

EFFEKTE VON SCHIZOPHRENIE-RISIKOGENEN AUF DIE HIRNSTRUKTUR
GESUNDER PROBANDEN

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae (Dr. med.)

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

**von Robert Spalthoff
geboren am 29.11.1991
in Oldenburg (Oldb)**

Gutachter:

1. Prof. Dr. med. Igor Nenadic, Marburg
2. Prof. Dr. med. Martin Walter, Jena
3. Prof. Dr. med Robert Christian Wolf, Heidelberg.

Tag der öffentlichen Verteidigung: 04.05.2021

Abkürzungsverzeichnis

CSF = Liquor cerebrospinalis (cerebro spinal fluid)

FDR = Falscherkennungsrate; Anteil der Tests, die ein falsch positives Ergebnis liefern (false discovery rate)

FWE = Familienbezogene Fehlerrate (family-wise error)

GM = graue Substanz (gray matter)

GMC= Dichte der Grauen Substanz (gray matter concentration)

GMV=Volumen der Grauen Substanz (gray matter volume)

GWAS = genom-weite Assoziierungsstudie (genome wide assoziation study)

KI = Konfidenz-Intervall, beschreibt den Wertebereich, innerhalb dessen der wahre Wert zu einer bestimmten Wahrscheinlichkeit, in aller Regel 95%, liegt.

IGI = lokaler Gyrfizierungindex nach Schaer (Schaer et al. 2008)

nPRS = aus Hirnentwicklungsgenen abgeleiteter Risikoscore (neurodevelopmental Polygenic risk score)

OR = Relative Chance, gibt die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens eines Merkmals im Vergleich zweier Gruppen an (Odds Ratio)

PRS = aus mehreren Genen gebildeter Risikoscore (Polygenic risk score)

SNP = Einzelnukleotidpolymorphismus (single nucleotide polymorphism)

VBM = Voxel-basierte Morphometrie

WM = weiße Substanz (white matter)

z.B. = zum Beispiel

Inhaltsverzeichnis

.....	
EFFEKTE VON SCHIZOPHRENIE-RISIKOGENEN AUF DIE HIRNSTRUKTUR GESUNDER PROBANDEN	1
Abkürzungsverzeichnis	3
Inhaltsverzeichnis.....	4
1. Zusammenfassung.....	6
2. Einleitung.....	8
2.1. Schizophrenie	8
2.2. Ätiologie.....	8
2.3. Genetische Aspekte	10
3. Neuromorphometrische Methoden	10
3.1. Voxel-basierte Morphometrie	11
3.2. Oberflächenbasierte Morphometrie.....	11
3.2.1. Gyrfizierungsindex	11
3.2.2. Kortikale Dicke.....	12
4. Imaging genetics	12
5. Ziele der Arbeit	13
6. Publierte Originalarbeiten	14
6.1. Altered gyrification in schizophrenia and its relation to other morphometric markers, Robert Spalthoff, Christian Gaser, Igor Nenadic, Schizophrenia Research 202, 195-202, 20 14	
6.2. Effects of a neurodevelopmental genes based polygenic risk score for schizophrenia and single gene variants on brain structure in non-clinical subjects: a preliminary report, Robert Spalthoff, Franziska Degenhardt, Swapnil Awasthi, Stefanie Heilmann-Heimbach, Bianca Besteher, Christian Gaser, Stephan Ripke, Markus M. Nöthen, Igor Nenadić Schizophrenia Research 2019	23

6.3.	Effects of a neurodevelopmental genes based polygenic risk score for schizophrenia and single gene variants on brain structure in non-clinical subjects: a preliminary report, Robert Spalthoff, Franziska Degenhardt, Swapnil Awasthi, Stefanie Heilmann-Heimbach, Bianca Besteher, Christian Gaser, Stephan Ripke, Markus M. Nöthen, Igor Nenadić Schizophrenia Research 2019: Supplementary Methods	28
7.	Diskussion.....	31
7.1.	Phänotypischer Gruppenvergleich	31
7.2.	Analyse des nPRS	32
7.3.	Einzelanalysen der Risikoallele	33
7.4.	Ausführungen zu Co-Autorenschaften im Rahmen der Forschungstätigkeit.....	34
8.	Schlussfolgerungen	36
9.	Literatur- und Quellenverzeichnis	38
10.	Anhang	44
10.1.	Ehrenwörtliche Erklärung.....	45
10.2.	Danksagung	46

1. Zusammenfassung

Schizophrenie ist eine schwerwiegende psychiatrische Erkrankung, die mit einem hohen Leidensdruck und einer verkürzten Lebenserwartung einhergeht. Die Ätiologie und Pathogenese sind bis heute nur unzureichend verstanden und die vorhandenen Therapiemethoden sind weiterhin unzufriedenstellend. Vermutet wird, dass es sich um eine voranschreitende Störung der Hirnentwicklung handelt. Bekannt ist, dass das Risiko, an Schizophrenie zu erkranken, wesentlich durch Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs) mitbestimmt wird. Auch sind ausgeprägte hirnmorphometrische Veränderungen bei Schizophrenen und bei Menschen mit hohem hereditärem Erkrankungsrisiko gezeigt worden. Um Fortschritte in der Prävention, Früherkennung und der Behandlung der Schizophrenie zu erzielen, ist ein besseres Verständnis der morphometrischen Veränderungen sowie des genetischen Einflusses auf diese nötig. In beiden Bereichen, der Neuromorphometrie sowie der psychiatrisch-genetischen Forschung, sind in den letzten Jahren neue Methoden verfügbar geworden. Mit der Gyrfizierung ist ein Marker etabliert worden, der vermutlich bereits während der frühen kindlichen Entwicklung festgelegt wird und sich nicht (oder nicht im gleichen Umfang) wie andere Marker durch Voranschreiten der Erkrankung oder medikamentöse Therapien verändert.

Daher ist es das Ziel der vorliegenden Promotion, zum einen Unterschiede zwischen Gesunden und Erkrankten bezüglich der 3D-Gyrfizierung zu beschreiben und diese in Zusammenhang mit Veränderungen älterer Verfahren, der Bestimmung der kortikalen Dicke und der voxel-basierten Morphometrie, zu stellen. Dies soll einen Beitrag dazu leisten, das Verhältnis der Parameter zueinander besser zu verstehen und zu beleuchten, inwiefern verschiedene Aspekte der Erkrankung den Veränderungen der Parameter zugrunde liegen.

Zum anderen wird betrachtet, ob Schizophrenie-Risikoallele, die in der Nähe zu Genen aus dem Bereich der Hirnentwicklung liegen, zu einer nachweisbaren Veränderung der oben genannten morphometrischen Eigenschaften bei Gesunden führen. Somit werden phänotypische (Erkrankungsstatus) und genotypische Daten (Risikoallel-Trägerschaft) in Kontext zu dem Endophänotyp der Hirnmorphologie gestellt, um mögliche Verknüpfungspunkte aufzuzeigen.

Hierzu erstellten wir ein in Bezug auf Alter und Geschlecht angepasstes Sample von T1-gewichteten MRT-Datensätzen von 102 gesunden und 51 erkrankten Proband_innen. Um die zweite Fragestellung zu bearbeiten, führten wir 167 T1-gewichtete cMR-Tomographien an Gesunden durch. Zudem gewannen wir hier venöse Blutproben, mittels derer durch

Kooperationspartner_innen ein polygenetischer Risikoscore für Hirnentwicklungsgene erstellt wurde. Zusätzlich bezogen wir die Allele der einzelnen SNPs in die Auswertung mit ein. Die MRT-Daten wurden mit Hilfe der CAT12-Toolbox für SPM12 aufbereitet und computergestützt hinsichtlich der kortikalen Dicke, der Gyrifizierung sowie dem Volumen der Grauen Substanz ausgewertet.

Hierbei zeigten sich bezüglich der ersten Fragestellung ein signifikant ($p < .05$, family-wise-error (FWE)-korrigiert) höherer Wert der Gyrifizierung bei Schizophrenen im Vergleich zu Gesunden im Bereich der Insula und des temporalen Pols beidseits sowie des prefrontalen Kortex. Die kortikale Dicke war im bilateralen medialen und orbitofrontalen Kortex, dem dorsolateralen prefrontalen Kortex, der Insula, den Temporalpolen und dem Gyrus frontalis inferior reduziert. Im Bereich des Gyrus pre- sowie postcentralis war die kortikale Dicke erhöht. Das Volumen der Grauen Substanz (GM) war bei den schizophrenen Probanden im medialen Lobus temporalis, dem medialen prefrontalen Kortex, dem anterioren Cingulum sowie der Insula beidseits, dem rechten orbitofrontalen Kortex und insb. dem rechten Cerebellum signifikant reduziert.

Dass die Befunde nicht überlappen, zeigt, dass die Verfahren verschiedene Aspekte der Erkrankung messen. Unsere Ergebnisse stützen die These, dass Veränderungen der Gyrifizierung als Ausdruck einer aberranten Hirnentwicklung aufgefasst werden können. Insbesondere eine veränderte Gyrifizierung im prefrontalen Kortex wurde wiederholt mit Schizophrenie in Zusammenhang gebracht, während Veränderungen in der Insula weniger krankheitsspezifisch sind. Unsere Befunde hinsichtlich der kortikalen Dicke und des GMV stehen im Einklang mit Metaanalysen und bestätigen, dass es sich um ein typisches Sample handelt.

Bezüglich der zweiten Fragestellung konnten keine signifikanten Korrelationen des Risikoscores mit der Gyrifizierung, der kortikalen Dicke oder dem GMV gezeigt werden. In der Einzelanalyse der SNPs ließ sich aber ein signifikanter Zusammenhang mit einer Erhöhung der kortikalen Dicke im linken Gyrus temporalis superior zeigen.

Dies lässt mehrere Schlüsse zu: Zuerst, dass kein Zusammenhang zwischen dem Risikoscore und der Hirnmorphometrie besteht. Veränderungen könnten auch auf einem mikroskopischen Level vorhanden sein, ohne sich in MRT-Sätzen niederzuschlagen. Die Aussagekraft der Studie ist hier auch durch die Probandenzahl der Studie beschränkt.

2. Einleitung

2.1. Schizophrenie

Der Begriff der Schizophrenie wurde 1908 von Eugen Bleuler geprägt und setzt sich aus den altgriechischen Termini σχίζειν (schizein) und φρήν (phren) zusammen, übersetzt „zerspalten des Geistes“. Die Schizophrenie wird durch das Auftreten von Positiv- sowie Negativsymptomen charakterisiert, wobei Positivsymptome wahnhaftes Erleben oder - insbesondere akustische - Halluzinationen beschreiben, während Negativsymptome eine Reduktion der psychischen Fähigkeiten im Sinne z.B. von sozialem Rückzug, Affektverflachung und Apathie bezeichnen. Mit einer Lebenszeitprävalenz von 0,48% (Simeone et al. 2015) und einer um 15-20 Jahre verkürzten Lebenserwartung (Laursen et al. 2013) handelt es sich bei der Schizophrenie um eine schwerwiegende Erkrankung mit weitreichenden Folgen für erkrankte Individuen und die Gesellschaft. Die Diagnose wird in Deutschland nach ICD-10-GM gestellt, für wissenschaftliche Arbeiten ist die Diagnose nach DSM-5 maßgeblich.

2.2. Ätiologie

Zur Ätiologie der Schizophrenie wurden verschiedene Theorien entwickelt, die von de Haan und Bakker in drei Gruppen eingeteilt werden: Schizophrenie wird entweder als neurodegenerative Erkrankung modelliert, die Krankheit wird als auf die frühe Hirnentwicklung begrenzt aufgefasst oder als voranschreitende Entwicklungsstörung verstanden (de Haan und Bakker 2004).

Argumente für eine neurodegenerative Erkrankung sind der sich voranschreitend verschlechternde Zustand einiger Betroffener sowie die makroskopische Beschreibung von Ventrikelerweiterungen und reduziertem kortikalen Gewebe (Harrison 1999). Ursprünglich wurde auch eine Gliose bei Schizophrenen beschrieben und zur Bestätigung der neurodegenerativen Hypothese angeführt. Diese Befunde gelten aber seit längerem als widerlegt (Roberts et al. 1987).

Eine Alternative stellt die Theorie dar, dass es sich bei der Schizophrenie um eine Entwicklungsstörung handelt (Murray und Lewis 1987, Weinberger 1987). Die Theorie einer frühen Hirnentwicklungsstörung ist durch die bei Betroffenen gestörte kortikale Zytoarchitektur untermauert. Die bei Schizophrenen gezeigte Fehlverteilung von interstitiellen prefrontalen Neuronen (Akbarian et al. 1996, Eastwood und Harrison 2003) gibt Hinweise hierauf. Darüber hinaus sind Geburtsmonat, Mangelernährung im ersten Trimenon,

Grippeerkrankung der schwangeren Mutter und gynäkologische Komplikationen belegte Risikofaktoren für das Auftreten einer Schizophrenie (Bromet und Fennig 1999). All diese Faktoren könnten eine gestörte Entwicklung zu so einem frühen Zeitpunkt erklären. Auch die bei Patient_innen häufiger vorliegende Linkshändigkeit (Dragovic und Hammond 2005) weist auf eine frühe Störung hin. Darüber hinaus liegt die oben genannte Ventrikelvergrößerung bereits bei Patient_innen vor, die ihre erste psychotische Episode erleben und ist damit nicht ausschließlich über einen zum phänotypischen Erkrankungszeitpunkt beginnenden neurodegenerativen Mechanismus zu erklären (Pantelis et al. 2003).

Gegen ein Modell, dass ausschließlich perinatale Effekte einbezieht, spricht aber die lange Latenz zwischen der angenommenen Ursache in der Perinatalperiode und dem Auftreten von Symptomen in der Adoleszenz. Auch haben wesentlich spätere im Lebensverlauf auftretende Faktoren wie das Aufwachsen in urbanen Räumen (Lewis et al. 1992) oder Migration (Selten et al. 2007) einen großen Einfluss auf das Erkrankungsrisiko.

Zuletzt ist deshalb das Modell einer progressiven Entwicklungsstörung ins Auge zu fassen. Hierbei ist der gesetzte Schaden nicht statisch wie z.B. eine vorübergehende Infektion, die nur für den Zeitraum ihres Bestehens die Hirnentwicklung verändert, sondern voranschreitend. Zuerst muss festgestellt werden, dass Argumente, die eine umschriebene perinatale Entwicklungsstörung untermauern, prinzipiell auch eine voranschreitende Störungskaskade stützen können. Dass Ventrikelvergrößerungen in der ersten Episode bereits vorhanden sind, aber im weiteren Verlauf der Erkrankung zunehmen (Gutierrez-Galve et al. 2015), stützt die These einer progressiven Störung.

Liebermann et al. unterscheiden hierbei drei Phasen: Die erste Phase ist die Perinatalphase, in der es durch Hypoxie, Infektionen sowie eine genetische Komponente zu einer gestörten kortikalen Zytoarchitektur komme. Hierdurch komme es zu einer mangelnden Inhibition subkortikaler Strukturen durch den Kortex. In der zweiten Phase (Sensitization) würden dann Umweltfaktoren (sozialer Stress durch Migration, Drogen, niedrigen sozioökonomischen Status) zu einer übermäßigen neurochemischen Reaktion führen, die durch eine gesteigerte Aktivität des dopaminergen Systems gekennzeichnet sei. In der dritten Phase (Neurotoxicity) führe dann die abnorme Aktivität über den Weg von Apoptosen zu strukturellen Schäden (Lieberman et al. 1997). Genetisch fehlregulierte Apoptosen stellen ein Erklärungsmodell dar (Woods 1998), dass zum einen seine Ursachen bereits in der frühkindlichen Entwicklung haben kann und zum anderen sein schädliches Potential erst spät zeigt. Auch eine fehlgeleitete Regulation des „Prunings“ wird diskutiert. Hiermit ist der insbesondere in der Pubertät

stattfindende Prozess des Kappens und Reorganisierens der Synapsen gemeint (Selemon und Goldman-Rakic 1999). Diese Erklärung vereint eine mögliche genetische oder perinatale Ursache mit Stressfaktoren der Adoleszenz und dem verzögerten Auftreten der Symptome.

Somit wird das Modell einer voranschreitenden Hirnentwicklungsstörung den anderen genannten vorgezogen (Fatemi und Folsom 2009). Hierbei wird Schizophrenie mitunter in ein Kontinuum von psychiatrischen Störungen eingeordnet, deren Ursache in der Hirnentwicklung verortet wird (Owen und O'Donovan 2017).

2.3. Genetische Aspekte

Die Heritabilität der Schizophrenie wird auf 65-80% (Hilker et al. 2018, Wray und Gottesman 2012) geschätzt. Diese Erblichkeit wird nicht durch ein einzelnes Gen, das nach den Mendelschen Gesetzen vererbt wird, begründet. Vielmehr handelt es sich um ein multifaktorielles Geschehen, das durch die Interaktion vieler genetischer Faktoren geleitet wird (Gottesman und Shields 1967). In sogenannten genom-weiten Assoziierungsstudien (GWAS) konnte für eine Reihe von Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs) gezeigt werden, dass bestimmte Allele mit Schizophrenie assoziiert sind. Gegenwärtig wurde für 145 Loci bei genom-weiter Signifikanz eine Assoziation zur Schizophrenie gezeigt (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics 2014, Pardini et al. 2018). Hierbei trägt jeder einzelne SNP nur einen sehr geringen Teil zur Erhöhung des Gesamtrisikos bei. Schätzungen gehen davon aus, dass ungefähr 8300 SNPs einen Teil zum genetisch bedingten Risiko beitragen (Ripke et al. 2013). Mithilfe der aus GWAS gewonnenen Informationen können polygenetische Risikoscores (PRS) erstellt werden, die die genetisch begründete Wahrscheinlichkeit widerspiegeln, an einer Schizophrenie zu erkranken. Auch wenn PRS bisher nicht sensitiv oder spezifisch genug sind, um belastbare Vorhersagen zu treffen, erklären sie bereits 7% der hereditär bedingten Erkrankungskomponente (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics 2014).

Zudem gibt es seltenere sogenannte Copy number variants (CNV), also Deletionen oder Duplikationen, die einen weiteren Teil des genetischen Risikos erklären (Marshall et al. 2017) und eine wesentlich höhere Penetranz aufweisen (Kirov et al. 2014).

3. Neuromorphometrische Methoden

Neuromorphometrische Methoden werden zum Vermessen von Strukturmerkmalen des zentralen Nervensystems verwendet. Während ursprünglich Gehirnschnitte an Körperspender_innen durchgeführt wurden und die Vermessung zu großen Teilen manuell

erfolgte (Zilles et al. 1988), werden mittlerweile Schnittbildgebungen an Lebenden ausgewertet. Hierbei werden automatisierte, nutzerunabhängige und skalierbare Verfahren den nutzerabhängigen, manuellen Verfahren vorgezogen. Somit lassen sich verschiedene Parameter und Eigenschaften entwickeln und vergleichen. Sensitive und schizophreniespezifische Veränderungen der Hirnmorphologie werden gesucht, um einen verlässlichen Endophänotyp der Erkrankung zu etablieren.

