

Wilhelm-Feuerlein-Preis

Kandidatengeni-basierte genetische Assoziationsstudien bei Alkoholabhängigkeit

Jens Treutlein¹, Gunter Schumann^{1,2}¹ Molekulargenetisches Labor² Klinik für Sucht und Abhängiges Verhalten

Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Zentralinstitut für Seelische Gesundheit, Mannheim

psychoneuro 2005; 31 (11): 576–579

In den letzten Jahre konnten zunehmend biologische Ursachen von Suchterkrankungen identifiziert werden. Auf der Grundlage bestehenden Wissens über bekannte, an Suchterkrankungen beteiligten Neurotransmittern und weiteren regulatorischen Proteinen (z.B. der zirkadianen Rhythmik) wurden wesentliche Fortschritte bei der Analyse molekularer Rezeptorfunktionen, der Identifikation relevanter Signaltransduktionskaskaden und der Interaktion verschiedener Neurotransmittersysteme erzielt. Adoptions- und Zwillingsstudien, ebenso wie spezialisierte Linien von Nagetieren (bei denen teilweise Mutationen in definierten genetischen Bereichen induziert wurden) gaben bereits starke Hinweise darauf, dass Erbllichkeit für die Anfälligkeit gegenüber Substanzabhängigkeit eine große Rolle spielt. Durch neue methodische Entwicklungen, sowohl in der biomedizinischen Analytik als auch in der statistischen Genetik, ergibt sich jetzt die Möglichkeit, unter den vielen genetischen Varianten des menschlichen Genoms solche ausfindig zu machen, die einen Beitrag zu Suchterkrankungen leisten. Genetische Korrelate für Substanzabhängigkeit werden in diesem Artikel an Alkoholabhängigkeit beispielhaft dargestellt: Es werden wesentliche Prinzipien der genetischen Assoziationsanalyse und der Linkage-Disequilibrium (LD) basierten Kartierung von Kandidatengen erläutert. Eigene Ergebnisse – insbesondere zur Bedeutung prä- und postsynaptischer glutamaterger Signaltransduktionsgene und Gene der zirkadianen Rhythmik – zeigen mögliche Anwendungen der neuen Technologien auf.

Zu den Kriterien einer Alkoholabhängigkeit gehören starkes Verlangen, die Substanz zu konsumieren, Kontrollverlust, Entzugssymptomatik, Toleranzentwicklung, Vernachlässigung anderer Interessen und anhaltender Gebrauch trotz schädlicher Folgen (ICD-10).

8% der Bevölkerung in Deutschland sind alkoholabhängig oder betreiben Alkoholmissbrauch. Jährlich sterben etwa 42 000 Menschen an alkohol-assoziierten Erkrankungen. Die kumulativen Kosten der Alkoholkrankheit belaufen sich auf ca. 20 Milliarden Euro/Jahr (DHS

2002). Alkohol ist in den USA die dritthäufigste Todesursache und führt zu 75% aller Leberzirrhosen, 4% aller Krebserkrankungen und ist an 45% aller Verkehrsunfälle beteiligt (10).

Im Gegensatz zu Mendelschen Erbkrankheiten wie der Sichelzellanämie oder der Phenylketonurie, die durch einen genetischen Defekt in einem spezifischen Genlocus verursacht werden (monogene Erbkrankheiten), liegt die Ursache für komplexe Erkrankungen – zu denen auch die Alkoholabhängigkeit gezählt wird – in der genetischen

Konstitution weniger (oligogene) oder vieler (polygener) chromosomaler Loci begründet. Daraus resultiert gleichzeitig eine geringe Penetranz der Erkrankung, da ein spezifisches Krankheitsallel weder notwendig noch genügend ist, um die Erkrankung alleine hervorzurufen. Diese Eigenschaft, zusammen mit dem Beitrag multipler Umweltfaktoren („Gen X Environment Interaction“), erschweren das Auffinden der krankheitsassoziierten genomischen Bereiche und machen für eine Assoziationsanalyse die Genotypisierung einer großen Anzahl klinischer Proben notwendig, um Allele zu finden, die statistisch mit der Erkrankung assoziiert sind (14).

