Bewegungsstörungen und Alkoholmissbrauch in der Vorgeschichte gelten als Risikofaktoren für das Auftreten von Spätdyskinesien, welche nur schlecht behandelbar sind [Chakos et al., 1996, Jeste et al., 1995].

#### **3.1.6.4    *Atypische Antipsychotika***

Bei der Gruppe der atypischen Antipsychotika handelt es sich um eine chemisch, pharmakologisch und klinisch heterogene Gruppe von Substanzen [Grunder et al., 2001].

Als Kriterien dieser Medikamentengruppe gelten [Kinon und Lieberman, 1996]:

- Seltenerer extrapyramidal-motorischer Nebenwirkungen / Spätdyskinesien
- Effektivität in der Behandlung Positiv-, Negativ- / kognitiver Symptome
- Verhinderung eines Anstiegs des Prolaktinspiegels

Clozapin ist das einzige Medikament, welches diese Anforderungen auch bei chronischer Schizophrenie in befriedigendem Ausmaß erfüllt.

Das Rezeptorbindungsprofil von Clozapin zeigt hohe Affinitäten zu alpha-1 adrenergen-, D-1-, D-4-, 5-HT<sub>1c</sub>-, 5-HT<sub>2</sub>- und muskarinergen M1-Rezeptoren und niedrige Affinitäten zu alpha-2-adrenergen-, D-2-, D-3-, D-5-, 5-HT<sub>1a</sub>-, 5-HT<sub>3</sub>-, und muskarinergen M-2-Rezeptoren [Markstein, 1994, Reinbold, 1998]. Es muss bei der Gabe von Clozapin aufgrund seines Agranulozytose-Risikos allerdings eine strenge Überwachung erfolgen, was die Anwendbarkeit in der Praxis limitiert [Gaszner et al., 2002].

### **3.1.6.5 Wirkeintritt von Psychopharmaka**

Die Wirkung der Antipsychotika hat für jedes Symptom unterschiedliche Zeitskalen. Die Sedation tritt am schnellsten, innerhalb von Stunden ein. Danach folgt die Entwicklung einer Toleranz und erst Tage oder Wochen später stellt sich die antihalluzinatorische und antiparanoide Wirkung ein. Erst im Anschluss daran kann die optimale und stabilisierende Wirkung erreicht werden [Sedvall, 1996].

Jedoch treten auch Behandlungsresistenzen bei chronischer Schizophrenie auf. Hierbei zeigen die Patienten keine bis nur eine geringe Besserung. Dies führt dann häufig zu langen Hospitalisierungsphasen.

## **3.2 Der Hippocampus**

Der menschliche Hippocampus ist in Gedächtnisprozesse und in Regulationen des Affekts, welche beide bei Schizophrenie kompromittiert sind, involviert [Heckers und Konradi, 2002]. Die hauptsächliche Lokalisation des Hippocampus findet sich im Schläfenlappen, der Medialwand des Seitenventrikelunterhorns anliegend. Zahlreiche Afferenzen und Efferenzen werden hier verschaltet. Unter anderem entsteht so der Papez-Neuronenkreis, der die Kommunikation von Hippocampus, Thalamus und Gyrus cinguli ermöglicht. Neben der Gedächtnisbildung wird der Hippocampus auch in Verbindung mit endokrinen, viszeralen und emotionalen Vorgängen des limbischen Systems gebracht [Trepel, 2004]. Der Hippocampus wird als Schlüsselstruktur in der Verarbeitung von sensorischen Informationen gesehen, welche die uni- und heteromodalen Assoziationskortex-Areale passiert haben und in Kontextanalyse und sensorische Filterung involviert sind [Falkai et al., 2001]. Dem posterioren Anteil des

Hippocampus werden primär kognitive Funktionen zugeschrieben, während dem anterioren Anteil Stressverarbeitung, Emotionen und Affekt zugeordnet werden [Fanselow und Dong, 2010].

Studien mittels struktureller Magnetresonanztomographie (sMRT) und postmortem Studien bei Schizophrenie konnten bereits einen Volumenverlust der medialen Temporalregion, vor allem des Hippocampus, als eine regelhaft gefundene strukturelle Veränderung nachweisen [Heckers, 2001, Velakoulis et al., 2001]. Es zeigten frühere postmortem Studien einen Volumenverlust in Subregionen des Hippocampus bei Schizophrenie, welcher mit Positivsymptomen in Verbindung stehen könnte [Bogerts, 1997, Bogerts et al., 1990, Bogerts et al., 1993]. Frühere quantitative Studien des Hippocampus beschrieben eine reduzierte Interneurondichte, vor allem von parvalbumin-immunoreaktiven Zellen, ohne Änderungen von Pyramidenzellen [Benes et al., 1998, Zhang et al., 2002]. Während die meisten dieser Studien keine Veränderungen in der Zelldichte aufzeigten [Arnold et al., 1995, Dwork, 1997, Harrison, 1999], zeigte sich in der Studie von Falkai und Bogerts 1986 eine verminderte Pyramidenzellendichte bei Schizophrenie [Falkai und Bogerts, 1986]. Einige Autoren bemerkten eine Verminderung von Gliazellen im Hippocampus bei männlichen an Schizophrenie erkrankten Patienten [Falkai und Bogerts, 1986]. Es konnte im Hippocampus von Patienten mit Schizophrenie hingegen keine Astrozytose gefunden werden [Casanova et al., 1990, Falkai et al., 1999, Steiner et al., 2008].

Es muss beachtet werden, dass zweidimensionale Methoden zur Erfassung der Zellzahl, ohne das Volumen der Region in Betracht zu ziehen, eine methodische Limitierung durch den Einfluss von Volumenunterschieden (unter anderem durch Neuropil-Degeneration) und Gewebeschrumpfung durch Fixierung enthalten. Zusätzlich könnten Probleme durch irreguläre Zellformen und –grösse, nicht-stichprobenartige Durchführung oder durch das Zerteilen von Zellen während des Schneideprozesses auftreten [Williams und Rakic, 1988].

Stereologie (von griechisch *stereos* = fest, körperlich) ist im ursprünglichen Wortsinn eine räumliche Interpretation von Schnitten. Da es häufig nicht möglich ist räumliche Strukturen exakt zu erfassen, werden hier Eigenschaften des Materials durch Parameter ausgedrückt und berechnet. Bis heute haben zwei stereologische Arbeiten mittels design-based Stereologie über Zellzahlen im Hippocampus keinen Unterschied

zwischen Patienten mit Schizophrenie und Kontrollgruppen ergeben. Hierbei wurde einerseits jedoch nur die Gesamtzahl von Neuronen untersucht [Heckers et al., 1991], während andererseits nicht zwischen den verschiedenen Zelltypen unterschieden wurde und zudem Patienten mit Schizophrenie und mit schizoaffektiven Störungen eingeschlossen wurden [Walker et al., 2002].

Betrachtet man die strukturellen Magnetresonanztomographie-Studien, so zeigt eine grosse Anzahl ein vermindertes Volumen im posterioren Anteil des Hippocampus [Becker et al., 1996, Bogerts et al., 1993, Hirayasu et al., 1998, Narr et al., 2001, Rametti et al., 2007, Velakoulis et al., 2001, Yamasue et al., 2004], wohingegen nur eine geringe Anzahl an Studien eine Volumenreduktion im anterioren Anteil fanden [Pegues et al., 2003, Szeszko et al., 2003]. In neueren Studien beschrieben Shepherd et al. sowie Stein et al. ebenfalls eine Volumenreduktion des Hippocampus bei Schizophrenie und Stein et al. konnten zudem genetische Varianten identifizieren, welche sie hiermit assoziierten [Shepherd et al., 2012, Stein et al., 2012]. Adriano et al. fanden in ihrem Review, in dem sie oben genannte Volumendifferenzen ansprachen, eine bilaterale Volumenreduktion des Hippocampus gegenüber einer Kontrollgruppe. Patienten mit einer ersten Episode der Erkrankung und Patienten mit chronischer Schizophrenie zeigten insgesamt das gleiche Ausmass der Volumenreduktion [Adriano et al., 2012]. In Studien mittels funktioneller Magnetresonanztomographie (fMRT) wurde eine verminderte Aktivierung des posterioren Anteils des Hippocampus mit einem Defizit der Augenfolgebewegungen [Tregellas et al., 2004] und einem beeinträchtigten Sprachverständnis bei Schizophrenie erklärt [Eyler et al., 2008].

Insgesamt sind Defizite des posterioren Anteils des Hippocampus auf zellulärer Ebene als Grundlage der beschriebenen MRT Untersuchungen bislang unbekannt. Im posterioren Anteil des Hippocampus können durch histologische Kriterien die Cornu ammonis (CA) Subregionen an Nissl-gefärbten Schnitten identifiziert werden [Falkai und Bogerts, 1986].

### **3.3 Ziel der vorliegenden Studie**

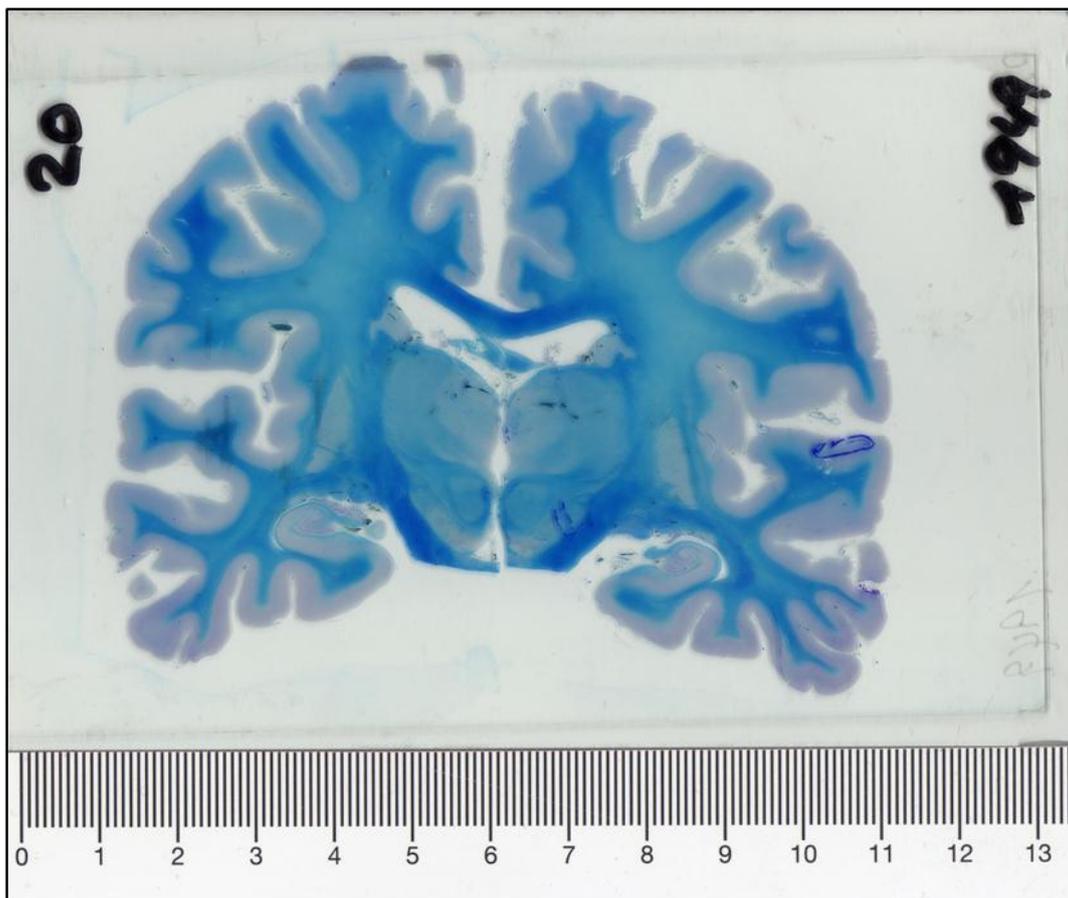
Bislang ist die den Volumendefiziten bei der Schizophrenie zugrunde liegende Veränderung auf zellulärer Ebene unklar. Die vorliegende Studie sollte aufzeigen, ob bei Patienten, die an Schizophrenie leiden, strukturelle Alterationen in den hippocampalen Subregionen CA1, CA2/3, CA4 und Subiculum bestehen. Dafür wurde die design-based Stereologie Methode verwendet. Es wurden fortlaufende histologisch gefärbte Schnitte des posterioren Anteils des Hippocampus untersucht und die Hypothese aufgestellt, dass die Anzahl von Neuronen und Oligodendrozyten bei an Schizophrenie erkrankten Personen vermindert ist.

## 4 MATERIAL UND METHODIK

### 4.1 Material

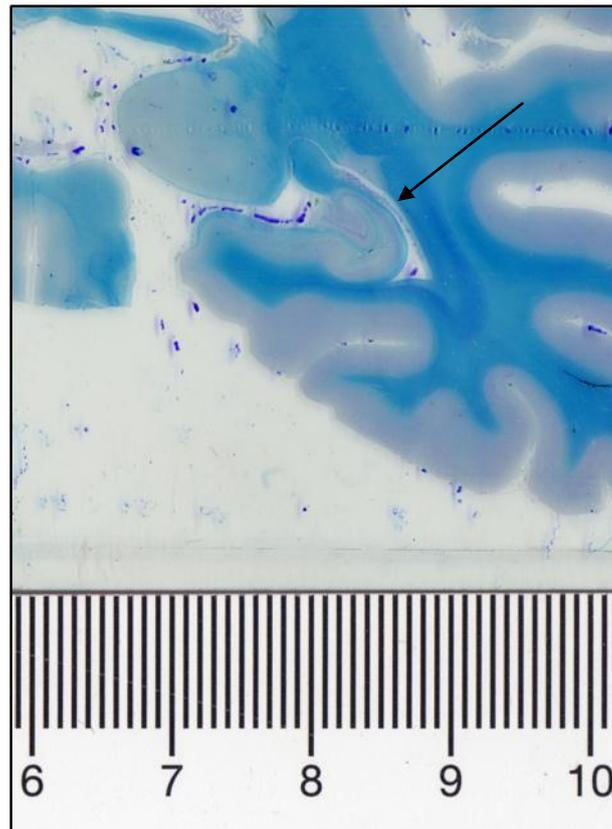
#### 4.1.1 Patientenkollektiv und Kontrollgruppe

Für die vorliegenden Untersuchungen wurden histologische Gehirnschnitte aus der Düsseldorfer Sammlung verwendet [Bogerts et al., 1990] (*Abbildungen 2-3*). Dabei wurden fixierte Gehirnschnitte von zehn an Schizophrenie erkrankten Personen untersucht, wobei nur Patienten mit vollständiger Krankenakte eingeschlossen wurden. Es handelte sich um fünf Männer und fünf Frauen im Alter von 46 bis 66 Jahren (Durchschnitt:  $55,1 \pm 7,7$  Jahre - Mittelwert  $\pm$  SEM).



**Abbildung 2:** Repräsentatives Bild eines koronaren Schnittes eines an Schizophrenie erkrankten Patienten; Skalierung in cm.

Als Erkrankungsdauer der Probanden wurde der Zeitraum zwischen erstem Krankenhausaufenthalt und Todeseintritt definiert. Diese betrug durchschnittlich  $24,8 \pm 7,5$  Jahre, das Postmortemintervall (PMI) entsprach  $40 \pm 17,0$ h [Bogerts et al., 1990, Schmitt et al., 2009]. Alle Patienten erfüllten die ICD-9 und DSM-IV Kriterien für Schizophrenie.



**Abbildung 3:** Repräsentatives Bild des Hippocampus eines an Schizophrenie erkrankten Patienten; Skalierung in cm.

Alle Patienten wurden über große Abschnitte ihrer Krankheitsdauer mit typischen Neuroleptika behandelt. Aufgrund des langen Krankheitsverlaufes konnte hierbei eine genaue kumulative Neuroleptikadosis nicht ermittelt werden [Danos et al., 2005]. Allerdings ist davon auszugehen, dass Krankheitsdauer und kumulative Neuroleptikadosis miteinander korrelieren [Nopoulos et al., 2001]. Die Todeszeitpunkte der Patienten lagen zwischen 1985 und 1988. Alle in die Studie eingeschlossenen Patienten verstarben in psychiatrischen Einrichtungen, wobei zwei dieser Patienten Suizid begingen [Bogerts et al., 1990] (*Tabelle 4*).

Nr.	G	A	E	Symptome	Todesursache
P10	m	46	18	Paranoider Wahn, Mutismus, Negativismus	Lungenembolie
P20	m	47	23	Vergiftungswahn, Akustische Halluzinationen	Herz-Kreislauf Versagen
P3	m	48	18	Akustische Halluzinationen, Denkzerfahrenheit	Herz-Kreislauf Versagen
P14	m	51	28	Wahn, Mutismus, Negativismus	Ileus
P9	m	65	26	Verfolgungswahn, Zoenaesthesien, Akustische Halluzinationen	Respiratorische Insuffizienz
P23	w	52	28	Paranoider Wahn, Akustische Halluzinationen	Suizid durch Ertrinken
P12	w	53	20	Akustische und optische Halluzinationen, Wahn, Antriebsarmut	Myokardinfarkt
P13	w	60	16	Wahn, Mutismus, Negativismus	Bronchopneumonie
P18	w	63	23	Akustische Halluzinationen, Verfolgungswahn, Denkzerfahrenheit	Suizid
P7	w	66	30	Akustische Halluzinationen, Wahn	Myokardinfarkt

**Tabelle 4:** Auflistung Patientenkollektiv (an Schizophrenie erkrankte Gruppe): Geschlecht (G), weiblich (w), männlich (m), Alter in Jahren (A), Erkrankungsdauer in Jahren (E), Symptome, Todesursache

Ausschlusskriterien für Patienten in der vorliegenden Studie:

- Alkohol- oder Drogenabusus
- Demenz
- neurologische Auffälligkeiten
- traumatische Erlebnisse
- chronische Erkrankungen oder Therapien die in Zusammenhang mit neurologischen Veränderungen gesehen werden

Vor Einschluss von histologischen Schnitten in die Studie wurden quantitative neuropathologische Veränderungen aufgrund von neurodegenerativen Erkrankungen

(z.B. Morbus Alzheimer, Morbus Parkinson, Morbus Pick) durch Begutachtung eines erfahrenen Neuropathologen ausgeschlossen [Danos et al., 2005].

Die Kontrollgruppe setzte sich aus histologischen Gehirnschnitten von Personen, die in ihrer Krankengeschichte keinerlei neuropsychiatrische oder neurologische Erkrankungen, Alkohol- oder Drogenabusus, Demenz, Trauma oder chronisch terminale Krankheiten aufwiesen zusammen (n=10, gematcht nach Alter und Geschlecht, fünf Männer, fünf Frauen; Durchschnittsalter: 50,2±10,1 Jahre, PMI 41,4±23,4h). Sie stammen aus denselben Pathologischen und Forensischen Instituten und aus derselben Zeitspanne wie die Patienten (*Tabelle 5*).

