

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades  
an der Fakultät für Erziehungswissenschaft, Psychologie und  
Bewegungswissenschaft, Fachbereich Psychologie der Universität  
Hamburg

**Beteiligung des NPSR1 Polymorphismus  
an der Interpretation von  
Angstreaktionen bei  
Angstkonditionierung sowie Beteiligung  
des DAT1 an der Angstextinktion**

vorgelegt von  
Karolina Anna Raczka

Hamburg, 2012

Promotionsprüfungsausschuss

Vorsitzender:	PD Dr. Michael Rose
1. Dissertationsgutachter:	Prof. Dr. Christian Büchel
2. Dissertationsgutachterin:	Prof. Dr. Monique Janneck
1. Disputationsgutachter:	Prof. Dr. Volker Franz
2. Disputationsgutachter:	PD Dr. Andreas von Leupoldt

Tag der Disputation: 29.06.2012

Druckjahr: 2012  
Druckort: Hamburg

Die Dissertation wurde von Juli 2007 bis Januar 2011 unter direkter Anleitung von Herrn Dr. Raffael Kalisch am Institut für Systemische Neurowissenschaften, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, angefertigt.

Daten aus Studie 1 wurden unter dem Titel

A neuropeptide S receptor variant associated with overinterpretation of fear reactions: a potential neurogenetic basis for catastrophizing. Raczka KA, Gartmann N, Mechias ML, Reif A, Büchel C, Deckert J, Kalisch R. *Mol Psychiatry*. 2012 Apr;17(4):468

veröffentlicht.

Daten aus Studie 2 wurden unter dem Titel

Empirical support for an involvement of the mesostriatal dopamine system in human fear extinction. Raczka KA, Mechias ML, Gartmann N, Reif A, Deckert J, Pessiglione M, Kalisch R. *Transl Psychiatry* 2011; 1: e12

veröffentlicht.

Für Thomas, Juri und Zappes

# Zusammenfassung

Menschen unterscheiden sich hinsichtlich ihrer emotionalen und physiologischen Reaktionen auf ein und den selben angstausslösenden Reiz sowie der Löschung (Extinktion) einer gelernten Angstreaktion. So liegt es nahe anzunehmen, dass zumindest ein Teil dieser interindividuellen Variabilität auf genetische Dispositionen zurückzuführen ist.

Angstkonditionierung sowie Angstextinktion sind Mechanismen, die im Zusammenhang mit der Pathogenese von Angsterkrankungen stehen und als Modelle verwendet werden, um die emotionalen und physiologischen Reaktionen in angst- oder furchtauslösenden Situationen zu messen. Weiter kann die Anwendung formaler lerntheoretischer Modelle mit den Konzepten von Gefahrenerwartung und der Verletzung der Gefahrenerwartung benutzt werden, um neue Erkenntnisse bezüglich neuronaler Strukturen bei Angstkonditionierung und -extinktion zu erbringen.

In dieser Arbeit wurde der Einfluss unterschiedlicher funktioneller Polymorphismen auf Angstkonditionierung (Studie 1) und Angstextinktion (Studie 2) untersucht.

In **Studie 1** konnte gezeigt werden, dass Menschen, die Träger des Neuropeptid S Rezeptor (NPSR1) T-Allels sind, ihre Angstreaktionen stärker auf konditionierte Stimuli bewerten als AA-Allel-Träger. Auch zeigten T-Träger stärkere neuronale Aktivität im rostralen dorsomedialen präfrontalen Kortex (dmPFC). Diese Region wird mit der expliziten, bewussten Verarbeitung von drohenden Stimuli in Verbindung gebracht. Zudem korrelierte diese Hirnaktivierung mit den Angstbewertungen der Versuchspersonen. Zusammengefasst deuten die Ergebnisse auf NPSR1 als neuen genetischen Einflussfaktor und den rostralen dmPFC als modulierende Gehirnregion bei der Überinterpretation von Angstreaktionen hin. Weiter bieten sie eine plausible Erklärung für die Assoziation zwischen dem NPSR1 T-Allel und der Panikstörung.

In **Studie 2** wurde überprüft, ob in der Angstextinktion das Weglassen des aversiven Reizes (UCS) als eine Art belohnende Sicherheitsvorhersage angesehen werden könnte. Da bekannt ist, dass das Belohnungssystem durch das meso-striatale Dopaminsystem moduliert wird, wurde in dieser Studie angenommen, dass genetische Veränderungen des meso-striatalen Dopaminsystems auch die Angstextinktion beeinflussen könnten. So wurde in Studie 2 gezeigt, dass 9-repeat (9R) Allel-Träger des Dopamintransporter Gens DAT1 schneller während der Extinktion lernen. Auch konnte höhere neurale Aktivität im ventralen Striatum

während der Extinktion bei 9R-Trägern gefunden werden. Diese Ergebnisse geben einen ersten Hinweis, dass Extinktion ein appetitiver Lernprozess sein könnte und eröffnen somit Möglichkeiten für innovative Therapien.

# Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung .....	1
1.1	Theoretischer Hintergrund .....	1
1.1.1	Grundbegriffe der Genetik .....	1
1.1.2	Verhaltensgenetik und psychiatrische Genetik.....	8
1.1.3	Genetik komplexer psychischer Erkrankungen .....	10
1.1.4	Imaging Genetics .....	12
1.2	Angst und Angsterkrankungen in der Gesellschaft.....	13
1.2.1	Ätiologie der Angsterkrankungen .....	14
1.2.2	Psychologische Erklärungsmodelle der Entstehung von Angsterkrankungen..	17
1.2.3	Therapeutische Interventionen bei Angsterkrankungen.....	18
1.3	Klassische Angstkonditionierung.....	20
1.3.1	Instruierte und uninstruierte Angstkonditionierung und zugrundeliegende Bewertungsprozesse .....	22
1.3.2	Rescorla-Wagner-Modell als mathematische Implementierung klassischer Konditionierung .....	23
1.4	Neurotransmittersysteme .....	26
1.4.1	Neuropeptid S .....	26
1.4.2	Dopamin .....	29
1.5	Neurobiologische Grundlagen von Angstkonditionierung und Angstextinktion.....	36
1.5.1	Angstkonditionierung beim Nagetier.....	36
1.5.2	Angstextinktion beim Nagetier .....	40
1.5.3	Angstkonditionierung beim Menschen .....	43
1.5.4	Angstextinktion beim Menschen .....	47

2	Hypothesen .....	48
3	Methoden.....	50
3.1	Screeningprozedur.....	50
3.2	Genotypisierung.....	52
3.3	Versuchsdesign.....	52
3.4	Stimuli.....	54
3.4.1	Konditionierte Reize .....	54
3.4.2	Unkonditionierte Reize .....	54
3.5	Messung und Auswertung der subjektiven Bewertungen.....	54
3.6	Messung und Auswertung der elektrodermalen Aktivität.....	55
3.7	Messung und Auswertung der Reaktionszeiten .....	55
3.8	Funktionale Magnetresonanztomographie.....	56
3.8.1	Einführung.....	56
3.8.2	Physikalische Grundlagen.....	56
3.8.3	Applikation des Radiofrequenzpulses .....	57
3.8.4	Entstehung des MR-Signals.....	57
3.8.5	Relaxation .....	58
3.8.6	Bildkontrast .....	59
3.8.7	Vom Signal zum Bild .....	59
3.8.8	Ortskodierung beim Bildkontrast .....	60
3.8.9	Der BOLD-Kontrast.....	61
3.8.10	Bildvorverarbeitung .....	63
3.8.11	Statistische Auswertung von MRT-Datensätzen .....	63
3.9	Studienspezifische Messung und Auswertung der Bildgebung.....	65
4	Studie 1: Einfluss des Neuropeptid S Polymorphismus auf die Interpretation von Angstreaktionen .....	67

4.1	Einleitung .....	67
4.2	Methoden .....	71
4.2.1	Versuchsteilnehmer .....	71
4.2.2	Auswertung der Verhaltensdaten .....	71
4.2.3	Auswertung der MR-Bilder .....	75
4.3	Ergebnisse .....	77
4.3.1	Verhaltensergebnisse mit zwei Genotypgruppen (AA,T+).....	77
4.3.2	Verhaltensergebnisse mit drei Genotypgruppen (AA,AT,TT) .....	79
4.3.3	fMRT-Ergebnisse .....	80
4.4	Diskussion.....	83
5	Studie 2: Einfluss des meso-striatalen dopaminergen Systems auf Angstextinktion.....	87
5.1	Einleitung .....	87
5.2	Methoden .....	90
5.2.1	Versuchsteilnehmer .....	90
5.2.2	Stimuli und Versuchsaufgabe .....	92
5.2.3	Datenauswertung.....	92
5.2.4	Rescorla-Wagner-Modell.....	92
5.2.5	Auswertung der MR-Bilder .....	95
5.3	Ergebnisse.....	98
5.3.1	Verhaltensdaten .....	98
5.3.2	Bildgebung: Alle Versuchspersonen .....	100
5.3.3	Bildgebung: Genetische Analyse .....	101
5.4	Diskussion.....	103
6	Ausblick .....	106
7	Literaturangaben.....	107
8	Anhang.....	130



# 1 Einleitung

In diesem Kapitel werden die Zusammenhänge zwischen Angst, Angsterwerb und Angstextinktion in Abhängigkeit von genetischen Faktoren näher beleuchtet und der derzeitige Forschungsstand zusammengefasst. Es werden grundlegende Begriffe wie Genetik, Angsterkrankungen, Angsterwerb, theoretische Lernmodelle sowie deren mathematische Implementation erläutert.

## 1.1 Theoretischer Hintergrund

### 1.1.1 Grundbegriffe der Genetik

#### Desoxyribonukleinsäure (DNA)

Die Desoxyribonukleinsäure (DNA) ist ein Molekül, das in Eukaryonten (alle Organismen mit einem Zellkern) und Prokaryonten (Bakterien und Viren) vorkommt. Die DNA hat zwei Funktionen:

- Sie enthält die Informationen zur Biosynthese von Proteinen.
- Sie besitzt die Fähigkeit sich zu vervielfachen und ihre Information weiterzugeben (Replikation).

#### Aufbau der DNA

Das Gerüst der DNA setzt sich aus einem Rückgrat von Desoxyribose-Molekülen<sup>1</sup> zusammen, die durch Phosphatbrücken miteinander verknüpft sind. An den Desoxyribose-Molekülen befinden sich heterozyklische Basen. Insgesamt kommen in der DNA vier verschiedene Nukleinsäurebasen vor:

- Adenin (A),
- Thymin (T),
- Guanin (G) und
- Cytosin (C).

---

<sup>1</sup> Desoxyribose ist ein Zucker, der aus fünf Kohlenstoffatomen besteht. Die Kohlenstoffatome der Desoxyribose werden von 1' bis 5' durchnummeriert.

Die Struktur der DNA ist eine Doppelhelix, die aus zwei antiparallel rechts umeinander gewundenen Einzelsträngen besteht. Die Einzelstränge werden durch Wasserstoffbrückenverbindungen der Nukleinsäurebasen zusammengehalten. Die Basenpaarung erfolgt zwischen A und T durch zwei Wasserstoffbrücken und zwischen C und G durch drei Wasserstoffbrücken.

### **Chromosomen**

Chromosomen bilden die Organisationsstruktur der DNA eukaryotischer Zellen. Ein Chromosom ist ein langer, kontinuierlicher DNA-Doppelstrang, der um eine Vielzahl von Kernproteinen herumgewickelt und mehrfach zu einer kompakteren Form spiralisiert ist. Chromosomen befinden sich im Zellkern, in welchem sie in 23 Chromosomenpaaren fest aufgewickelt sind. Zwei Chromosomen, von insgesamt 46, sind Geschlechterchromosomen (XX bei Frauen, XY bei Männern): Sie werden auch Gonosomen genannt. Die übrigen werden als Autosomen bezeichnet und ihrer Größe nach von 1 bis 22 durchnummeriert. Beim Menschen liegen alle Autosomen in zweifacher Ausführung vor. Diese werden als homologe Chromosomen bezeichnet. Alle Chromosomen, die in einem Individuum vorkommen, bilden zusammen den Karyotyp.

### **Gen**

Der Begriff Gen bezeichnet den Bereich der DNA auf einem Chromosom, der die Information für die Proteinbiosynthese trägt. Der Mensch besitzt insgesamt etwa 25000 - 40000 Gene (Human Genome Sequencing Consortium, 2004). Auf identischen Bereichen der DNA, den Genloki, liegen immer die gleichen Gene vor.<sup>2</sup>

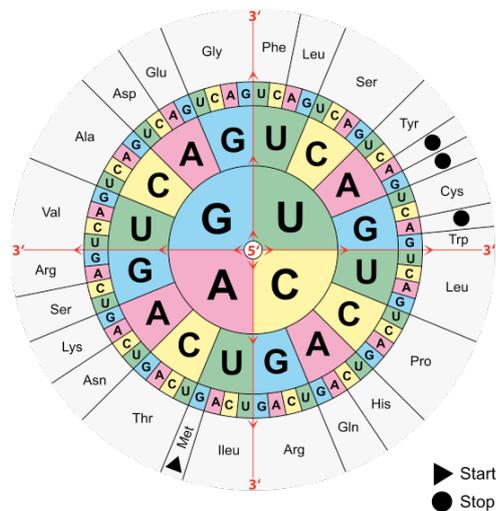
Ein Gen besteht aus einem Promotor, Introns sowie Exons. Introns stellen die nicht kodierenden Elemente des Gens dar, wohingegen die Exons die kodierenden Elemente eines Gens sind. Wichtigste Eigenschaft des Promotors ist die spezifische Wechselwirkung mit bestimmten Proteinen, welche den Start der Proteinbiosynthese des Gens vermitteln.

---

<sup>2</sup> Genloki werden in folgender Weise angegeben: 1) Nummer des Chromosoms, 2) Arm des Chromosoms (p für kurzer Arm, q für langer Arm), 3) anfärbbare Bande evtl. 4) Unterbande

## Der genetische Code

In der Basensequenz der Polynukleotidsequenz der DNA liegt der für nahezu alle Lebewesen gültige genetische Code für die Information zur Proteinbiosynthese. Nach der von Khorana, Nirenberg und Ochoa 1966 vollständig entschlüsselten Regel wird jede der 20 nicht-essentiellen Aminosäuren durch einen linearen Zusammenschluss von je drei Nukleotidbasen, auch Codon genannt, codiert (Nirenberg, 2004). Die einzelnen Basen-Triplets werden hintereinander, d.h. kommafrei und nicht überlappend angeordnet. Das ergibt für vier verschiedene Basen  $4^3 = 64$  Code-Möglichkeiten (siehe Abbildung 1). 61 der 64 möglichen Codon-Triplets stehen für 20 bei der Proteinbiosynthese eingebauten Aminosäuren zur Verfügung. Jede Aminosäure wird durch mehr als ein Triplet kodiert, den meisten Aminosäuren (außer Methionin und Tryptophan) sind zwei bis drei Codons zugeordnet. Man spricht von einem entarteten Code. Die restlichen drei der 64 Triplets sind sogenannte Nonsens-Triplets, die als Stopp-Codons zur Terminierung des Proteinbiosyntheseprozesses oder als Initiationscodon dienen.



**Abbildung 1:** Die Kodierung der Aminosäuren (außen) durch die Basen-Triplets auf der messenger-RNA (mRNA) ist von innen (5') nach außen (3') zu lesen; Quelle: <http://de.wikipedia.org/wiki/Code-Sonne>

## Proteinbiosynthese

Durch den Vorgang der Proteinbiosynthese, auch Genexpression genannt, wird die in den Genen vorliegende Information umgesetzt. Dabei werden Genprodukte gebildet, die aus Aminosäuren bestehen. Die Proteinbiosynthese wird in zwei Prozesse, Transkription und Translation, sowie dazugehörige Regulationsmechanismen unterteilt, die im Folgenden kurz beschrieben werden.

Beim ersten Schritt, der Transkription genannt wird, wird eine einsträngige Ribonukleinsäure (RNA) anhand der DNA als Vorlage synthetisiert. Grundsätzlich wird zwischen drei Klassen von RNA, der messenger-RNA (mRNA), der transfer-RNA (tRNA) und der ribosomalen-RNA (rRNA), unterschieden, wobei nur die mRNA die Information der DNA für die Proteinbiosynthese zugänglich macht.

Der Aufbau der mRNA unterscheidet sich in drei Punkten von der DNA: Die mRNA ist einsträngig, sie enthält das Nukleotid Uracil (U) (anstelle T), sowie Ribose (anstelle von Dextoxyribose). Die Synthese der mRNA erfolgt an der DNA durch das Enzym RNA-Polymerase. Nachdem die DNA-Doppelhelix an einer betreffenden Stelle durch Auflösung der Wasserstoffbrückenverbindungen geöffnet worden ist, bindet die RNA-Polymerase an den Promoter eines Gens und liest die Teilbereiche des einzelnen DNA Stranges in 5'-3' Richtung ab, die durch ein Startsignal und ein Endsignal gekennzeichnet sind. Am kodierenden Strang der DNA lagern sich durch Basenpaarung komplementäre Ribonukleotide an. In Teilprozessen der Transkription, auf die hier nicht näher eingegangen werden soll, werden die Introns entfernt und die Exons so einandergesetzt, dass sie ein durchgehendes mRNA-Molekül bilden.

Im zweiten Teil der Proteinbiosynthese, der Translation, wird die mRNA in die kodierenden Proteine umgesetzt. Während die Transkription im Zellkern stattfindet, ist für die Translation ein Transport der mRNA-Moleküle vom Kern in das Cytoplasma der Zelle notwendig. Nur dort sind die notwendigen Ribosomen zur Proteinbiosynthese verfügbar, an denen die Übersetzung der Nukleotidsequenz eines mRNA-Moleküls in die Aminosäuresequenz eines Polypeptids erfolgt. Ribosomen bestehen aus Proteinen sowie rRNA und setzen sich aus zwei Untereinheiten zusammen. Zur Initiierung der Proteinbiosynthese erfolgt die Bindung der Ribosomuntereinheiten an die Ribosomenbindungsstelle der mRNA. Der eigentliche Beginn der Proteinsynthese erfolgt

am Initiationscodon der mRNA, der Basenabfolge AUG. Für die Bildung des Proteins ist das Enzym Polypeptidtransferase notwendig. Der Abbruch der Synthese einer Polypeptidkette, die Termination, erfolgt am Stoppcodon, der Basenabfolge UAG, UAA oder UGA der mRNA.

Da nur ein Bruchteil aller Gene eines Genoms in einer Zelle exprimiert werden, werden unterschiedliche Mechanismen zur Steuerung der Proteinbiosynthese benötigt. Diese Steuerung wird als Genregulation bezeichnet und kann an unterschiedlichen Stellen und Prozessen der Proteinbiosynthese ansetzen. An der Genregulation können Regulatorgene sowie andere Proteine beteiligt sein.

Neben biologischen Prozessen können auch Umwelteinflüsse Auswirkungen auf die Proteinbiosynthese haben.

### **Genotyp und Phänotyp**

Wie bereits beschrieben, besitzt der Mensch zwischen 25000 und 40000 Gene (Human Genome Sequencing Consortium, 2004). Alle Gene des Genoms sind in jeder Zelle des menschlichen Organismus enthalten, wobei nur ein sehr geringer Teil (etwa 20%) dieser Gene von der betreffenden Zelle genutzt wird. So werden nicht alle im Genom enthaltenen Informationen exprimiert. Nur wenn ein Protein nach dem entsprechenden Bauplan, dem genetischen Code, synthetisiert wird, wird dieses Gen in einem Merkmal sichtbar. Dieser Vorgang der Proteinbiosynthese wurde im vorherigen Kapitel erklärt. Das exprimierte Merkmal wird als phänotypisches Merkmal bezeichnet. Der Phänotyp eines Individuums ist die Summe seiner phänotypischen Merkmale und kann z.B. durch bestimmte Verhaltensmerkmale oder Krankheitsdiagnosen definiert werden. Der Phänotyp entsteht auf Grundlage des Genotyps. Mit dem Begriff Genotyp wird die Gesamtheit der genetischen Information eines Organismus oder einer Zelle, bzw. im engeren Sinne die Kombination von DNA-Sequenzen an einem Genlocus bezeichnet. Bei Autosomen beschreibt der Genotyp, ob eine Variante homozygot (also auf beiden Genkopien) oder heterozygot (also auf nur einer Genkopie) auftritt.

## Genetische Variation

Das menschliche Genom besteht aus etwa 3,3 Milliarden Basenpaaren (bp), wobei 99,9% identisch zwischen den Individuen sind. Die restlichen 0,1 % repräsentieren jedoch immer noch drei Millionen Sequenzunterschiede (McCarthy & Hirschhorn, 2008).

Unterschiedliche Varianten eines Gens an einem bestimmten Locus auf einem Chromosom werden als Allel bezeichnet. In der Regel gibt es von jedem Gen viele Allele, die mehr oder weniger große Unterschiede in der DNA-Sequenz aufweisen. Da Menschen einen doppelten Chromosomensatz haben, kann jeder Mensch auf den beiden homologen Chromosomen am betreffenden Genlocus entweder zwei unterschiedliche Allele (heterozygot) eines Gens oder aber zwei gleiche Allele (homozygot) des betreffenden Gens besitzen.

Sequenzunterschiede, die zu Allelen führen, können durch Chromosomenmutationen entstehen. Chromosommutationen sind strukturelle Veränderungen eines Chromosoms, die wie folgt unterschieden werden: Während bei der Deletion ein Teilstück der DNA verloren geht, wird bei der Insertion ein Teilstück hinzugefügt. Bei der Translokation können Chromosomen auseinanderbrechen und dabei Teilstücke verlieren, welche an ein anderes Chromosom angeheftet werden. Bei der Duplikation ist ein Abschnitt des Chromosoms doppelt vorhanden. Schließlich kann sich innerhalb eines Chromosoms bei der Inversion ein Stück wieder umgekehrt einfügen (Buselmaier, 1991). Weiter wird unter der Punktmutation der Austausch, die Addition oder Ersetzung nur eines Nukleotids verstanden.

Eine Art von genetischer Variation, mit der sich die vorliegende Arbeit beschäftigt, ist der genetische Polymorphismus. Unter einem genetischen Polymorphismus (aus dem Griechischen πολυμορφισμός, „Vielgestaltigkeit“) versteht man das Vorhandensein von mehr als einer Genvariante (d.h. mindestens eines Allels) innerhalb einer Population. Dabei muss die Auftretenswahrscheinlichkeit dieser Genvariation größer als 1% sein, da es sich sonst um eine Mutation handelt.

Die häufigsten genetischen Polymorphismen sind die Einzelnukleotidpolymorphismen (engl.: single nucleotide polymorphism; SNP), bei denen ein einzelnes Nucleotid des DNA-

Moleküls verändert ist, sowie die Variable Number of Tandem Repeats (VNTR). Beide sollen hier im Detail besprochen werden, da sich meine Arbeit mit diesen beschäftigt.

### **Einzelnukleotidpolymorphismus (Single Nucleotide Polymorphisms)**

Beim Einzelnukleotidpolymorphismus (SNP) ist ein einziges Nukleotid (A, C, G, T) des DNA-Moleküls durch Punktmutation, Insertion oder Deletion verändert (Wang et al., 1998). SNPs stellen ca. 90 % aller genetischen Variationen im menschlichen Genom dar (F. S. Collins, Brooks, & Chakravarti, 1998). Im menschlichen Genom finden sich SNPs im Durchschnitt etwa alle 200 – 1000 Basenpaare (F. S. Collins et al., 1998). SNPs können in kodierenden sowie nicht kodierenden Bereichen der DNA liegen.

In **Studie 1** der vorliegenden Arbeit wurde der NPSR-Polymorphismus, ein SNP, des Neuropeptid S-Genes auf dem Locus 7p14.3 untersucht. Dabei handelt es sich um den Aminosäureaustausch von Asparagin zu Isoleucin, der durch den Basenaustausch von A nach T an Position 107 des Gens resultiert.

Bei dem in **Studie 2** näher untersuchten COMT val<sup>158</sup>met Polymorphismus des COMT-Gens auf dem Locus 22q11.2 handelt es sich ebenfalls um einen SNP. Bei diesem Polymorphismus liegt ein Austausch der Base G durch A vor, der in einer Veränderung der Aminosäure von Valin zu Methionin an Position 158 des Proteinstrangs resultiert.

### **Variable Number of Tandem Repeats Polymorphismen**

Unter den Variable Number of Tandem Repeats Polymorphismen (VNTR) versteht man DNA-Abschnitte, die tandemartige Wiederholungen einer bestimmten Sequenz aufweisen. Variabel ist dabei die Anzahl der Wiederholungen. Man unterscheidet weiter in Mini- und Mikrosatelliten. Als Minisatelliten werden sich wiederholende Einheiten, die sogenannten „repeats“, von 9-100 Basenpaaren bezeichnet. Als Mikrosatelliten bezeichnet man Wiederholungen von weniger als 10 Basenpaaren.

Bei dem in **Studie 2** näher untersuchten Dopamintransporterpolymorphismus (DAT1) handelt es sich um einen 40 Basenpaare umfassenden VNTR-Polymorphismus in der 3`-

nicht translatierten Region, wobei ein Allel vorwiegend entweder in 9-facher oder 10-facher Wiederholung der 40 Basenpaare vorliegt<sup>3</sup> (Vandenbergh et al., 1992).

### 1.1.2 Verhaltensgenetik und psychiatrische Genetik

Es ist unumstritten, dass genetische Faktoren das Verhalten beeinflussen. Es ist auch bekannt, dass genetische Faktoren zur Entwicklung von zahlreichen psychischen Erkrankungen beitragen, ist bekannt, auch wenn die Forschungsergebnisse teilweise sehr heterogen sind (Jones, L Kent, & Craddock, 2002; Propping, 1989).

Familienstudien zeigen eine familiäre Häufung von psychischen Erkrankungen, Zwillings- und Adoptionsstudien weisen auf genetische Faktoren als Ursache des familiären Auftretens hin (Propping, 1989). Die genetische Psychiatrie, ein Teilgebiet der Verhaltensgenetik, untersucht die genetischen Ursachen für bestimmte Krankheiten. Bei monogen erblichen Krankheiten<sup>4</sup> war die Identifikation der ursächlichen Gene sehr erfolgreich: Es konnten zahlreiche Krankheiten auf Mutationen in jeweils einem Gen zurückgeführt werden (Nöthen, Rietschel, Propping, & Maier, 2004). Psychische Krankheiten gelten jedoch als sehr komplex und daher nicht als monogene Krankheiten.

Es wird zwischen zwei unterschiedlichen Forschungsstrategien, molekularer und klinischer Genetik, unterschieden, um menschliche Gene zu identifizieren, die in Beziehung zu psychischen Erkrankungen stehen könnten.

#### Klinische Genetik

Klinisch-genetische Studien werden in Zwillings-, Adoptions-, und Familienuntersuchungen unterteilt.

In Familienstudien werden die Häufigkeiten bestimmter psychischer Erkrankungen bei Angehörigen einer Familie und anderer nicht verwandter Familien untersucht und verglichen.

---

<sup>3</sup> Die Wiederholung kann zwischen 3-11 mal vorliegen.

<sup>4</sup> Monogen erbliche Krankheiten folgen den klassischen Mendelschen Erbgängen und beruhen auf der Mutation eines einzelnen Gens.

In Zwillingsstudien wird die Konkordanz<sup>5</sup> für eine Erkrankung bei eineiigen (monozygoten) im Vergleich zu zweieiigen (dizygoten) Zwillingen untersucht. Je größer der Unterschied, desto größer ist der Beitrag genetischer Faktoren zur Entstehung der Erkrankung.

In Adoptionsstudien wird überprüft, ob das Erkrankungsrisiko in den biologischen Eltern oder den Adoptiveltern begründet liegt. Sie erlauben somit auch eine Aussage über die genetische Komponente bei der Krankheitsentstehung.

### **Molekulare Genetik**

Zur molekularen Genetik zählen Kopplungs- und Assoziationsstudien. Kopplungsstudien untersuchen die Kosegregation, d.h. die gemeinsame Vererbung, von genetischen Markern mit einer Erkrankung innerhalb einer Familie. In der einfachsten Form wird eine Analyse mit Geschwisterpaaren durchgeführt. Geschwisterpaare, die gemeinsam an einer bestimmten Erkrankung leiden, werden genau dann an einem beliebigen chromosomalen Ort die elterlichen Allele teilen, wenn an diesem Ort ein die Krankheit bedingendes Gen kodiert wird. Kopplungsanalysen beruhen auf der Tatsache, dass Gene, die auf dem gleichen Chromosom nahe beieinander lokalisiert sind, auch gemeinsam vererbt werden („gekoppelt“ werden). Ein DNA-Marker, der sich in der Nähe eines krankheitserregenden Gens befindet, kann somit innerhalb der Familie gemeinsam übertragen werden. Wenn es somit ein Gen gibt, welches zu einer bestimmten Erkrankung beiträgt, dann sollten Familienangehörige, die das gleiche Allel am Markerort tragen, mehr phänotypische Gemeinsamkeiten bezüglich dieser Erkrankung aufweisen, als Familienangehörige, die dieses Allel nicht tragen.

Zur Analyse dienen entweder genomweite Suchen oder die Untersuchung von Kandidatengenen. Genomweite Suchen sind systematische Analysen des gesamten Genoms anhand vieler genetischer Marker. Diese Analyse wird dann verwendet, wenn nur unzureichende Informationen über die der Erkrankung zugrundeliegenden Prozesse vorliegen. Ziel des genomweiten Suchens ist somit die Lokalisation von dispositionierenden Genen innerhalb des Genoms. Gibt es jedoch Hypothesen oder Befunde über die einer Erkrankung zugrundeliegenden biologischen Prozesse, so wird der Ansatz der Kandidatengene angewendet. Hier wird überprüft, ob ein genetischer Polymorphismus eines bestimmten Gens mit der Erkrankung der entsprechenden Familien zusammenhängt.

---

<sup>5</sup> Konkordanz meint die Übereinstimmung von Zwillingen hinsichtlich eines Merkmals

Kandidatengene sind Gene, von denen aufgrund ihrer physiologischen Funktionen angenommen wird, dass sie bei der Pathophysiologie der betreffenden Krankheit eine Rolle spielen. Kandidatengene sind oft Gene, die für Proteine bestimmter Rezeptoren, Enzyme oder Transporter kodieren.

Im Gegensatz zu Kopplungsstudien spielen intrafamiliäre Übertragungsmuster einer bestimmten Erkrankung bei Assoziationsstudien keine Rolle. Es gibt unterschiedliche Arten von Assoziationsstudien. Zu ihnen zählen Fall-Kontroll-Studien oder aber auch die genomweiten Assoziationsstudien.

Fall-Kontroll-Studien bedienen sich meistens dem Kandidatengenansatz, mit Hilfe dessen überprüft wird, ob Polymorphismen von einem oder beiden Allelen eines Gens überzufällig häufig bei den Erkrankten im Vergleich zu Kontrollen vorkommen.

**Studie 1** und **Studie 2** der vorliegenden Arbeit stellen Fall-Kontroll-Studien dar, in denen der Kandidatengenansatz verwendet worden ist. Die hierfür verwendeten Kandidatengene werden in Kapitel 1.4.1 und 1.4.2 näher vorgestellt.

### 1.1.3 Genetik komplexer psychischer Erkrankungen

Die genetische Analyse psychischer Erkrankungen wird erschwert durch die Tatsache, dass psychische Erkrankungen „genetisch komplex“ sind, d.h. die betreffende Erkrankung nicht Ergebnis eines einzelnen isolierten genetischen Mechanismus ist, sondern es tragen zu ihrer Entwicklung zahlreiche genetische sowie umweltbedingte Mechanismen unabhängig voneinander oder im Zusammenspiel miteinander bei. Ursache dafür kann sein, dass eine Reihe unterschiedlicher Gene auf das gleiche phänotypische Merkmal oder umgekehrt auch ein einzelnes Gen auf mehrere phänotypische Merkmale wirken kann<sup>6</sup>. So sind viele Erkrankungen, die klinisch nach ihrem Erscheinungsbild, also ihrem Phänotyp, einheitlich erscheinen, genetisch heterogen. Zur Komplexität der Analyse psychischer Erkrankungen tragen zudem mögliche Gen-Gen-Interaktionen, bei denen z.B. ein bestimmtes Gen die Aktivität eines anderen Gens unterdrückt, sowie Gen-Umwelt-Interaktionen bei. So ist es nicht verwunderlich, dass die Ergebnislage hinsichtlich genetischer Einflüsse auf die meisten psychischen Erkrankungen sehr inkonsistent ist (Domschke & Dannlowski, 2010). Weiter zeigen sich in Assoziationsstudien nur kleine Effekte einzelner Polymorphismen auf

---

<sup>6</sup> Diese Vorgänge werden als Polygenie und Pleiotropie bezeichnet.

den komplexen Phänotyp. Assoziationsstudien werden wegen ihrer eingeschränkten Aussagekraft, methodischer Probleme und des rein klinisch definierten Phänotyps kritisiert (Malhotra & Goldman, 1999; Smoller, Block, & Young, 2009). Ein neueres Konzept, das diese negativen Aspekte umgehen könnte (speziell auch bei Angsterkrankungen und deren Erforschung), ist der Ansatz der intermediären Phänotypen, der im folgenden Kapitel näher beschrieben wird.

### **Das Konzept der intermediären Phänotypen**

Aktuell wird viel darüber diskutiert, welche Phänotypen dem biologischen Substrat psychischer Erkrankungen am nächsten kommen und so in genetischen Untersuchungen zur Identifikation relevanter Gene repliziert werden könnten. Angsterkrankungen, die im Fokus dieser Arbeit stehen, sind kein genau definierter Phänotyp, sondern werden durch eine Vielzahl von Symptomen definiert, die zudem nicht bei jedem Patienten im gleichen Maße auftreten.

Viele psychische Erkrankungen sind durch den neurowissenschaftlichen Erkenntnisfortschritt als Erkrankungen des Gehirns bekannt (Domschke & Dannlowski, 2010). Es ist anzunehmen, dass diese neurobiologischen Phänotypen weniger von nichtgenetischen Einflüssen moderiert werden als die über das Erleben und Verhalten definierten diagnostischen Phänotypen (Flint & Munafò, 2007). So bietet das Konzept der intermediären Phänotypen, auch Endotypen genannt, eine alternative Suchstrategie nach Risikogenen für psychische Erkrankungen (Gottesman & Gould, 2003). Das Konzept der intermediären Phänotypen geht von der Annahme aus, dass psychische Störungen nicht nur neurobiologische Korrelate aufweisen, sondern neurobiologisch bedingt sind. Während die klassischen Phänotypen durch das Erleben und Verhalten definiert sind, repräsentieren die intermediären Phänotypen zugrundeliegende Hirnfunktionen oder ihre krankheitsbedingten Veränderungen.

Intermediäre Phänotypen definieren somit Marker der psychischen Erkrankung, die sich als Zwischenstufe zwischen Phänotyp (Symptome der Erkrankung) und Genotyp beschreiben lassen und näher am Genotyp liegen als die klassischen Phänotypen. Die biologischen Marker müssen dabei fünf Kriterien erfüllen (Gottesman & Gould, 2003). Der intermediäre Phänotyp muss idealerweise:

- 1) mit der Erkrankung in der Bevölkerung assoziiert sein,
- 2) erblich sein,
- 3) unabhängig vom Krankheitsstatus sein,
- 4) Kosegregation mit der Krankheit innerhalb von Familien zeigen,
- 5) sowie in Familien von Erkrankten eine höhere Auftretenswahrscheinlichkeit als in der Bevölkerung haben.

Zur Messung von intermediären Phänotypen sind quantitative Methoden aus der Neurophysiologie, Neuropsychologie oder der Bildgebung besonders geeignet (Gottesmann & Gould, 2003). Im folgenden Kapitel wird der Ansatz der intermediären Phänotypen am Beispiel der Bildgebung (Imaging Genetics) näher erläutert, da meine Arbeit diesen Ansatz verfolgt hat.

#### 1.1.4 Imaging Genetics

Eine Entwicklung des Konzeptes der intermediären Phänotypen wurde durch den Forschungsansatz der „Imaging Genetics“ erreicht, auf dem meine Arbeit beruht. Dieser junge Forschungsansatz bedient sich bildgebener Methoden<sup>7</sup>, um Spuren von Genen auf die Entwicklung und Funktion von Hirnsystemen darzustellen und diese in einem weiteren Schritt mit dem Verhalten in Zusammenhang zu bringen.

Bei diesem Ansatz handelt es sich bei dem Genotyp um die individuelle Ausprägung eines bestimmten genetischen Polymorphismus. Der intermediäre Phänotyp wird mittels des bildgebenen Verfahrens bestimmt. Imaging Genetics-Studien folgen meistens dem im Kapitel 1.1.2 vorgestellten Kandidatengenansatz, der auf der hypothesengeleiteten Annahme eines oder mehrerer Kandidatengene beruht. Diese Gene kodieren für Proteine, die die Ausprägung eines Bildgebungsphänomens beeinflussen. Solche Phänotypen können beispielsweise die Größe eines Hirnareals, das Ausmaß neuronaler Aktivität oder Rezeptordichte sein.

---

<sup>7</sup> Hierunter zählen die voxelbasierte Morphometrie (VBM), funktionelle Magnetresonanztomographie (fMRT) Positronenemissionstomographie (PET), Magnetoenzephalographie (MEG) und Elektroenzephalographie (EEG) (Lesch et al., 1996).

## 1.2 Angst und Angsterkrankungen in der Gesellschaft

Abgeleitet von dem lateinischen Wort „angustiae“, bedeutet Angst „Beengtheit“ bzw. „Enge“ und stellt eine natürliche Reaktion des Menschen auf Gefahren dar. Sie äußert sich auf drei Ebenen (Morschitzky, 2009):

- 1) **Körperlich** durch objektiv messbare physiologische Faktoren wie Muskelanspannung, Herzerasen, Blutgefäßveränderungen, Blutdrucksteigerung, Atembeschleunigung, Hautwiderstands- und Gehirnaktivitätsveränderungen, etc... .
- 2) **Subjektiv** in Gedanken und Gefühlen durch Bewertungen, Befürchtungen, Gedanken der Hilflosigkeit, Angst erzeugende Denkmuster und damit verbundenes subjektives Angsterleben, etc... .
- 3) **Im Verhalten** auf motorischer Ebene durch beobachtbare Verhaltensweisen und Reaktionen wie „Starrwerden vor Schreck“ bis hin zu Regungslosigkeit, Zittern, Flucht, Vermeidung Angst erregender Situationen, etc... .

Allgemein kann Angst als natürliche Anpassungsleistung oder -reaktion des Menschen betrachtet werden. Andererseits existieren Phänomene, die als Angsterkrankungen bzw. Angststörungen bezeichnet werden. Bei Angststörungen sind die Angstreaktionen nicht mehr angemessen und führen zu erheblichen Beeinträchtigungen und Belastungen der Betroffenen: Die Angst in objektiv gefährlichen Situationen ist unangemessen übersteigert und führt auch zu einer eingeschränkten Lebensführung und zu emotionalen Folgeproblemen (Alonso & Lepine, 2007). Insgesamt besteht inzwischen wissenschaftlicher Konsens darüber, dass alle Angststörungen starke Risikofaktoren für depressive Erkrankungen, Substanzmissbrauch oder -abhängigkeit darstellen (Wittchen, Kessler, Pfister, & Lieb, 2000).

Laut ICD-10 (International Classification of Diseases and Related Health Problems) können Angststörungen in zwei Kategorien eingeteilt werden: Bei den phobischen Störungen (ICD-10:F40) werden Ängste durch allgemein ungefährliche Situationen bzw. Objekte außerhalb der betreffenden Person hervorgerufen. Zu dieser Kategorie werden Agoraphobie, Sozialphobie und spezifische Phobien (wie z.B. die Tierphobie) gezählt. Bei den anderen Angststörungen (ICD-10:F41) erscheint die Angst unabhängig von Umgebungssituationen. Sie tritt für die Betroffenen spontan in verschiedenen Situationen

auf. Hierzu gehören Panikstörungen und generalisierte Angststörungen. Entsteht die Angst als verzögerte Reaktion auf ein belastendes Ereignis oder eine Situation außergewöhnlicher Bedrohung oder katastrophenartigen Ausmaßes wird von einer posttraumatischen Belastungsstörung gesprochen (ICD-10:F43.1).

Angsterkrankungen zählen zu den häufigsten psychischen Erkrankungen in Europa sowie den Vereinigten Staaten von Amerika (Alonso et al., 2004; Kessler et al., 2011). Nach der 1994 veröffentlichten National Comorbidity Survey Studie entwickeln rund 25% der Bevölkerung im Laufe ihres Lebens eine Angststörung (Wittchen et al., 2011).

Verglichen mit anderen psychisch Erkrankten, besuchen Personen mit Angststörungen Primärmediziner häufiger als Spezialisten und belasten somit das Gesundheitssystem stark (Morschitzky, 2009). Die Gesundheitskosten setzen sich aus psychischen und nicht-psychischen Behandlungen, Klinikaufhalten und Medikamentenkosten zusammen (Gustavsson et al., 2011). Hohe Kosten entstehen aber auch durch Leistungsverminderung am Arbeitsplatz und Arbeitsunfähigkeit (Gustavsson et al., 2011). Somit sind Angsterkrankungen mit hohen sozialen, ökonomischen und indirekten Kosten verbunden. Die Erforschung der Grundlagen von Angst und Angsterkrankungen ist demzufolge wissenschaftlich sowie klinisch und gesundheitspolitisch von großem Interesse.

### **1.2.1 Ätiologie der Angsterkrankungen**

Ursachen für die Entstehung von Angsterkrankungen sind komplex und multifaktoriell. Sie umfassen im Wesentlichen biologische (dazu zählen genetische wie neurobiologische Faktoren) und psychosoziale Faktoren.

#### **Psychosoziale Faktoren**

Zu den wichtigsten psychosozialen Faktoren, die Entstehung einer Angststörung begünstigen oder fördern können, zählen unter anderem der Umgang der Eltern mit Ängsten und Sorgen sowie traumatische Lebensereignisse, wie Verlust- und Trennungserlebnisse (Bandelow, 2002).