Für Alkoholabhängigkeit beim Menschen wurde der große vererbliche Anteil in Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien nachgewiesen (6, 8, 11, 13, 16, 17). Die Stärke des genetischen Einflusses, der Hereditätskoeffizient, der den Prozentsatz der ausschließlich durch genetische Faktoren erklärbarer Varianz angibt, liegt bei etwa 50% (9). Aus Segregationsanalysen ist weiterhin bekannt, dass bei der Alkoholabhängigkeit kein Hauptgeneffekt besteht (4) und, wie für komplexe Erkrankungen typisch, jedes einzelne beteiligte Gen nur geringe Auswirkungen auf die Ausbildung des Phäno-

typs hat. Um einen klinisch relevanten genetischen Beitrag zu identifizieren, müssen bei Alkoholabhängigkeit daher verschiedene Variationen unterschiedlicher Gene aus unterschiedlichen biologischen Signalssystemen betrachtet werden.

Analyse der Variation funktioneller biologischer Systeme

Aufgrund von methodischen Einschränkungen wurden bisher nur wenige Polymorphismen einer kleinen Anzahl potenzieller Kandidatengene untersucht. Diese Untersuchungen konnten einerseits den Fortschritten in der Grundlagenforschung nur teilweise gerecht werden und bargen andererseits die Gefahr einer Simplifizierung der medizinisch-klinischen Theoriebildung bei der Alkoholabhängigkeit.

Tatsächlich jedoch umfassen die wesentlichen, an Suchterkrankungen beteiligten Komponenten nicht nur die eigentlichen Neurotransmitterrezeptoren, deren Aktivität durch den Alkoholeinfluss verändert wird, sondern weiterhin alle Moleküle, die am Auf- und Abbau der Transmitter beteiligt sind oder die zellinterne Signaltransduktion bis zur Effektorstruktur vermitteln (15). Dadurch können – je nach der genetischen Konstitution eines Patienten – additive und subtraktive Effekte der einzelnen Komponenten eines Neurotransmittersystems auf die Verfügbarkeit eines Neurotransmitters im synaptischen Spalt (2) und die intrazelluläre Weiterleitung seines Signals zustande kommen. Kritisch bei der Suche nach Dispositionsgenen für komplexe Erkrankungen ist daher die sorgfältige, aber umfassende Auswahl von zu untersuchenden Kandidatengenen. Dazu stehen prinzipiell drei Strategien zur Verfügung:

- 1.) Funktionelle Kandidatengene, deren Produkte nach bisherigem Wissen in die Pathophysiologie der Erkrankung involviert sind
- 2.) Positionelle Kandidatengene, die in solchen Kandidatenregionen liegen, die aufgrund von vorausgegangenen Kopplungsuntersuchungen eine konsistente Kopplung mit der Erkrankung aufwei-

sen, wobei Konsistenz durch Metaanalysen oder Übereinstimmung zwischen mehreren unabhängigen Kopplungsanalysen zu belegen ist

- 3.) Untersuchungen von Kandidatengenen, die in Tiermodellen erkrankungsanaloge Phänotypen beeinflussen.

Eine vierte Möglichkeit, die Identifikation von positionalen Kandidatengenen in genomweiten Assoziationsuntersuchungen, ist derzeit noch nicht realisierbar.

Die Alternative 1 hat sich trotz der zahlreichen Untersuchungen bisher nicht als erfolgreich erwiesen; für die Alternative 2 sind aufgrund der geringen Anzahl bisher vorliegender Kopplungsanalysen die Voraussetzungen nicht besonders günstig. Dagegen muss die dritte Alternative aufgrund der großen Anzahl bisher durchgeführter, erfolgreicher tiergenetischer Untersuchungen als ertragreicher angesehen werden (19).

Genotypisierung an klinisch relevanten Proben ist insbesondere bei der Untersuchung von oligogen vererbten Erkrankungen unerlässlich: Obwohl Untersuchungen am Tiermodell ein hohes Maß an funktioneller Relevanz aufweisen und sich daher als Quelle zur Identifikation von Kandidatengenen eignen (19), ist eine Übertragung dieser Befunde auf den Menschen nicht unproblematisch. Dass dies nicht nur aufgrund des offensichtlichen Speziesunterschiedes der Fall ist, soll beispielhaft am „Knock-out“-Modell aufgezeigt werden: Eine Begrenzung der Gültigkeit des Modells besteht u.a. darin, dass der Verlust eines Genes, welches in einer Eizelle eliminiert wurde, schwerwiegende qualitative Konsequenzen haben kann. Diese sind weitreichender als die zumeist leichtgradigen quantitativen Konsequenzen für die Genfunktion aufgrund genetischer Variationen bei häufigen oligogenen Erkrankungen.