3.1. Voxel-basierte Morphometrie

Ein etabliertes Verfahren ist hierbei die Voxel-basierte Morphometrie (VBM) (Ashburner und Friston 2000). Hierfür werden MRT-Datensätze zuerst normalisiert, d.h. derart verformt, dass individuelle Unterschiede in Größe und Form des Gehirns ausgeglichen werden und korrespondierende Bildpunkte in verschiedenen Proband_innen die gleiche anatomische Struktur bezeichnen. Daraufhin erfolgt die Segmentierung (Ashburner und Friston 2005) in zerebro-spinale Flüssigkeit (CSF), graue Substanz (GM) und weiße Substanz (WM). Schließlich werden die GM-Daten geglättet („Smoothing“) und unter Anwendung des generellen linearen Modells ausgewertet. Mittels dieses Verfahrens lassen sich die Dichte der grauen Substanz (GMC) oder das Volumen der grauen Substanz (GMV) zum Beispiel zwischen Gruppen vergleichen.

Mittels der VBM wurde eine große Zahl an Studien zur Schizophrenie durchgeführt. Hierbei zeigte sich insgesamt ein Verlust an grauer Substanz, der sich vor allem über den Gyrus temporalis superior, den inferioren Gyrus frontalis, die Insula und den medialen frontalen Kortex erstreckte (Gupta et al. 2015, Bora et al. 2012)

3.2. Oberflächenbasierte Morphometrie

Bei Verfahren der oberflächenbasierten Morphometrie (SBM) werden kortikale Oberflächen rekonstruiert und ausgewertet. So lässt sich zum Beispiel der Faltungsgrad, also die Gyrifizierung, oder die kortikale Dicke bestimmen.

3.2.1. Gyrifizierungsindex

Die Oberfläche des menschlichen Gehirns wird durch Faltung vergrößert. Der Faltungsgrad kann entweder für den gesamten Kortex oder lokal bestimmt werden. Zur Ausbildung der Gyrifizierung im Rahmen der Ontogenese werden zahlreiche Mechanismen vorgeschlagen, die vermutlich interagieren (Striedter et al. 2015). Somit bildet sich ein spezie-typisches Faltungsmuster heraus. Die Faltung des menschlichen Kortex beginnt in der 16 Schwangerschaftswoche und erreicht ihr Maximum 66 bis 80 Wochen nach der Geburt (Zilles

et al. 2013). Somit sind Änderungen der Gyrfizierung auf ein bereits früh vorhandenes Defizit zurückzuführen. Hierbei spielen sowohl genetische Faktoren (Docherty et al. 2015) als auch frühe Umweltfaktoren (Haukvik et al. 2012) eine Rolle.

Um den Gyrfizierungsindex *in vivo* zu bestimmen, wurden verschiedene maschinelle Verfahren entwickelt. In der vorliegenden Arbeit wurde die krümmungsbasierte Methode zum Bestimmen der lokalen Gyrfizierung (Luders et al. 2006) gewählt.

3.2.2. Kortikale Dicke

Als zweites oberflächenbasiertes Verfahren wird die Bestimmung der Kortikalen Dicke angewendet. Hierbei wurde in der vorliegenden Arbeit auf die Methode der Projektionsbasierten Dicke (Dahnke et al. 2013) zurückgegriffen. Die kortikale Dicke ist definiert als der kürzeste Abstand zwischen der GM-WM-Grenze und der äußeren kortikalen Oberfläche.

Es gibt Befunde, dass die kortikale Dicke bereits bei Hochrisiko-Neugeborenen im lateralen okzipitalen Kortex reduziert ist (Li et al. 2016).

4. Imaging genetics

Aufgrund der stark gewachsenen Möglichkeiten sowohl in der computergestützten bildgebenden Forschung als auch der Genotypisierung ist das Forschungsfeld der Imaging genetics etabliert worden. Für die Schizophrenie konnte mittels VBM-Analysen bereits für einzelne SNPs ein Zusammenhang mit der Hirnstruktur gezeigt werden (Nenadic et al. 2015). Dies verknüpft die Forschung an Genotyp und Endophänotyp. Auch werden von PRS-bezogenen neuromorphometrischen Analysen neue Erkenntnisse für die Prävention und die personalisierte Therapie der Schizophrenie erhofft (Dima und Breen 2015, Harrison 2015). Früh konnte ein Zusammenhang zwischen Schizophrenie-Risikogenen und Hirnvolumen sowie dem Volumen der weißen Substanz gezeigt werden (Terwisscha van Scheltinga et al. 2013). Bisherige lokale VBM-Studien erbrachten allerdings keinen Zusammenhang (Van der Auwera et al. 2015, Van der Auwera et al. 2017).

Eine reduzierte lokale Gyrfizierung des inferioren Parietallappens wurde durch eine Korrelation zwischen einem PRS für Schizophrenie und der Gyrfizierung gezeigt (Liu et al. 2017).

5. Ziele der Arbeit

Ziel des vorliegenden Forschungsprojektes ist es, die Ätiologie der Schizophrenie weiter aufzuklären und zu verstehen. Der Endophänotyp der Erkrankung soll besser charakterisiert und ein Kontext zum Genotyp und Phänotyp der Erkrankung hergestellt werden. Da die Hirnentwicklung bei der Entstehung der Schizophrenie eine entscheidende Rolle spielt, sind die Auswirkungen der bisher bekannten Schizophrenie-Risikogene, die mit dieser in Zusammenhang gebracht wurden, in den Mittelpunkt gerückt. Letztlich ist durch ein besseres Verständnis der erblichen Einflüsse eine gezieltere Diagnostik (sowohl bildmorphometrisch als auch durch genetische Tests) und Therapie erreichbar. Perspektivisch ist eine Krankheitsprävention, eine frühere Diagnosestellung und eine Abschätzung des Therapieerfolges auf der Grundlage genetischer und neuromorphometrischer Risikostratifizierung und Verlaufsbeurteilung denkbar.

Zuerst untersuchten wir daher den Zusammenhang zwischen der Gyrfizierung und etablierten neuromorphometrischen Methoden. Ziel war es, zu verstehen, wie Änderungen der Gyrfizierung bei Schizophrenen mit denen der kortikalen Dicke bzw. des Volumens der grauen Substanz zusammenhängen. Hierbei war die enge Zusammenarbeit mit der Structural Brain Mapping Group der Neurologie und Psychiatrie in Jena von großer Hilfe, die die genutzten Methoden entwickelte und im Rahmen der Computational Anatomy Toolbox nutzbar machte.

In einem zweiten Schritt wurden die gewonnenen Erkenntnisse genutzt, um den anatomischen Einfluss eines nPRS zu erforschen. Hierbei standen wir im Rahmen der Genotypisierung in stetiger Zusammenarbeit mit dem Institut für Humangenetik der Universität Bonn sowie der dort ansässigen Abteilung für Genomik des Life and Brain Centers. Zusätzlich erfolgte die Zusammenarbeit mit Professor Ripke (Abteilung für Psychiatrie und Psychotherapie, Charité, Berlin) für den angewendeten polygenetischen Risikoscore.

6. Publierte Originalarbeiten

- 6.1. Altered gyrification in schizophrenia and its relation to other morphometric markers, Robert Spalthoff, Christian Gaser, Igor Nenadic, Schizophrenia Research 202, 195-202, 20



Altered gyrification in schizophrenia and its relation to other morphometric markers

Robert Spalthoff^a, Christian Gaser^{a,b}, Igor Nenadić^{a,c,*}

^a Department of Psychiatry and Psychotherapy, Jena University Hospital, Jena, Germany

^b Department of Neurology, Jena University Hospital, Jena, Germany

^c Department of Psychiatry and Psychotherapy, Phillips University Marburg/Marburg University Hospital UKGM, Marburg, Germany

ARTICLE INFO

Article history:

Received 1 December 2017

Received in revised form 10 June 2018

Accepted 3 July 2018

Available online 24 July 2018

Keywords:

Schizophrenia

Voxel-based morphometry

Gyrification

Cortical thickness

ABSTRACT

Schizophrenia is modelled as a neurodevelopmental disease with high heritability. However, established markers like cortical thickness and grey matter volume are heavily influenced by post-onset changes and thus provide limited possibility of accessing early pathologies. Gyrification on the other side is assumed to be more specifically determined by genetic and early developmental factors. Here, we compare T1 weighted 3 Tesla MRI scans of 51 schizophrenia patients and 102 healthy controls (matched for age and gender) using a unified processing pipeline with the CAT12 toolbox. Our study provides a direct comparison between 3D gyrification, cortical thickness, and grey matter volume. We demonstrate that significant ($p < 0.05$, FWE corrected) results only partially overlap between modalities. Gyrification is altered in bilateral insula, temporal pole and left orbitofrontal cortex, while cortical thickness is additionally reduced in the prefrontal cortex, precuneus, and occipital cortex. Grey matter volume (VBM) was reduced in bilateral medial temporal lobes including the amygdala as well as medial and dorso-lateral prefrontal cortices and cerebellum. Our results lend further support for altered gyrification as a marker of early neurodevelopmental disturbance in schizophrenia and show its relation to other morphological markers.

© 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Schizophrenia is a severe, complex disorder that, in large parts, can be attributed to disrupted neurodevelopment (de Haan and Bakker 2004; Rapoport et al. 2012). These early alterations might arise from both genetic and/or early environmental factors and are thought to result in the complex pattern of symptoms and cognitive deficits manifesting with disease onset.

Brain structural changes in schizophrenia have been shown in a large number of imaging studies, focusing on the anatomical distribution pattern, which includes prefrontal, insular and temporal cortices (Chan et al. 2011; Gupta et al. 2015). Most of these studies have used voxel-based morphometry (VBM) analysis of brain structure, which focuses on volume/density differences, and is susceptible to effects of disease stage/chronicity of illness (Chan et al. 2011; Shah et al. 2016) and antipsychotic treatment (Torres et al. 2013). Similarly, cortical thickness, a surface-based measure, has been shown to be reduced in schizophrenia in prefrontal and temporal cortical areas (Besteher et al. 2016; Goldman et al. 2009; Kubota et al. 2011; Nesvag et al. 2008), yet effects

are also modulated by illness duration and antipsychotic treatment (van Haren et al. 2011).

Gyrification analysis offers a novel approach to analysing brain structure in schizophrenia, since it targets morphometric properties, which are not captured by VBM or cortical thickness analyses. The development of this technique is based on the gyrification index (GI). Initially developed in 2D post-mortem data, the GI describes the ratio of inner vs. outer cortical contours (Armstrong et al. 1995; Zilles et al. 1988). GI shows rapid increase during early stages of brain development and a subsequent plateau after childhood (Zilles et al. 1988; Zilles et al. 2013). Hence, altered gyrification index in adults points to early developmental alterations.

Genetic factors substantially influence the process of cortical folding and formation of gyri and sulci during early brain development in utero and the first years of life (Docherty et al. 2015; Rakic 2009; Zilles et al. 2013), but early environmental effects might add to alterations of gyrification (Haukvik et al. 2012).

Following the initial demonstration of altered GI in schizophrenia (McIntosh et al. 2009; Vogeley et al. 2000), surface-based morphometric methods have been developed to study regional gyrification from MRIs scans in 3D (Luders et al. 2006; Schaer et al. 2008). Subsequently, studies in schizophrenia have shown changes of gyrification (both increases and decreases relative to healthy controls) in prefrontal, insular, and temporal cortices as well as occipital areas (Mancini-Marie et al.

* Corresponding author at: Department of Psychiatry and Psychotherapy, Phillips University Marburg/Marburg University Hospital UKGM, Rudolf-Bultmann-Str. 8, 35039 Marburg, Germany.

E-mail address: nenadic@staff.uni-marburg.de (I. Nenadić).

2015; Nanda et al. 2014; Nenadic et al. 2015a; Nesvag et al. 2014; Palaniyappan and Liddle 2012; Zuliani et al., 2018). These abnormalities might relate to outcome patterns (Palaniyappan et al. 2016) as well as polygenic risk for schizophrenia in healthy subjects (Liu et al. 2017). While heterogeneity across patient studies might be attributable to different methodologies for measuring gyrification, they overall indicate both the genetic impact on gyrification as well as a relation to clinical parameters.

In the present study, we used a surface-based morphometric analysis of gyrification based on the absolute mean curvature approach (Luders et al. 2006) to test the hypotheses that schizophrenia is associated with prefrontal and temporal changes in gyrification, and that these changes only partially overlap with the more commonly used morphometric parameters analysed with VBM or cortical thickness analysis, thus reflecting different aspects of brain morphology.

2. Methods

2.1. Subjects

We included in this study 51 schizophrenia patients (Sz) and 102 age- and sex-matched healthy controls (HC). All subjects provided written informed consent to a study protocol approved by the local Ethics Committee of the Friedrich Schiller University Medical School and in concordance with the Declaration of Helsinki of 1975, as revised in 2008.

Demographic and clinical data are summarized in Table 1. Subjects did not differ in their distribution of gender (SZ: 17 females, 34 males; HC: 33 females, 69 males; Chi-square test: 0.015, $p = 0.903$) or age (HC mean: 33.15 yrs., SD \pm 9.6 yrs.; CI 95%: 31.27–35.03; SZ mean: 35.18 yrs., SD \pm 10.88 yrs.; CI 95%: 32.13–38.24; ANOVA $F = 1.405$, $p = 0.238$). Also, samples did not differ significantly in handedness (using the Edinburgh Handedness Inventory (Edlin et al. 2015; Oldfield 1971), laterality quotient for Sz: mean: 58.80 (CI 95%: 44.27–73.32), HC mean: 69.99 (CI 95%: 63.05–76.94), ANOVA, $F = 2.477$ $p = 0.118$), or in estimated IQ (mean SZ = 105.29 (CI 95%: 101.38–109.21), mean HC = 106.57 (CI 95%: 104.30–108.84), ANOVA, $F = 0.360$, $p = 0.550$). Smaller parts of the sample have been used previously for previous morphometric analyses with other approaches (Nenadic et al. 2015a; Nenadic et al. 2015b).

A board-certified psychiatrist diagnosed Schizophrenia in accordance with DSM IV criteria. Post-hoc evaluation of records also confirmed that patients met DSM-5 diagnosis of schizophrenia.

In patients, the average duration of illness was 8.8 years with an average age of onset of 25.1 years. We used SANS, SAPS, and BPRS to assess psychopathology in Sz patients, showing average scores of 42.45 for SANS (SD:15.30 Range: 7–74), 19.38 for SAPS (SD 11.75; Range: 4–42) and 38.00 for BPRS (SD 7.58; Range: 22–54).

At the time of study, 43 patients received antipsychotic medication (monotherapy with a second-generation antipsychotic in $n = 25$

patients, including $n = 5$ on clozapine; combination therapy with two antipsychotics in $n = 17$ subjects ($n = 9$ with two atypical substances, $n = 8$ with typical and atypical antipsychotics), and one patient was on a combination of clozapin and two other atypicals. 7 subjects did not receive antipsychotic medication.

Healthy controls underwent careful screening for potential exclusion criteria, which were: current or previous psychiatric disorder (including substance abuse/dependence) or current or previous psychiatric or psychotherapeutic treatment. None of the healthy controls had a first-degree relative with psychotic or affective disorders.

General exclusion criteria were: traumatic brain injury or neurological CNS conditions, major untreated general medical conditions (e.g. uncontrolled hypertension or diabetes) and contra-indications to MR imaging.

2.2. Magnetic resonance image (MRI) acquisition

We acquired T1-weighted magnetic resonance imaging scans (5:21 min MPRAGE-sequence, TR 2300 ms, TE 3.03 ms, flip angle 9°, 192 contiguous sagittal slices with an in-plane field of view of 256 mm and a voxel resolution of 1 cubic mm, quadrature head coil) of all 151 subjects using a 3 Tesla Siemens Tim Trio scanner (SIEMENS, Erlangen, Germany).

2.3. Pre-processing

All images were processed and analysed using the CAT12 toolbox (C. Gaser, Structural Brain Mapping Group, Jena University Hospital, Jena, Germany; <http://dbm.neuro.uni-jena.de/cat/>) implemented in SPM12 (Wellcome Trust Centre for Neuroimaging; <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm12/>). CAT12 served as the platform for all the analyses, as it offers processing pipelines for both voxel-based morphometry as well as surface-based morphometry (incl. cortical thickness and gyrification), allowing us to perform all analysis with this software package.

For processing- and analysis-steps, pre-set parameters in accordance with standard protocol (<http://www.neuro.uni-jena.de/cat12/CAT12-Manual.pdf>) were used, applying default settings unless indicated otherwise.

Processing also included a two-step quality assurance: first, all images were visually inspected for artefacts (prior to pre-processing); secondly, all underwent a statistical quality control for inter-subject homogeneity and overall image quality as included in the CAT12 toolbox (“check homogeneity” function) after segmentation. This second step again included a visual inspection procedure for potential newly introduced artefacts.

2.4. Gyrification analysis

We calculated local (vertex-wise) gyrification index (GI) maps based on the absolute mean curvature approach (Luders et al. 2006). Extraction of the cortical surface (using CAT12 routines) resulted in the construction of a mesh of the central surface (Dahnke et al., 2012), i.e. the surface between the grey matter/CSF border and the grey matter/white matter boundary. We then calculated the local absolute mean curvature of this central surface by averaging the mean curvature values from each vertex point within 3 mm from a given point. In a second step, we applied 15 mm full-width at half maximum (FWHM) smoothing to the GI maps. This method has been applied in previous studies, also with other processing pipelines for cortical surface extraction (Luders et al. 2012; Nenadic et al. 2015a) of our group.

2.5. Cortical thickness analysis

We analysed cortical thickness based on the same algorithm for extraction of the cortical surface implemented in CAT12, as given above for

Table 1

Demographic and clinical data of both groups (SD = standard deviation; Handedness measured using the Edinburgh handedness inventory, IQ estimated using the MWT-B).

	Schizophrenia	Healthy controls
n	51	102
Sex distribution (female/male)	17/34	33/69
Age mean (SD)	35.18 (10.88)	33.15 (9.6)
Age range	21.38–64.85	21.06–60.30
Handedness mean (SD)	58.80 (51.64)	69.99 (35.37)
IQ mean (SD)	105.29 (13.93)	106.57 (11.56)
Duration of illness	8.8 yrs	n/a
SANS mean (SD)	42.45 (15.30)	n/a
SAPS mean (SD)	19.38 (11.75)	n/a
BPRS mean (SD)	38.00 (7.58)	n/a

GI analyses. Here, the central surface as well as cortical thickness are estimated in one step using a projection-based distance measure (Dahnke et al. 2013). The vertex-wise cortical thickness measures were re-sampled and smoothed using a 15 mm FWHM Gaussian kernel.