Nr.	G	A	Todesursache
N23	m	38	Akute Herzinsuffizienz
N29	m	47	Koronarthrombose
N10	m	50	Myokardinfarkt
N3	m	56	Akute Pankreatitis
N20	m	64	Aortenaneurysmaruptur
N22	w	47	Nierenversagen
N19	w	33	Koronarthrombose
N27	w	50	Aortenaneurysmaruptur
N21	w	52	Ovarialkarzinom
N34	w	64	Peritonitis

**Tabelle 5:** Auflistung Kontrollgruppe: Geschlecht (G), weiblich (w), männlich (m), Alter in Jahren (A), Todesursache

## 4.2 Methodik

### 4.2.1 Gewebeaufbereitung

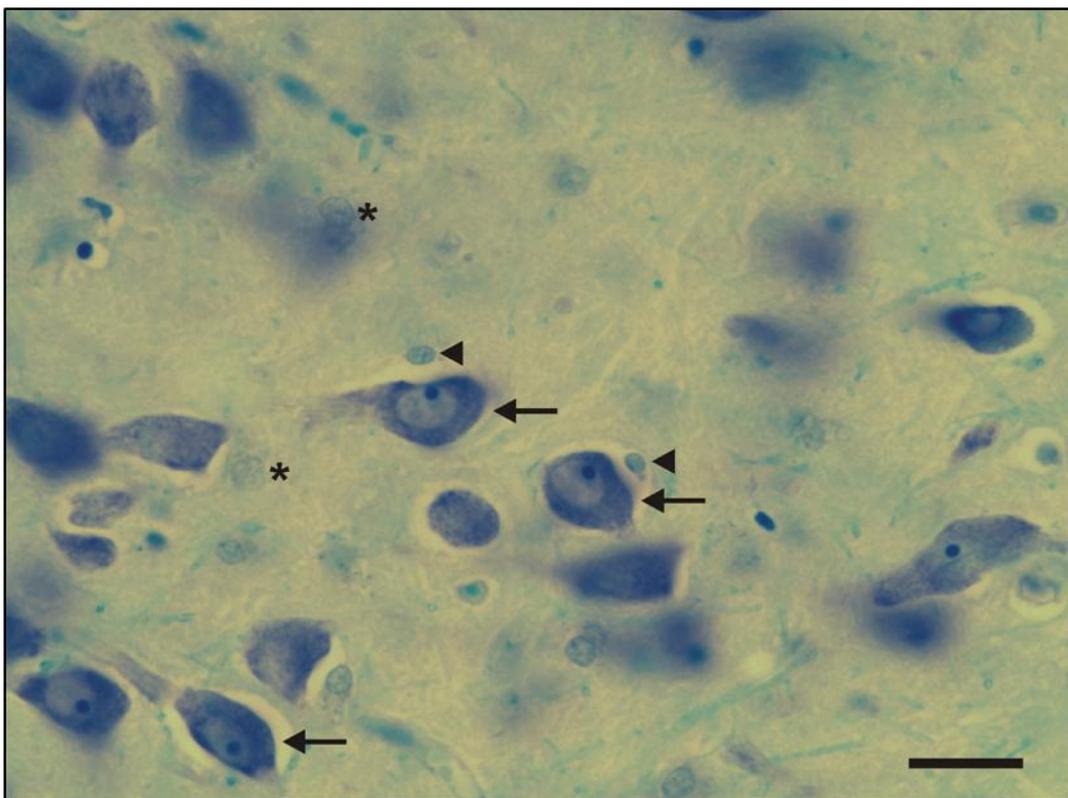
Die Gehirne wurden nach dem Tod der Probanden in toto in 10%iger phosphatgepufferter Formaldehyd-Lösung fixiert. Während des gesamten Fixationszeitraumes (ungefähr sieben Monate) lag der pH Wert (pH 7,0) und die Temperatur (15-20°C) der Fixationslösung in einem konstanten Bereich. Im Anschluss an die Fixierung wurden die frontalen und occipitalen Lappen durch koronare Schnitte,

anterior des Genus des Corpus callosums und posterior des Spleniums, vom mittleren Anteil getrennt. Die histologischen Schnitte enthalten hierbei beide Hemisphären.

Die Einbettung der Schnittblöcke erfolgte in Paraffin. Die Fertigung der Serienschnitte erfolgte in koronarer Schnittführung mit Hilfe eines Polycut S Microtoms (Leica, Solms, Deutschland) mit einer Schnittdicke von 20µm. Anschließend wurde eine Dehydratation mittels aufsteigender Ethanolreihe auf gelatinebeschichteten Objektträgern durchgeführt. Jeder fünfzigste Schnitt wurde kombiniert in Nissl (Kresylviolett) und Myelin (Luxol Fast Blue) –Färbung aufbereitet. Da die Schnittdicke aufgrund der histologischen Aufarbeitung variieren kann erfolgte eine nachträgliche Bestimmung der Schnittdicke im 1,000x Immersionsobjektiv. Methodisch wurde dabei die obere und die untere Fläche eines Schnittes fokussiert und anschließend die Koordinaten der z-Achsen der unteren von den Koordinaten der oberen Fläche subtrahiert [Danos et al., 2002]. Da die durchschnittliche Schnittdicke 20µm nach dem Schneiden ( $18,9 \pm 1,2 \mu\text{m}$ , nach der Fixation) betrug und jeder fünfzigste Schnitt planimetrisch gemessen wurde, konnte der Distanz zwischen diesen Schnitten ein Wert von einem Millimeter zugeordnet werden [Bogerts et al., 1990].

Für die vorliegende Studie wurden zwischen sechs und vierzehn Schnitte pro Patient oder Kontrolle, die den gesamten posterioren Anteil des Hippocampus umfassen, untersucht. Innerhalb des Hippocampus wurde der posteriore Anteil analysiert, indem das Corpus geniculatum laterale (CGL) den einen Endpunkt und das Splenium des Corpus callosum den anderen Endpunkt bildete. Unterschieden wurden folgende Subregionen: CA1, 2/3, und 4 und das Subiculum [Price et al., 2001]. Vorherigen Studien entsprechend [Ellison-Wright et al., 2008] sind die Regionen CA2 und CA3 zusammen ausgewertet worden, da diese mikroskopisch auf histologischer Ebene schwer zu unterscheiden sind. Es ist anzumerken, dass die anatomische Abgrenzung von CA3 zu CA4 eine anerkannte Methode ist um den Hippocampus zu unterteilen [Lopes da Silva et al., 1990]. Diese Unterteilung hat jedoch keinerlei funktionelle Konsequenz. CA4 Neurone entspringen in CA3 und haben eine Ausdehnung bis in den Hilus des Gyrus dentatus. Nach neueren, funktionellen Ansichtsweisen könnten Neurone aus CA3 und CA4 auch zu einer Hippocampusregion zusammengefasst werden. CA4 wird auch polymorpher Layer des Gyrus dentatus genannt [Amaral und Lavanex, 2007].

In der vorliegenden Arbeit wurde zwischen Neuronen, Oligodendrozyten und Astrozyten aufgrund histologischer und morphologischer Kriterien in den Nisslgefärbten Schnitten unterschieden (*Abbildung 4*). Neurone wurden von anderen Zelltypen durch zytologische Charakteristika unterschieden. Diese zeichnen sich dabei durch ein grosses Zytoplasma, eine gering ausgeprägte Zellkernmembran, einen gut sichtbaren Nukleolus innerhalb eines blassen Nukleus und eine nur gering heterogene Chromatinverteilung innerhalb des Nukleus aus. Oligodendrozyten wurden anhand der fehlenden zytoplasmatischen Färbung, einer intensiven Nukleusanfärbung mit zerstreutem Chromatin und dem Fehlen eines Nukleolus identifiziert [van Kooten et al., 2008]. Astrozyten stellen sich weniger intensiv gefärbt dar und zeigen einen deutlichen Zytoplasmasaum [Hof et al., 2003, Selemon et al., 2003, Stark et al., 2004]. In der vorliegenden Studie wurden Dichte und Anzahl dieser spezifischen Zelltypen sowie das Volumen der gesamten Subregion, der Oligodendrozyten und der Neurone innerhalb des posterioren Anteils des Hippocampus bestimmt.

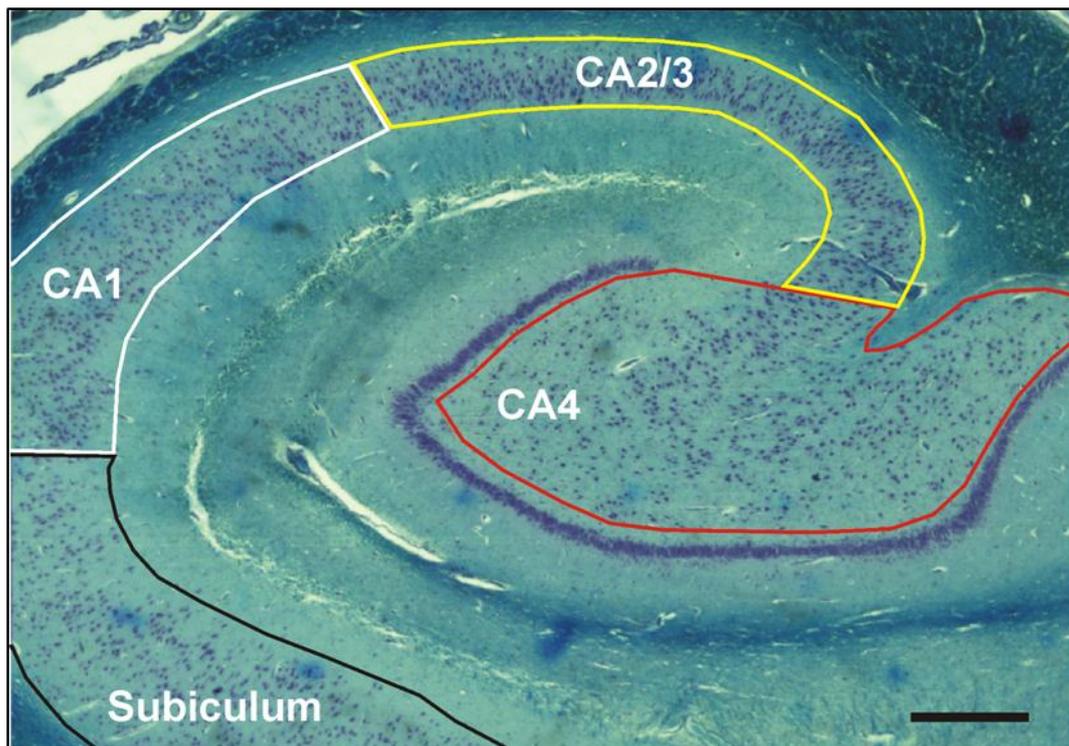


**Abbildung 4:** Repräsentatives hochauflösendes photomikrographisches Bild eines 20 $\mu$ m dicken Schnittes in koronarer Schnittebene einer Kontrolle (Nissl-Färbung). Zu erkennen sind Neurone (Pfeile), Astrozyten (Pfeilspitzen) und Oligodendrozyten (Sternchen). Maßstab=25 $\mu$ m.

#### 4.2.2 Stereologische Analyse

Die stereologische Auszählung wurde in der vorliegenden Arbeit verblindet bezüglich Diagnose und demographischen Daten durchgeführt. Die Stichproben beinhalteten histologische Schnitte von zehn Gehirnen schizophrener Patienten und zehn Kontrollgehirnen. Unabhängig voneinander wurden verschiedene Regionen des Hippocampus (CA1, CA2/3, CA4 und Subiculum) ausgezählt. Mit Hilfe eines modifizierten Lichtmikroskops (BX50; Olympus, Tokyo, Japan), Olympus Uplan Apo Objektiven (1,5x, 20x, 50xÖl, 100xÖl), ausgestattet mit einem dreiachsigen, hochauflösenden computergesteuerten Schrittmotorsystem und einem linearen elektronischen Focusencoder (Microcator) wurde der jeweilige Gehirnschnitt an der stereologischen Arbeitsstelle analysiert. Die Übertragung der mikroskopischen Bilder auf einen 17-inch Monitor erfolgte mit Hilfe einer 3-CCD Color Camera HV-C20 A/AM (Hitachi Kokusai Electric Inc., Tokyo, Japan). Die Auswertung am Computer erfolgte mit Hilfe einer stereologischen Software (Stereoinvestigator, MBF Bioscience, Williston, ND, USA). Die Abgrenzung der ausgewerteten Regionen erfolgte individuell am jeweils vorliegenden Schnitt mit Hilfe eines Videoimages, welches auf den Computerbildschirm übertragen wurde (*Abbildung 5*).

Das Gesamtvolumen wurde jeweils mit Hilfe der Cavalieri-Methode berechnet, indem die Summe  $10,1 \pm 2,3$  Schnitte pro Fall bei der Kontrollgruppe und  $10,0 \pm 1,6$  Schnitte pro Fall bei dem Patientenkollektiv verwendet wurde. Die Höhe/ Dicke der Hirnschnitte wurde multipliziert mit 50, da jeder fünfzigste Hirnschnitt verwendet wurde. Dieses Ergebnis multipliziert mit der Summe der Flächen in diesem Gebiet ergibt einen Wert, welcher mit den darauffolgenden Werten der entsprechenden Region addiert wurde [Schmitz und Hof, 2005]. Bei den ausgewerteten Zellen handelte es sich um Oligodendrozyten, Neurone und Astrozyten, wobei bei den zwei erstgenannten jeweils Zellzahl, Zellvolumen und Zellfläche bestimmt wurde, während bei den Astrozyten alleinig die Zellzahl ermittelt wurde.



**Abbildung 5:** Repräsentatives hochauflösendes photomikroskopisches Bild eines 20µm dicken Schnittes in koronarer Schnittebene einer Kontrolle. Es werden die Subregionen des posterioren Anteils des Hippocampus, welche in der vorliegenden Arbeit untersucht wurden, dargestellt. Maßstab=1mm.

Um die zweidimensional bestimmten Parameter auf dreidimensionale Hirnstrukturen hochrechnen zu können wurden stereologische Methoden angewandt. Hierfür wurde zur dreidimensionalen Zellzahlbestimmung sowie zur Ermittlung der Gesamtzellzahl die design-based Stereologie mit einer modifizierten Version des „optical fractionators“ angewendet [Schmitz, 1998, Schmitz und Hof, 2000, Schmitz und Hof, 2005, West et al., 1991]. Die Funktionen des Fractionators erlauben unvoreingenommene Bestimmungen der gesamten Anzahl an gezählten Zellen [Gundersen, 1986]. Durch diese vom Untersucher unabhängige Methodik kann ein Maximum an Untersuchungsgenauigkeit erreicht werden [Schmitz, 1998]. Zusätzlich ist bekannt, dass diese verwendete Stereologiemethode die einzige ist, welche Zellgröße und Zellzahl objektiv bestimmt [Gundersen et al., 1988]. Die Reliabilität dieser Methode zeigte sich bereits in vorangegangenen Studien über die stereologische Methodik [Gundersen et al., 1988, Schmitz und Hof, 2005].

Gesamtzellzahlen wurden aus der Anzahl der gezählten Zellen und der Stichprobenwahrscheinlichkeit errechnet. Die zu erwartende Fehlerwahrscheinlichkeit (predicted coefficient of error: CE) der Gesamtzahl der Neurone, Astrozyten und Oligodendrozyten wurde durch Methoden, welche von Schmitz [Schmitz, 1998] und von Schmitz und Hof [Schmitz und Hof, 2000] beschrieben wurden, evaluiert (Tabelle 6).

	CA1	CA2/3	CA4	Subiculum
Obj	50x	50x	50x	50x
B ( $\mu\text{m}^2$ )	900	900	900	900
H ( $\mu\text{m}$ )	17	17	17	17
D ( $\mu\text{m}$ )	170 x 340	455 x 170	430 x 290	1050 x 400
$\sum\text{CS}$	150	150	200	400
$\sum\text{Q}$ Neurone	834	844	1607	1518
$\sum\text{Q}$ Astrozyten	182	253	390	368
$\sum\text{Q}$ Oligodendrozyten	367	377	843	803
CE <sub>pred</sub> (Neurone)	0.038	0.047	0.038	0.040
CE <sub>pred</sub> (Astrozyten)	0.051	0.053	0.048	0.046
CE <sub>pred</sub> (Oligodend.)	0.036	0.041	0.037	0.042

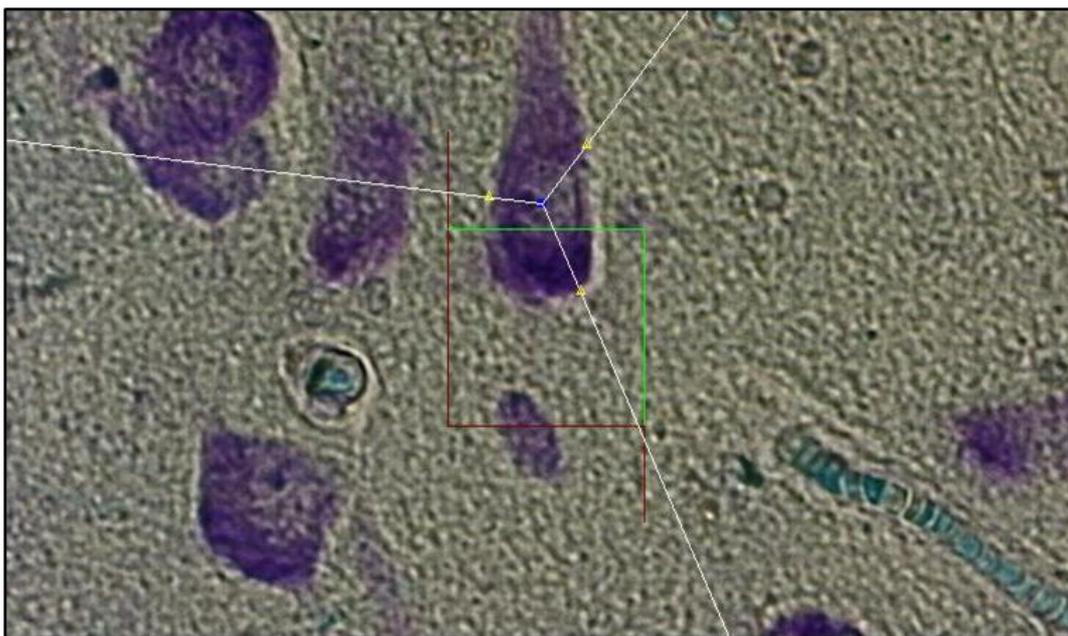
**Tabelle 6:** Verwendetes Objektiv (Obj), Breite (B) und Höhe (H) des virtuellen Zählkästchens, Distanz (D) zwischen den virtuellen Zählkästchen in den Richtungen x und y sowie durchschnittliche Summe der virtuellen Zählkästchen einer Hemisphere ( $\sum\text{CS}$ ), durchschnittliche Anzahl ( $\sum\text{Q}$ -) der gezählten Neurone, Astrozyten und Oligodendrozyten einer Hemisphäre und durchschnittlicher prognostizierter Fehlerkoeffizient der Zellanzahl (CE<sub>pred</sub>).

Die Grenzen der einzelnen Regionen wurden umfahren und mit Hilfe des Computerprogrammes Stereo Investigator von MicroBrightField elektronisch markiert und gespeichert. Im Programmpunkt des „optical fractionators“ des Stereo Investigators wurden folgende Werte festgelegt: „Distance from section top to 3D counting frame“ mit  $0\mu\text{m}$ , „3D counting frame height“ mit  $17\mu\text{m}$  und die „section thickness“ mit  $20\mu\text{m}$ . Diese Parameter wurden definiert, um sicher zu stellen, dass die Auszählung aller Zellen innerhalb des Bezugsrahmens unter standardisierten Bedingungen erfolgte [Thune und Pakkenberg, 2000]. Zusätzlich wurde der „Manual focus“ Modus gewählt. Das zu untersuchende Volumen des „disectors“ wurde durch die Fläche und die Distanz zwischen den beiden korrespondierenden Ober- und Unterflächen eines Schnittes definiert [West, 1999]. Diese ermittelte Höhe des

„disectors“ wurde durch den linearen elektronischen Focusencoder (Microcator) kontrolliert. Die Auswahl der auszuwertenden Zählkästchen pro Region erfolgte durch das Computerprogramm zufällig [Gundersen et al., 1988, Sterio, 1984].

#### 4.2.2.1 Ein- und Ausschlusskriterien von Zellen

Für die vier Begrenzungen des quadratischen Zählkästchens wurden unterschiedliche Ein- und Ausschlusskriterien definiert. Die Zellen, welche die obere und rechte (grüne) Seite berührten wurden eingeschlossen, diejenigen welche die untere und linke (rote) Seite berührten wurden ausgeschlossen [Bonthius et al., 2004, Williams und Rakic, 1988] (*Abbildung 6*). Anschließend wurden die Zellen im Rahmen einer systematischen Durchsicht markiert [Williams und Rakic, 1988]. Die Anzahl der Zellen wurde schließlich, wie oben erwähnt, mit Hilfe der Cavalieri-Methode auf das Gesamtvolumen der Regionen hochgerechnet. Dies erlaubte die Bestimmung der absoluten Zellzahlen [Thune und Pakkenberg, 2000].



**Abbildung 6:** Repräsentativer Ausschnitt in 50facher Vergrößerung mit Zählkästchen (Rand des Zählkästchens=30 $\mu$ m) und Markierung.

#### **4.2.2.2 Reproduzierbarkeit der Ergebnisse**

Die Region CA2/3 auf beiden Hemisphärenseiten wurde in acht Fällen, wiederum verblindet bezüglich Diagnose und demographischen Daten, erneut gemessen. Hierbei stellte sich eine Intra-Rater-Reliabilität mit einem intraclass correlation coefficient (ICC) von 0,982 für Astrozyten, 0,992 für Oligodendrozyten, 0,984 für Neurone und 1,00 für das Volumen der Subregionen heraus.

### **4.3 Statistische Analyse**

Für beide Gruppen, an Schizophrenie erkrankte Patienten und Kontrollen, wurden der Mittelwert und der Standardfehler (SEM) des Mittelwertes für alle untersuchten Variablen, getrennt für linke und rechte Hemisphäre, ausgerechnet. Vergleiche zwischen an Schizophrenie erkrankten Patienten und der Kontrollgruppe wurden mit dem generalisierten linearen Modell (GLM) durchgeführt. Die Daten wurden statistisch im Wesentlichen mit MANCOVAs ausgewertet. Die Abkürzung MANCOVA steht für „multivariate analysis of covariance“, also multivariate Kovarianzanalyse. Dieses Verfahren ist einerseits eine Erweiterung der Varianzanalyse (ANOVA) auf mehr als eine abhängige Variable und gestattet andererseits, die Auswertung für den Einfluss intervenierender Variablen (Kovariaten und Einflussfaktoren) zu adjustieren. Es wurde MANCOVA mit den Zwischensubjektfaktoren Diagnose und Geschlecht, Innersubjektfaktor Hemisphäre und den Kovariaten postmortem Intervall und angepasste Krankheitsdauer verwendet.