Zudem kann durch kompensatorische Mechanismen bei den untersuchten Tieren der Effekt des Kandidatengens auf den analysierten Phänotyp maskiert werden. Bei Knock-

out-Modellen von oligogen regulierten Verhaltensweisen wie Alkoholtrinkverhalten können abweichende Untersuchungsergebnisse zusätzlich durch Gen-Umgebungsinteraktionen zustande kommen. So ließ sich die beobachtete Alkoholsensitivität und fehlende Toleranzentwicklung bei gleichartigen Protein Tyrosin Kinase (PTK) fyn-Knock-out-Mäusen nicht in jedem Labor replizieren (3, 12).

Diese Einschränkungen stellen die Bedeutung von Knock-out-Modellen für die Identifikation von Kandidatengenen nicht in Frage, sondern sollen vielmehr auf die Wichtigkeit von Genotypisierungsergebnissen an klinischen Proben aufmerksam machen.

Im Fall der glutamatergen Signaltransduktion beispielsweise bedeutet das, dass mehrere Gene, deren Bedeutung bezüglich des Alkohol-Trinkverhaltens tierexperimentell belegt ist, am Menschen untersucht werden müssen. Dadurch kann dann der relative Anteil der einzelnen Gene und Mutationen an Alkoholabhängigkeit bzw. relevanten Phänotypen dieser Erkrankung beim Menschen bestimmt werden.

Eine derartige Berücksichtigung kombinierter Geneffekte könnte eine klinisch relevante Varianzaufklärung genetischer Ursachen der Alkoholabhängigkeit zur Folge haben und die Entwicklung individualisierter Therapien weiter vorantreiben.

Die Arbeit „The clock gene *Period2* influences the glutamatergic system and thereby modulates alcohol consumption“ (22) stellt bereits jetzt exemplarisch die Verknüpfung einer tierexperimentellen Untersuchung eines Kandidatengenes mit einer Assoziationsuntersuchung am Menschen dar. Sie ist insofern beispielhaft für die funktionelle Validierung von Genen der Signaltransduktion, die in Beziehung zum glutamatergen System stehen.

In den letzten Jahren wurden neue Strategien zur phänotypischen Charakterisierung geschaffen, die auf biologischen Kriterien beruhen, bereits mit der Hinsicht darauf, die Zahl der an einem Phänotyp beteiligten Kandidatengene so stark wie

möglich einzugrenzen. Diese so genannten „Endophänotypen“ oder „intermediäre Phänotypen“ könnten eine erfolgreiche Strategie darstellen, um Risikogene oligogener Erkrankungen einfacher als bisher zu identifizieren (5).

Der phänotypische Effekt der Sucht wird neben Umwelteinflüssen durch funktionelle genetische Polymorphismen vermittelt

Gegenstand der Assoziationsuntersuchungen sind derzeit vor allem sog. „single nucleotide polymorphisms“ (SNPs), da sie die häufigste Form genetischer Variation darstellen (1). Funktionelle SNPs führen zu „missense“-Mutationen (Änderung der Aminosäuresequenz) oder zur Veränderung der transkriptionellen Aktivität, und können dadurch die Funktion oder Menge des gebildeten Proteins beeinflussen. Weiterhin können jedoch auch „stumme“ oder intronische SNPs – bisher oft als ineffektiv bezeichnet und daher wenig beachtet – einen Einfluss auf transkriptionelle Aktivität oder auf das Spleißing der pre-m-RNA haben.

Case-Control-Assoziationsanalysen sind eine sensitive Detektionsmethode für allelischen Beitrag zu Suchterkrankungen

Häufige, oligogene Erkrankungen mit komplexem Erbgang eignen sich für Assoziationsanalysen mittels Kandidatengenen. Während Linkageanalysen gut geeignet sind für seltene Einzelgeneffekte, sind Kandidatengenstudien insbesondere dann geeignet, wenn das Risiko, das mit jedem Kandidatengen assoziiert ist, relativ gering ist: Assoziationsstudien weisen bei oligogenen Erkrankungen eine höhere statistische „power“ für die Identifikation von Risikogenen als Kopplungsanalysen auf (14).