### **Biologische Faktoren**

Es ist unumstritten, dass genetische Faktoren zu der Ätiologie der Angsterkrankungen beitragen. Schon 1964 wurde die individuelle genetische Prädisposition von Klein betont (Klein, 1964). Im Folgenden sollen die wichtigsten Ergebnisse zusammengefasst werden.

Studien zur klinischen Genetik der Angsterkrankungen weisen eine 2-3-fach höhere Konkordanzrate bei monozygoten Zwillingen im Vergleich zu dizygoten Zwillingen für Panikstörungen sowie generalisierte Angststörungen auf (Hettema, Neale, & Kendler, 2001).

Familienstudien mit einer großen Anzahl von Patienten zeigten eine 2-3-fach höhere Rate für Panikstörungen und generalisierte Angsterkrankungen unter Verwandten ersten Grades (Hettema et al., 2001).

Die Heritabilität (Erblichkeit) für Panikstörungen liegt bei 48%, für generalisierte Angststörungen bei 32%, für Agoraphobien bei 67%, und für soziale Phobien bei 51% (Hettema et al., 2001; Kendler, Karkowski, & Prescott, 1999; Watson & Rayner, 2000).

Kopplungsuntersuchungen molekularer Genetik weisen auf mögliche Risikoloci auf den Chromosomen 1q (Gelernter et al., 2001), 2q (Fyer et al., 2006), 7p (Crowe et al., 2001; Knowles et al., 1998), 9q (Thorgeirsson et al., 2003), 12q (Smoller et al., 2001), 13q (Hamilton et al., 2003; Weissman et al., 2000), 15q (Fyer et al., 2006), 22q (Hamilton et al., 2003) bei Panikstörungen hin. Für soziale Phobien wurden mögliche Risikoloci auf den Chromosomen 16q und 14p beschrieben (Arnold, Zai, & Richter, 2004).

Für Panikstörungen konnten mit Hilfe des Kandidatengenansatz replizierte positive Assoziationen für Cholecystokinin (Hattori et al., 2001; Maron, Lang, et al., 2005; Wang et al., 1998), den Cholecystokinin-B-Rezeptor (CKK-B-Rezeptor) (Hosing et al., 2004; Kennedy et al., 1999), die Monoaminoxidase A (MAO-A) (Deckert et al., 1999; Maron, Nikopentius, et al., 2005; Samochowiec et al., 2004), die Catechol-O-methyltransferase (COMT) (Domschke, Deckert, O'Donovan M, & Glatt, 2007; Woo, Yoon, & Yu, 2002), den Neuropeptid S Rezeptor (NPSR1) (Domschke et al., 2011; Okamura et al., 2007), den 5-Hydroxytryptamin<sub>2A</sub>-Rezeptor (5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptor) (Inada et al., 2003; Maron, Nikopentius, et al., 2005) und den Adenosin 2A-Rezeptor (Deckert et al., 1998; Hamilton et al., 2002) gefunden werden. Auch fanden sich weitere positive Assoziationen für

zahlreiche weitere Gene. Diese konnten jedoch nicht repliziert werden bzw. die Replikationen stehen noch aus (Smoller, Gardner-Schuster, & Covino, 2008). Weitaus weniger positive Assoziationen konnten für soziale Phobien gefunden werden. Für diese wurden u.a. positive Assoziationen für COMT (McGrath et al., 2004), MAO-A (Samochowiec et al., 2004) und den Dopamintransporter (DAT1) (Rowe et al., 1998) gefunden.

Die zahlreichen Befunde verdeutlichen, dass es noch keinen einheitlichen wissenschaftlichen Konsens darüber gibt, welche Rolle die einzelnen genetischen Faktoren bei der Ätiopathogenese von Angsterkrankungen spielen.

Als Grund für die uneindeutige Befundlage kann die Tatsache gelten, dass der Phänotyp bei Angsterkrankungen sehr heterogen sein kann<sup>8</sup>. Mit dem Konzept der an neurobiologischen Phänomenen orientierten intermediären Phänotypen, das in dieser Arbeit verwendet wird, könnte ein direkterer Weg beschritten werden, der von relevanten Mutationen bis hin zum Risiko für Angsterkrankungen führt.

### Neurobiologische Vorstellungen

Weitere Vorstellungen zu neurobiologischen Faktoren der Angsterkrankungen beruhen auf Ergebnissen von Studien zu molekularen Wirkmechanismen anxiolytischer Medikamente, oder angstauslösender Substanzen, biochemischen Veränderungen bei Patienten mit Angsterkrankungen sowie tierexperimentellen Untersuchungen. Durch die Kenntnis von Wirkmechanismen anxiolytischer Medikamente wie der Benzodiazepine<sup>9</sup> und Antidepressiva<sup>10</sup> konnten Hypothesen zur Rolle GABAerger und katecholaminerger Neurotransmittersysteme bei der Entstehung von Angsterkrankungen generiert werden (Durant, Christmas, & Nutt, 2010).

---

<sup>8</sup> bei einheitlichem Genotyp

<sup>9</sup> Benzodiazepine wirken durch Erhöhung des Chloridioneneinstroms durch den Chloridkanal des GABA-A-Rezeptors bei gleichzeitiger Bindung von GABA.

<sup>10</sup> Antidepressiva wirken durch Hemmung der Wiederaufnahme von Serotonin und Nordrenalin oder durch Hemmung der Monoaminoxidase A, die die Transmitter katabolisiert.

## 1.2.2 Psychologische Erklärungsmodelle der Entstehung von Angsterkrankungen

Neben neurobiologischen Ansätzen haben sich unterschiedliche psychologische Modelle der Entstehung und Aufrechterhaltung von Angsterkrankungen etabliert (M.G. Craske, 1999). In diesem Absatz sollen kurz die lerntheoretisch sowie kognitiv ausgerichteten Modelle beschrieben werden, da diese relevant für die Studien (**Studie 1** und **Studie 2**) der vorliegenden Arbeit sind. Lerntheoretische Modelle gehen davon aus, dass Angst ein erlerntes Verhalten ist. Die zentrale These der lerntheoretischen Ansätze besagt, dass (fast) jedes menschliche Verhalten, und damit auch das ängstliche Verhalten, erlernt ist. Ängste werden nach diesen Modellen durch wiederholte unangenehme Erfahrungen erworben. Der hier zugrunde liegende Lernprozess wird als „Konditionierung“ bezeichnet und wird ausführlich in Kapitel 1.3 beschrieben.

Auf der anderen Seite zeichnen sich die kognitiv ausgerichteten Modelle durch eine kognitive Komponente aus, die entscheidend für den Erwerb von Angsterkrankungen ist (D. A. Clark & Beck, 2011): Die Art und Weise wie Situationen oder Erfahrungen beurteilt werden, kann beruhigend oder angststeigernd wirken. Kognitive Aspekte haben somit eine große Bedeutung für die Entwicklung von Angstzuständen. Menschen mit Angststörungen bewerten viele Situationen, die andere nicht als gefährlich einschätzen, als bedrohlich. Kognitiv ausgerichtete Modelle werden z.B. bei Panikstörungen als Erklärungsmodell herangezogen und berücksichtigen körperliche Faktoren mit. Panikattacken können nach diesem Modell sowohl durch innere (Gedanken und Vorstellungen sowie Körperempfindungen) als auch durch äußere Auslösereize (Umweltsituationen) ausgelöst werden. Nach Clark bewirken bestimmte äußere oder innere Reize zunächst eine milde Anspannung, einschließlich körperlicher Erregungssymptome (D. M. Clark, 1986). Die unangemessene Bewertung der wahrgenommenen körperlichen Symptome als gefährlich führt zu Angst und einer weiteren, stärkeren Anspannung. Es kommt zu verstärkten negativen Bewertungen und Ängsten. Dieser Teufelskreis führt schließlich zu einer Panikattacke. Dabei spielt die Fehlinterpretation oder die übersteigerte Interpretation von Körperempfindungen, die auch Katastrophisieren genannt wird, als Folge der wahrgenommenen Bedrohung eine entscheidende Rolle bei der Auslösung, Aufrechterhaltung und Stabilisierung von Panikattacken.

### 1.2.3 Therapeutische Interventionen bei Angsterkrankungen

Unabhängig von der Vielzahl unterschiedlicher Angsterkrankungen, die sich in unterschiedlichen Symptomen manifestieren, sind die therapeutischen Interventionen bei allen Angsterkrankungen sehr ähnlich: Generell werden als Interventionsmöglichkeiten entweder Pharmakotherapie oder Psychotherapie, oder eine Kombinationstherapie aus beiden eingesetzt.

Bei der Pharmakotherapie werden überwiegend zwei Substanzklassen von Medikamenten für die Behandlung von Angsterkrankungen verwendet: Es werden entweder Antidepressiva oder Benzodiazepine verordnet.

Alternativ zur Pharmakotherapie wird Psychotherapie, vorwiegend klassische Verhaltenstherapie (VT) und kognitive Verhaltenstherapie (KVT), angewendet (M. G. Craske et al., 2002). Bei der Behandlung von Angsterkrankungen in der VT ist die Exposition ein wichtiges Kernelement. Es wird eine angstausslösende Situation aufgesucht oder der Patient wird direkt mit der angstbesetzten Situation oder dem Objekt konfrontiert, so dass im Laufe der Exposition eine Löschung (Extinktion) der Furcht stattfindet. Die VT erklärt Verhalten auf Verhaltensebene (Bouton, Mineka, & Barlow, 2001; Wolpe & Rowan, 1988).

Im Gegensatz zu der VT erklärt die KVT Verhalten nicht nur auf Verhaltensebene sondern auch als Ergebnis von überdauernden Vorstellungen (Einstellungen) und Wahrnehmungen. Insbesondere werden emotionale Reaktionen als Konsequenz von Überzeugungen, Gedanken und Annahmen interpretiert. Damit zielt die KVT auf die Beobachtung und Analyse von Wahrnehmungs- und Denkprozessen. Bei einer psychischen Erkrankung wie der Panikstörung liegen kognitive Fehleinstellungen vor. Dazu zählen bei der Panikstörung dysfunktionale Bewertungen wie die des Katastrophisierens. Beim Katastrophisieren wird das Eintreffen oder die Bedeutung von internen und äußeren Reizen überbewertet. In der KVT wird versucht, die dysfunktionalen Bewertungen zu verändern.

Insgesamt herrscht wissenschaftlicher Konsens darüber, dass Angsterkrankungen sich gut mit Verhaltenstherapie (Norton & Price, 2007) und Pharmakotherapie (Roy-Byrne et al., 2002) behandeln lassen. Psychotherapie erzielt jedoch nur in 50% der Fälle Erfolg (Durham et al., 2005). Die Effektivität der Pharmakotherapie ist vergleichbar, kann jedoch mit

starken Nebenwirkungen wie Schwindelanfällen, Erbrechen, sexuellen Dysfunktionen sowie oft einer geringen Akzeptanz seitens des Patienten verbunden sein (Baldwin & Polkinghorn, 2005).

Um pharmakologische sowie nicht-medikamentöse Interventionen bei Angsterkrankungen in ihrer Wirksamkeit zu verbessern, ist es notwendig, die zugrunde liegenden Mechanismen auf unterschiedlichen Ebenen besser zu verstehen. Ein Modell, das sich hervorragend eignet, um die Mechanismen beim Angsterwerb sowie Angstextinktion besser zu erforschen ist die klassische Angstkonditionierung (Kim & Jung, 2006; LeDoux, 2000). Im folgenden Kapitel werden Angstkonditionierung sowie Angstextinktion näher beschrieben.

## 1.3 Klassische Angstkonditionierung

Nach der These der lerntheoretischen Modelle ist menschliches Verhalten, und damit auch das ängstliche Verhalten, erlernt. Ängste werden nach diesem Modell durch die wiederholte Erfahrung unangenehmer Situationen erlernt, ein Vorgang der als klassische Angstkonditionierung bezeichnet wird und im folgenden näher beschrieben werden soll.

Klassische Konditionierung ist ein Vorgang des assoziativen Lernens (Pavlov, 1927). Ein ursprünglich neutraler Stimulus (CS: conditioned stimulus, z.B. ein Ton oder ein Symbol) wird zeitlich mit einem unkonditionierten Stimulus (UCS: unconditioned stimulus, z.B. aversiver Elektrozreiz) verknüpft, der eine biologisch vorgegebene, d.h. unkonditionierte Reaktion (UCR: unconditioned reaction, z.B. Schockstarre oder Zittern) auslöst. Nach mehreren Kopplungen des CS und des UCS bewirkt die alleinige Darbietung des CS eine konditionierte Reaktion (CR), die oft der UCR ähnlich ist. Bei Menschen äußert sich die CR z.B. in einer erhöhten Hautleitfähigkeit (Orr & Roth, 2000) und/oder einem erhöhten Schreckreflex (Davis, 1990).

Wird der CS nicht mehr mit dem UCS gepaart, verschwindet die CR allmählich. Dieser Lernprozess wird als Extinktion bezeichnet. Allgemein gültig ist, dass die Extinktion kein Verlernen der zuvor gebildeten Assoziation ist, sondern ein eigener Lernprozess (Bouton, 2002). Diese Annahme wird durch die Phänomene des Erneuerungslearnens (renewal), der Spontanerholung (spontaneous recovery) und des Wiedereinsetzens der Reaktion (reinstatement) gestützt, welche im folgenden kurz beschrieben werden.

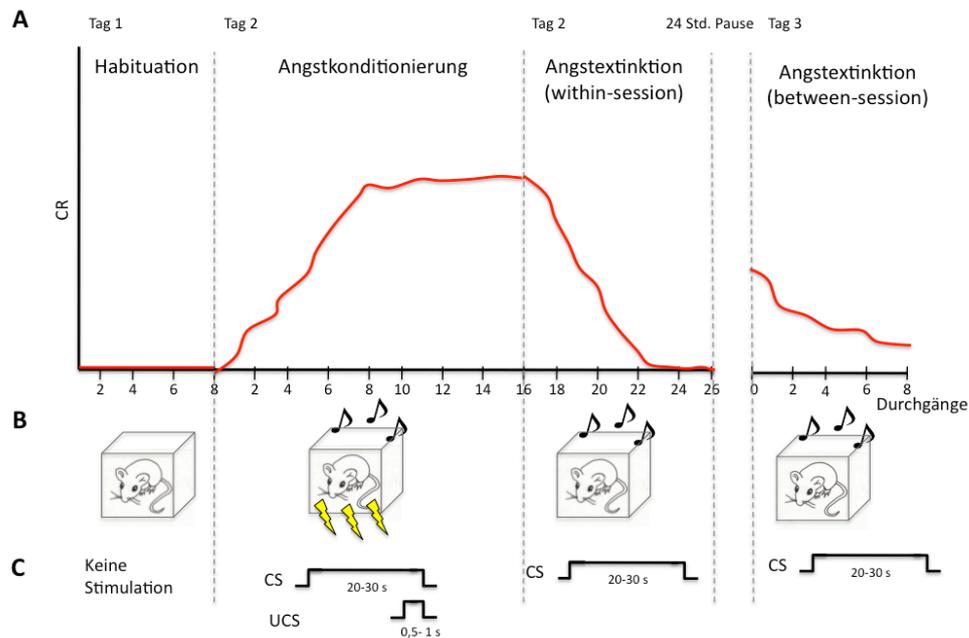
Von Erneuerungslearnen spricht man, wenn eine CS-UCS-Assoziation in einem bestimmten Kontext (Kontext A) gelernt und in einem anderen Kontext (Kontext B) extinguiert wird. Die anschließende alleinige Darbietung des CS (d.h. ungepaart ohne UCS) löst im Kontext A, aber auch in einem anderen Kontext eine CR aus.

Die Beobachtung, dass eine extinguierte CR einige Zeit nach der Extinktion wieder spontan auftritt bezeichnet man als Spontanerholung.

Von Wiedereinsetzen der Reaktion spricht man, wenn nach der Extinktion einer zuvor gelernten CS-UCS-Assoziation der UCS ungepaart (d.h. ohne CS) dargeboten wird und dies dazu führt, dass bei einer anschließenden Präsentation des CS dieser die vorher extinguierte CR auslöst.

Extinktion konditionierter Angstantworten ist ein anerkanntes Model für Expositionstherapie bei Angst-, Zwangserkrankungen und posttraumatischer Belastungsstörung (Baeyens, Vansteenwegen, Hermans, Vervliet, & Eelen, 2001; Bouton, Mineka, & Barlow, 2001; Mineka & Oehlberg, 2008).

Ein typisches Paradigma des klassischen Konditionierens ist in Abbildung 2 dargestellt. Dieses bezieht sich auf Angstkonditionierung und -extinktion im Nagetier.



**Abbildung 2:** typisches Angstkonditionierungs- und -extinktionsparadigma beim Tier. In A sind die einzelnen Phasen (Habituation, Angstkonditionierung, within-session Extinktion und between-session Extinktion) mit dem typischen Verlauf der CR dargestellt. B zeigt die Ratte, die während der einzelnen Phasen entweder gar keine Stimuli (Habituation), CS-UCS-Paarungen (Angstkonditionierung) oder nur CSse präsentiert bekommt (Angstextinktion). C zeigt den zeitlichen Verlauf von CS und UCS während der einzelnen Phasen.

CR konditionierte Reaktion; CS konditionierte Stimuli; UCS unconditionierte Stimuli

Das vielleicht bekannteste Beispiel von Angstkonditionierung und der Erlernbarkeit von Angstreaktionen ist das „Little-Albert-Experiment“ von Watson und Rayner aus dem Jahr 1920 (Watson & Rayner, 2000). Der kleine Albert war ein neun Monate altes Baby, dem zum ersten Mal in seinem Leben eine weiße Ratte, ein Kaninchen, ein Hund, ein Affe, menschliche Masken mit und ohne Haare, etc. gezeigt wurden. Das Baby zeigte bei keinem

der Lebewesen oder Objekte Furcht, sondern war neugierig und griff nach diesen. Furcht zeigte der kleine Albert aber, wenn man hinter seinem Rücken mit einem Hammer auf eine Eisenstange schlug. Während des Experimentes zeigte man dem kleinen Kind eine weiße Ratte (CS) und schlug gleichzeitig hinter seinem Rücken mit dem Hammer auf die Eisenstange (UCS), so dass es erschrak, fiel und weinte (UCR). Bereits nach zweimaliger Wiederholung wollte der kleine Albert die Ratte nicht mehr anfassen und nach wenigen Wiederholungen zeigte er massive Angstreaktionen beim bloßen Anblick der Ratte (CR).

### **1.3.1 Instruierte und uninstruierte Angstkonditionierung und zugrundeliegende Bewertungsprozesse**

Es kann zwischen instruierter und uninstrukturierter Angstkonditionierung unterschieden werden, da beiden Konditionierungsarten unterschiedliche Bewertungsprozesse<sup>11</sup> des CS zugrunde liegen können (Mechias, Etkin, & Kalisch, 2010).

Während in einem typischen, uninstruierten Angstkonditionierungsexperiment die Versuchsperson über wiederholte Durchgänge hinweg lernt, dass der CS immer oder oft von einem UCS gefolgt wird, wird der Versuchsperson in einem instruierten Angstkonditionierungsexperiment vor Beginn des Experimentes mitgeteilt, dass der CS mit dem UCS gepaart wird.

Zahlreiche Befunde aus uninstruierten Angstkonditionierungsexperimenten, bei denen der CS unter der Wahrnehmungsschwelle präsentiert worden ist, bestätigen, dass bei dieser Art von Konditionierung nicht-bewusste Bewertungsprozesse beteiligt sind, da eine CR ausgelöst wurde (Critchley, Mathias, & Dolan, 2002; Esteves, Parra, Dimberg, & Ohman, 1994; Morris, Ohman, & Dolan, 1998; Ohman, 2005; Olsson & Phelps, 2004).

In instruierten Angstkonditionierungsexperimenten, bei denen die Versuchsperson vor dem Experiment über die Assoziation zwischen CS und UCS aufgeklärt worden ist, muss die erste CR durch bewusste Bewertungsprozesse erfolgen, da die Versuchspersonen nie zuvor eine solche CS-UCS Assoziation kennengelernt haben (Mechias et al., 2010). Diese These wird durch Ergebnisse eines instruierten Angstkonditionierungsexperimentes belegt: Versuchspersonen, die nie zuvor einen UCS verspürt haben, zeigten eine CR auf einen CS,

---

<sup>11</sup> Es wird eine Unterscheidung zwischen nicht-bewussten, meistens schnellen und weniger elaborierten, sowie bewussten Bewertungsprozessen, die eine kognitiven Analyse beinhalten, gemacht.

wenn er über der Wahrnehmungsschwelle, aber nicht wenn er unter der Wahrnehmungsschwelle präsentiert wurde (Olsson & Phelps, 2004). Das bewusste Wissen um die Kontingenz zwischen CS-UCS wird somit als Grundlage für die Generierung der CR bei instruierten Angstkonditionierungsexperimenten betrachtet (Mechias et al., 2010).

### **1.3.2 Rescorla-Wagner-Modell als mathematische Implementierung klassischer Konditionierung**

Das Rescorla-Wagner-Modell, das 1972 von Robert Wagner und Allen Rescorla publiziert worden ist, stellt ein anerkanntes mathematisches Modell der klassischen Konditionierung dar (Rescorla, R.A., Wagner, A.R., 1972).

Trotz seiner Einfachheit sagt es nicht nur die gewöhnliche klassische Konditionierung mit einem oder mehreren konditionierten Reizen, sondern auch die Extinktion korrekt voraus. Das Rescorla-Wagner-Modell ist durchgangsbasiert („trial-by-trial learning“) und beschreibt, wie sich die Stärke der CS-UCS-Assoziation über die Zeit verändert.

Es geht davon aus, dass in jedem Durchgang, bei dem ein oder mehrere CSe präsentiert werden, eine Konditionierung oder gar keine Konditionierung stattfinden kann.

Erwartungen können nach dem Rescorla-Wagner-Modell nur auf der Grundlage vorangegangener Assoziationen zwischen CS und UCS entstehen. Lernen findet laut Rescorla-Wagner-Modells nur dann statt, wenn die Versuchsperson überrascht ist, dass heißt, wenn eine Diskrepanz zwischen dem tatsächlichen und dem erwarteten Ereignis vorliegt. Diese Diskrepanz wird als der Vorhersagefehler („prediction error“) bezeichnet. Konditionierung bzw. Lernen findet also nur dann statt, wenn der UCS überraschend ist. Wenn ein CS verlässlich den UCS vorhersagt, ist der Vorhersagefehler bei Auftreten des UCS gering oder 0 und die Erwartung bezüglich des UCS muss nicht verändert werden. Ein Vorhersagefehler ( $\delta$ ) führt zu einer Anpassung der Erwartung, zum Lernen. Die wiederholte CS-UCS-Paarung führt so zu einer hohen UCS-Erwartung, wenn der CS präsentiert wird.

Extinktion hingegen entsteht, wenn der UCS nach der CS-Darbietung überraschenderweise ausbleibt. Dies führt laut Rescorla-Wagner-Modell zu einem umgekehrten Vorhersagefehler und dadurch zu einem Abfall der UCS-Erwartung.

Der Wegfall eines aversiven UCS (wie eines unangenehmen Stromreizes, eines zu lauten Tones, etc.) könnte subjektiv eine angenehme, entlastende Überraschung darstellen (wie in meiner **Studie 2** angenommen) und einem appetitiven, belohnenden Vorhersagefehler ( $\delta_{app}$ ) ähneln. So könnte die Verminderung der UCS-Vorhersage während der Extinktion auch als eine belohnungsartige „Sicherheitsvorhersage“ angesehen werden, welche durch ein appetitives Lernsystem vermittelt wird.

Allgemein kann laut Rescorla-Wagner-Modell bei jedem Konditionierungsdurchgang die folgende Gleichung verwendet werden, um die Veränderung der Stärke einer CS-UCS-Assoziation (d.h. der UCS-Erwartung) zu beschreiben<sup>12</sup>:

$$V_{t+1} = V_t + \alpha(R - V_t)$$

Der Buchstabe  $V$  wird verwendet, um die konditionierte Stärke der CS-UCS-Assoziation anzugeben.  $V_{t+1}$  bezieht sich dabei auf die Veränderung der Stärke der CS-UCS-Assoziation für den folgenden Konditionierungsdurchgang ( $t+1$ ). Da die Erwartung von Individuen auf der Gesamtheit aller CS-UCS-Assoziationen beruht, bezieht sich  $V_t$  in dieser Formel auf die Summe aller CS-UCS-Assoziationen in diesem Experiment (also aller vorangegangenen). Die Menge in der Klammer ( $R - V_t$ ) bezeichnet die Diskrepanz zwischen der Stärke des UCS und der Gesamtstärke der Erwartung eines Versuchsteilnehmers. Diese Diskrepanz wird auch als Vorhersagefehler  $\delta$  bezeichnet.  $\alpha$  ist in der Formel die Lernrate und kann definitionsgemäß zwischen 0 und 1 liegen.  $R$  gibt in diesem Modell die Stärke des UCS an. Ist  $\alpha$  hoch, so hat die Differenz aus der Stärke des UCS und der Summe aller CS-UCS-Assoziationen einen großen Einfluss auf die Vorhersage, ist er jedoch niedrig, so hat er nur einen geringen Einfluss. Oft wird  $\alpha$  als fester Faktor angenommen.

Folgendes Beispiel (siehe Tabelle 1) soll das formale Rescorla-Wagner-Modell bei Konditionierung (Durchgang 1-4 des Experimentes) und Extinktion (Durchgang 5-9 des Experimentes) verdeutlichen: Der CS in diesem Beispiel ist ein Kreis, der visuell präsentiert wird und mit einem Elektroschock (UCS) gepaart werden soll. Zu Beginn des Experimentes ( $t_0$ ) ist  $V_t = 0$ , da noch keine Assoziation zwischen CS und UCS vorliegen kann. Der Einfachheit halber wird  $R$ , die Stärke des UCS, also des Elektroschocks, auf 1

---

<sup>12</sup> jeweils für genau diesen Durchgang

gesetzt. Wird der Schock nicht appliziert, wird  $R = 0$  definiert. Die Lernrate  $\alpha$  wird auf 0.5 gesetzt.

**Tabelle 1:** Beispiel für die Anwendung des Rescorla-Wagner-Modells. Durchgang 1-4 Angstkonditionierung; Durchgang 5-8 Angstextinktion

Durchgang	$V_t$	R	$V_{t+1}$
1	0	Schock (R=1)	$V_{t+1} = 0 + 0.5(1-0) = 0.5$
2	0.5	Schock (R=1)	$V_{t+1} = 0.5 + 0.5(1-0.5) = 0.75$
3	0.75	Schock (R=1)	$V_{t+1} = 0.75 + 0.5(1-0.75) = 0.88$
4	0.88	Schock (R=1)	$V_{t+1} = 0.88 + 0.5(1-0.88) = 0.94$
5	0.94	kein Schock (R=0)	$V_{t+1} = 0.94 + 0.5(0-0.94) = 0.47$
6	0.47	kein Schock (R=0)	$V_{t+1} = 0.47 + 0.5(0-0.47) = 0.23$
7	0.23	kein Schock (R=0)	$V_{t+1} = 0.23 + 0.5(0-0.23) = 0.12$
8	0.12	kein Schock (R=0)	$V_{t+1} = 0.12 + 0.5(0-0.12) = 0.06$

Anhand des oben genannten Beispiels wird deutlich, dass die assoziative Stärke in der Konditionierung stetig ansteigt und in der Extinktion wieder kleiner wird. Implizit wird angenommen, dass es einen Zusammenhang zwischen  $V$  und der Stärke der CR gibt.

## 1.4 Neurotransmittersysteme

In dieser Arbeit wurden zwei Neurotransmittersysteme, das Neuropeptid S-System (**Studie 1**) und das Dopaminsystem (**Studie 2**) näher im Hinblick auf Angstkonditionierung und Angstextinktion untersucht. Beide werden in diesem Kapitel ausführlich beschrieben.

### 1.4.1 Neuropeptid S

Neben klassischen Neurotransmittern rücken immer mehr Neuropeptidsysteme in das Blickfeld der Forschung, seitdem ihre Rolle bei der Modulation von Informationsübertragung zwischen Hirnregionen, die mit Angst in Zusammenhang stehen, bekannt wurde (Jungling et al., 2008).

Eines dieser Neuropeptidsysteme ist das Neuropeptid S (NPS)-System, das in Studie 1 der vorliegenden Arbeit untersucht wurde. Das Neuropeptidsystem besteht aus NPS sowie seinem Rezeptor (NPSR) (Reinscheid & Xu, 2005). Aktuelle Forschungsergebnisse aus dem Tiermodell zeigen, dass das NPS-System in der Regulation von unkonditioniertem sowie konditioniertem Angstverhalten involviert ist (Jungling et al., 2008; Meis et al., 2008; Pape, Jungling, Seidenbecher, Lesting, & Reinscheid, 2010; Reinscheid, Xu, & Civelli, 2005; Vitale et al., 2008; Xu et al., 2004): So konnte in einer Studie gezeigt werden, dass NPS bei Mäusen und Ratten anxiolytisch wirkt, sowie die Wachheit der Tiere steigert (Xu et al., 2004).

#### **Biosynthese und Expression**

Das NPS ist ein 20 Aminosäuren langes Peptid, das durch die Spaltung eines längeren Vorläuferpeptids entsteht und dessen Benennung nach dem Serinrest (S) erfolgte (Xu et al., 2004).

Im Gehirn von Ratten und Mäusen wurde NPS-mRNA in drei Kerngebieten des Hirnstammes nachgewiesen: Einem Areal zwischen Locus coeruleus und Burringtons's Nucleus, einer Region nahe dem Nucleus parabrachialis lateralis, sowie nahe des Nucleus principalis des trigeminalen sensorischen Nucleus (Xu et al., 2004). NPS wird in Neuronen exprimiert, die erregende Neurotransmitter wie Glutamat, Acetylcholin oder CRF<sup>13</sup> bilden

---

<sup>13</sup> Corti-cotopine-Releasing Factor

(Reinscheid & Xu, 2005). Außerhalb des ZNS wird das NPS-Vorläuferpeptid hauptsächlich in endokrinen Geweben gebildet (Reinscheid & Xu, 2005).

### Neuropeptid S Rezeptor

Der Neuropeptid S Rezeptor (NPSR) gehört zur Familie der G-Protein gekoppelten Rezeptoren (Jungling et al., 2008). Er wird vorwiegend in Hirnarealen der Ratte exprimiert, welche grundlegend für die Verarbeitung von furcht- und angstrelevanten Informationen sind, wie der Amygdala, dem dorsalen medialen präfrontalen Kortex (dmPFC) und in Kerngebieten des Hypothalamus, sowie in Regionen, denen eine regulierende Rolle im Wach-Schlaf-Rhythmus zukommt (Xu, Gall, Jackson, Civelli, & Reinscheid, 2007).

Der NPSR kann im Tier durch erst kürzlich entwickelte chemische Verbindungen (SHA66 und SHA68) effektiv blockiert werden (Okamura, Habay, Zeng, Chamberlin, & Reinscheid, 2008).

Die Bindung von NPS an NPSR führt über ein stimulierendes G-Protein und der Aktivierung einer Adenylatcyclase intrazellulär zu einer vermehrten Synthese von zyklischem AMP (cAMP). Des Weiteren führt die Aktivierung des NPSR zu einem Anstieg der intrazellulären  $Ca^{2+}$ -Konzentration. Diese Zunahme der  $Ca^{2+}$ -Konzentration kann durch Öffnen von Kalziumkanälen in der Zellmembran und/oder von Kanälen im endoplasmatischen Retikulum vermittelt werden (Xu et al., 2004).

### NPSR-Gen

Das humane NPSR-Gen (NPSR1) enthält zehn Exons und ist auf dem kurzen Arm des Chromosom 7 auf Position 14.3 lokalisiert (Laitinen et al., 2004).

### NPSR1 Gen Polymorphismus (rs324981)

Eine Reihe von Polymorphismen des NPSR1 sind bislang bekannt, die den Rezeptor mit einem erhöhten Risiko für Asthmaerkrankungen oder Störungen des zirkadianen Rhythmus in Zusammenhang bringen (Laitinen et al., 2004).

Ein spezifischer SNP (rs324981), der in **Studie 1** näher untersucht worden ist, betrifft den Aminosäureaustausch von Asparagin (Asn) zu Isoleucin (Ile), bedingt durch den Basenaustausch von A zu T an Position 107, der zu einer veränderten Wirksamkeit von NPS am Rezeptor bei unveränderter Bindungsaffinität in der Maus und im Menschen führt (Reinscheid, Xu, Okamura, et al., 2005): So zeigen Träger des T Nukleotides (T+-Träger)

eine im Vergleich zu Trägern des A Nukleotides (A-Träger) 5- bis 10-fach höhere Wirksamkeit des Agonisten am Rezeptor, u.a. durch eine höhere intrazelluläre  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration.

### **Bisherige Forschungsergebnisse zu der funktionalen Bedeutung des NPSR1**

#### **Polymorphismus**

Die klinische Bedeutung des NPSR1 Polymorphismus zeigt ein Vergleich verschiedener Patientengruppen: Während bei Patienten mit Schizophrenie und Aufmerksamkeitsdefizit-/Hyperaktivitätsstörung (ADHS) A-Träger nicht seltener oder häufiger vorkamen als T-Träger, fanden sich bei männlichen Panikpatienten häufiger T-Träger (Okamura et al., 2007). Auch in zwei deutschen weiblichen Subpopulationen (Domschke et al., 2011) konnte gezeigt werden, dass Patienten mit einer Panikerkrankung signifikant häufiger das T-Allel als A-Allel trugen. Lediglich in einer Studie, die unterschiedliche SNPs des NPSR1 untersuchte, konnte die Assoziation nicht repliziert werden (Donner et al., 2010).

Diese Befunde sprechen dafür, dass der NPSR1 für die Pathogenese von Angst- und Panikerkrankungen von Bedeutung sein könnte.

## 1.4.2 Dopamin

Der Neurotransmitter Dopamin (DA) wurde 1958 von Arvid Carlsson entdeckt (Carlsson & Waldeck, 1958) und gehört zusammen mit den Neurotransmittern Adrenalin und Noradrenalin zu der Gruppe der Katecholamine.

DA wird in Neuronen des Gehirns synthetisiert. Es kann die Blut-Hirn-Schranke nicht passieren. DA-Neuronen finden sich hauptsächlich in Gebieten des Mesencephalons (Mittelhirn), wie der Substantia Nigra (SN) pars compacta und dem ventralen Tegmentum (VTA), sowie im Nucleus Arcuatus des Hypothalamus. Diese Neuronen projizieren in verschiedene Gebiete des Gehirns. Insgesamt sind vier verschiedene dopaminerge Pfade mit unterschiedlichen Funktionen im Gehirn beschrieben worden:

- 1) Das meso-striatale System, auch nigro-striatales System genannt, mit seinem Ursprung in der SN, projiziert zu den Basalganglien, welche vor allem eine Rolle bei der Bewegungssteuerung spielen.
- 2) Das meso- limbische System, mit seinem Ursprung im VTA, projiziert vorwiegend zum limbischen System, zu dem das ventrale Striatum zählt mit dem Nucleus Accumbens. Es ist vor allem an der Vermittlung von Belohnungsreaktionen beteiligt.
- 3) Das meso-kortikale System, ebenfalls mit Ursprung im VTA, projiziert zum präfrontalen (PFC) und orbitofrontalen Kortex (OFC) sowie zum anterioren Cingulum (ACC) und ist wie das meso- limbische System an Belohnungslernen beteiligt. Auch wird dem System eine wichtige Rolle bei der Funktion des Arbeitsgedächtnisses zugeschrieben (Goldman-Rakic, 1999).
- 4) Das tuberoinfundibuläre System mit Neuronen, die im Nucleus Arcuatus des Hypothalamus entspringen, und dessen Bahnen zum Hypophysenvorderlappen ziehen. Dort spielt es eine zentrale Rolle bei der Prolactinausschüttung.

### Biosynthese von Dopamin

DA ist ein Zwischenprodukt von Noradrenalin und Adrenalin, ausgehend von der Aminosäure Tyrosin. Tyrosin wird durch Tyrosinhydroxylase (TH) in L-3,4-

Dihydroxyphenylalanin (L-DOPA) und dann wiederum durch aromatische-L-Aminosäure-Decarboxylase in DA umgewandelt.

Nach der Synthese wird DA in Vesikel verpackt und nach einem in der präsynaptischen Zelle ankommenden Aktionspotenzial in den synaptischen Spalt ausgeschüttet. Dort kann sich DA an spezifische DA-Rezeptoren binden, die sich wiederum entweder an der Prä- oder Postsynapse befinden können.

### Dopaminrezeptoren

Insgesamt sind fünf unterschiedliche DA-Rezeptoren bekannt: D<sub>1</sub>-, D<sub>2</sub>-, D<sub>3</sub>-, D<sub>4</sub>- und D<sub>5</sub>-Rezeptoren. Diese können aufgrund ihrer unterschiedlichen Wirkung gegenüber dem Enzym Adenylatzyklase in den D<sub>1</sub>-Subtyp (D<sub>1</sub>- und D<sub>5</sub>-Rezeptor) und den D<sub>2</sub>-Subtyp (D<sub>2</sub>-, D<sub>3</sub>- und D<sub>5</sub>-Rezeptor) unterteilt werden (Missale, Nash, Robinson, Jaber, & Caron, 1998).

Rezeptoren des D<sub>1</sub>-Subtyps wirken exzitatorisch und sind fast ausschließlich an der postsynaptischen Membran lokalisiert. Nach der Bindung von DA an einen Rezeptor des D<sub>1</sub>-Subtyps wird eine second-messenger-Kaskade ausgelöst. Über ein G-Protein wird das Enzym Adenylatzyklase aktiviert, das ATP in cAMP umwandelt. cAMP-abhängige Proteinkinasen phosphorylieren Ionenkanäle. Dies führt zu einer Aktivierungsänderung der Kanäle (Jaber, Robinson, Missale, & Caron, 1996).

Rezeptoren des Subtyps D<sub>2</sub> wirken im Gegensatz zu D<sub>1</sub>-Rezeptoren inhibitorisch und treten sowohl an der prä- als auch an der postsynaptischen Membran auf. Die inhibierende Wirkung dieses Rezeptortyps besteht in der Hemmung der cAMP-Bildung wie aber auch in der Öffnung der Kalium-Kanäle an der postsynaptischen Membran über second-messenger-Kaskaden. Der dadurch vermehrte Kaliumstrom in die Zelle führt zu einer Hyperpolarisation der Zelle.

DA-Rezeptoren kommen, wie schon oben beschrieben, prä- wie auch postsynaptisch vor, wobei die präsynaptischen Rezeptoren als Autorezeptoren bezeichnet werden.

Im Gehirn findet man D<sub>1</sub>-Rezeptoren in höchster Dichte (absteigend sortiert) in den Basalganglien, im Nucleus Accumbens sowie im PFC (Beaulieu & Gainetdinov, 2011).

D<sub>2</sub>-Rezeptoren befinden sich man im Striatum, im Nucleus Accumbens, dem externen Segment des Pallidums, der SN sowie der VTA (Beaulieu & Gainetdinov, 2011).

D<sub>3</sub>- und D<sub>4</sub>-Rezeptoren kommen vorwiegend in limbischen Regionen des Gehirns vor.

Nur einige D<sub>5</sub>-Rezeptoren kommen im Hippocampus sowie Hypothalamus vor (Beaulieu

& Gainetdinov, 2011).

### **Inaktivierung von ausgeschüttetem Dopamin**

Zwei unterschiedliche Mechanismen können die Wirkung von ausgeschüttetem DA aufheben. Zum einen kann die Wirkung präsynaptisch durch den DA-Transporter (DAT1; SLC6A3) aufgehoben werden, zum anderen kann DA durch die Enzyme Catechol-O-Methyltransferase (COMT) oder Monoaminoxidase A (MAO-A) gespalten werden.

Da sich **Studie 2** näher mit genetischen Polymorphismen der Gene beschäftigt, die für DAT und COMT kodieren, sollen diese im Folgenden näher beschrieben werden.

#### **Catechol-O-Methyltransferase**

Catechol-O-Methyltransferase (COMT) wurde von Axelrod 1957 entdeckt und ist neben Monoaminoxidase (MAO-A) und Aldehyd-Dehydrogenase ein Enzym, das Katecholamine spaltet und somit in ihrer Wirkung inaktiviert (Axelrod & Tomchick, 1958).

Das Enzym liegt im menschlichen Körper in zwei Isoformen vor: Zum einen in einer in Leber, Niere und Blut vorkommenden löslichen Form (S-COMT) (Tenhunen, Salminen, Jalanko, Ukkonen, & Ulmanen, 1993), zum anderen in einer in Gehirneuronen vorkommenden membrangebundenen Form (MB-COMT), die um 50 Aminosäuren länger ist (Matsumoto et al., 2003; Tenhunen et al., 1994).

COMT deaktiviert Katecholamine durch die Übertragung einer Methylgruppe vom S-Adenosinmethionin auf eine phenolische Hydroxygruppe. Anschließend wird dieses Produkt (3-Methoxytyramin) durch MAO-A oder Aldehyd-Dehydrogenase weiter zu Homovanillinsäure (HVA) umgewandelt. Enzymatischer Abbau durch COMT spielt vor allem im PFC eine wichtige Rolle, da in dieser Region nur wenige DA-Transporter, im Gegensatz zum Striatum, vorhanden sind (Tenhunen et al., 1994). Dieser Befund wird weiter gestützt durch Befunde von COMT-knockout-Mäusen, die erhöhte DA-Konzentrationen im PFC im Gegensatz zum Striatum hatten (Tunbridge, Harrison, & Weinberger, 2006).