2.6. Voxel-based morphometry (VBM)

We applied spatial normalisation and segmentation into three voxel classes: grey matter (GM), white matter (WM) and cerebrospinal fluid (CSF) using a segmentation approach based on adaptive maximum a posteriori segmentation and partial volume segmentation. We also determined total intracranial volume (TIV) for all scans. Using modulated normalized GM maps, we tested the hypothesis of regional grey matter volume (GMV) differences. The extracted GM maps were smoothed using an 8 mm FWHM kernel and used for further analysis. We applied a 0.1 absolute masking threshold to the VBM data.

2.7. Statistical analysis

We performed statistical analyses in the CAT12/SPM12 statistical module applying general linear models for each of the three morphometric methods (left and right hemisphere for each of the two surface-based methods, i.e. gyrification and cortical thickness, and whole brain GM analysis for VBM).

Using age and sex as covariates (and for VBM analyses additionally also total intracranial volume, TIV), we tested group differences (increases and decreases of local gyrification in patients, as well as decreases of cortical thickness and decrease of GMV in VBM), applying thresholds of $p < 0.05$ with FWE correction for multiple comparisons. In addition, we transformed all resulting statistical maps to maps of Cohen's d as a measure of effect size using the conversion tool in CAT12.

3. Results

3.1. Gyrification

We found increased gyrification in the Sz group in the bilateral insula region, frontal pole and temporal pole. Results are shown in Fig. 1. There were no significant areas of lower gyrification in Sz compared to healthy controls.

3.2. Cortical thickness

Cortical thickness was significantly reduced ($p < 0.05$ FWE-corrected) in Sz patients in large regions of the medial and orbitofrontal cortices (bilaterally), bilateral dorsolateral and ventrolateral prefrontal cortices, as well as bilateral changes in insular cortices, lateral temporal and inferior occipital cortices, and precuneus. Reduction was particularly apparent in the insula region as well as the temporal pole and the inferior frontal gyrus pars orbitalis.

The Sz group showed higher cortical thickness in precentral and postcentral gyri. Results are summarized in Fig. 2.

3.3. Voxel-based morphometry (VBM)

VBM analysis of the dataset yielded a number of significant clusters ($p < 0.05$, FWE-corrected) of grey matter reduction in Sz. This included clusters in the medial temporal lobe (bilateral, incl. amygdala and hippocampus), medial prefrontal cortex and anterior cingulate cortex (bilateral), right orbitofrontal cortex, insula (bilateral), and cerebellum (right > left).

The local maxima of these clusters were in the right cerebellum (20; -62; -64), clusters including both entorhinal areas and the amygdalae (27 0 -20 and -24 -2 -18), the right posterior insula (38 -6 -2), the right inferior temporal gyrus (57 -63 -15) and the right inferior occipital gyrus (44 -78 -12). Results are summarised in Fig. 3.

Maps for Cohen's d effects sizes for all results are given in Fig. 4.

4. Discussion

This study provides further evidence of altered gyrification in prefrontal and temporal areas in schizophrenia and demonstrates that these alterations only partially overlap with measures of cortical volume or thickness. Gyrification has been proposed as a novel morphometric marker indicating early neurodevelopmental pathology more specifically than previously used methods (Nenadic et al. 2015a; Palaniyappan and Liddle 2012). Our study is the first to directly compare in the same cohort the effects of schizophrenia on gyrification vs. two other commonly used morphometric parameters.

The most prominent hypergyria in our study sample was observed in the insula and the temporal pole. Cortical thickness and GM were altered in the insula, temporal as well as occipital cortex. In addition, thickness was reduced in the frontal pole and inferior prefrontal cortex. For GMV, we additionally report reductions in the cerebellum.

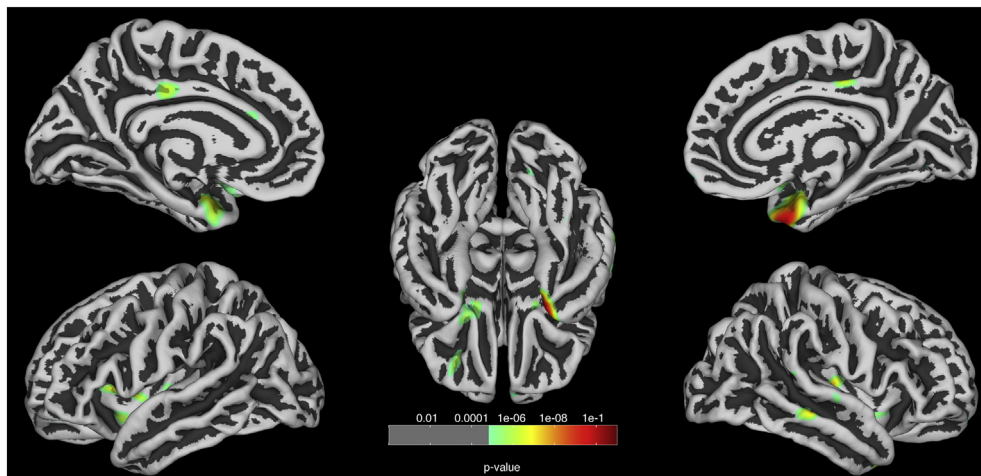


Fig. 1. Gyrification analysis: Comparison of schizophrenia patients vs. healthy controls ($p < 0.05$, FWE corrected). Corrected for age and sex. Results are projected on a central surface. Areas of increased gyrification (green to red scale) in the patient group are highlighted.

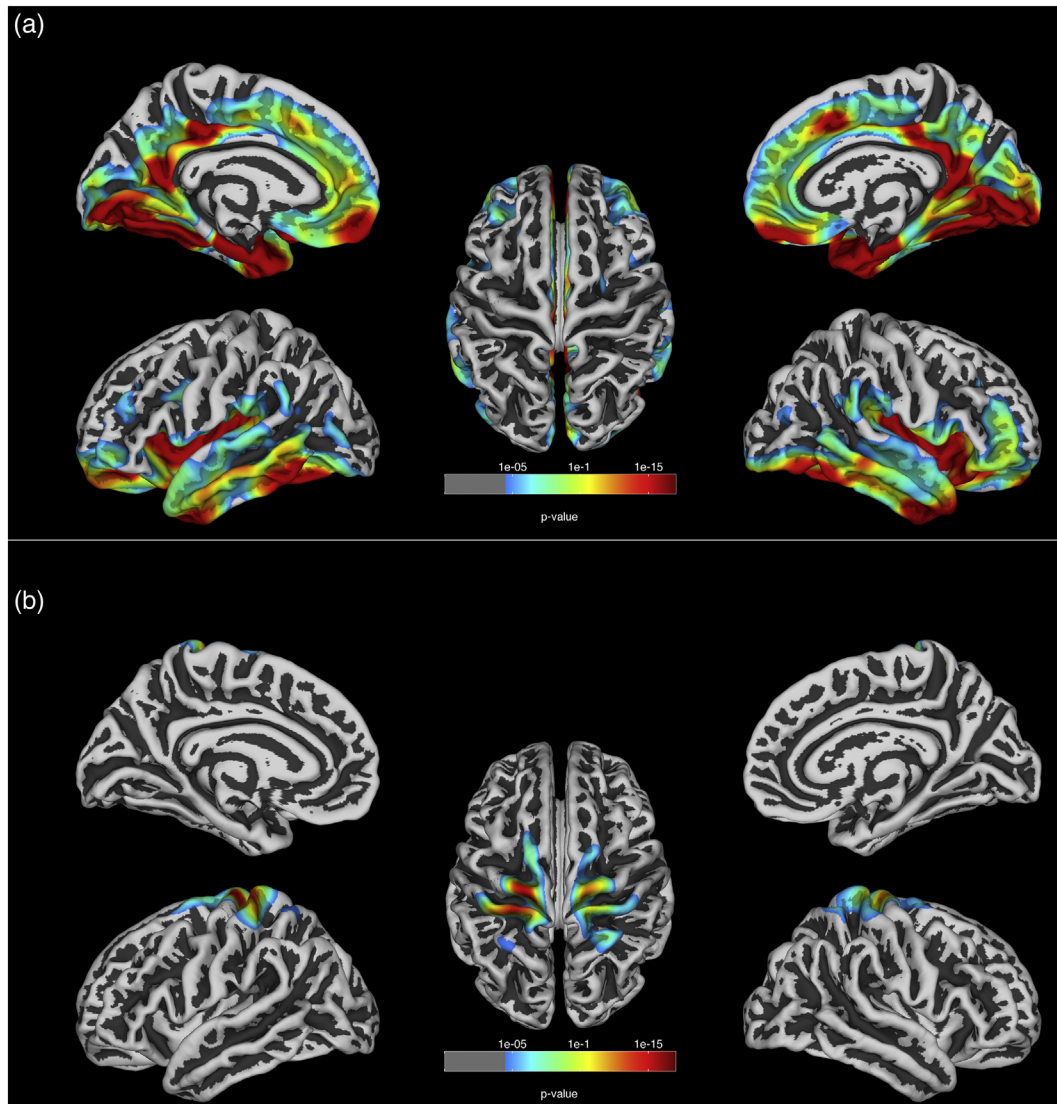


Fig. 2. Cortical thickness analysis: Comparison of schizophrenia patients vs. healthy controls ($p < 0.05$, FWE corrected). Corrected for age and sex. Results are projected on a central surface. Reductions (2a) and increases (2b) in the patient group relative to healthy controls are highlighted with significance-levels visualized on a green to red scale.

The frontopolar cluster of hypergyria coincides with earlier findings in first episode schizophrenia (Sasabayashi et al. 2017a), chronic patients (Palaniyappan et al. 2011) as well as ultra-high-risk cohorts (Lavoie et al. 2014), suggesting prefrontal hypergyria as a potential vulnerability marker of schizophrenia. Prefrontal hypergyrification (compared to non-clinical healthy subjects) was also found in a recent study of both schizophrenia and first-episode non-affective psychosis (Zuliani et al., 2018), lending further support to the relative consistency of frontal lobe gyrification findings. Also, prefrontal hypergyria has been linked to cognitive function in schizophrenia, suggesting an impact in clinically relevant cognitive impairment (Sasabayashi et al. 2017a).

Even stronger and spatially larger extends of hypergyrification were found in the anterior lobe and the insular cortex. These areas are of particular interest, given recent findings in psychosis and cognitive functions, respectively. A recent connectomics study of gyrification has shown changes in gyrification in first episode psychosis in the left insular and cingulate cortex with relevance to clinical outcomes (Palaniyappan et al. 2016). While this study included psychoses other than schizophrenia, it expands on previous studies on a clinically more homogeneous schizophrenia group (Palaniyappan et al. 2015) comparable to our sample. Both prefrontal as well as insular gyrification have been linked to general cognitive ability (Gregory et al. 2016). So

far, it is unclear how specific insular gyrification might be to psychoses or schizophrenia in general. Volume changes in the insula, as studied with conventional VBM, have shown considerable overlap across multiple psychiatric disorders (Goodkind et al. 2015), arguing against disease-specificity.

The most significant differences in gyrification in our sample were, however, in the anterior medial temporal lobes. While increased temporal lobe gyrification was prominent in earlier findings with older techniques, it has subsequently been reported in more recent studies, although the direction and precise localisation of temporal lobe gyrification findings has been inconsistent. When measured as 3D parameter, hypergyrification was reported in high risk individuals (Sasabayashi et al. 2017b) but hypogyrification was found in a chronic sample (Mancini-Marie et al. 2015). A more recent study correlating a polygenic risk score for schizophrenia with gyrification in healthy subjects found no significant correlations in the temporal lobe but parietal cortices (Liu et al. 2017). Our comparison with this recent literature, however, needs to take into account some limitations. The reported inconsistencies might in part be explained by differences in methods to determine gyrification. While our study employs the absolute mean curvature approach (Luders et al. 2006), which has been applied in a range of applications (Besteher et al. 2017; Gaser et al. 2006; Luders

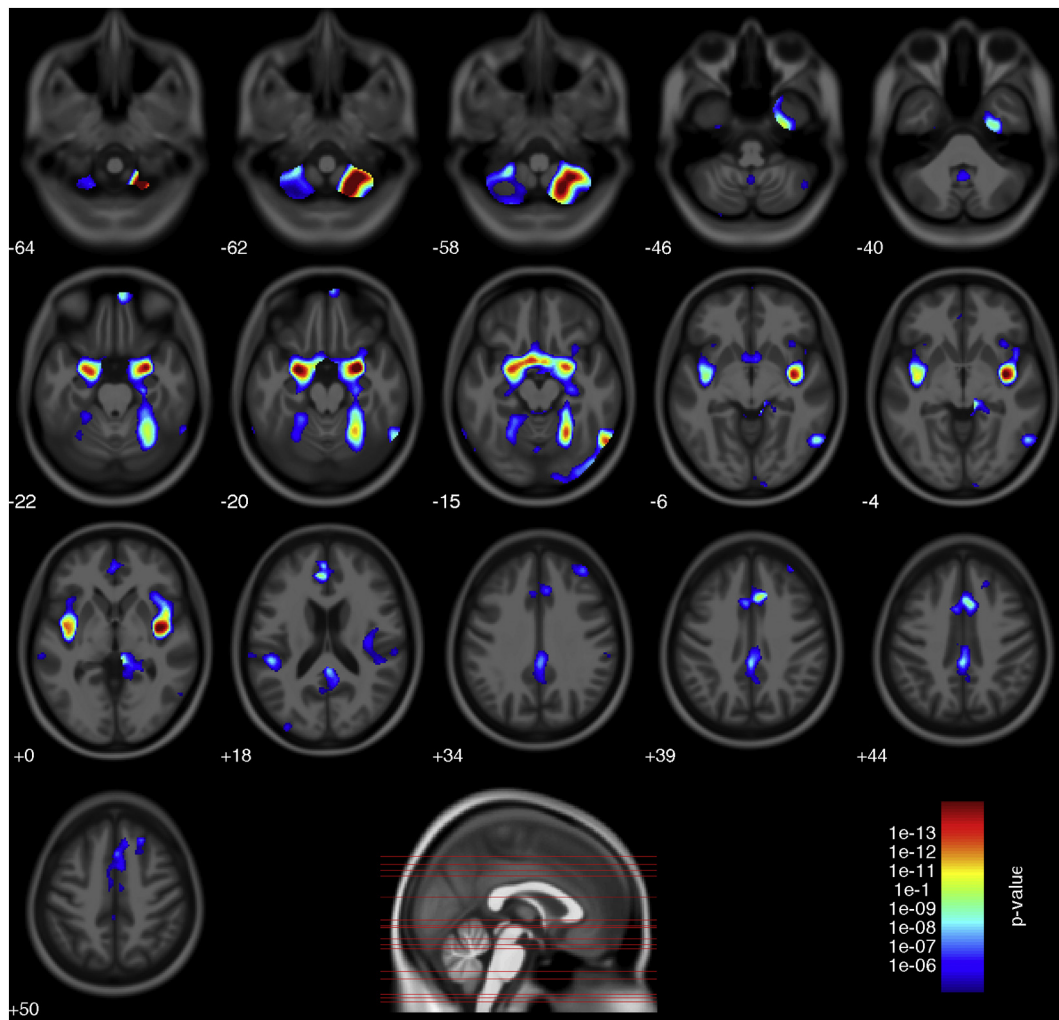


Fig. 3. Voxel-based-morphometry analysis: Comparison of schizophrenia patients vs. healthy controls ($p < 0.05$, FWE corrected). Results are corrected for age, sex and TIV and projected on an average brain image in axial slices. A blue to red scale indicates significance. Bottom: Sagittal view indicating height of axial slices.

et al. 2012; Nenadic et al. 2015a), other studies have employed different approaches (Schaer et al. 2008) and might thus not be completely comparable: In contrast to the local gyrification index (LGI) developed by Schaer et al., the absolute mean curvature approach used in this study is only dependent on the size of the Gaussian smoothing filter, while the LGI additionally depends on the radius of a sphere that is used to estimate the underlying surface area. This radius is influencing the estimated gyrification values. Additionally, absolute mean curvature derived gyrification strongly ($r > 0.9$) correlates to direct measures of surface area on a global as well as on a local level (Luders et al. 2006).

Comparison to our VBM and cortical thickness analyses, which are rather consistent with the recent literature (Gupta et al. 2015) (although there are some discrepancies with older meta-analyses with regards to localisation of volume reductions, e.g. anterior vs. posterior insula (Bora et al. 2012; Glahn et al. 2008), indicate that only a limited subset of areas showing volumetric deficits in schizophrenia also shows evidence of aberrant gyrification. Given that the interpretation of gyrification rests on early developmental disturbance (Zilles et al. 2013), this can be interpreted as a smaller subset of brain areas showing early developmental delay, while volumetric changes might emerge at later stages such as the prodrome or disease onset.

Our findings stress two main aspects. First, disturbed prefrontal gyrification in schizophrenia emerges as a recurrent finding, while changes in temporal lobes and insula are less consistent. Second, the direction of changes varies, especially for temporal lobe findings,

including both increased as well as decreased gyrification. However, unlike volume findings, where loss of volume or cortical thickness might indicate structural deficits, early developmental alterations might result in both hyper- and hypogyria.

The origin of our findings might include both genetic and very early developmental factors. Gyrification has been shown to be genetically influenced in twin studies (Bartley et al. 1997) and a recent study in twins found that 85% of variance in 3D GI was explained by genetic association (Docherty et al. 2015). A link between cytoarchitecture and disturbed macroscopic gyrification is found in maldistributed interstitial white matter neurons (IWMN) (Akbarian et al. 1996). Abnormal IWMN in schizophrenia patients persist in deeper WM layers when compared to controls as remains of the cortical subplate formed during neurodevelopment. This might explain changes in GI as a result of abnormal neuronal tension (Van Essen 1997) and thus link macroscopic changes to a plausible developmental way of action.