Ziel von genetischen Assoziationsstudien ist es, einen oder mehrere Genotypen mit einem oder mehreren Phänotypen statistisch zu korrelieren: Die typische Abfolge einer Assoziationsstudie beginnt mit dem Studiendesign, der Kandidatengen- und SNP-Auswahl (die in vielen Fällen eine „SNP-discovery“ in den

in Frage kommenden Kandidatengenen bei einem Umfang von 16–32 Probanden voraussetzt). Diesen Vorarbeiten folgen die laborexperimentelle Durchführung der Genotypisierung, das Auslesen der allelischen Information für jedes Individuum und die abschließende statistische Analyse von Genotyp- und Phänotypdaten.

In eigenen Arbeiten, die die Bedeutung glutamaterger Gene für die Alkoholabhängigkeit untersuchen, wird die Auflösungskraft von Assoziationsstudien deutlich: An klinisch relevanten Proben konnte eine Assoziation eines Genotyps in der Promoterregion des Protein-Tyrosin-Kinase (PTK) *fyn*-Genes mit Alkoholabhängigkeit und mit spezifischen Phänotypen von Alkoholabhängigkeit nachgewiesen werden (20). Eine Beteiligung eines weiteren, stummen SNPs im Exon 1 des NMDA-Rezeptor 2B an Alkoholabhängigkeit konnte dagegen in mehreren Untersuchungen ausgeschlossen werden (18, 23, 24). Auch nicht-Neurotransmitter-Komponenten spielen bei Alkoholabhängigkeit eine wichtige Rolle, da sie Neurotransmittersysteme beeinflussen können: Mäuse mit einem mutierten zirkadianen Rhythmusgen „Period 2“ (*Per2*) weisen eine reduzierte Expression des Gens für den Glutamat-Transporter (*EAAT2*) und eine vermehrte Alkoholtrinkmenge auf. Auf klinisch relevanter Seite konnte in derselben Untersuchung bei alkoholabhängigen Patienten eine Assoziation von vermehrtem Alkoholkonsum (> 300g/d) mit einem Haplotyp des *Per2* Gens gefunden werden (22).

Die Assoziationen von SNPs der PTK *fyn* und von *Per2* können somit im humanen System die pathophysiologischen Annahmen zur Bedeutung des glutamatergen Systems für die Alkoholkrankung bestätigen (21). Allerdings handelt es sich bei den bisherigen Untersuchungen nicht um Befunde, die auf einer systematischen Analyse genetischer Variationen von Kandidatengenen beruhen, was die Aussagekraft sowohl der positiven, als auch der negativen Assoziationsergebnisse einschränkt (23). Darüber hinaus be-

steht Forschungsbedarf noch bei der Untersuchung der funktionellen Relevanz der untersuchten SNPs.

Linkage Disequilibrium (LD)-Mapping: Systematisches Testen von Kandidatengenen auf Assoziation

Aktuelle methodische Entwicklungen auf dem Gebiet der Molekulargenetik und der statistischen Genetik erlauben eine umfassende Analyse genetischer Variationen von potenziellen Kandidatengenen. Hierbei werden SNPs potenzieller Kandidatengene aus Datenbanken (z.B. dbSNP) oder durch Sequenzanalyse identifiziert und auf ihre Verteilungsmuster hin analysiert. Auf diese Weise können Gruppen von SNPs, die ein gleiches Verteilungsmuster aufweisen, identifiziert und sog. Haplotypblöcke geschätzt werden, innerhalb derer eine hohe Kopplung von allelischen Zuständen benachbarter SNPs entlang des DNA-Stranges (Linkage Disequilibrium = LD) vorliegt.