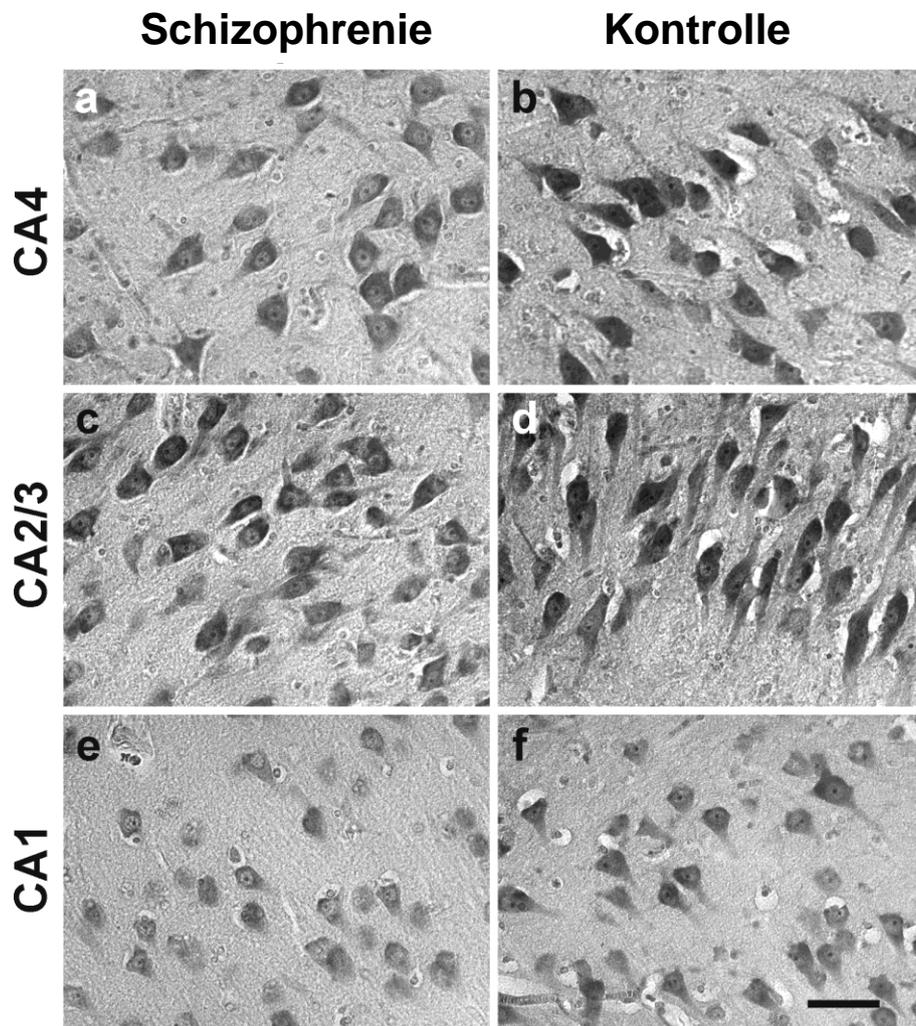
Die angepasste Krankheitsdauer berechnet sich bei Patienten mit Schizophrenie als individuelles Alter bei Todeseintritt minus Alter bei Beginn der Erkrankung plus Durchschnittsalter bei Beginn der Erkrankung aller an Schizophrenie erkrankter Patienten. Bei den Kontrollen ist es das Todesalter. Es sollte beachtet werden, dass die Verwendung der individuellen Krankheitsdauer der an Schizophrenie erkrankten Personen anstelle der angepassten Krankheitsdauer als Kovariate ungültige Ergebnisse im MANCOVA-Modell erzielt hätte, da bei der Kontrollgruppe keine Krankheitsdauer vorhanden war [Schmitt et al., 2009, Kreczmanski et al., 2007]. Zudem war ein signifikanter Unterschied zwischen durchschnittlicher Krankheitsdauer der an Schizophrenie erkrankten Patienten und Alter der Kontrollen vorhanden (Student's two-tailed t-Test;  $p < 0.001$ ), wohingegen keine signifikanten Unterschiede in der angepassten durchschnittlichen Krankheitsdauer ( $p = 0.974$ ) zu beobachten waren.

Für jede der untersuchten Variablen wurde gleichzeitig jede der untersuchten Gehirnregionen getestet. Zusätzliche Analysen zum Einfluss der angepassten Krankheitsdauer wurden mit linearer Regressionsanalyse durchgeführt. Analysen zu Geschlechtseinflüssen wurden mit zweifaktoriellen Messwiederholungs-ANOVA (Zwischensubjektfaktor Diagnose, Innersubjektfaktor Hemisphäre) durchgeführt. Unterschiede wurden bei einem  $p < 0.05$  als signifikant angesehen. Zudem wurden Korrelationen zu Zellzahlen der Oligodendrozyten und Volumen der Substrukturen nach Pearson berechnet. Die Korrelation wurde über beide Gruppen gemeinsam und getrennt für schizophrene Patienten und Kontrollen durchgeführt. Die Berechnungen wurden mit dem Computerprogramm SPSS (Version 12.0.1 für Windows, SPSS, Chicago, IL, USA) durchgeführt.

## **5 ERGEBNISSE**

### **5.1 Volumen und Neurone**

Zwischen der Gruppe der an Schizophrenie erkrankten Patienten und der Kontrollgruppe wurde in Hinsicht auf durchschnittliches Volumen, durchschnittliche Dichteverteilung der Neurone und durchschnittliche Anzahl der Neurone kein signifikanter Unterschied gefunden. Dies trifft für alle untersuchten Subregionen des posterioren Anteils des Hippocampus zu (*Tabellen 7-8, Abbildungen 7-10*). Geschlechtsspezifische Unterschiede werden in dem dazugehörigen Unterpunkt diskutiert.



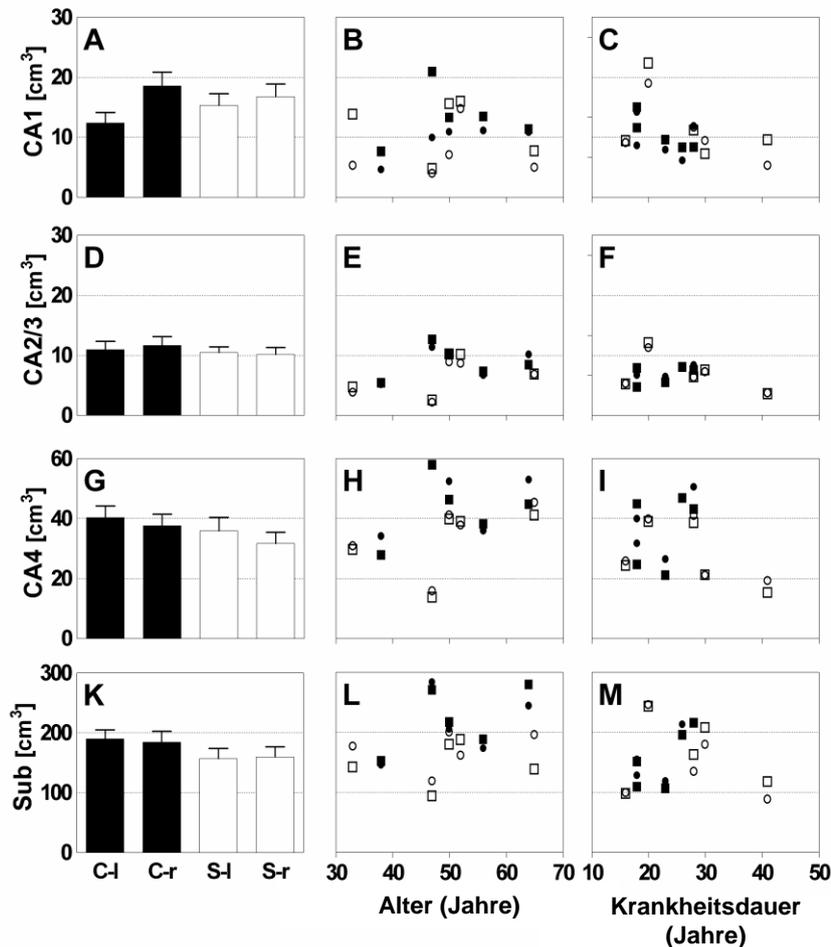
**Abbildung 7:** Repräsentatives hochauflösendes photomikrographisches Bild eines 20µm dicken koronaren Schnittes des posterioren Anteils des Hippocampus eines Patienten mit Schizophrenie (a, c, e) und einer Kontrollperson (b, d, f), welches Details der Subregion CA4 (a, b), CA2/3 (c, d) und CA1 (e, f) zeigt. Maßstab=50µm.

Variable	Subregion	A/K	PMI	G	D	H	D×H
Volumen	Alle Regionen	0.321	0.974	0.037	0.154	0.141	0.696
	CA1			0.822			
	CA2/3			0.141			
	CA4			0.003			
	Subiculum			0.059			
Neuronenanzahl	Alle Regionen	0.237	0.813	0.024	0.246	0.292	0.712
	CA1			0.407			
	CA2/3			0.006			
	CA4			0.001			
	Subiculum			0.010			
Astrozytenanzahl	Alle Regionen	<0.001	0.814	0.003	0.104	0.962	0.542
	CA1	0.014		0.543			
	CA2/3	0.017		0.246			
	CA4	<0.001		0.001			
	Subiculum	<0.001		0.407			
Oligodendrozytenanzahl	Alle Regionen	0.821	0.782	0.012	0.017	0.688	0.982
	CA1			0.184	0.812		
	CA2/3			0.396	0.171		
	CA4			0.283	0.014		
	Subiculum			0.704	0.089		

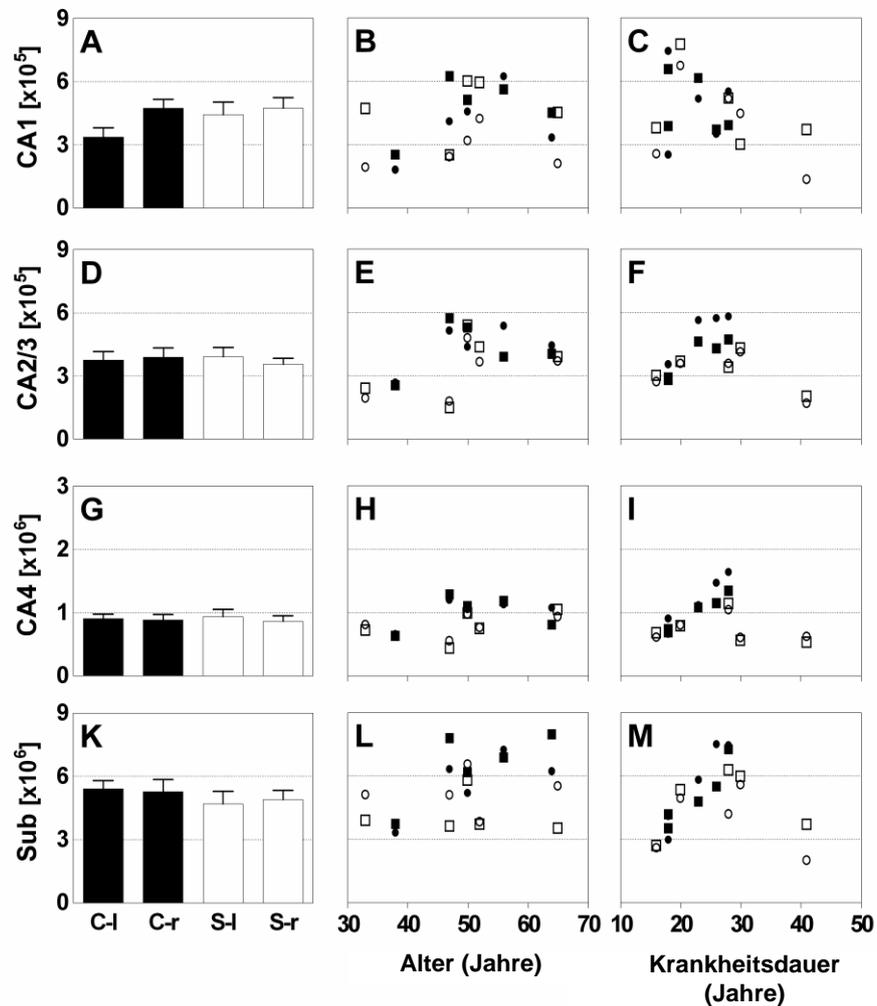
**Tabelle 7:** Resultate der statistischen Analyse (p-Werte) mit MANCOVA: Alter der Kontrollen oder angepasste Krankheitsdauer der Patienten mit Schizophrenie (A/K), Postmortem Intervall (PMI), Geschlecht (G), Diagnose (D), Hemisphäre (H). Regionenspezifische Analysen wurden nur dann durchgeführt, wenn MANCOVA signifikante Unterschiede zeigte.

Dichte der	Subregion	A/K	PMI	G	D	H	D×H
Neurone	Alle Regionen	0.974	0.322	0.794	0.384	0.330	0.996
Astrozyten	Alle Regionen	<0.001	0.745	0.129	0.117	0.945	0.927
	CA1	0.007					
	CA2/3	0.030					
	CA4	0.022					
	Subiculum	<0.001					
Oligodendrozyten	Alle Regionen	0.499	0.495	0.077	0.156	0.443	0.938

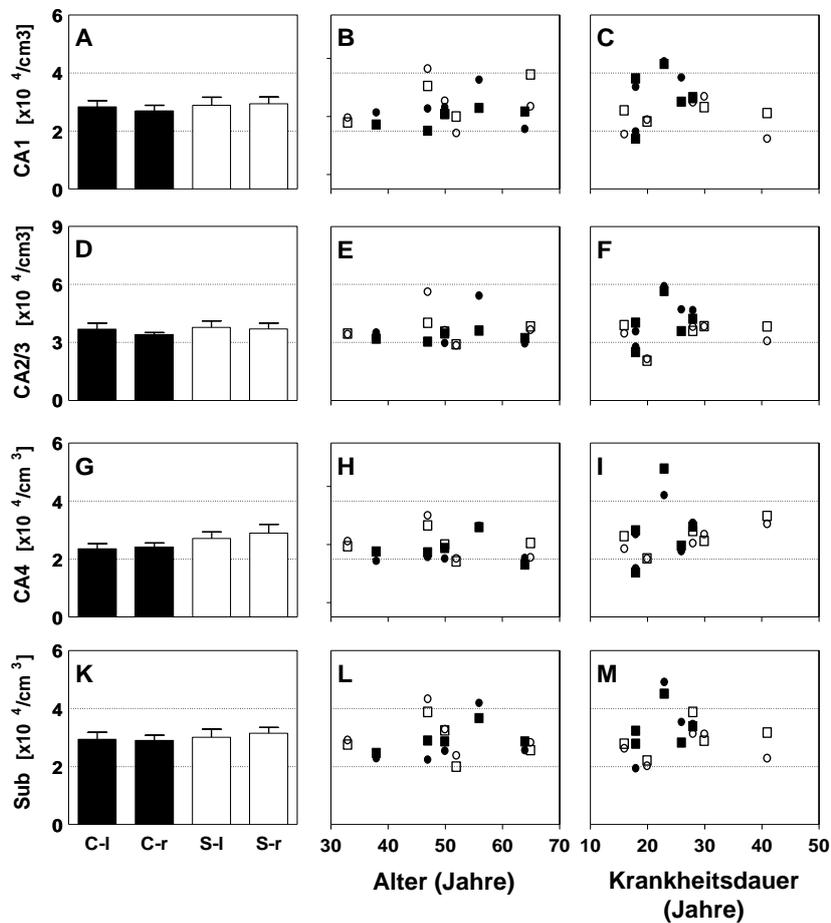
**Tabelle 8:** Resultate der statistischen Analyse (p-Werte) mit der MANCOVA: Alter der Kontrollen oder angepasste Krankheitsdauer der Patienten mit Schizophrenie (A/K), Postmortem Intervall (PMI), Geschlecht (G), Diagnose (D), Hemisphäre (H). Regionenspezifische Analysen wurden nur dann durchgeführt, wenn MANCOVA signifikante Unterschiede zeigte.



**Abbildung 8:** Volumen von CA1 (A, B, C), CA2/3 (D, E, F), CA4 (G, H, I) und Subiculum (K, L, M) in beiden Hemisphären der Gehirne von zehn Patienten mit Schizophrenie (S; weiße Balken in A, D, G, K und weiße Punkte und Quadrate in C, F, I, M) und zehn im Alter gematchten Kontrollen (C; schwarze Balken in A, D, G, K und schwarze Punkte und Quadrate in B, E, H, L). In A, D, G, K sind die Daten als durchschnittlicher und Standardfehler der linken (l) und rechten (r) Hemisphäre von Patienten mit Schizophrenie (S-l und S-r) und Kontrollen (C-l und C-r) dargestellt. In B, C, E, F, H, I, L, M sind individuelle Daten der linken Hemisphäre (schwarze Punkte Männer, weiße Punkte Frauen) und rechten Hemisphäre (schwarze Quadrate Männer, weiße Quadrate Frauen) von Kontrollen (B, E, H, L) und Patienten mit Schizophrenie (C, F, I, M) gezeigt als Funktion des Alters der Kontrollen (oder als angepasste Krankheitsdauer der Patienten).



**Abbildung 9:** Anzahl der Neurone in CA1 (A, B, C), CA2/3 (D, E, F), CA4 (G, H, I) und Subiculum (K, L, M) in beiden Hemisphären der Gehirne von zehn Patienten mit Schizophrenie (S; weiße Balken in A, D, G, K und weiße Punkte und Quadrate in C, F, I, M) und zehn im Alter gematchten Kontrollen (C; schwarze Balken in A, D, G, K und schwarze Punkte und Quadrate in B, E, H, L). In A, D, G, K sind die Daten als durchschnittlicher und Standardfehler der linken (l) und rechten (r) Hemisphäre von Patienten mit Schizophrenie (S-l und S-r) und Kontrollen (C-l und C-r) dargestellt. In B, C, E, F, H, I, L, M sind individuelle Daten der linken Hemisphäre (schwarze Punkte Männer, weiße Punkte Frauen) und rechten Hemisphäre (schwarze Quadrate Männer, weiße Quadrate Frauen) von Kontrollen (B, E, H, L) und Patienten mit Schizophrenie (C, F, I, M) gezeigt als Funktion des Alters der Kontrollen (oder als angepasste Krankheitsdauer der Patienten).

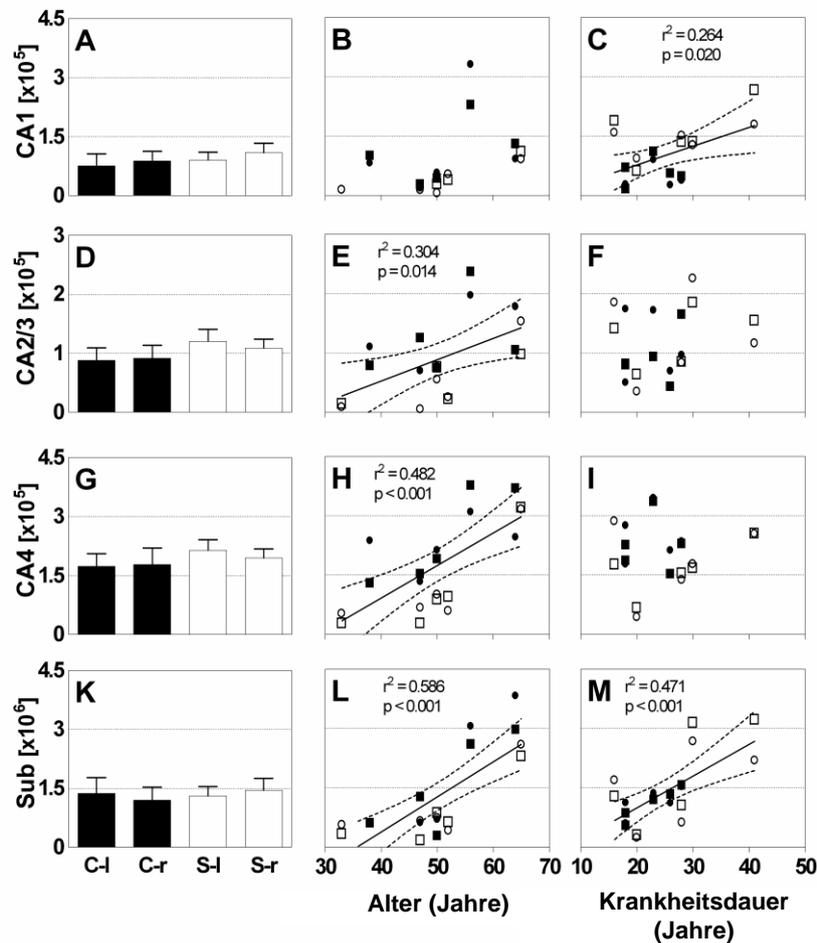


**Abbildung 10:** Neuronendichte in CA1 (A, B, C), CA2/3 (D, E, F), CA4 (G, H, I) und im Subiculum (K, L, M) in beiden Hemisphären der Gehirne der zehn Patienten mit Schizophrenie (S; weiße Balken in A, D, G, K und Punkte und Quadrate in C, F, I, M) und zehn im Alter gematchte Kontrollen (C; schwarze Balken in A, D, G, K und Punkte und Quadrate in B, E, H, L). In A, D, G, K sind Daten als Durchschnitt und Standardfehler des Durchschnitts für die linke (l) und rechte (r) Hemisphäre für Patienten mit Schizophrenie (S-l und S-r) und Kontrollen (C-l und C-r) gezeigt. In B, C, E, F, H, I, L, M sind individuelle Daten für die linke Hemisphäre (schwarze Punkte: Männer; weiße Punkte: Frauen) und die rechte Hemisphäre (schwarze Quadrate: Männer; weiße Quadrate: Frauen) der Kontrollen (B, E, H, L) und Patienten mit Schizophrenie (C, F, I, M) gezeigt als Funktion des Alters der Kontrollen (oder als angepasste Krankheitsdauer der Patienten).