The interpretation of our gyrification findings, however, needs to consider some important constraints. While some patterns of changed gyrification, like prefrontal hypergyrification (Sasabayashi et al. 2017a; Zuliani et al., 2018), repeatedly emerge, there are still incongruities across studies and different approaches of GI measurement. Difference in methods, epidemiological sample parameters like sex, medication and chronicity of illness, or features based on the measured property itself (Ronan et al. 2012) might account for divergent results. While our study aimed to correct for differences due to cognitive ability by

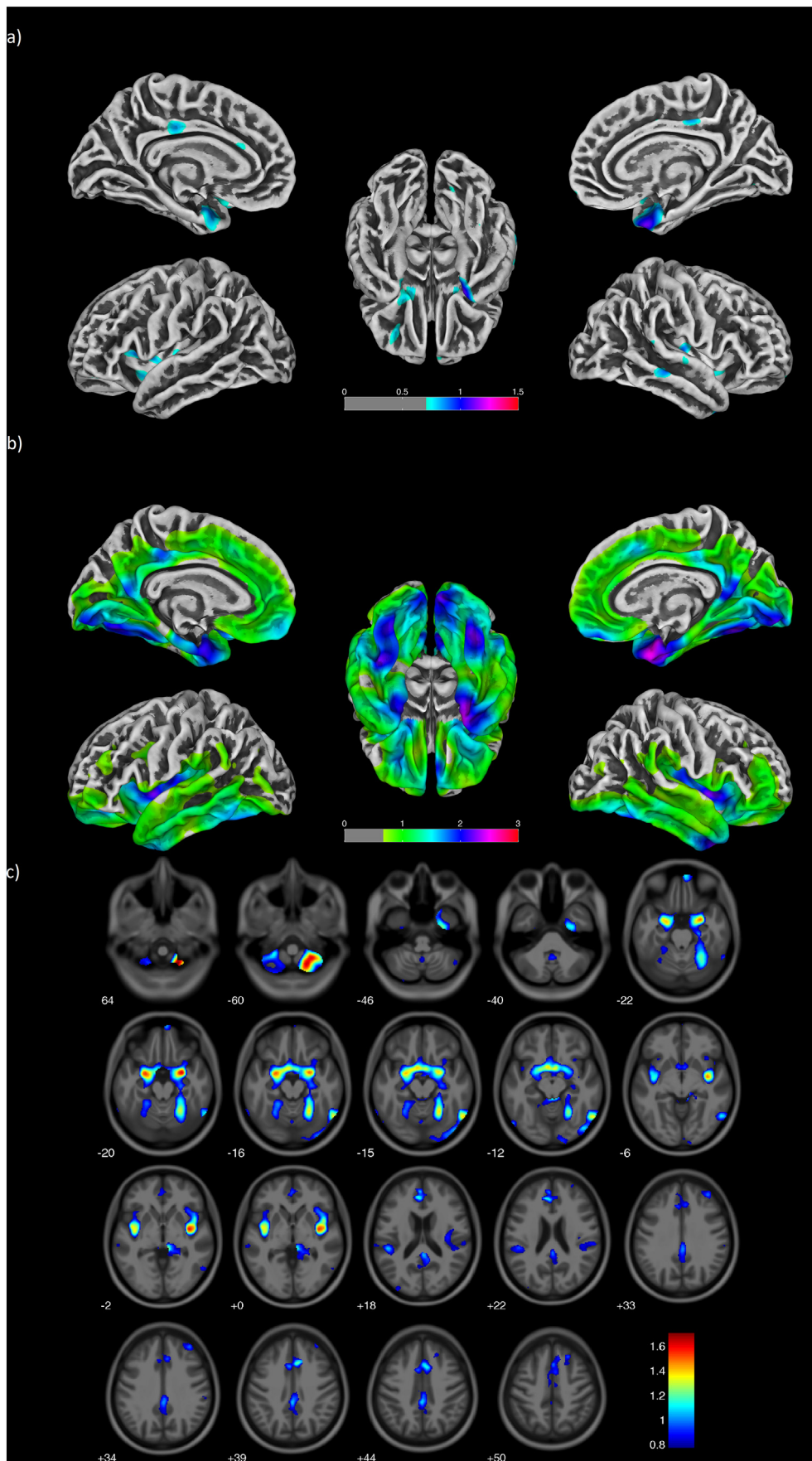


Fig. 4. Maps of effect sizes (Cohens d) of a) increases in gyrification b) decreases in cortical thickness and c) decreases in grey matter volume in schizophrenia patients compared to healthy controls.

matching the samples for IQ, other measures that influence cortical thickness, grey matter volume and possibly gyrification as years of education are not corrected and might affect the outcome. Direct comparison of gyrification with VBM/cortical thickness also needs to consider that differences in effect sizes might obscure additional findings when using conservative thresholds with FWE correction. Also, medication might differentially affect the different measures; while studied for volume-related measures, (Torres et al. 2013; van Haren et al. 2011), there is little data on gyrification. While beyond the scope of this study, we also need to consider that the patient samples, although mostly including chronic patients, was not fully homogeneous regarding the stage of illness.

Taken together, this joint analysis of multiple neuromorphological properties within the same study group advances our understanding of the different facets of brain structural change in schizophrenia. It demonstrates that different aspects of morphology can be separated in a meaningful manner, and how the different morphometric parameters can be used to differentiate effects. Such multi-parameter approaches will aid identification of markers relevant to different aspects of pathophysiology and treatment, and possibly staging of disease.

Acknowledgments

We thank our colleagues at the Department of Psychiatry and Psychotherapy, Jena University Hospital, for their help in initial recruitment and scanning of subjects, especially Kerstin Langbein and Maren Dietzek, as well as the student research assistants contributing to this. We also thank Prof. Heinrich Sauer for his support. Parts of this work were supported by grants of the IZKF Jena (Interdisziplinäres Zentrum für Klinische Forschung of Jena University Hospital) to R.S. and the Friedrich-Schiller-University of Jena and EU to I.N.

Role of funding source

The authors confirm that the funding source had no role in the design, data analysis, or interpretation of the study.

Contributors

R.S. and I.N. designed the study. I.N. obtained funding. R.S. and C.G. conducted statistical and morphometric analyses. I.N. and R.S. contributed to interpretation of data. R.S. wrote the first draft of the manuscript. All authors contributed to and have approved the final manuscript.

Conflicts of interest

The authors declare there are no potential conflicts of interest.

References

- Akbarian, S., Kim, J.J., Potkin, S.G., Hetrick, W.P., Bunney Jr., W.E., Jones, E.G., 1996. Maldistribution of interstitial neurons in prefrontal white matter of the brains of schizophrenic patients. *Arch. Gen. Psychiatry* 53, 425–436.
- Armstrong, E., Schleicher, A., Omran, H., Curtis, M., Zilles, K., 1995. The ontogeny of human gyrification. *Cereb. Cortex* 5, 56–63.
- Bartley, A.J., Jones, D.W., Weinberger, D.R., 1997. Genetic variability of human brain size and cortical gyral patterns. *Brain* 120 (Pt 2), 257–269.
- Besteher, B., Wagner, G., Koch, K., Schachtzabel, C., Reichenbach, J.R., Schlosser, R., Sauer, H., Schultz, C.C., 2016. Pronounced prefronto-temporal cortical thinning in schizophrenia: neuroanatomical correlate of suicidal behavior? *Schizophr. Res.* 176, 151–157.
- Besteher, B., Gaser, C., Spalthoff, R., Nenadic, I., 2017. Associations between urban upbringing and cortical thickness and gyrification. *J. Psychiatr. Res.* 95, 114–120.
- Bora, E., Fornito, A., Yucel, M., Pantelis, C., 2012. The effects of gender on grey matter abnormalities in major psychoses: a comparative voxelwise meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder. *Psychol. Med.* 42, 295–307.
- Chan, R.C., Di, X., McAlonan, G.M., Gong, Q.Y., 2011. Brain anatomical abnormalities in high-risk individuals, first-episode, and chronic schizophrenia: an activation likelihood estimation meta-analysis of illness progression. *Schizophr. Bull.* 37, 177–188.
- Dahnke, R., Yotter, R.A., Gaser, C., 2013. Cortical thickness and central surface estimation. *NeuroImage* 65, 336–348.
- Docherty, A.R., Hagler Jr., D.J., Panizzon, M.S., Neale, M.C., Eyer, L.T., Fennema-Notestine, C., Franz, C.E., Jak, A., Lyons, M.J., Rinker, D.A., Thompson, W.K., Tsuang, M.T., Dale, A.M., Kremen, W.S., 2015. Does degree of gyrification underlie the phenotypic and genetic associations between cortical surface area and cognitive ability? *NeuroImage* 106, 154–160.
- Edlin, J.M., Leppanen, M.L., Fain, R.J., Hacklander, R.P., Hanaver-Torrez, S.D., Lyle, K.B., 2015. On the use (and misuse?) of the Edinburgh Handedness Inventory. *Brain Cogn.* 94, 44–51.
- Gaser, C., Luders, E., Thompson, P.M., Lee, A.D., Dutton, R.A., Geaga, J.A., Hayashi, K.M., Bellugi, U., Galaburda, A.M., Korenberg, J.R., Mills, D.L., Toga, A.W., Reiss, A.L., 2006. Increased local gyrification mapped in Williams syndrome. *NeuroImage* 33, 46–54.
- Glahn, D.C., Laird, A.R., Ellison-Wright, I., Thelen, S.M., Robinson, J.L., Lancaster, J.L., Bullmore, E., Fox, P.T., 2008. Meta-analysis of gray matter anomalies in schizophrenia: application of anatomic likelihood estimation and network analysis. *Biol. Psychiatry* 64, 774–781.
- Goldman, A.L., Pezawas, L., Mattay, V.S., Fischl, B., Verchinski, B.A., Chen, Q., Weinberger, D.R., Meyer-Lindenberg, A., 2009. Widespread reductions of cortical thickness in schizophrenia and spectrum disorders and evidence of heritability. *Arch. Gen. Psychiatry* 66, 467–477.
- Goodkind, M., Eickhoff, S.B., Oathes, D.J., Jiang, Y., Chang, A., Jones-Hagata, L.B., Ortega, B.N., Zaiko, Y.V., Roach, E.L., Korgaonkar, M.S., Grieve, S.M., Galatzer-Levy, I., Fox, P.T., Etkin, A., 2015. Identification of a common neurobiological substrate for mental illness. *JAMA Psychiatr.* 72, 305–315.
- Gregory, M.D., Kippenhan, J.S., Dickinson, D., Carrasco, J., Mattay, V.S., Weinberger, D.R., Berman, K.F., 2016. Regional variations in brain gyrification are associated with general cognitive ability in humans. *Curr. Biol.* 26, 1301–1305.
- Gupta, C.N., Calhoun, V.D., Rachakonda, S., Chen, J., Patel, V., Liu, J., Segall, J., Franke, B., Zwiers, M.P., Arias-Vasquez, A., Buitelaar, J., Fisher, S.E., Fernandez, G., van Erp, T.G., Potkin, S., Ford, J., Mathalon, D., McEwen, S., Lee, H.J., Mueller, B.A., Greve, D.N., Andreassen, O., Agartz, I., Gollub, R.L., Sponheim, S.R., Ehrlich, S., Wang, L., Pearlson, G., Glahn, D.C., Sprooten, E., Mayer, A.R., Stephen, J., Jung, R.E., Canive, J., Bustillo, J., Turner, J.A., 2015. Patterns of gray matter abnormalities in schizophrenia based on an international mega-analysis. *Schizophr. Bull.* 41, 1133–1142.
- de Haan, L., Bakker, J.M., 2004. Overview of neuropathological theories of schizophrenia: from degeneration to progressive developmental disorder. *Psychopathology* 37, 1–7.
- van Haren, N.E., Schnack, H.G., Cahn, W., van den Heuvel, M.P., Lepage, C., Collins, L., Evans, A.C., Hulshoff Pol, H.E., Kahn, R.S., 2011. Changes in cortical thickness during the course of illness in schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry* 68, 871–880.
- Haukvik, U.K., Schaer, M., Nesvag, R., McNeil, T., Hartberg, C.B., Jonsson, E.G., Eliez, S., Agartz, I., 2012. Cortical folding in Broca's area relates to obstetric complications in schizophrenia patients and healthy controls. *Psychol. Med.* 42, 1329–1337.
- Kubota, M., Miyata, J., Yoshida, H., Hirao, K., Fujiwara, H., Kawada, R., Fujimoto, S., Tanaka, Y., Sasamoto, A., Sawamoto, N., Fukuyama, H., Murai, T., 2011. Age-related cortical thinning in schizophrenia. *Schizophr. Res.* 125, 21–29.
- Lavoie, S., Bartholomeuz, C.F., Nelson, B., Lin, A., McGorry, P.D., Velakoulis, D., Whittle, S.L., Yung, A.R., Pantelis, C., Wood, S.J., 2014. Sulcogyral pattern and sulcal count of the orbitofrontal cortex in individuals at ultra high risk for psychosis. *Schizophr. Res.* 154, 93–99.
- Liu, B., Zhang, X., Cui, Y., Qin, W., Tao, Y., Li, J., Yu, C., Jiang, T., 2017. Polygenic risk for schizophrenia influences cortical gyrification in 2 independent general populations. *Schizophr. Bull.* 43, 673–680.
- Luders, E., Thompson, P.M., Narr, K.L., Toga, A.W., Jancke, L., Gaser, C., 2006. A curvature-based approach to estimate local gyrification on the cortical surface. *NeuroImage* 29, 1224–1230.
- Luders, E., Kurth, F., Mayer, E.A., Toga, A.W., Narr, K.L., Gaser, C., 2012. The unique brain anatomy of meditation practitioners: alterations in cortical gyrification. *Front. Hum. Neurosci.* 6, 34.
- Mancini-Marie, A., Yoon, U., Jimenez, J., Fahim, C., Potvin, S., Grant, J.A., Laverdure-Dupont, D., Dube, A.A., Betrisey, C., Rainville, P., Evans, A.C., Stip, E., Mendrek, A., 2015. Sex, Age, Symptoms and Illness Duration and their Relation with Gyrification Index in Schizophrenia (Clin Schizophr Relat Psychoses).
- McIntosh, A.M., Moorhead, T.W., McKirdy, J., Hall, J., Sussmann, J.E., Stanfield, A.C., Harris, J.M., Johnstone, E.C., Lawrie, S.M., 2009. Prefrontal gyral folding and its cognitive correlates in bipolar disorder and schizophrenia. *Acta Psychiatr. Scand.* 119, 192–198.
- Nanda, P., Tandon, N., Mathew, I.T., Giakoumatos, C.I., Abhishekh, H.A., Clementz, B.A., Pearlson, G.D., Sweeney, J., Tammimga, C.A., Keshavan, M.S., 2014. Local gyrification index in probands with psychotic disorders and their first-degree relatives. *Biol. Psychiatry* 76, 447–455.
- Nenadic, I., Maitra, R., Dietzek, M., Langbein, K., Smesny, S., Sauer, H., Gaser, C., 2015a. Prefrontal gyrification in psychotic bipolar I disorder vs. schizophrenia. *J. Affect. Disord.* 185, 104–107.
- Nenadic, I., Maitra, R., Langbein, K., Dietzek, M., Lorenz, C., Smesny, S., Reichenbach, J.R., Sauer, H., Gaser, C., 2015b. Brain structure in schizophrenia vs. psychotic bipolar I disorder: a VBM study. *Schizophr. Res.* 165, 212–219.
- Nesvag, R., Lwyer, G., Varnas, K., Fjell, A.M., Walhovd, K.B., Frigessi, A., Jonsson, E.G., Agartz, I., 2008. Regional thinning of the cerebral cortex in schizophrenia: effects of diagnosis, age and antipsychotic medication. *Schizophr. Res.* 98, 16–28.
- Nesvag, R., Schaer, M., Haukvik, U.K., Westlye, L.T., Rimol, L.M., Lange, E.H., Hartberg, C.B., Ottet, M.C., Melle, I., Andreassen, O.A., Jonsson, E.G., Agartz, I., Eliez, S., 2014. Reduced brain cortical folding in schizophrenia revealed in two independent samples. *Schizophr. Res.* 152, 333–338.
- Oldfield, R.C., 1971. The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. *Neuropsychologia* 9, 97–113.
- Palaniyappan, L., Liddle, P.F., 2012. Aberrant cortical gyrification in schizophrenia: a surface-based morphometry study. *J. Psychiatry Neurosci.* 37, 399–406.
- Palaniyappan, L., Mallikarjun, P., Joseph, V., White, T.P., Liddle, P.F., 2011. Folding of the prefrontal cortex in schizophrenia: regional differences in gyrification. *Biol. Psychiatry* 69, 974–979.
- Palaniyappan, L., Park, B., Balain, V., Dangi, R., Liddle, P., 2015. Abnormalities in structural covariance of cortical gyrification in schizophrenia. *Brain Struct. Funct.* 220, 2059–2071.
- Palaniyappan, L., Marques, T.R., Taylor, H., Mondelli, V., Reinders, A., Bonaccorso, S., Giordano, A., Diforti, M., Simmons, A., David, A.S., Pariante, C.M., Murray, R.M., Dazzan, P., 2016. Globally efficient brain organization and treatment response in psychosis: a connectomic study of gyrification. *Schizophr. Bull.* 42, 1446–1456.
- Rakic, P., 2009. Evolution of the neocortex: a perspective from developmental biology. *Nat. Rev. Neurosci.* 10, 724–735.

- Rapoport, J.L., Giedd, J.N., Gogtay, N., 2012. Neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2012. *Mol. Psychiatry* 17, 1228–1238.
- Ronan, L., Voets, N.L., Hough, M., Mackay, C., Roberts, N., Suckling, J., Bullmore, E., James, A., Fletcher, P.C., 2012. Consistency and interpretation of changes in millimeter-scale cortical intrinsic curvature across three independent datasets in schizophrenia. *NeuroImage* 63, 611–621.
- Sasabayashi, D., Takayanagi, Y., Nishiyama, S., Takahashi, T., Furuichi, A., Kido, M., Nishikawa, Y., Nakamura, M., Noguchi, K., Suzuki, M., 2017a. Increased frontal gyrification negatively correlates with executive function in patients with first-episode schizophrenia. *Cereb. Cortex* 27, 2686–2694.
- Sasabayashi, D., Takayanagi, Y., Takahashi, T., Koike, S., Yamasue, H., Katagiri, N., Sakuma, A., Obara, C., Nakamura, M., Furuichi, A., Kido, M., Nishikawa, Y., Noguchi, K., Matsumoto, K., Mizuno, M., Kasai, K., Suzuki, M., 2017b. Increased occipital gyrification and development of psychotic disorders in individuals with an at-risk mental state: a multicenter study. *Biol. Psychiatry* 82, 737–745.
- Schaer, M., Cuadra, M.B., Tamarit, L., Lazeyras, F., Eliez, S., Thiran, J.P., 2008. A surface-based approach to quantify local cortical gyrification. *IEEE Trans. Med. Imaging* 27, 161–170.
- Shah, C., Zhang, W., Xiao, Y., Yao, L., Zhao, Y., Gao, X., Liu, L., Liu, J., Li, S., Tao, B., Yan, Z., Fu, Y., Gong, Q., Lui, S., 2016. Common pattern of gray-matter abnormalities in drug-naive and medicated first-episode schizophrenia: a multimodal meta-analysis. *Psychol. Med.* 1–13.
- Torres, U.S., Portela-Oliveira, E., Borgwardt, S., Busatto, G.F., 2013. Structural brain changes associated with antipsychotic treatment in schizophrenia as revealed by voxel-based morphometric MRI: an activation likelihood estimation meta-analysis. *BMC Psychiatry* 13, 342.
- Van Essen, D.C., 1997. A tension-based theory of morphogenesis and compact wiring in the central nervous system. *Nature* 385, 313–318.
- Vogele, K., Schneider-Axmann, T., Pfeiffer, U., Tepest, R., Bayer, T.A., Bogerts, B., Honer, W.G., Falkai, P., 2000. Disturbed gyrification of the prefrontal region in male schizophrenic patients: a morphometric postmortem study. *Am. J. Psychiatry* 157, 34–39.
- Zilles, K., Armstrong, E., Schleicher, A., Kretschmann, H.J., 1988. The human pattern of gyrification in the cerebral cortex. *Anat. Embryol. (Berl)* 179, 173–179.
- Zilles, K., Palomero-Gallagher, N., Amunts, K., 2013. Development of cortical folding during evolution and ontogeny. *Trends Neurosci.* 36, 275–284.
- Zuliani, R., Delvecchio, G., Bonivento, C., Cattarinussi, G., Perlini, C., Bellani, M., Marinelli, V., Rossetti, M.G., Lasalvia, A., McIntosh, A., Lawrie, S.M., Balestrieri, M., Ruggeri, M., Brambilla, P., Group, P.V., 2018. Increased gyrification in schizophrenia and non affective first episode of psychosis. *Schizophr. Res.* 193, 269–275.