Bei einer LD-Mapping-Analyse werden nur sogenannte „haplotype-tagging SNPs“, die Haplotypblöcke (DNA-Bereiche mit hohem LD) allelisch definieren und zwischen den häufigsten Haplotypen diskriminieren, selektiert und genotypisiert. Dabei muss der genotypisierende Forscher eine Balance zwischen zwei wichtigen Variablen finden: Einerseits will man mengenmäßig eine ausreichend große Anzahl an haplotype-tagging SNPs genotypisieren, um möglichst alle Haplotypblöcke zu erfassen und zuverlässig ein mögliches Linkage Disequilibrium mit einem kausativen Allel feststellen zu können, andererseits müssen die finanziellen Ressourcen erschwinglich bleiben. Hauptsächlich bestimmt die lokale LD-Architektur über den Genotypisierungsaufwand, denn je mehr LD vorhanden ist, desto weniger Marker zur systematischen Assoziationsanalyse müssen zur Abdeckung des gesamten Gens analysiert werden.

Die aus solchen LD-basierenden Genotypisierungen resultierenden Assoziationsuntersuchungen erlauben dann über indirekte allelische Assoziation eine Aussage über alle

identifizierten SNPs des Gens und mithin über das gesamte Gen (7). Aufgrund dieser methodischen Fortschritte kann die bisherige Begrenzung von Assoziationsstudien auf einige wenige genetische Variationen überwunden werden. Allerdings erfordert die vereinfachte Analyse genetischer Variationen angesichts der Fülle möglicher Kandidatengene eine stringente Auswahl.

Weitere Phänotypen der Substanzabhängigkeit

Humangenetische Untersuchungen (Zwillingsstudien) weisen aus, dass die genetisch definierte Risikomasse für Alkoholismus zu einem substanzuellen Teil (50%) mit der genetischen Risikomasse für andere substanzgebundene Abhängigkeiten identisch ist. Erklärung findet diese Beobachtung darin, dass verschiedene Substanzen in die gleichen Neurotransmitter- und Signaltransduktionswege eingreifen. Umfassende funktionelle Untersuchungen zur Bedeutung der genetischen Variabilität von Neurotransmitter/Signaltransduktionssystemen für die Alkoholabhängigkeit sind daher auch als entscheidende Etappe für die Entwicklung neuartiger Therapien anderer Suchterkrankungen anzusehen.

Die genetischen Untersuchungen von häufigen Erkrankungen mit komplexem Erbgang, wie der Alkoholabhängigkeit, befinden sich derzeit in einem raschen Wandel. Der Übergang zu einer systematischen Analyse von Kandidatengenen und die damit verbundene Abkehr von der Untersuchung einzelner, isolierter genetischer Variationen mit letztendlich geringer Aussagekraft wird es der genetischen Alkoholforschung ermöglichen, die Ergebnisse der Grundlagenforschung in klinisch relevante Ergebnisse umzusetzen.

Key Words

addiction – genetic – alcohol dependence

Literatur

1. Brookes AJ. The essence of SNPs. *Gene* 1999; 234: 177–186
2. Comings DE, Wu S, Chiu C, Ring RH,

Gade R, Ahn C, MacMurray JP, Dietz G and Muhleman D. Polygenic inheritance of Tourette syndrome, stuttering, attention deficit hyperactivity, conduct and oppositional defiant disorder: the additive and subtractive effect of the three dopaminergic genes – DRD2, D beta H, and DAT1. *American J Med Genet* 1996; 67: 264–288

3. Cowen MS, Schumann G, Yagi T, Spanagel R. Role of Fyn tyrosine kinase in ethanol consumption by mice. *Alcohol Clin Exp Res* 2003; 27: 1213–1219

4. Enoch MA, Goldman D. Genetics of alcoholism and substance abuse. *Psychiatr Clin North Am* 1999; 22: 289–299

5. Gottesmann I, Gold T. The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *American Journal of Psychiatry* 2003; 160: 636–645

6. Hrubec Z, Omenn GS. Evidence of genetic predisposition to alcoholic cirrhosis and psychosis: twin concordances for alcoholism and its biological end points by zygosity among male veterans. *Alcohol Clin Exp Res* 1981; 5: 207–215

7. Johnson GC, Esposito L, Barratt BJ, Smith AN, Heward J, Di Genova G, Ueda H, Cordell HJ, Eaves IA, Dudbridge F, Twells RC, Payne F, Hughes W, Nutland S, Stevens H, Carr P, Tuomilehto-Wolf E, Tuomilehto J, Gough SC, Clayton DG, Todd JA. Haplotype tagging for the identification of common disease genes. *Nat Genet* 2001; 29: 233–237