## 5.2 Astrozyten

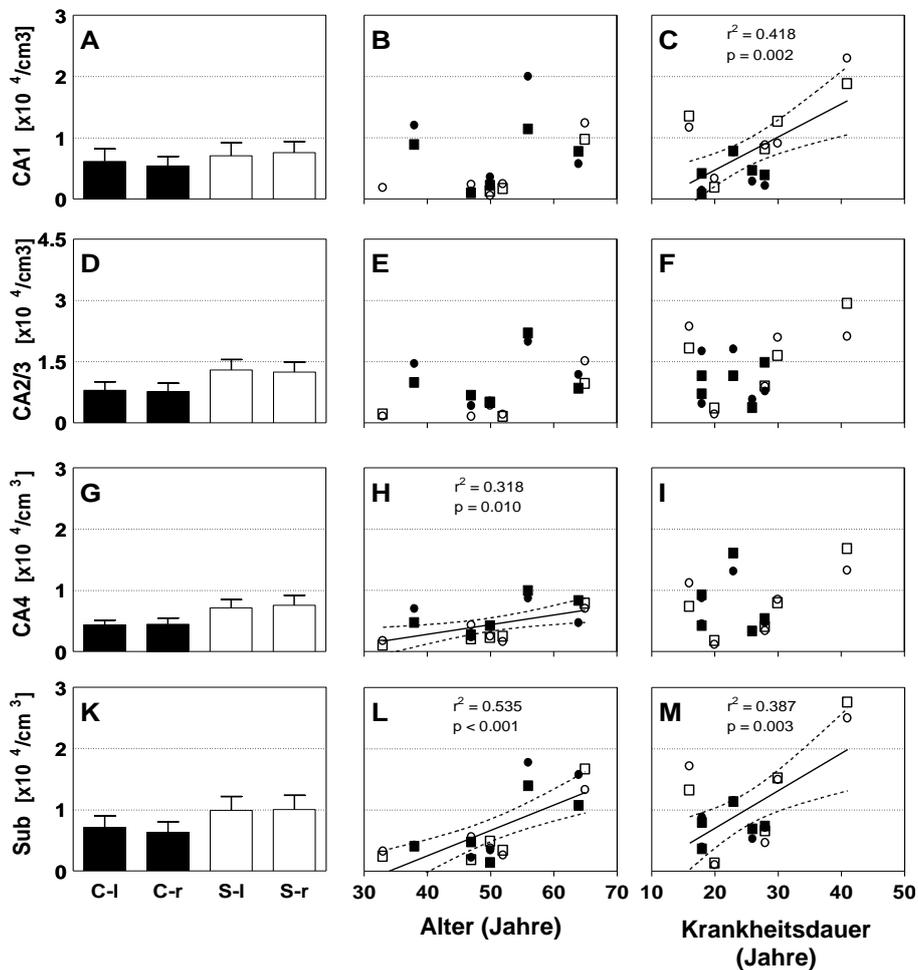
Weder die durchschnittliche Dichteverteilung, noch die durchschnittliche Anzahl an Astrozyten zeigte signifikante Unterschiede zwischen den an Schizophrenie erkrankten Patienten und den Kontrollen. Dies trifft auf alle untersuchten Subregionen des posterioren Anteils des Hippocampus zu (*Abbildungen 11-12*). Jedoch zeigte die multivariate Analysenmethode einen Einfluss von Geschlecht ( $F=5.088$ ;  $df=4, 28$ ;  $p=0.03$ ) und Alter (Kontrollen) oder Krankheitsdauer (Patienten) auf die Astrozytenanzahl ( $F=13.621$ ;  $df=4, 28$ ;  $p<0.001$ ) sowie einen Einfluss von Alter (Kontrollen) oder Krankheitsdauer (Patienten) auf die Dichteverteilung der Astrozyten ( $F=9.014$ ;  $df=4, 28$ ;  $p<0.001$ ). Die Abkürzung F entspricht F-Statistik, df entspricht Freiheitsgrad.

Zusätzlich konnte ein signifikanter, positiver Zusammenhang zwischen Dichteverteilung der Astrozyten und Alter der Kontrollen in CA4 und im Subiculum, Dichteverteilung der Astrozyten und Alter der an Schizophrenie erkrankten Patienten in CA1 und im Subiculum, Anzahl der Astrozyten und Alter der Kontrollen in CA2/3, CA4 und im Subiculum und Anzahl der Astrozyten und Alter der an Schizophrenie erkrankten Patienten in CA1 und im Subiculum eruiert werden (*Abbildungen 11-12*).



**Abbildung 11:** Anzahl der Astrozyten in CA1 (A, B, C), CA2/3 (D, E, F), CA4 (G, H, I) und Subiculum (K, L, M) in beiden Hemisphären der Gehirne von zehn Patienten mit Schizophrenie (S; weiße Balken in A, D, G, K und weiße Punkte und Quadrate in C, F, I, M) und zehn im Alter gematchten Kontrollen (C; schwarze Balken in A, D, G, K und schwarze Punkte und Quadrate in B, E, H, L). In A, D, G, K sind die Daten als durchschnittlicher und Standardfehler der linken (l) und rechten (r) Hemisphäre von Patienten mit Schizophrenie (S-l und S-r) und Kontrollen (C-l und C-r) dargestellt. In B, C, E, F, H, I, L, M sind individuelle Daten der linken Hemisphäre (schwarze Punkte: Männer, weiße Punkte: Frauen) und rechten Hemisphäre (schwarze Quadrate: Männer, weiße Quadrate: Frauen) von Kontrollen (B, E, H, L) und Patienten mit Schizophrenie (C, F, I, M) gezeigt als Funktion des Alters der Kontrollen (oder als Krankheitsdauer der Patienten).

In C, E, H, L, M sind Resultate der linearen Regressionsanalyse (Regressionslinien, 95% Konfidenzintervall der Regressionslinien, beziehungsweise Regressionskoeffizienten und korrespondierende p-Werte) gezeigt. Diese Ergebnisse weisen auf statistisch signifikante Zusammenhänge zwischen der Anzahl der Astrozyten und dem Alter der Patienten hin.



**Abbildung 12:** Astrozytendichte in CA1 (A, B, C), CA2/3 (D, E, F), CA4 (G, H, I) und im Subiculum (K, L, M) in beiden Hemisphären der Gehirne von zehn Patienten mit Schizophrenie (S; weiße Balken in A, D, G, K und Punkte und Quadrate in C, F, I, M) und zehn im Alter gematchten Kontrollen (C; schwarze Balken in A, D, G, K und Punkte und Quadrate in B, E, H, L). In A, D, G, K sind Daten als Durchschnitt und Standardfehler des Durchschnitts für die linke (l) und rechte (r) Hemisphäre für Patienten mit Schizophrenie (S-l und S-r) und Kontrollen (C-l und C-r) gezeigt. In B, C, E, F, H, I, L, M sind individuelle Daten für die linke Hemisphäre (schwarze Punkte: Männer; weiße Punkte: Frauen) und die rechte Hemisphäre (schwarze Quadrate: Männer; weiße Quadrate: Frauen) der Kontrollen (B, E, H, L) und Patienten mit Schizophrenie (C, F, I, M) als Funktion des Alters der Kontrollen beziehungsweise der Krankheitsdauer der Patienten mit Schizophrenie gezeigt. In C, H, L, M sind die Resultate der linearen Regressionsanalyse (Regressionslinien, 95% Konfidenzintervall der Regressionslinien, Regressionskoeffizienten und korrespondierende  $p$ -Werte) gezeigt, welche darauf hinweisen, dass statistisch signifikante Relationen zwischen der Dichte von Astrozyten und dem Alter der Patienten bestehen.

### 5.3 Oligodendrozyten

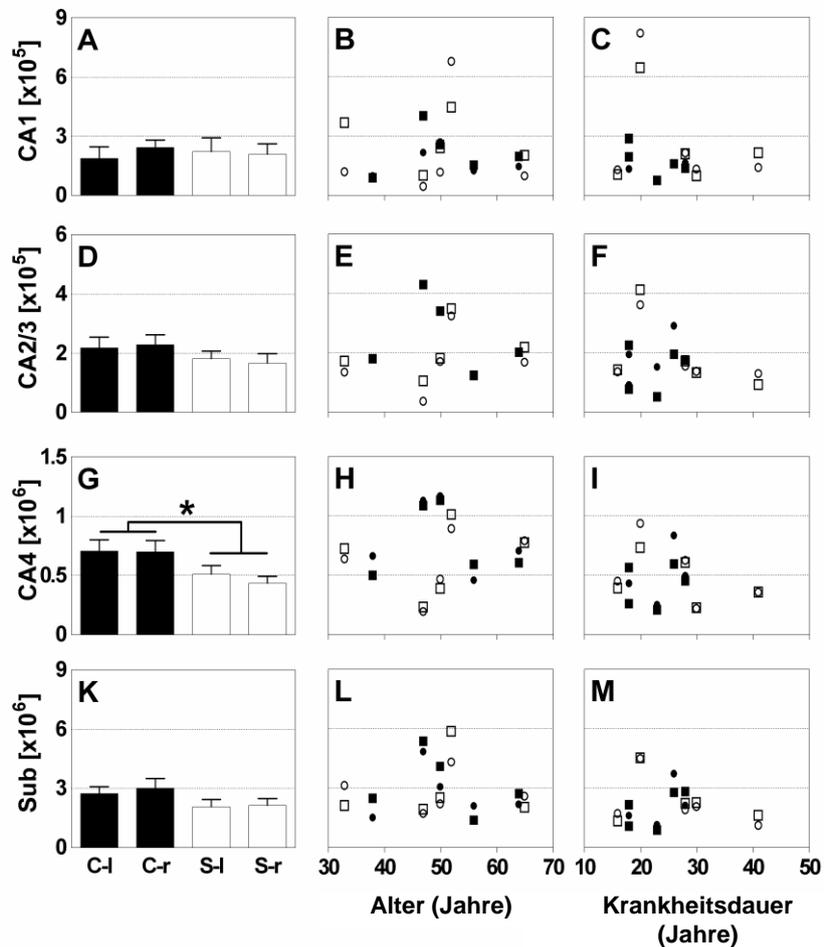
Die Ergebnisse der ANOVA Berechnungen in Bezug auf Unterschiede in der Zellanzahl der Oligodendrozyten zwischen den schizophrenen Patienten und der Kontrollgruppe zeigen sich in *Tabelle 9*.

	links							ANOVA	
CA4	Kontrolle			Schizophrene			% Diff.	Diagnosefaktor	
	n	m	sd	n	m	sd	Sz. vs. K.	F	p
Zellanzahl der Oligodendrozyten	10	699273	303904	10	510867	232731	-26,9	2.4	0.14

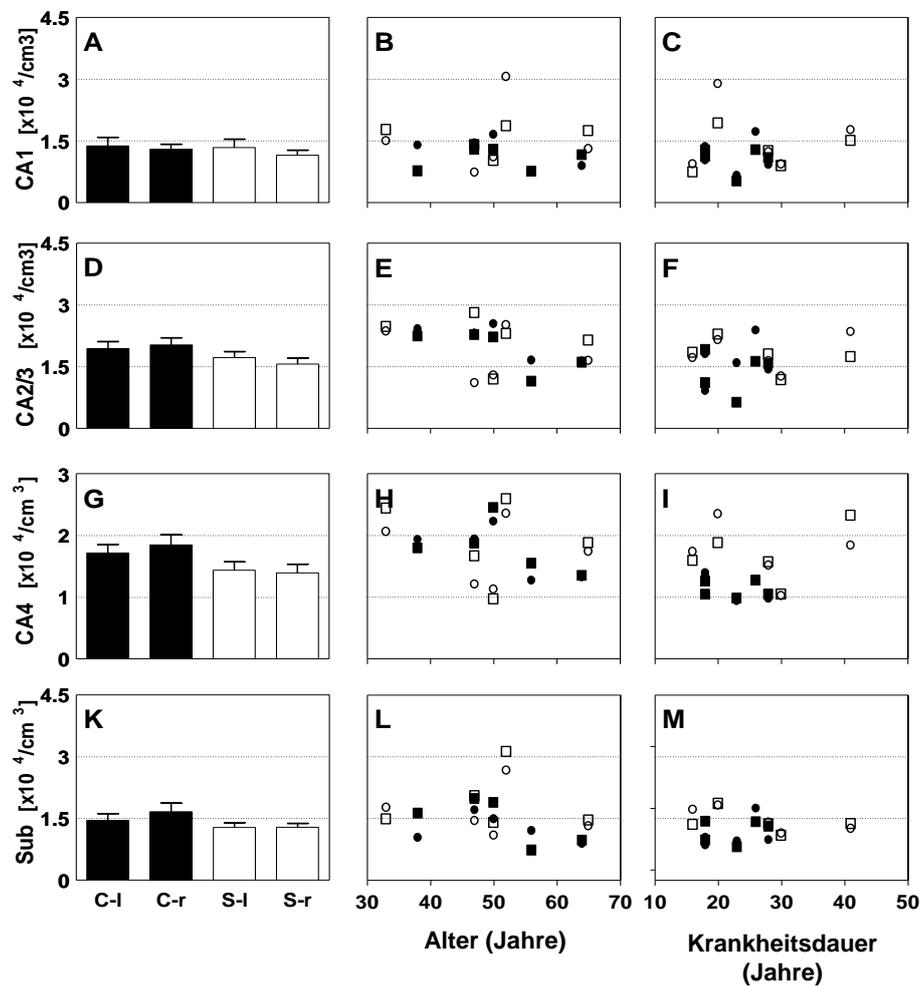
	rechts							ANOVA	
CA4	Kontrolle			Schizophrene			% Diff.	Diagnosefaktor	
	n	m	sd	n	m	sd	Sz. vs. K.	F	p
Zellanzahl der Oligodendrozyten	10	690285	301673	10	434815	181040	-37,0	5.3	0.034

**Tabelle 9:** Unterschiede zwischen den Gruppen: Schizophrene Patienten vs. Kontrollen,  $n$  = Fallzahl,  $m$  = Mittelwert,  $sd$  = Standardabweichung, %Diff. = Differenz in Prozent, Sz. = Schizophrene, K. = Kontrollen,  $F$  = F-Statistik,  $p$  =  $p$ -Wert. Die Freiheitsgrade für diese Analysen sind jeweils  $df=1, 18$ .

MANCOVA konnte einen signifikanten Einfluss von Diagnose ( $F=3.587$ ;  $df=4, 30$ ;  $p=0.017$ ) und Geschlecht ( $F=3.841$ ;  $df=4, 30$ ;  $p=0.012$ ) auf die durchschnittliche Oligodendrozytenanzahl aufzeigen. Anschliessende univariate Tests zeigten, dass im Vergleich zu den Kontrollen, die an Schizophrenie erkrankten Patienten eine signifikant verminderte Oligodendrozytenanzahl nur in CA4 ( $F=6.767$ ;  $df=1, 33$ ;  $p=0.014$ ) aufwiesen (*Abbildungen 13-14*). In separaten ANOVAs für die linke und die rechte Hemisphäre ergab sich nur rechts ein signifikanter Diagnoseeffekt (links: schizophrene Patienten vs. Kontrollen: -26.9%,  $F=2.4$ ;  $df=1, 18$ ;  $p=0.14$ ; rechts: schizophrene Patienten vs. Kontrollen: -37.0%,  $F=5.3$ ;  $df=1, 18$ ;  $p=0.034$ ; vgl. *Tabelle 9*).



**Abbildung 13:** Anzahl der Oligodendrozyten in CA1 (A, B, C), CA2/3 (D, E, F), CA4 (G, H, I) und Subiculum (K, L, M) in beiden Hemisphären der Gehirne von zehn Patienten mit Schizophrenie (S; weiße Balken in A, D, G, K und weiße Punkte und Quadrate in C, F, I, M) und zehn im Alter gematchten Kontrollen (C; schwarze Balken in A, D, G, K und schwarze Punkte und Quadrate in B, E, H, L). In A, D, G, K sind die Daten als durchschnittlicher und Standardfehler der linken (l) und rechten (r) Hemisphäre von Patienten mit Schizophrenie (S-l und S-r) und Kontrollen (C-l und C-r) dargestellt. In B, C, E, F, H, I, L, M sind individuelle Daten der linken Hemisphäre (schwarze Punkte: Männer, weiße Punkte: Frauen) und rechten Hemisphäre (schwarze Quadrate: Männer, weiße Quadrate: Frauen) von Kontrollen (B, E, H, L) und Patienten mit Schizophrenie (C, F, I, M) gezeigt als Funktion des Alters der Patienten. \* $p < 0.05$ .



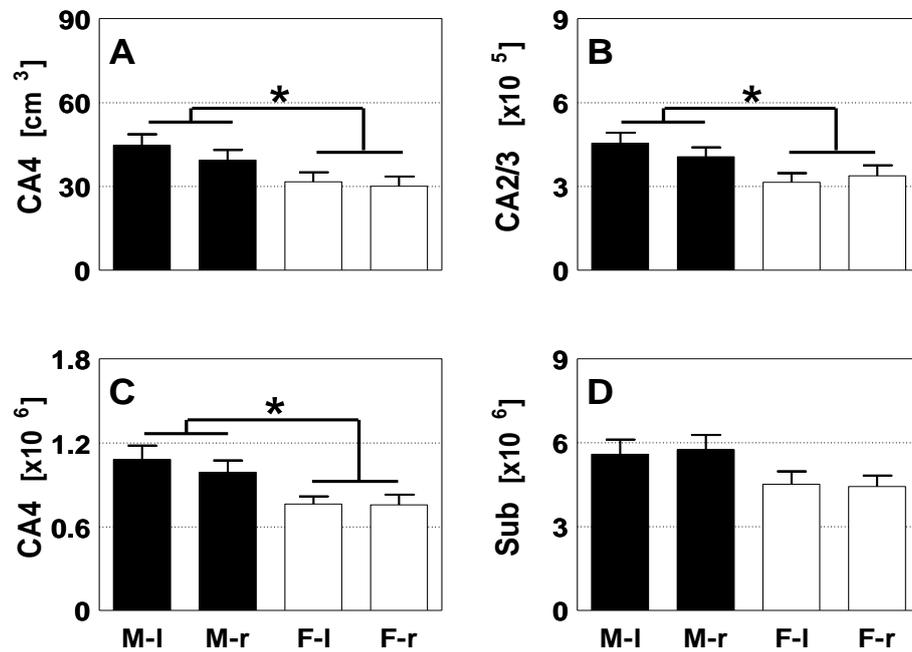
**Abbildung 14:** Oligodendrozytendichte in CA1 (A, B, C), CA2/3 (D, E, F), CA4 (G, H, I) und im Subiculum (K, L, M) in beiden Hemisphären der Gehirne von zehn Patienten mit Schizophrenie (S; weiße Balken in A, D, G, K und Punkte und Quadrate in C, F, I, M) und zehn im Alter gematchte Kontrollen (C; schwarze Balken in A, D, G, K und Punkte und Quadrate in B, E, H, L). In A, D, G, K sind die Daten als Durchschnitt und Standardfehler des Durchschnitts für die linke (l) und rechte (r) Hemisphäre für Patienten mit Schizophrenie (S-l und S-r) und Kontrollen (C-l und C-r) gezeigt. In B, C, E, F, H, I, L, M sind individuelle Daten für die linke Hemisphäre (schwarze Punkte: Männer; weiße Punkte: Frauen) und die rechte Hemisphäre (schwarze Quadrate: Männer; weiße Quadrate: Frauen) der Kontrollen (B, E, H, L) und Patienten mit Schizophrenie (C, F, I, M) gezeigt als Funktion des Alters der Kontrollen (oder als angepasste Krankheitsdauer der Patienten).