#### **Das Catechol-O-Methyltransferase Gen**

Für COMT gibt es ein Gen, das für beide Proteinisoformen des Enzyms, S-COMT sowie MB-COMT, kodiert (Lundstrom, Salminen, Jalanko, Savolainen, & Ulmanen, 1991; Salminen et al., 1990). Das Gen ist lokalisiert auf Chromosom 22 an Position q11.21 –

q11.23 (Grossman, Emanuel, & Budarf, 1992) und enthält sechs Exons, von denen Exon 1 und 2 nicht kodierend sind. Es existieren zwei Promotoren, ein proximaler P1 in Exon 3 und ein distaler P2 in Exon1, welche die Transkription von zwei verschiedenen mRNAs für MB-COMT und S-COMT kontrollieren (Tenhunen et al., 1994). In Studie 2 meiner Arbeit wird die MB-COMT Form näher betrachtet. Die höchste Expression von COMT mRNA kann im PFC beobachtet werden, während nur geringe Expression von COMT mRNA im Striatum gefunden wurde (Hong, Shu-Leong, Tao, & Lap-Ping, 1998).

### **Der Catechol-O-Methyltransferase val<sup>158</sup>met Polymorphismus (rs4680)**

Neben zahlreichen weiteren Polymorphismen des COMT Gens wird dem val<sup>158</sup>met Polymorphismus eine wichtige Rolle zugeschrieben (Chen et al., 2004). Dieser funktionelle SNP besteht aus der Basensubstitution von G zu A im Exon 4, welche einem Aminosäureaustausch von Valin durch Methonin am Codon 158 entspricht (Lotta et al., 1995). Die beiden Ausprägungen des COMT Gens<sup>14</sup>, das Valin-Allel (val) und Methonin-Allel (met), besitzen nachweislich unterschiedliche Enzymaktivitäten sowie Stabilitäten des Enzyms bei Körpertemperatur (Chen et al., 2004; Lotta et al., 1995): So zeigt die bei Körpertemperatur stabilere val-Variante des COMT-Polymorphismus eine 3- bis 4- fach höhere enzymatische Aktivität im Vergleich zur met-Variante. Die höhere Aktivität der val-Variante hat einen schnelleren DA-Abbau<sup>15</sup> zur Folge und eine damit einhergehende niedrigere DA-Konzentration (Egan et al., 2001; Weinshilboum, Otterness, & Szumlanski, 1999).

Da die beiden Genotypen kodominant vererbt werden, können auch heterozygote Varianten (val/met) mit einer intermediären Enzymaktivität vorkommen (Weinshilboum et al., 1999).

### **Bisherige Forschungsergebnisse zur funktionalen Bedeutung des val<sup>158</sup>met Polymorphismus**

Die DA-Übertragung im PFC ist maßgeblich bei geistigen Funktionen höherer Ordnung wie der Planung und Überwachung von Prozessen, sowie bei der Regulation von Emotionen beteiligt (Goldman-Rakic, 1998). So wurde in mehreren Studien bei Menschen und Tieren

---

<sup>14</sup> im Folgenden wird von Genotypen gesprochen

<sup>15</sup> vor allem im PFC

gezeigt, dass zu wenig oder zu viel DA im PFC kognitive Leistungen negativ beeinflusst (Mattay et al., 2003; Vijayraghavan, Wang, Birnbaum, Williams, & Arnsten, 2007).

Die Befundlage von Assoziationsstudien auf kognitive Funktionen mit dem COMT val<sup>158</sup>met Polymorphismus ist bisher uneindeutig: Obwohl einige Assoziationsstudien in unterschiedlichen Stichprobenzusammensetzungen weniger Perservationsfehler während der Durchführung des Wisconsin-Kartensortiertest (engl.: Wisconsin-Card-Sorting-Test, WCST) bei met-Trägern (Bruder et al., 2005; Egan et al., 2001; Malhotra et al., 2002; Mattay et al., 2003) zeigten, konnten die Ergebnisse nicht eindeutig repliziert werden (Diaz-Asper et al., 2008).

Neben der beschriebenen, jedoch noch nicht vollständig geklärten Rolle des COMT val<sup>158</sup>met Polymorphismus bei kognitiven Funktionen höherer Ordnung, zeigen mehrere Studien eine Beteiligung dieses funktionellen Polymorphismus bei der Angstkonditionierung und/oder Angstextinktion.

Eine experimentelle Studie zeigt, dass met-Träger im Vergleich zu val-Trägern erlernte Furchtreaktionen schlechter extinguieren (Lonsdorf et al., 2009). In dieser Studie wurde jedoch keine Assoziation zwischen dem COMT val<sup>158</sup>met Polymorphismus und Angstakquisition gefunden.

Neueste Befunde einer klinischen Studie von Lonsdorf et al. zeigen, dass Panikpatienten des homozygoten met-Genotyps weniger von einer kognitiven Verhaltenstherapie profitieren als val-Träger (Lonsdorf, Ruck, et al., 2010). Weiter besteht bei met-Trägern ein erhöhtes Risiko, eine posttraumatische Belastungsstörung (PTSD) nach einem Trauma zu entwickeln (Kolassa, Kolassa, Ertl, Papassotiropoulos, & De Quervain, 2010). In einer epidemiologischen Untersuchung mit einer relativ geringen Stichprobe konnte zudem gezeigt werden, dass die Häufigkeit des met-Allels bei Personen, die eine PTSD nach einem Trauma entwickelt haben, statistisch höher war (Valente, Vallada, Cordeiro, Bressan, et al., 2011). Interessant an dieser Studie war zudem, dass met-Träger eine statistisch signifikante höhere Symptomschwere beschrieben als nicht met-Träger.

### Dopamintransporter

Neben COMT reguliert der DA-Transporter (DAT) DA-Auswirkungen im Gehirn. Er gehört zur Gruppe der natrium- und chloridionenabhängigen Neurotransmittertransporter und besteht aus einer zwölf transmembranumfassenden Peptidkette (Giros et al., 1992). DA

wird durch DAT im Ko-Transport mit jeweils zwei Natrium- und einem Chloridion zurück in die Zelle transportiert (Ingram, Prasad, & Amara, 2002). Die dafür benötigte Energie wird durch den elektrochemischen Gradienten bereitgestellt. Der DAT spielt eine zentrale Rolle bei der Regulierung der extrazellulären DA-Konzentration im Striatum (Jaber et al., 1996; Piccini, 2003), weniger im PFC (Matsumoto et al., 2003).

### **Das Dopamintransporter Gen**

Das DAT Gen (DAT1, auch bekannt als SLC6A3) befindet sich auf dem kurzen Arm des Chromosoms 5 in der Region 5p 15.3 (Giros et al., 1992) und setzt sich aus 15 Exons mit einer Länge etwa 60 kb zusammen (Vandenbergh et al., 1992).

### **Der Dopamintransporter VNTR-Polymorphismus (rs28363170)**

Ein 40 Basenpaare umfassender VNTR-Polymorphismus in der 3' untranslatierten Region des DAT1 Gens ist durch die unterschiedliche Anzahl von Wiederholungen einer repetitiven Sequenz gekennzeichnet. Dabei sind Allele mit drei bis elf Wiederholungen bekannt (Vandenbergh et al., 1992). Die Allelfrequenzen sind hoch und liegen bei 45 und 50% (van Dyck et al., 2005).

Der DAT1 Polymorphismus beeinflusst die DAT1 Expression in vitro (VanNess, Owens, & Kilts, 2005) wie auch in vivo (Heinz et al., 2000). Wissenschaftlich ist jedoch umstritten, wie der DAT1 Polymorphismus die DAT1 Expression beeinflusst: So wird in einigen Studien berichtet, dass das 9-Repeat-Allel mit höherer DAT1 Expression einhergeht (Jacobsen et al., 2000; Michelhaugh, Fiskerstrand, Lovejoy, Bannon, & Quinn, 2001; G. M. Miller & Madras, 2002). Andere Studien zeigen jedoch, dass beim 10-Repeat-Allel eine höhere DAT1 Expression beobachtet werden kann (Fuke et al., 2001; Heinz et al., 2000; Jacobsen et al., 2000; Mill, Asherson, Browes, D'Souza, & Craig, 2002; VanNess et al., 2005).

In zwei weiteren Studien konnte kein Expressionsunterschied von DAT1 zwischen dem 10-Repeat Allel und dem 9-Repeat Allel gefunden werden (Hill, Anney, Gill, & Hawi, 2010; Mill, Asherson, Craig, & D'Souza, 2005).

### **Bisherige Forschungsergebnisse zur funktionalen Bedeutung des DAT1 Polymorphismus**

Während sich die meisten klinischen Studien zum DAT1 Polymorphismus auf mögliche Assoziationen zu ADHS, dem Tourettesyndrom sowie der bipolaren Störung fokussieren,

beschreibt eine aktuelle Studie einen möglichen Zusammenhang zwischen dem DAT1 9-Repeat Allel und der PTSD (Valente, Vallada, Cordeiro, Migueta, et al., 2011). Weiter wird der DAT1 Polymorphismus in Interaktion mit dem COMT val<sup>158</sup>met Polymorphismus auch mit Belohnungserwartung und Gehirnaktivität im Striatum in Verbindung gebracht (Yacubian et al., 2007). Auch wird in einer anderen Studie gezeigt, dass Träger des 9-Repeat-Allels mehr belohnungsspezifische neuronale Aktivierung im Caudatus und ventralen Striatum während der Belohnungsantizipation sowie stärkere Aktivierung im lateralen PFC bei Belohnungsauszahlung hatten (Dreher, Kohn, Kolachana, Weinberger, & Berman, 2009). Eine weitere Studie zeigt bei Trägern mit DAT1 9-Repeat Allel höhere neuronale Antworten im ventralen Striatum auf belohnungserwartungs-ähnliche Situationen (Forbes et al., 2009).

## 1.5 Neurobiologische Grundlagen von Angstkonditionierung und Angstextinktion

Nachdem die für die Arbeit wichtigen Neurotransmittersysteme (Neuropeptid S und Dopamin) näher vorgestellt worden sind, werden in diesem Kapitel die neuroanatomischen Grundlagen von Angstkonditionierung und -extinktion im Nager und im Menschen vorgestellt.

Um Angstkonditionierung und -extinktion im Tier näher zu untersuchen, können elektrophysiologische Untersuchungen, Läsionsstudien, Stimulationsstudien oder Infusionsstudien verwendet werden. Im Menschen ist es deutlich aufwendiger, anatomische Regionen ausfindig zu machen, die bei der Angstkonditionierung und -extinktion eine Rolle spielen. Nichtsdestotrotz bieten bildgebende Verfahren, wie fMRT oder PET, die Möglichkeit, einen Einblick in die funktionelle Neuroanatomie von Angstkonditionierung und -extinktion beim Menschen zu geben. In den ersten PET-Studien wurde der Blutfluss zwischen der Habituation und Akquisition und/oder Extinktion verglichen (Fredrikson, Wik, Fischer, & Andersson, 1995; Hugdahl et al., 1995; Logan & Grafton, 1995; Molchan, Sunderland, McIntosh, Herscovitch, & Schreurs, 1994). Diese Technik bietet jedoch nicht die ausreichende zeitliche Auflösung, um CSe und UCSe hinreichend voneinander zu unterscheiden. Im Gegensatz dazu, ist es mittels der fMRT möglich, hämodynamische Signalveränderungen während der Akquisition in Folge des CSes zu untersuchen, welche nicht durch Signalveränderungen in Folge des UCSes kontaminiert sind (Buchel, Morris, Dolan, & Friston, 1998).

### 1.5.1 Angstkonditionierung beim Nagetier

Die Amygdala und der mediale präfrontale Kortex (mPFC) spielen eine wichtige Rolle bei der Angstkonditionierung im Nager.

Die Amygdala befindet sich im Nager, wie auch im Menschen, im anterioren Temporallappen und besteht aus einer Anhäufung vieler Zellkerne (Nuclei). Viele dieser Nuclei werden aufgrund ihrer unterschiedlichen neuronalen Konnektivität in Subnuclei unterteilt. Die hier beschriebenen anatomischen Regionen der Amygdala beziehen sich nur auf Strukturen, die bei der Angstkonditionierung und Angstextinktion eine Rolle spielen.

Diese Strukturen sind:

- der basolaterale Komplex (BLA), der sich aus
  - o dem lateralen (LA),
  - o dem basolateralen (BL) und dem
  - o basomedialen Nucleus (BM) zusammensetzt.

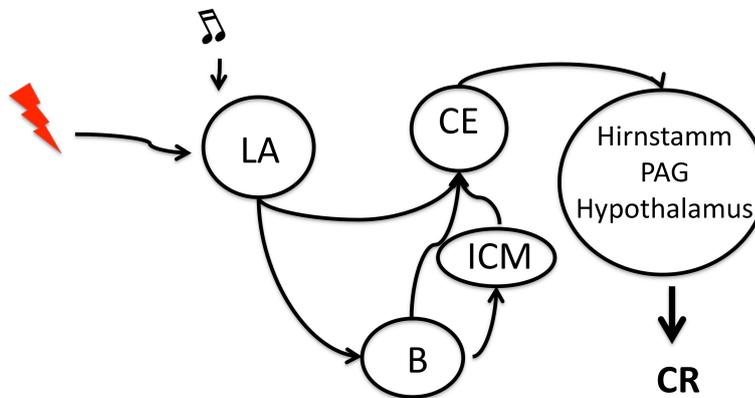
Oft werden BL und BM als basaler Nucleus (B) zusammengefasst.

- der zentrale Nucleus (CE),
- sowie die interkalierte Zellmasse (ICM).

Im Nager zählt die Amygdala zur ersten anatomische Struktur, die bei der Angstkonditionierung genauer untersucht worden ist: So wurde in den ersten Studien gezeigt, dass Läsionen der Amygdala die Konditionierung verhinderten (Hitchcock & Davis, 1986; LeDoux, Sakaguchi, & Reis, 1984). Auch konnte bereits früh gezeigt werden, dass die LA sensorischen Input aus Arealen wie dem Thalamus erhält (LeDoux, Ruggiero, & Reis, 1985) und dass es Verbindungen zwischen dem CE und dem Hypothalamus, dem zentralen Höhlengrau (PAG), dem Pons und anderen Hirnstammregionen gibt, die an der CR-Expression beteiligt sind (Applegate, Frysinger, Kapp, & Gallagher, 1982; Kapp, Frysinger, Gallagher, & Haselton, 1979; LeDoux, Iwata, Cicchetti, & Reis, 1988; Pitkanen, Savander, & LeDoux, 1997; Romanski & LeDoux, 1993). Erst später konnte gezeigt werden, dass CS-UCS-Assoziationen in unterschiedlichen Nuclei der Amygdala gebildet und verarbeitet werden (Davis & Whalen, 2001; LeDoux, 2000; Maren, 2005; Sigurdsson, Doyere, Cain, & LeDoux, 2007).

Im gegenwärtig anerkannten Modell (siehe Abbildung 3), konvergieren CS und UCS in der LA (LeDoux, 2000). Wird in einem folgenden Konditionierungsdurchgang der CS alleine präsentiert, können in der LA erhöhte neuronale Antworten auf diesen beobachtet werden (D. R. Collins & Pare, 2000; Quirk, Repa, & LeDoux, 1995; Repa et al., 2001). Projektionen von der LA verlaufen zum CE, welcher die Kernstruktur für den Output aus der Amygdala zum Hirnstamm, dem PAG und dem Hypothalamus ist (Davis & Shi, 2000; Kapp et al., 1979; Krettek & Price, 1978; LeDoux et al., 1988). Diese Regionen generieren

die spezifischen CRs (Bellgowan & Helmstetter, 1996; Davis & Shi, 2000; LeDoux et al., 1988).



**Abbildung 3:** Vereinfacht dargestellter Regelkreis der Angstkonditionierung in der Amygdala.

LA lateraler Nucleus; CE zentraler Nucleus; ICM Interkalierte Zellmasse; B basaler Nucleus; PAG zentrales Höhlengrau; CR konditionierte Reaktion

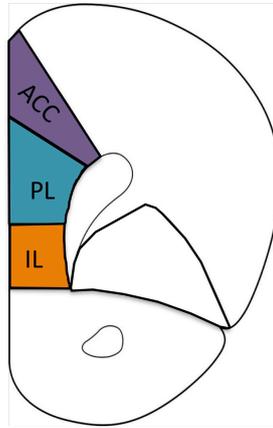
Neueste Studien heben die Beteiligung des prälimbischen Kortex (PL) bei der Expression von CRs hervor (Sotres-Bayon & Quirk, 2010). Zunächst soll diese Region und ihre neuronalen Verbindungen zu der Amygdala beschrieben werden. Anschließend werden wissenschaftliche Befunde erläutert, die ihre Rolle bei der Angstkonditionierung statuieren.

In dem Nager zählt der PL zum medialen präfrontalen Kortex (mPFC). Der mPFC liegt zusammen mit dem orbitalen (oPFC) und lateralen präfrontalen Kortex (lPFC) innerhalb des Frontallappens. Zum mPFC gehören

- das anteriore Cingulum (ACC)
- der infralimbische (IL) sowie
- prälimbische (PL) Kortex.

In der Literatur wird das ACC auch als dorsaler mPFC (dmPFC) bezeichnet. Der primärmotorische Kortex des Nagers wird oft auch zum dmPFC dazugezählt. Bei der Bezeichnung ventromedialer PFC (vmPFC) der Ratte handelt es sich um den IL. Der PL

wird oft dem dmPFC zugeteilt. Abbildung 4 verdeutlicht die Lage der anatomischen Teilregionen des mPFC in der Ratte.



**Abbildung 4:** Schematische Abbildung der Lage der einzelnen anatomischen Regionen des mPFC in der Ratte; violett schattiert ist der ACC, blau der PL und orange der IL.

ACC anteriorer cingulärer Kortex; PL prälimbischer Kortex; IL infralimbischer Kortex

Der mPFC, insbesondere der IL und PL, sind neuronal mit der Amygdala verbunden (McDonald, 1998; Russchen, 1982; Sesack, Deutch, Roth, & Bunney, 1989). Die Projektionen des IL reichen vorwiegend in den ventralen Teil der LA und BA, wohingegen die Projektionen des PL vorwiegend in die BL reichen (McDonald, 1998; McDonald, Mascagni, & Guo, 1996; Vertes, 2004). Zusätzlich projiziert der IL in die medialen ITC und in den CE (Cassell & Wright, 1986; McDonald et al., 1996). Der PL projiziert ebenfalls zu der ITC, jedoch ist diese Verbindung deutlich schwächer als die des IL (McDonald, 1998; McDonald et al., 1996; Vertes, 2004). Projektionen aus der Amygdala zum mPFC haben ihren Ursprung in der BLA, vorwiegend der BL, dem posterioren AB und zu einem geringeren Ausmaß dem ventralen Teil der LA (Cassell & Wright, 1986). Auch lassen physiologische Studien auf eine exzitatorische bzw. inhibitorische Wirkung des PL bzw. IL schließen: Die elektrische Stimulation des PL führt zu einer exzitatorischen Aktivität der BLA-Neurone (Likhnik, Pelletier, Paz, & Pare, 2005). Dagegen führt eine IL-Stimulation zu einer Aktivierung der ITC-Neurone (Amir, Amano, & Pare, 2011), welche inhibitorisch auf den CE wirken (Royer & Pare, 2002). Diese Befunde werden durch weitere wissenschaftliche Untersuchungen untermauert (Liang, King, & Zhang, 2012; Quirk & Gehlert, 2003).

Nachdem der mPFC, insbesondere der PL, eingeführt worden sind, soll nun die Rolle dieser Region bei der Angstkonditionierung näher beleuchtet werden.

In einer elektrophysiologischen Studie bei Ratten konnte gezeigt werden, dass der PL während der Angstkonditionierung aktiv war (Burgos-Robles, Vidal-Gonzalez, & Quirk, 2009). Eine weitere Studie mit Mäusen konnte diesen Befund replizieren (Herry, Vouimba, & Garcia, 1999). Weiter bewirkt eine chemische Inaktivierung des PL eine verringerte CR-Expression auf kontextuelle wie auch auditorische Stimuli (Corcoran & Quirk, 2007; Laurent & Westbrook, 2009). Interessanterweise hat diese Inaktivierung aber keinen Effekt auf die Expression angeborener Ängste (hier vor einer Katze). Zwei weitere elektrophysiologische Studien belegen, dass PL-Neurone ebenfalls durch CSe aktiviert werden (Burgos-Robles et al., 2009; Knapska & Maren, 2009). Nennenswert an dieser Stelle ist, dass PL-Neurone eine mehrere Sekunden lange Aktivität (Burgos-Robles et al., 2009) im Vergleich zu der nur einige hunderte Millisekunden langen neuronalen Aktivität von LA-Neuronen (Maren & Quirk, 2004) zeigen und somit den CR-Zeitverlauf gut abbilden. Diese vorgestellten Studien legen die Beteiligung des mPFC, speziell des PL, bei der CR-Expression nahe. Weiter verstärkt wird diese Annahme durch Studien, bei denen die PL-Aktivität bei Ratten, welche Informationen aus dem Extinktionsgedächtnis nicht abrufen konnten, erhöht ist (Burgos-Robles et al., 2009; Knapska & Maren, 2009). Auch bewirkt die Gabe pharmakologischer Substanzen, wie Propranolol (Rodriguez-Romaguera, Sotres-Bayon, Mueller, & Quirk, 2009) und Cannabidol (Lemos, Resstel, & Guimaraes, 2010), welche die Angstexpression reduzieren, eine verminderte PL-Aktivität.

### 1.5.2 Angstextinktion beim Nagetier

Wichtig bei der Betrachtung wissenschaftlicher Ergebnisse von Extinktion im Tier, wie aber auch im Menschen, ist die Unterscheidung zwischen der CR-Reduktion innerhalb des Extinktionstrainings („within-session“-Extinktion) und der CR-Reduktion 24 oder mehr Stunden nach dem Extinktionstraining („between-session“-Extinktion) (siehe Abbildung 2).

Die Amygdala zählt, wie auch schon bei der Angstkonditionierung, zu den wichtigsten Gehirnstrukturen bei der Angstextinktion im Nager. So feuern BLA-Neurone auf extinguierte Stimuli während der within-session- (Herry et al., 2008) und auch während der between-session-Extinktion (Herry et al., 2008; Hobin, Goosens, & Maren, 2003). Eine

Inaktivierung des B vor der within-session-Extinktion oder Läsionen der ICM nach der within-session-Extinktion beeinträchtigen die within-session-Extinktion bzw. die between-session-Extinktion (Likhtik, Popa, Apergis-Schoute, Fidacaro, & Pare, 2008). Neben der Amygdala spielt auch der mPFC eine Rolle bei der Angstextinktion: Zwar nicht im Nagetier, aber im Affen konnte gezeigt werden, dass eine vmPFC-Läsion zu einer verminderten Extinktion führt (Butter, Mishkin, & Rosvold, 1963). In späteren wissenschaftlichen Untersuchungen wurde gezeigt, dass Ratten mit vmPFC-Läsionen normal angstkonditioniert werden konnten, jedoch deutliche Schwierigkeiten bei der Extinktion hatten (Morgan & LeDoux, 1995; Morgan, Romanski, & LeDoux, 1993). So zeigten weitere Läsionsstudien des IL, dass der IL notwendig für die between-session-Extinktion ist, nicht aber für die within-session-Extinktion (Quirk, Russo, Barron, & Lebron, 2000): IL-Läsionen beeinflussten die CR-Reduktion während der within-session-Extinktion nicht. 24 Stunden später konnten die Ratten jedoch Informationen aus dem Extinktionsgedächtnis nicht abrufen (between-session-Extinktion). Mehrere weitere Läsionsstudien stützen den Befund, dass IL-Läsionen den Abruf von Informationen aus dem Extinktionsgedächtnis, also die between-session-Extinktion, beeinträchtigen (Lebron, Milad, & Quirk, 2004; Morgan, Schulkin, & LeDoux, 2003; Morrow, Elsworth, Rasmusson, & Roth, 1999; Weible, McEchron, & Disterhoft, 2000).

In Einklang mit den vorgestellten Läsionsstudien konnte in einer elektrophysiologischen Studie, bei der die Aktivität von einzelnen Neuronen aufgezeichnet worden ist, gezeigt werden, dass IL-Neurone nicht auf den CS während der Akquisition oder der Extinktion reagierten, aber am Folgetag bei dem Abruf von Informationen aus dem Extinktionsgedächtnis (Milad & Quirk, 2002).

Eine Anzahl wissenschaftlicher Untersuchungen, die den IL pharmakologisch manipulierten, bestätigt weiter die Rolle des IL bei der Extinktion: IL-Injektionen vor der Extinktion von

- dem Cannaboid-Rezeptor (CB1) Agonisten WIN 55212-2 (H. C. Lin, Mao, Su, & Gean, 2009),
- BDNF (Peters, Dieppa-Perea, Melendez, & Quirk, 2010),
- dem Kaliumkanal Blocker XE-991 (Santini & Porter, 2010) und

- dem GABA Antagonisten Picrotoxin (Chang & Maren, 2011; Thompson et al., 2010)

bewirkten bei Ratten eine verbesserte Extinktionsleistung.

Auf der anderen Seite bewirkten Injektionen

- des CB1-Antagonisten AM251 (H. C. Lin et al., 2009),

- von Muscimol (Laurent & Westbrook, 2009; Sierra-Mercado, Padilla-Coreano, & Quirk, 2011),

- des D2-Rezeptor Antagonisten Racloprid (Mueller, Bravo-Rivera, & Quirk, 2010) und

- des mGluR5 Antagonisten MEP (Fontanez-Nuin, Santini, Quirk, & Porter, 2011)

eine verschlechterte Extinktionsleistung bei Ratten.

### 1.5.3 Angstkonditionierung beim Menschen

Bevor Untersuchungsergebnisse zur Angstkonditionierung beim Menschen zusammengefasst werden, soll zunächst eine wichtige Gehirnregion des Menschen, der dmPFC/ACC, näher vorgestellt werden.

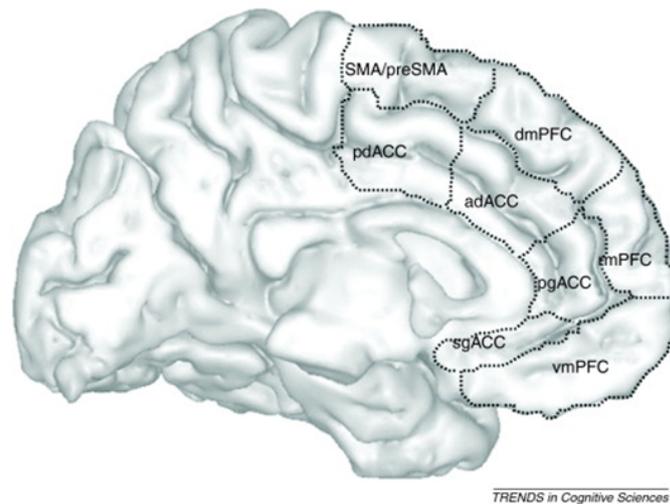
#### **Dorsomedialer präfrontaler Kortex/Anteriores Cingulum (dmPFC/ACC)**

Der dmPFC/ACC zählt, wie bei der Ratte, zum PFC. Der menschliche mPFC kann, in unterschiedliche anatomische Bereiche unterteilt werden: Zu diesen zählt

- der ventromediale PFC (vmPFC),
- der rostrale mPFC (rmPFC) sowie
- der dorsomediale PFC (dmPFC).

Das ACC lässt sich in einen ventralen (anterioren) und dorsalen (midcingulären) Bereich (dACC) unterteilen (Etkin, Egner, & Kalisch, 2011; Vogt, Hof, & Vogt, 2004). Der ventrale Bereich kann weiter in den subgenualen bzw. rostralen (sgACC) und den pregenualen bzw. caudalen (pgACC) Bereich unterteilt werden. Der dACC kann weiter in einen anterioren (adACC) und dorsalen (pdACC) Bereich getrennt werden (Etkin, Egner, & Kalisch, 2011; Vogt, Hof, & Vogt, 2004).

Abbildung 5 verdeutlicht die Lage der Teilbereiche des mPFC und ACC im Menschen.



**Abbildung 5:** Teilbereiche des mPFC und ACC im Menschen. Zum mPFC gehören vmPFC, rmPFC, dmPFC, SMA/preSMA. Zum ACC gehören sgACC, adACC, pgACC und pdACC.

vmPFC ventromedialer präfrontaler Kortex; rmPFC rostromedialer präfrontaler Kortex; dmPFC dorsomedialer präfrontaler Kortex; SMA/preSMA Supplementär-motorische Rinde; sgACC subgenuales anteriores Cingulum; pgACC pregenuales anteriores Cingulum; adACC anteriorer Bereich des dorsalen anterioren Cingulum; pdACC posteriorer Bereich des anterioren Cingulum

Abbildung aus Etkin, Eger & Kalisch (2011). Veröffentlicht mit Genehmigung von Trends in Cognitive Science.

### Untersuchungsergebnisse zur Angstkonditionierung beim Menschen

Nachdem der dmPFC/ACC nun näher erläutert worden sind, werden nun die Befunde zu Angstkonditionierung im Menschen vorgestellt.

Ergebnisse von fMRT-Untersuchungen zur Angstkonditionierung beim Menschen sind heterogen. Diese Heterogenität kann auf die Wahl von unterschiedlichen experimentellen Designs, der CS-Verstärkungsrate, der UCS-Modalität (z.B. taktil, auditorisch, visuell oder olfaktorisch) und nicht zuletzt auf die Tatsache, ob die Versuchspersonen vor der Angstkonditionierung über die Assoziation zwischen CS und UCS instruiert worden sind, zurückgeführt werden.

Bisher sind insgesamt vier Metaanalysen zu Angstkonditionierung und bildgebenden Verfahren publiziert worden (Etkin & Wager, 2007; LaBar & Cabeza, 2006; Mechias et al., 2010; Sehlmeier et al., 2009).

In der ersten Metaanalyse wurden neun fMRT-Studien zusammengefasst, wobei methodisch keine Unterscheidung stattfand, ob die Versuchspersonen über die CS-US Assoziation vorher instruiert wurden oder nicht (LaBar & Cabeza, 2006). Dabei ist diese Unterscheidung sehr wichtig, da beiden Paradigmen (die Versuchsperson ist vor dem Experiment über die CS-UCS Assoziation instruiert worden vs. die Versuchsperson ist nicht über die CS-UCS Assoziation instruiert worden) unterschiedliche kognitive Prozesse zugrunde liegen können, welche in Kapitel 1.3.1 näher beschrieben worden sind. Nichtsdestotrotz zeigt diese Analyse<sup>16</sup>, dass in den Studien die Amygdala, der Thalamus, der ACC sowie der dmPFC bei Angstkonditionierung aktiv waren (LaBar & Cabeza, 2006).

In der zweiten Metaanalyse wurden insgesamt 10 fMRT-Studien mit 117 Versuchsteilnehmern analysiert, wobei auch hier nicht unterschieden worden ist, ob es sich um instruierte oder nicht instruierte Versuchsteilnehmer gehandelt hat (Etkin & Wager, 2007). Insgesamt fanden die Autoren Aktivierungen in der Amygdala, dem OFC, der SN/VTA, dem Putamen, der Insel sowie dem ACC.

Eine weitere quantitative Analyse betrachtete insgesamt 46 fMRT- und 14 PET-Studien (Sehlmeyer et al., 2009). Methodisch wurden alle Studienergebnisse visuell analysiert ohne dabei eine statistische Methode zu verwenden. Auch ist aus oben genannten Gründen der Einbezug von PET Studien bei Angstkonditionierung kritisch. Zudem trennte auch diese Metaanalyse nicht zwischen instruierten und uninstruierten Paradigmen. Die Autoren fanden heraus, dass in den meisten Studien die Amygdala, der ACC und die Insel aktiv waren, wobei sie selbst diskutieren, dass es sich um ein heterogenes Bild handelt (Sehlmeyer et al., 2009).

Die aktuellste Metaanalyse, die zwischen instruierten (insgesamt 10 Studien mit 162 Versuchsteilnehmern) und uninstruierten Angstkonditionierungsexperimenten (insgesamt 15 Studien mit 198 Versuchsteilnehmern) unterschied, zeigte ein unterschiedliches Aktivierungsmuster bei beiden Paradigmen (Mechias et al., 2010). Wichtig anzumerken dabei ist, dass nur eine Region, nämlich der dmPFC/dACC, sowohl in instruierten wie uninstruierten Studien aktiv war. Über die instruierten Angstkonditionierungsstudien hinweg wurden konsistente Aktivierungen bilateral im dmPFC/dACC (ausgeweitet bis hin

---

<sup>16</sup> Bei dieser Publikation ist zu beachten, dass nicht klar ersichtlich wird, welche mathematische Methode verwendet worden ist.

in den präsupplementalmotorischen Kortex (preSMA)), bilateral in der anterioren Insel (ausgeweitet bis hin in das rechte Putamen) sowie bilateral im Caudatus/Putamen (ausgeweitet bis hin in den anterioren Thalamus und das rechte Pallidum) gefunden.

Über die uninstruierten Angstkonditionierungsstudien konnte eine weniger konsistentes Aktivierungsmuster in der Metaanalyse gefunden werden (Mechias et al., 2010): Bei einem konservativen Schwellenwert war der dmPFC/ACC über alle Studien hinweg aktiv. Bei einem etwas liberaleren Schwellenwert wurden über die Studien hinweg zusätzlich konsistente Aktivierungen bilateral in der Amygdala und Insel gefunden.

Mit dem Ergebnis dieser neuesten Metaanalyse scheint der dACC sowie der benachbarte dmPFC eine wichtige Rolle in dem neuronalen Schaltkreis von Angsterwerb im Menschen zu spielen (Etkin, Egner, & Kalisch, 2011; Mechias et al., 2010).

In einem aktuellen Übersichtsartikel wurden alle ACC- und mPFC-Aktivierungen aller relevanten Angstkonditionierungsstudien visuell dargestellt (Etkin et al., 2011). Hier wurde deutlich, dass die Aktivierungen nicht einheitlich über den ACC und mPFC verteilt waren, sondern sich in den Regionen des dACC, dmPFC und preSMA häuften. Die Autoren vermuten hinter den unterschiedlichen Aktivierungsmustern unterschiedliche kognitive Prozesse, die während der Angstkonditionierung nacheinander oder parallel ablaufen können (Etkin et al., 2011). Zu diesen Prozessen können zum einen die Bewertung des CSes, die Expression der CR oder aber auch unterschiedliche Lernprozesse zählen. So geht z.B. aus Untersuchungen hervor, dass der dACC/dmPFC an der Generierung von CRs, wie der elektrodermalen Aktivität (EDA) beteiligt ist (Gentil, Eskandar, Marci, Evans, & Dougherty, 2009; Milad et al., 2007). Daneben gibt es Hinweise, dass etwas rostraler gelegene Bereiche des dACC/dmPFC eher bei der bewussten Bewertung von Bedrohung, aber nicht bei der Generierung von subjektiven oder autonomen konditionierten Reaktionen, beteiligt sind (Kalisch, Wiech, Critchley, & Dolan, 2006). Dieser Befund konnte zum einen durch eine Metaanalyse von Studien mit expliziter Bewertung emotionaler Stimuli oder Reaktionen (Lee & Siegle, 2009) und durch die oben beschriebene Metaanalyse bei instruierten Angststudien, bei denen Bewertung ein zentraler Teil der Studien war, unterstützt werden (Mechias et al., 2010). Eine weitere Studie zeigt, dass diese Region nur in Probanden mit Bewusstsein der CS-UCS-Kontingenzen aktiv ist (Klucken, Kagerer, et al., 2009).

### 1.5.4 Angstextinktion beim Menschen

In einem aktuellen Übersichtsartikel wurden Ergebnisse, die Angstextinktion im Menschen untersucht haben, visuell dargestellt (Etkin et al., 2011). Dabei wurde zwischen within-session-Extinktion und between-session-Extinktion unterschieden. Die Ergebnisse des Übersichtsartikels weisen auf eine Beteiligung des dACC und des mPFC bei der within-session-Extinktion sowie des ventralen ACC und mPFC hin. Die Autoren weisen darauf hin, dass die Aktivierungen des dACC und mPFC, die ja während der Angstkonditionierung beim Menschen aktiviert sind, eine Art Restaktivierungen der vorangegangenen Angstkonditionierung sein können, da in der frühen Phase der Extinktion der CS immer noch eine CR (die allerdings im weiteren Verlauf abfällt) erzeugt. So liegt es nahe anzunehmen, dass der ventrale ACC und der mPFC an der Angstinhibierung während der Extinktion beteiligt sind.

Neben dem ACC und mPFC ist es aber auch anzunehmen, dass auch weitere anatomische Regionen an der Angstextinktion beteiligt sein könnten. Das Weglassen eines erwarteten aversiven UCS in der Extinktion könnte als appetitiver oder belohnender Vorhersagefehler ( $\delta_{app}$ ) konzeptualisiert werden und die darauffolgende Reduktion der UCS-Vorhersage  $V_{av}$  als Generierung einer belohnungsartigen Sicherheitsvorhersage  $V_{app}$ . Aus dieser Perspektive könnte Angstextinktion durch ein entgegengesetztes appetitives Lernsystem gesteuert werden.

Belohnungslernen wird mit dem meso-striatalem DA-System, das in Kapitel 1.4.2 näher erläutert worden ist, in Verbindung gebracht (Montague, Hyman, & Cohen, 2004; Pessiglione, Seymour, Flandin, Dolan, & Frith, 2006; Schultz, 2006). Es gibt Belege dafür, dass der  $\delta_{app}$  durch einen phasischen Anstieg der Feuerungsrate DA-erger Neurone mit Ursprung im VTA und der SN, welche ins ventrale Striatum projizieren, vermittelt wird (Schultz, 2006). Daher wurde vorgeschlagen, dass die DA-Ausschüttung im VS bei der  $\delta_{app}$  Signaltransduktion bei Angstextinktion involviert sein könnte (Holtzman-Assif, Laurent, & Westbrook, 2010). Der Befund einer Tierstudie, dass DA-Signaltransduktion via D1 Rezeptoren notwendig für die Extinktion ist (El-Ghundi, O'Dowd, & George, 2001), unterstützt weiter die potenzielle Beziehung zwischen Angstextinktion sowie Belohnungssystem.

## 2 Hypothesen

Die in dieser Arbeit vorgestellten Studien versuchen, die Brücke zwischen molekularer Genetik, Psychophysiologie sowie funktioneller Bildgebung zu schlagen.

Ziel ist es, das Wissen um die genetischen Einflüsse auf Angsterwerb und -extinktion mit Hilfe der Methoden der klassischen Angstkonditionierung und Bildgebung zu erweitern.

Während in **Studie 1** die Wirkungen des Neuropeptid S Rezeptors auf den Angsterwerb untersucht werden, wird in **Studie 2** ein lerntheoretisches Modell implementiert, um den Einfluss des DAT1 und des COMT val<sup>158</sup> mit Polymorphismus auf Angstextinktion im Sinne eines appetitiven Lernprozesses zu untersuchen.

In **Studie 1** wird genauer untersucht

ob der NPSR1 Gen Polymorphismus (rs324981), der im Vorfeld mit der Panikstörung assoziiert worden ist, sich auf subjektive Angstbewertungen und/oder auf objektive physiologische Parameter wie die elektrodermale oder neuronale Aktivität bei konditionierten Reizen auswirkt.

Wenn er sich der Polymorphismus auf subjektive Bewertungen auswirken sollte, wird weiter untersucht, ob erhöhte konditionierte Hirnaktivität in Regionen, die mit Bewertung in Verbindung gebracht werden konnten (wie im rostralen dmPFC), beobachtet werden kann.

Wenn er sich auf objektive physiologische Parameter auswirken sollte (elektrodermale Aktivität), ob dann erhöhte konditionierte Hirnaktivität in Regionen, die mit konditionierten Hautleitfähigkeitsreaktionen in Verbindung gebracht werden konnten (wie im weiter kaudal gelegenen dmPFC), beobachtet werden kann.

In **Studie 2** wird genauer untersucht

ob Extinktion bei Menschen durch ein appetitives Lernsystem gesteuert wird, in dem das meso-striatale DA-System appetitive Vorhersagefehler ( $\delta_{app}$ ) vermittelt.

Da die extrazelluläre DA-Konzentration im Striatum vorwiegend durch den DAT1 reguliert wird, wird weiter untersucht, ob das DAT1 9R Allel mit verbesserter

Extinktion wie auch mit einer erhöhten neuronalen Antwort auf den  $\delta_{app}$  im VS verbunden ist.

Weiter wird durch Berücksichtigung des COMT Genotyps eine mögliche Beteiligung von extra-striatalem DA exploriert, da COMT im Gegensatz zu DAT vorwiegend im PFC vorhanden ist und die extrazelluläre Konzentrationen im PFC reguliert.

## 3 Methoden

Da es sich bei **Studie 1** und **Studie 2** um dasselbe experimentelle Design handelt und sich die Versuchsteilnehmer in beiden Studien überlappen (**Studie 1** beinhaltet einen Teil der Versuchsteilnehmer aus **Studie 2**), sollen in diesem Kapitel die Auswahl der Versuchsteilnehmer für **Studie 1** und **Studie 2** ("Screeningprozedur"), das experimentelle Design beider Studien, sowie die Methoden (SCR, Angstbewertungen und fMRT) näher erläutert werden. Da die Auswertungen beider Studien teilweise unterschiedlich sind, werden die studienspezifischen Auswertungen in den einzelnen Studien näher beschrieben (siehe 4.2 Methoden Studie 1 und 5.2 Methoden Studie 2).