8. Kendler KS, Heath AC, Neale MC, Kessler RC, Eaves LJ. A population-based twin study of alcoholism in women. *JAMA* 1992; 268: 1877–1882

9. Maier W. Genetik von Alkoholabus und Alkoholabhängigkeit. In: Mann K und Buchkremer G (Hsg.). *Sucht, Grundlagen, Diagnostik, Therapie*. Stuttgart, Thieme-Verlag, 1996: 85–97

10. McGinnis JM, Foege WH. Actual causes of death in the United States. *JAMA* 1993; 270: 2207–2212

11. McGue M, Pickens RW, Svikis DS. Sex and age effects on the inheritance of alcohol problems: a twin study. *J Abnorm Psychol* 1992; 101: 3–17

12. Miyakawa T, Yagi T, Kitazawa H, Yasuda M, Kawai N, Tsuboi, Niki H. Fyn-kinase as a determinant of ethanol sensitivity: relation to NMDA-receptor function. *Science* 1997; 278: 698–701

13. Pickens RW, Svikis DS, McGue M, Lykken DT, Heston LL, Clayton PJ. Heterogeneity in the inheritance of alcoholism. A study of male and female twins. *Arch Gen Psychiatry* 1991; 48: 19–28

14. Risch NJ. Searching for genetic determinants in the new millennium. *Nature* 2000; 405: 847–856

15. Saam C, Treutlein J, Schumann G. Molekularbiologische Grundlagen. In: Riederer P und Laux G (Hsg.). *Neuropsychopharmaka*. Heidelberg, Springer, in press

16. Schuckit MA. A clinical model of genetic influences in alcohol dependence. *J Stud Alcohol* 1994; 55: 5–17

17. Schuckit MA. Low level of response to alcohol as a predictor of future alcoholism. *Am J Psychiatry* 1994; 151: 184–189

18. Schumann G, Rujescu D, Szegedi A, Singer P, Wiemann S, Wellek S, Giegling I, Klawe C, Angheliescu I, Heinz A, Spanagel R, Mann K, Henn FA, Dahmen N. No association of alcohol dependence with a NMDA-receptor 2B gene variant. *Mol Psychiatry* 2003; 8: 11–12

19. Schumann G, Spanagel R, Mann K. Candidate genes for alcohol dependence: animal studies. *Alcohol Clin Exp Res* 2003; 27: 880–888

20. Schumann G, Rujescu D, Kissling C, Soyka M, Dahmen N, Preuss UW, Wieman S, Depner M, Wellek S, Lascorz J, Bondy B, Giegling I, Angheliescu I, Cowen MS, Poustka A, Spanagel R, Mann K, Henn FA, Szegedi A. Analysis of genetic variations of protein tyrosine kinase fyn and their association with alcohol dependence in two independent cohorts. *Biol Psychiatry* 2003; 54: 1422–1426

21. Schumann G, Saam C, Heinz A, Mann K, Treutlein J. Identifikation von Risikogenen für Alkoholabhängigkeit unter besonderer Berücksichtigung des NMDA-Rezeptorsystems. *Nervenarzt* 2005; in press

22. Spanagel R, Pendyala G, Abarca C, Zghoul T, Sanchis-Segura C, Chiara Magnone M, Lascorz J, Depner M, Holzberg D, Soyka M, Schreiber S, Matsuda F, Lathrop M, Schumann G, Albrecht U. The clock gene *Period2* influences the glutamatergic system and thereby modulates alcohol consumption. *Nature Medicine* 2005; 11: 35–42

23. Wellek S, Schumann G. Statistical confirmation of negative results of association studies in genetic epidemiology. *Am J Med Genet* 2004; 128: 126–130

24. Wernicke C, Samochovec J, Schmidt LG, Winterer G, Smolka M, Kucharska-Mazur J, Horodnicki J, Gallinat J, Rommelspacher H. Polymorphisms in the N-methyl-D-aspartate receptor 1 and 2B subunits are associated with alcoholism-related traits. *Biol Psychiatry* 2003; 54: 922–928

Korrespondenzadresse:

PD Dr. Gunter Schumann
Klinik für Sucht und Abhängiges Verhalten
Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie
Zentralinstitut für Seelische Gesundheit, J5
68159 Mannheim
schumann@zi-mannheim.de