In CA1, CA2/3 und Subiculum konnte kein signifikanter Unterschied in der durchschnittlichen Anzahl von Oligodendrozyten zwischen Patienten mit Schizophrenie und der Kontrollgruppe aufgezeigt werden. Anzumerken sei, dass die erwähnte reduzierte Anzahl an Oligodendrozyten in CA4 bei Schizophrenie bei einer einfachen mikroskopischen Betrachtung des Gewebes nicht ersichtlich ist (*Abbildung 7*). Dies betont die Notwendigkeit der streng quantitativen Analyse, wie sie in dieser Studie praktiziert wurde.

#### 5.4 Postmortemintervall und Geschlechtsunterschiede

Das postmortem Intervall und die Seite der Hemisphäre hatten keinen Einfluss auf die untersuchten Parameter. Im Gegensatz dazu zeigte sich ein signifikanter Einfluss des Geschlechtes auf das durchschnittliche Volumen der Subregionen des posterioren Anteils des Hippocampus ( $F=2.930$ ;  $p=0.037$ ) sowie auf die durchschnittliche Anzahl von Neuronen innerhalb dieser Subregionen ( $F=3.295$ ;  $p=0.024$ ).

Darüber hinaus konnte in der vorliegenden Arbeit nachgewiesen werden, dass das Geschlecht in beiden Populationen einen signifikanten Einfluss auf das Volumen von CA4 sowie auf die Anzahl der Neurone in CA2/3, CA4 und Subiculum hat. Durch Zusammenlegen der Daten von Kontrollgruppe und Patientenkollektiv konnte aufgezeigt werden, dass Frauen im Durchschnitt ein signifikant kleineres Volumen der Region CA4 hatten als Männer (-28,9% (l) und -23,8% (r);  $p_{\text{Hemisphäre}}=0.097$ ;  $p_{\text{Geschlecht}}=0.019$ ;  $p_{\text{Interaktion}}=0.148$ ) sowie eine signifikant geringere Anzahl an Neuronen in CA2/3 (-30,9% (l) und -16,8% (r);  $p_{\text{Hemisphäre}}=0.389$ ;  $p_{\text{Geschlecht}}=0.044$ ;  $p_{\text{Interaktion}}=0.019$ ) und CA4 (-29,5% (l) und -23,7% (r);  $p_{\text{Hemisphäre}}=0.132$ ;  $p_{\text{Geschlecht}}=0.035$ ;  $p_{\text{Interaktion}}=0.154$ ) aber nicht im Subiculum ( $p_{\text{Hemisphäre}}=0.892$ ;  $p_{\text{Geschlecht}}=0.068$ ;  $p_{\text{Interaktion}}=0.654$ ) (*Abbildung 15*).



**Abbildung 15:** Volumina der Subregionen CA4 (A) sowie die Anzahl der Neuronen in CA2/3 (B), CA4 (C) und im Subiculum (D) in der linken (l) und rechten (r) Hemisphäre von männlichen (M) und weiblichen (F) Patienten mit Schizophrenie und Kontrollen. (Wert  $\pm$  SEM; \* $p < 0.05$  vs. F).

## 5.5 Korrelationen

Die Korrelationen wurden mit der Pearson-Korrelation für beide Gruppen gemeinsam berechnet. Bei dem Postmortemintervall ergaben sich keine signifikanten Korrelationen. Das Alter korrelierte mit der Anzahl der Astrozyten (*Tabelle 10*).

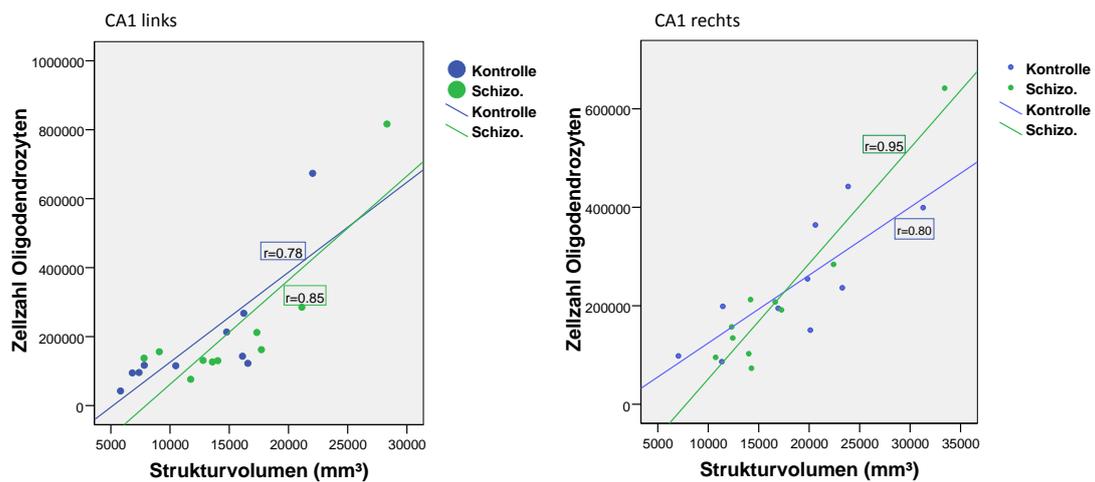
Astrozyten		links	rechts
CA1	r		0.56
	p		0.010
	n		20
CA2/3	r	0.53	0.45
	p	0.017	0.049
	n	20	20
CA4	r		0.47
	p		0.035
	n		20
Subiculum	r		0.74
	p		0.000
	n		20

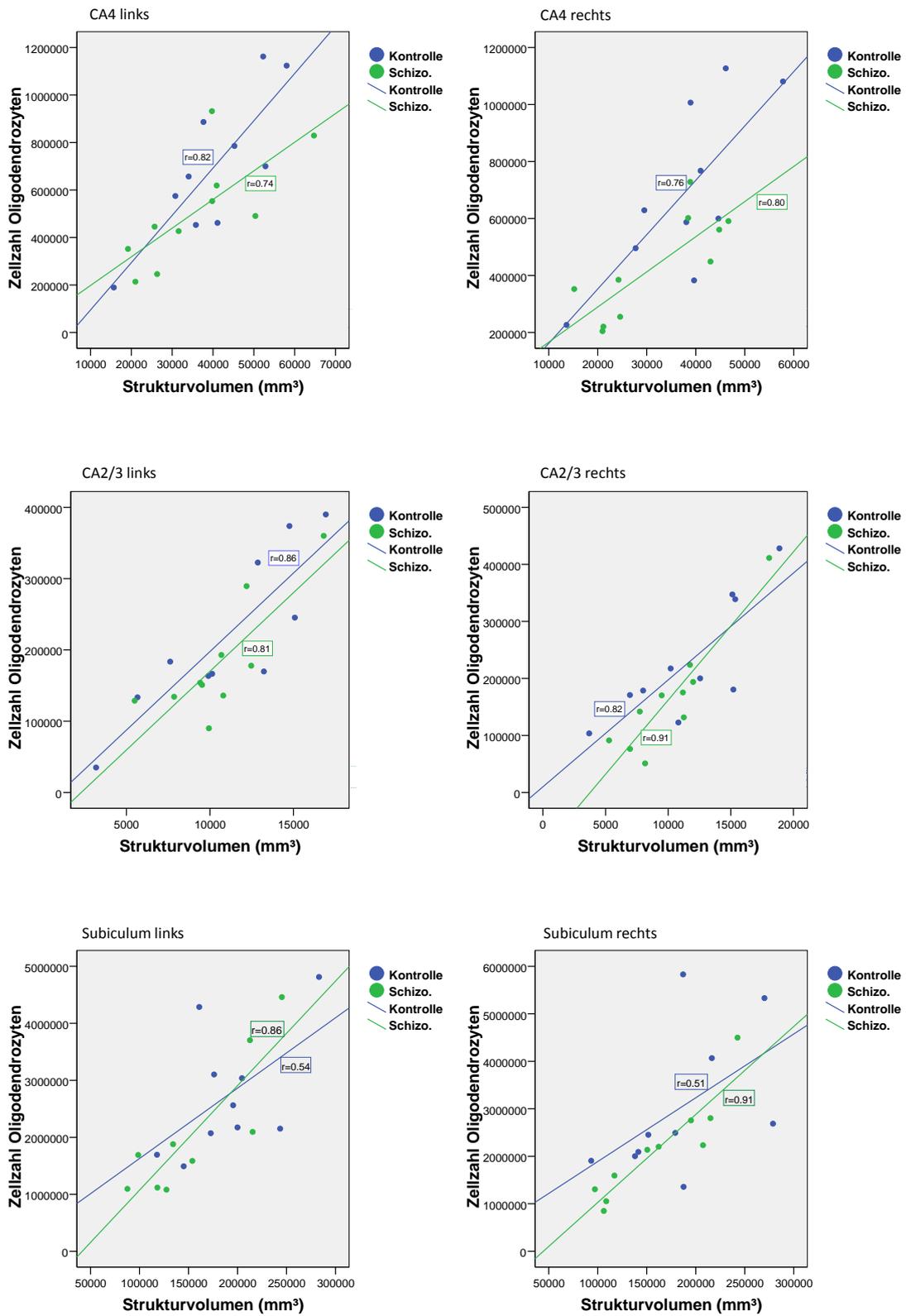
**Tabelle 10:** Astrozytenanzahl bei Kontrollen und Schizophrenen zusammen in Korrelation mit dem Alter. Nur signifikante Werte wurden in die Tabelle übernommen ( $r$  = Regressionsgrade,  $p$  =  $p$ -Wert,  $n$  = Fallzahl).

Es wurde zudem die Korrelation zwischen Oligodendrozytenanzahl und dem Volumen der Subregionen berechnet. Die Oligodendrozyten-Volumen-Struktur-Berechnung zeigte beidseits signifikante Korrelationen für alle Regionen. Streudiagramme (Oligodendrozytenzahlen x Strukturvolumina) wurden für die Strukturen angefertigt, bei denen sich sowohl für Oligodendrozytenzahlen als auch für die Strukturvolumina eine prozentuale Reduktion für schizophrene Patienten vs. Kontrollen ergeben hat und bei denen die Korrelationen sowohl für Kontrollen als auch für Schizophrene signifikant waren. Die Korrelation zwischen Oligodendrozyten und Volumen-Struktur zeigten beidseits signifikante Korrelationen für alle Strukturen. Dies zeigte sich sowohl für die Gesamtgruppe, als auch für schizophrene Patienten und Kontrollen getrennt sowie für die rechte und die linke Hemisphäre (*Tabelle 11; Abbildung 16*).

		links			rechts		
		Volumen			Volumen		
		G	K	S	G	K	S
CA1	r	0,81	0,78	0,85	0,87	0,80	0,95
	p	0.000	0.007	0.002	0.000	0.006	0.000
	n	20	10	10	20	10	10
CA2/3	r	0,84	0,86	0,81	0,86	0,82	0,91
	p	0.000	0.001	0.005	0.000	0.004	0.000
	n	20	10	10	20	10	10
CA4	r	0,77	0,82	0,74	0,76	0,76	0,80
	p	0.000	0.004	0.015	0.000	0.012	0.006
	n	20	10	10	20	10	10
Subiculum	r	0,74	0,54	0,86	0,68	0,51	0,91
	p	0.000	0.108	0.003	0.001	0.129	0.000
	n	19	10	9	20	10	10

**Tabelle 11:** Korrelation von Oligodendrozytenanzahl zu Volumen/ Fläche. Nur signifikante Werte wurden in die Tabelle übernommen ( $r$  = Regressionsgrade,  $p$  =  $p$ -Wert,  $n$  = Fallzahl,  $G$  = Gesamt,  $K$  = Kontrollen,  $S$  = schizophrene Patienten).





**Abbildung 16:** Korrelation Oligodendrozytenzahl und Strukturvolumen ( $r$  = Regressionskoeffizient welcher die Steigung der Geraden anzeigt)

## 6 DISKUSSION

Neurodegeneration wird als Pathologie definiert, bei der hauptsächlich Neurone betroffen sind und welche einen Verlust von Struktur und Funktion bedingt. In der vorliegenden Arbeit konnte eine Gliose, welche der Nachweis einer fortschreitenden Degeneration ist, nicht entdeckt werden. Diese Ergebnisse bestätigten zudem die schon bekannte fehlende Astrozytose bei Schizophrenie [Casanova et al., 1990, Falkai et al., 1999] und die Erkenntnis, dass bei Schizophrenie keine klassische Neurodegeneration vorliegt.

Bei normalen Astrozytenzahlen, in Korrelation mit dem Alter, handelt es sich demnach bei der Schizophrenie nicht um eine neurodegenerative Erkrankung. Der pathologische Prozess bei Schizophrenie könnte als Defizit der Myelinisierungsentwicklung, möglicherweise durch reduzierte Oligodendrozytenanzahl oder -funktion gedeutet werden. Dies wird im Folgenden anhand der einzelnen Ergebnisse diskutiert.

### 6.1 Volumen

Die von mir gefundenen Oligodendrozytenveränderungen korrelieren mit dem Volumen in den CA-Regionen des posterioren Hippocampus. Dies weist darauf hin, dass eine verminderte Anzahl von Oligodendrozyten in CA4 zu einem verminderten Volumen beitragen könnte.

Shenton et al. sowie Tamminga et al. beschrieben in ihrem Review eine Volumenreduktion in den von ihnen eingeschlossenen Studien des Amygdala-Hippocampalen Komplexes [Shenton et al., 2001, Tamminga und Holcomb, 2005]. Obwohl eine grosse Anzahl von strukturellen Magnetresonanztomographie-Studien ein vermindertes Volumen im posterioren Anteil des Hippocampus und des gesamten Hippocampus zeigten [Adriano et al., 2012, Becker et al., 1996, Bogerts et al., 1993, Hirayasu et al., 1998, Narr et al., 2001, Rametti et al., 2007, Shepherd et al., 2012, Stein et al., 2012, Velakoulis et al., 2001, Yamasue et al., 2004], konnten wir dies in Bezug auf den posterioren Anteil des Hippocampus nicht bestätigen. Jedoch muss beachtet werden, dass hier eine relativ kleine Fallzahl (zehn Patienten und zehn Kontrollen) untersucht wurde und dass in unserer Studie nur die CA-Regionen betrachtet wurden. Möglicherweise zeigen sich andere Regionen des posterioren

Anteils des Hippocampus verändert. So fanden Bogerts et al. in einer grösseren Stichprobe mit Gehirnschnitten aus der Düsseldorfer Sammlung, zu denen auch die Schnitte der vorliegenden Studie gehören, eine Volumenreduktion des gesamten Hippocampus bei Schizophrenie [Bogerts et al., 1990].

Zudem können Risikogene der Schizophrenie zu einem verminderten Volumen von Substrukturen des Hippocampus beitragen. So fanden Gruber et al. bei schizophrenen Patienten sowie ihren gesunden Verwandten einen Zusammenhang zwischen Neuregulin-1 (NRG1) Haplotyp HAP(ICE) Trägern und einem kleineren relativen hippocampalen Volumen. Das NRG1 Gen auf Chromosom 8p wird als mögliches prädisponierendes Gen für Schizophrenie vermutet [Gruber et al., 2008]. Dies konnten wir am in Paraffin eingebetteten Material nicht untersuchen.

## 6.2 Neurone

Des Weiteren wurde in der vorliegenden Arbeit aufgezeigt, dass das Alter keinen Einfluss auf die Neuronenzahl hat. Dies bestätigt die Ergebnisse von Pakkenberg et al., die nur einen geringfügigen Einfluss des Patientenalters auf die Neuronenzahl im menschlichen Gehirn fanden [Pakkenberg et al., 2003]. Jedoch konnte in der vorliegenden Studie gezeigt werden, dass ein weibliches Geschlecht mit einer verminderten Anzahl von Neuronen in CA4 und CA2/3 korreliert. Dies konnte bereits früher im Zuge von Geschlechtsunterschieden in tierexperimentellen Studien nachgewiesen werden [Andrade et al., 2000]. Es muss jedoch auch der generelle Größenunterschied von Gehirnen bei Männern und Frauen bedacht werden. Während eine stereologische Studie eine höhere Anzahl an Neuronen bei Männern in humanen kortikalen Regionen aufzeigte [Stark et al., 2007], können diese Ergebnisse nicht einfach auf den Hippocampus übertragen werden. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass ein altersabhängiger Einfluss auf Neurone eher eine neuronale Dysfunktion als einen Zellverlust anzeigt [Long et al., 1999].

In der vorliegenden Arbeit wurde eine postmortem Studie durchgeführt. Dabei konnten die hier erzielten Ergebnisse keinen Unterschied zwischen der durchschnittlichen Neuronenanzahl oder Neuronendichte in den einzelnen untersuchten Subregionen (CA1, CA2/3, CA4 und Subiculum) des posterioren Anteils des Hippocampus bei an Schizophrenie erkrankten Patienten im Vergleich zu der untersuchten Kontrollgruppe

nachweisen. Im Einklang hiermit fanden Heckers et al. [Heckers et al., 1991] und Walker et al. [Walker et al., 2002] unter Verwendung eines stereologischen Ansatzes ebenfalls keinen Unterschied in der Neuronenanzahl in allen Unterteilungen des Cornu ammonis des Hippocampus bei Schizophrenie. Dies zeigt, dass eine verminderte Dichte von Pyramidenzellen im Hippocampus nicht als hauptsächliche Ursache in der Pathogenese einer Schizophrenie angesehen werden kann. Demzufolge konnten in der vorliegenden und in den zwei erwähnten stereologischen Studien vorangegangene Ergebnisse einer zweidimensionalen Zellzählung, welche von einer verminderten Dichte von Pyramidenzellen im Hippocampus bei Schizophrenie berichtet [Falkai und Bogerts, 1986], nicht bestätigt werden.

Benes et al. [Benes et al., 1991] fanden eine reduzierte Anzahl an Neuronen in der Region CA1 des posterioren Anteils des Hippocampus bei Patienten mit Schizophrenie, die gleichzeitig an erhöhtem Antrieb litten. Diese Studie war jedoch keine stereologische Studie, sondern zeigte lediglich Dichteverhältnisse auf. Da in der vorliegenden Arbeit ein Patientenkollektiv ohne zusätzliche affektive Störungen untersucht wurde und die chronisch kranken Patienten unserer Studie eher unter Antriebsmangel litten, kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Neuronenanzahl bei Patienten mit erhöhtem Antrieb und affektiver Komponente verändert ist. Zusätzlich wurde in der vorliegenden stereologischen Arbeit nicht zwischen Pyramidenzellen und Interneuronen unterschieden, da diese Zelltypen in Nissl-gefärbten Schnitten aufgrund von überlappenden morphologischen Kriterien nicht klar differenziert werden können.

### **6.3 Astrozyten**

Eine Beeinflussung der Anzahl der Astrozyten und der Dichteverteilung innerhalb der einzelnen Subregionen konnte in der vorliegenden Arbeit in Korrelation mit dem Alter der Patienten bemerkt werden. Es zeigte sich jedoch kein Zusammenhang mit der Diagnose einer Schizophrenie. Diese Erkenntnisse werden ebenfalls durch eine tierexperimentelle Studie bestätigt, welche eine ansteigende durchschnittliche Astrozytenzahl in Gehirnen von älteren Mäusen zeigte [Mouton et al., 2002].

## 6.4 Oligodendrozyten

In der vorliegenden Arbeit konnte eine Abnahme der durchschnittlichen Anzahl von Oligodendrozyten der linken und rechten Region CA4 des posterioren Anteils des Hippocampus bei Schizophrenie im Vergleich zu der Kontrollgruppe aufgezeigt werden. Innerhalb der hippocampalen Subregionen ist die Region CA4 die tiefe polymorphe Schicht des Gyrus dentatus und empfängt die kollateralen Moosfasern der Körnerzellen [Amaral und Lavanex, 2007]. Die Resultate der vorliegenden Arbeit ergänzen die Ergebnisse anderer Studien, die eine Reduktion der durchschnittlichen Anzahl von Oligodendrozyten im präfrontalen Cortex bei Schizophrenie nachweisen konnten [Byne et al., 2006, Hof et al., 2002, Hof et al., 2003, Stark et al., 2004, Tkachev et al., 2003, Uranova et al., 2004, Vostrikov et al., 2008]. Dabei stellt sich die Frage nach der Spezifität dieser Ergebnisse bei Schizophrenie, wobei in der vorliegenden Arbeit keine Patienten mit anderen psychiatrischen Diagnosen untersucht wurden.

### 6.4.1 Myelinisierungsprozesse

Eine reduzierte Oligodendrozytenanzahl könnte mit einem Proliferationsdefekt, einer gestörten Reifung der Oligodendrozyten und einem Mangel an normaler Myelinisierung assoziiert sein [Bartzokis et al., 2003]. Ultrastrukturelle Untersuchungen zeigten im Hippocampus bei Schizophrenie eine Atrophie der Axone und Störungen periaxonaler Strukturen [Uranova et al., 2007].