### 3.1 Screeningprozedur

Während eines Screeningverfahrens, das **Studie 1** und **Studie 2** vorbereitet hat, wurden die Versuchspersonen nach ihrem gegenwärtigem und vergangenen Gesundheitszustand befragt. Diese Befragung bestand aus einem standardisierten psychiatrischen Interview (MINI 5.00) (Ackenheil, Stotz, Dietz-Bauer, & Vossen, 1999). Es wurden nur rechtshändige männliche Teilnehmer<sup>17</sup> zwischen 18 und 50 Jahren<sup>18</sup> eingeschlossen, die fließend deutsch lesen und schreiben konnten. Einnahme von illegalen Drogen und übermäßiger Alkohol- und Tabakkonsum<sup>19</sup> waren Ausschlusskriterien. Weitere Ausschlusskriterien waren ehemalige oder gegenwärtige Erkrankungen von Hirn oder Geist (psychische, psychiatrische oder neurologische Erkrankungen), Herz oder Kreislauf (inkl. Bluthochdruck), Blut, Lunge, Leber, Nieren, Schilddrüse, Augen (inkl. Glaukom, Farbenblindheit und Kurzsichtigkeit von mehr als -5 Dioptrien), Haut, Magen-Darm-Kanal und Stoffwechsel. Dabei war es nicht entscheidend, ob die Erkrankung behandelt oder unbehandelt, lang- oder kurzfristig war oder weit zurücklag. Davon ausgenommen waren ehemalige Kinderkrankheiten und ehemalige harmlose Erkrankungen wie z.B.

---

<sup>17</sup> Männer haben stärkere konditionierte Angstantworten als Frauen; der Zyklus beeinflusst zudem die Extinktion (Milad et al., 2006).

<sup>18</sup> Das Alter beeinflusst generell die Performance in kognitiven Aufgaben (Hariri, Mattay, Tessitore, Fera, & Weinberger, 2003). Zudem wurden Effekte des Alters auf die Verfügbarkeit des DAT-Proteins berichtet (van Dyck et al., 2002)

<sup>19</sup> Der durchschnittliche Alkoholkonsum sollte weniger als 15 Gläser Wein oder Bier pro Woche betragen, wobei ein Glas höherprozentiger Alkoholika wie 2 Gläser Bier zählte. Der durchschnittliche Zigarettenkonsum sollte weniger als 20 Zigaretten pro Tag betragen.

übliche Magen-Darm-Infektionen, Belastungskopfschmerzen und Schnupfen. Medikation<sup>20</sup> zum Zeitpunkt des Screenings und in einem Zeitraum von 2 Monaten vor dem Screening zählte als weiteres Ausschlusskriterium. Weitere Ausschlusskriterien waren unentfernbar metallische Gegenstände im oder am Körper. Nach Abklären der Ein- und Ausschlusskriterien unterschrieben die Versuchsteilnehmer eine Aufklärungsbroschüre und eine Einwilligungserklärung. Ein anschließender Urintest (Multi-10-3 Drogen Test, Diagnostik-Nord, Schwerin, Deutschland) ermöglichte Teilnehmer auszuschließen, die auf Drogen positiv gescreent wurden.

Nach der Befragung wurde allen eingeschlossenen Teilnehmern 30ml Blut für eine DNA-Analyse entnommen. Anschließend nahmen sie an einer computergestützten Befragung zur Persönlichkeit teil. Diese Befragung umfasste u.a. Skalen zur sozialen Erwünschtheit (SDS-E und SDS-CM) (Lück & Timaeus, 1969), das Trait-Angstinventar (L. Laux, P. Glanzmann, P. Schaffner, & C.D. Spielberger, 1981), die deutsche Version der "Positive and Negative Affect Schedule" (PANAS) (H.W. Krohne, B. Egloff, C.-W Kohlmann, & A. Tausch, 1996) und die Kurzform der Allgemeinen Depressions Skala (ADS-K) (Hautzinger & Baller, 1993). Nach der computergestützten Befragung wurde mit Hilfe von elektrischen Reizen die individuelle Schmerzschwelle der Teilnehmer über eine Stimulationssonde auf dem rechten Handrücken bestimmt. Aufgabe der Versuchsteilnehmer war es, dabei die unterschiedlich starken Schmerzstimuli auf einer verbalen „Schmerzskala“ von 0 (keine Wahrnehmung eines Reizes) bis 10 (größter vorstellbarer Schmerz) zu beurteilen. Die Kalibrierung begann mit kleinen Stromstärken, die schrittweise erhöht wurden, sodass sichergestellt werden konnte, dass die Stärke 10 nie erreicht wurde. Eine Stromstärke entsprechend einem Wert von 8 wurde gewählt.

Nur Probanden, die auf den elektrischen Reiz reagierten (schmerzempfindlich waren), wurden in die folgenden fMRT-Studien eingeschlossen. Zu diesen wurden sie auf Grund ihres NPSR1 Genotyps (**Studie 1**) oder ihres DAT1 und COMT Genotyps (**Studie 2**) eingeladen. Separate Aufklärungsbroschüren und Einwilligungserklärungen wurden für diese Studien verwendet.

---

<sup>20</sup> Unter Medikation wird auch die Einnahme von Medikamenten im Rahmen einer Klinischen Prüfung verstanden. Ausgenommen sind lediglich rezeptfreie Arzneien, wenn deren Einnahme länger als 1 Woche vor Teilnahme an der Studie zurückliegt.

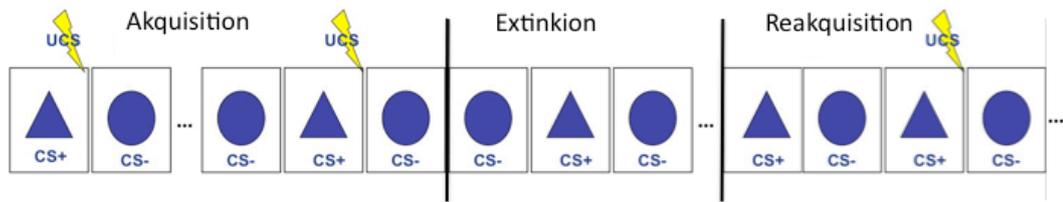
## 3.2 Genotypisierung

Die Genotypisierung fand durch einen Kooperationspartner in Würzburg (Univ.-Prof. Dr. J. Deckert, Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie des Universitätsklinikums Würzburg) statt. Dabei wurde die DNA aus venösem Blut mittels einer Standardprozedur extrahiert (S. A. Miller, Dykes, & Polesky, 1988). Die Bestimmung der Genotypen erfolgte über die Vervielfältigung der genomischen DNA mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR). Die PCR-Produkte wurden verdaut, wobei spezifische Fragmente entstanden. Die verdauten PCR-Produkte wurden mittels Gelelektrophorese aufgetrennt. Die Bestimmung des NPSR1, DAT, COMT, BDNF sowie Serotonintransporter Genotyps sind im Anhang A näher beschrieben.

## 3.3 Versuchsdesign

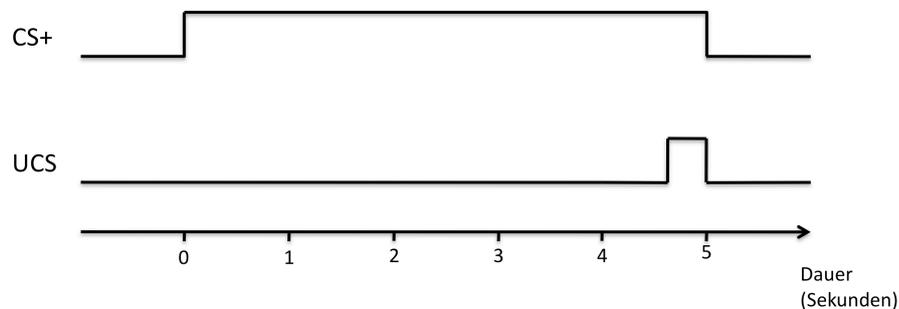
Die Versuchsaufgabe der Teilnehmer in **Studie 1** und **Studie 2** (es handelte sich um eine experimentelle Untersuchung) war eine beschleunigte Entscheidungsaufgabe. Bei dieser sollten sie, sobald das entsprechende Symbol auf dem Bildschirm erscheint, durch entsprechenden Tastendruck (entweder links oder rechts) mit der rechten Hand entscheiden, ob sie einen Kreis oder ein Dreieck erkennen. Vorab wussten sie, dass während des Experimentes Schmerzreize appliziert werden würden, jedoch wurden die Bedingungen oder Voraussetzung, wann diese appliziert werden würden, nicht mitgeteilt. Ebenfalls wurde ihnen von einer möglichen Konditionierung oder Extinktion nichts mitgeteilt. Zunächst wurden die Versuchsteilnehmer an die Stimuli, die Aufgabe und den Scanner sowie dessen laute Geräusche gewöhnt, indem ihnen jeder Stimulus (Kreis und Dreieck) vier mal vor dem eigentlichen Experiment bei laufendem Scanner dargeboten wurde („Habituationsphase“).

Das gesamte Experiment bestand aus einer Akquisitions-, einer Extinktions- sowie einer Reakquisitionsphase, welche ohne Unterbrechung oder Veränderung sofort aufeinander folgten. Abbildung 5 zeigt schematisch das Versuchsdesign. Alle drei Phasen bestanden aus jeweils 36 Durchgängen.



**Abbildung 5:** Schematische Darstellung des Versuchsdesigns: CS+ und CS- sind geometrische Figuren, der UCS ist ein elektrischer Reiz

In jeder der drei Phasen wurde ein konditionierter Reiz (CS+) 18 mal für eine Dauer von 5 Sekunden in einer pseudorandomisierten Reihenfolge präsentiert. Während der Akquisitions- und der Reakquisitionsphase wurde der CS+ 15 mal mit einem un konditionierten Reiz (UCS) gekoppelt. Der UCS wurde kurz vor Präsentationsende des CS+ (bei 4,75 Sekunden) appliziert. 3 mal wurde der CS+ ohne einen UCS in der Akquisitions- und Reakquisitionsphase präsentiert. Dies entspricht einer Verstärkungsrate von 80%. Es handelte sich bei diesem Experiment um eine verzögerte Konditionierung, die auch delay conditioning genannt wird (siehe Abbildung 6).



**Abbildung 6:** Schematische Darstellung der verzögerten Konditionierung (delay conditioning). Der UCS wurde am Ende des CS+ appliziert.

Während der Extinktion wurde der CS+ nicht mit dem UCS gekoppelt. In dem Experiment wurde zusätzlich noch ein Kontrollstimulus (CS-) verwendet, welcher nie mit dem UCS gepaart wurde. Dieser wurde 18 mal während der Akquisition, Extinktion und Reakquisition dargeboten. Die Stimuli (CS+ und CS-) wurden pseudorandomisiert: Maximal zwei Durchgänge hintereinander durften denselben CS-Typ (CS+ oder CS-)

beinhalten und in einem Block von 12 Durchgängen musste die Anzahl von CS+ und CS- gleich sein.

Die Länge des Inter-Stimulus-Intervals (ISI) betrug zwischen 9 und 14 Sekunden, mit einem Durchschnitt von 11.5 Sekunden.

Die Präsentation des Experimentes erfolgte mit Matlab Version R2007b (Mathworks Inc., Natick, USA) sowie Cogent2000 (Wellcome Trust Centre for Neuroimaging, England).

## **3.4 Stimuli**

### **3.4.1 Konditionierte Reize**

Konditionierte Reize (CS) waren ein weißer Kreis und ein weißes Dreieck, die auf einem schwarzen Hintergrund präsentiert wurden. Entweder war der Kreis der CS+ und das Dreieck der CS- oder umgekehrt. Dies war zufällig.

### **3.4.2 Unkonditionierte Reize**

Unkonditionierte Reize (UCS) bestanden aus drei dicht aufeinanderfolgenden (0.2 ms Abstand) schmerzhaften elektrischen Reizen auf dem rechten Handrücken. Die 2ms langen Reize wurden über einen elektrischen Stimulator, den Digitimer DS7A (Digitimer Ltd., Welwyn Garden City, England), appliziert. Die elektrischen Reize hatte eine Stärke von 0.01 bis 100mA und wurden über eine Oberflächenelektrode (Clyde's Polo Kit Supplies, Bexley, England) appliziert. Die Stärke der Stimulation, also der elektrischen Reize, wurde individuell adjustiert, um den individuell maximalen tolerierbaren Schmerz zu erreichen. Die Adjustierung erfolgte wie bei der oben beschriebenen Screeningprozedur.

## **3.5 Messung und Auswertung der subjektiven**

### **Bewertungen**

Zu Beginn des Experimentes und nach je weiteren 12 Durchgängen wurden die Versuchsteilnehmer gebeten, auf einer visuellen Analogskala (VAS) von 0 (gar kein Stress) bis 100 (sehr viel Stress) mit Hilfe einer Tastatur zu bewerten, wie viel Stress/Angst/Anspannung die ihnen präsentierten Symbole hervorrufen. Insgesamt gab es in den 36 Durchgängen des Experimentes 9 subjektive Bewertungen (jeweils 3 pro Phase).

Die Versuchsteilnehmer hatten 7 Sekunden Zeit, eine Bewertung pro CS abzugeben. Insgesamt dauerte die Bewertungsphase 14 Sekunden (Bewertung von CS+ und CS-).

Alle Bewertungen wurden für die weitere Auswertung normalisiert, indem eine Subtraktion aller erhobenen Werte auf die Werte nach der Habituationsphase („Baseline“) erfolgte. Anschließend erfolgten Varianzanalysen mit Meßwiederholung. Die Datenanalyse erfolgte mit SPSS 17.0 (SPSS, Chicago, Illinois, USA) und Matlab (Mathworks Inc., Natick, USA).

### **3.6 Messung und Auswertung der elektrodermalen Aktivität**

Die Messung der elektrodermalen Aktivität (EDA) ergibt für jeden CS eine „skin conductance response“, kurz SCR. Diese ist als Differenz der maximalen EDA in einem Zeitfenster von 0 bis 5 Sekunden nach Beginn der CS-Darbietung und der EDA zu Beginn der CS-Darbietung definiert. Zwei Elektroden wurden an der linken Handinnenfläche angebracht. Die SCR-Messung erfolgte mit einer Aufzeichnungsrate von 1000 Hz. Die Aufzeichnung erfolgte mit der Hardwarekomponente CED2502-SA (Cambridge Electronic Design, Cambridge, England) und der dazugehörigen Spike 2 Software (CED). Die SCR-Daten wurden auf 100 Hz heruntergebrochen („down-sample“) und visuell auf Artefakte überprüft. Artefakte, die aufgrund der elektrischen Stimulation entstanden sind, wurden entfernt und der Zeitverlauf infolgedessen interpoliert. Die Datenanalyse erfolgte mit SPSS 17.0 (SPSS, Chicago, Illinois, USA) und Matlab (Mathworks, Natick, Massachusetts, USA).

### **3.7 Messung und Auswertung der Reaktionszeiten**

Die Datenanalyse der Reaktionszeiten der Aufmerksamkeitsaufgabe erfolgte mit Matlab (Mathworks, Natick, Massachusetts, USA) und mit SPSS 17.0 (SPSS, Chicago, Illinois, USA).

## 3.8 Funktionale Magnetresonanztomographie

### 3.8.1 Einführung

Die funktionelle Magnetresonanztomographie (fMRT) ist ein nicht-invasives, relativ junges Bildgebungsverfahren zur Messung sowie Lokalisation spezifischer Funktionen des menschlichen Gehirns. Die Hirnfunktionen werden mit hoher örtlicher (1 - 3 mm) jedoch mit geringer zeitlicher Auflösung (2-5 Sekunden) erfasst. Im weiteren Verlauf soll das Verfahren näher vorgestellt werden.

### 3.8.2 Physikalische Grundlagen

Da menschliches lebendiges Gewebe hauptsächlich aus Wasser besteht (60-80%), nutzt die fMRT den Effekt der Fähigkeit zur magnetischen Ausrichtung von Wasserstoffprotonen aus.

Wasserstoffatome besitzen als Kern nur ein Teilchen, ein Proton, um welches das Elektron der Hülle kreist. Das Proton ist positiv und das Elektron ist negativ geladen. Somit ist das ganze Atom elektrisch neutral. Neben der Eigenschaft, dass das Proton positiv geladen ist, besitzt es auch die Fähigkeit des sogenannten Spins, einer Grundeigenschaft aller Elementarteilchen: Das Proton dreht sich um sich selbst wie eine Art Kreisel. Dieser Spin, auch Eigendrehimpuls, hat zwei Auswirkungen:

- 1) Da es sich bei diesem Phänomen um rotierende Masse handelt, besitzt es einen Drehimpuls: Das Proton verhält sich wie eine Art Kreisel, der die räumliche Lage der Rotationsachse beibehalten will.
- 2) Da die rotierende Masse eine elektrische Ladung besitzt, hat sie ein magnetisches Moment und verhält sich somit wie ein Magnet. Man spricht davon, dass die Rotation ein magnetisches Dipolmoment erzeugt. Somit wird das Proton von Magnetfeldern und elektromagnetischen Wellen beeinflusst. Wenn es sich bewegt, wird in einer Empfangspule eine Spannung induziert.

Ohne Einwirkung eines äußeren Magnetfeldes sind die Drehachsen der magnetischen Dipole zufällig im Raum verteilt.

Wird ein äußeres starkes Magnetfeld angelegt, so richten sich die Protonen gemäß ihrer magnetischen Dipoleigenschaft entweder parallel oder antiparallel zu den Magnetfeldlinien aus. Da die parallele Ausrichtung der energetisch günstigere Zustand ist, wird ein messbarer magnetisches Summationsmoment parallel zur Magnetfeldlinie (z-Richtung) aufgebaut.

Die magnetische Interaktion zwischen dem eigenen und äußeren Magnetfeld führt zu einer sogenannten Präzessionsbewegung der Protonen um die Magnetfeldlinie, die einer Bewegung eines Kreisels ähnelt.

Die Präzessionsfrequenz verändert sich dabei proportional zum angelegten Magnetfeld. Die Präzessionsfrequenz erfolgt mit einer spezifischen Frequenz, der sogenannten Lamorfrequenz. Für Protonen beträgt die Lamorfrequenz 63,9 MHz bei 1,5 Tesla. Dementsprechend beträgt die Lamorfrequenz bei 3 Tesla 128MHz.

### 3.8.3 Applikation des Radiofrequenzpulses

Im Grundzustand präzedieren die Spins mit gleicher Frequenz um die Richtung des Magnetfeldes. Dabei präzedieren sie aber nicht im Gleichklang, sondern außer Phase. Somit heben sich ihre Komponenten quer zum Magnetfeld, parallel zur xy-Ebene, statistisch auf. Indem die Spins durch eine kurze und hochfrequente Magnetwelle, Hochfrequenz oder HF-Puls genannt, angeregt werden, werden sie aus ihrer Orientierung gebracht und ihre Phasenlage wird verändert. Voraussetzung dafür ist jedoch, dass der HF-Puls in Resonanz mit den Spins sein muss, d.h. dass die Schwingungsfrequenz des HF-Pulses mit der Lamorfrequenz der Spins übereinstimmt. Der HF-Puls hat zur Folge, dass die Magnetisierung umso weiter kippt, je stärker die Energie des anregenden HF-Pulses ist. Den Endwinkel der Kippung nennt man den Flipwinkel. So kippt ein  $80^\circ$  Winkel, der sehr oft in Studien verwendet wird, wie auch in **Studie 1** und **Studie 2** dieser Arbeit, die Magnetisierung in xy-Ebene.

### 3.8.4 Entstehung des MR-Signals

Durch einen HF-Puls kippt die Magnetisierung, wie oben beschrieben, und es lassen sich zwei Effekte beobachten:

- 1) Zum einen wird der Summenvektor in z-Richtung, also entlang des äußeren Magnetfeldes kleiner, d.h. die Längsmagnetisierung  $M_z$ , verringert sich.

- 2) Zum anderen wird der Summenvektor in  $xy$ -Richtung größer, d.h. die Quermagnetisierung  $M_{xy}$  erhöht sich.

Die Quermagnetisierung wirkt wie ein mit Larmorfrequenz rotierender Magnet, in dessen Feld man eine Spule bringen kann, so dass in dieser elektrische Spannung erzeugt wird. Dieser zeitliche Verlauf der Spannung ist das MR-Signal. Es ist umso stärker, je größer die Quermagnetisierung ist. Auch fällt das MR Signal relativ schnell ab, da die Quermagnetisierung schnell verloren geht, dieser Prozess wird Relaxation genannt.

### 3.8.5 Relaxation

Relaxation, also die Wiederkehr des Systems in seinen Originalzustand, kann durch zwei voneinander unabhängige Prozesse beschrieben werden. Dabei werden Längs- und Quermagnetisierung separat voneinander betrachtet. Die Quermagnetisierung  $M_{xy}$  (mit einer Zeitkonstante, die als  $T_2$  bezeichnet wird) zerfällt schneller als die Längsmagnetisierung  $M_z$  (mit Zeitkonstante  $T_1$ ) sich wieder aufgebaut hat. Beide Prozesse verlaufen exponentiell.

#### Längsrelaxation $T_1$

Die Zeitkonstante  $T_1$  ist gewebsspezifisch. Da verschiedene Gewebetypen unterschiedliche  $T_1$ -Relaxationen zeigen, kann die MR-Bildgebung diese Unterschiede als Bildkontrast darstellen.

Ursache für die  $T_1$ -Relaxation sind lokale Magnetfeldschwankungen, die durch die Molekularbewegung hervorgerufen werden. Am stärksten wirken Magnetfeldschwankungen im Bereich der Larmorfrequenz. Unter ihrem Einfluss wechseln die Protonen ihren Spinzustand.

#### Querrelaxation $T_2$

Wegen unvermeidlicher Wechselwirkungen der Spins untereinander geht die Kohärenz zwischen den kreisenden Spins verloren. Die Spins geraten außer Phase, sie dephasieren, d.h. die Quermagnetisierung nimmt ab, so dass das MR-Signal exponentiell kleiner wird. Wie auch  $T_1$  ist die Zeitkonstante  $T_2$  gewebsspezifisch. Während Fettgewebe eine kurze  $T_2$  hat, hat Wasser oder Gehirnflüssigkeit (Liquor) eine längere Relaxationszeit.

Inhomogenitäten des äußeren Magnetfeldes<sup>21</sup> bewirken eine zusätzliche Dephasierung der Spins, so dass das Signal nicht mit T2, sondern deutlich schneller mit der Zeitkonstante T2\* zerfällt.

### 3.8.6 Bildkontrast

Von den Parametern der Protonendichte, der T1- und T2-Zeit eines Gewebes hängt die Helligkeit im MR-Bild und damit der Bildkontrast im Wesentlichen ab.

- 1) Die Protonendichte (Anzahl anregbarer Spins pro Volumeneinheit) gibt das maximale Signal an, das ein Gewebe abgeben kann. Diese kann betont werden, indem man versucht, den Einfluss von T1 und T2 möglichst gering zu halten. Man spricht dann von dichtegewichteten Bildern.
- 2) Die T1-Zeit bestimmt, wie schnell sich die Spins von einer Anregung erholen und wieder anregbar werden. Damit wird indirekt die Signalintensität beeinflusst. Der Einfluss von T1 auf den Bildkontrast kann nach Belieben variiert werden. Bilder, deren Kontrast hauptsächlich von T1 bestimmt ist, nennt man T1-gewichtete Bilder.
- 3) Die T2-Zeit bestimmt, wie schnell das MR-Signal abklingt. Auch diese Zeit kann beeinflusst werden. Bilder, deren Kontrast vor allem von T2 bestimmt wird, nennt man T2-gewichtet.

### 3.8.7 Vom Signal zum Bild

Um ein MR-Bild zu erhalten, muss eine Schicht viele Male hintereinander angeregt und gemessen werden. Die Zeit zwischen zwei aufeinanderfolgenden Anregungen derselben Schicht wird als Repetitionszeit (TR) bezeichnet. Diese beeinflusst den T1-Kontrast, denn sie bestimmt wie lange Spins nach einer Anregung Zeit haben, um wieder in ihren Ausgangszustand zurückzukehren. Je länger die TR, desto mehr kippen die Spins zurück in z-Richtung und desto mehr Längsmagnetisierung steht bei der nächsten Anregung zur Verfügung. Eine größere Magnetisierung ergibt ein größeres Signal nach der nächsten Anregung.

---

<sup>21</sup> Inhomogenitäten des äußeren Magnetfeldes werden durch den MR-Tomographen selbst erzeugt, sowie auch durch den Körper der gemessenen Person.

Bei einer kurzen TR beeinflusst T1 vorwiegend den Bildkontrast: Gewebe mit kurzer T1, dazu zählt z.B. Fettgewebe, relaxieren schnell und geben nach erneuter Anregung viel Signal ab (erscheinen hell). Gewebe mit langer T1, z.B. Wasser und Liquor, haben zu diesem Zeitpunkt weniger relaxiert und haben somit weniger Längsmagnetisierung und geben weniger Signal ab. Diese erscheinen dunkel. Ein solches Bild ist T1-gewichtet.

Wenn die TR lang ist, haben alle Gewebe genügend Zeit, um zu relaxieren und geben somit ähnlich viel Signal ab, so dass der Einfluss von T1 gering ist und somit die T1-Gewichtung abgenommen hat.

Auch müssen verschiedene Gradientenspulen, die im nächsten Kapitel näher beschrieben werden, ein- und ausgeschaltet werden, um ein MR-Bild zu erhalten. Durch diese werden die oben angesprochenen T2- und T2\*-Zeitkonstanten weiter verkürzt. Die Zeit, bis ein MR Signal wieder hergestellt wird, wird als Echozeit (TE) bezeichnet. TE beeinflusst die Wirkung von T2 auf den Bildkontrast. Bei einer kurzen TE sind die Signalintensitätsunterschiede der einzelnen Gewebe klein, da die T2-Relaxation erst begonnen hat. Somit ist die T2-Gewichtung gering. Dahingegen sind die Signalintensitätsunterschiede bei einer längeren TE deutlich zu erkennen: Gewebe mit kurzer T2 geben wenig Signal ab (erscheinen dunkel) und Gewebe mit langer T2 geben viel Signal ab und erscheinen hell. TE bestimmt somit die T2-Gewichtung.

### 3.8.8 Ortskodierung beim Bildkontrast

Um aus den gewonnenen Signalen Voxel im Gehirn zuzuordnen zu können, wird eine sogenannte Ortskodierung durch Gradientenfelder erzeugt. Gradientenfelder sind linear ortsabhängige Magnetfelder. Typischerweise werden drei unterschiedliche Gradienten verwendet (Schichtungsgradient, Phasenkodiergradient und Auslesegradient), die zusammen die Kodierung des Signals in allen drei Raumebenen bewirken. Der Schichtungsgradient stellt sicher, dass nur eine bestimmte Schicht im Körper Larmfrequenz besitzt, also nur die Spins in dieser Schicht durch einen HF-Puls angeregt werden. Der Phasenkodiergradient bewirkt die kontrollierte Dephasierung der Spins, so dass in jeder Bildzeile die Präzession der Spins eine andere Phasenlage hat. Der Auslesegradient sorgt dafür, dass die Spins jeder Bildspalte eine andere Präzessionsbewegung haben.

### 3.8.9 Der BOLD-Kontrast

Der BOLD-Kontrast (blood oxygenation level dependent) (Ogawa, Lee, Kay, & Tank, 1990) beruht darauf, dass sich die Blutversorgung eines Hirngebietes unter Aktivität lokal verändert. Durch Aktivität eines bestimmten Gebietes wird der Zellstoffwechsel angeregt. Der für den Metabolismus notwendige Sauerstoff wird im Blut über das Hämoglobinmolekül transportiert. Wichtig in Bezug auf die fMRT sind die unterschiedlichen magnetischen Eigenschaften von sauerstoffreichen (oxygeniertem) und sauerstoffarmen (deoxygeniertem) Hämoglobin: Deoxyhämoglobin (desoxyHb) besitzt im Gegensatz zu Oxyhämoglobin zwei ungepaarte Eisenelektroden und ist daher paramagnetisch. Folglich bewirkt Deoxyhämoglobin Magnetfeldinhomogenitäten, wohingegen Oxyhämoglobin magnetisch neutral ist.

Der erhöhte Metabolismus führt zu einer Erweiterung der entsprechenden Blutgefäße sowie zu einem Anstieg des regionalen zerebralen Blutflusses (rCBF) sowie des regionalen zerebralen Blutvolumen (rCBV) der entsprechenden Hirnareale (Raichle, Grubb, Gado, Eichling, & Ter-Pogossian, 1976). Entscheidend dabei ist, dass der mit neuronaler Aktivität verbundene erhöhte Sauerstoffbedarf durch Zufuhr von Oxyhämoglobin überkompensiert wird. Da daraufhin verhältnismäßig weniger desoxyHb vorhanden ist, kommt es zu einer Verringerung der Magnetfeldinhomogenitäten und zu einer Verlängerung der T2\*-Relaxationszeit. Die Veränderungen der lokalen Feldinhomogenitäten können im MR-Signal detektiert werden und bewirken so Signalintensitätsveränderungen. Wie stark sich das MR-Signal ändert, ist von der Stärke des Magnetfeldes  $B_0$  wie auch von der Stärke der physiologischen Reaktion abhängig. Die fMRT ist somit vom rCBF abhängig und misst nur indirekt neuronale Aktivität. Die physiologischen Ursachen für diese Art der neurovaskulären Kopplung sind zum Teil noch unverstanden. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass mit BOLD-fMRT tatsächlich Veränderungen der Neuronenaktivität gemessen werden (Logothetis, 2002; Logothetis, Pauls, Augath, Trinath, & Oeltermann, 2001).

Das MR-Signal wird als "hämodynamische Antwortfunktion" (HRF) bezeichnet (siehe Abbildung 7).

Gemessen wird das BOLD-Signal mittels spezieller Sequenzen, wie der EPI-Sequenz. Die EPI-Sequenz hat eine kurze Bildakquisitionszeit, da nur ein einziger Anregeimpuls

gebraucht wird, um alle Schichten zu messen. Jedoch hat diese Sequenz im Vergleich zu anderen eine schlechtere räumliche Auflösung und ist empfindlicher gegen Magnetfeldinhomogenitäten, die bereits in vorherigen Kapiteln erwähnt worden sind. Darüber kann die  $T2^*$  Gewichtung zu Auslöschungen und räumlichen Verzerrungen führen.

Bei der Messung des Gehirns mittels EPI-Sequenz werden z.B. wie in **Studie 1** und **Studie 2** der vorliegenden Arbeit 34 Schichten in 2.21 Sekunden gemessen. Es entsteht eine Auflösung innerhalb von einer Schicht von 2mm und einer Schichtdicke von 2mm. Somit entstehen kubische Würfel mit einer Kantenlänge von 2mm.

Eine schnellere Sequenz mit kürzerer Repetitionszeit hat den Vorteil, dass das BOLD-Signal in jeder Schicht öfter gemessen wird und damit feiner abgetastet wird. Dadurch lassen sich der Verlauf und die Höhe der hämodynamischen Antwort besser abschätzen.

Eine Weiterentwicklung dieser Sequenz, die auch in vorliegender Arbeit verwendet worden ist, ist die parallele Bildgebung. Bei dieser Technik werden mehrere Empfangsspulen verwendet, die für eine schnellere Aufzeichnung und damit eine höhere räumliche und zeitliche Auflösung sowie weniger Auslöschungsartefakte sorgen.

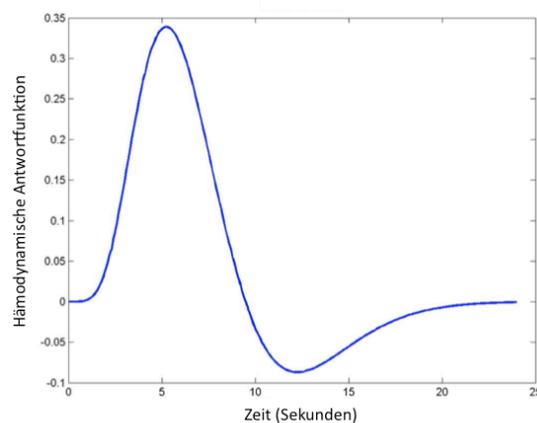


Abbildung 7: Hämodynamische Antwortfunktion (HRF)

### 3.8.10 Bildvorverarbeitung

Bevor die aufgenommenen MR-Bilder statistisch ausgewertet werden können, müssen sie vorverarbeitet werden.

Die Vorverarbeitung besteht in der Regel aus den folgenden drei Schritten:

- 1) Die **Bewegungskorrektur (realignment)** dient dazu, mögliche Kopfbewegungen des Patienten durch eine Reihe von Verschiebungen und Drehungen zu korrigieren. Dazu wird ein EPI-Bild aus der Zeitreihe als Referenz gewählt, auf das die restliche Zeitreihe durch die eben erwähnten Transformationen angepasst wird. Diese Anpassung wird mit der Methode der kleinsten Quadrate durchgeführt<sup>22</sup>. Das gewählte Referenzbild ist meistens, auch in **Studie 1** und **Studie 2**, das erste Bild der Zeitreihe.
- 2) In einem weiteren Schritt, der **Normalisierung**, werden die anatomisch individuell unterschiedlichen Gehirne auf ein Durchschnittsgehirn durch Drehungen, Schiebungen und Zerrung transferiert, um Unterschiede zwischen Probanden in der Anatomie auszugleichen. Dies dient dem Vergleich der Ergebnisse verschiedener Probanden und ermöglicht somit eine Gruppenanalyse.
- 3) Die **Glättung (smoothing)**, der letzte Schritt der Vorverarbeitung. Beim Smoothen sollen große Signalsprünge innerhalb der Datensätze eliminiert werden. Ziel bei diesem Vorverarbeitungsschritt ist es, das Signal-Rausch-Verhältnis zu minimieren. Dazu werden die Daten räumlich mit einem Filter geglättet. Die Breite des Filters wird in Full-Width-Half-Maximum (FWHM in mm) der Gausskurve angegeben.

### 3.8.11 Statistische Auswertung von MRT-Datensätzen

Die Auswertung der vorverarbeiteten fMRT-Daten erfolgt mit Hilfe des allgemeinen linearen Modells (ALM; englisch GLM für general linear model), das Ende der 60er Jahre aus der multiplen Regressionsanalyse entwickelt worden ist. Allgemein wird bei der Auswertung die Zeitreihe jedes Voxels mit einem Modell verglichen. Das Modell wird aus der zeitlichen Abfolge der Stimuli des entsprechenden Experimentes sowie der theoretischen Antwortfunktion nach einem Stimulus gebildet. Durch die mathematische

---

<sup>22</sup> D.h. die quadrierte Differenz zwischen einem Bild der Zeitreihe und dem Referenzbild wird durch Manipulation der Transformationen minimiert.

Verknüpfung der zeitlichen Abfolge der Stimuli und der theoretischen Antwortfunktion entsteht die Modellfunktion, d.h. der erwartete Zeitverlauf in einem Voxel.

Bei der Auswertung von fMRT-Daten unterscheidet man generell zwischen zwei Ebenen der Analyse, die beide mittels ALM ausgewertet werden: Zunächst erfolgt die Auswertung der einzelnen Personen mit den sogenannten First Level-Analysen. Bei einer Gruppenauswertung folgt auf die First Level-Analyse eine Second Level-Analyse. Beide werden in folgenden Kapiteln näher erläutert.

### First Level-Analyse

Bei der First Level-Analyse, einer multiplen Regression, soll der Zeitverlauf in einem Voxel durch mehrere Regressoren erklärt werden. Die Regressoren sind hierbei erwartete hämodynamische Antwortfunktionen der verschiedenen experimentellen Bedingungen. Bei der Modellschätzung wird für jeden Regressor ein Regressionsgewicht, auch  $\beta$ -Gewicht bezeichnet, berechnet, so dass die Summe der gewichteten Regressoren die Messwerte möglichst gut vorhersagt. Sie werden dabei so ermittelt, dass die gewichtete Linearkombination der Regressoren die Summe der Abweichungsquadrate minimiert. Als Fehlervarianz bezeichnet man den Anteil des Signalverlaufes in einem Voxel, der nach Schätzung durch das Modell nicht erklärt werden kann. Die Fehlervarianz sollte minimal sein.

Danach können die Regressionsgewichte mittels Kontrastvektoren miteinander verglichen werden, um Aussagen über die einzelnen experimentellen Bedingungen machen zu können.

Kontrastvektoren bestehen aus der Multiplikation von Kontrastgewichten mit dem entsprechenden  $\beta$ -Gewicht: Wenn z.B. getestet werden soll, ob Bedingung A zu größerer Aktivierung führt als Bedingung B, würden die entsprechenden Kontrastvektoren

1 (Bedingung A) und

- 1 (Bedingung B)

sein. Die Multiplikation mit den entsprechenden  $\beta$ -Gewichten würde

$$[1 * \beta_1 + (-1) * \beta_2] = [\beta_1 - \beta_2]$$

ergeben, so dass die Differenz zwischen beiden Regressionsgewichten berechnet würde. Die Differenz ist der Aktivierungsunterschied zwischen Bedingung A und Bedingung B und wird in dem sogenannten Kontrastbild gespeichert. Die Differenz wird statistisch auf ihre Bedeutsamkeit mittels t-Tests überprüft. Alle t-Werte werden anschließend in statistische Wahrscheinlichkeiten umgewandelt. Diese sagen aus, wie wahrscheinlich es ist, dass ein Unterschied zwischen zwei Bedingungen zufällig zustande kommt. Alle Wahrscheinlichkeits- oder p- (probability) Werte werden voxelweise, farbskaliert auf ein Standardgehirn projiziert (sogenannte statistische Karten). Der Schwellenwert (z.B.  $p < 0,001$ ) kann dabei frei gewählt werden.

### Second Level-Analyse

Die Second Level-Analyse wird verwendet, um Gruppenunterschiede zu berechnen. Als abhängige Variable, die durch das Modell erklärt werden soll, gehen für jede Versuchsperson die in der First Level-Analyse untersuchten Differenzen zwischen den Bedingungen ein. Diese sind wie oben beschrieben in den Kontrastbildern gespeichert.

Wenn z.B. in der First Level-Analyse Bedingung A und Bedingung B miteinander verglichen worden sind und das Ergebnis in dem entsprechenden Kontrastbild für jede Versuchsperson gespeichert wurde, kann in der Second Level-Analyse untersucht werden, in welchen Voxeln diese Aktivierungsdifferenz über die Versuchspersonen hinweg signifikant größer als 0 ist. Die Modellschätzung erfolgt analog zur First Level-Analyse.

## 3.9 Studienspezifische Messung und Auswertung der Bildgebung

Ein 3 Tesla MR Scanner (Siemens Trio, Erlangen, Deutschland) mit einer 12-Kanalspule wurde benutzt, um T2\*-gewichtete EPI-Bilder aufzuzeichnen. Die Echozeit TE betrug 30ms, die Repetitionszeit TR 2.21s und der Flipwinkel  $80^\circ$ . Die Echozeit konnte mittels paralleler Aufzeichnungstechnik (engl.: generalized auto-calibrating partially parallel acquisitions; GRAPPA) minimiert werden. Jedes aufgezeichnete Volumen bestand aus 34 Schichten mit einer Schichtdicke von 2 mm und einer räumlichen Auflösung von  $2 \times 2 \text{ mm}^2$ . Der Abstand zwischen den Schichten betrug 1 mm. Insgesamt wurden 945 Volumina über

den Versuch hinweg aufgezeichnet. Nach dem eigentlichen Experiment wurde ein T1-gewichtetes strukturelles Bild von jedem Teilnehmer aufgezeichnet.

Die aufgezeichneten MR-Bilder wurden mit der Software SPM5 ([www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm](http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm)) vorverarbeitet und ausgewertet. Die ersten fünf Bilder (Dummy-Scans) wurden entfernt, um die T1-Äquilibration zu berücksichtigen. Um mögliche Kopfbewegungen zu korrigieren, wurden die MR-Bilder auf das 6te Volumen ausgerichtet („realignment“). Dann wurden die Bilder auf ein Standardgehirn normalisiert und mit einem FWHM-Filter mit 4 mm geglättet.

# 4 Studie 1: Einfluss des Neuropeptid S Polymorphismus auf die Interpretation von Angstreaktionen

## 4.1 Einleitung

Zahlreiche Tierstudien legen nahe, dass das Neuropeptid S (NPS) und dessen Rezeptor (NPSR1), die beide näher im Kapitel 1.4.1 vorgestellt worden sind, bei der Modulation von Angst beteiligt sein könnten: So ruft NPS in Ratten und Mäusen ein gesteigertes Erregungsniveau (Camarda et al., 2009; Duangdao, Clark, Okamura, & Reinscheid, 2009; Rizzi et al., 2008; Xu et al., 2004) und die zentrale Administration anxiolytische Effekte hervor (Jungling et al., 2008; Leonard et al., 2008; Vitale et al., 2008; Xu et al., 2004). Auch wurde in weiteren Tierstudien gezeigt, dass die Administration von NPS die Extinktion von konditionierten Reaktionen bei Mäusen steigert (Jungling et al., 2008) und kontextuelle Konditionierung modelliert (Meis et al., 2008).

In-vitro Befunde lassen annehmen, dass der funktionelle Einzelnukleotidpolymorphismus rs324981 des NPSR1-Gens zu Veränderungen des NPS-Systems führen könnte: Das T-Allel des NPSR1-Gens weist eine erhöhte NPSR1-Expression sowie einer zehnfach höhere Affinität des Rezeptors im Vergleich zum A-Allel auf (Reinscheid, Xu, Okamura, et al., 2005).

Beim Menschen zeigen erste klinische Befunde einer männlichen japanischen Stichprobe eine positive Assoziation zwischen der Panikstörung und dem T-Allel (Okamura et al., 2007). Diese Assoziation wird weiter gestützt durch eine aktuelle Studie, die das Ergebnis in zwei weiblichen Stichproben replizieren konnte (Domschke et al., 2011). Lediglich in einer Studie, die unterschiedliche SNPs untersuchte, konnte der Befund nicht repliziert werden (Donner et al., 2010).

Wie bereits im Kapitel 1.2.2 beschrieben, haben sich lerntheoretische Ansätze und kognitive Theorien zur Erklärung der Panikstörungen durchgesetzt. In dieser Studie werden diese beiden Ansätze gegeneinander getestet. Basierend auf den Ergebnissen, dass Panikstörungen eine Vererbbarkeit von 48% haben (Hettinga et al., 2001), und den

gefundenen positiven Assoziation zwischen dem NPSR1 T-Allel und der Panikstörung (Domschke et al., 2011; Donner et al., 2010; Okamura et al., 2007), ergibt sich die Frage,

- ob ein assoziativer Lernprozess von CS-UCS-Kontingenzen (im Sinne lerntheoretischer Erklärungsmodelle) oder
- ob subjektive Bewertungen von CS-assoziierten CRs (im Sinne von kognitiven Erklärungsmodellen)

mit dem NPSR1 Genotyp assoziiert werden können.