6.2. Effects of a neurodevelopmental genes based polygenic risk score for schizophrenia and single gene variants on brain structure in non-clinical subjects: a preliminary report, Robert Spalthoff, Franziska Degenhardt, Swapnil Awasthi, Stefanie Heilmann-Heimbach, Bianca Besteher, Christian Gaser, Stephan Ripke, Markus M. Nöthen, Igor Nenadić Schizophrenia Research 2019



Contents lists available at ScienceDirect

Schizophrenia Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/schres

Effects of a neurodevelopmental genes based polygenic risk score for schizophrenia and single gene variants on brain structure in non-clinical subjects: A preliminary report

Robert Spalthoff^a, Franziska Degenhardt^{d,e}, Swapnil Awasthi^h, Stefanie Heilmann-Heimbach^{d,e}, Bianca Besteher^a, Christian Gaser^{a,b}, Stephan Ripke^{f,g,h}, Markus M. Nöthen^{d,e}, Igor Nenadić^{a,c,*}

^a Department of Psychiatry and Psychotherapy, Jena University Hospital, Jena, Germany

^b Department of Neurology, Jena University Hospital, Jena, Germany

^c Department of Psychiatry and Psychotherapy, Phillips University Marburg/Marburg University Hospital UKGM, Marburg, Germany

^d Institute of Human Genetics, University of Bonn, School of Medicine & University Hospital Bonn, Bonn, Germany

^e Department of Genomics, Life and Brain Center, University of Bonn, Bonn, Germany

^f Analytic and Translational Genetics Unit, Massachusetts General Hospital, Boston, MA 02114, USA

^g Stanley Center for Psychiatric Research, Broad Institute of MIT and Harvard, Cambridge, MA 02142, USA

^h Dept. of Psychiatry and Psychotherapy, Charité - Universitätsmedizin, Berlin 10117, Germany

ARTICLE INFO

Article history:

Received 12 December 2018

Received in revised form 27 May 2019

Accepted 30 July 2019

Available online xxx

Keywords:

Schizophrenia

Voxel-based morphometry

Cortical thickness

Gyrification

Polygenic risk score

Neurodevelopment

ABSTRACT

We tested whether a polygenic risk score integrating the effects of genes affecting neurodevelopment is associated to brain structural variation in healthy subjects.

We acquired magnetic resonance imaging and genetic data of 167 healthy adults and computed a neurodevelopmental polygenic risk score (nPRS). We correlated the nPRS with local gyrification, cortical thickness and grey matter density and explored effects of single nucleotide polymorphisms included in the score.

We did not find significant correlations of this nPRS with either measure. Individuals with the risk allele at rs11139497 show increases in cortical thickness ($p < 0.05$, FWE corrected) of the left superior temporal gyrus.

© 2019 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Schizophrenia is a severe psychiatric disorder with an adolescent or early adult age onset (Kessler et al., 2007; Takahashi et al., 2000). Heritability estimates for schizophrenia range from 65 to 80% (Hilker et al., 2018; Wray and Gottesman, 2012). The impact of genetic factors on brain structure in schizophrenia has repeatedly been shown (Brans et al., 2008; Cooper et al., 2014).

Polygenic risk scores (PRS) are based on the association of multiple common genomic variations with their respective increases in the probability of expressing a phenotype. They represent the cumulative genetic risk associated with common variation. A large-scale genome-wide association study (GWAS) has identified 128 common single nucleotide polymorphisms (SNPs) to be associated with schizophrenia

(Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014). These results were even extended with associations for 179 SNPs in 145 loci (Pardinas et al., 2018). Studies have tried to associate this cumulative SNP-related risk to brain structure. These studies have not provided conclusive evidence (Liu et al., 2016; Reus et al., 2017; Van der Auwera et al., 2015).

One reason for the lack of associations might be that overall PRS scores integrate the risk not only across multiple risk genes, but also effects on different biological pathways. This “biologically informed” approach has so far not demonstrated significant associations between PRS and brain structure (Van der Auwera et al., 2017) when only applying a voxel-based approach. Nevertheless, the neurodevelopmental pathway seems a plausible target for examination as the involved genes relate to early effects, setting a trajectory that may affect the entire lifespan. There is abundant research showing neurodevelopmental aspects to be most prominent to schizophrenia (de Haan and Bakker, 2004; Rapoport et al., 2012).

We tested whether a pathway-specific risk score, integrating those variants related to neurodevelopment, would be associated with

* Corresponding author at: Department of Psychiatry and Psychotherapy, Phillips University Marburg/Marburg University Hospital UKGM, Rudolf-Bultmann-Str. 8, 35039 Marburg, Germany.

E-mail address: nenadic@staff.uni-marburg.de (I. Nenadić).

structural variation in areas linked to schizophrenia. We used cortical thickness and gyrification as well as grey matter volume (for comparison with previous VBM studies) to test this hypothesis.

To further deconstruct the impact of the selected SNPs upon the nPRS, we additionally analysed each SNP individually.

2. Methods

We included 167 healthy subjects (87 females, 80 males, mean age 29.97 years at recruitment). Subjects underwent structural T1 MRI using an MPRAGE-sequence and a blood sample of all subjects was attained.

DNA extraction and genome-wide genotyping were conducted using the high-throughput genotyping platform at the Department of Genomics at the Life and Brain Center at the University of Bonn, Germany. DNA was extracted from whole venous blood samples and all individuals were genome-wide genotyped using the Illumina's Infinium PsychArray.

Quality control and imputation was performed according to standards of the PGC (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014) as described in the respective Supplementary materials.

The regions included in the neurodevelopmental PRS (nPRS) were centred around the SNPs listed below and thus included the following loci: FXR1, SATB2, PODXL, BCL11B, TLE1, TLE3 and FAM5b. We determined a neurodevelopmental polygenic risk score (nPRS) for our subjects using the publicly available LD-clumped PGC data for schizophrenia (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014) with 35,476 cases and 46,839 controls by multiplying the natural logarithms of the odds ratio for schizophrenia of each polymorphism by the imputation probability for the risk allele in each individual. The attained values were summed over each subject resulting in an individual nPRS-value for further analysis. We used a p -value threshold of $p < 0.05$ as cut-off, thus including 202 SNPs. In an additional nPRS-analysis, we applied a stricter $p < 10^{-6}$ threshold thus limiting the number of included SNPs to the 8 SNPs discussed below. nPRS-analysis included all 167 subjects.

The genotype for the SNPs chr3_180594593_I (closest gene FXR1), rs9841616 (FXR1), rs6704641 (SATB2), rs7801375 (PODXL), rs2693698 (BCL11B), rs11139497 (TLE1), rs12148337 (TLE3) and rs6670165 (FAM5b), all of which were reported to influence the odds ratio for schizophrenia (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014), was retrieved from the genome-wide dataset for PRS analysis.

Data for chr3_180594593_I (FXR1) genotype was unavailable for 11 subjects. For rs9841616 (FXR1) and rs11139497 (TLE1), one result each was unattainable. These were subsequently excluded from morphometric analysis of the specific SNPs.

We used the CAT12 toolbox (Computational Anatomy Toolbox 12; Christian Gaser, Structural Brain Mapping Group, Jena University Hospital, Jena, Germany; <http://dbm.neuro.uni-jena.de/cat/>), implemented in SPM12 software (Wellcome Trust Centre for Neuroimaging; <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm12/>). We used default settings (<http://www.neuro.uni-jena.de/cat12/CAT12-Manual.pdf>) unless stated otherwise.

In the present study, we use a parallel approach by analysing surface-based measures (cortical thickness and gyrification) as well as grey matter volume.

We performed a cortical thickness analysis using the surface estimation pipeline in CAT12. This uses a projection-based thickness approach, extracting central surface maps and cortical thickness estimates (Dahnke et al., 2013). Gyrification maps of both hemispheres were estimated using the absolute mean curvature approach (Luders et al., 2006).

Using modulated normalised grey matter (GM) maps, we tested the hypothesis of regional grey matter volume (GMV) differences. We used an 8 mm FWHM smoothing kernel for VBM data.

The statistical analysis to test correlation between nPRS and surface-based measures included age at recruitment and sex as confounding variables, while grey matter volume analysis additionally included correction for Total intracranial volume (TIV) to correct for head size and volume. In both cases, we applied a peak-level threshold of $p < 0.05$ with family-wise error (FWE) correction. Exploratory analyses were performed in cases of negative findings at $p < 0.1$ (peak level) with FWE. We used an absolute threshold of 0.1 for the analysis.

Additionally, we created a general linear model for each SNP included in the nPRS. Carriers and non-carriers of the respective risk allele were grouped and tested via a two-sample t -test. We applied a $p < 0.05$ (FWE) threshold. Additionally, we report on trends ($p < 0.1$, FWE).

3. Results

Analysis for a nPRS (both $p < 0.05$ and $p < 10^{-6}$ GWAS thresholds) yielded no statistically significant results in the VBM or SBM paradigm. Exploratory analysis ($p < 0.1$ FWE) did not show trend level correlations.

When analysing the dataset on an individual SNP-level, carriers of the risk allele rs11139497 (TLE1) showed significantly ($p < 0.05$ FWE) elevated cortical thickness in the left upper temporal gyrus (see Fig. 1). Analysis of the other SNPs included in the nPRS did not find

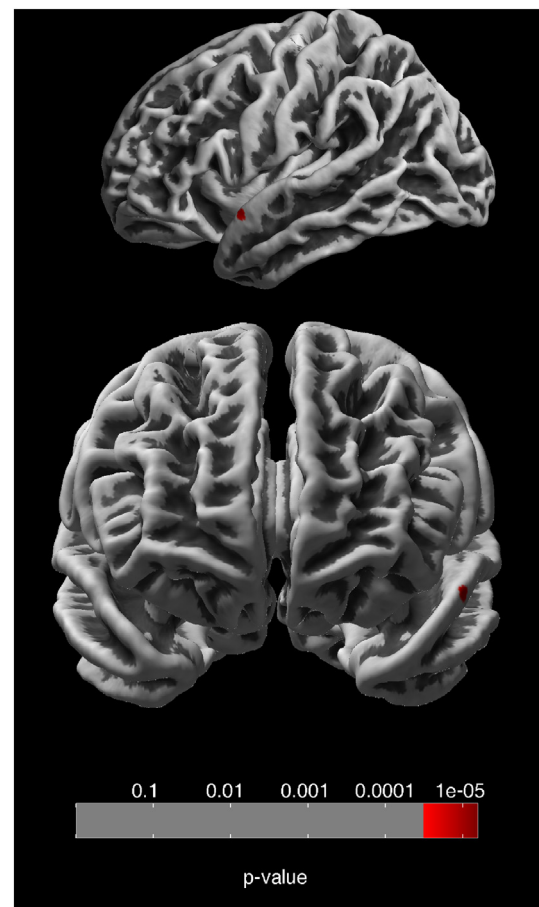


Fig. 1. Increased cortical thickness in the left superior temporal gyrus in carriers of the A-allele in rs11139497 is highlighted in red colour ($p < 0.05$ FWE-corrected). Results are projected on a central surface. Score indicates uncorrected p -value. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

Table 1

Summary of cortical thickness and gyrification results of individual SNP analyses. OR = odds ratio; CI = Confidence interval; FWE = Family wise error.

	Cortical thickness			Gyrification		
SNP	rs11139497	rs12148337	rs6704641	rs12148337	rs9841616	
Closest gene	TLE1	TLE3	SATB2	TLE3	FXR1	
Wild allele	T	C	A	C	T	
Risk allele	A	T	G	T	A	
OR for Sz (95% CI)	1.069 (1.045–1.093)	1.060 (1.038–1.081)	1.081 (1.053–1.110)	1.060 (1.038–1.081)	0.925 (0.900–0.951)	
Effect in risk carriers	Increase	Decrease	Decrease	Increase	Increase	
Max. intensity vertex (mm)	–56 7 –12	–38 12 –4	8 –43 7	–49 –28 –29	43 –33 12	
p-Value (FWE corr.)	0.031	0.099	0.056	0.062	0.081	
Cluster size k	26	3	1	26	9	
Effect size D at max	0.73	0.66	0.69	0.73	0.721	
Pearson's R at max	0.347	0.319	0.332	0.347	0.342	

significant changes. However, in exploratory analysis, carriers of the risk allele at rs12148337 (TLE3) displayed a trend ($p < 0.1$ FWE) of reduced cortical thickness in the left anterior insular cortex as well as a trend of increased gyrification in the left inferior temporal gyrus. Furthermore, gyrification in the right supramarginal gyrus in carriers of the risk allele at rs9841616 (FXR 1) was reduced and carriers of the risk allele at rs6704641 (SATB2) showed a reduction of cortical thickness in the right posterior cingulate gyrus. Note that some of the findings only comprise very small clusters. See Table 1 for a conclusive list of our findings.

4. Discussion

In this study, we investigated the effect of a nPRS as well each single variant contributing to this score, on the variation of brain structure in healthy humans. While these results provide a first evidence linking rs11139497 (TLE1) to increases of cortical thickness in the upper left temporal gyrus, the larger part of our analysis of a nPRS failed to identify an association with either local brain volumes or surface-based morphometric parameters.

Each SNP in this study only carries a fraction of an individuals' risk of schizophrenia with odds ratios ranging from 0.9 (thus representing a protective allele) to 1.1 (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014) (see Table 1).

As our study did not provide evidence of an association between the nPRS and brain morphological changes, possible limitations must be considered. First, the nature of the analysed variants is not well known. More detailed knowledge of their expression patterns might illuminate which regions of interest or point in time to focus on.

Furthermore, our sample was limited in size, making it underpowered for smaller effect sizes, while lack of a replication sample calls for further studies to replicate our negative finding on neurodevelopmental PRS.

In addition, we need to consider that these associations might be different in a patient sample, where epistatic effects and other factors might reveal an impact on brain structure.

Carriers of the risk allele at rs11139497 SNP showed elevated cortical thickness in the left superior temporal gyrus when compared to non-carriers. The superior temporal gyrus is often implicated as a focus of pathologic processes in schizophrenia (Kasai et al., 2003; Sun et al., 2009) and has been linked to the generation of hallucinations.

Especially GMV, which has been extensively studied in schizophrenia, seems to be unaffected by a nPRS and, opposed to cortical thickness and gyrification index, does not show any trend level correlations to the SNPs included in this study.

Effects of the nPRS and SNPs seem too subtle to be detected with current MRI paradigms and correction for multiple comparisons. While functional effects of PRS have been described in an fMRI paradigm (Erk et al., 2017), structural correlates of nPRS-SNPs might be present only on a microscopic and histological level without modifying the macroscopic level accessible by structural MRI.

Contributors

R.S. and I.N. designed the study. I.N., F.D. and M.M.N. obtained funding. F.D., S.H.-H. and M.M.N. conducted the genetic analysis, S.R. and S.A. developed and calculated the nPRS. R.S. and C.G. conducted statistical and morphometric analyses. I.N., R.S. and B.B. contributed to interpretation of data. R.S. wrote the first draft of the manuscript. All authors contributed to and have approved the final manuscript.

Role of funding source

The authors confirm that the funding sources had no role in the design, data analysis, or interpretation of the study.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that there are no potential conflicts of interest.

Acknowledgments

We thank our colleagues at the Department of Psychiatry and Psychotherapy, Jena University Hospital, for their help in initial recruitment and scanning of subjects, especially Kerstin Langbein and Maren Dietzek, as well as the student research assistants contributing to this. We also thank Prof. Heinrich Sauer for his support. Parts of this work were supported by grants of the IZKF Jena (Interdisziplinäres Zentrum für Klinische Forschung) to R.S. and B.B. as well as the Friedrich Schiller University Jena and the European Union (to I.N.; EUTwinsS project, grant number MRTN-CT-2006-035987) and Young Scientist grant of the Friedrich Schiller University Jena (to I.N.; grant DRM 210070/87). Further funding was received by M.M.N. and F.D. from the German Federal Ministry of Education and Research (BMBF) through the Integrated Network IntegraMent (Integrated Understanding of Causes and Mechanisms in Mental Disorders), under the auspices of the e:Med Programme (grant 01ZX1314A to M.M.N. and F.D.).

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.schres.2019.07.061>.