Oligodendrozyten sind in den Myelinisierungsprozess der axonalen Bahnen während der Entwicklung beteiligt. Die Myelinisierung der Bahnen im Frontal- und Temporallappen, einschließlich des posterioren Anteils des Hippocampus hat zwei Gipfel, einen in der späten Adoleszenzphase und einen in der frühen Erwachsenenphase. Dieser zweite Gipfel tritt in enger zeitlicher Nachbarschaft mit dem Hauptmanifestationsalter der Schizophrenie auf [Benes, 1989, Benes et al., 1994, Höistad et al., 2009, Yakovlev und Lecours, 1967].

Interessanterweise sind Polymorphismen des Neuregulin-1 Gens, welches schon im Unterpunkt „Volumen“ diskutiert wurde [Gruber et al., 2008], mit Schizophrenie assoziiert. Es ist in die Myelinisierung und in die Proliferation von Oligodendrozyten involviert [Corfas et al., 2004, Harrison und Weinberger, 2005, Parlapani et al., 2008,

Schmitt et al., 2008, Segal et al., 2007]. In genomweiten Genexpressions-Studien an postmortem Gewebe wurde eine deutliche Reduktion oligodendrozyten-assoziiierter messenger-Ribonukleinsäure (mRNS) im Hippocampus von an Schizophrenie erkrankten Personen festgestellt [Dracheva et al., 2006, Katsel et al., 2005]. Die verminderte Oligodendrozytenanzahl in der vorliegenden Arbeit ist vereinbar mit einer solchen verminderten Genexpression. Martins-de-Souza et al. fanden in proteomic-Untersuchungen verschiedene Oligodendrozyten-assoziierte Proteine verändert exprimiert. Das Myelin-Basische Protein (engl.: myelin basic protein, MBP), das Myelin Oligodendrozyten Glykoprotein (engl. myelin oligodendrocyte glycoprotein, MOG) sowie die 2', 3'-Zyklische Nukleotid, 3'-Phosphodiesterase (engl. 2', 3'-cyclic nucleotide, 3'-phosphodiesterase, CNP) zeigten sich herunterreguliert. Diese Proteine wurden als potentielle Biomarker für die Erkrankung deklariert. Zudem wurde eine Hochregulierung des Oligodendrozytenproteins Ermin (ERMN oder KIAA1189) im dorsolateralen präfrontalen Cortex (engl. dorsolateral prefrontal cortex, DLPFC) und eine Herunterregulierung im anterioren Temporallappen (engl. anterior temporal lobe, ATL) gefunden. Dieses Protein, welches vermutlich zur Stabilisierung und Aufrechterhaltung der Myelinscheiden beim Erwachsenen beiträgt, wurde als weiterhin untersuchungswert in zukünftigen post-mortem Studien bei Schizophrenie beschrieben [Martins-De-Souza et al., 2010].

Diese oben erwähnten Expressions-Daten und die lichtmikroskopischen Resultate im posterioren Anteil des Hippocampus der vorliegenden Studie werden unterstützt durch in vivo Diffusions-Tensor-Bildgebungs-Studien (engl. Diffusion tensor imaging - DTI) der weißen Substanz des Fornix-Körpers und des posterioren Anteils des Hippocampus bei Schizophrenie. Hierbei wurde eine reduzierte partielle Anisotropie aufgezeigt und die Hypothese einer funktionellen Dyskonnektivität bei Schizophrenie unterstützt [Kalus et al., 2004, Kuroki et al., 2006, White et al., 2007, Zhou et al., 2008].

Darüber hinaus korrelieren die Funktionen des posterioren Hippocampus mit der partiellen Anisotropie des Hippocampus bei Patienten mit Schizophrenie [Lim et al., 2006]. Die Unterbrechung der Konnektivität innerhalb dieser Region könnte sich in kognitiven genauso wie in klinischen Negativsymptomen äußern [Harrison, 2004, Kuroki et al., 2006, Rajarethinam et al., 2001]. Dies ist auf die Tatsache zurückzuführen, dass neuronale Fasern, welche den limbischen Signalübertragungsweg des posterioren Anteils des Hippocampus durchqueren, mit

präfrontalen Regionen und Signalübertragungswegen verbunden sind. Diese Regionen sind in übergeordnete Wahrnehmungsvorgänge und kognitive Prozesse involviert [Goldman-Rakic et al., 1984]. Auch während einer Arbeitsgedächtnisaufgabe war der Hippocampus vermindert aktiviert [Henseler et al. 2008] und zeigte eine verminderte hippocampal-präfrontale Konnektivität [Henseler et al. 2010]. Der präfrontale Cortex und der posteriore Anteil des Hippocampus gehören somit zu einem neuronalen Netzwerk welches Beeinträchtigungen bei Schizophrenie zeigt. Eine Schädigung dieses Netzwerks während der neuronalen Entwicklung in der Perinatalphase könnte ätiopathogenetisch bei der Schizophrenie vorliegen und zu unserem Befund verminderter Oligodendrozytenzahlen beitragen [Bullmore et al., 1997]. Besonders Geburts- und Schwangerschaftskomplikationen mit dem gemeinsamen Faktor einer Hypoxie spielen in der Pathogenese der Schizophrenie eine bedeutende Rolle [Fendt et al., 2008]. Es zeigte sich im Cortex von Ratten, dass insbesondere Oligodendrozyten hypoxiesensibel sind [Rosin et al., 2005]. Zukünftig sollten Tiermodelle von Geburts- und Schwangerschaftskomplikationen sowie Mausmodelle von Risikogenen der Erkrankung stereologisch Oligodendrozyten untersuchen, um die Ätiologie der Befunde der vorliegenden Studie zu klären.

## **6.5 Postmortem Intervalle**

Das Postmortem Intervall definiert sich hier als die Zeitspanne vom Versterben eines Individuums bis zu der Gewebeasservierung. Es sollte erwähnt werden, dass das Postmortem Intervall in den vorliegenden Fällen bei an Schizophrenie erkrankten Patienten  $40 \pm 17,0$  Stunden betrug und bei der Kontrollgruppe  $41,4 \pm 23,4$  Stunden. Es wurde jedoch keinerlei Einfluss des Postmortemintervalls auf die untersuchten Parameter gefunden. Ein Einfluss wäre lediglich zum Beispiel auf RNA und Proteine zu erwarten. Dementsprechend wurden Fälle mit längerem Intervall nicht ausgeschlossen.

## **6.6 Konfundierende Variablen der vorliegenden Arbeit**

Der posteriore Anteil des Hippocampus wurde unter der Verwendung von externen Orientierungspunkten definiert. Durch diese Tatsache könnten Unregelmäßigkeiten im Schnittwinkel oder Volumenunterschiede der Orientierungspunkte (Corpus geniculatum laterale und Splenium des Corpus callosum) zu Verfälschungen der Ergebnisse führen. Jedoch sind solche Verfälschungen unwahrscheinlich, da in Meta-Analysen regionaler

Gehirnvolumina keine Volumenreduktionen des Corpus geniculatus lateralis bei Schizophrenie gefunden wurden. Das Corpus callosum zeigte eine Volumenreduktion vor allem bei Patienten mit einer ersten Krankheitsepisode, während schon behandelte Patienten mit chronischer Schizophrenie eher größere Volumina aufwiesen [Arnone et al., 2008, Ellison-Wright et al., 2008, Honea et al., 2005, Wright et al., 2000].

Eine Einschränkung der vorliegenden Arbeit stellt die Behandlung der Patienten mit typischen Neuroleptika dar, da hierdurch Anzahl der Zellen und das Volumen der hippocampalen Subregionen beeinflusst sein könnten. In tierexperimentellen Studien der grauen Substanz wurden durch Behandlung mit Antipsychotika die Anzahl der Astrozyten signifikant und die der Oligodendrozyten nicht-signifikant reduziert, während sich die neuronale Dichte erhöht zeigte [Konopaske et al., 2007, Konopaske et al., 2008]. Im Hippocampus wurde weiterhin von einer erhöhten Stammzellproliferation in Folge einer Behandlung mit atypischen Antipsychotika berichtet. Bei der Behandlung mit typischen Neuroleptika ergaben sich keine Unterschiede [Halim et al., 2004, Kodama et al., 2004, Newton und Duman, 2007]. Eine erhöhte Stammzellproliferation könnte zu veränderter Neuronenzahl oder Oligodendrozytenzahl führen; in unserer Arbeit fanden wir jedoch eine verminderte Anzahl an Oligodendrozyten. Insgesamt kann ein Effekt einer jahrzehntelangen Medikation auf unsere Ergebnisse nicht gänzlich ausgeschlossen werden. Wang et al. fanden bei Mäusen, welche drei oder sechs Wochen mit Haloperidol behandelt wurden, zwar eine erhöhte Expression von Olig2, aber die Anzahl von ausgereiften Oligodendrozyten blieb unverändert [Wang et al., 2010]. Die Ergebnisse einer erniedrigten Oligodendrozytenzahl in der vorliegenden Studie könnten möglicherweise eher mit einer erniedrigten Expression von Oligodendrozytenmarkern, wie Olig2, einhergehen und daher erscheint der Einfluss der Medikation auf unsere Befunde nicht plausibel. In unserer Studie korrelierte die reduzierte Anzahl an Oligodendrozyten in CA4 des posterioren Anteils des Hippocampus bei Patienten mit Schizophrenie nicht mit der Erkrankungsdauer und war damit auch nicht in Zusammenhang mit der mutmaßlichen Dauer der Medikation zu bringen. Dennoch werden weitere tierexperimentelle stereologische Studien notwendig sein um den Einfluss einer antipsychotischen Langzeittherapie auf die Zellanzahl im posterioren Anteil des Hippocampus zu analysieren.

## **6.7 Schlussfolgerung**

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse unserer Studie eine reduzierte Anzahl der Oligodendrozyten der linken und rechten CA4 Subregion des posterioren Anteils des Hippocampus bei Schizophrenie. Dies stützt die These einer Konnektivitätsstörung der Subregionen des posterioren Anteils des Hippocampus bei Schizophrenie und bestätigt frühere Ergebnisse über Pathologien des Hippocampus bei Schizophrenie [Dwork, 1997, Falkai und Bogerts, 1986, Heckers, 2004, Pearlson, 2000].

Es werden weitere Studien notwendig sein, welche den anterioren Hippocampus untersuchen und zudem unsere Befunde in grösseren Stichproben replizieren. Zusätzlich werden immunhistochemische Ansätze notwendig sein, um Interneurone, Pyramidenzellen und Oligodendrozyten nicht nur nach morphologischen Kriterien zu unterscheiden. Der Nachteil immunhistochemischer Methoden liegt jedoch darin, dass Färbungen bislang nicht seriell erfolgten und damit nicht stereologisch ausgewertet wurden, sondern nur Dichtebestimmungen in einzelnen Schnitten durchgeführt wurden. Zudem sollten tierexperimentelle Studien durchgeführt werden, um die Effekte antipsychotischer Therapien auf die Zellpopulationen in unterschiedlichen Subregionen detaillierter zu erforschen.

## 7 LITERATURVERZEICHNIS

1. Addington, J., Addington, D., Maticka-Tyndale, E. Cognitive functioning and positive and negative symptoms in schizophrenia. *Schizophr Res.* 5: 123-34, 1991.
2. Adriano F., Caltagirone C., Spalletta G. Hippocampal volume reduction in first-episode and chronic schizophrenia: a review and meta-analysis. *Neuroscientist.* 18: 180-200, 2012.
3. Amaral, D. and Lavanex, P., Hippocampal neuroanatomy. The hippocampal book, ed. In: Andersen P, M.R., Amaral D, Bliss T, O'Keefe J (eds), Oxford: Oxford University Press.: 37-114, 2007.
4. Andrade, J.P., Madeira, M.D., Paula-Barbosa, M.M. Sexual dimorphism in the subiculum of the rat hippocampal formation. *Brain Res.* 875: 125-37, 2000.
5. Arnold, S.E., Franz, B.R., Gur, R.C., Gur, R.E., Shapiro, R.M., Moberg, P.J., Trojanowski, J.Q. Smaller neuron size in schizophrenia in hippocampal subfields that mediate cortical-hippocampal interactions. *Am J Psychiatry.* 152: 738-48, 1995.
6. Arnone, D., McIntosh, A.M., Tan, G.M., Ebmeier, K.P. Meta-analysis of magnetic resonance imaging studies of the corpus callosum in schizophrenia. *Schizophr Res.* 101: 124-32, 2008.
7. Arolt, V., Reimer, C., Dilling, H., *Basiswissen Psychiatrie und Psychotherapie.* Vol. 6, Heidelberg: Springer Medizin Verlag: 116-7, 126, 2007.
8. Arseneault, L., Cannon, M., Witton, J., Murray, R.M. Causal association between cannabis and psychosis: examination of the evidence. *Br J Psychiatry.* 184: 110-7, 2004.
9. Barbato, A. *Schizophrenia and public health.* Geneva, World Health Organization, 1998.
10. Barry, K.L., Milner, K., Blow, F.C., Impens, A., Welsh, D., Amash, J. Screening psychiatric emergency department patients with major mental illnesses for at-risk drinking. *Psychiatr Serv.* 57: 1039-42, 2006.
11. Bartzokis, G., Nuechterlein, K.H., Lu, P.H., Gitlin, M., Rogers, S., Mintz, J. Dysregulated brain development in adult men with schizophrenia: a magnetic resonance imaging study. *Biol Psychiatry.* 53: 412-21, 2003.

12. Becker, T., Elmer, K., Schneider, F., Schneider, M., Grodd, W., Bartels, M., Heckers, S., Beckmann, H. Confirmation of reduced temporal limbic structure volume on magnetic resonance imaging in male patients with schizophrenia. *Psychiatry Res.* 67: 135-43, 1996.
13. Benes, F.M. Myelination of cortical-hippocampal relays during late adolescence. *Schizophr Bull.* 15: 585-93, 1989.
14. Benes, F.M., Sorensen, I., Bird, E.D. Reduced neuronal size in posterior hippocampus of schizophrenic patients. *Schizophr Bull.* 17: 597-608, 1991.
15. Benes, F.M., Turtle, M., Khan, Y., Farol, P. Myelination of a key relay zone in the hippocampal formation occurs in the human brain during childhood, adolescence, and adulthood. *Arch Gen Psychiatry.* 51: 477-84, 1994.
16. Benes, F.M., Kwok, E.W., Vincent, S.L., Todtenkopf, M.S. A reduction of nonpyramidal cells in sector CA2 of schizophrenics and manic depressives. *Biol Psychiatry.* 44: 88-97, 1998.
17. Bergen S.E., O'Dushlaine C.T., Ripke S., Lee P.H., Ruderfer D.M., Akterin S., Moran J.L., Chambert K.D., Handsaker R.E., Backlund L., Ösby U., McCarroll S., Landen M., Scolnick E.M., Magnusson P.K., Lichtenstein P., Hultman C.M., Purcell S.M., Sklar P., Sullivan P.F. Genome-wide association study in a Swedish population yields support for greater CNV and MHC involvement in schizophrenia compared with bipolar disorder. *Mol Psychiatry.* 17: 880-6, 2012.
18. Berner, P. New concepts of schizophrenic sub-syndromes - consequences for treatment. *Fortschr Neurol Psychiatr.* 69 Suppl 2: 101-3, 2001.
19. Birchwood, M. Commentary on Garety & Freeman. I: 'Cognitive approaches to delusions - a critical review of theories and evidence'. *Br J Clin Psychol.* 38: 315-8, 1999.
20. Bogerts, B., Falkai, P., Hapts, M., Greve, B., Ernst, S., Tapernon-Franz, U., Heinzmann, U. Post-mortem volume measurements of limbic system and basal ganglia structures in chronic schizophrenics. Initial results from a new brain collection. *Schizophr Res.* 3: 295-301, 1990.
21. Bogerts, B., Lieberman, J.A., Ashtari, M., Bilder, R.M., Degreef, G., Lerner, G., Johns, C., Masiar, S. Hippocampus-amygdala volumes and psychopathology in chronic schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 33: 236-46, 1993.

22. Bogerts, B. The temporolimbic system theory of positive schizophrenic symptoms. *Schizophr Bull.* 23: 423-35, 1997.
23. Bonthuis, D.J., McKim, R., Koele, L., Harb, H., Karacay, B., Mahoney, J., Pantazis, N.J. Use of frozen sections to determine neuronal number in the murine hippocampus and neocortex using the optical disector and optical fractionator. *Brain Res Brain Res Protoc.* 14: 45-57, 2004.
24. Borrás, L., Mohr, S., Boucherie, M., Dupont-Willemin, S., Ferrero, F., Huguelet, P. Patients with schizophrenia and their finances: how they spend their money. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol.* 42: 977-83, 2007.
25. Bromet, E.J. and Fennig, S. Epidemiology and natural history of schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 46: 871-81, 1999.
26. Bullmore, E.T., Frangou, S., Murray, R.M. The dysplastic net hypothesis: an integration of developmental and dysconnectivity theories of schizophrenia. *Schizophr Res.* 28: 143-56, 1997.
27. Buszewicz, M. and Phelan, M. Schizophrenia and the environment. *Br J Hosp Med.* 52: 149-50, 152-4, 1994.
28. Byne, W., Kiskandee, S., Tatusov, A., Yiannoulos, G., Buchsbaum, M.S., Haroutunian, V. Schizophrenia-associated reduction of neuronal and oligodendrocyte numbers in the anterior principal thalamic nucleus. *Schizophr Res.* 85: 245-53, 2006.
29. Cannon, M., Jones, P.B., Murray, R.M. Obstetric complications and schizophrenia: historical and meta-analytic review. *Am J Psychiatry.* 159: 1080-92, 2002.
30. Cannon, T.D., Kaprio, J., Lonnqvist, J., Huttunen, M., Koskenvuo, M. The genetic epidemiology of schizophrenia in a Finnish twin cohort. A population-based modeling study. *Arch Gen Psychiatry.* 55: 67-74, 1998.
31. Carlsson, A. The current status of the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology.* 1: 179-86, 1988.
32. Casanova, M.F., Stevens, J.R., Kleinman, J.E. Astrocytosis in the molecular layer of the dentate gyrus: a study in Alzheimer's disease and schizophrenia. *Psychiatry Res.* 35: 149-66, 1990.

33. Chakos, M.H., Alvir, J.M., Woerner, M.G., Koreen, A., Geisler, S., Mayerhoff, D., Sobel, S., Kane, J.M., Borenstein, M., Lieberman, J.A. Incidence and correlates of tardive dyskinesia in first episode of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*. 53: 313-9, 1996.
34. Cordeiro, Q., Zung, S., Campanha, E.V., Vallada, H. Chromosomal translocation t(1;4) (p21;p14) indicating possible susceptibility loci for schizophreniform disorder and mental retardation. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 19: 339, 2007.
35. Corfas, G., Roy, K., Buxbaum, J.D. Neuregulin 1-erbB signaling and the molecular/cellular basis of schizophrenia. *Nat Neurosci*. 7: 575-80, 2004.
36. Cummings E., Donohoe G., Hargreaves A., Moore S., Fahey C., Dinan T.G., McDonald C., O'Callaghan E., O'Neill F.A., Waddington J.L., Murphy K.C., Morris D.W., Gill M., Corvin A. Mood congruent psychotic symptoms and specific cognitive deficits in carriers of the novel schizophrenia risk variant at MIR-137. *Neurosci Lett*. S0304-3940(12)01159-7. [Epub ahead of print], 2012.
37. Danos, P., Baumann, B., Bernstein, H.G., Stauch, R., Krell, D., Falkai, P., Bogerts, B. The ventral lateral posterior nucleus of the thalamus in schizophrenia: a post-mortem study. *Psychiatry Res*. 114: 1-9, 2002.
38. Danos, P., Schmidt, A., Baumann, B., Bernstein, H.G., Northoff, G., Stauch, R., Krell, D., Bogerts, B. Volume and neuron number of the mediodorsal thalamic nucleus in schizophrenia: a replication study. *Psychiatry Res*. 140: 281-9, 2005.
39. Davis, K.L., Kahn, R.S., Ko, G., Davidson, M. Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *Am J Psychiatry*. 148: 1474-86, 1991.
40. Diederich, N.J. and Goetz, C.G. Drug-induced movement disorders. *Neurol Clin*. 16: 125-39, 1998.
41. Dixon, L., Medoff, D.R., Wohlheiter, K., DiClemente, C., Goldberg, R., Kreyenbuhl, J., Adams, C., Lucksted, A., Davin, C. Correlates of severity of smoking among persons with severe mental illness. *Am J Addict*. 16: 101-10, 2007.
42. Doreulee, N., Alania, M., Mitaishvili, E., Chikovani, M., Chkhartishvili, B. The role of the mGluR allosteric modulation in the NMDA-hypofunction model of schizophrenia. *Georgian Med News*. 177: 59-65, 2009.
43. Dracheva, S., Davis, K.L., Chin, B., Woo, D.A., Schmeidler, J., Haroutunian, V. Myelin-associated mRNA and protein expression deficits in the anterior cingulate cortex and hippocampus in elderly schizophrenia patients. *Neurobiol Dis*. 21: 531-40, 2006.