Zur Klärung der Frage wurden gesunde, männliche Probanden, entweder homozygot für das A-Allel („AA“) oder mit einem oder zwei T-Allelen (TT oder AT, „T+“) in einem einfachen uninstruierten Angstkonditionierungs-, Angstextinktions- sowie Reakquisitionsparadigma miteinander verglichen (siehe Kapitel 3). Die drei unabhängigen Variablen waren:

- 1) **CS-evozierte elektrodermale Aktivität (SCR)** in Folge von konditionierter Furcht. SCR ist ein implizites physiologisches Maß, welches nicht durch subjektive Faktoren beeinträchtigt wird.
- 2) **Subjektive Bewertungen** des/der CS-evozierten Stress/Angst/Anspannung. Systematische (z.B. genetisch determinierte) individuelle Unterschiede in der subjektiven Bewertung emotionaler Antworten können entstehen, wenn
  - a) die bewusst zugänglichen Komponenten emotionaler Antworten (wie Körperreaktionen oder Gefühle) zwischen Individuen unterschiedlich sind.
  - b) Individuen mit einer Tendenz zu sozial erwünschtem Verhalten nicht den vollen Umfang ihrer Reaktionen berichten (Weinberger & Singer, 1990)
  - c) Individuen ihre Antworten subjektiv unterschiedlich bewerten, d.h. sie unter- oder überschätzen diese systematisch, obwohl sie sich auf einer objektiv messbaren physiologischen Ebene nicht unterscheiden.
- 3) **Gehirnaktivität**

Es wird angenommen, dass wenn der NPSR1 Genotyp assoziatives Lernen beeinflussen sollte, Gruppenunterschiede in der Angstkonditionierung (CS+>CS- Unterschiede, diskriminatives Konditionieren genannt) zwischen AA und T+ Trägern sichtbar werden

sollten: Bei T-Trägern würden größere oder kleinere CS+>CS- Unterschiede in den subjektiven Angstbewertungen und in der SCR als im Vergleich dazu bei den AA-Homozygoten erwartet werden. Im Sinne einer potentiellen Beziehung zwischen dem NPSR1 T-Allel und der Panikstörung würden größere CS+>CS- Unterschiede eine übertriebene (gesteigerte) Angstkonditionierung suggerieren (Bouton, Mineka, & Barlow, 2001; Grillon, Lissek, McDowell, Levenson, & Pine, 2007), wohingegen kleinere CS+>CS- Unterschiede eher auf eine Übergeneralisierung hindeuten würden (Grillon, Lissek, McDowell, Levenson, & Pine, 2007; Lissek et al., 2010). Ein solches Ergebnis würde lerntheoretische Erklärungsmodelle unterstützen.

Wenn aber der NPSR1 Genotyp nur Einfluss auf die subjektiven Bewertungen haben sollte, sollten T-Träger im Vergleich zu AA-Homozygoten erhöhte Angstbewertungen, bei Abwesenheit von vergleichbaren Unterschieden in der SCR, haben. Ein solches Ergebnis würde suggerieren, dass das NPSR1 T-Allel ein erhöhtes Risiko für Panikstörungen darstellen würde, da es eine Art von katastrophisierenden (im Sinne von übersteigerten) Bewertungsprozessen fördern würde (Beck, Emery, & Greenberg, 1985; D. M. Clark, 1986; Reiss & McNally, 1985). Ein solches Ergebnis würde eher die kognitiven Erklärungsmodelle unterstützen.

Zusätzlich zu den Angstbewertungen und der SCR wurde Hirnaktivität während der Aufgabe mittels fMRT gemessen. Der dorsale anteriore cinguläre Kortex (dACC) und der benachbarte dmPFC sind sehr wichtige Areale, die Angstverarbeitung vermitteln. Der dACC/dmPFC ist zudem die einzige Hirnregion, die über die meisten Konditionierungsstudien hinweg aktiv war (Mechias et al., 2010). In Übereinstimmung mit Tiermodellen wurde diese Region mit der Generierung autonomer konditionierter Antworten, vorwiegend der SCR, in Verbindung gebracht (Gentil et al., 2009; Knight, Nguyen, & Bandettini, 2005; Milad et al., 2007). Es ist die einzige Region in Mechias et al. (2010), die sowohl in klassischen Konditionierungsaufgaben (bei welchen Lernen durch Erfahrung vermittelt wird) sowie in instruierten Angstparadigmen (bei welchen Lernen durch verbale Instruktionen vor der CS Präsentation vermittelt wird) aktiv war.

Somit wurde überprüft, ob bei einem Unterschied der NPSR1 Genotypen in der SCR, dieser auch mit unterschiedlichen CS-evozierten neuronalen Antworten im dACC/dmPFC verbunden ist.

Eine rostraler gelegene Region des dACC/dmPFC scheint in die bewusste Bewertung von Bedrohung, aber nicht in die Generierung von sympathischen konditionierten Antworten, involviert zu sein (Kalisch et al., 2006). Dieses Ergebnis konnte durch eine Metaanalyse mit Studien, die explizite Evaluationen von emotionalen Stimuli untersucht haben (Lee & Siegle, 2009), sowie durch eine Metaanalyse instruierter Angststudien, bei welchen die bewusste Bewertung eine zentrale Rolle spielt (Mechias et al., 2010), bestätigt werden. Weitere Befunde deuten darauf hin, dass diese Hirnregion nicht am Lernen von CS-UCS-Kontingenzen beteiligt ist (Klucken, Tabbert, et al., 2009).

Daher soll in dieser Arbeit auch überprüft werden, ob bei einem Unterschied in den subjektiven Angstbewertungen der NPSR1 Genotypgruppen dieser Unterschied auch mit einer unterschiedlichen CS-evozierten Aktivierung des rostralen dACC/dmPFC einhergeht.

## 4.2 Methoden

Im generellen Methodenkapitel wurden Screeningprozedur, Genotypisierung, Versuchsaufgabe sowie die Messung und Auswertung der SCR, subjektiver Angstbewertungen, Reaktionszeiten und fMRT näher beschrieben.

Im Folgenden werden daher die nur für Studie 1 spezifischen Methoden sowie die Vorverarbeitung der Daten und deren Auswertung näher beschrieben.

### 4.2.1 Versuchsteilnehmer

An der Studie nahmen  $n=66$  gesunde rechtshändige Probanden teil. Von den Teilnehmern waren 28 homozygot für das NPSR1 A Allel (AA) (Durchschnittsalter 27.8 Jahre, Altersspanne 23-40 Jahre). 38 Teilnehmer waren Träger mindestens eines NPSR1 T Allels (T+). Davon waren 13 homozygot (TT) und 25 heterozygot (AT). Das Durchschnittsalter aller T+ Teilnehmer war 28.0 Jahre, die Altersspanne betrug 19-42 Jahre. Zudem wurden alle Teilnehmer für den BDNF- und SLC6A4-Genotyp genotypisiert, da vorangegangene Studien die Beteiligung beider Polymorphismen bei der Angstkonditionierung oder -extinktion zeigten (Crisan et al., 2009; Garpenstrand, Annas, Ekblom, Orelund, & Fredrikson, 2001; Hajcak et al., 2009; Lonsdorf, Weike, et al., 2010; Lonsdorf et al., 2009; Soliman et al., 2010). Ein Chi-Quadrat Test zeigte, dass nur die BDNF-Allel-Frequenzen ungleich zwischen den NPSR1 Genotyp Gruppen verteilt waren. Aus diesem Anlass wurde für potenzielle BDNF und BDNF\*NPSR1 Interaktionen durch deren Einbezug als Kovariaten in allen beschriebenen Analysen kontrolliert.

Wurden zusätzlich DAT1, COMT und SLC6A4 Genotypen und ihre Interaktionen in die Analysen miteinbezogen, veränderten sich die Ergebnisse für den NPSR1 Polymorphismus nicht. Tabelle 2 fasst die Verteilungen der Genotypen zusammen. Die Beschreibung der eingeschlossenen Teilnehmer für diese Studie ist in Tabelle 4 zusammengefasst.

### 4.2.2 Auswertung der Verhaltensdaten

Aufgrund der Tatsache, dass es nur wenige Versuchspersonen mit TT-Genotyp gab ( $n=66$ ), wurden diese mit Versuchspersonen, die den AT-Genotyp hatten zu einer Genotypgruppe zusammengefasst (T+). Entsprechend erfolgte die Auswertung der Daten zunächst mit zwei

Genotypgruppen (AA und T+). Anschließend wurde auch eine Auswertung der Verhaltensdaten mit drei Genotypgruppen durchgeführt (AA,AT, TT).

Alle berechneten Varianzanalysen (ANOVAs) erfolgten separat pro Phase (Akquisition, Extinktion und Reakquisition) und enthielten die Intersubjekt-Faktoren Stimulus (CS+, CS-) sowie Zeit. Bei den SCR-Daten wurde ein Mittelwert von 6 aus insgesamt 18 SCR-Durchgängen pro Phase und Stimulus gebildet. Insgesamt wurden 3 gemittelte SCR-Daten pro Phase und Stimulus gebildet. Die Angstbewertungen bestanden aus drei Bewertungen pro Phase. Alle gemittelten SCR-Daten und Angstbewertungen wurden in der Extinktion und Reakquisition auf den letzten Wert der Vorphase normiert.

Der Zwischensubjekt-Faktor Genotyp hatte zwei bzw. drei Abstufungen in allen ANOVAs (AA und T+ bzw. AA und AT und TT). Die Analysen enthielten zudem den BDNF Genotyp sowie die BDNF\*NPSR1-Interaktion als Kovariaten.

### **SCR**

Drei Versuchsteilnehmer zeigten keine SCR auf den UCS und wurden aus der weiteren SCR-Analyse ausgeschlossen. Auf Grund technischer Problemen konnten bei weiteren acht Versuchspersonen keine Daten aufgezeichnet werden. Somit konnte insgesamt von n=55 Versuchspersonen (in der AA-Gruppe n=22; in der T+-Gruppe n=33) die SCR ausgewertet werden.

### **Angstbewertungen**

Aufgrund technischer Probleme konnten Angstbewertungen in vier Versuchsteilnehmern nicht aufgezeichnet werden. Somit konnten in der AA-Gruppe n=26 und in der T+-Gruppe n=36 Angstbewertungen ausgewertet werden. Da der Verlust der vier Datensätze nur in Versuchspersonen mit verwendbaren SCR-Daten auftrat, gab es eine Überlappung in der AA-Gruppe bei n=21 Versuchsteilnehmern und in der T+-Gruppe bei n=30, bei welcher sowohl Angstbewertungen wie auch SCR ausgewertet werden konnten.

### **Reaktionszeiten**

Die Reaktionszeiten der beschleunigten Entscheidungsaufgabe (siehe Kapitel 3) konnten in sieben Versuchsteilnehmern nicht aufgezeichnet werden. Somit konnten in der AA-Gruppe

n=26 Versuchspersonen und in der T+-Gruppe n=33 Versuchspersonen auf ihre Reaktionszeiten hin ausgewertet werden. Da es keine signifikanten Effekte des Stimulus, des zeitlichen Verlaufs oder des Genotyps auf die Reaktionszeiten gab und die Genauigkeit der Angaben sehr hoch war (nur 22 Auslasser und 21 falsche Antworten in allen Versuchspersonen insgesamt über das gesamte Experiment) wurden die Daten nicht weiter ausgewertet.

### fMRT

Es konnten alle n=66 Versuchspersonen in die fMRT-Analyse eingeschlossen werden. Die Vorverarbeitung der MR-Bilder wurde im Methodenkapitel ausführlich erläutert (siehe Kapitel 3).

Tabelle 2: Verteilung der Genotypen

	<i>NPSR1</i> AA Homozygote	<i>NPSR1</i> T+ (AT, TT)
BDNF Genotyp Verteilung (GG, GA, AA)*	2,9,17	0,15,23
SLC6A4 Genotyp Verteilung (ss, sl, ll)**	4,13,11	4,15,15
DAT1 Genotyp Verteilung (9/9, 9/10, 10/10)***	0,14,14	2,16,20
COMT Genotyp Verteilung (GG, GA, AA)****	9,10,9	9,11,18

\*Val/Val, Val/Met, Met/Met Aminosäuren an Position 66; \*\* s: kurzes Allel, l: langes Allel. \*\*\*, 9: 9-Repeat Allel, 10: 10-Repeat Allel; \*\*\*\* Val/Val, Val/Met, Met/Met Aminosäuren an Position 158.

Tabelle 3: Charakterisierung der eingeschlossenen Versuchsteilnehmer<sup>23</sup>

	<i>NPSR1</i> AA Homozygote (Mittelwert ± SD)	<i>NPSR1</i> T Träger (AT, TT) (Mittelwert ± SD)	Df	F	P Gruppen- vergleich
Soziale Erwünschtheit	12.6±2.7	11.7±3.9	1,57	1.54	0.220
Trait Angst	33.3±6.0	33.1±6.3	1,57	0.04	0.842
Negativer Affekt	16.1±3.7	16.0±4.6	1,57	0.39	0.827
Positiver Affekt	35.9±6.0	34.7±5.2	1,57	1.37	0.247
Depressionswert	7.2±4.8	7.6±4.7	1,57	0	0.952
PANAS: munter	3.6±0.9	3.5±0.8	1,49	0.14	0.710
PANAS: aufmerksam	4.0±0.9	3.8±0.5	1,49	2.12	0.151
PANAS: aktiv	3.8±0.8	3.7±0.7	1,49	0.28	0.958
Individuelle Schmerzschwelle (mA)	3.0±0.8	3.2±3.1	1,62	0.32	0.575
Gewählte UCS Intensität (mA)	33.9±24.1	36.3±27.7	1,62	0.01	0.941
erste UCS-SCR (µS)	0.23±0.24	0.23±0.22	1,62	0.05	0.826
Gemittelter UCS-SCR (µS)	0.14±0.13	0.10±0.13	1,51	1.54	0.221
Post-Habituation CS+ Angstbewertung	14.7±16.4	9.1±15.4	1,59	1.44	0.235
Post-Habituation CS- Angstbewertung	14.5±14.7	8.6±14.8	1,59	2.47	0.121
Body Mass Index (BMI)	23.3±2.0	23.4±3.4	1,61	0.39	0.532
Alkoholkonsum (Gläser/Woche)	3.9±3.5	3.5±3.1	1,62	0.16	0.687
Rauchen (Zigaretten/Woche)	1.1±2.7	1.5±3.4	1,62	0.01	0.916
Kannabiskonsum (Joints/Monat)	0.04±0.19	0.03±0.16	1,62	0.03	0.864
Kaffeekonsum (Tassen/Tag)	1.2±1.1	1.2±1.1	1,62	0.08	0.784
Schulbildung (Jahre)	11.8±0.9	11.9±0.8	1,62	1.25	0.268

<sup>23</sup> Alle Tests wurden im Methodenkapitel genannt

### 4.2.3 Auswertung der MR-Bilder

Die statistische Auswertung der aufgezeichneten MR-Bilder erfolgte nach Standardauswerteprozeduren für fMRT-Bilder. Dafür wurden die Bilder zunächst per First Level-Analyse ausgewertet bevor sie auf Gruppenebene mittels Second Level-Analyse ausgewertet werden konnten.

Auf der First Level-Ebene wurden CS+ und CS- als 5-Sekunden lange Regressoren und die Angstbewertungen als 14-Sekunden lange Regressoren modelliert. Zudem wurden der UCS-Onset und Tastendrucke modelliert.

Für die Second Level-Analyse wurden die CS+ und CS- Kontrastbilder der einzelnen Versuchspersonen mit einem 10mm FWHM-Filter geglättet, um interindividuelle Abweichungen in den exakten Lokalisationen der einzelnen Aktivierungen zu berücksichtigen.

Die Designmatrix bestand aus 4 Regressoren (z.B. für CS+ und CS- Unterschiede: 1 T+ CS+ und 1 T+ CS- Regressor, 1 AA CS+ Regressor und 1 AA CS- Regressor). Die Signifikanztestung erfolgte mittels voxelweisem T-Test. Das Modell enthielt zudem eine Korrektur für mögliche Abhängigkeiten der Bedingungen, die sich im Fehlerterm auswirken (non-sphericity).

Eine Korrektur für multiple Vergleiche (family-wise error (FWE)) erfolgte in den zwei „Regionen von Interesse“ (ROI) des dACC/dmPFC. Die rostrale ROI war eine Box mit den Voxeldimensionen  $x,y,z = 20,16,16$  zentral um die Koordinate  $0,38,28$  gelegen. Diese Wahl erfolgte aufgrund einer früheren Arbeit (Kalisch et al., 2006), bei welcher die maximale Aktivität in  $-8,38,28$  festgestellt worden ist. Die Box wurde zentral (bei  $x=0$ ) angelegt, um den dACC/dmPFC bilateral analysieren zu können.

Die weiter posteriore dACC/dmPFC ROI war eine identisch große Box zentral um die Koordinate  $0,32,32$  gelegen. Diese entsprach der Mittelung aus dem maximalen Effekt zweier früherer Studien, welche die Hirnaktivität mit CS-evozierter SCR während der Konditionierung korrelierten (Knight et al., 2005; Milad et al., 2007).

In einer zusätzlichen explorativen Analyse, die das gesamte Gehirn umfasste, wurden die anatomischen Bezeichnungen mit Hilfe des Gehirnatlas von Duvernoy vorgenommen (Duvernoy, 1999).

## 4.3 Ergebnisse

### 4.3.1 Verhaltensergebnisse mit zwei Genotypgruppen (AA, T+)

Alle folgenden Verhaltensergebnisse sind nach den einzelnen Phasen Akquisition, Extinktion und Reakquisition aufgelistet.

#### Akquisition

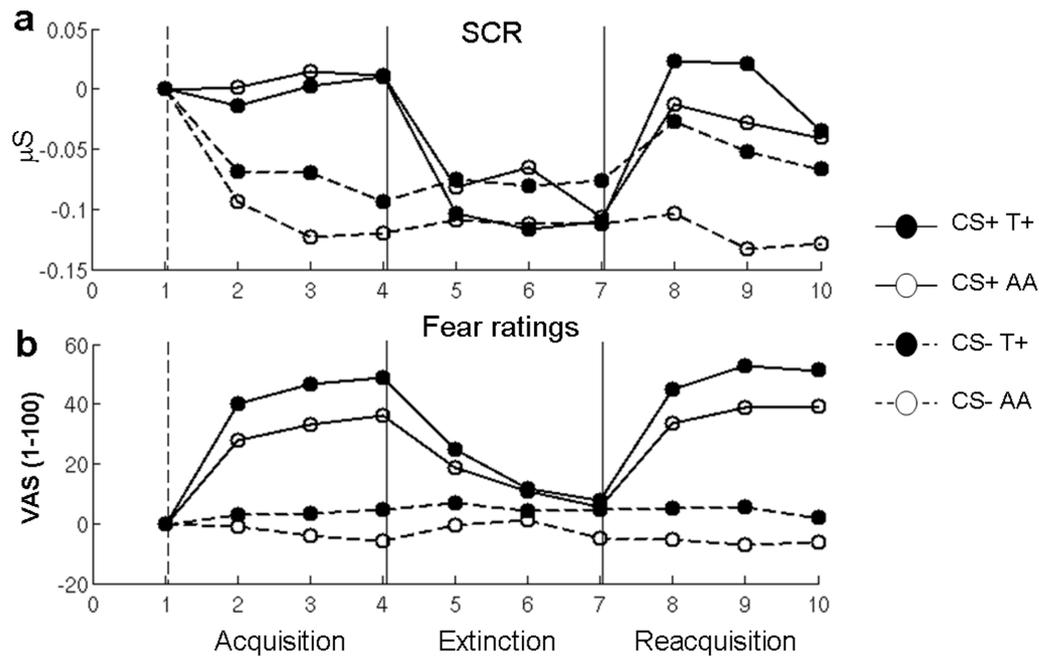
##### SCR

Signifikante Stimulus- ( $F(1,50)=29.44$ ,  $p<0.001$ ) und Zeiteffekte ( $F(1,50)=7.34$ ,  $p=0.009$ ) sowie eine signifikante Stimulus\*Zeit-Interaktion ( $F(1,50)=21.19$ ,  $p<0.001$ ) wiesen auf eine erfolgreiche Konditionierung hin. Der signifikante Haupteffekt zeigt, dass beim CS+ höhere SCR als beim CS- beobachtet werden konnte. Ein signifikanter Genotypeneffekt ( $p=0.553$ ) oder eine Interaktion des Genotyps mit anderen Faktoren konnte nicht beobachtet werden ( $p>0.362$ ).

##### Angstbewertungen

Die Angstbewertungen in der Akquisition zeigten signifikante Stimulus- ( $F(1,58)=202.02$ ,  $p<0.001$ ) und Zeiteffekte ( $F(1,58)=4.43$ ,  $p=0.04$ ) sowie eine signifikante Stimulus\*Zeit-Interaktion ( $F(1,58)=12.03$ ,  $p=0.001$ ). Auch hier zeigt der signifikante Haupteffekt, dass auf den CS+ höhere Bewertungen als auf den CS- beobachtet werden konnten. Diese Ergebnisse deuten ebenso auf eine erfolgreiche Konditionierung hin.

Zusätzlich konnte ein signifikanter Genotypeneffekt ( $F(1,58)=8.98$ ,  $p=0.004$ ) beobachtet werden, der mit den anderen Faktoren nicht interagiert ( $p>0.13$ ). Um besser zu verstehen, wie der NPSR1 Genotyp die Angstbewertungen beeinflusst, wurden drei separate post-hoc ANOVAs (CS+ Bewertung, CS-Bewertung, CS+>CS- Unterschiede) durchgeführt. Diese Analysen zeigen, wie in Abbildung 8 deutlich wird, dass T+-Träger des NPSR1 Genotyps ihre konditionierte Antwort auf den CS+ ( $F(1,59)=5.61$ ,  $p=0.021$ ) wie auch auf den CS- ( $F(1,59)=6.68$ ,  $p=0.012$ ) signifikant stärker bewerten als AA-Homozygote: So sind die Mittelwerte für den CS+ und den CS- bei den T+-Trägern signifikant höher. Unterschiede in der diskriminativen Konditionierung gab es nicht (CS+>CS-:  $F(1,59)=1.17$ ,  $p=0.28$ ).



**Abbildung 8:** Zeitverläufe der **a** SCR und **b** Angstbewertungen für die einzelnen Genotypengruppen über das gesamte Experiment hinweg. Die x-Achse stellt die Mittelungen über je drei Durchgänge (SCR, Abbildung a) bzw. die einzelnen Angstbewertungen (Abbildung b) dar.

## Extinktion

### SCR

Eine erfolgreiche Extinktion wurde durch den signifikanten Stimuluseffekt ( $F(1,50)=15.05$ ,  $p<0.001$ ) und eine signifikante Stimulus\*Zeit-Interaktion ( $F(1,50)=14.84$ ,  $p<0.001$ ) deutlich. Die SCR-Werte sind auf den CS+ höher als auf den CS- und nehmen über die Zeit ab. Alle anderen Effekte waren nicht signifikant ( $p>0.159$ ).

### Angstbewertungen

Subjektive Angstbewertungen zeigten signifikante Stimulus- ( $F(1,58)=202.02$ ,  $p<0.001$ ) und Zeiteffekte ( $F(1,58)=23.18$ ,  $p<0.001$ ) sowie eine signifikante Stimulus\*Zeit-Interaktion ( $F(1,58)=21.16$ ,  $p=0.001$ ). Diese Ergebnisse bestätigen im Einklang mit der SCR die erfolgreiche Extinktion.

Es wurde zusätzlich ein signifikanter Genotypeneffekt ( $F(1,58)=6.57$ ,  $p=0.013$ ) gefunden. Um diesen weiter zu explorieren, wurde eine post-hoc ANOVA auf den gemittelten CS+

Bewertungen in der Extinktion gemacht. Diese Analyse zeigte jedoch, dass der signifikante Genotypeneffekt auf den höheren CS+ Bewertungen der T+-Träger in der vorangegangenen Konditionierungsphase beruhte ( $F(1,59)=3.73$ ,  $p=0.058$ ): Die Bewertung von CS+-Reaktionen in dieser Gruppe begann nicht nur auf einem höheren Niveau in der Extinktionsphase (siehe Abbildung 8), sondern zeigte auch einen steileren Abfall (Unterschied zwischen der letzten CS+ Bewertung in der Akquisition und der letzten CS+ Bewertung in der Extinktion mittels post-hoc ANOVA:  $F(1,59)=4.03$ ,  $p=0.049$ ). Dieser Abfall spiegelt sich in ähnlichen Bewertungen am Ende der Extinktion in beiden Gruppen wieder. Zusammengefasst zeigen beide Genotypgruppen eine ähnlich gute Extinktion ihrer Angstantworten.

### **Reakquisition**

#### **SCR**

In der Reakquisitionsphase zeigte die SCR einen starken Stimulus- ( $F(1,50)=17.78$ ,  $p<0.001$ ), einen trendartigen Zeiteffekt ( $F(1,50)=3.26$ ,  $p=0.077$ ) und keine Stimulus\*Zeit-Interaktion ( $p=0.661$ ). Alle anderen Effekte waren nicht signifikant ( $p>0.172$ ).

#### **Angstbewertungen**

Die Angstbewertungen zeigten einen signifikanten Stimuluseffekt ( $F(1,58)=202.02$ ,  $p<0.001$ ), einen trendartigen Zeiteffekt ( $F(1,58)=2.69$ ,  $p=0.091$ ) sowie eine signifikante Stimulus\*Zeit-Interaktion ( $F(1,58)=12.81$ ,  $p=0.001$ ).

Auch konnte ein trendartiger Genotypeneffekt ( $F(1,58)=3.31$ ,  $p=0.074$ ) beobachtet werden, welcher potenziell an die Unterschiede der CS+ Bewertungen gekoppelt sein könnte (post-hoc ANOVA:  $F(1,59)=3.24$ ,  $p=0.077$ ).

### **4.3.2 Verhaltensergebnisse mit drei Genotypgruppen (AA,AT,TT)**

Um weiter zu explorieren, welchen Effekt das T-Allel auf die Verhaltensmessungen hat und ob das Allel möglicherweise einen dominanten Effekt haben könnte, wurden für die SCR sowie die Angstbewertungen und jede der drei experimentellen Phasen (Akquisition, Extinktion und Reakquisition) zusätzliche ANOVAs berechnet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 aufgelistet.

Die SCR-Analysen zeigten in allen drei experimentellen Phasen keine signifikanten Genotypeneffekte.

Signifikante oder trendartige Genotypeneffekte konnten nur bei den Angstbewertungen beobachtet werden: Wurden alle drei Genotypen (AA,AT,TT) in der Analyse der Akquisitionsphase berücksichtigt, konnte ein signifikanter Genotypeneffekt ( $p=0.014$ ) beobachtet werden. Auch konnte ein signifikanter Genotypeneffekt in der Akquisitionsphase beobachtet werden, wenn in die Analyse nur AA- und AT-Träger miteinbezogen wurden ( $p=0.008$ ). Wurden jedoch nur AT- und TT-Träger in die Analyse miteinbezogen, war die Analyse nicht mehr signifikant ( $p=0.553$ ). In der Extinktion war die Analyse nur mit allen drei Genotypen (AA,AT,TT) signifikant ( $p=0.011$ ). In der Reakquisition war nur die Analyse signifikant, wenn nur AA und AT miteinbezogen wurde ( $p=0.044$ ). Die Analyse mit allen drei Genotypen in der Reakquisition zeigte nur trendartige Effekte ( $p=0.099$ ).

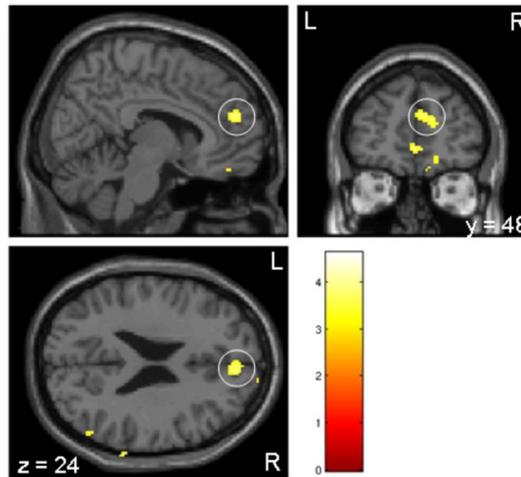
**Tabelle 4: Verhaltensergebnisse mit den drei Genotypgruppen (AA,AT, TT)**

	Akquisition	Extinktion	Reakquisition
<b>SCR</b>			
A1: AA vs AT vs TT	$F(1,49) = 0.25, p = 0.783$	$F(1,49) = 0.02, p = 0.982$	$F(1,49) = 0.68, p = 0.413$
A2: AA vs AT	$F(1,39) = 0.00, p = 0.933$	$F(1,39) = 0.02, p = 0.897$	$F(1,39) = 1.10, p = 0.301$
A3: AT vs TT	$F(1,29) = 0.33, p = 0.574$	$F(1,29) = 0.00, p = 0.597$	$F(1,29) = 1.01, p = 0.324$
<b>Angstbewertungen</b>			
A1: AA vs AT vs TT	$F(1,57) = 4.62, p = 0.014^*$	$F(1,57) = 4.94, p = 0.011^*$	$F(1,57) = 2.41, p = 0.099$
A2: AA vs AT	$F(1,46) = 7.80, p = 0.008^*$	$F(1,46) = 8.97, p = 0.064$	$F(1,46) = 4.28, p = 0.044^*$
A3: AT vs TT	$F(1,32) = 0.36, p = 0.553$	$F(1,32) = 0.04, p = 0.850$	$F(1,32) = 1.45, p = 0.230$

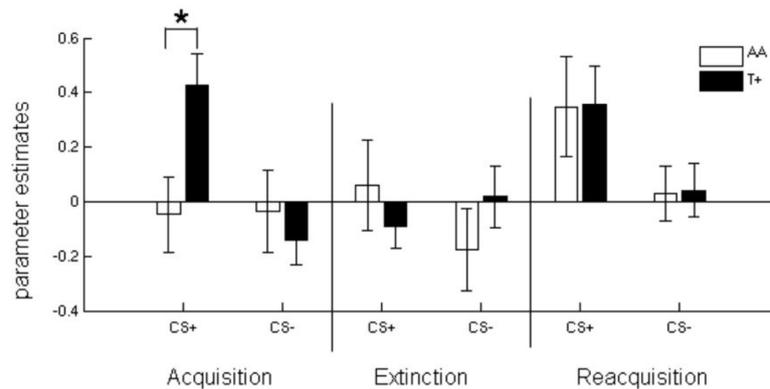
### 4.3.3 fMRT-Ergebnisse

Da der Genotyp in den Verhaltensergebnissen Auswirkungen auf die Akquisitionsphase hatte, wurde die fMRT-Analyse auf diese Phase fokussiert. Es wurde eine stärkere rostrale dACC/dmPFC-Aktivität in T+-Trägern im Vergleich zu AA-Homozygoten erwartet. Ein Cluster in der rechten rostralen dACC/dmPFC-ROI zeigte einen signifikanten

Gruppenunterschied bei Antworten auf CS+ im Sinne einer stärkeren Aktivierung (siehe Abbildung 9 und Abbildung 10).



**Abbildung 9:** Rostrale dACC/dmPFC Aktivität auf den CS+ bei T+ vs AA Trägern; x,y,z –Koordinaten: 6,46,24; p=0.032 (small volume correction).



**Abbildung 10:** Rostrale dACC/dmPFC CS+ und CS- Antworten in allen drei Phasen bei T+ vs AA Trägern; Fehlerbalken: Standardfehler des Mittelwerts.

CS- Antworten zeigten keinen Effekt des Genotyps auf den dACC/dmPFC.

Die rostrale dACC/dmPFC CS+ Antworten waren zudem über alle Probanden signifikant mit den durchschnittlichen CS+ Angstbewertungen korreliert ( $R=0.317$ ,  $p=0.011$ ; Abbildung 11), auch wenn für CS+-SCR kontrolliert wurde ( $R=0.312$ ,  $p=0.026$ ).

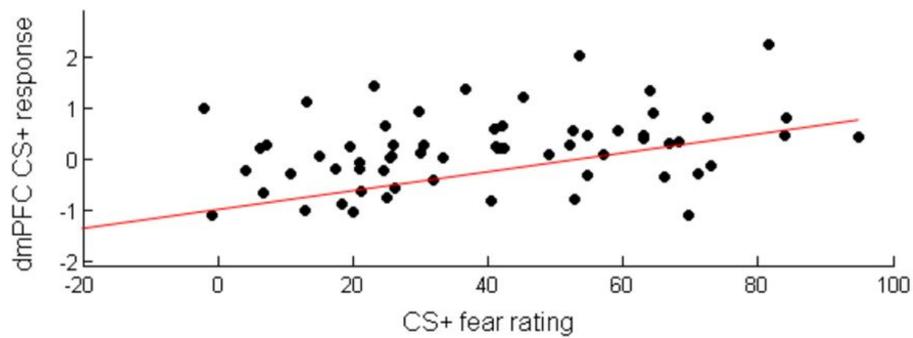


Abbildung 11: Korrelation der dmPFC CS+ Antworten mit den Angstbewertungen

Es gab keine vergleichbaren Gruppenunterschiede bezüglich neuronaler Aktivitäten im eher posterioren dACC/dmPFC ( $p < 0.001$  unkorrigiert).

In Übereinstimmung mit unseren Verhaltensergebnissen, die keinen Effekt des NPSR1 Genotyps auf diskriminatives Lernen (CS+>CS-) gezeigt haben, konnten auch keine Gruppenunterschiede für CS+>CS- in anatomischen Regionen gefunden werden ( $p < 0.001$  unkorrigiert). Die Ergebnisse dieser explorativen Analyse sind im Anhang dargestellt.

## 4.4 Diskussion

Die Auswertung der Verhaltensergebnisse mit zwei Genotypgruppen (AA und T+) zeigt, dass der NPSR1 Genotyp keine Auswirkungen auf diskriminatives Lernen (CS+>CS-) oder auf die Generierung physiologischer CRs in allen drei experimentellen Phasen hatte. Vielmehr scheint er speziell die Gewichtung der CS-evozierten subjektiven Bewertungen der T+-Träger während der Akquisitionsphase und vielleicht auch der Reakquisitionsphase zu beeinflussen. So konnte in der Akquisitionsphase gezeigt werden, dass T+-Träger ihre konditionierte Antworten auf den CS+ und den CS- stärker bewerteten als AA-Homozygote und dies obwohl sich ihre physiologischen CRs nicht unterschieden. Die Ergebnisse der Reakquisition sind ähnlich, waren aber in den Analysen nicht signifikant. Die Reakquisitionsphase scheint daher eine im Vergleich zu der Akquisitionsphase weniger sensitive Manipulation für die Aufdeckung von NPSR1 Genotypeffekten zu sein.

Die Splittung der beiden Genotypgruppen (AA,T+) auf drei Genotypgruppen (AA,AT,TT) zeigte signifikante oder trendartige Genotyp-Effekte in den Analysen immer dann, wenn die Analysen mit zwei Genotypgruppen (AA und T+) auch signifikante oder trendartige Ergebnisse zeigten. Die Ergebnisse der beiden Analysemethoden waren damit im Einklang. Ein Vergleich der T-Träger (AT, TT) untereinander zeigte keine signifikanten oder trendartigen Effekte in den Verhaltensdaten. Diese Ergebnisse deuten auf einen dominanten Effekt des T-Allels hin. Die Validität dieses Ergebnisses ist jedoch stark eingeschränkt aufgrund der Tatsache, dass nur sehr wenige TT-Träger (n=13) in der Stichprobe waren. Weitere Studien werden benötigt, um zu überprüfen, ob das T-Allel tatsächlich einen dominanten Einfluss auf Angstbewertungen hat.

Zusammengefasst weisen die Verhaltensergebnisse also darauf hin, dass der NPSR1 Genotyp einen Einfluss auf die bewusste Bewertung emotionaler Reaktionen auf Stimuli, die auf Gefahr hinweisen, hat. Versuchsteilnehmer mit dem T-Allel haben Stress/Angst/Anspannung während der Akquisitionsphase des Experimentes höher als im Vergleich dazu die AA-Homozygoten bewertet.

Da sich die autonomen physiologischen Antworten (SCR) zwischen den Gruppen nicht unterschieden und beide Gruppen eine ähnliche Neigung hatten, sich sozial erwünscht zu

verhalten (siehe Tabelle 3), manifestieren sich die Gruppenunterschiede lediglich in den subjektiven Angstbewertungen im Sinne einer generell negativeren Bewertungstendenz in T-Trägern im Vergleich zu AA-Homozygoten. Die T-Träger bewerteten den CS+ und CS- wesentlich stärker als im Vergleich dazu die AA-Homozygoten. Dieses Ergebnis spricht gegen eine Assoziation des NPSR1 Genotyps mit einem assoziativen Lernprozess bei der Entstehung von Panikstörungen. Eher deutet dieses Ergebnis auf eine kognitive Erklärung für den Einfluss des NPSR1-T-Allels auf die Entstehung von Panikstörungen hin.

Es konnten in diesem Experiment keine Effekte des Genotyps auf die CS-evozierte elektrodermale Aktivität (SCR) beobachtet werden. Gewöhnlich wird aber erwartet, dass körperliche (z.B. SCR) und kognitive konditionierte Antworten (z.B. subjektive Bewertungen) sich ähnlich verhalten und parallel verlaufen, d.h. je mehr jemand auf körperlicher Ebene reagiert, um so höher müsste die Person ihre Reaktion bewerten. Umgekehrt würde man erwarten, dass je mehr eine Person denkt, sie oder er sei verängstigt oder bedroht, umso mehr sollte ihr oder sein Körper darauf reagieren. In der hier vorgestellten Studie wurde jedoch beobachtet, dass T-Träger keine erhöhten SCR-Antworten im Vergleich zu AA-Homozygoten zeigten, obwohl sie ihre Reaktionen stärker bewerteten. Dieses Ergebnis scheint nicht intuitiv und im Widerspruch zu kognitiven Theorien der Panik wie auch zu unzähligen Forschungsergebnissen aus einem Forschungsfeld, welches den Einfluss von Bewertungsprozessen auf emotionale Antworten untersucht (Gross, 2002; Scherer, 2001).

Eine Möglichkeit, diesen Widerspruch aufzulösen, wäre es anzunehmen, dass unsere Messung der SCR eine unzureichende Methode ist, um physiologische Genotypenunterschiede aufzudecken. Diese Erklärung ist aber sehr unwahrscheinlich, da unsere Methode sensitiv genug ist, CS+ vs. CS- Unterschiede sowie deren Extinktion und Reakquisition aufzudecken. Hinzu kommt die Tatsache, dass T-Träger tendenziell eher kleinere SCR-Amplituden als AA-Homozygote während Akquisition und Extinktion hatten. Damit ist es nur schwer möglich, den starken Effekt in der Angstbewertung auf der Basis eines etwaigen subtilen, versteckten SCR-Effekts in dieser großen Stichprobe zu erklären. Erst vor kurzem wurde eine ähnliche Dissoziation zwischen bewusster Bewertung und anderen physiologischen Antworten (Herzrate) in einem anderen Angstparadigma in gesunden Probanden gefunden (Kalisch et al., 2006).

Daher bevorzugen wir die alternative Erklärung, dass ein verstärkender Einfluss bewusster negativer Bewertungen auf körperliche Angstreaktionen so lange eingeschränkt ist (im Sinne, dass es keine „sichtbaren“ körperlichen Angstreaktionen gibt), so lange das Angstlevel moderat ist. Dies mag insbesondere bei gesunden Probanden der Fall sein, wenn sie einen moderat schmerzvollen Stimulus appliziert bekommen, von dem sie genau wissen, dass dieser ihnen keinen physischen Schaden zufügen wird und welchen sie unter Kontrolle haben, da sie jederzeit das Experiment abbrechen können. Derartige Umstände erlauben es den Probanden, kognitive Umbewertungen anzuwenden, von denen erwiesen ist, dass sie schmerzlinderndes und angstminderndes Potential haben und daher hemmend auf die CR auswirken könnten (Kalisch et al., 2005). Die bewusste Bewertung müsste somit erst ein bestimmtes Level des Katastrophierens erreichen, um starke steigernde Effekte auf körperliche Reaktionen zu erzielen und so die Schwelle zum Teufelskreis aus sich gegenseitig verstärkenden Bewertungen und Körperreaktionen zu überschreiten.

Zusätzlich waren die CS+- Angstbewertungen mit einer erhöhten neuralen Aktivität des rostralen dACC/mPFC verbunden, welcher in vorangegangenen Studien mit bewusster Bewertung von bedrohlichen Stimuli oder Situationen in Verbindung gebracht worden ist (Kalisch et al., 2006). Weiter bekräftigt wird dieses gefundene Ergebnis durch die signifikante Korrelation zwischen den dACC/dmPFC CS+ Antworten und den durchschnittlichen CS+ Angstbewertungen im Experiment. Überraschenderweise zeigten die CS- Antworten keinen Effekt des Genotyps auf diese Hirnregion trotz der Unterschiede in den Verhaltensdaten (Angstbewertung). Eine mögliche Erklärung dafür könnte sein, dass Gruppeneffekte in den generell sehr schwachen CS- Antworten durch Rauschen maskiert worden sein könnten.

Zusammengefasst konnte weder in physiologischen (SCR) noch in subjektiven (Angstbewertungen) oder neuralen Antworten (Bildgebung) ein Indiz für einen Effekt des NPSR1 Genotyps auf diskriminatives Konditionieren (CS+ vs CS-) gefunden werden, was stark dafür spricht, dass der NPSR1 Genotyp assoziatives Lernen während des Paradigmas nicht beeinflusst hat. Somit kann kein assoziativer Lernprozess von CS-UCS-Kontingenzen (im Sinne von lerntheoretischen Erklärungsmodellen) mit dem NPSR1 Genotyp assoziiert werden.