References

- Brans, R.G., van Haren, N.E., van Baal, G.C., Schnack, H.G., Kahn, R.S., Hulshoff Pol, H.E., 2008. Heritability of changes in brain volume over time in twin pairs discordant for schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry* 65 (11), 1259–1268.
- Cooper, D., Barker, V., Radua, J., Fusar-Poli, P., Lawrie, S.M., 2014. Multimodal voxel-based meta-analysis of structural and functional magnetic resonance imaging studies in those at elevated genetic risk of developing schizophrenia. *Psychiatry Res.* 221 (1), 69–77.
- Dahnke, R., Yotter, R.A., Gaser, C., 2013. Cortical thickness and central surface estimation. *Neuroimage* 65, 336–348.
- de Haan, L., Bakker, J.M., 2004. Overview of neuropathological theories of schizophrenia: from degeneration to progressive developmental disorder. *Psychopathology* 37 (1), 1–7.
- Erk, S., Mohnke, S., Ripke, S., Lett, T.A., Veer, I.M., Wackerhagen, C., Grimm, O., Romanczuk-Seiferth, N., Degenhardt, F., Tost, H., Mattheisen, M., Muhleisen, T.W., Charlet, K., Skarabis, N., Kiefer, F., Cichon, S., Witt, S.H., Nothen, M.M., Rietschel, M., Heinz, A., Meyer-Lindenberg, A., Walter, H., 2017. Functional neuroimaging effects of recently discovered genetic risk loci for schizophrenia and polygenic risk profile in five RDoC subdomains. *Transl. Psychiatry* 7 (1), e997.
- Hilker, R., Helenius, D., Fagerlund, B., Skyttje, A., Christensen, K., Werge, T.M., Nordentoft, M., Glenthøj, B., 2018. Heritability of schizophrenia and schizophrenia spectrum based on the nationwide Danish Twin Register. *Biol. Psychiatry* 83 (6), 492–498.
- Kasai, K., Shenton, M.E., Salisbury, D.F., Hirayasu, Y., Lee, C.U., Ciszewski, A.A., Yurgelun-Todd, D., Kikinis, R., Jolesz, F.A., McCarley, R.W., 2003. Progressive decrease of left superior temporal gyrus gray matter volume in patients with first-episode schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* 160 (1), 156–164.

- Kessler, R.C., Amminger, G.P., Aguilar-Gaxiola, S., Alonso, J., Lee, S., Ustun, T.B., 2007. Age of onset of mental disorders: a review of recent literature. *Curr. Opin. Psychiatry* 20 (4), 359–364.
- Liu, B., Zhang, X., Cui, Y., Qin, W., Tao, Y., Li, J., Yu, C., Jiang, T., 2017. Polygenic risk for schizophrenia influences cortical gyrification in 2 independent general populations. *Schizophr. Bull.* 43 (3), 673–680.
- Luders, E., Thompson, P.M., Narr, K.L., Toga, A.W., Jancke, L., Gaser, C., 2006. A curvature-based approach to estimate local gyrification on the cortical surface. *Neuroimage* 29 (4), 1224–1230.
- Pardinas, A.F., Holmans, P., Pocklington, A.J., Escott-Price, V., Ripke, S., Carrera, N., Legge, S.E., Bishop, S., Cameron, D., Hamshere, M.L., Han, J., Hubbard, L., Lynham, A., Mantripragada, K., Rees, E., MacCabe, J.H., McCarroll, S.A., Baune, B.T., Breen, G., Byrne, E.M., Dannlowski, U., Eley, T.C., Hayward, C., Martin, N.G., McIntosh, A.M., Plomin, R., Porteous, D.J., Wray, N.R., Caballero, A., Geschwind, D.H., Huckins, L.M., Ruderfer, D.M., Santiago, E., Sklar, P., Stahl, E.A., Won, H., Agerbo, E., Als, T.D., Andreassen, O.A., Baekvad-Hansen, M., Mortensen, P.B., Pedersen, C.B., Borglum, A.D., Bybjerg-Grauholm, J., Djurovic, S., Durmishi, N., Pedersen, M.G., Golimbet, V., Grove, J., Hougaard, D.M., Mattheisen, M., Molden, E., Mors, O., Nordentoft, M., Pejovic-Milovancevic, M., Sigurdsson, E., Silagadze, T., Hansen, C.S., Stefansson, K., Stefansson, H., Steinberg, S., Tosato, S., Werge, T., GERAD1 Consortium, CRESTAR Consortium, Collier, D.A., Rujescu, D., Kirov, G., Owen, M.J., O'Donovan, M.C., Walters, J.T.R., 2018. Common schizophrenia alleles are enriched in mutation-intolerant genes and in regions under strong background selection. *Nat. Genet.* 50 (3), 381–389.
- Rapoport, J.L., Giedd, J.N., Gogtay, N., 2012. Neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2012. *Mol. Psychiatry* 17 (12), 1228–1238.
- Reus, L.M., Shen, X., Gibson, J., Wigmore, E., Lighthart, L., Adams, M.J., Davies, G., Cox, S.R., Hagenaars, S.P., Bastin, M.E., Deary, I.J., Whalley, H.C., McIntosh, A.M., 2017. Association of polygenic risk for major psychiatric illness with subcortical volumes and white matter integrity in UK Biobank. *Sci. Rep.* 7, 42140.
- Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature* 511 (7510), 421–427.
- Sun, J., Maller, J.J., Guo, L., Fitzgerald, P.B., 2009. Superior temporal gyrus volume change in schizophrenia: a review on region of interest volumetric studies. *Brain Res. Rev.* 61 (1), 14–32.
- Takahashi, S., Matsuura, M., Tanabe, E., Yara, K., Nonaka, K., Fukura, Y., Kikuchi, M., Kojima, T., 2000. Age at onset of schizophrenia: gender differences and influence of temporal socioeconomic change. *Psychiatry Clin. Neurosci.* 54 (2), 153–156.
- Van der Auwera, S., Wittfeld, K., Homuth, G., Teumer, A., Hegenscheid, K., Grabe, H.J., 2015. No association between polygenic risk for schizophrenia and brain volume in the general population. *Biol. Psychiatry* 78 (11), e41–e42.
- Van der Auwera, S., Wittfeld, K., Shumskaya, E., Bralten, J., Zwiers, M.P., Onnink, A.M., Ueberti, N., Hertel, J., Volzke, H., Volker, U., Hosten, N., Franke, B., Grabe, H.J., 2017. Predicting brain structure in population-based samples with biologically informed genetic scores for schizophrenia. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* 174 (3), 324–332.
- Wray, N.R., Gottesman, I.I., 2012. Using summary data from the Danish national registers to estimate heritabilities for schizophrenia, bipolar disorder, and major depressive disorder. *Front. Genet.* 3, 118.

6.3. Effects of a neurodevelopmental genes based polygenic risk score for schizophrenia and single gene variants on brain structure in non-clinical subjects: a preliminary report, Robert Spalthoff, Franziska Degenhardt, Swapnil Awasthi, Stefanie Heilmann-Heimbach, Bianca Besteher, Christian Gaser, Stephan Ripke, Markus M. Nöthen, Igor Nenadić Schizophrenia Research 2019: Supplementary Methods

Supplementary Methods

Recruitment:

We recruited 167 subjects among the local community using advertisement in local newspapers, radio shows and online communities. All subjects provided written informed consent to a study protocol approved by the local Ethics Committee of the Jena University Medical School according to the Declaration of Helsinki. The subjects were screened via semi-structured telephone interview and using a self-report questionnaire for absence of a concurrent psychiatric disorder, history of psychiatric disorders or treatment, neurological conditions of the central nervous system, traumatic head injury, and first-degree relatives with psychotic disorders. Further exclusion criteria assessed after the phone interview were severe current medical conditions and an estimated IQ <80 (estimated using a Multiple-Choice Vocabulary Intelligence Survey in German language (MWT-B) (Antretter et al., 2013; Lehrl, 1999)).

MRI Parameters:

We used the following MRI specifications: TR 2300ms, TE 3.03 ms, flip angle 9°, 192 contiguous sagittal slices, in-plane field of view 256 mm, voxel resolution 1 x 1 x 1 mm; time of acquisition 5:21 min on a 3 Tesla Siemens Tim Trio scanner (Siemens, Erlangen, Germany) with a quadrature head coil.

DNA extraction and quality assurance:

The quality control parameters for retaining SNPs and subjects were: SNP missingness <0.05 (before sample removal); subject missingness <0.02; autosomal heterozygosity deviation ($|F_{\text{het}}| < 0.2$); SNP missingness <0.02 (after sample removal); difference in SNP missingness between cases and controls <0.02; and SNP Hardy-Weinberg equilibrium ($P > 10^{-6}$ in controls or $P > 10^{-10}$ in cases). We identified and

removed population outliers after visual inspection of PCA plots. In order to remove cryptic relatedness between samples we identified pairs of subjects with PIHAT > 0.2 and removed one of each pair at random with preferentially retaining cases over controls. Genotype imputation was performed using the pre-phasing/imputation stepwise approach implemented in IMPUTE2 / SHAPEIT (Howie et al., 2009) with chunk size of 3 Mb and default parameters.

Pre-processing, quality assurance and analysis of structural brain images

First, all acquired images were visually inspected for absence of imaging artefacts by two independent raters. Additionally, a semi-automated quality assurance-protocol (implemented in CAT12) was included in the pre-processing pipeline.

For voxel-based morphometry (VBM) analysis, pre-processing consisted of spatial normalisation and segmentation into grey matter, white matter and cerebrospinal fluid (Ashburner and Friston, 2005) Additionally, the total intracranial volume (TIV) of all patients was extracted. All further VBM-related steps were conducted using the grey matter map.

Gyrification analysis

Briefly summarized, a mesh of the central surface is extracted from the original MRI data using CAT12 routines. The local curvature of small (3mm) areas is averaged and smoothed across the mesh. Cortical thickness and gyrification maps were subsequently re-sampled and smoothed using a 15mm full-width at half-maximum (FWHM) Gaussian kernel.

Antretter, E., Dunkel, D., Haring, C., 2013. [The assessment of cognitive abilities in psychiatric patients: are widely used psychological tests still up-to-date?]. *Psychiatr Prax* 40(3), 120-129.

Ashburner, J., Friston, K.J., 2005. Unified segmentation. *Neuroimage* 26(3), 839-851.

Howie, B.N., Donnelly, P., Marchini, J., 2009. A flexible and accurate genotype imputation method for the next generation of genome-wide association studies. *PLoS Genet* 5(6), e1000529.

Lehrl, S., 1999. Mehrfachwahl-Wortschatz-Intelligenztest: MWT-B. Spitta.

7. Diskussion

Die vorliegenden Arbeiten beschäftigen sich mit zweierlei Aspekten. Zum einen wurde ein Vergleich zwischen der lokalen Gyrfizierung bei Schizophrenen mit der bei Gesunden Proband_innen angestellt und diese Ergebnisse wurden den entsprechenden lokalen Änderungen der kortikalen Dicke und des Volumens der Grauen Substanz (GMV) gegenübergestellt. Zweitens wurden die Auswirkungen eines nPRS auf die oben genannten Metriken an einer Kohorte gesunder Proband_innen überprüft. Die Befunde können wie folgt zusammengefasst werden:

Eine veränderte Gyrfizierung bei Schizophrenen war insbesondere prefrontal und temporal festzustellen. Eine besonders ausgeprägte Gyrfizierung war hierbei insbesondere im Bereich des temporalen Pols und der Insula deutlich geworden. Eine Reduktion der Gyrfizierung war bei Schizophrenen in keinem Bereich festzustellen.

Bezüglich des nPGRS ließ sich keine neuromorphometrische Veränderung bei gesunden Proband_innen feststellen. In der Einzelmarkeranalyse zeigte sich für den SNP rs11139497 eine erhöhte kortikale Dicke im linken Gyrus temporalis superior. In einer explorativen Analyse fanden sich für weitere SNPs Abweichungen.

7.1. Phänotypischer Gruppenvergleich

Die vorliegende Studie vergleicht erstmalig direkt Abweichungen in der Gyrfizierung mit Veränderungen der kortikalen Dicke und der VBM zwischen Schizophrenen und Gesunden. Es konnte gezeigt werden, dass sich die betroffenen Areale nicht vollständig überlappen. Vielmehr ergibt sich bei der Gyrfizierung ein dezenter Befund verglichen mit den großflächigen Veränderungen der kortikalen Dicke. Zwei Annahmen erklären dieses Resultat: Änderungen der Gyrfizierung werden wesentlich früher gebahnt und lassen sich am ehesten auf eine Hirnentwicklungsstörung zurückführen. Abweichungen der kortikalen Dicke und der VBM andererseits können zum einen in einer abnormen Hirnentwicklung, zum anderen in degenerativen Prozessen begründet sein. Legt man diese Annahmen zugrunde, erklärt sich das Ergebnis der Studie. Ein Beweis dieser Thesen wird gleichermaßen nicht erbracht, hierfür wäre ein longitudinales Studiendesign notwendig. Darüber hinaus ist hierbei zu bedenken, dass weder ein Mehr noch ein Weniger an Gyrfizierung notwendigerweise mit einer verbesserten

Funktionalität einhergeht. Beides stellt vorerst eine Abweichung vom Normbefund mit potentiell negativen Auswirkungen dar.

Die prefrontale Hypergyrifizierung bestätigt bereits vorliegende Studien (Palaniyappan et al. 2011) und wird mit kognitiven Einschränkungen in Verbindung gebracht (Sasabayashi et al. 2017a), wobei das Merkmal nicht nur bei bereits Erkrankten, sondern auch bei Proband_innen mit stark erhöhtem Risiko, zukünftig an Schizophrenie zu erkranken, vorliegt (Lavoie et al. 2014). Somit kommt die prefrontale bzw. orbitofrontale Hypergyrifizierung als Vulnerabilitätsmarker in Betracht.

Auch im Bereich der Insula konnten beidseits Hypergyrifizierungscluster nachgewiesen werden. Diese überlappen mit einer Volumenreduktion, die mittels VBM demonstriert wurde. Nach bisherigen VBM-Ergebnissen ist davon auszugehen, dass diese Veränderungen nicht schizophreniespezifisch sind, sondern bei einer Vielzahl psychischer Erkrankungen auftreten (Goodkind et al. 2015).

Zuletzt konnte auch im Bereich der anterioren Temporallappen eine erhöhte Gyrfizierung demonstriert werden. Es liegen weitere Studien vor, die auf eine veränderte, (erhöhte (Sasabayashi et al. 2017b) oder reduzierte (Mancini-Marie et al. 2015)) Gyrfizierung hinweisen. Hierbei ist aber zu beachten, dass sowohl die verwendete Methode (nach Luders (Luders et al. 2006) oder IGI (Schaer et al. 2008)) als auch die Charakterisierung der Proband_innengruppen voneinander abweichen.

7.2. Analyse des nPRS

Ein Zusammenhang zwischen dem nPRS und den untersuchten Parametern konnte nicht erbracht werden. Hierfür lassen sich mehrere Gründe ausmachen. Zuallererst besteht die Möglichkeit, dass ein solcher Zusammenhang in keiner Weise gegeben ist. Bisher konnte für einen allgemeinen PRS eine veränderte Gyrfizierung des Temporallappens (Liu et al. 2017) gezeigt werden. Für andere Parameter konnte ein solcher Nachweis noch nicht erbracht werden (Van der Auwera et al. 2017, Van der Auwera et al. 2015).

Andererseits sind die Beschränkungen der vorliegenden Studie in Betracht zu ziehen. Bei der hohen Zahl an zu erwartenden Risiko-SNPs in Bezug auf Schizophrenie (Ripke et al. 2013) ist zu erwarten, dass jedes einzelne Risiko-Allel oder auch kleine Cluster an Allelen (wie im vorliegenden nPRS) nur einen geringen Einfluss auf die Morphologie haben. Dies wird auch anhand der nur geringfügig veränderten Odds Ratio der einzelnen Risiko-Allele deutlich. Auch wenn ein Einfluss der gewählten SNPs auf die Hirnstruktur aufgrund der bisher bekannten

biologischen Funktionen der nächstgelegenen Gene plausibel scheint, ist es möglich, dass eine zu geringe Proband_innenzahl und eine rigide Korrektur für multiple Vergleiche dazu führt, dass vorhandene Effekte unentdeckt bleiben.

Des Weiteren besteht die Möglichkeit, dass die morphologischen Effekte von Risiko-Allelen nicht während des gesamten Lebens gleichmäßig ausgeprägt sind. Da die nächstgelegenen Gene vor allem während der Hirnentwicklung eine Rolle spielen, könnten Abweichungen z.B. der kortikalen Dicke während der Pränatalperiode oder der Kindheit ausgeprägt sein und sich zu einem späteren Zeitpunkt normalisieren. Da es sich um eine Studie an Gesunden handelt, sind auch Kompensationsmechanismen, die strukturelle Defizite ausgleichen, vorstellbar. Ebenso könnten in einer Patient_innenkohorte epistatische Effekte zwischen den eingeschlossenen und nicht untersuchten SNPs eintreten, die letztlich zu strukturellen Veränderungen führen. Zudem kommen Interaktionen mit Umwelteffekten wie z.B. Infektionen in der Schwangerschaft oder Cannabis-Konsum (French et al. 2015) in Frage. Für zukünftige Scores könnten außer SNP-bezogener Daten auch der Methylierungsstatus einzelner Gene oder eine genauere Kenntnis der biologischen Funktionen der Gene berücksichtigt werden.

7.3. Einzelanalysen der Risikoallele

Für die Analysen der einzelnen SNPs lässt sich festhalten, dass der Unterschied zwischen der Trägerschaft des Risikoalleles – sowohl hetero- als auch homozygot – und der homozygoten Trägerschaft des Wildalleles untersucht wurde. Aufgrund der geplanten Proband_innenzahl war ein Studiendesign als Korrelationsanalyse zu der Risikoalleldosis nicht sinnvoll. Gleichwohl sind natürlich Unterschiede in der Morphologie hetero- und homozygoter Träger keinesfalls auszuschließen und sollten im Falle einer gezielten Analyse einzelner Gene anhand größerer Gruppen berücksichtigt werden.

Für das Risiko-Allel des rs11139497 SNPs konnten wir eine erhöhte kortikale Dicke im linken Gyrus temporalis superior nachweisen ($p < .05$, FWE-korrigiert). Das nächstgelegene Gen ist TLE1, welches das Überleben von Neuronen beeinflusst und die Differenzierung von Progenitor-Zellen inhibiert (Dastidar et al. 2012). Wie oben beschrieben sind morphometrische Veränderungen des Gyrus temporalis ein typischer Befund, wobei der Ausbruch und Verlauf der Krankheit typischerweise mit einer Abnahme der kortikalen Dicke des Gyrus temporalis superior einhergeht, die bei nicht betroffenen Geschwistern ausbleibt (Goldman et al. 2009, Gutierrez-Galve et al. 2015, van Haren et al. 2011).

Nahe einem funktionell verwandten Gen, TLE3, liegt der SNP rs12148337, für welchen wir eine Korrelation auf Trendlevel (peak level p -Wert $< .1$ nach FWE-Korrektur) mit reduzierter kortikaler Dicke im Bereich der linken Insula sowie mit erhöhter Gyriifizierung des Gyrus fusiformis nachweisen konnten. Bezogen auf die Insula handelt es sich um ein Cluster mit drei Vertices, was die Relevanz und Interpretierbarkeit des Trends weiter einschränkt. Nichtsdestotrotz wurde, wie oben gezeigt wurde, die Insula wiederholt in Zusammenhang mit Schizophrenie und anderen psychischen Erkrankungen gebracht. In einer Studie über 58 der vom PGC veröffentlichten SNPs konnte für das T-Allel (Risiko-Allel) des rs12148337 SNPs ein Zusammenhang mit erhöhter fraktionierter Anisotropie des Spleniums sowie für das A-Allel (ebenfalls Risiko-Allel) des oben genannten rs11139497 SNPs ein Zusammenhang mit der Lateraltität der fraktionierten Anisotropie des Fasciculus uncinatus nachgewiesen werden. Für kein anderes Risiko-Allel konnte in der genannten Studie ein Zusammenhang nachgewiesen werden, ebenso wenig für die kortikale Dicke sowie für einen aus den untersuchten SNPs gebildeten PRS (Voineskos et al. 2016). Weitere Untersuchungen bei größeren Studienpopulationen und mit lokal begrenzter Hypothese könnten hier wertvolle Erkenntnisse liefern.