44. Dwork, A.J. Postmortem studies of the hippocampal formation in schizophrenia. *Schizophr Bull.* 23: 385-402, 1997.
45. Ellison-Wright, I., Glahn, D.C., Laird, A.R., Thelen, S.M., Bullmore, E. The anatomy of first-episode and chronic schizophrenia: an anatomical likelihood estimation meta-analysis. *Am J Psychiatry.* 165: 1015-23, 2008.
46. Eyler, L.T., Jeste, D.V., Brown, G.G. Brain response abnormalities during verbal learning among patients with schizophrenia. *Psychiatry Res.* 162: 11-25, 2008.
47. Falkai, P. and Bogerts, B. Cell loss in the hippocampus of schizophrenics. *Eur Arch Psychiatry Neurol Sci.* 236: 154-61, 1986.
48. Falkai, P., Honer, W.G., David, S., Bogerts, B., Majtenyi, C., Bayer, T.A. No evidence for astrogliosis in brains of schizophrenic patients. A post-mortem study. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 25: 48-53, 1999.
49. Falkai, P., Vogele K., Maier W. Structural brain changes in patients with schizophrenic psychoses. From focal pathology to network disorder. *Nervenarzt.* 72: 331-341, 2001.
50. Fanselow, M. S. and Dong H. W.: Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? *Neuron.* 65: 7-19, 2010.
51. Faraone, S.V., Chen, W.J., Goldstein, J.M., Tsuang, M.T. Gender differences in age at onset of schizophrenia. *Br J Psychiatry.* 164: 625-9, 1994.
52. Farde, L., Nordström, A.L., Wiesel, F.A., Pauli, S., Halldin, C., Sedvall, G. Positron emission tomographic analysis of central D1 and D2 dopamine receptor occupancy in patients treated with classical neuroleptics and clozapine. Relation to extrapyramidal side effects. *Arch Gen Psychiatry.* 49: 538-44, 1992.
53. Fendt, M., Lex, A., Falkai, P., Henn, F.A., Schmitt, A. Behavioural alterations after post-natal hypoxia and effects of clozapine: implications for schizophrenia. *Pharmacopsychiatry* 41: 138-145, 2008.
54. Gaszner, P., Makkos, Z., Kosza, P. Agranulocytosis during clozapine therapy. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 26: 603-7, 2002.
55. Geraud, M. Emil Kraepelin: a pioneer of modern psychiatry. On the occasion of the hundred and fiftieth anniversary of his birth. *Encephale.* 33: 561-7, 2007.

56. Goldman-Rakic, P.S., Selemon, L.D., Schwartz, M.L. Dual pathways connecting the dorsolateral prefrontal cortex with the hippocampal formation and parahippocampal cortex in the rhesus monkey. *Neuroscience*. 12: 719-43, 1984.
57. Greenwood, T.A., Braff, D.L., Light, G.A., Cadenhead, K.S., Calkins, M.E., Dobie, D.J., Freedman, R., Green, M.F., Gur, R.E., Gur, R.C., Mintz, J., Nuechterlein, K.H., Olincy, A., Radant, A.D., Seidman, L.J., Siever, L.J., Silverman, J.M., Stone, W.S., Swerdlow, N.R., Tsuang, D.W., Tsuang, M.T., Turetsky, B.I., Schork, N.J. Initial heritability analyses of endophenotypic measures for schizophrenia: the consortium on the genetics of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*. 64: 1242-50, 2007.
58. Gruber O., Falkai P., Schneider-Axmann T., Schwab S.G., Wagner M., Maier W. Neuregulin-1 haplotype HAP(ICE) is associated with lower hippocampal volumes in schizophrenic patients and in non-affected family members. *J Psychiatr Res*. 43: 1-6, 2008.
59. Grunder, G., Vernaleken, I., Benkert, O. Which properties make a neuroleptic "atypical"? *Nervenarzt*. 72: 833-43, 2001.
60. Gundersen, H.J. Stereology of arbitrary particles. A review of unbiased number and size estimators and the presentation of some new ones, in memory of William R. Thompson. *J Microsc*. 143: 3-45, 1986.
61. Gundersen, H.J., Bagger, P., Bendtsen, T.F., Evans, S.M., Korbo, L., Marcussen, N., Moller, A., Nielsen, K., Nyengaard, J.R., Pakkenberg, B., et al. The new stereological tools: disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. *Apmis*. 96: 857-81, 1988.
62. Gundersen, H.J., Bendtsen, T.F., Korbo, L., Marcussen, N., Moller, A., Nielsen, K., Nyengaard, J.R., Pakkenberg, B., Sorensen, F.B., Vesterby, A., West, M.J. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *Apmis*. 96: 379-94, 1988.
63. Hafner, H., Riecher, A., Maurer, K., Fatkenheuer, B., Loffler, W., an der Heiden, W., Munk-Jorgensen, P., Stromgren, E. Sex differences in schizophrenic diseases. *Fortschr Neurol Psychiatr*. 59: 343-60, 1991.
64. Hafner, H. Onset and course of the first schizophrenic episode. *Kaohsiung J Med Sci*. 14: 413-31, 1998.

65. Halim, N.D., Weickert, C.S., McClintock, B.W., Weinberger, D.R., Lipska, B.K. Effects of chronic haloperidol and clozapine treatment on neurogenesis in the adult rat hippocampus. *Neuropsychopharmacology*. 29: 1063-9, 2004.
66. Hamshere M.L., Walters J.T., Smith R., Richards A.L., Green E., Grozeva D., Jones I., Forty L., Jones L., Gordon-Smith K., Riley B., O'Neill T., Kendler K.S., Sklar P., Purcell S., Kranz J, The Schizophrenia Psychiatric Genome-wide Association Study Consortium (PGC), Wellcome Trust Case Control Consortium+ (WTCCC+), Wellcome Trust Case Control Consortium 2 (WTCCC2), Morris D., Gill M., Holmans P., Craddock N., Corvin A., Owen M.J., O'Donovan M.C.. Genome-wide significant associations in schizophrenia to ITIH3/4, CACNA1C and SDCCAG8, and extensive replication of associations reported by the Schizophrenia PGC. *Mol Psychiatry*. doi: 10.1038/mp.2012.67. [Epub ahead of print], 2012.
67. Harrison, P.J. The neuropathology of schizophrenia. A critical review of the data and their interpretation. *Brain*. 122: 593-624, 1999.
68. Harrison, P.J. The hippocampus in schizophrenia: a review of the neuropathological evidence and its pathophysiological implications. *Psychopharmacology (Berl)*. 174: 151-62, 2004.
69. Harrison, P.J. and Weinberger, D.R. Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Mol Psychiatry*. 10: 40-68, 2005.
70. Heckers, S., Heinsen, H., Geiger, B., Beckmann, H. Hippocampal neuron number in schizophrenia. A stereological study. *Arch Gen Psychiatry*. 48: 1002-8, 1991.
71. Heckers, S. Neuroimaging studies of the hippocampus in schizophrenia. *Hippocampus*. 11: 520-8, 2001.
72. Heckers, S. and Konradi, C. Hippocampal neurons in schizophrenia. *J Neural Transm*. 109: 891-905, 2002.
73. Heckers, S. The hippocampus in schizophrenia. *Am J Psychiatry*. 161: 2138-9, 2004.
74. Henseler, I., Gruber, O., Kraft, S., Krick, C., Reith, W., Falkai, P. Compensatory hyperactivations as markers of latent working memory dysfunctions in patients with obsessive-compulsive disorder: an fMRI study. *J Psychiatry Neurosci*. 33: 209-15. 2008
75. Henseler, I., Falkai, P., Gruber, O. Disturbed functional connectivity within networks subserving domain-specific subcomponents of working memory in schizophrenia: rela-

- tion to performance and clinical symptoms. *Journal of Psychiatric Research*, 44: 364-72, 2010.
76. Herz, M.I. and Melville, C. Relapse in schizophrenia. *Am J Psychiatry*. 137: 801-5, 1980.
77. Hirayasu, Y., Shenton, M.E., Salisbury, D.F., Dickey, C.C., Fischer, I.A., Mazzoni, P., Kislner, T., Arakaki, H., Kwon, J.S., Anderson, J.E., Yurgelun-Todd, D., Tohen, M., McCarley, R.W. Lower left temporal lobe MRI volumes in patients with first-episode schizophrenia compared with psychotic patients with first-episode affective disorder and normal subjects. *Am J Psychiatry*. 155: 1384-91, 1998.
78. Hof, P.R., Haroutunian, V., Copland, C., Davis, K.L., Buxbaum, J.D. Molecular and cellular evidence for an oligodendrocyte abnormality in schizophrenia. *Neurochem Res*. 27: 1193-200, 2002.
79. Hof, P.R., Haroutunian, V., Friedrich, V.L., Jr., Byne, W., Buitron, C., Perl, D.P., Davis, K.L. Loss and altered spatial distribution of oligodendrocytes in the superior frontal gyrus in schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 53: 1075-85, 2003.
80. Hoiberg, M.P. and Nielsen, B. Antipsychotic treatment and extrapyramidal symptoms amongst schizophrenic inpatients. *Nord J Psychiatry*. 60: 207-12, 2006.
81. Höistad, M., Segal, D., Takahashi, N., Sakurai, T., Buxbaum, J.D., Hof, P.R., Linking white and grey matter in schizophrenia: oligodendrocyte and neuron pathology in the prefrontal cortex. *Front Neuroanat*. 3: 9, 2009.
82. Honea, R., Crow, T.J., Passingham, D., Mackay, C.E. Regional deficits in brain volume in schizophrenia: a meta-analysis of voxel-based morphometry studies. *Am J Psychiatry*. 162: 2233-45, 2005.
83. Huber, G., Gross, G., Schuttler, R. Schizophrenia. Clinical course and social psychiatric long term examinations of schizophrenic patients hospitalized in Bonn from 1945-1959. *Monogr Gesamtgeb Psychiatr Psychiatry Ser*. 21: 1-399, 1979.
84. Huxley, N.A., Rendall, M., Sederer, L. Psychosocial treatments in schizophrenia: a review of the past 20 years. *J Nerv Ment Dis*. 188: 187-201, 2000.
85. Jablensky, A. Schizophrenia: recent epidemiologic issues. *Epidemiol Rev*. 17: 10-20, 1995.
86. Jablensky, A. The 100-year epidemiology of schizophrenia. *Schizophr Res*. 28: 111-25, 1997.

87. Jablensky, A. Epidemiology of schizophrenia: the global burden of disease and disability. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 250: 274-85, 2000.
88. Jeste, D.V., Caligiuri, M.P., Paulsen, J.S., Heaton, R.K., Lacro, J.P., Harris, M.J., Bailey, A., Fell, R.L., McAdams, L.A. Risk of tardive dyskinesia in older patients. A prospective longitudinal study of 266 outpatients. *Arch Gen Psychiatry.* 52: 756-65, 1995.
89. Kalus, P., Buri, C., Slotboom, J., Gralla, J., Remonda, L., Dierks, T., Strik, W.K., Schroth, G., Kiefer, C. Volumetry and diffusion tensor imaging of hippocampal subregions in schizophrenia. *Neuroreport.* 15: 867-71, 2004.
90. Karow, T. and Lang-Roth, R., *Pharmakologie und Toxikologie.* Vol. 17, Pulheim: 497; 535; 714; 1012; 1021-1038; 1189, 2009.
91. Katsel, P., Davis, K.L., Haroutunian, V. Variations in myelin and oligodendrocyte-related gene expression across multiple brain regions in schizophrenia: a gene ontology study. *Schizophr Res.* 79: 157-73, 2005.
92. Kinon, B.J. and Lieberman, J.A. Mechanisms of action of atypical antipsychotic drugs: a critical analysis. *Psychopharmacology (Berl).* 124: 2-34, 1996.
93. Kissling, W., Hoffler, J., Seemann, U., Muller, P., Ruther, E., Trenckmann, U., Uber, A., Graf von der Schulenburg, J.M., Glaser, P., Glaser, T., Mast, O., Schmidt, D. Direct and indirect costs of schizophrenia. *Fortschr Neurol Psychiatr.* 67: 29-36, 1999.
94. Kodama, M., Fujioka, T., Duman, R.S. Chronic olanzapine or fluoxetine administration increases cell proliferation in hippocampus and prefrontal cortex of adult rat. *Biol Psychiatry.* 56: 570-80, 2004.
95. Koehler, K. First rank symptoms of schizophrenia (Kurt Schneider): Are they still of any importance? (author's transl). *Fortschr Neurol Psychiatr Grenzgeb.* 45: 405-11, 1977.
96. Koehler, K., Guth, W., Grimm, G. First-rank symptoms of schizophrenia in Schneider-oriented German centers. *Arch Gen Psychiatry.* 34: 810-3, 1977.
97. Konnopka, A., Klingberg, S., Wittorf, A., Konig, H.H. The cost of schizophrenia in Germany: a systematic review of the literature. *Psychiatr Prax.* 36: 211-8, 2009.
98. Konopaske, G.T., Dorph-Petersen, K.A., Pierri, J.N., Wu, Q., Sampson, A.R., Lewis, D.A. Effect of chronic exposure to antipsychotic medication on cell numbers in the parietal cortex of macaque monkeys. *Neuropsychopharmacology.* 32: 1216-23, 2007.

99. Konopaske, G.T., Dorph-Petersen, K.A., Sweet, R.A., Pierri, J.N., Zhang, W., Sampson, A.R., Lewis, D.A. Effect of chronic antipsychotic exposure on astrocyte and oligodendrocyte numbers in macaque monkeys. *Biol Psychiatry*. 63: 759-65, 2008.
100. Kreczmanski, P., Heinsen, H., Mantua, V. et al., Volume, neuron density and total neuron number in five subcortical regions in schizophrenia. *Brain* 130: 678–692, 2007.
101. Kuroki, N., Kubicki, M., Nestor, P.G., Salisbury, D.F., Park, H.J., Levitt, J.J., Woolston, S., Frumin, M., Niznikiewicz, M., Westin, C.F., Maier, S.E., McCarley, R.W., Shenton, M.E. Fornix integrity and hippocampal volume in male schizophrenic patients. *Biol Psychiatry*. 60: 22-31, 2006.
102. Levinson D.F., Shi J., Wang K., Oh S., Riley B., Pulver A.E., Wildenauer D.B., Laurent C., Mowry B.J., Gejman P.V., Owen M.J., Kendler K.S., Nestadt G., Schwab S.G., Mallet J., Nertney D., Sanders A.R., Williams N.M., Wormley B., Lasseter V.K., Albus M., Godard-Bauché S., Alexander M., Duan J., O'Donovan M.C., Walsh D., O'Neill A., Papadimitriou G.N., Dikeos D., Maier W., Lerer B., Champion D., Cohen D., Jay M., Fanous A., Eichhammer P., Silverman J.M., Norton N., Zhang N., Hakonarson H., Gao C., Citri A., Hansen M., Ripke S.; Schizophrenia Psychiatric GWAS Consortium, Dudbridge F., Holmans P.A.. Genome-wide association study of multiplex schizophrenia pedigrees. *Am J Psychiatry*. 169: 963-73, 2012.
103. Lewis, C.M., Levinson, D.F., Wise, L.H., DeLisi, L.E., Straub, R.E., Hovatta, I., Williams, N.M., Schwab, S.G., Pulver, A.E., Faraone, S.V., Brzustowicz, L.M., Kaufmann, C.A., Garver, D.L., Gurling, H.M., Lindholm, E., Coon, H., Moises, H.W., Byerley, W., Shaw, S.H., Mesen, A., Sherrington, R., O'Neill, F.A., Walsh, D., Kendler, K.S., Ekelund, J., Paunio, T., Lonnqvist, J., Peltonen, L., O'Donovan, M.C., Owen, M.J., Wildenauer, D.B., Maier, W., Nestadt, G., Blouin, J.L., Antonarakis, S.E., Mowry, B.J., Silverman, J.M., Crowe, R.R., Cloninger, C.R., Tsuang, M.T., Malaspina, D., Harkavy-Friedman, J.M., Svrakic, D.M., Bassett, A.S., Holcomb, J., Kalsi, G., McQuillin, A., Brynjolfson, J., Sigmundsson, T., Petursson, H., Jazin, E., Zoega, T., Helgason, T. Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia. *Am J Hum Genet*. 73: 34-48, 2003.
104. Liddle, P.F. The symptoms of chronic schizophrenia. A re-examination of the positive-negative dichotomy. *Br J Psychiatry*. 151: 145-51, 1987.
105. Lim, K.O., Ardekani, B.A., Nierenberg, J., Butler, P.D., Javitt, D.C., Hoptman, M.J. Voxelwise correlational analyses of white matter integrity in multiple cognitive domains in schizophrenia. *Am J Psychiatry*. 163: 2008-10, 2006.

106. Long, J.M., Mouton, P.R., Jucker, M., Ingram, D.K. What counts in brain aging? Design-based stereological analysis of cell number. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 54: B407-17, 1999.
107. Lopes da Silva, F.H., Witter, M.P., Boeijinga, P.H., Lohman, A.H. Anatomic organization and physiology of the limbic cortex. *Physiol Rev.* 70: 453-511, 1990.
108. Mahieu, E.L. The ten classifications of Kraepelin. *Vertex.* 20: 206-12, 2009.
109. Maier, W., Lichtermann, D., Rietschel, M., Held, T., Falkai, P., Wagner, M., Schwab, S. Genetics of schizophrenic disorders. New concepts and findings. *Nervenarzt.* 70: 955-69, 1999.
110. Maki, P., Veijola, J., Jones, P.B., Murray, G.K., Koponen, H., Tienari, P., Miettunen, J., Tanskanen, P., Wahlberg, K.E., Koskinen, J., Lauronen, E., Isohanni, M. Predictors of schizophrenia - a review. *Br Med Bull.* 73-74: 1-15, 2005.
111. Markstein, R. Bedeutung neuer Dopaminrezeptoren für die Wirkung von Clozapin. In: Naber, D., Müller-Spahn, F. (Hrsg.) Clozapin. Pharmakologie und Klinik eines atypischen Neuroleptikums: Neuere Aspekte der klinischen Praxis. Berlin, Heidelberg, Springer: 5-15, 1994.
112. Martins-de-Souza, D., Dias-Neto, E., Schmitt, A., Falkai, P., Gormanns, P., Maccarrone, G., Turck, C. W., Gattaz W. F. Proteome analysis of schizophrenia brain tissue. *World J Biol Psychiatry.* 11: 110-120, 2010.
113. McFarlane, W.R., Dixon, L., Lukens, E., Lucksted, A. Family psychoeducation and schizophrenia: a review of the literature. *J Marital Fam Ther.* 29: 223-45, 2003.
114. McGuffin, P., Owen, M.J., Farmer, A.E. Genetic basis of schizophrenia. *Lancet.* 346: 678-82, 1995.
115. Miklowitz, D.J. Family risk indicators in schizophrenia. *Schizophr Bull.* 20: 137-49, 1994.
116. Mortensen, P.B., Pedersen, C.B., Westergaard, T., Wohlfahrt, J., Ewald, H., Mors, O., Andersen, P.K., Melbye, M. Effects of family history and place and season of birth on the risk of schizophrenia. *N Engl J Med.* 340: 603-8, 1999.
117. Mortensen, P.B., Norgaard-Pedersen, B., Waltoft, B.L., Sorensen, T.L., Hougaard, D., Torrey, E.F., Yolken, R.H. Toxoplasma gondii as a risk factor for early-onset schizophrenia: analysis of filter paper blood samples obtained at birth. *Biol Psychiatry.* 61: 688-93, 2007.