Nichtsdestotrotz erlauben die Daten anzunehmen, dass T-Allel Träger ein erhöhtes Risiko

haben, eine Panikstörung zu entwickeln, weil sie ihre körperliche Erregung auf aversive Stimuli in einer katastrophisierenden Art und Weise missinterpretieren, da sie die Stimuli im Experiment deutlich stärker bewerteten als im Vergleich AA-Homozygoten. Diese Erklärung würde zu den kognitiven Entstehungsmodellen der Panik gut passen.

Vorliegende Ergebnisse geben starke Hinweise darauf, durch welche Hirnregion „Katastrophisieren“ (rostraler dACC/dmPFC) vermittelt wird und welches Neurotransmittersystem (NPS) daran beteiligt sein könnte. Interessant ist in diesem Zusammenhang, dass der rostrale dACC/dmPFC bei krankheitsrelevanter Stimulation hyperaktiv ist und dass Reduktion der grauen Substanz in dieser Region bei Patienten mit einer Panikstörung im Gegensatz zu Gesunden festgestellt werden konnte (Asami et al., 2008; Boshuisen, Ter Horst, Paans, Reinders, & den Boer, 2002; van den Heuvel et al., 2005). Auch ist noch zu erwähnen, dass die einzige Teilregion des mPFC in welcher Ratten eine NPSR1 mRNA-Expression zeigen, der dorsale Teil ist (Xu et al., 2007).

Diese Ergebnisse stützen weiter die potentielle Beziehung zwischen dACC/dmPFC abhängigen Prozessen und der Panikstörung.

Bemerkenswert ist auch, dass der Austausch negativer durch positive Bewertungen (durch bewusste Emotionsregulation) in einer angstausslösenden Situation angstbezogene rostrale dACC/dmPFC-Aktivierung schwächt (Kalisch et al., 2005), wie man es erwarten würde, wenn diese Hirnregion die Bewertung von Bedrohung vermittelt. Zusammengefasst bieten die hier vorgestellten Ergebnisse wichtige weiterführenden Hypothesen, die in naher Zukunft weiter erforscht werden sollten. Im Speziellen wären Studien in Panikpatienten interessant, welche überprüfen sollten, ob eine ähnliche genetisch modulierte Dissoziation zwischen physiologischen konditionierten Antworten und expliziten subjektiven Bewertungen auch in Patienten beobachtet werden kann und ob diese, wie in dieser Studie gezeigt, mit dACC/dmPFC-Aktivierung in Bedrohungssituationen einhergeht

## 5 Studie 2: Einfluss des meso-striatalen dopaminergen Systems auf Angstextinktion

### 5.1 Einleitung

Wie im Kapitel 1.3.2 näher beschrieben, erklären klassische assoziative Lerntheorien Angstkonditionierung mit Hilfe eines aversiven Vorhersagefehlersignals  $\delta_{av}$ , welches die Diskrepanz zwischen erwarteter und tatsächlich erhaltener negativen Verstärkung widerspiegelt. Im Verlauf der Konditionierung, d.h. mit zunehmender Anzahl von CS-UCS-Paarungen, steigt der erwartete, aversive Wert des CS ( $V_{av}$ ) an, während der Vorhersagefehler, der zu Beginn groß ist, immer kleiner wird (Rescorla & Wagner, 1972; Sutton & Barto, 1998).

Wird der UCS überraschend ausgelassen, wird ein negativer (oder umgekehrter) aversiver Vorhersagefehler generiert, welcher den Wert von  $V_{av}$  kleiner werden lässt. Dieser Prozess beschreibt die Extinktion konditionierter Angstantworten (CR) durch wiederholte, ungepaarte CS-Präsentationen (also ohne UCS) (Rescorla & Wagner, 1972). Extinktion ist die theoretische Basis der Expositionstherapie, bei welcher ein Patient wiederholt mit dem Auslöser seiner Ängste konfrontiert wird (z.B. könnte der CS bei Agoraphobie ein offener Platz sein). Der Patient macht während der Exposition die Erfahrung, dass die vorhergesagte Wirkung des Auslösers nicht mehr vorhanden oder weniger verheerend als erwartet ist (z.B. kollabiert der Patient nicht) (Rothbaum & Davis, 2003).

Ein häufig repliziertes Ergebnis ist, dass die CR nach erfolgreicher Extinktion wiederkommen kann (durch Prozesse der Spontanerholung, Erneuerung und des Widerinkraftsetzens), was darauf hindeutet, dass die CS-UCS Assoziation ( $V_{av}$ ) in der Extinktionsphase nicht einfach vergessen wird, sondern dass eine vollständig neue inhibitorische Assoziation (CS-kein UCS), also ein neuer Lernprozess, diese überlagert (Bouton, 2004; Myers & Davis, 2002; Pavlov, 1927).

Auch gibt es zahlreiche Belege dafür, dass die neuronalen Systeme von Konditionierung sowie Extinktion nicht vollständig überlappen (Gottfried & Dolan, 2004; Heldt, Stanek, Chhatwal, & Ressler, 2007; Herry et al., 2008; Jungling et al., 2008; C. H. Lin, Yeh, Lu, & Gean, 2003; Marsicano et al., 2002).

Die Annahme, dass Extinktion durch dasselbe Lernsystem vermittelt wird wie Konditionierung, kann daher nicht aufrecht erhalten werden. Es muss viel mehr angenommen werden, dass Konditionierung und Extinktion durch z.T. unterschiedliche Prozesse gesteuert werden.

Alternativ könnte z.B. das Weglassen eines erwarteten aversiven UCS in der Extinktion als appetitiver oder belohnender Vorhersagefehler ( $\delta_{app}$ ) konzeptualisiert werden und die darauf folgende Reduktion der UCS-Vorhersage  $V_{av}$  als Generierung einer belohnungsartigen Sicherheitsvorhersage  $V_{app}$ . Aus dieser Perspektive könnte Extinktion durch ein entgegengesetztes appetitives Lernsystem gesteuert werden. Belohnungslernen wird mit dem meso-striatalen DA-System, das im Kapitel 1.4.2 näher erläutert worden ist, in Verbindung gebracht (Montague, Hyman, & Cohen, 2004; Pessiglione, Seymour, Flandin, Dolan, & Frith, 2006; Schultz, 2006). Es gibt Belege dafür, dass der  $\delta_{app}$  durch einen phasischen Anstieg der Feuerungsrate DA-erger Neurone mit Ursprung im Ventralen Tegmentum und der Substantia Nigra (SN), welche ins ventrale Striatum (VS) projizieren, vermittelt wird (Schultz, 2006). Daher wurde vorgeschlagen, dass die DA-erge Ausschüttung im VS während der  $\delta_{app}$ -Signaltransduktion bei der Angstextinktion involviert sein könnte (Holtzman-Assif et al., 2010). Der Befund einer Tierstudie, wonach die DA-Signaltransduktion via D1 Rezeptoren notwendig für die Extinktion ist (El-Ghundi et al., 2001), unterstützt weiter die potenzielle Beziehung zwischen Angstextinktion und Belohnungssystem.

Ein Ziel dieser Studie war es daher zu überprüfen, ob das VS appetitive Vorhersagefehler ( $\delta_{app}$ ) während der Extinktion enkodiert.

Die extrazelluläre DA-Konzentration im Striatum wird vorwiegend durch die DA-Wiederaufnahme durch den Dopamintransporter (DAT1) reguliert (Cragg & Rice, 2004). Das 9-repeat-Allel (9R) des Dopamintransporterpolymorphismus geht vermutlich mit geringerer DAT1 Expression einher, als im Vergleich dazu das 10-repeat-Allel, wie in den meisten Studien berichtet worden ist. Dadurch ist anzunehmen, dass die extrasynaptischen DA-Konzentrationen im Striatum u.a. während der phasischen DA-Ausschüttung bei 9R-Trägern erhöht sind (Heinz et al., 2000; Jacobsen et al., 2000).

Wenn angenommen wird, dass das meso-striatale DA-System in die Extinktion involviert ist, würde man erwarten, dass das DAT1 9R-Allel mit verbesserter Extinktion wie auch mit einer erhöhten neuronalen  $\delta_{app}$  Signaltransduktion im VS verbunden ist.

Um diese Hypothese zu überprüfen, wurde ein Experiment mit gesunden Probanden, die

auf Grundlage ihres DAT1 Genotyps vorselektiert wurden, durchgeführt. Es wurden 9R-Träger (9/9 Genotyp und 9/10 Genotyp) mit nicht9R-Trägern (Genotyp 10/10) verglichen. Die Gruppierung wurde aufgrund eines relativen Mangels an 9R-Trägern und identischer Vorgehensweise in früheren Bildgebungsstudien vorgenommen (Heinz et al., 2000; Jacobsen et al., 2000).

Auch wurden inter-individuelle Veränderungen der Catechol-O-Methyltransferase (COMT) Funktion untersucht. Im Gegensatz zu DAT1 beeinflusst COMT vorwiegend den PFC, wo sie in den synaptischen Spalt ausgeschüttetes DA spaltet und somit die extrazellulären Konzentrationen reguliert (Tunbridge et al., 2006). Der Val<sup>158</sup>Met Polymorphismus der COMT mit der weniger aktiveren met-Variante (Chen et al., 2004) und einer höheren DA-Konzentration im PFC wurde im Kapitel 1.4.2 näher beschrieben. Präfrontales DA scheint in Ratten eine Rolle bei der Extinktion zu spielen (Morrow et al., 1999). Auch zeigte eine aktuelle Humanstudie, dass Versuchsteilnehmer, die homozygot für das COMT met-Allel waren, in der Extinktionsleistung wesentlich beeinträchtigt waren (Lonsdorf et al., 2009).

Die Berücksichtigung des COMT Genotyps im Versuchsdesign erlaubte es, eine mögliche Beteiligung von extra-striatalem DA bei Extinktion zu explorieren. Da das val- und met-Allel kodominant sind (Tunbridge et al., 2006), wurden die Versuchsteilnehmer in drei etwa gleich große Genotypengruppen von val/val-, val/met-, und met/met- Trägern unterteilt. Diese Aufteilung resultierte in einem 2 \* 3-faktoriellen Design.

## 5.2 Methoden

### 5.2.1 Versuchsteilnehmer

An der Studie nahmen  $n=69$  gesunde rechtshändige Probanden teil. Das Sample überschneidet sich mit dem Sample aus **Studie 1**. Die Screeningprozedur sowie Genotypisierung wurden im generellen Methodenteil beschrieben (siehe 3.1 Screeningprozedur). Tabelle 5 zeigt die Charakterisierung dieser Stichprobe. Eine Varianzanalyse (ANOVA) zeigte keine DAT1 oder COMT Genotypeneffekte auf Trait-Angst (alle  $p>0.472$ ), negativen Affekt ( $p>0.370$ ) oder positiven Affekt ( $p>0.283$ ), Depressionswerte ( $p>0.314$ ), oder die Tendenz, sozial erwünscht zu antworten ( $p>0.501$ ). DAT1 oder COMT Genotypen unterschieden sich auch nicht in der UCS-Reaktivität (elektrische Stromstärke bei der individuellen Schmerzschwelle ( $p>0.528$ ); als UCS gewählte Schmerzintensität ( $p>0.622$ ); UCS-SCR ( $p>0.356$ )). Auch wurden die Versuchsteilnehmer für BDNF-, einen Serotonintransporter (SLC6A4)- sowie den Neuropeptid S Rezeptor-Polymorphismus genotypisiert, da Forschungsergebnisse zeigten, dass diese Angstkonditionierung oder Extinktion zu beeinflussen scheinen (Hajcak et al., 2009; Lonsdorf et al., 2009; Raczka et al., 2010). Die Verteilungen der Genotypen können ebenfalls der Tabelle 3 entnommen werden. Ein  $\chi^2$ -Test zeigte, dass die Verteilung der einzelnen Genotypen (COMT, BDNF, SLC6A und NPSR1) bei DAT1 9R-Trägern und DAT1 nicht9R-Trägern gleich war. Wurden diese zusätzlichen Genotypen als Kovariaten in die Analyse der Persönlichkeitswerte oder der konditionierten Antworten miteinbezogen, veränderten sie die Ergebnisse nicht. Screeningprozedur sowie Genotypisierung wurden im allgemeinen Methodenkapitel (Kapitel 3) näher erläutert.

Tabelle 5: Charakterisierung der eingeschlossenen Teilnehmer<sup>24</sup>

	DAT1 9R-Träger (9R/9R, 9R/10R) (Mittelwert ± SD)	DAT1 nicht9R-Träger (10R/10R) (Mittelwert ± SD)	t	P
COMT Genotyp Verteilung (GG, GA, AA)*	13,10,10	14,12,10	-	-
BDNF Genotyp Verteilung (GG, GA, AA)**	12, 21, 0	14,20,2	-	-
SLC6A4 Genotyp Verteilung (ss, sl, ll)***	5,11,15	4,17,10	-	-
NPSR1 Genotyp Verteilung (AA, AT, TT)****	14,11,7	14,14,6	-	-
Trait Angst	32.7±5.8	33.8± 6.5	-0.67	0.505
Negativer Affekt	15.9±3.1	16.1±4.9	-1.11	0.390
Positiver Affekt	34.4±6	35.9±4.8	-1.13	0.264
Depressionswert	8±4.5	6.7±4.6	1.18	0.243
Soziale Erwünschtheit	12.4±2.7	11.8±3.9	0.71	0.470
Schmerzschwelle (mA)	3±3.6	3.1±2.6	-0.12	0.908
Gewählte UCS Intensität (mA)	34.1±25.8	35.4±26.1	-0.21	0.837
Erste UCS-SCR (µS)	0.27±0.24	0.21±0.22	0.98	0.327
Mittlere UCS-SCR (µS)	0.19±0.16	0.20±0.17	-0.33	0.742
Post-habituations CS+ Angstbewertung	13.6±18.3	8.2±11.8	1.42	0.163
Post-habituations CS- Angstbewertung	9.6±13.9	11.9±15.8	-0.62	0.540
Body Mass Index (BMI)	22.4±3.4	22.9±2.4	0.82	0.417
Alkoholkonsum (Gläser/Woche)	3.1±2.9	4.5±3.6	-1.82	0.074
Rauchen (Zigaretten/Woche)	1.7±3.8	1.1±2.2	0.83	0.408
Kannabiskonsum (Joints/Monat)	0.03±0.17	0.03±0.2	0.06	0.951
Kaffeekonsum (Tassen/ Tag)	1.4±1.1	1.2±1.1	0.47	0.642
Schulbildung (Jahre)	12±0.8	11.9±0.9	0.57	0.564

\*Val/Val, Val/Met, Met/Met Aminosäuren an Position 158; \*\*Val/Val, Val/Met, Met/Met Aminosäuren an Position 66; \*\*\* s: kurzes Allel, l: langes Allel; \*\*\*\* Asn/Asn, Asn/Ile, Ile/Ile Aminosäuren an Position 107

<sup>24</sup> Alle Tests wurden im generellen Kapitel genannt

## 5.2.2 Stimuli und Versuchsaufgabe

Die Stimuli sowie die Versuchsaufgabe entsprachen denen aus Studie 1 und wurden im allgemeinen Methodenkapitel (Kapitel 3) erläutert.

## 5.2.3 Datenauswertung

### SCR

Da drei Versuchspersonen keine SCR auf den UCS zeigten, wurden diese von der weiteren SCR-Analyse ausgeschlossen. Bei weiteren neun Versuchsteilnehmern konnte aufgrund technischer Probleme keine SCR erhoben werden, so dass n=57 Datensätze ausgewertet werden konnten.

### Angstbewertungen

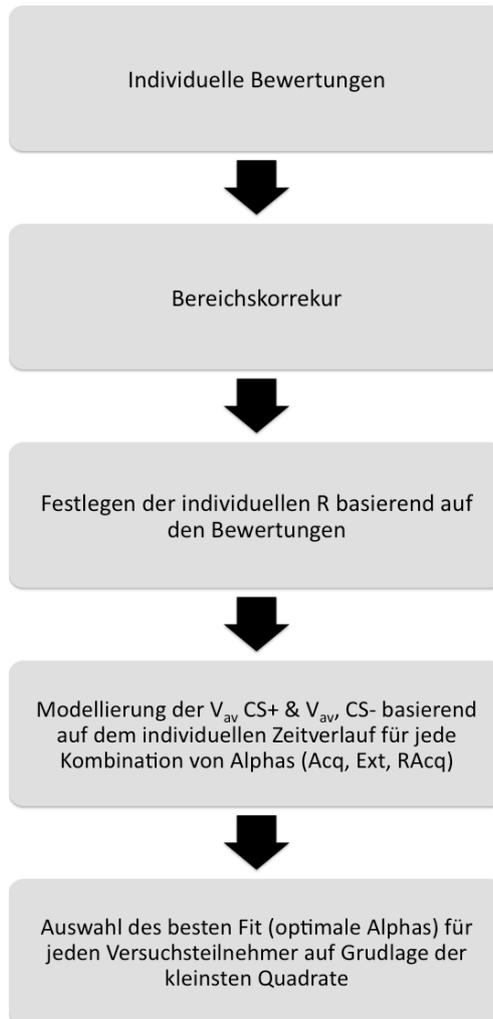
Bei vier Teilnehmern konnten die Bewertungen aufgrund von technischen Problemen nicht erhoben werden. Insgesamt konnten somit von n=65 Versuchspersonen Angstbewertungen ausgewertet werden.

### Reaktionsgeschwindigkeiten

Reaktionsgeschwindigkeiten konnten aufgrund technischer Probleme bei sieben Versuchsteilnehmern nicht aufgezeichnet werden, so dass n=62 Datensätze ausgewertet werden konnten. Da kein signifikanter Stimulus- oder Genotyp-Effekt für die Reaktionsgeschwindigkeiten in allen drei Phasen des Experimentes beobachtet werden konnte (alle  $p > 0.414$ ) und die Treffergenauigkeit sehr hoch war (nur 23 Auslasser und 24 falsche Antworten über alle Versuchspersonen im ganzen Experiment) werden die Daten hier nicht weiter berichtet.

## 5.2.4 Rescorla-Wagner-Modell

Die Verhaltensdaten wurden mit dem im Kapitel 1.3.2 vorgestellten Rescorla-Wagner-Modell (RW) ausgewertet. Das Auswertungsschema verdeutlicht Abbildung 12.



**Abbildung 12:** Flussdiagramm zur Verdeutlichung der Verarbeitung der Daten für das Rescorla-Wagner-Modell.

Zunächst wurden von jedem Versuchsteilnehmer die auf die Baseline normierten CS+ und CS- Angstbewertungen korrigiert (Bereichskorrektur), indem folgende Formel angewendet wurde:

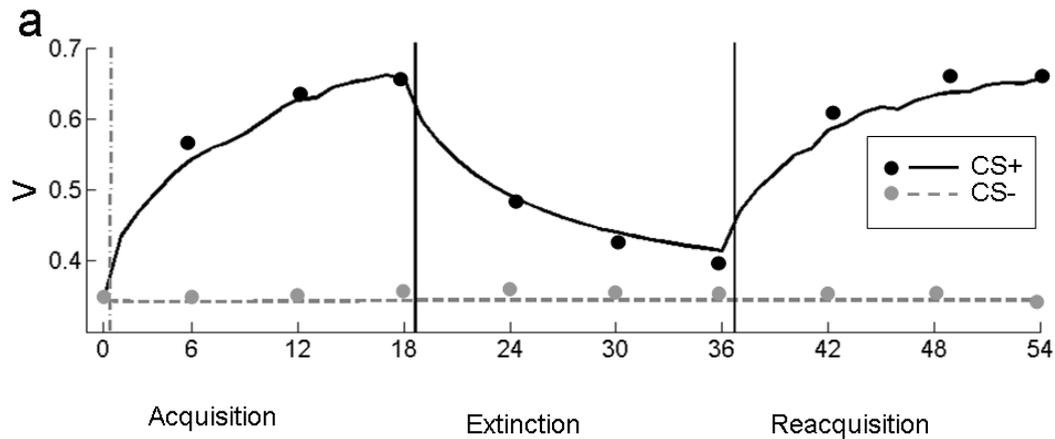
$$x_{i,\text{corr},\text{CS+oderCS-}} = (x_{i,\text{CS+oderCS-}} - \text{min}) / (\text{max} - \text{min})$$

wobei  $x_{i,\text{CS+oderCS-}}$  ( $i=1,\dots,10$ ) für die fortlaufenden (CS+ oder CS-) Angstbewertungen, min für das Gruppen-Minimum aller Angstbewertungen (-58) und max für das Gruppen-Maximum (100) aller Angstbewertungen steht.

Diese Berechnung resultierte in individuellen Zeitverläufen, bei welchen die Angstwertungen zwischen 0 und 1 lagen, aber die interindividuellen Unterschiede in der Benutzung der Bewertungsskala bewahrt waren (Bereichskorrektur). Die (CS+ und CS-) Baseline- Bewertungen  $x_{1,\text{CS+oderCS-}}$  (nach der Habituationsphase und vor der

Konditionierung), welche per Definition 0 in jedem Versuchsteilnehmer waren, erhielten somit einen Wert von  $x_{1,corr,CS+oderCS-}=0.36$ . Nach dem vollständigen Lernen schlägt sich das aversive R des UCS in der Aversivität des CS+ nieder, d.h. in der letzten CS+ Angstbewertung nach der Akquisition ( $x_{4,corr,CS+}$ ). Mit einer teilweisen Verstärkungsrate von 80%, kann das R einer Versuchsperson in CS+ Durchgängen mit  $x_{4,corr,CS+}/0.8$  angenähert werden. In CS- Durchgängen (0% Verstärkung) wurde jedes R auf  $x_{4,corr,CS-}$  gesetzt. Dieser Wert wurde auch für die ungepaarten CS+ Durchgänge verwendet. Wie oben erwähnt, wurde die UCS (Schmerz-) Intensität individuell kalibriert, um das subjektiv tolerierbare Maximum eines jeden Versuchsteilnehmers zu erhalten und somit interindividuelle Unterschiede in der UCS-Verarbeitung zu minimieren. Die berechneten individuellen R-Werte für die gepaarten CS+ Durchgänge waren entsprechend nicht durch den Genotyp beeinflusst (DAT1:  $F(1,64)=1.24$ ,  $p=0.298$ ; COMT:  $F(2,64)=0.74$ ,  $p=0.438$ ; Interaktion:  $F(2,64)=0.06$ ,  $p=0.978$ ). Dennoch haben wir hier individuelle R-Werte in der Analyse verwendet, um alle potentiellen interindividuellen Lernunterschiede auszuklammern, welche lediglich aus einem etwaigen Unterschied in der UCS- Verarbeitung resultieren könnten.  $V_{av,CS+}$  und  $V_{av,CS-}$  wurden separat modelliert und auf 0.36 ( $=x_{1,corr,CS+oderCS-}$ ; siehe oben) vor dem Lernen gesetzt.

Basierend auf der Idee dissoziierbarer neuronaler Systeme für Akquisition und Extinktion (sowie Reakquisition) haben wir für die Lernrate  $\alpha$  drei freie Parameter  $\alpha_{Acq}$ ,  $\alpha_{Ext}$  und  $\alpha_{RAcq}$  (einer für jede der drei experimentellen Phase) erlaubt. Eine hohe Lernrate kennzeichnet eine schnelle Anpassung der Vorhersage und somit schnelles Lernen. Diese wurden adjustiert, um die Distanz zwischen Veränderungen in  $V_{av,CS+}$  und  $V_{av,CS-}$  und Veränderungen in den Angstbewertungen  $x_{corr,CS+}$  and  $x_{corr,CS-}$  zu minimieren (Methode der kleinsten Quadrate).  $V_{av,CS+}$  und  $V_{av,CS-}$  wurden zur selben Zeit und im selben Modell geschätzt.  $V_{av,CS+}$  and  $V_{av,CS-}$  Zeitverläufe gemittelt über alle Versuchspersonen werden in Abbildung 15 gezeigt.



**Abbildung 13:** gemittelte Zeitverläufe von  $V_{av}$  für CS+ und CS- über alle Versuchspersonen. Die Punkte stellen Durchgänge dar, bei denen die Versuchspersonen Bewertung hinsichtlich des CS+ sowie CS- machen sollten. Die Linien stellen den modellierten Verlauf des  $V_{av}$  (anhand der Bewertungen) dar.

Die gemittelten kleinsten Quadratsummen wiesen keine Gruppenunterschiede in Bezug auf den Genotyp auf (DAT1:  $F(1,64)=0.55$ ,  $p=0.461$ ; COMT:  $F(2,64)=0.13$ ,  $p=0.878$ ; Interaktion:  $F(2,64)=0.49$ ,  $p=0.613$ ). Die Modellfits waren wesentlich schlechter, wenn eine identische Lernrate über alle drei Phasen des Experimentes verwendet wurde (nicht gezeigt).

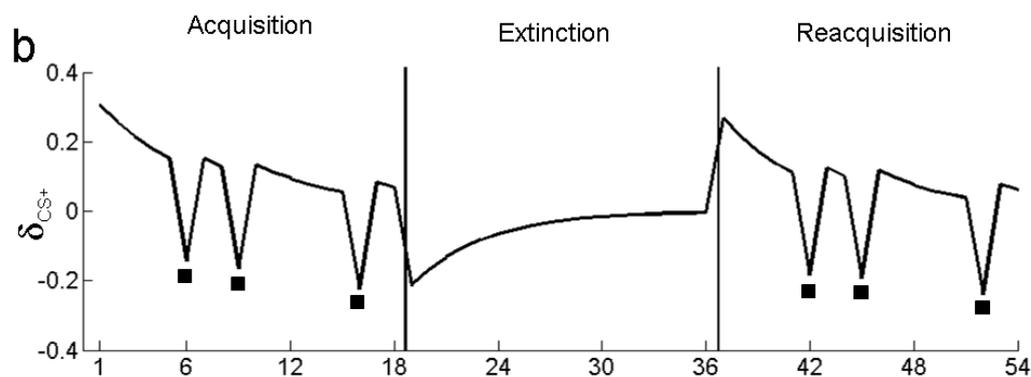
Zu berücksichtigen ist an dieser Stelle, dass die ursprüngliche RW-Formel unterschiedliche Lernraten für verstärkte und nicht verstärkte CS-Durchgänge vorsieht, aber diese Unterscheidung nicht kritisch für die meisten Modellvorhersagen ist und in bildgebenen Studien nicht verwendet wurde (McClure, Berns, & Montague, 2003; Menon et al., 2007; O'Doherty, Dayan, Friston, Critchley, & Dolan, 2003; Petrovic, Kalisch, Pessiglione, Singer, & Dolan, 2008; Schiller, Levy, Niv, LeDoux, & Phelps, 2008; Seymour, Daw, Dayan, Singer, & Dolan, 2007). Wenn unterschiedliche Lernraten für verstärkte und nicht verstärkte CS-Durchgänge verwendet wurden, ergab das Modell einen wesentlich schlechteren Fit.

### 5.2.5 Auswertung der MR-Bilder

Die Auswertung der bildgebenen Daten erfolgte nur bei denjenigen 65 Versuchsteilnehmern, bei denen auch Angstbewertungen vorlagen. Die Gruppengrößen für den Vergleich zwischen 9R-Trägern und nicht 9R-Trägern betragen  $n=32$  und  $n=33$ . Der

Vergleich wurde nur auf DAT1 beschränkt, da die Verhaltensergebnisse (siehe unten) keinen Hinweis auf einen möglichen Einfluss des COMT-Genotyps zeigten. Um die Analyse vorzubereiten, wurden die gemittelten geschätzten Lernraten  $\alpha_{Acq}=0.16$ ,  $\alpha_{Ext}=0.21$  and  $\alpha_{R_{Acq}}=0.19$  gewählt und auf dieser Basis individuelle durchgangsbasierte  $V_{av}$ - sowie  $\delta_{av}$ -Zeitverläufe separat für Akquisition, Extinktion und Reakquisition errechnet. Frühere fMRT-Studien haben gezeigt, dass anhand von gemittelten Lernraten geschätzte komputationale Signale zu robusteren Schätzungen führen, weswegen dieser Ansatz auch hier gewählt wurde.

Ein exemplarischer individueller  $\delta_{av}$  Zeitverlauf ist in Abbildung 11 dargestellt.



**Abbildung 14:** exemplarischer Zeitverlauf für  $\delta_{av}$ : die Quadrate stellen die Durchgänge dar, bei denen eine Angstbewertung für den CS+ erfolgte. X-Achse : CS+ Durchgänge.

Diese Information wurde weiter in der Auswertung der bildgebenen Daten mittels eines standardisierten Verfahren für fMRT, das in Kapitel 3 ausführlich erklärt worden ist, berücksichtigt. Die Analyse fand mit der SPM5 Software statt ([www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm](http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm)) (Friston, Ashburner, Kiebel, Nichols, & Penny, 2006) .

Zunächst wurden für jede Versuchsperson Regressoren definiert, die den Zeitverlauf der experimentellen Bedingungen modellierten. Onsets der CS, unabhängig davon ob sie ein CS+ oder ein CS- waren, wurden als kategorische „events“ moduliert. Dieser Regressor wurde parametrisch mit dem individuellen  $V_{av}$ -Zeitverlauf moduliert. Ein anderer kategorischer „event“-Regressor moduliert die CS (beide CS+ und CS-) Offsets und wurde parametrisch durch die individuelle Sequenz der  $\delta_{av}$  Schätzwerte moduliert. Diese Modellierung erfolgte für Akquisition, Extinktion sowie Reakquisition separat. CS+ und

CS- Durchgänge wurden in dieser Analyse nicht unterschieden. Dies erfolgte aufgrund der Idee, dass Vorhersagen  $V$  und Vorhersagefehler  $\delta$  quantitative Größen sind und keine qualitativen Unterschiede zwischen den Arten der Stimuli machen. Somit wurden in dieser Analyse identische neuronale Substrate für Vorhersagen und Vorhersagefehler für CS+ und CS- angenommen. Zusätzliche kategorische Regressoren modellierten die UCS (events), Tastendrucke (events) sowie die Durchführung der Angstbewertungen (14 Sekunden lange box car). Jeder Regressor wurde mit einer kanonischen hämodynamischen Antwortfunktion konvolviert. Die Regressoren ( $V_{av,Acq}$ ,  $\delta_{av,Acq}$ ,  $V_{av,Ext}$ ,  $\delta_{av,Ext}$ ,  $V_{av,RAcq}$ ,  $\delta_{av,RAcq}$ ) korrelierten nicht substantiell mit dem UCS Regressor sowie untereinander, so dass eine stabile Schätzung möglich war (Pearson's R für die Korrelationen zwischen  $V_{av,Acq}$  und  $\delta_{av,Acq}$ : 0.01;  $V_{av,Ext}$  und  $\delta_{av,Ext}$ : -0.21;  $V_{av,RAcq}$  und  $\delta_{av,RAcq}$ : 0.01;  $V_{av,Acq}$  und UCS: -0.12;  $\delta_{av,Acq}$  und UCS: -0.43;  $V_{av,Ext}$  und UCS: 0;  $\delta_{av,Ext}$  und UCS: 0;  $V_{av,RAcq}$  und UCS: -0.12;  $\delta_{av,RAcq}$  und UCS: -0.41).

Für die Second Level Analyse wurden die geschätzten Kontrastbilder der  $\delta_{av}$  und  $V_{av}$  Regressoren geglättet (FWHM 10 mm). DAT1 und COMT Genotypen Effekte wurden mithilfe des "full factorial" Modells in SPM überprüft. Das Modell erlaubt eine Korrektur für mögliche Abhängigkeiten der Daten, die sich im Fehlerterm auswirken (non-sphericity). Es wurden jeweils separate Modelle für jeden interessanten Effekt (z.B.  $V_{av,Acq}$ ) berechnet. Eine Designmatrix bestand aus sechs Regressoren, jeder Regressor für eine mögliche Genotyp-Kombination (2\*3). Die statistische Signifikanz der linearen Kombination dieser Regressoren (z.B., 1 1 1 -1 -1 -1 bei der Frage, welche Voxel größere Effekte für die DAT1 9R-Träger im Vergleich zu den nicht9R-Trägern in einem bestimmten Bedingung erzielten) wurde mit einseitigen T-Tests überprüft. Die Korrektur für multiple Vergleiche folgte der Gaussian random field theory (family-wise error (FWE) Methode) bei  $p < 0.05$  und wurde angewendet in vordefinierten „Regionen von Interesse“ (ROIs) im VS.

Linke und rechte ROIs wurden konservativ als Sphären mit einem Radius von 6mm um die Koordinaten -27,3,-9 und 27,-9,-9 gewählt. Diese Koordinaten entstammen der ersten fMRT Studie, die Belohnungsvorhersagefehler mit Hilfe eines formalen Lernmodells berechnet hat (O'Doherty et al., 2003). Wo keine anatomischen Hypothesen existierten (explorative Analyse über das gesamte Scanvolumen), wurde eine unkorrigierte Schwelle von  $p < 0.001$  verwendet.

## 5.3 Ergebnisse

### 5.3.1 Verhaltensdaten

Abbildung 15 zeigt den SCR- sowie Angstbewertungszeitverlauf über alle Versuchsteilnehmer. Aus der Abbildung wird deutlich, dass Akquisition, Extinktion und Reakquisition erfolgreich verliefen.

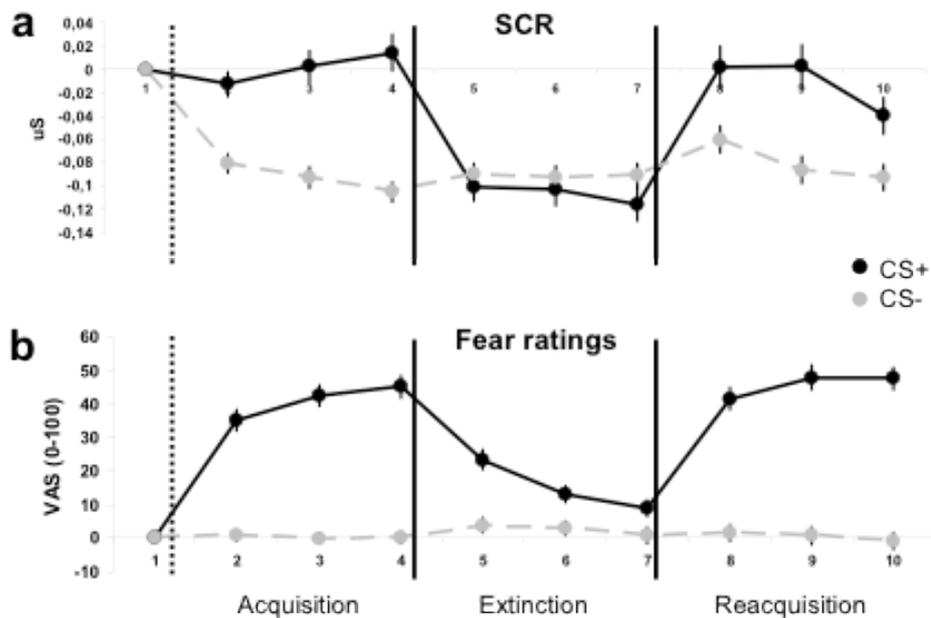
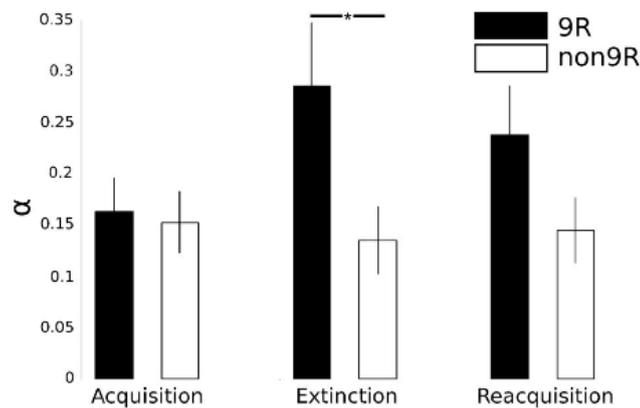


Abbildung 15: Verlauf der SCR- sowie Angstbewertungsdaten über alle Versuchsteilnehmer in Akquisition, Extinktion und Reakquisition

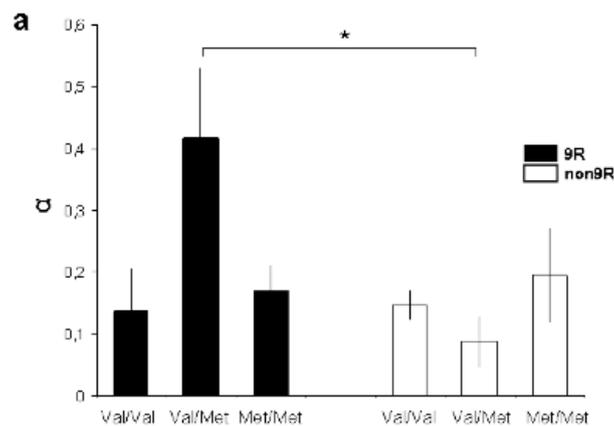
Ein Versuch die SCR-Daten zu modellieren, scheiterte aufgrund des starken Rauschens in den Daten.

Nach Modellierung der Angstbewertungen wurden drei separate ANOVAs (eine für jede der drei experimentellen Phasen, jede mit Inter-Subjekt-Faktoren DAT1 und COMT sowie den Lernraten als abhängige Variable) berechnet. Die Analyse ergab signifikant höhere Lernraten in den DAT1 9R-Trägern im Vergleich zu den nicht9R-Trägern während der Extinktion ( $\alpha_{Ext}$ : DAT1 Haupteffekt  $F(1,65)=4.57$ ,  $p=0.037$ ) aber nicht während der Akquisition ( $\alpha_{Acq}$ :  $F(1,65)=0.13$ ,  $p=0.725$ ) oder Reakquisition ( $\alpha_{RAcq}$ :  $F(1,65)=3.27$ ,  $p=0.075$ ) (siehe Abbildung 16).



**Abbildung 16:** Lernraten in DAT1 9R und nicht9R Trägern während Akquisition, Extinktion und Reacquisition. Nur in der Extinktion unterscheiden sich DAT1 9R von DAT1 nicht9R Trägern in der Lernrate. Die Lernrate ist in den DAT1 9R Trägern wesentlich höher.

Die Lernraten waren nicht durch den COMT Genotyp beeinflusst (alle  $p > 0.267$ ). Anzumerken ist, dass es einen signifikanten DAT1\* COMT-Interaktionseffekt auf die Lernraten in der Requisitionsphase gab ( $\alpha_{RAq}$ :  $F(2,65)=4.48$ ,  $p=0.015$ ). Ein post hoc T-Test zeigte, dass DAT1 9R-Träger signifikant höhere Lernraten nur in der COMT Val/Met Gruppe im Vergleich zu DAT1 nicht 9R- Träger hatten (9R:  $0.42 \pm 0.36$  (Mittelwert  $\pm$  s.d. vs. nicht9R:  $0.09 \pm 0.13$ ;  $t(22)=2.55$ ,  $p=0.025$ , zweiseitig) (siehe Abbildung 17).



**Abbildung 17:** Lernraten in den DAT 9R- und nicht9R-Trägern während der Reacquisition den einzelnen COMT Genotypen zugeordnet. Der post-hoc T-test zeigte, dass sich die Lernraten der DAT 9R-Träger und DAT nicht9R-Trägern in dem COMT Val/Met Genotyp unterschieden.

Eine klassische Auswertung der SCR sowie der Angstbewertungen ohne mathematische Implementierung (d.h. ohne RW-Modell) ergab keine signifikanten Effekte für den Genotyp.

### 5.3.2 Bildgebung: Alle Versuchspersonen

In allen Versuchspersonen wurde eine exploratorische Analyse der Extinktionsdaten auf ein  $\delta_{av}$  Signal (bei unerwartetem Auslassen des UCS ist der aversive Vorhersagefehler durch einen phasischen Abfall von Aktivierung gekennzeichnet, siehe zum Vergleich Abbildung 18) durchgeführt. Die explorative Analyse ergab keine signifikanten Ergebnisse. Der vermeintliche appetitive Vorhersagefehler  $\delta_{app}$  ist mathematisch invers zu  $\delta_{av}$  und ist charakterisiert durch einen phasischen Anstieg bei unerwartetem Auslassen des UCS (siehe zur Verdeutlichung Abbildung 18).

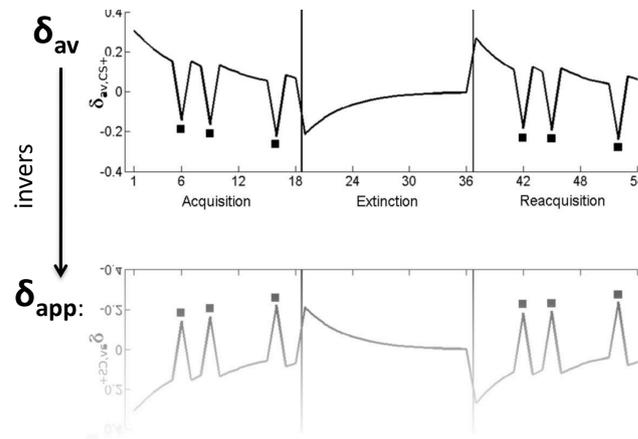
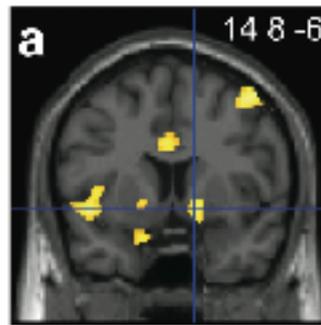


Abbildung 18: Schematische Beziehung zwischen  $\delta_{av}$  und  $\delta_{app}$

Neuronale Aktivität, die mit  $\delta_{app}$  korrelierte, wurde unter anderem in der linken und weniger in der rechten anterioren Insula, bilateral im anterioren lateralen PFC, dem rechten ventrolateralen PFC/dem lateralen OFC sowie dem rechten VS (ventrales Pallidum und/oder Nucleus Accumbens;  $x,y,z=14,8,-6$ ;  $z$ -Wert=3.22;  $p<0.001$  unkorrigiert; siehe Abbildung 19) gefunden.