Ein weiterer Trend ($p < .1$ nach FWE) zeigte sich für Träger_innen des A-Allels des SNPs rs9841616. Hierbei handelt es sich, im Gegensatz zu den übrigen genannten Allelen, um ein protektives Allel (OR für Schizophrenie 0.925 (KI = 0.900-0.951)). Nach Korrektur für multiple Vergleiche bestand für neun Vertices des supramarginalen Gyrus rechts erhöhte Gyriifizierung. Der Gyrus supramarginalis wird, gemeinsam z.B. mit dem Gyrus angularis, als Teil des Default Mode Networks angesehen, welches bei der Herausbildung spontaner Gedanken aktiv ist (Fox et al. 2015) und dessen Funktionalität als möglicher Biomarker für Schizophrenie erwogen wird (Hu et al. 2017). Erneut muss allerdings auf die geringe Größe des Clusters ($k=9$) hingewiesen werden.

Der letzte Trend bezieht sich auf rs6704641. Ein einzelner Vertex im rechten posterioren Cingulum zeigte hier reduzierte kortikale Dicke. Auch das posteriore Cingulum wird mit dem Default Mode Network in Verbindung gebracht (Buckner et al. 2008). Es liegen Berichte über reduziertes GMV in der Struktur bei Schizophrenen vor (Leech und Sharp 2014).

7.4. Ausführungen zu Co-Autorenschaften im Rahmen der Forschungstätigkeit

Das Aufwachsen in urbanen Räumen („Urbanizität“) stellt einen bekannten postnatalen Risikofaktor für Schizophrenie dar. Im Rahmen der Arbeit der Forschungsgruppe konnten wir einen Zusammenhang der Urbanizität in den ersten 15 Lebensjahren und reduzierter kortikaler

Dicke des dorsolateralen und medialen prefrontalen sowie des temporalen Kortex bei Gesunden herstellen (Besteher et al. 2017a). Hierbei handelt es sich um Areale, die typischerweise auch bei schizophrenen Patient_innen in ihrer Morphologie (Eastwood und Harrison 2005, Spalthoff et al. 2018) und Funktion (Callicott et al. 2000) verändert sind. Es ließen sich keine signifikanten Veränderungen der Gyrfizierung sowie des GMV zur Urbanizität herstellen. Dass die Gyrfizierung unbeeinflusst bleibt, unterstützt die These, dass es sich hierbei um einen bereits früher, also perinatal, festgelegten Parameter handelt. Gleichzeitig ergeben sich Ansatzpunkte für die Analyse von Gen- (bzw. SNP-)Umwelt-Interaktionen.

Ebenso erbrachte die parallele Anwendung von volumen- und faltungsbasierten Methoden im Bereich subklinischer Symptome im irritablen bzw. gereizten (Besteher et al. 2017b) und depressiven (Besteher et al. 2019) Spektrum weiterführende Ergebnisse. Bezüglich der Aggression konnten wir eine signifikante ($p < .05$ nach False-Discovery-Rate- (FDR)-Korrektur) Korrelation mit dem GMV im anterioren Cingulum und dem orbitofrontalen Kortex nachweisen. Hierbei könnte es sich um einen Adaptationsvorgang aufgrund erhöhtes Stresses handeln. Für die ebenfalls untersuchte kortikale Dicke ergab sich ein signifikanter Befund im Bereich des rechten Gyrus postcentralis. Erneut konnten keine signifikanten Veränderungen der Gyrfizierung gezeigt werden. Dies lässt den Schluss zu, dass es sich bei Aggression im nicht-pathologischen Bereich oft um eine erlernte Eigenschaft handelt, die sich nicht während der frühen Entwicklung auf die Formung des Kortex niederschlägt.

In einer weiteren Studie in Kooperation mit der Klinik für Psychiatrie des Universitätskrankenhauses Verona sowie der Universitätsklinik in Marburg konnte ein positiver Zusammenhang zwischen subklinischen Symptomen von Agoraphobie und dem GMV des Sulcus calcarinus beidseits sowie des rechten Gyrus lingualis und linken temporalen Gyrus nachgewiesen werden (Besteher et al. 2018). Hier zeigt sich eine Parallele zu der oben beschriebenen Studie zu Hirnentwicklungsgenen. Da in beiden Fällen keine klinische Symptomatik (Schizophrenie bzw. Agoraphobie) vorliegt, sind die beobachteten Veränderungen ohne weitere Untersuchungen nicht sicher als Korrelat der letztendlichen Erkrankung anzusehen. Vielmehr könnten sie ebenso kompensatorische Veränderungen darstellen. Um eine Unterscheidung zu treffen, sind weitere Studien mit Vergleichen zwischen Kranken und Gesunden, die im Idealfall auch genetische Informationen mit einbeziehen, nötig.

8. Schlussfolgerungen

Schizophrenie ist eine schwerwiegende psychische Erkrankung, die auf eine Störung der Hirnentwicklung zurückgeführt wird. Über die exakten Pathomechanismen fehlen weiterhin ausreichende Kenntnisse. Es kann von einem multifaktoriellen Prozess ausgegangen werden, der durch genetische Veränderungen stark beeinflusst wird. Die Analyse von hirmorphometrischen Datensätzen in Zusammenschau mit genetischen Datensätzen, insbesondere PRS- oder SNP-Analysen auf Grundlage von GWAS-Ergebnissen, bietet die Möglichkeit, die Krankheit besser zu verstehen und neue Methoden zur Prävention, Diagnostik und Therapie zu entwickeln.

Im Rahmen dieser Arbeit konnte ein gleichzeitiger Vergleich der Parameter Gyrfizierung, kortikaler Dicke und GMV an einer einheitlichen Studiengruppe durchgeführt werden. Die Ergebnisse zeigen, dass sich die Parameter sinnvoll unterscheiden lassen und unterstützen die These, dass jeweils verschiedene Krankheitsaspekte zugrunde liegen.

Unter der Annahme, dass die Gyrfizierung ein Parameter ist, der maßgeblich durch die frühe Hirnentwicklung beeinflusst wird, während kortikale Dicke und GMV auch durch degenerative Prozesse verändert (in der Regel reduziert) werden, lässt sich festhalten, dass insbesondere der prefrontale bzw. orbitofrontale Kortex, der Temporallappen sowie die Insula in der frühen Entstehung der Schizophrenie eine zentrale Rolle spielen. Hierbei lässt sich weiter differenzieren, dass nicht alle Veränderungen der Gyrfizierung schizophreniespezifisch sind. Insbesondere präfrontale Hypergyrie kommt als Vulnerabilitätsmarker in Frage, während die Insula bei mehreren psychiatrischen Krankheiten verändert zu sein scheint und die exakte Lokalisation sowie Manifestationsform im Bereich des Temporallappens verschiedentlich beschrieben wird.

Für den nPRS konnten wir keine Korrelation mit den untersuchten morphometrischen Parametern nachweisen. Für einen Effekt auf diese könnten zusätzliche Mechanismen (z.B. epistatische Effekte oder perinatale Ereignisse) involviert sein. Zum anderen lässt sich der Negativbefund mit der Zahl der Proband_innen sowie dem bisherigen Kenntnisstand bezüglich der SNPs und der resultierenden PRS begründen. Möglicherweise könnte unter Einbeziehung zusätzlicher Marker in einen Gesamtrisikoscore ein weiterführender Befund erreicht werden.

Es wurde gezeigt, dass das Risikoallel des SNPs rs11139497 die kortikale Dicke beeinflusst ($p < .05$ FWE). Für die Allele der SNPs rs12148337 und rs6704641 konnte ein Trend ($p < .1$ FWE) für lokale Reduktionen der kortikalen Dicke gezeigt werden, für rs12148337 und

rs9841616-Allele ergaben sich Trends für erhöhte lokale Gyriifizierung. Die Veränderungen sind hierbei in Anbetracht der Bedeutung einzelner SNPs sowie der Gruppengröße erwartbar gering und betreffen mit der Insula, dem Gyrus temporalis und Bestandteilen des Default Mode Netzwerkes Areale, die in einem plausiblen Zusammenhang zur Schizophrenie stehen. Die Ergebnisse geben Anhaltspunkte für räumlich enger definierte und spezifischere Hypothesenbildung, um die Ätiogenese der Schizophrenie besser zu verstehen und gezielte Präventions- und Behandlungsstrategien zu entwickeln.

9. Literatur- und Quellenverzeichnis

- Akbarian S, Kim JJ, Potkin SG, Hetrick WP, Bunney WE, Jr., Jones EG. 1996. Maldistribution of interstitial neurons in prefrontal white matter of the brains of schizophrenic patients. *Arch Gen Psychiatry*, 53 (5):425-436.
- Ashburner J, Friston KJ. 2000. Voxel-based morphometry--the methods. *Neuroimage*, 11 (6 Pt 1):805-821.
- Ashburner J, Friston KJ. 2005. Unified segmentation. *Neuroimage*, 26 (3):839-851.
- Besteher B, Gaser C, Spalthoff R, Nenadic I. 2017a. Associations between urban upbringing and cortical thickness and gyrification. *J Psychiatr Res*, 95:114-120.
- Besteher B, Squarcina L, Spalthoff R, Bellani M, Gaser C, Brambilla P, Nenadic I. 2017b. Brain structural correlates of irritability: Findings in a large healthy cohort. *Hum Brain Mapp*, 38 (12):6230-6238.
- Besteher B, Squarcina L, Spalthoff R, Bellani M, Gaser C, Nenadic I, Brambilla P. 2018. Subclinical Agoraphobia Symptoms and Regional Brain Volumes in Non-clinical Subjects: Between Compensation and Resilience? *Front Psychiatry*, 9:541.
- Besteher B, Squarcina L, Spalthoff R, Bellani M, Gaser C, Brambilla P, Nenadic I. 2019. Hippocampal Volume as a Putative Marker of Resilience or Compensation to Minor Depressive Symptoms in a Nonclinical Sample. *Front Psychiatry*, 10:467.
- Bora E, Fornito A, Yucel M, Pantelis C. 2012. The effects of gender on grey matter abnormalities in major psychoses: a comparative voxelwise meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder. *Psychol Med*, 42 (2):295-307.
- Bromet EJ, Fennig S. 1999. Epidemiology and natural history of schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 46 (7):871-881.
- Buckner RL, Andrews-Hanna JR, Schacter DL. 2008. The brain's default network: anatomy, function, and relevance to disease. *Ann N Y Acad Sci*, 1124:1-38.
- Callicott JH, Bertolino A, Mattay VS, Langheim FJ, Duyn J, Coppola R, Goldberg TE, Weinberger DR. 2000. Physiological dysfunction of the dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia revisited. *Cereb Cortex*, 10 (11):1078-1092.
- Dahnke R, Yotter RA, Gaser C. 2013. Cortical thickness and central surface estimation. *Neuroimage*, 65:336-348.
- Dastidar SG, Narayanan S, Stifani S, D'Mello SR. 2012. Transducin-like enhancer of Split-1 (TLE1) combines with Forkhead box protein G1 (FoxG1) to promote neuronal survival. *J Biol Chem*, 287 (18):14749-14759.
- de Haan L, Bakker JM. 2004. Overview of neuropathological theories of schizophrenia: from degeneration to progressive developmental disorder. *Psychopathology*, 37 (1):1-7.
- Dima D, Breen G. 2015. Polygenic risk scores in imaging genetics: Usefulness and applications. *J Psychopharmacol*, 29 (8):867-871.
- Docherty AR, Hagler DJ, Jr., Panizzon MS, Neale MC, Eyer LT, Fennema-Notestine C, Franz CE, Jak A, Lyons MJ, Rinker DA, Thompson WK, Tsuang MT, Dale AM, Kremen WS. 2015. Does degree of gyrification underlie the phenotypic and genetic associations between cortical surface area and cognitive ability? *Neuroimage*, 106:154-160.
- Dragovic M, Hammond G. 2005. Handedness in schizophrenia: a quantitative review of evidence. *Acta Psychiatr Scand*, 111 (6):410-419.
- Eastwood SL, Harrison PJ. 2003. Interstitial white matter neurons express less reelin and are abnormally distributed in schizophrenia: towards an integration of molecular and morphologic aspects of the neurodevelopmental hypothesis. *Mol Psychiatry*, 8 (9):769, 821-731.
- Eastwood SL, Harrison PJ. 2005. Interstitial white matter neuron density in the dorsolateral prefrontal cortex and parahippocampal gyrus in schizophrenia. *Schizophr Res*, 79 (2-3):181-188.

- Fatemi SH, Folsom TD. 2009. The neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia, revisited. *Schizophr Bull*, 35 (3):528-548.
- Fox KC, Spreng RN, Ellamil M, Andrews-Hanna JR, Christoff K. 2015. The wandering brain: meta-analysis of functional neuroimaging studies of mind-wandering and related spontaneous thought processes. *Neuroimage*, 111:611-621.
- French L, Gray C, Leonard G, Perron M, Pike GB, Richer L, Seguin JR, Veillette S, Evans CJ, Artiges E, Banaschewski T, Bokde AW, Bromberg U, Bruehl R, Buchel C, Cattrell A, Conrod PJ, Flor H, Frouin V, Gallinat J, Garavan H, Gowland P, Heinz A, Lemaitre H, Martinot JL, Nees F, Orfanos DP, Pangelinan MM, Poustka L, Rietschel M, Smolka MN, Walter H, Whelan R, Timpson NJ, Schumann G, Smith GD, Pausova Z, Paus T. 2015. Early Cannabis Use, Polygenic Risk Score for Schizophrenia and Brain Maturation in Adolescence. *JAMA Psychiatry*, 72 (10):1002-1011.
- Goldman AL, Pezawas L, Mattay VS, Fischl B, Verchinski BA, Chen Q, Weinberger DR, Meyer-Lindenberg A. 2009. Widespread reductions of cortical thickness in schizophrenia and spectrum disorders and evidence of heritability. *Arch Gen Psychiatry*, 66 (5):467-477.
- Goodkind M, Eickhoff SB, Oathes DJ, Jiang Y, Chang A, Jones-Hagata LB, Ortega BN, Zaiko YV, Roach EL, Korgaonkar MS, Grieve SM, Galatzer-Levy I, Fox PT, Etkin A. 2015. Identification of a common neurobiological substrate for mental illness. *JAMA Psychiatry*, 72 (4):305-315.
- Gottesman, II, Shields J. 1967. A polygenic theory of schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 58 (1):199-205.
- Gupta CN, Calhoun VD, Rachakonda S, Chen J, Patel V, Liu J, Segall J, Franke B, Zwiers MP, Arias-Vasquez A, Buitelaar J, Fisher SE, Fernandez G, van Erp TG, Potkin S, Ford J, Matalon D, McEwen S, Lee HJ, Mueller BA, Greve DN, Andreassen O, Agartz I, Gollub RL, Sponheim SR, Ehrlich S, Wang L, Pearlson G, Glahn DC, Sprooten E, Mayer AR, Stephen J, Jung RE, Canive J, Bustillo J, Turner JA. 2015. Patterns of Gray Matter Abnormalities in Schizophrenia Based on an International Mega-analysis. *Schizophr Bull*, 41 (5):1133-1142.
- Gutierrez-Galve L, Chu EM, Leeson VC, Price G, Barnes TR, Joyce EM, Ron MA. 2015. A longitudinal study of cortical changes and their cognitive correlates in patients followed up after first-episode psychosis. *Psychol Med*, 45 (1):205-216.
- Harrison PJ. 1999. The neuropathology of schizophrenia. A critical review of the data and their interpretation. *Brain*, 122 (Pt 4):593-624.
- Harrison PJ. 2015. Recent genetic findings in schizophrenia and their therapeutic relevance. *J Psychopharmacol*, 29 (2):85-96.
- Haukvik UK, Schaer M, Nesvag R, McNeil T, Hartberg CB, Jonsson EG, Eliez S, Agartz I. 2012. Cortical folding in Broca's area relates to obstetric complications in schizophrenia patients and healthy controls. *Psychol Med*, 42 (6):1329-1337.
- Hilker R, Helenius D, Fagerlund B, Skytthe A, Christensen K, Werge TM, Nordentoft M, Glenthøj B. 2018. Heritability of Schizophrenia and Schizophrenia Spectrum Based on the Nationwide Danish Twin Register. *Biol Psychiatry*, 83 (6):492-498.
- Hu ML, Zong XF, Mann JJ, Zheng JJ, Liao YH, Li ZC, He Y, Chen XG, Tang JS. 2017. A Review of the Functional and Anatomical Default Mode Network in Schizophrenia. *Neurosci Bull*, 33 (1):73-84.
- Kirov G, Rees E, Walters JT, Escott-Price V, Georgieva L, Richards AL, Chambert KD, Davies G, Legge SE, Moran JL, McCarroll SA, O'Donovan MC, Owen MJ. 2014. The penetrance of copy number variations for schizophrenia and developmental delay. *Biol Psychiatry*, 75 (5):378-385.
- Laursen TM, Wahlbeck K, Hallgren J, Westman J, Osby U, Alinaghizadeh H, Gissler M, Nordentoft M. 2013. Life expectancy and death by diseases of the circulatory system in patients with bipolar disorder or schizophrenia in the Nordic countries. *PLoS One*, 8 (6):e67133.
- Lavoie S, Bartholomeuz CF, Nelson B, Lin A, McGorry PD, Velakoulis D, Whittle SL, Yung AR, Pantelis C, Wood SJ. 2014. Sulcogyral pattern and sulcal count of the orbitofrontal cortex in individuals at ultra high risk for psychosis. *Schizophr Res*, 154 (1-3):93-99.
- Leech R, Sharp DJ. 2014. The role of the posterior cingulate cortex in cognition and disease. *Brain*, 137 (Pt 1):12-32.