118. Mouton, P.R., Long, J.M., Lei, D.L., Howard, V., Jucker, M., Calhoun, M.E., Ingram, D.K. Age and gender effects on microglia and astrocyte numbers in brains of mice. *Brain Res.* 956: 30-5, 2002.
119. Narr, K.L., Thompson, P.M., Sharma, T., Moussai, J., Blanton, R., Anvar, B., Edris, A., Krupp, R., Rayman, J., Khaledy, M., Toga, A.W. Three-dimensional mapping of tempo-ro-limbic regions and the lateral ventricles in schizophrenia: gender effects. *Biol Psychiatry.* 50: 84-97, 2001.
120. Newton, S.S. and Duman, R.S. Neurogenic actions of atypical antipsychotic drugs and therapeutic implications. *CNS Drugs.* 21: 715-25, 2007.
121. Nopoulos, P.C., Ceilley, J.W., Gailis, E.A., Andreasen, N.C. An MRI study of midbrain morphology in patients with schizophrenia: relationship to psychosis, neuroleptics, and cerebellar neural circuitry. *Biol Psychiatry.* 49: 13-9, 2001.
122. Pakkenberg, B., Pelvig, D., Marnier, L., Bundgaard, M.J., Gundersen, H.J., Nyengaard, J.R., Regeur, L. Aging and the human neocortex. *Exp Gerontol.* 38: 95-9, 2003.
123. Palomo, T., Archer, T., Kostrzewa, R.M., Beninger, R.J. Comorbidity of substance abuse with other psychiatric disorders. *Neurotox Res.* 12: 17-27, 2007.
124. Parlapani, E., Schmitt, A., Wirths, O., Bauer, M., Sommer, C., Rueb, U., Skowronek, M.H., Treutlein, J., Petroianu, G.A., Rietschel, M., Falkai, P. Gene expression of neuregulin-1 isoforms in different brain regions of elderly schizophrenia patients. *World J Biol Psychiatry:* 1-8, 2008.
125. Pearlson, G.D. Neurobiology of schizophrenia. *Ann Neurol.* 48: 556-66, 2000.
126. Pecinska, D.N. Komorbiditäten bei psychischen Störungen - Eine psychische Störung kommt selten allein. MMA, Kolloquium | Medical Tribune | Psychiatrie & Neurologie. 20; 17. Jahreskongress der European Psychiatric Association; Lissabon, 2009.
127. Pegues, M.P., Rogers, L.J., Amend, D., Vinogradov, S., Deicken, R.F. Anterior hippocampal volume reduction in male patients with schizophrenia. *Schizophr Res.* 60: 105-15, 2003.
128. Pomarol-Clotet, E., Salvador, R., Murray, G., Tandon, S., McKenna, P.J. Are There Valid Subtypes of Schizophrenia? A Grade of Membership Analysis. *Psychopathology.* 43: 53-62, 2009.

129. Potvin, S., Sepehry, A.A., Stip, E. Meta-analysis of depressive symptoms in dual-diagnosis schizophrenia. *Aust N Z J Psychiatry*. 41: 792-9, 2007.
130. Price, J.L., Ko, A.I., Wade, M.J., Tsou, S.K., McKeel, D.W., Morris, J.C. Neuron number in the entorhinal cortex and CA1 in preclinical Alzheimer disease. *Arch Neurol*. 58: 1395-402, 2001.
131. Rajarethinam, R., De Quardo, J.R., Miedler, J., Arndt, S., Kirbat, R., Brunberg, J.A., Tandon, R. Hippocampus and amygdala in schizophrenia: assessment of the relationship of neuroanatomy to psychopathology. *Psychiatry Res*. 108: 79-87, 2001.
132. Rametti, G., Segarra, N., Junque, C., Bargallo, N., Caldu, X., Ibarretxe, N., Bernardo, M. Left posterior hippocampal density reduction using VBM and stereological MRI procedures in schizophrenia. *Schizophr Res*. 96: 62-71, 2007.
133. Reinbold, H. *Psychogenicum, Taschenbuch mit Themen aus der Psychiatrie. Biochemie der Psychopharmaka, Differenzierter Umgang mit Neuroleptika*, PsychoGen Verlag Dortmund: 8-14, 1998.
134. Riecher-Rossler, A. and Hafner, H. Schizophrenia and oestrogens - is there an association? *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 242: 323-8, 1993.
135. Riecher, A., Maurer, K., Loffler, W., Fatkenheuer, B., an der Heiden, W., Hafner, H. Schizophrenia - a disease of young single males? Preliminary results from an investigation on a representative cohort admitted to hospital for the first time. *Eur Arch Psychiatry Neurol Sci*. 239: 210-2, 1989.
136. Rosin, C., Colombo, S., Calver, A. A., Bates, T.E., Skaper, S. D. Dopamine D2 and D3 receptor agonists limit oligodendrocyte injury caused by glutamate oxidative stress and oxygen/glucose deprivation. *Glia*. 52: 336-43, 2005.
137. Schmitt, A., Parlapani, E., Gruber, O., Wobrock, T., Falkai, P. Impact of neuregulin-1 on the pathophysiology of schizophrenia in human post-mortem studies. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 258: 35-9, 2008.
138. Schmitt, A., Steyskal, C., Bernstein, H.G., Schneider-Axmann, T., Parlapani, E., Schaefer, E.L., Gattaz, W.F., Bogerts, B., Schmitz, C., Falkai, P. Stereologic investigation of the posterior part of the hippocampus in schizophrenia. *Acta Neuropathol*. 117: 395-407, 2009.
139. Schmitz, C. Variation of fractionator estimates and its prediction. *Anat Embryol, Berl.*, 198: 371-97, 1998.

140. Schmitz, C. and Hof, P.R. Recommendations for straightforward and rigorous methods of counting neurons based on a computer simulation approach. *J Chem Neuroanat.* 20: 93-114, 2000.
141. Schmitz, C. and Hof, P.R. Design-based stereology in neuroscience. *Neuroscience.* 130: 813-31, 2005.
142. Schultz, S.H., North, S.W., Shields, C.G. Schizophrenia: a review. *Am Fam Physician.* 75: 1821-9, 2007.
143. Schultz, S.K. and Andreasen, N.C. Schizophrenia. *Lancet.* 353: 1425-30, 1999.
144. Sedvall, G.C. Neurobiological correlates of acute neuroleptic treatment. *Int Clin Psychopharmacol.* 11: 41-6, 1996.
145. Segal, D., Koschnick, J.R., Slegers, L.H., Hof, P.R. Oligodendrocyte pathophysiology: a new view of schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol.* 10: 503-11, 2007.
146. Selemon, L.D., Mrzljak, J., Kleinman, J.E., Herman, M.M., Goldman-Rakic, P.S. Regional specificity in the neuropathologic substrates of schizophrenia: a morphometric analysis of Broca's area 44 and area 9. *Arch Gen Psychiatry.* 60: 69-77, 2003.
147. Shenton, M. E., Dickey C. C., Frumin, M., McCarley, R. W., A review of MRI findings in schizophrenia. *Schizophr Res* 49: 1-52, 2001.
148. Shepherd A.M., Laurens K.R., Matheson S.L., Carr V.J., Green M.J. Systematic meta-review and quality assessment of the structural brain alterations in schizophrenia. *Neurosci Biobehav Rev.* 36: 1342-56, 2012.
149. Sherrington, R., Brynjolfsson, J., Petursson, H., Potter, M., Dudleston, K., Barraclough, B., Wasmuth, J., Dobbs, M., Gurling, H. Localization of a susceptibility locus for schizophrenia on chromosome 5. *Nature.* 336: 164-7, 1988.
150. Silverton, L. and Mednick, S. Class drift and schizophrenia. *Acta Psychiatr Scand.* 70: 304-9, 1984.
151. Siris, S.G. Suicide and schizophrenia. *J Psychopharmacol.* 15: 127-35, 2001.
152. Stark, A.K., Uylings, H.B., Sanz-Arigita, E., Pakkenberg, B. Glial cell loss in the anterior cingulate cortex, a subregion of the prefrontal cortex, in subjects with schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 161: 882-8, 2004.

153. Stark, A.K., Toft, M.H., Pakkenberg, H., Fabricius, K., Eriksen, N., Pelvig, D.P., Moller, M., Pakkenberg, B. The effect of age and gender on the volume and size distribution of neocortical neurons. *Neuroscience*. 150: 121-30, 2007.
154. Stein J.L., Medland S.E., Vasquez A.A., Hibar D.P., Senstad R.E., Winkler A.M., Toro R., Appel K., Bartecek R., Bergmann Ø., Bernard M., Brown A.A., Cannon D.M., Chakravarty M.M., Christoforou A., Domin M., Grimm O., Hollinshead M., Holmes A.J., Homuth G., Hottenga J.J., Langan C., Lopez L.M., Hansell N.K., Hwang K.S., Kim S., Laje G., Lee P.H., Liu X., Loth E., Lourdasamy A., Mattingsdal M., Mohnke S., Maniega S.M., Nho K., Nugent A.C., O'Brien C., Papmeyer M., Pütz B., Ramasamy A., Rasmussen J., Rijpkema M., Risacher S.L., Roddey J.C., Rose E.J., Ryten M., Shen L., Sprooten E., Strengman E., Teumer A., Trabzuni D., Turner J., van Eijk K., van Erp T.G., van Tol M.J., Wittfeld K., Wolf C., Woudstra S., Aleman A., Alhusaini S., Almasy L., Binder E.B., Brohawn D.G., Cantor R.M., Carless M.A., Corvin A., Czisch M., Curran J.E., Davies G., de Almeida M.A., Delanty N., Depondt C., Duggirala R., Dyer T.D., Erk S., Fagerness J., Fox P.T., Freimer N.B., Gill M., Göring H.H., Hagler D.J., Hoehn D., Holsboer F., Hoogman M., Hosten N., Jahanshad N., Johnson M.P., Kasperaviciute D., Kent J.W. Jr., Kochunov P., Lancaster J.L., Lawrie S.M., Liewald D.C., Mandl R., Matarin M., Mattheisen M., Meisenzahl E., Melle I., Moses E.K., Mühleisen T.W., Nauck M., Nöthen M.M., Olvera R.L., Pandolfo M., Pike G.B., Puls R., Reinvang I., Rentería M.E., Rietschel M., Roffman J.L., Royle N.A., Rujescu D., Savitz J., Schnack H.G., Schnell K., Seiferth N., Smith C., Steen V.M., Valdés Hernández M.C., Van den Heuvel M., van der Wee N.J., Van Haren N.E., Veltman J.A., Völzke H., Walker R., Westlye L.T., Whelan C.D., Agartz I., Boomsma D.I., Cavalleri G.L., Dale A.M., Djurovic S., Drevets W.C., Haghoort P., Hall J., Heinz A., Jack C.R. Jr., Foroud T.M., Le Hellard S., Macciardi F., Montgomery G.W., Poline J.B., Porteous D.J., Sisodiya S.M., Starr J.M., Sussmann J., Toga A.W., Veltman D.J., Walter H., Weiner M.W., Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative; EPIGEN Consortium, IMAGEN Consortium, Saguenay Youth Study Group, Bis J.C., Ikram M.A., Smith A.V., Gudnason V., Tzourio C., Vernooij M.W., Launer L.J., DeCarli C., Seshadri S., Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology Consortium, Andreassen O.A., Apostolova L.G., Bastin M.E., Blangero J., Brunner H.G., Buckner R.L., Cichon S., Coppola G., de Zubicaray G.I., Deary I.J., Donohoe G., de Geus E.J., Espeseth T., Fernández G., Glahn D.C., Grabe H.J., Hardy J., Hulshoff Pol H.E., Jenkinson M., Kahn R.S., McDonald C., McIntosh A.M., McMahon F.J., McMahon K.L., Meyer-Lindenberg A., Morris D.W., Müller-Myhsok B., Nichols T.E., Ophoff R.A., Paus T., Pausova Z., Penninx B.W., Potkin S.G., Sämann P.G., Saykin A.J., Schumann G., Smoller J.W., Wardlaw J.M., Weale M.E., Martin N.G., Franke B., Wright M.J., Thompson P.M. Enhancing Neuro Imaging Genetics through Meta-Analysis

- Consortium. Identification of common variants associated with human hippocampal and intracranial volumes. *Nat Genet.* 44: 552-61, 2012.
155. Steiner, J., Bernstein, H.G., Bielau, H., Farkas, N., Winter, J., Dobrowolny, H., Brisch, R., Gos, T., Mawrin, C., Myint, A.M., Bogerts, B. S100B-immunopositive glia is elevated in paranoid as compared to residual schizophrenia: a morphometric study. *J Psychiatr Res.* 42: 868-76, 2008.
156. Sterio, D.C. The unbiased estimation of number and sizes of arbitrary particles using the disector. *J Microsc.* 134: 127-36, 1984.
157. Strasser, H.C., Lilyestrom, J., Ashby, E.R., Honeycutt, N.A., Schretlen, D.J., Pulver, A.E., Hopkins, R.O., Depaulo, J.R., Potash, J.B., Schweizer, B., Yates, K.O., Kurian, E., Barta, P.E., Pearlson, G.D. Hippocampal and ventricular volumes in psychotic and nonpsychotic bipolar patients compared with schizophrenia patients and community control subjects: a pilot study. *Biol Psychiatry.* 57: 633-9, 2005.
158. Szeszko, P.R., Goldberg, E., Gunduz-Bruce, H., Ashtari, M., Robinson, D., Malhotra, A.K., Lencz, T., Bates, J., Crandall, D.T., Kane, J.M., Bilder, R.M. Smaller anterior hippocampal formation volume in antipsychotic-naive patients with first-episode schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 160: 2190-7, 2003.
159. Tamminga, C. A. and Holcomb H. H., Phenotype of schizophrenia: a review and formulation. *Mol Psychiatry* 10: 27-39, 2005.
160. Thune, J.J. and Pakkenberg, B. Stereological studies of the schizophrenic brain. *Brain Res Brain Res Rev.* 31: 200-4, 2000.
161. Tkachev, D., Mimmack, M.L., Ryan, M.M., Wayland, M., Freeman, T., Jones, P.B., Starkey, M., Webster, M.J., Yolken, R.H., Bahn, S. Oligodendrocyte dysfunction in schizophrenia and bipolar disorder. *Lancet.* 362: 798-805, 2003.
162. Tolle, R. Eugen Bleuler (1857-1939) and German psychiatry. *Nervenarzt*, 2007.
163. Treasaden, I.H., Lekh, S.K., Puri, B.K. Social drift in forensic psychiatric inpatients with schizophrenia. *Int J Clin Pract.* 54: 28-9, 2000.
164. Tregellas, J.R., Tanabe, J.L., Miller, D.E., Ross, R.G., Olincy, A., Freedman, R. Neurobiology of smooth pursuit eye movement deficits in schizophrenia: an fMRI study. *Am J Psychiatry.* 161: 315-21, 2004.

165. Trepel, M., Neuroanatomie Struktur und Funktion. Vol. 3, Elsevier GmbH, Urban und Fischer Verlag, München: 203-208, 2004.
166. Uranova, N.A., Vostrikov, V.M., Orlovskaya, D.D., Rachmanova, V.I. Oligodendroglial density in the prefrontal cortex in schizophrenia and mood disorders: a study from the Stanley Neuropathology Consortium. *Schizophr Res.* 67: 269-75, 2004.
167. Uranova, N.A., Vostrikov, V.M., Vikhрева, O.V., Zimina, I.S., Kolomeets, N.S., Orlovskaya, D.D. The role of oligodendrocyte pathology in schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol.* 10: 537-45, 2007.
168. van Kooten, I.A., Palmen, S.J., von Cappeln, P., Steinbusch, H.W., Korr, H., Heinsen, H., Hof, P.R., van Engeland, H., Schmitz, C. Neurons in the fusiform gyrus are fewer and smaller in autism. *Brain.* 131: 987-99, 2008.
169. Velakoulis, D., Stuart, G.W., Wood, S.J., Smith, D.J., Brewer, W.J., Desmond, P., Singh, B., Copolov, D., Pantelis, C. Selective bilateral hippocampal volume loss in chronic schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 50: 531-9, 2001.
170. Vostrikov, V., Orlovskaya, D., Uranova, N. Deficit of pericapillary oligodendrocytes in the prefrontal cortex in schizophrenia. *World J Biol Psychiatry.* 9: 34-42, 2008.
171. Walker, M.A., Highley, J.R., Esiri, M.M., McDonald, B., Roberts, H.C., Evans, S.P., Crow, T.J. Estimated neuronal populations and volumes of the hippocampus and its subfields in schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 159: 821-8, 2002.
172. Wang H., Xu H., Niu J., Mei F., Li X., Kong J., Cai W., Xiao L. Haloperidol activates quiescent oligodendroglia precursor cells in the adult mouse brain. *Schizophr Res.* 119: 164-74, 2010.
173. West, M.J., Slomianka, L., Gundersen, H.J. Unbiased stereological estimation of the total number of neurons in the subdivisions of the rat hippocampus using the optical fractionator. *Anat Rec.* 231: 482-97, 1991.
174. West, M.J. Stereological methods for estimating the total number of neurons and synapses: issues of precision and bias. *Trends Neurosci.* 22: 51-61, 1999.
175. Westermeyer, J. Comorbid schizophrenia and substance abuse: a review of epidemiology and course. *Am J Addict.* 15: 345-55, 2006.
176. White, T., Kendi, A.T., Lehericy, S., Kendi, M., Karatekin, C., Guimaraes, A., Davenport, N., Schulz, S.C., Lim, K.O. Disruption of hippocampal connectivity in children and ado-

- lescents with schizophrenia - a voxel-based diffusion tensor imaging study. *Schizophr Res.* 90: 302-7, 2007.
177. Williams, R.W. and Rakic, P. Three-dimensional counting: an accurate and direct method to estimate numbers of cells in sectioned material. *J Comp Neurol.* 278: 344-52, 1988.
178. Wright, I.C., Rabe-Hesketh, S., Woodruff, P.W., David, A.S., Murray, R.M., Bullmore, E.T. Meta-analysis of regional brain volumes in schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 157: 16-25, 2000.
179. Yakovlev, P. and Lecours, A., *The myelogenetic cycles of regional maturation of the brain*, Oxford: Blackwell Scientific Publications. 3-70, 1967.
180. Yamasue, H., Iwanami, A., Hirayasu, Y., Yamada, H., Abe, O., Kuroki, N., Fukuda, R., Tsujii, K., Aoki, S., Ohtomo, K., Kato, N., Kasai, K. Localized volume reduction in prefrontal, temporolimbic, and paralimbic regions in schizophrenia: an MRI parcellation study. *Psychiatry Res.* 131: 195-207, 2004.
181. Zhang, Z., Sun, J., Reynolds, G.P. A selective reduction in the relative density of parvalbumin-immunoreactive neurons in the hippocampus in schizophrenia patients. *Chin Med J (Engl).* 115: 819-23, 2002.
182. Zhou, Y., Shu, N., Liu, Y., Song, M., Hao, Y., Liu, H., Yu, C., Liu, Z., Jiang, T. Altered resting-state functional connectivity and anatomical connectivity of hippocampus in schizophrenia. *Schizophr Res.* 100: 120-32, 2008.
183. Zisook, S., Montross, L., Kasckow, J., Mohamed, S., Palmer, B.W., Patterson, T.L., Golshan, S., Fellows, I., Lehman, D., Solorzano, E. Subsyndromal Depressive Symptoms in Middle-Aged and Older Persons with Schizophrenia. *Am J Geriatr Psychiatry.* 15: 1005-1014, 2007.

## 8 DANKSAGUNG

Herrn Professor Peter Falkai, Direktor der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität, München, danke ich für die Überlassung des Themas dieser Arbeit und die ausgezeichneten Möglichkeiten, es zu bearbeiten.

Frau Professorin Andrea Schmitt danke ich für ihre Hilfsbereitschaft und Geduld, die sie mir trotz ihrer Arbeit in Klinik und Forschung, entgegenbrachte. Ebenso danke ich ihr für die Durchsicht meiner Arbeit und die vielen wertvollen Hinweise, die zur Vollendung derselben notwendig waren.

Herrn Thomas Schneider-Axmann danke ich für seine Hilfe bei der statistischen Auswertung.

Herrn Professor Schmitz danke ich für die Hilfestellung bei der Methodik und der Auswertung.

Herrn Professor Bernstein danke ich für die Überlassung der histologischen Gehirnschnitte.

Zudem danke ich meiner Familie und meinen Freunden, die mich immer wieder motivierten und unterstützten.

## 9 PUBLIKATIONEN

Schmitt A., Steyskal C., Bernstein H.G., Schneider-Axmann T., Parlapani E., Schaeffer E.L., Gattaz W.F., Bogerts B., Schmitz C., Falkai P. Stereologic investigation of the posterior part of the hippocampus in schizophrenia. *Acta Neuropathol.* 117: 395-407, 2009.

Falkai P., Schmitt A., Steyskal C., Schmitz C., Bogerts B., Bernstein H.-G., Sargin D., Hassouna I., Ehrenreich H. Selective reduction of oligodendrocytes in the posterior hippocampus of schizophrenia patients and a murine model of schizophrenia based on juvenile unilateral parietal lobe lesion. *International Congress on Schizophrenia Research San Diego, USA 28.3.-1.4. 2009. Schizophrenia Bulletin* 35: 229-230, 2009.

Schmitt A., Steyskal C., Bernstein H.-G., Schmitz C., Bogerts B., Falkai P.: Stereologische Untersuchungen am Hippocampus bei Schizophrenie-Patienten. DGPPN-Kongress 25.-28.11.2009, Berlin. Abstract 72, 2009.

Schmitt A., Steyskal C., Strocka S., Frank F., Bernstein H.-G., Steiner J., Schmitz C., Bogerts B., Falkai P.: Stereological investigations of neurons and glia cells in the hippocampus of psychiatric disorders. 3rd Meeting of West European Societies of Biological Psychiatry: 'Personalised Medicine in Psychiatry: From Dreams to Reality'. Berlin, 2.-4.6.2010, Abstract: 24, 2010.