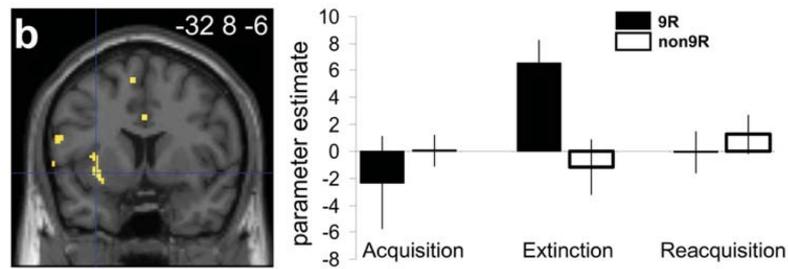


**Abbildung 19:** Neuronale Aktivität im ventralen Pallidum/Nucleus Accumbens korrelierte mit dem  $\delta_{app}$  in der Extinktion

Die VS Aktivierung war jedoch nicht in den konservativ definierten (links oder rechts) seitigen VS ROIs lokalisiert. Wie für den  $\delta_{av}$  konnten keine schwellenüberschreitenden neuronalen Signale für den  $V_{av}$  (aversiver CS Wert, welcher über die Extinktion abfällt, siehe Abbildung 18) beobachtet werden. In Kontrast dazu ging der vermeintlich belohnungsartige Sicherheitswert des CS, der  $V_{app}$  (mathematisch invers zu dem  $V_{av}$ , welcher in der Extinktion stetig ansteigt) mit Aktivität im linken orbitofrontalen Kortex (OFC)/ventrolateralen PFC (VLPFC), dorsomedialen und lateralem PFC, temporalen Kortex, linkem Caudatum, Cerebellum und anderen Regionen einher (siehe Anhang). Dieses Ergebnis würde dazu passen, dass Extinktion durch einen belohnungsartigen Lernprozess vermittelt wird. Ergebnisse für die Akquisitions- sowie Reakquisitionsphase können dem Anhang entnommen werden.

### 5.3.3 Bildgebung: Genetische Analyse

In der genetischen Analyse lag der Fokus auf dem Vergleich zwischen den DAT1 9R- und nicht9R-Trägern, da der COMT-Genotyp keinen Einfluss auf die Lernraten während der Extinktion in den Verhaltensdaten hatte. 9R-Träger hatten einen signifikant stärkeren Signalanstieg bei Auslassen des UCS  $\delta_{app}$  verglichen zu nicht9R-Trägern in der linken VS ROI ( $z$ -Wert=2.99,  $p=0.03$  korrigiert). Die Aktivierung konnte in einem pallidalen Areal lokalisiert werden, welches sich bis in die anteriore Insula erstreckte (Abbildung 20).



**Abbildung 20:** Stärkere Aktivierung bei Auslassen des UCS  $\delta_{app}$  bei 9R-Trägern in der Extinction in der linken VS-ROI.

Weitere Gruppenergebnisse zeigten Aktivität in dem linken ACC sowie anderen Regionen (siehe Anhang).

Der Gruppenvergleich der Enkodierung des CS-Wertes ( $V_{av}$  oder  $V_{app}$ ) zeigte in zwei frontalen Hirnarealen ein stärkeres  $V_{app}$  Signal bei den nicht9R-Trägern im Vergleich zu den 9R-Trägern (siehe Anhang).

## 5.4 Diskussion

Nach Modellierung der subjektiven Bewertungen konnte ein Unterschied des DAT1 Genotyps auf die Lernraten in der Extinktion beobachtet werden. So waren die Lernraten der DAT1 9R-Träger signifikant höher als im Vergleich zu den nicht 9R-Trägern. Dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass DAT1 9R-Träger ein sensitiveres Extinktionslernsystem haben und unterstützt die Idee, dass sich striatales DA auf Extinktionslernen auswirken könnte. In allen anderen Phasen konnte kein weiterer DAT1 oder COMT Genotypeffekt beobachtet werden. Lediglich in der Reakquisition konnte ein signifikanter DAT1\*COMT-Interaktionseffekt beobachtet werden, der jedoch nicht weiter diskutiert werden soll, da keine a-priori Hypothesen bezüglich Reakquisition und einer möglichen Interaktion zwischen beiden Genotypen vorliegt.

Zusammengefasst suggerieren die Verhaltensanalysen einen signifikanten Beitrag des DAT1-Genotyps auf die Extinktion. Es wurden keine Anzeichen für eine Beteiligung des COMT-Genotyps auf die Extinktion gefunden. Wie aber in der Einleitung beschrieben, zeigte Lonsdorf et al. (2009) einen Einfluss von COMT auf die Extinktion. Diese Ergebnisse konnten in dieser Studie nicht repliziert werden. Der von den Autoren gefundene COMT-Effekt auf den Schreckreflex in der Extinktion könnte zudem durch eine genetische Modulation der Konsolidierung und damit der Stärke des an Tag vorher gebildeten Furchtgedächtnisses, und nicht der Extinktion, erklärt werden.

Eine Analyse der bildgebenen Daten zeigte neuronale Aktivität, die mit dem  $\delta_{app}$  korrelierte in der Insula, im anterioren lateralen PFC, dem rechten ventrolateralen PFC, dem lateralen OFC sowie dem rechten VS. Diese Regionen wurden in früheren bildgebenen Studien mit dem  $\delta_{app}$  in Belohnung (O'Doherty, 2004) sowie mit phasischer Aktivierung bei der Auslassung des UCS während der Angstkonditionierung (Spoomaker et al., 2011) in Verbindung gebracht. Der belohnungsartige Sicherheitswert des CS, der  $V_{app}$ , ging in der Extinktion mit Aktivität im linken OFC/ VLPFC, dorsomedialen und lateralem PFC, temporalen Kortex, linkem Caudatum, Cerebellum und anderen Regionen einher.

Dieses Ergebnis würde dazu passen, dass Extinktion durch einen belohnungsartigen Lernprozess vermittelt wird.

Wenn DAT1 9R-Träger die Vorhersagefehler während der Extinktionsphase stärker

gewichten (im Sinne höherer Lernraten), sollte man annehmen, dass sie auch ein größeres neuronales  $\delta_{av}$  und/oder  $\delta_{app}$  Signal während dieser Phase haben. In der Tat konnte ein solches Ergebnis gefunden werden: 9R-Träger hatten einen signifikant stärkeren Signalanstieg bei Auslassen des UCS  $\delta_{app}$  verglichen zu nicht9R-Trägern im linken VS. Dieses Ergebnis unterstützt die Verhaltensanalyse, bei der DAT1 9R-Träger ein sensitiveres Extinktionslernsystem im Vergleich zu den DAT1 nicht9R-Trägern hatten und unterstützt die Annahme, dass das meso-striatale DA-System an Extinktionslernen beteiligt ist.

Zusammenfassend zeigte die Kombination der hier vorgestellten Verhaltens- sowie bildgebenen Daten, dass der Wegfall des UCS während der Extinktion durch die phasische Ausschüttung von DA im VS, in Analogie zur Beteiligung des meso-striatalen DA-Systems an Belohnungslernen (Schultz, 2006), vermittelt sein könnte. Dies würde eine Konzeptualisierung von Extinktion als belohnungsartigen Sicherheitslernprozess unterstützen (Holtzman-Assif et al., 2010).

Global gesehen könnte eine solche Idee in das Konzept der entgegengesetzten aversiven und appetitiven Systeme integriert werden (McNally, Pigg, & Weidemann, 2004).

Nichtsdestotrotz sollten einige Limitationen dieser Studien erwähnt werden.

- 1) Zunächst gibt es immer noch Kontroversen bezüglich des Einflusses des DAT1 Genotyps auf die in vivo DA-Funktion sowie die Wiederaufnahme von DA im Striatum durch den Transporter. Die Bestätigung der Hypothese eines stärkeren phasischen DA-Signals in 9R Trägern steht noch aus.
- 2) Eine weitere Einschränkung dieser Arbeit ist, dass es sich hier um einen korrelativen Ansatz handelt, d.h. das DA-Signal wurde nicht experimentell manipuliert.
- 3) Weiter ist anzumerken, dass die Beteiligung des meso-striatalen DA-System nicht zwingend beweist, dass Extinktion appetitiv ist, da das DA-erge System nicht ausschließlich bei Belohnungslernen involviert ist. An dieser Stelle wäre der direkte Beweis der appetitiven Natur extinguierter CS angebracht. Hier wäre ein interessanter Ansatz der direkte Vergleich zwischen Extinktion und einer Belohnungsaufgabe bei den selben Versuchsteilnehmern.
- 4) Es ist zu betonen, dass die hier vorliegenden Ergebnisse einen gleichzeitigen nicht-appetitiven, d.h. aversiven Lernmechanismus, bei der Extinktion nicht vollkommen

ausschließen.

- 5) Die Versuchsteilnehmer waren hauptsächlich Studenten sowie ausschließlich männlich. Männliches Geschlecht war Einschlusskriterium, da Effekte des Zyklus auf Extinktion berichtet worden sind (Milad et al., 2006). Diese Einschränkungen erfordern eine Replikation der Ergebnisse in anderen Stichproben.

Zusammengefasst heben die Ergebnisse der **Studie 2** den Neurotransmitter DA als einen potentiellen Kandidaten bei der Angstextinktion hervor. Dies eröffnet eine interessante Perspektive für die mögliche Verbesserung der Therapie, z.B. durch eine Kombination von Psychotherapie mit DA-ergen Medikamenten.

## 6 Ausblick

Die Entdeckung möglicher dispositionierender Gene bei Angstreagibilität sowie Angstextinktion hat erhebliche therapeutische Implikationen, da so zum Verständnis biologischer Entstehungsfaktoren der Erkrankung beigetragen wird und sich hieraus innovative und individuelle Therapieansätze ergeben könnten.

Die Ergebnisse aus **Studie 2** deuten darauf hin, dass Extinktion ein belohnungsartiger Sicherheitslernprozess, der durch den Neurotransmitter DA vermittelt wird, ist. Vorstellbar wäre hier ein individueller Therapieansatz: Dieser bestünde aus einer Kombination von Psychotherapie mit DA-ergen Medikamenten, welche die Extinktion verbessern würden. Ein weiterer vielversprechender Ansatz wäre auch die Erforschung möglicher Interaktionen des DA-ergen Systems mit dem endogenen Opioidsystem, da Tierstudien darauf hinweisen, dass dieses bei der Generierung von Vorhersagefehlern bei der Extinktion beteiligt ist (McNally et al., 2004; McNally & Westbrook, 2003).

Auch könnten individuelle, d.h. auf eine bestimmte Person zugeschnittene, Therapien entwickelt werden, wenn der Genotyp eines Patienten zu Beginn der Therapie bekannt wäre: Die Ergebnisse aus **Studie 1** deuten darauf hin, dass NPSR1 T-Allel Träger eher dazu tendieren, bedrohliche Situationen zu überschätzen. So wäre es durchaus denkbar, dass in Zukunft nach der Diagnosestellung einer Angsterkrankung die komplexe medizinische Anamnese um eine genetische Diagnostik ergänzt würde, um aus den Befunden eine individuelle Therapie abzuleiten. Diese individuelle Therapie würde aus pharmakologischen wie auch psychotherapeutischen Interventionen bestehen.

## 7 Literaturangaben

- Ackenheil, M., Stotz, G., Dietz-Bauer, R., & Vossen, A. (1999). *Deutsche Fassung des Mini-International Neuropsychiatric Interview*. München: Psychiatrische Universitätsklinik München.
- Alonso, J., Angermeyer, M. C., Bernert, S., Bruffaerts, R., Brugha, T. S., Bryson, H., . . . Vollebergh, W. A. (2004). Prevalence of mental disorders in Europe: results from the European Study of the Epidemiology of Mental Disorders (ESEMeD) project. *Acta Psychiatr Scand Suppl*(420), 21-27. doi: 10.1111/j.1600-0047.2004.00327.x
- Alonso, J., & Lepine, J. P. (2007). Overview of key data from the European Study of the Epidemiology of Mental Disorders (ESEMeD). *J Clin Psychiatry*, 68 Suppl 2, 3-9.
- Amir, A., Amano, T., & Pare, D. (2011). Physiological identification and infralimbic responsiveness of rat intercalated amygdala neurons. *J Neurophysiol*, 105(6), 3054-3066. doi: jn.00136.2011
- Applegate, C. D., Frysinger, R. C., Kapp, B. S., & Gallagher, M. (1982). Multiple unit activity recorded from amygdala central nucleus during Pavlovian heart rate conditioning in rabbit. *Brain Res*, 238(2), 457-462. doi: 0006-8993(82)90123-8
- Arnold, P. D., Zai, G., & Richter, M. A. (2004). Genetics of anxiety disorders. *Curr Psychiatry Rep*, 6(4), 243-254.
- Asami, T., Hayano, F., Nakamura, M., Yamasue, H., Uehara, K., Otsuka, T., . . . Hirayasu, Y. (2008). Anterior cingulate cortex volume reduction in patients with panic disorder. *Psychiatry Clin Neurosci*, 62(3), 322-330. doi:10.1111/j.1440-1819.2008.01800.x
- Axelrod, J., & Tomchick, R. (1958). Enzymatic O-methylation of epinephrine and other catechols. *J Biol Chem*, 233(3), 702-705.
- Baeyens, F., Vansteenwegen, D., Hermans, D., Vervliet, B., & Eelen, P. (2001). Sequential and simultaneous feature positive discriminations: occasion setting and configural learning in human Pavlovian conditioning. *J Exp Psychol Anim Behav Process*, 27(3), 279-295.
- Baldwin, D. S., & Polkinghorn, C. (2005). Evidence-based pharmacotherapy of Generalized Anxiety Disorder. *Int J Neuropsychopharmacol*, 8(2), 293-302. doi: S1461145704004870

- Bandelow, B. (2002). [Behavior therapy and antidepressive drugs. What helps with anxiety?]. *MMW Fortschr Med, Suppl 2*, 60-62, 64-65.
- Beaulieu, J. M., & Gainetdinov, R. R. (2011). The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacol Rev*, 63(1), 182-217. doi: 10.1124/pr.110.002642
- Beck, A., Emery, G., & Greenberg, R. (1985). *Anxiety disorders and phobias*. New York: Basic Books.
- Bellgowan, P. S., & Helmstetter, F. J. (1996). Neural systems for the expression of hypoalgesia during nonassociative fear. *Behav Neurosci*, 110(4), 727-736.
- Boshuisen, M. L., Ter Horst, G. J., Paans, A. M., Reinders, A. A., & den Boer, J. A. (2002). rCBF differences between panic disorder patients and control subjects during anticipatory anxiety and rest. *Biol Psychiatry*, 52(2), 126-135. doi: S0006322302013550
- Bouton, M. E. (2002). Context, ambiguity, and unlearning: sources of relapse after behavioral extinction. *Biol Psychiatry*, 52(10), 976-986. doi: S0006322302015469
- Bouton, M. E., Mineka, S., & Barlow, D. H. (2001). A modern learning theory perspective on the etiology of panic disorder. *Psychol Rev*, 108(1), 4-32.
- Bruder, G. E., Keilp, J. G., Xu, H., Shikhman, M., Schori, E., Gorman, J. M., & Gilliam, T. C. (2005). Catechol-O-methyltransferase (COMT) genotypes and working memory: associations with differing cognitive operations. *Biol Psychiatry*, 58(11), 901-907. doi: S0006-3223(05)00586-X
- Buchel, C., Morris, J., Dolan, R. J., & Friston, K. J. (1998). Brain systems mediating aversive conditioning: an event-related fMRI study. *Neuron*, 20(5), 947-957. doi: S0896-6273(00)80476-6
- Burgos-Robles, A., Vidal-Gonzalez, I., & Quirk, G. J. (2009). Sustained conditioned responses in prelimbic prefrontal neurons are correlated with fear expression and extinction failure. *J Neurosci*, 29(26), 8474-8482. doi: 29/26/8474
- Buselmaier. (1991). *Humangenetik. Begleittext zum Gegenstandskatalog*. Berlin Heidelberg New York: Springer Verlag
- Butter, C. M., Mishkin, M., & Rosvold, H. E. (1963). Conditioning and extinction of a food-rewarded response after selective ablations of frontal cortex in rhesus monkeys. *Exp Neurol*, 7, 65-75.
- Camarda, V., Rizzi, A., Ruzza, C., Zucchini, S., Marzola, G., Marzola, E., . . . Calo, G. (2009). In vitro and in vivo pharmacological characterization of the neuropeptide S receptor antagonist [D-Cys(tBu)<sup>5</sup>]neuropeptide S. *J Pharmacol Exp Ther*, 328(2), 549-555. doi: jpet.108.143867

- Carlsson, A., & Waldeck, B. (1958). A fluorimetric method for the determination of dopamine (3-hydroxytyramine). *Acta Physiol Scand*, *44*(3-4), 293-298.
- Cassell, M. D., & Wright, D. J. (1986). Topography of projections from the medial prefrontal cortex to the amygdala in the rat. *Brain Res Bull*, *17*(3), 321-333. doi: 0361-9230(86)90237-6
- Chang, C. H., & Maren, S. (2011). Medial prefrontal cortex activation facilitates re-extinction of fear in rats. *Learn Mem*, *18*(4), 221-225. doi: 10.1101/lm.2070111
- Chen, J., Lipska, B. K., Halim, N., Ma, Q. D., Matsumoto, M., Melhem, S., . . . Weinberger, D. R. (2004). Functional analysis of genetic variation in catechol-O-methyltransferase (COMT): effects on mRNA, protein, and enzyme activity in postmortem human brain. *Am J Hum Genet*, *75*(5), 807-821. doi: 10.1086/425589
- Clark, D. A., & Beck, A. T. (2011). *Cognitive Therapy of Anxiety Disorders: Science and Practice*.: Guilford Publications.
- Clark, D. M. (1986). A cognitive approach to panic. *Behav Res Ther*, *24*(4), 461-470. doi: 0005-7967(86)90011-2
- Collins, D. R., & Pare, D. (2000). Differential fear conditioning induces reciprocal changes in the sensory responses of lateral amygdala neurons to the CS(+) and CS(-). *Learn Mem*, *7*(2), 97-103.
- Collins, F. S., Brooks, L. D., & Chakravarti, A. (1998). A DNA polymorphism discovery resource for research on human genetic variation. *Genome Res*, *8*(12), 1229-1231.
- Corcoran, K. A., & Quirk, G. J. (2007). Activity in prelimbic cortex is necessary for the expression of learned, but not innate, fears. *J Neurosci*, *27*(4), 840-844. doi: 27/4/840
- Cragg, S. J., & Rice, M. E. (2004). DANCING past the DAT at a DA synapse. *Trends Neurosci*, *27*(5), 270-277. doi: 10.1016/j.tins.2004.03.011
- Craske, M. G. (1999). *Anxiety disorders: psychological approaches to theory and treatment*: Westview Press.
- Craske, M. G., Roy-Byrne, P., Stein, M. B., Donald-Sherbourne, C., Bystritsky, A., Katon, W., & Sullivan, G. (2002). Treating panic disorder in primary care: a collaborative care intervention. *Gen Hosp Psychiatry*, *24*(3), 148-155. doi: S0163834302001743
- Crisan, L. G., Pana, S., Vulturar, R., Heilman, R. M., Szekely, R., Druga, B., . . . Miu, A. C. (2009). Genetic contributions of the serotonin transporter to social learning of fear and economic decision making. *Soc Cogn Affect Neurosci*, *4*(4), 399-408. doi: 10.1093/scan/nsp019

- Critchley, H. D., Mathias, C. J., & Dolan, R. J. (2002). Fear conditioning in humans: the influence of awareness and autonomic arousal on functional neuroanatomy. *Neuron*, *33*(4), 653-663. doi: S0896627302005883
- Crowe, R. R., Goedken, R., Samuelson, S., Wilson, R., Nelson, J., & Noyes, R., Jr. (2001). Genomewide survey of panic disorder. *Am J Med Genet*, *105*(1), 105-109. doi: 10.1002/1096-8628(20010108)105:1<105::AID-AJMG
- Davis, M. (1990). Pharmacological and anatomical analysis of fear conditioning. *NIDA Res Monogr*, *97*, 126-162.
- Davis, M., & Shi, C. (2000). The amygdala. *Curr Biol*, *10*(4), R131. doi: S0960-9822(00)00345-6
- Davis, M., & Whalen, P. J. (2001). The amygdala: vigilance and emotion. *Mol Psychiatry*, *6*(1), 13-34.
- Deckert, J., Nothen, M. M., Franke, P., Delmo, C., Fritze, J., Knapp, M., . . . Propping, P. (1998). Systematic mutation screening and association study of the A1 and A2a adenosine receptor genes in panic disorder suggest a contribution of the A2a gene to the development of disease. *Mol Psychiatry*, *3*(1), 81-85.
- Diaz-Asper, C. M., Goldberg, T. E., Kolachana, B. S., Straub, R. E., Egan, M. F., & Weinberger, D. R. (2008). Genetic variation in catechol-O-methyltransferase: effects on working memory in schizophrenic patients, their siblings, and healthy controls. *Biol Psychiatry*, *63*(1), 72-79. doi: S0006-3223(07)00374-5
- Domschke, K., & Dannlowski, U. (2010). Imaging genetics of anxiety disorders. *Neuroimage*, *53*(3), 822-831. doi: S1053-8119(09)01227-0
- Domschke, K., Deckert, J., O'Donovan M, C., & Glatt, S. J. (2007). Meta-analysis of COMT val158met in panic disorder: ethnic heterogeneity and gender specificity. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, *144B*(5), 667-673. doi: 10.1002/ajmg.b.30494
- Domschke, K., Reif, A., Weber, H., Richter, J., Hohoff, C., Ohrmann, P., . . . Deckert, J. (2011). Neuropeptide S receptor gene -- converging evidence for a role in panic disorder. *Mol Psychiatry*, *16*(9), 938-948. doi: 10.1038/mp.2010.81
- Donner, J., Haapakoski, R., Ezer, S., Melen, E., Pirkola, S., Gratacos, M., . . . Hovatta, I. (2010). Assessment of the neuropeptide S system in anxiety disorders. *Biol Psychiatry*, *68*(5), 474-483. doi: S0006-3223(10)00593-7
- Dreher, J. C., Kohn, P., Kolachana, B., Weinberger, D. R., & Berman, K. F. (2009). Variation in dopamine genes influences responsivity of the human reward system. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *106*(2), 617-622. doi: 0805517106

- Duangdao, D. M., Clark, S. D., Okamura, N., & Reinscheid, R. K. (2009). Behavioral phenotyping of neuropeptide S receptor knockout mice. *Behav Brain Res*, *205*(1), 1-9. doi: S0166-4328(09)00446-X
- Durant, C., Christmas, D., & Nutt, D. (2010). The pharmacology of anxiety. *Curr Top Behav Neurosci*, *2*, 303-330.
- Durham, R. C., Chambers, J. A., Power, K. G., Sharp, D. M., Macdonald, R. R., Major, K. A., . . . Gumley, A. I. (2005). Long-term outcome of cognitive behaviour therapy clinical trials in central Scotland. *Health Technol Assess*, *9*(42), 1-174. doi: 96-39-18
- Duvernoy, H. (1999). *The Human Brain: Surface, blood supply, and three-dimensional sectional anatomy*. Wien: Springer.
- Egan, M. F., Goldberg, T. E., Kolachana, B. S., Callicott, J. H., Mazzanti, C. M., Straub, R. E., . . . Weinberger, D. R. (2001). Effect of COMT Val108/158 Met genotype on frontal lobe function and risk for schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *98*(12), 6917-6922. doi: 10.1073/pnas.111134598
- El-Ghundi, M., O'Dowd, B. F., & George, S. R. (2001). Prolonged fear responses in mice lacking dopamine D1 receptor. *Brain Res*, *892*(1), 86-93. doi: S0006-8993(00)03234-0
- Esteves, F., Parra, C., Dimberg, U., & Ohman, A. (1994). Nonconscious associative learning: Pavlovian conditioning of skin conductance responses to masked fear-relevant facial stimuli. *Psychophysiology*, *31*(4), 375-385.
- Etkin, A., Egner, T., & Kalisch, R. (2011). Emotional processing in anterior cingulate and medial prefrontal cortex. *Trends Cogn Sci*, *15*(2), 85-93. doi: S1364-6613(10)00252-4
- Etkin, A., & Wager, T. D. (2007). Functional neuroimaging of anxiety: a meta-analysis of emotional processing in PTSD, social anxiety disorder, and specific phobia. *Am J Psychiatry*, *164*(10), 1476-1488. doi: 164/10/1476
- Flint, J., & Munafò, M. R. (2007). The endophenotype concept in psychiatric genetics. *Psychol Med*, *37*(2), 163-180. doi: S0033291706008750
- Fontanez-Nuin, D. E., Santini, E., Quirk, G. J., & Porter, J. T. (2011). Memory for fear extinction requires mGluR5-mediated activation of infralimbic neurons. *Cereb Cortex*, *21*(3), 727-735. doi: bhq147
- Forbes, E. E., Brown, S. M., Kimak, M., Ferrell, R. E., Manuck, S. B., & Hariri, A. R. (2009). Genetic variation in components of dopamine neurotransmission impacts ventral striatal reactivity associated with impulsivity. *Mol Psychiatry*, *14*(1), 60-70. doi: 4002086

- Fredrikson, M., Wik, G., Fischer, H., & Andersson, J. (1995). Affective and attentive neural networks in humans: a PET study of Pavlovian conditioning. *Neuroreport*, 7(1), 97-101.
- Friston, K., Ashburner, J., Kiebel, S., Nichols, T., & Penny, W. (2006). *Statistical Parametric Mapping: The Analysis of Functional Brain Images*.: Academic Press.
- Fuke, S., Suo, S., Takahashi, N., Koike, H., Sasagawa, N., & Ishiura, S. (2001). The VNTR polymorphism of the human dopamine transporter (DAT1) gene affects gene expression. *Pharmacogenomics J*, 1(2), 152-156.
- Fyer, A. J., Hamilton, S. P., Durner, M., Haghghi, F., Heiman, G. A., Costa, R., . . . Knowles, J. A. (2006). A third-pass genome scan in panic disorder: evidence for multiple susceptibility loci. *Biol Psychiatry*, 60(4), 388-401. doi: S0006-3223(06)00529-4
- Garpenstrand, H., Annas, P., Ekblom, J., Orelund, L., & Fredrikson, M. (2001). Human fear conditioning is related to dopaminergic and serotonergic biological markers. *Behav Neurosci*, 115(2), 358-364.
- Gelernter, J., Bonvicini, K., Page, G., Woods, S. W., Goddard, A. W., Kruger, S., . . . Goodson, S. (2001). Linkage genome scan for loci predisposing to panic disorder or agoraphobia. *Am J Med Genet*, 105(6), 548-557. doi: 10.1002/ajmg.1496
- Gentil, A. F., Eskandar, E. N., Marci, C. D., Evans, K. C., & Dougherty, D. D. (2009). Physiological responses to brain stimulation during limbic surgery: further evidence of anterior cingulate modulation of autonomic arousal. *Biol Psychiatry*, 66(7), 695-701. doi: S0006-3223(09)00598-8
- Giros, B., el Mestikawy, S., Godinot, N., Zheng, K., Han, H., Yang-Feng, T., & Caron, M. G. (1992). Cloning, pharmacological characterization, and chromosome assignment of the human dopamine transporter. *Mol Pharmacol*, 42(3), 383-390.
- Goldman-Rakic, P. S. (1998). The cortical dopamine system: role in memory and cognition. *Adv Pharmacol*, 42, 707-711.
- Goldman-Rakic, P. S. (1999). The physiological approach: functional architecture of working memory and disordered cognition in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 46(5), 650-661. doi: S0006-3223(99)00130-4
- Gottesman, II, & Gould, T. D. (2003). The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *Am J Psychiatry*, 160(4), 636-645.
- Gottfried, J. A., & Dolan, R. J. (2004). Human orbitofrontal cortex mediates extinction learning while accessing conditioned representations of value. *Nat Neurosci*, 7(10), 1144-1152. doi: 10.1038/nn1314

- Grillon, C., Lissek, S., McDowell, D., Levenson, J., & Pine, D. S. (2007). Reduction of trace but not delay eyeblink conditioning in panic disorder. *Am J Psychiatry*, *164*(2), 283-289. doi: 164/2/283
- Gross, J. J. (2002). Emotion regulation: affective, cognitive, and social consequences. *Psychophysiology*, *39*(3), 281-291. doi: 10.1017.S0048577201393198
- Grossman, M. H., Emanuel, B. S., & Budarf, M. L. (1992). Chromosomal mapping of the human catechol-O-methyltransferase gene to 22q11.1---q11.2. *Genomics*, *12*(4), 822-825. doi: 0888-7543(92)90316-K
- Gustavsson, A., Svensson, M., Jacobi, F., Allgulander, C., Alonso, J., Beghi, E., . . . Olesen, J. (2011). Cost of disorders of the brain in Europe 2010. *Eur Neuropsychopharmacol*, *21*(10), 718-779. doi: S0924-977X(11)00215-X
- Hajcak, G., Castille, C., Olvet, D. M., Dunning, J. P., Roohi, J., & Hatchwell, E. (2009). Genetic variation in brain-derived neurotrophic factor and human fear conditioning. *Genes Brain Behav*, *8*(1), 80-85. doi: GBB447
- Hamilton, S. P., Fyer, A. J., Durner, M., Heiman, G. A., Baisre de Leon, A., Hodge, S. E., . . . Weissman, M. M. (2003). Further genetic evidence for a panic disorder syndrome mapping to chromosome 13q. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *100*(5), 2550-2555. doi: 10.1073/pnas.0335669100
- Hamilton, S. P., Slager, S. L., Heiman, G. A., Deng, Z., Haghghi, F., Klein, D. F., . . . Knowles, J. A. (2002). Evidence for a susceptibility locus for panic disorder near the catechol-O-methyltransferase gene on chromosome 22. *Biol Psychiatry*, *51*(7), 591-601. doi: S0006322301013221
- Hariri, A. R., Mattay, V. S., Tessitore, A., Fera, F., & Weinberger, D. R. (2003). Neocortical modulation of the amygdala response to fearful stimuli. *Biol Psychiatry*, *53*(6), 494-501. doi: S0006322302017869
- Hattori, E., Ebihara, M., Yamada, K., Ohba, H., Shibuya, H., & Yoshikawa, T. (2001). Identification of a compound short tandem repeat stretch in the 5'-upstream region of the cholecystokinin gene, and its association with panic disorder but not with schizophrenia. *Mol Psychiatry*, *6*(4), 465-470. doi: 10.1038/sj.mp.4000875
- Hautzinger, M., & Bailer, M. (1993). Allgemeine Depressions Skala - ADS. Weinheim: Beltz.
- Hautzinger, M., & Baller, M. (1993). *Allgemeine Depressions Skala. Manual*. Göttingen: Beltz Test GmbH.
- Heinz, A., Goldman, D., Jones, D. W., Palmour, R., Hommer, D., Gorey, J. G., . . . Weinberger, D. R. (2000). Genotype influences in vivo dopamine transporter availability in human striatum. *Neuropsychopharmacology*, *22*(2), 133-139. doi: S0893-133X(99)00099-8

- Heldt, S. A., Stanek, L., Chhatwal, J. P., & Ressler, K. J. (2007). Hippocampus-specific deletion of BDNF in adult mice impairs spatial memory and extinction of aversive memories. *Mol Psychiatry*, *12*(7), 656-670. doi: 4001957
- Herry, C., Ciocchi, S., Senn, V., Demmou, L., Muller, C., & Luthi, A. (2008). Switching on and off fear by distinct neuronal circuits. *Nature*, *454*(7204), 600-606. doi: nature07166
- Herry, C., Vouimba, R. M., & Garcia, R. (1999). Plasticity in the mediodorsal thalamo-prefrontal cortical transmission in behaving mice. *J Neurophysiol*, *82*(5), 2827-2832.
- Hettema, J. M., Neale, M. C., & Kendler, K. S. (2001). A review and meta-analysis of the genetic epidemiology of anxiety disorders. *Am J Psychiatry*, *158*(10), 1568-1578.
- Hill, M., Anney, R. J., Gill, M., & Hawi, Z. (2010). Functional analysis of intron 8 and 3' UTR variable number of tandem repeats of SLC6A3: differential activity of intron 8 variants. *Pharmacogenomics J*, *10*(5), 442-447. doi: tpj200966
- Hitchcock, J., & Davis, M. (1986). Lesions of the amygdala, but not of the cerebellum or red nucleus, block conditioned fear as measured with the potentiated startle paradigm. *Behav Neurosci*, *100*(1), 11-22.
- Hobin, J. A., Goosens, K. A., & Maren, S. (2003). Context-dependent neuronal activity in the lateral amygdala represents fear memories after extinction. *J Neurosci*, *23*(23), 8410-8416. doi: 23/23/8410
- Holtzman-Assif, O., Laurent, V., & Westbrook, R. F. (2010). Blockade of dopamine activity in the nucleus accumbens impairs learning extinction of conditioned fear. *Learn Mem*, *17*(2), 71-75. doi: 17/2/71
- Hong, J., Shu-Leong, H., Tao, X., & Lap-Ping, Y. (1998). Distribution of catechol-O-methyltransferase expression in human central nervous system. *Neuroreport*, *9*(12), 2861-2864.
- Hosing, V. G., Schirmacher, A., Kuhlenbaumer, G., Freitag, C., Sand, P., Schlesiger, C., . . . Deckert, J. (2004). Cholecystokinin- and cholecystokinin-B-receptor gene polymorphisms in panic disorder. *J Neural Transm Suppl*(68), 147-156.
- Hugdahl, K., Berardi, A., Thompson, W. L., Kosslyn, S. M., Macy, R., Baker, D. P., . . . LeDoux, J. E. (1995). Brain mechanisms in human classical conditioning: a PET blood flow study. *Neuroreport*, *6*(13), 1723-1728.
- Inada, Y., Yoneda, H., Koh, J., Sakai, J., Himei, A., Kinoshita, Y., . . . Sakai, T. (2003). Positive association between panic disorder and polymorphism of the serotonin 2A receptor gene. *Psychiatry Res*, *118*(1), 25-31. doi: S0165178103000647

- Ingram, S. L., Prasad, B. M., & Amara, S. G. (2002). Dopamine transporter-mediated conductances increase excitability of midbrain dopamine neurons. *Nat Neurosci*, *5*(10), 971-978. doi: 10.1038/nn920
- Jaber, M., Robinson, S. W., Missale, C., & Caron, M. G. (1996). Dopamine receptors and brain function. *Neuropharmacology*, *35*(11), 1503-1519. doi: S0028390896001001
- Jacobsen, L. K., Staley, J. K., Zoghbi, S. S., Seibyl, J. P., Kosten, T. R., Innis, R. B., & Gelernter, J. (2000). Prediction of dopamine transporter binding availability by genotype: a preliminary report. *Am J Psychiatry*, *157*(10), 1700-1703.
- Jones, I., L Kent, & Craddock, N. (2002). *Genetics of affective disorders*. Oxford: Oxford University Press.
- Jungling, K., Seidenbecher, T., Sosulina, L., Lesting, J., Sangha, S., Clark, S. D., . . . Pape, H. C. (2008). Neuropeptide S-mediated control of fear expression and extinction: role of intercalated GABAergic neurons in the amygdala. *Neuron*, *59*(2), 298-310. doi: 10.1016/j.neuron.2008.07.002
- Kalisch, R., Wiech, K., Critchley, H. D., & Dolan, R. J. (2006). Levels of appraisal: a medial prefrontal role in high-level appraisal of emotional material. *Neuroimage*, *30*(4), 1458-1466. doi: 10.1016/j.neuroimage.2005.11.011
- Kalisch, R., Wiech, K., Critchley, H. D., Seymour, B., O'Doherty, J. P., Oakley, D. A., . . . Dolan, R. J. (2005). Anxiety reduction through detachment: subjective, physiological, and neural effects. *J Cogn Neurosci*, *17*(6), 874-883. doi: 10.1162/0898929054021184
- Kapp, B. S., Frysinger, R. C., Gallagher, M., & Haselton, J. R. (1979). Amygdala central nucleus lesions: effect on heart rate conditioning in the rabbit. *Physiol Behav*, *23*(6), 1109-1117.
- Kendler, K. S., Karkowski, L. M., & Prescott, C. A. (1999). Fears and phobias: reliability and heritability. *Psychol Med*, *29*(3), 539-553.
- Kennedy, J. L., Bradwejn, J., Koszycki, D., King, N., Crowe, R., Vincent, J., & Fourie, O. (1999). Investigation of cholecystokinin system genes in panic disorder. *Mol Psychiatry*, *4*(3), 284-285.
- Kessler, R. C., Ormel, J., Petukhova, M., McLaughlin, K. A., Green, J. G., Russo, L. J., . . . Ustun, T. B. (2011). Development of lifetime comorbidity in the World Health Organization world mental health surveys. *Arch Gen Psychiatry*, *68*(1), 90-100. doi: 10.1001/archgenpsychiatry.2010.180
- Kim, J. J., & Jung, M. W. (2006). Neural circuits and mechanisms involved in Pavlovian fear conditioning: a critical review. *Neurosci Biobehav Rev*, *30*(2), 188-202. doi: 10.1016/j.neubiorev.2005.06.005

- Klein, D. F. (1964). Delineation of Two Drug-Responsive Anxiety Syndromes. *Psychopharmacologia*, 5, 397-408.
- Klucken, T., Kagerer, S., Schweckendiek, J., Tabbert, K., Vaitl, D., & Stark, R. (2009). Neural, electrodermal and behavioral response patterns in contingency aware and unaware subjects during a picture-picture conditioning paradigm. *Neuroscience*, 158(2), 721-731. doi: 10.1016/j.neuroscience.2008.09.049
- Klucken, T., Tabbert, K., Schweckendiek, J., Merz, C. J., Kagerer, S., Vaitl, D., & Stark, R. (2009). Contingency learning in human fear conditioning involves the ventral striatum. *Hum Brain Mapp*, 30(11), 3636-3644. doi: 10.1002/hbm.20791
- Knapaska, E., & Maren, S. (2009). Reciprocal patterns of c-Fos expression in the medial prefrontal cortex and amygdala after extinction and renewal of conditioned fear. *Learn Mem*, 16(8), 486-493. doi: 10.1101/lm.1463909
- Knight, D. C., Nguyen, H. T., & Bandettini, P. A. (2005). The role of the human amygdala in the production of conditioned fear responses. *Neuroimage*, 26(4), 1193-1200. doi: 10.1016/j.neuroimage.2005.03.020
- Knowles, J. A., Fyer, A. J., Vieland, V. J., Weissman, M. M., Hodge, S. E., Heiman, G. A., . . . Gilliam, T. C. (1998). Results of a genome-wide genetic screen for panic disorder. *Am J Med Genet*, 81(2), 139-147. doi: 10.1002
- Kolassa, I. T., Kolassa, S., Ertl, V., Papassotiropoulos, A., & De Quervain, D. J. (2010). The risk of posttraumatic stress disorder after trauma depends on traumatic load and the catechol-o-methyltransferase Val(158)Met polymorphism. *Biol Psychiatry*, 67(4), 304-308. doi: 10.1016/j.biopsych.2009.10.009
- Krettek, J. E., & Price, J. L. (1978). A description of the amygdaloid complex in the rat and cat with observations on intra-amygdaloid axonal connections. *J Comp Neurol*, 178(2), 255-280. doi: 10.1002/cne.901780205
- Krohne, H. W., Egloff, B., Kohlmann, C.-W., & Tausch, A. (1996). Untersuchungen mit einer deutschen Version der "Positive and Negative Affect Schedule" (PANAS). *Diagnostica*, 42, 139-156.
- Krohne, H. W., Egloff, B., Kohlmann, C.-W., & Tausch, A. (1996). Untersuchungen mit einer deutschen Version der "Positive and Negative Affect Schedule" (PANAS). *Diagnostica*, 42(2), 17.
- LaBar, K. S., & Cabeza, R. (2006). Cognitive neuroscience of emotional memory. *Nat Rev Neurosci*, 7(1), 54-64. doi: 10.1038/nrn1825
- Laitinen, T., Polvi, A., Rydman, P., Vendelin, J., Pulkkinen, V., Salmikangas, P., . . . Kere, J. (2004). Characterization of a common susceptibility locus for asthma-related traits. *Science*, 304(5668), 300-304. doi: 10.1126/science.1090010

- Laurent, V., & Westbrook, R. F. (2009). Inactivation of the infralimbic but not the prelimbic cortex impairs consolidation and retrieval of fear extinction. *Learn Mem*, *16*(9), 520-529. doi: 10.1101/lm.1474609
- Laux, L., Glanzmann, P., Schaffner, P., & Spielberger, C. D. (1981). Das State-Trait-Angstinventar (Testmappe mit Handanweisung, Fragebogen STAI-G Form X 1 und Fragebogen STAI-G Form X 2). Weinheim: Beltz.
- Laux, L., Glanzmann, P., Schaffner, P., & Spielberger, C. D. (1981). *Das State-Trait-Angstinventar. Theoretische Grundlagen und Handanweisung*. Weinheim: Beltz Test GmbH.
- Lebron, K., Milad, M. R., & Quirk, G. J. (2004). Delayed recall of fear extinction in rats with lesions of ventral medial prefrontal cortex. *Learn Mem*, *11*(5), 544-548. doi: 10.1101/lm.78604
- LeDoux, J. E. (2000). Emotion circuits in the brain. *Annu Rev Neurosci*, *23*, 155-184. doi: 10.1146/annurev.neuro.23.1.155
- LeDoux, J. E., Iwata, J., Cicchetti, P., & Reis, D. J. (1988). Different projections of the central amygdaloid nucleus mediate autonomic and behavioral correlates of conditioned fear. *J Neurosci*, *8*(7), 2517-2529.
- LeDoux, J. E., Ruggiero, D. A., & Reis, D. J. (1985). Projections to the subcortical forebrain from anatomically defined regions of the medial geniculate body in the rat. *J Comp Neurol*, *242*(2), 182-213. doi: 10.1002/cne.902420204
- LeDoux, J. E., Sakaguchi, A., & Reis, D. J. (1984). Subcortical efferent projections of the medial geniculate nucleus mediate emotional responses conditioned to acoustic stimuli. *J Neurosci*, *4*(3), 683-698.
- Lee, K. H., & Siegle, G. J. (2009). Common and distinct brain networks underlying explicit emotional evaluation: a meta-analytic study. *Soc Cogn Affect Neurosci*. doi: 10.1093/scan/nsp001
- Lemos, J. I., Resstel, L. B., & Guimaraes, F. S. (2010). Involvement of the prelimbic prefrontal cortex on cannabidiol-induced attenuation of contextual conditioned fear in rats. *Behav Brain Res*, *207*(1), 105-111. doi: 10.1016/j.bbr.2009.09.045
- Leonard, S. K., Dwyer, J. M., Sukoff Rizzo, S. J., Platt, B., Logue, S. F., Neal, S. J., . . . Ring, R. H. (2008). Pharmacology of neuropeptide S in mice: therapeutic relevance to anxiety disorders. *Psychopharmacology (Berl)*, *197*(4), 601-611. doi: 10.1007/s00213-008-1080-4
- Lesch, K. P., Bengel, D., Heils, A., Sabol, S. Z., Greenberg, B. D., Petri, S., . . . Murphy, D. L. (1996). Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science*, *274*(5292), 1527-1531.