- Lewis G, David A, Andreasson S, Allebeck P. 1992. Schizophrenia and city life. *Lancet*, 340 (8812):137-140.
- Li G, Wang L, Shi F, Lyall AE, Ahn M, Peng Z, Zhu H, Lin W, Gilmore JH, Shen D. 2016. Cortical thickness and surface area in neonates at high risk for schizophrenia. *Brain Struct Funct*, 221 (1):447-461.
- Lieberman JA, Sheitman BB, Kinon BJ. 1997. Neurochemical sensitization in the pathophysiology of schizophrenia: deficits and dysfunction in neuronal regulation and plasticity. *Neuropsychopharmacology*, 17 (4):205-229.
- Liu B, Zhang X, Cui Y, Qin W, Tao Y, Li J, Yu C, Jiang T. 2017. Polygenic Risk for Schizophrenia Influences Cortical Gyrfication in 2 Independent General Populations. *Schizophr Bull*, 43 (3):673-680.
- Luders E, Thompson PM, Narr KL, Toga AW, Jancke L, Gaser C. 2006. A curvature-based approach to estimate local gyrfication on the cortical surface. *Neuroimage*, 29 (4):1224-1230.
- Mancini-Marie A, Yoon U, Jimenez J, Fahim C, Potvin S, Grant JA, Laverdure-Dupont D, Dube AA, Betrisey C, Rainville P, Evans AC, Stip E, Mendrek A. 2015. Sex, Age, Symptoms and Illness Duration and Their Relation with Gyrfication Index in Schizophrenia. *Clin Schizophr Relat Psychoses*, 12 (2):57-68.
- Marshall CR, Howrigan DP, Merico D, Thiruvahindrapuram B, Wu W, Greer DS, Antaki D, Shetty A, Holmans PA, Pinto D, Gujral M, Brandler WM, Malhotra D, Wang Z, Fajardo KVF, Maile MS, Ripke S, Agartz I, Albus M, Alexander M, Amin F, Atkins J, Bacanu SA, Belliveau RA, Jr., Bergen SE, Bertalan M, Bevilacqua E, Bigdeli TB, Black DW, Bruggeman R, Buccola NG, Buckner RL, Bulik-Sullivan B, Byerley W, Cahn W, Cai G, Cairns MJ, Champion D, Cantor RM, Carr VJ, Carrera N, Catts SV, Chambert KD, Cheng W, Cloninger CR, Cohen D, Cormican P, Craddock N, Crespo-Facorro B, Crowley JJ, Curtis D, Davidson M, Davis KL, Degenhardt F, Del Favero J, DeLisi LE, Dikeos D, Dinan T, Djurovic S, Donohoe G, Drapeau E, Duan J, Dudbridge F, Eichhammer P, Eriksson J, Escott-Price V, Essioux L, Fanous AH, Farh KH, Farrell MS, Frank J, Franke L, Freedman R, Freimer NB, Friedman JI, Forstner AJ, Fromer M, Genovese G, Georgieva L, Gershon ES, Giegling I, Giusti-Rodriguez P, Godard S, Goldstein JI, Gratten J, de Haan L, Hamshere ML, Hansen M, Hansen T, Haroutunian V, Hartmann AM, Henskens FA, Herms S, Hirschhorn JN, Hoffmann P, Hofman A, Huang H, Ikeda M, Joa I, Kahler AK, Kahn RS, Kalaydjieva L, Karjalainen J, Kavanagh D, Keller MC, Kelly BJ, Kennedy JL, Kim Y, Knowles JA, Konte B, Laurent C, Lee P, Lee SH, Legge SE, Lerer B, Levy DL, Liang KY, Lieberman J, Lonnqvist J, Loughland CM, Magnusson PKE, Maher BS, Maier W, Mallet J, Mattheisen M, Mattingsdal M, McCarley RW, McDonald C, McIntosh AM, Meier S, Meijer CJ, Melle I, Meshulam-Gately RI, Metspalu A, Michie PT, Milani L, Milanova V, Mokrab Y, Morris DW, Muller-Myhsok B, Murphy KC, Murray RM, Myin-Germeys I, Nenadic I, Nertney DA, Nestadt G, Nicodemus KK, Nisenbaum L, Nordin A, O'Callaghan E, O'Dushlaine C, Oh SY, Olincy A, Olsen L, O'Neill FA, Van Os J, Pantelis C, Papadimitriou GN, Parkhomenko E, Pato MT, Paunio T, Psychosis Endophenotypes International C, Perkins DO, Pers TH, Pietilainen O, Pimm J, Pocklington AJ, Powell J, Price A, Pulver AE, Purcell SM, Quested D, Rasmussen HB, Reichenberg A, Reimers MA, Richards AL, Roffman JL, Roussos P, Ruderfer DM, Salomaa V, Sanders AR, Savitz A, Schall U, Schulze TG, Schwab SG, Scolnick EM, Scott RJ, Seidman LJ, Shi J, Silverman JM, Smoller JW, Soderman E, Spencer CCA, Stahl EA, Strengman E, Strohmaier J, Stroup TS, Suvisaari J, Svrakic DM, Szatkiewicz JP, Thirumalai S, Tooney PA, Veijola J, Visscher PM, Waddington J, Walsh D, Webb BT, Weiser M, Wildenauer DB, Williams NM, Williams S, Witt SH, Wolen AR, Wormley BK, Wray NR, Wu JQ, Zai CC, Adolfsson R, Andreassen OA, Blackwood DHR, Bramon E, Buxbaum JD, Cichon S, Collier DA, Corvin A, Daly MJ, Darvasi A, Domenici E, Esko T, Gejman PV, Gill M, Gurling H, Hultman CM, Iwata N, Jablensky AV, Jonsson EG, Kendler KS, Kirov G, Knight J, Levinson DF, Li QS, McCarroll SA, McQuillan A, Moran JL, Mowry BJ, Nothen MM, Ophoff RA, Owen MJ, Palotie A, Pato CN, Petryshen TL, Posthuma D, Rietschel M, Riley BP, Rujescu D, Sklar P, St Clair D, Walters JTR, Werge T, Sullivan PF, O'Donovan MC, Scherer SW, Neale BM, Sebat J, Cnv, Schizophrenia Working Groups of the Psychiatric Genomics C. 2017. Contribution of

- copy number variants to schizophrenia from a genome-wide study of 41,321 subjects. *Nat Genet*, 49 (1):27-35.
- Murray RM, Lewis SW. 1987. Is schizophrenia a neurodevelopmental disorder? *Br Med J (Clin Res Ed)*, 295 (6600):681-682.
- Nenadic I, Maitra R, Basmanav FB, Schultz CC, Lorenz C, Schachtzabel C, Smesny S, Nothen MM, Cichon S, Reichenbach JR, Sauer H, Schlosser RG, Gaser C. 2015. ZNF804A genetic variation (rs1344706) affects brain grey but not white matter in schizophrenia and healthy subjects. *Psychol Med*, 45 (1):143-152.
- Owen MJ, O'Donovan MC. 2017. Schizophrenia and the neurodevelopmental continuum:evidence from genomics. *World Psychiatry*, 16 (3):227-235.
- Palaniyappan L, Mallikarjun P, Joseph V, White TP, Liddle PF. 2011. Folding of the prefrontal cortex in schizophrenia: regional differences in gyrification. *Biol Psychiatry*, 69 (10):974-979.
- Pantelis C, Velakoulis D, McGorry PD, Wood SJ, Suckling J, Phillips LJ, Yung AR, Bullmore ET, Brewer W, Soulsby B, Desmond P, McGuire PK. 2003. Neuroanatomical abnormalities before and after onset of psychosis: a cross-sectional and longitudinal MRI comparison. *Lancet*, 361 (9354):281-288.
- Pardinas AF, Holmans P, Pocklington AJ, Escott-Price V, Ripke S, Carrera N, Legge SE, Bishop S, Cameron D, Hamshere ML, Han J, Hubbard L, Lynham A, Mantripragada K, Rees E, MacCabe JH, McCarroll SA, Baune BT, Breen G, Byrne EM, Dannlowski U, Eley TC, Hayward C, Martin NG, McIntosh AM, Plomin R, Porteous DJ, Wray NR, Caballero A, Geschwind DH, Huckins LM, Ruderfer DM, Santiago E, Sklar P, Stahl EA, Won H, Agerbo E, Als TD, Andreassen OA, Baekvad-Hansen M, Mortensen PB, Pedersen CB, Borglum AD, Bybjerg-Grauholm J, Djurovic S, Durmishi N, Pedersen MG, Golimbet V, Grove J, Hougaard DM, Mattheisen M, Molden E, Mors O, Nordentoft M, Pejovic-Milovancevic M, Sigurdsson E, Silagadze T, Hansen CS, Stefansson K, Stefansson H, Steinberg S, Tosato S, Werge T, Consortium G, Consortium C, Collier DA, Rujescu D, Kirov G, Owen MJ, O'Donovan MC, Walters JTR. 2018. Common schizophrenia alleles are enriched in mutation-intolerant genes and in regions under strong background selection. *Nat Genet*, 50 (3):381-389.
- Ripke S, O'Dushlaine C, Chambert K, Moran JL, Kahler AK, Akterin S, Bergen SE, Collins AL, Crowley JJ, Fromer M, Kim Y, Lee SH, Magnusson PK, Sanchez N, Stahl EA, Williams S, Wray NR, Xia K, Bettella F, Borglum AD, Bulik-Sullivan BK, Cormican P, Craddock N, de Leeuw C, Durmishi N, Gill M, Golimbet V, Hamshere ML, Holmans P, Hougaard DM, Kendler KS, Lin K, Morris DW, Mors O, Mortensen PB, Neale BM, O'Neill FA, Owen MJ, Milovancevic MP, Posthuma D, Powell J, Richards AL, Riley BP, Ruderfer D, Rujescu D, Sigurdsson E, Silagadze T, Smit AB, Stefansson H, Steinberg S, Suvisaari J, Tosato S, Verhage M, Walters JT, Multicenter Genetic Studies of Schizophrenia C, Levinson DF, Gejman PV, Kendler KS, Laurent C, Mowry BJ, O'Donovan MC, Owen MJ, Pulver AE, Riley BP, Schwab SG, Wildenauer DB, Dudbridge F, Holmans P, Shi J, Albus M, Alexander M, Campion D, Cohen D, Dikeos D, Duan J, Eichhammer P, Godard S, Hansen M, Lerer FB, Liang KY, Maier W, Mallet J, Nertney DA, Nestadt G, Norton N, O'Neill FA, Papadimitriou GN, Ribble R, Sanders AR, Silverman JM, Walsh D, Williams NM, Wormley B, Psychosis Endophenotypes International C, Arranz MJ, Bakker S, Bender S, Bramon E, Collier D, Crespo-Facorro B, Hall J, Iyegbe C, Jablensky A, Kahn RS, Kalaydjieva L, Lawrie S, Lewis CM, Lin K, Linszen DH, Mata I, McIntosh A, Murray RM, Ophoff RA, Powell J, Rujescu D, Van Os J, Walshe M, Weisbrod M, Wiersma D, Wellcome Trust Case Control C, Donnelly P, Barroso I, Blackwell JM, Bramon E, Brown MA, Casas JP, Corvin AP, Deloukas P, Duncanson A, Jankowski J, Markus HS, Mathew CG, Palmer CN, Plomin R, Rautanen A, Sawcer SJ, Trembath RC, Viswanathan AC, Wood NW, Spencer CC, Band G, Bellenguez C, Freeman C, Hellenthal G, Giannoulatou E, Pirinen M, Pearson RD, Strange A, Su Z, Vukcevic D, Donnelly P, Langford C, Hunt SE, Edkins S, Gwilliam R, Blackburn H, Bumpstead SJ, Dronov S, Gillman M, Gray E, Hammond N, Jayakumar A, McCann OT, Liddle J, Potter SC, Ravindrarajah R, Ricketts M, Tashakkori-Ghanbaria A, Waller MJ, Weston P, Widaa S, Whittaker P, Barroso I, Deloukas P, Mathew CG, Blackwell JM, Brown MA, Corvin AP, McCarthy MI, Spencer CC, Bramon E, Corvin

- AP, O'Donovan MC, Stefansson K, Scolnick E, Purcell S, McCarroll SA, Sklar P, Hultman CM, Sullivan PF. 2013. Genome-wide association analysis identifies 13 new risk loci for schizophrenia. *Nat Genet*, 45 (10):1150-1159.
- Roberts GW, Colter N, Lofthouse R, Johnstone EC, Crow TJ. 1987. Is there gliosis in schizophrenia? Investigation of the temporal lobe. *Biol Psychiatry*, 22 (12):1459-1468.
- Sasabayashi D, Takayanagi Y, Nishiyama S, Takahashi T, Furuichi A, Kido M, Nishikawa Y, Nakamura M, Noguchi K, Suzuki M. 2017a. Increased Frontal Gyrification Negatively Correlates with Executive Function in Patients with First-Episode Schizophrenia. *Cereb Cortex*, 27 (4):2686-2694.
- Sasabayashi D, Takayanagi Y, Takahashi T, Koike S, Yamasue H, Katagiri N, Sakuma A, Obara C, Nakamura M, Furuichi A, Kido M, Nishikawa Y, Noguchi K, Matsumoto K, Mizuno M, Kasai K, Suzuki M. 2017b. Increased Occipital Gyrification and Development of Psychotic Disorders in Individuals With an At-Risk Mental State: A Multicenter Study. *Biol Psychiatry*, 82 (10):737-745.
- Schaer M, Cuadra MB, Tamarit L, Lazeyras F, Eliez S, Thiran JP. 2008. A surface-based approach to quantify local cortical gyrification. *IEEE Trans Med Imaging*, 27 (2):161-170.
- Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics C. 2014. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature*, 511 (7510):421-427.
- Selemon LD, Goldman-Rakic PS. 1999. The reduced neuropil hypothesis: a circuit based model of schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 45 (1):17-25.
- Selten JP, Cantor-Graae E, Kahn RS. 2007. Migration and schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry*, 20 (2):111-115.
- Simeone JC, Ward AJ, Rotella P, Collins J, Windisch R. 2015. An evaluation of variation in published estimates of schizophrenia prevalence from 1990 horizontal line 2013: a systematic literature review. *BMC Psychiatry*, 15:193.
- Spalthoff R, Gaser C, Nenadic I. 2018. Altered gyrification in schizophrenia and its relation to other morphometric markers. *Schizophr Res*.
- Striedter GF, Srinivasan S, Monuki ES. 2015. Cortical folding: when, where, how, and why? *Annu Rev Neurosci*, 38:291-307.
- Terwisscha van Scheltinga AF, Bakker SC, van Haren NE, Derks EM, Buizer-Voskamp JE, Boos HB, Cahn W, Hulshoff Pol HE, Ripke S, Ophoff RA, Kahn RS, Psychiatric Genome-wide Association Study C. 2013. Genetic schizophrenia risk variants jointly modulate total brain and white matter volume. *Biol Psychiatry*, 73 (6):525-531.
- Van der Auwera S, Wittfeld K, Homuth G, Teumer A, Hegenscheid K, Grabe HJ. 2015. No association between polygenic risk for schizophrenia and brain volume in the general population. *Biol Psychiatry*, 78 (11):e41-42.
- Van der Auwera S, Wittfeld K, Shumskaya E, Bralten J, Zwiers MP, Onnink AM, Usberti N, Hertel J, Volzke H, Volker U, Hosten N, Franke B, Grabe HJ. 2017. Predicting brain structure in population-based samples with biologically informed genetic scores for schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 174 (3):324-332.
- van Haren NE, Schnack HG, Cahn W, van den Heuvel MP, Lepage C, Collins L, Evans AC, Hulshoff Pol HE, Kahn RS. 2011. Changes in cortical thickness during the course of illness in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 68 (9):871-880.
- Voineskos AN, Felsky D, Wheeler AL, Rotenberg DJ, Levesque M, Patel S, Szeszko PR, Kennedy JL, Lencz T, Malhotra AK. 2016. Limited Evidence for Association of Genome-Wide Schizophrenia Risk Variants on Cortical Neuroimaging Phenotypes. *Schizophr Bull*, 42 (4):1027-1036.
- Weinberger DR. 1987. Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 44 (7):660-669.
- Woods BT. 1998. Is schizophrenia a progressive neurodevelopmental disorder? Toward a unitary pathogenetic mechanism. *Am J Psychiatry*, 155 (12):1661-1670.

- Wray NR, Gottesman, II. 2012. Using summary data from the danish national registers to estimate heritabilities for schizophrenia, bipolar disorder, and major depressive disorder. *Front Genet*, 3:118.
- Zilles K, Palomero-Gallagher N, Amunts K. 2013. Development of cortical folding during evolution and ontogeny. *Trends Neurosci*, 36 (5):275-284.
- Zilles K, Armstrong E, Schleicher A, Kretschmann HJ. 1988. The human pattern of gyrification in the cerebral cortex. *Anat Embryol (Berl)*, 179 (2):173-179.

10. Anhang

10.1. Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:

- Herr Professor Igor Nenadić (Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie an der Phillips-Universität Marburg)
- Herr Professor Christian Gaser (Biomagnetisches Zentrum, Universitätsklinik Jena),

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Ort, Datum

Robert Spalthoff

10.2. Danksagung

Mein besonderer Dank richtet sich an erster Stelle an meinen Doktorvater Herrn Professor Igor Nenadić. Durch seine äußerst kompetente sowie jederzeit geduldige Betreuung verhalf er mir maßgeblich zur Fertigstellung meiner Promotionsarbeit. Mit seinen Impulsen ermöglichte er mir nicht nur wertvolle Einblicke in das wissenschaftliche Arbeiten, sondern weckte darüber hinaus mein Interesse für die klinische Arbeit im Fachgebiet der Psychiatrie und Psychotherapie.

Mein ebenfalls herzlicher Dank gilt Herrn Professor Christian Gaser für seine Förderung und wichtige Unterstützung bei der informationstechnischen Auswertung und Darstellung der erhobenen Daten. Die enge Zusammenarbeit und präzise Hilfestellung sowie der unkomplizierte Umgang waren mir jederzeit eine Freude.

Weiterhin danken möchte ich Frau Dr. med. Bianca Besther für ihre rege an mich weitergegebenen Erfahrungen zur wissenschaftlichen Arbeitsweise sowie für die sehr angenehme Zusammenarbeit in der Arbeitsgruppe. Ebenso gilt mein Dank den übrigen Mitgliedern der AG.

Ich danke allen Proband_innen, die geduldig und zuverlässig bereit waren, an unseren Studien teilzunehmen und damit unsere Arbeit überhaupt erst möglich machen. Bei technischen Problemen und dem allgemeinen Umgang mit dem MRT standen die medizinisch-technischen Mitarbeiter_innen des Forschungs-MRTs am Steiger jederzeit freundlich zur Verfügung.

Auch danke ich dem Interdisziplinären Zentrum für Klinische Forschung des Universitätsklinikums Jena für die Förderung während meines Forschungssemesters.

Nicht zuletzt möchte ich meiner Familie und meinen Freund_innen für die stetige Motivation sowie den konstruktiven Austausch herzlich danken.