- Liang, Z., King, J., & Zhang, N. (2012). Anticorrelated resting-state functional connectivity in awake rat brain. *Neuroimage*, *59*(2), 1190-1199. doi: 10.1016/j.neuroimage.2011.08.009
- Likhtik, E., Pelletier, J. G., Paz, R., & Pare, D. (2005). Prefrontal control of the amygdala. *J Neurosci*, *25*(32), 7429-7437. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2314-05.2005
- Likhtik, E., Popa, D., Apergis-Schoute, J., Fidacaro, G. A., & Pare, D. (2008). Amygdala intercalated neurons are required for expression of fear extinction. *Nature*, *454*(7204), 642-645. doi: 10.1038/nature07167
- Lin, C. H., Yeh, S. H., Lu, H. Y., & Gean, P. W. (2003). The similarities and diversities of signal pathways leading to consolidation of conditioning and consolidation of extinction of fear memory. *J Neurosci*, *23*(23), 8310-8317. doi: 23/23/8310
- Lin, H. C., Mao, S. C., Su, C. L., & Gean, P. W. (2009). The role of prefrontal cortex CB1 receptors in the modulation of fear memory. *Cereb Cortex*, *19*(1), 165-175. doi: 10.1093/cercor/bhn075
- Lissek, S., Rabin, S., Heller, R. E., Lukenbaugh, D., Geraci, M., Pine, D. S., & Grillon, C. (2010). Overgeneralization of conditioned fear as a pathogenic marker of panic disorder. *Am J Psychiatry*, *167*(1), 47-55. doi:10.1176/appi.ajp.2009.09030410
- Logan, C. G., & Grafton, S. T. (1995). Functional anatomy of human eyeblink conditioning determined with regional cerebral glucose metabolism and positron-emission tomography. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *92*(16), 7500-7504.
- Logothetis, N. K. (2002). The neural basis of the blood-oxygen-level-dependent functional magnetic resonance imaging signal. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, *357*(1424), 1003-1037. doi: 10.1098/rstb.2002.1114
- Logothetis, N. K., Pauls, J., Augath, M., Trinath, T., & Oeltermann, A. (2001). Neurophysiological investigation of the basis of the fMRI signal. *Nature*, *412*(6843), 150-157. doi: 10.1038/35084005
- Lonsdorf, T. B., Ruck, C., Bergstrom, J., Andersson, G., Ohman, A., Lindfors, N., & Schalling, M. (2010). The COMTval158met polymorphism is associated with symptom relief during exposure-based cognitive-behavioral treatment in panic disorder. *BMC Psychiatry*, *10*, 99. doi: 10.1186/1471-244X-10-99
- Lonsdorf, T. B., Weike, A. I., Golkar, A., Schalling, M., Hamm, A. O., & Ohman, A. (2010). Amygdala-dependent fear conditioning in humans is modulated by the BDNFval66met polymorphism. *Behav Neurosci*, *124*(1), 9-15. doi: 10.1037/a0018261
- Lonsdorf, T. B., Weike, A. I., Nikamo, P., Schalling, M., Hamm, A. O., & Ohman, A. (2009). Genetic gating of human fear learning and extinction: possible implications

- for gene-environment interaction in anxiety disorder. *Psychol Sci*, 20(2), 198-206. doi: 10.1111/j.1467-9280.2009.02280.x
- Lotta, T., Vidgren, J., Tilgmann, C., Ulmanen, I., Melen, K., Julkunen, I., & Taskinen, J. (1995). Kinetics of human soluble and membrane-bound catechol O-methyltransferase: a revised mechanism and description of the thermolabile variant of the enzyme. *Biochemistry*, 34(13), 4202-4210.
- Lück, H. E., & Timaeus, E. (1969). SDS-E - SKALA ZUR ERFASSUNG SOZIALER WÜNSCHBARKEIT (SDS-E). *Diagnostica*(15), 11.
- Lundstrom, K., Salminen, M., Jalanko, A., Savolainen, R., & Ulmanen, I. (1991). Cloning and characterization of human placental catechol-O-methyltransferase cDNA. *DNA Cell Biol*, 10(3), 181-189.
- Malhotra, A. K., & Goldman, D. (1999). Benefits and pitfalls encountered in psychiatric genetic association studies. *Biol Psychiatry*, 45(5), 544-550. doi: S0006-3223(98)00365-5
- Malhotra, A. K., Kestler, L. J., Mazzanti, C., Bates, J. A., Goldberg, T., & Goldman, D. (2002). A functional polymorphism in the COMT gene and performance on a test of prefrontal cognition. *Am J Psychiatry*, 159(4), 652-654.
- Maren, S. (2005). Synaptic mechanisms of associative memory in the amygdala. *Neuron*, 47(6), 783-786. doi: 10.1016/j.neuron.2005.08.009
- Maren, S., & Quirk, G. J. (2004). Neuronal signalling of fear memory. *Nat Rev Neurosci*, 5(11), 844-852. 10.1038/nrn1535
- Maron, E., Lang, A., Tasa, G., Liivlaid, L., Toru, I., Must, A., . . . Shlik, J. (2005). Associations between serotonin-related gene polymorphisms and panic disorder. *Int J Neuropsychopharmacol*, 8(2), 261-266. doi: 10.1017/S1461145704004985
- Maron, E., Nikopensus, T., Koks, S., Altmae, S., Heinaste, E., Vabrit, K., . . . Shlik, J. (2005). Association study of 90 candidate gene polymorphisms in panic disorder. *Psychiatr Genet*, 15(1), 17-24. doi: 00041444-200503000-00004
- Marsicano, G., Wotjak, C. T., Azad, S. C., Bisogno, T., Rammes, G., Cascio, M. G., . . . Lutz, B. (2002). The endogenous cannabinoid system controls extinction of aversive memories. *Nature*, 418(6897), 530-534. doi: 10.1038/nature00839
- Matsumoto, M., Weickert, C. S., Beltaifa, S., Kolachana, B., Chen, J., Hyde, T. M., . . . Kleinman, J. E. (2003). Catechol O-methyltransferase (COMT) mRNA expression in the dorsolateral prefrontal cortex of patients with schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 28(8), 1521-1530. doi: 10.1038/sj.npp.1300218
- Mattay, V. S., Goldberg, T. E., Fera, F., Hariri, A. R., Tessitore, A., Egan, M. F., . . . Weinberger, D. R. (2003). Catechol O-methyltransferase val158-met genotype and

- individual variation in the brain response to amphetamine. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *100*(10), 6186-6191. doi: 10.1073/pnas.0931309100
- McClure, S. M., Berns, G. S., & Montague, P. R. (2003). Temporal prediction errors in a passive learning task activate human striatum. *Neuron*, *38*(2), 339-346. doi: S0896627303001545
- McDonald, A. J. (1998). Cortical pathways to the mammalian amygdala. *Prog Neurobiol*, *55*(3), 257-332. doi: S0301-0082(98)00003-3
- McDonald, A. J., Mascagni, F., & Guo, L. (1996). Projections of the medial and lateral prefrontal cortices to the amygdala: a Phaseolus vulgaris leucoagglutinin study in the rat. *Neuroscience*, *71*(1), 55-75. doi: 0306-4522(95)00417-3
- McGrath, M., Kawachi, I., Ascherio, A., Colditz, G. A., Hunter, D. J., & De Vivo, I. (2004). Association between catechol-O-methyltransferase and phobic anxiety. *Am J Psychiatry*, *161*(9), 1703-1705. doi: 10.1176/appi.ajp.161.9.1703
- McNally, G. P., Pigg, M., & Weidemann, G. (2004). Opioid receptors in the midbrain periaqueductal gray regulate extinction of pavlovian fear conditioning. *J Neurosci*, *24*(31), 6912-6919. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1828-04.2004
- McNally, G. P., & Westbrook, R. F. (2003). Opioid receptors regulate the extinction of Pavlovian fear conditioning. *Behav Neurosci*, *117*(6), 1292-1301. doi: 10.1037/0735-7044.117.6.1292
- Mechias, M. L., Etkin, A., & Kalisch, R. (2010). A meta-analysis of instructed fear studies: implications for conscious appraisal of threat. *Neuroimage*, *49*(2), 1760-1768. doi: 10.1016/j.neuroimage.2009.09.040
- Meis, S., Bergado-Acosta, J. R., Yanagawa, Y., Obata, K., Stork, O., & Munsch, T. (2008). Identification of a neuropeptide S responsive circuitry shaping amygdala activity via the endopiriform nucleus. *PLoS One*, *3*(7), e2695. doi: 10.1371/journal.pone.0002695
- Menon, M., Jensen, J., Vitcu, I., Graff-Guerrero, A., Crawley, A., Smith, M. A., & Kapur, S. (2007). Temporal difference modeling of the blood-oxygen level dependent response during aversive conditioning in humans: effects of dopaminergic modulation. *Biol Psychiatry*, *62*(7), 765-772. doi: 10.1016/j.biopsych.2006.10.020
- Michelhaugh, S. K., Fiskerstrand, C., Lovejoy, E., Bannon, M. J., & Quinn, J. P. (2001). The dopamine transporter gene (SLC6A3) variable number of tandem repeats domain enhances transcription in dopamine neurons. *J Neurochem*, *79*(5), 1033-1038.
- Milad, M. R., Goldstein, J. M., Orr, S. P., Wedig, M. M., Klibanski, A., Pitman, R. K., & Rauch, S. L. (2006). Fear conditioning and extinction: influence of sex and

- menstrual cycle in healthy humans. *Behav Neurosci*, 120(6), 1196-1203. doi: 10.1037/0735-7044.120.5.1196
- Milad, M. R., & Quirk, G. J. (2002). Neurons in medial prefrontal cortex signal memory for fear extinction. *Nature*, 420(6911), 70-74. doi: 10.1038/nature01138
- Milad, M. R., Quirk, G. J., Pitman, R. K., Orr, S. P., Fischl, B., & Rauch, S. L. (2007). A role for the human dorsal anterior cingulate cortex in fear expression. *Biol Psychiatry*, 62(10), 1191-1194. doi: 10.1016/j.biopsych.2007.04.032
- Mill, J., Asherson, P., Browes, C., D'Souza, U., & Craig, I. (2002). Expression of the dopamine transporter gene is regulated by the 3' UTR VNTR: Evidence from brain and lymphocytes using quantitative RT-PCR. *Am J Med Genet*, 114(8), 975-979. doi: 10.1002/ajmg.b.10948
- Mill, J., Asherson, P., Craig, I., & D'Souza, U. M. (2005). Transient expression analysis of allelic variants of a VNTR in the dopamine transporter gene (DAT1). *BMC Genet*, 6, 3. doi: 10.1186/1471-2156-6-3
- Miller, G. M., & Madras, B. K. (2002). Polymorphisms in the 3'-untranslated region of human and monkey dopamine transporter genes affect reporter gene expression. *Mol Psychiatry*, 7(1), 44-55. doi: 10.1038/sj/mp/4000921
- Miller, S. A., Dykes, D. D., & Polesky, H. F. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*, 16(3), 1215.
- Mineka, S., & Oehlberg, K. (2008). The relevance of recent developments in classical conditioning to understanding the etiology and maintenance of anxiety disorders. *Acta Psychol (Amst)*, 127(3), 567-580. doi: 10.1016/j.actpsy.2007.11.007
- Missale, C., Nash, S. R., Robinson, S. W., Jaber, M., & Caron, M. G. (1998). Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev*, 78(1), 189-225.
- Molchan, S. E., Sunderland, T., McIntosh, A. R., Herscovitch, P., & Schreurs, B. G. (1994). A functional anatomical study of associative learning in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 91(17), 8122-8126.
- Montague, P. R., Hyman, S. E., & Cohen, J. D. (2004). Computational roles for dopamine in behavioural control. *Nature*, 431(7010), 760-767. doi: 10.1038/nature03015
- Morgan, M. A., & LeDoux, J. E. (1995). Differential contribution of dorsal and ventral medial prefrontal cortex to the acquisition and extinction of conditioned fear in rats. *Behav Neurosci*, 109(4), 681-688.
- Morgan, M. A., Romanski, L. M., & LeDoux, J. E. (1993). Extinction of emotional learning: contribution of medial prefrontal cortex. *Neurosci Lett*, 163(1), 109-113. doi: 0304-3940(93)90241-C

- Morgan, M. A., Schulkin, J., & LeDoux, J. E. (2003). Ventral medial prefrontal cortex and emotional perseveration: the memory for prior extinction training. *Behav Brain Res, 146*(1-2), 121-130. doi: S0166432803003450
- Morris, J. S., Ohman, A., & Dolan, R. J. (1998). Conscious and unconscious emotional learning in the human amygdala. *Nature, 393*(6684), 467-470. doi: 10.1038/30976
- Morrow, B. A., Elsworth, J. D., Rasmusson, A. M., & Roth, R. H. (1999). The role of mesoprefrontal dopamine neurons in the acquisition and expression of conditioned fear in the rat. *Neuroscience, 92*(2), 553-564. doi: S0306-4522(99)00014-7
- Morschitzky, H. (2009). *Angststörungen. Diagnostik, Konzepte, Therapie, Selbsthilfe* (4 ed.). Wien Springer Verlag.
- Mueller, D., Bravo-Rivera, C., & Quirk, G. J. (2010). Infralimbic D2 receptors are necessary for fear extinction and extinction-related tone responses. *Biol Psychiatry, 68*(11), 1055-1060. doi: 10.1016/j.biopsych.2010.08.014
- Nirenberg, M. (2004). Historical review: Deciphering the genetic code--a personal account. *Trends Biochem Sci, 29*(1), 46-54. doi: S0968000403003025
- Norton, P. J., & Price, E. C. (2007). A meta-analytic review of adult cognitive-behavioral treatment outcome across the anxiety disorders. *J Nerv Ment Dis, 195*(6), 521-531. doi: 10.1097/01.nmd.0000253843.70149.9a
- Nöthen, M., Rietschel, M., Propping, P., & Maier, W. (2004). Psychiatrische Genetik: Fortschritte in der Ursachenforschung affektiver und schizophrener Störungen. *Dtsch Arztebl, 101*(49).
- O'Doherty, J. P. (2004). Reward representations and reward-related learning in the human brain: insights from neuroimaging. *Curr Opin Neurobiol, 14*(6), 769-776. doi: 10.1016/j.conb.2004.10.016
- O'Doherty, J. P., Dayan, P., Friston, K., Critchley, H., & Dolan, R. J. (2003). Temporal difference models and reward-related learning in the human brain. *Neuron, 38*(2), 329-337. doi: S0896627303001697
- Ogawa, S., Lee, T. M., Kay, A. R., & Tank, D. W. (1990). Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proc Natl Acad Sci U S A, 87*(24), 9868-9872.
- Ohman, A. (2005). The role of the amygdala in human fear: automatic detection of threat. *Psychoneuroendocrinology, 30*(10), 953-958. doi: 10.1016/j.psyneuen.2005.03.019
- Okamura, N., Habay, S. A., Zeng, J., Chamberlin, A. R., & Reinscheid, R. K. (2008). Synthesis and pharmacological in vitro and in vivo profile of 3-oxo-1,1-diphenyl-tetrahydro-oxazolo[3,4-a]pyrazine-7-carboxylic acid 4-fluoro-benzylamide (SHA

- 68), a selective antagonist of the neuropeptide S receptor. *J Pharmacol Exp Ther*, 325(3), 893-901. doi: 10.1124/jpet.107.135103
- Okamura, N., Hashimoto, K., Iyo, M., Shimizu, E., Dempfle, A., Friedel, S., & Reinscheid, R. K. (2007). Gender-specific association of a functional coding polymorphism in the Neuropeptide S receptor gene with panic disorder but not with schizophrenia or attention-deficit/hyperactivity disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 31(7), 1444-1448. doi: 10.1016/j.pnpbp.2007.06.026
- Olsson, A., & Phelps, E. A. (2004). Learned fear of "unseen" faces after Pavlovian, observational, and instructed fear. *Psychol Sci*, 15(12), 822-828. doi: 10.1111/j.0956-7976.2004.00762.x
- Orr, S. P., & Roth, W. T. (2000). Psychophysiological assessment: clinical applications for PTSD. *J Affect Disord*, 61(3), 225-240. doi: S0165032700003402
- Pape, H. C., Jungling, K., Seidenbecher, T., Lesting, J., & Reinscheid, R. K. (2010). Neuropeptide S: a transmitter system in the brain regulating fear and anxiety. *Neuropharmacology*, 58(1), 29-34. doi: 10.1016/j.neuropharm.2009.06.001
- Pessiglione, M., Seymour, B., Flandin, G., Dolan, R. J., & Frith, C. D. (2006). Dopamine-dependent prediction errors underpin reward-seeking behaviour in humans. *Nature*, 442(7106), 1042-1045. doi: 10.1038/nature05051
- Peters, J., Dieppa-Perea, L. M., Melendez, L. M., & Quirk, G. J. (2010). Induction of fear extinction with hippocampal-infralimbic BDNF. *Science*, 328(5983), 1288-1290. doi: 10.1126/science.1186909
- Petrovic, P., Kalisch, R., Pessiglione, M., Singer, T., & Dolan, R. J. (2008). Learning affective values for faces is expressed in amygdala and fusiform gyrus. *Soc Cogn Affect Neurosci*, 3(2), 109-118. doi:10.1093/scan/nsn002
- Piccini, P. P. (2003). Dopamine transporter: basic aspects and neuroimaging. *Mov Disord*, 18 Suppl 7, S3-8. doi: 10.1002/mds.10571
- Pitkanen, A., Savander, V., & LeDoux, J. E. (1997). Organization of intra-amygdaloid circuitries in the rat: an emerging framework for understanding functions of the amygdala. *Trends Neurosci*, 20(11), 517-523. doi: S0166223697011259
- Propping, P. (1989). *Psychiatrische Genetik*. Berlin.Heidelberg.New York. Tokyo: Springer.
- Quirk, G. J., & Gehlert, D. R. (2003). Inhibition of the amygdala: key to pathological states? *Ann NY Acad Sci*, 985, 263-272.
- Quirk, G. J., Reppas, C., & LeDoux, J. E. (1995). Fear conditioning enhances short-latency auditory responses of lateral amygdala neurons: parallel recordings in the freely behaving rat. *Neuron*, 15(5), 1029-1039. doi: 0896-6273(95)90092-6

- Quirk, G. J., Russo, G. K., Barron, J. L., & Lebron, K. (2000). The role of ventromedial prefrontal cortex in the recovery of extinguished fear. *J Neurosci*, *20*(16), 6225-6231. doi: 20/16/6225
- Raczka, K. A., Gartmann, N., Mechias, M. L., Reif, A., Buchel, C., Deckert, J., & Kalisch, R. (2010). A neuropeptide S receptor variant associated with overinterpretation of fear reactions: a potential neurogenetic basis for catastrophizing. *Mol Psychiatry*, *15*(11), 1045, 1067-1074. doi: 10.1038/mp.2010.79
- Raichle, M. E., Grubb, R. L., Jr., Gado, M. H., Eichling, J. O., & Ter-Pogossian, M. M. (1976). Correlation between regional cerebral blood flow and oxidative metabolism. In vivo studies in man. *Arch Neurol*, *33*(8), 523-526.
- Reinscheid, R. K., & Xu, Y. L. (2005). Neuropeptide S and its receptor: a newly deorphanized G protein-coupled receptor system. *Neuroscientist*, *11*(6), 532-538. doi: 10.1177/1073858405276405
- Reinscheid, R. K., Xu, Y. L., & Civelli, O. (2005). Neuropeptide S: a new player in the modulation of arousal and anxiety. *Mol Interv*, *5*(1), 42-46. doi: 10.1124/mi5.1.8
- Reinscheid, R. K., Xu, Y. L., Okamura, N., Zeng, J., Chung, S., Pai, R., . . . Civelli, O. (2005). Pharmacological characterization of human and murine neuropeptide s receptor variants. *J Pharmacol Exp Ther*, *315*(3), 1338-1345. doi: 10.1124/jpet.105.093427
- Reiss, S., & McNally, R. (1985). *The expectancy model of fear*. New York: Academic Press.
- Repa, J. C., Muller, J., Apergis, J., Desrochers, T. M., Zhou, Y., & LeDoux, J. E. (2001). Two different lateral amygdala cell populations contribute to the initiation and storage of memory. *Nat Neurosci*, *4*(7), 724-731. doi: 10.1038/89512
- Rescorla, R., & Wagner, A. (1972). *A theory of Pavlovian conditioning: Variations in the effectiveness of reinforcement and nonreinforcement*. New York, NY: Appleton-Century-Crofts.
- Rizzi, A., Vergura, R., Marzola, G., Ruzza, C., Guerrini, R., Salvadori, S., . . . Calo, G. (2008). Neuropeptide S is a stimulatory anxiolytic agent: a behavioural study in mice. *Br J Pharmacol*, *154*(2), 471-479. doi: 10.1038/bjp.2008.96
- Rodriguez-Romaguera, J., Sotres-Bayon, F., Mueller, D., & Quirk, G. J. (2009). Systemic propranolol acts centrally to reduce conditioned fear in rats without impairing extinction. *Biol Psychiatry*, *65*(10), 887-892. doi: 10.1016/j.biopsych.2009.01.009
- Romanski, L. M., & LeDoux, J. E. (1993). Information cascade from primary auditory cortex to the amygdala: corticocortical and corticoamygdaloid projections of temporal cortex in the rat. *Cereb Cortex*, *3*(6), 515-532.

- Rothbaum, B. O., & Davis, M. (2003). Applying learning principles to the treatment of post-trauma reactions. *Ann NY Acad Sci*, *1008*, 112-121.
- Rowe, D. C., Stever, C., Gard, J. M., Cleveland, H. H., Sanders, M. L., Abramowitz, A., . . . Waldman, I. D. (1998). The relation of the dopamine transporter gene (DAT1) to symptoms of internalizing disorders in children. *Behav Genet*, *28*(3), 215-225.
- Roy-Byrne, P., Russo, J., Dugdale, D. C., Lessler, D., Cowley, D., & Katon, W. (2002). Undertreatment of panic disorder in primary care: role of patient and physician characteristics. *J Am Board Fam Pract*, *15*(6), 443-450.
- Royer, S., & Pare, D. (2002). Bidirectional synaptic plasticity in intercalated amygdala neurons and the extinction of conditioned fear responses. *Neuroscience*, *115*(2), 455-462. doi: S0306452202004554
- Russchen, F. T. (1982). Amygdalopetal projections in the cat. I. Cortical afferent connections. A study with retrograde and anterograde tracing techniques. *J Comp Neurol*, *206*(2), 159-179. doi: 10.1002/cne.902060206
- Salminen, M., Lundstrom, K., Tilgmann, C., Savolainen, R., Kalkkinen, N., & Ulmanen, I. (1990). Molecular cloning and characterization of rat liver catechol-O-methyltransferase. *Gene*, *93*(2), 241-247. doi: 0378-1119(90)90231-F
- Samochowiec, J., Hajduk, A., Samochowiec, A., Horodnicki, J., Stepien, G., Grzywacz, A., & Kucharska-Mazur, J. (2004). Association studies of MAO-A, COMT, and 5-HTT genes polymorphisms in patients with anxiety disorders of the phobic spectrum. *Psychiatry Res*, *128*(1), 21-26. doi: 10.1016/j.psychres.2004.05.012
- Santini, E., & Porter, J. T. (2010). M-type potassium channels modulate the intrinsic excitability of infralimbic neurons and regulate fear expression and extinction. *J Neurosci*, *30*(37), 12379-12386. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1295-10.2010
- Scherer, K. (2001). Appraisal considered as a process of multilevel sequential checking. In K. Scherer, A. Schorr & T. Johnstone (Eds.), *Appraisal processes in emotion: theory, methods, research* (pp. 92-102). NY: Oxford University Press.
- Schiller, D., Levy, I., Niv, Y., LeDoux, J. E., & Phelps, E. A. (2008). From fear to safety and back: reversal of fear in the human brain. *J Neurosci*, *28*(45), 11517-11525. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2265-08.2008
- Schultz, W. (2006). Behavioral theories and the neurophysiology of reward. *Annu Rev Psychol*, *57*, 87-115. doi: 10.1146/annurev.psych.56.091103.070229
- Sehlmeyer, C., Schoning, S., Zwitterlood, P., Pfliederer, B., Kircher, T., Arolt, V., & Konrad, C. (2009). Human fear conditioning and extinction in neuroimaging: a systematic review. *PLoS One*, *4*(6), e5865. doi: 10.1371/journal.pone.0005865

- Sesack, S. R., Deutch, A. Y., Roth, R. H., & Bunney, B. S. (1989). Topographical organization of the efferent projections of the medial prefrontal cortex in the rat: an anterograde tract-tracing study with Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. *J Comp Neurol*, *290*(2), 213-242. doi: 10.1002/cne.902900205
- Seymour, B., Daw, N., Dayan, P., Singer, T., & Dolan, R. (2007). Differential encoding of losses and gains in the human striatum. *J Neurosci*, *27*(18), 4826-4831. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0400-07.2007
- Sierra-Mercado, D., Padilla-Coreano, N., & Quirk, G. J. (2011). Dissociable roles of prelimbic and infralimbic cortices, ventral hippocampus, and basolateral amygdala in the expression and extinction of conditioned fear. *Neuropsychopharmacology*, *36*(2), 529-538. doi: 10.1038/npp.2010.184
- Sigurdsson, T., Doyere, V., Cain, C. K., & LeDoux, J. E. (2007). Long-term potentiation in the amygdala: a cellular mechanism of fear learning and memory. *Neuropharmacology*, *52*(1), 215-227. doi: 10.1016/j.neuropharm.2006.06.022
- Smoller, J. W., Acierno, J. S., Jr., Rosenbaum, J. F., Biederman, J., Pollack, M. H., Meminger, S., . . . Slaugenhaupt, S. A. (2001). Targeted genome screen of panic disorder and anxiety disorder proneness using homology to murine QTL regions. *Am J Med Genet*, *105*(2), 195-206. doi: 10.1002/ajmg.1209
- Smoller, J. W., Block, S. R., & Young, M. M. (2009). Genetics of anxiety disorders: the complex road from DSM to DNA. *Depress Anxiety*, *26*(11), 965-975. doi: 10.1002/da.20623
- Smoller, J. W., Gardner-Schuster, E., & Covino, J. (2008). The genetic basis of panic and phobic anxiety disorders. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, *148C*(2), 118-126. doi: 10.1002/ajmg.c.30174
- Soliman, F., Glatt, C. E., Bath, K. G., Levita, L., Jones, R. M., Pattwell, S. S., . . . Casey, B. J. (2010). A genetic variant BDNF polymorphism alters extinction learning in both mouse and human. *Science*, *327*(5967), 863-866. doi: s10.1126/science.1181886
- Sotres-Bayon, F., & Quirk, G. J. (2010). Prefrontal control of fear: more than just extinction. *Curr Opin Neurobiol*, *20*(2), 231-235. doi: 10.1016/j.conb.2010.02.005
- Spoormaker, V. I., Andrade, K. C., Schroter, M. S., Sturm, A., Goya-Maldonado, R., Samann, P. G., & Czisch, M. (2011). The neural correlates of negative prediction error signaling in human fear conditioning. *Neuroimage*, *54*(3), 2250-2256. doi: 10.1016/j.neuroimage.2010.09.042
- Sutton, R., & Barto, A. (1998). *Reinforcement Learning: An Introduction (Adaptive Computation and Machine Learning)*. Cambridge, Massachusetts: MIT Press.
- Tenhunen, J., Salminen, M., Jalanko, A., Ukkonen, S., & Ulmanen, I. (1993). Structure of the rat catechol-O-methyltransferase gene: separate promoters are used to produce

- mRNAs for soluble and membrane-bound forms of the enzyme. *DNA Cell Biol*, 12(3), 253-263.
- Tenhunen, J., Salminen, M., Lundstrom, K., Kiviluoto, T., Savolainen, R., & Ulmanen, I. (1994). Genomic organization of the human catechol O-methyltransferase gene and its expression from two distinct promoters. *Eur J Biochem*, 223(3), 1049-1059.
- Thompson, B. M., Baratta, M. V., Biedenkapp, J. C., Rudy, J. W., Watkins, L. R., & Maier, S. F. (2010). Activation of the infralimbic cortex in a fear context enhances extinction learning. *Learn Mem*, 17(11), 591-599. doi: 10.1101/lm.1920810
- Thorgeirsson, T. E., Oskarsson, H., Desnica, N., Kostic, J. P., Stefansson, J. G., Kolbeinsson, H., . . . Gulcher, J. R. (2003). Anxiety with panic disorder linked to chromosome 9q in Iceland. *Am J Hum Genet*, 72(5), 1221-1230. doi: 10.1086/375141
- Tunbridge, E. M., Harrison, P. J., & Weinberger, D. R. (2006). Catechol-o-methyltransferase, cognition, and psychosis: Val158Met and beyond. *Biol Psychiatry*, 60(2), 141-151. doi: 10.1016/j.biopsych.2005.10.024
- Valente, N. L., Vallada, H., Cordeiro, Q., Bressan, R. A., Andreoli, S. B., Mari, J. J., & Mello, M. F. (2011). Catechol-O-methyltransferase (COMT) val158met polymorphism as a risk factor for PTSD after urban violence. *J Mol Neurosci*, 43(3), 516-523. doi: 10.1007/s12031-010-9474-2
- Valente, N. L., Vallada, H., Cordeiro, Q., Migueta, K., Bressan, R. A., Andreoli, S. B., . . . Mello, M. F. (2011). Candidate-gene approach in posttraumatic stress disorder after urban violence: association analysis of the genes encoding serotonin transporter, dopamine transporter, and BDNF. *J Mol Neurosci*, 44(1), 59-67. doi: 10.1007/s12031-011-9513-7
- van den Heuvel, O. A., Veltman, D. J., Groenewegen, H. J., Witter, M. P., Merkelbach, J., Cath, D. C., . . . van Dyck, R. (2005). Disorder-specific neuroanatomical correlates of attentional bias in obsessive-compulsive disorder, panic disorder, and hypochondriasis. *Arch Gen Psychiatry*, 62(8), 922-933. doi: 62/8/922
- van Dyck, C. H., Malison, R. T., Jacobsen, L. K., Seibyl, J. P., Staley, J. K., Laruelle, M., . . . Gelernter, J. (2005). Increased dopamine transporter availability associated with the 9-repeat allele of the SLC6A3 gene. *J Nucl Med*, 46(5), 745-751. doi: 46/5/745
- van Dyck, C. H., Seibyl, J. P., Malison, R. T., Laruelle, M., Zoghbi, S. S., Baldwin, R. M., & Innis, R. B. (2002). Age-related decline in dopamine transporters: analysis of striatal subregions, nonlinear effects, and hemispheric asymmetries. *Am J Geriatr Psychiatry*, 10(1), 36-43.
- Vandenbergh, D. J., Persico, A. M., Hawkins, A. L., Griffin, C. A., Li, X., Jabs, E. W., & Uhl, G. R. (1992). Human dopamine transporter gene (DAT1) maps to chromosome 5p15.3 and displays a VNTR. *Genomics*, 14(4), 1104-1106.

- VanNess, S. H., Owens, M. J., & Kilts, C. D. (2005). The variable number of tandem repeats element in DAT1 regulates in vitro dopamine transporter density. *BMC Genet*, *6*, 55. doi: 1471-2156-6-55
- Vertes, R. P. (2004). Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. *Synapse*, *51*(1), 32-58. doi: 10.1002/syn.10279
- Vijayraghavan, S., Wang, M., Birnbaum, S. G., Williams, G. V., & Arnsten, A. F. (2007). Inverted-U dopamine D1 receptor actions on prefrontal neurons engaged in working memory. *Nat Neurosci*, *10*(3), 376-384. doi: nn1846
- Vitale, G., Filafferro, M., Ruggieri, V., Pennella, S., Frigeri, C., Rizzi, A., . . . Calo, G. (2008). Anxiolytic-like effect of neuropeptide S in the rat defensive burying. *Peptides*, *29*(12), 2286-2291. doi: S0196-9781(08)00362-8
- Vogt, B., Hof, P., & Vogt, L. (2004). Cingulate Gyrus. In G. Paxinos & J. Mai (Eds.), *The Human Nervous System* (Vol. 2, pp. 915-949): Academic Press.
- Wang, D. G., Fan, J. B., Siao, C. J., Berno, A., Young, P., Sapolsky, R., . . . Lander, E. S. (1998). Large-scale identification, mapping, and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the human genome. *Science*, *280*(5366), 1077-1082.
- Watson, J. B., & Rayner, R. (2000). Conditioned emotional reactions. 1920. *Am Psychol*, *55*(3), 313-317.
- Weible, A. P., McEchron, M. D., & Disterhoft, J. F. (2000). Cortical involvement in acquisition and extinction of trace eyeblink conditioning. *Behav Neurosci*, *114*(6), 1058-1067.
- Weinberger, D., & Singer, J. (1990). The construct validity of repressive coping style. In J. Singer (Ed.), *Repression and dissociation: Implications for personality theory, psychopathology, and health* (pp. 337-386). Chicago: University of Chicago Press.
- Weinshilboum, R. M., Otterness, D. M., & Szumlanski, C. L. (1999). Methylation pharmacogenetics: catechol O-methyltransferase, thiopurine methyltransferase, and histamine N-methyltransferase. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, *39*, 19-52. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.39.1.19
- Weissman, M. M., Fyer, A. J., Haghghi, F., Heiman, G., Deng, Z., Hen, R., . . . Knowles, J. A. (2000). Potential panic disorder syndrome: clinical and genetic linkage evidence. *Am J Med Genet*, *96*(1), 24-35. doi: 10.1002/(SICI)1096-8628(20000207)96:1
- Wittchen, H. U., Jacobi, F., Rehm, J., Gustavsson, A., Svensson, M., Jonsson, B., . . . Steinhausen, H. C. (2011). The size and burden of mental disorders and other disorders of the brain in Europe 2010. *Eur Neuropsychopharmacol*, *21*(9), 655-679. doi: 10.1016/j.euroneuro.2011.07.018

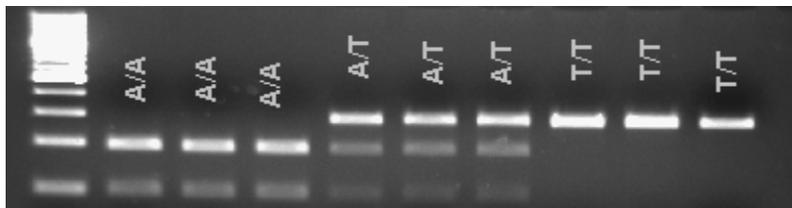
- Wittchen, H. U., Kessler, R. C., Pfister, H., & Lieb, M. (2000). Why do people with anxiety disorders become depressed? A prospective-longitudinal community study. *Acta Psychiatr Scand Suppl*(406), 14-23.
- Woo, J. M., Yoon, K. S., & Yu, B. H. (2002). Catechol O-methyltransferase genetic polymorphism in panic disorder. *Am J Psychiatry*, 159(10), 1785-1787.
- Xu, Y. L., Gall, C. M., Jackson, V. R., Civelli, O., & Reinscheid, R. K. (2007). Distribution of neuropeptide S receptor mRNA and neurochemical characteristics of neuropeptide S-expressing neurons in the rat brain. *J Comp Neurol*, 500(1), 84-102. doi: 10.1002/cne.21159
- Xu, Y. L., Reinscheid, R. K., Huitron-Resendiz, S., Clark, S. D., Wang, Z., Lin, S. H., . . . Civelli, O. (2004). Neuropeptide S: a neuropeptide promoting arousal and anxiolytic-like effects. *Neuron*, 43(4), 487-497. doi: 10.1016/j.neuron.2004.08.005
- Yacubian, J., Sommer, T., Schroeder, K., Glascher, J., Kalisch, R., Leuenberger, B., . . . Buchel, C. (2007). Gene-gene interaction associated with neural reward sensitivity. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104(19), 8125-8130. doi: 0702029104

## 8 Anhang

### Anhang A: Bestimmung der Genotypen

#### Bestimmung des NPSR1 Genotyps (rs324981)

Die PCR wurde mit einem Volumen von 25µl durchgeführt. Der PCR-Ansatz beinhaltete 25ng genomische DNA und es wurden folgende Primer verwendet: Vorwärts, 5'-TGCTTTGCATTTCCCTCAGTG -3'; Rückwärts, 5'-TTGTCTCATCACATTTGGAAGG -5'. Für den PCR-Prozess wurden 35 Zyklen mit einer Denaturierung bei 95°C für 45s, einer Primerhybridisierung bei 58°C für 45s und einer Elongation bei 72°C für 45s, durchgeführt. Die PCR-Produkte wurden mit dem Enzym AseI (New England Biolabs, Frankfurt, Germany) bei 37°C verdaut. Die verdauten PCR-Produkte wurden über eine Gelelektrophorese in 4% Agarosegel aufgetrennt, mit Ethidiumbromid gefärbt und unter UV-Licht sichtbar gemacht. Das Beispiel des resultierenden gefärbten Agarosegels ist in Abbildung 21 dargestellt.



**Abbildung 21:** Ethidium-Bromid gefärbtes Agarosegel. Es ist in der ersten Bande die DNA Leiter zu sehen. Bande 2-4 zeigen *NPSR1* rs324981 AA Träger, Bande 5-7 AT Träger und 8-10 TT Träger.

#### Die Bestimmung des DAT1 Genotyps (rs28363170)

Um den DAT 44-bp VNTR Polymorphismus (rs28363170) zu bestimmen, wurden als Primer folgende Sequenzen verwendet: -5'-TCC TTG TGG TGT AGG GAA CGG-3' (vorwärts) und 5'-CTG GAG GTC ACG GTC AAG G-3' (rückwärts). Für den PCR-Prozess wurden 35 Zyklen mit einer Denaturierung bei 96°C für 30s, einer Primerhybridisierung bei 64°C für 30s und einer Elongation bei 72°C für 60s, durchgeführt.

### Bestimmung des COMT Genotyps (rs4680)

Um den COMT-Polymorphismus Val<sup>158</sup>Met zu bestimmen, wurde eine Polymerasekettenreaktion (PCR) nach einem Protokoll von Egan bestimmt (Egan et al., 2001). Als Primer wurden folgende Sequenzen verwendet: 5'-GGG

GCC TAC TGT GGC TAC TC-3' (vorwärts) und 5'-TTT TTC CAG GTC TGA CAA CG-3' (rückwärts). Die PCR wurde mit einem Reaktionsvolumen von 25 µl durchgeführt, in dem sich circa 50 ng der zu untersuchenden DNA, jeweils 10 pMol der beiden Primer, 1,5 mM von dNTP, 0,75 mM MgCL<sub>2</sub> und eine Einheit der Taq-Polymerase befanden. Die Annealing Temperatur war bei 58 °C, was 35 Zyklen entspricht. Die Produkte der PCR wurden mit NlaIII angereichert (3 Stunden bei 37 °C; Fragmentgrößen: Wildtyp G1947, 114 bp; 1947A-Variante: 96 bp und 13 bp) und daraufhin auf einem 4%-igen Agarosegel dargestellt. G1947 entspricht dem Val<sup>158</sup> Allel; 1947A codiert das Met-Allel.

### Bestimmung des Wachstumsfaktor BDNF Val<sup>66</sup>Met Genotyps

Um den BDNF (*engl.*: "Brain-derived neurotrophic factor"; *BDNF*) Val<sup>66</sup>Met Polymorphismus zu bestimmen, wurde eine Polymerasekettenreaktion (PCR) durchgeführt. Als Primer wurden folgende Sequenzen verwendet: 5'-

AAAGAAGCAAACATCCGAGGACAAG -3' (vorwärts) und 5'-ATTCCCTCCAGCAGAAAGAGAAGAGG -3' (rückwärts). Die PCR wurde mit einem Reaktionsvolumen von 25 µl durchgeführt, in dem sich circa 1 µl der zu untersuchenden DNA, jeweils 2 µl der beiden Primer, 1 µL Nuk, 2,5 µl von MgCL<sub>2</sub> und 0,2 µl der Taq-Polymerase sowie 16,3 µl H<sub>2</sub>O befanden. Die Annealing Temperatur war bei 62 °C, was 35 Zyklen entspricht. Die Produkte der PCR wurden mit NlaIII angereichert (2-3 Stunden bei 37 °C; Fragmentgrößen: G/G (Val/Val): 57bp + 217bp; A/A (Met/Met) :57bp + 77bp + 140bp; G/A: 57bp+ 77bp+ 140bp+217bp).

**Bestimmung des Serotonin Transporter (5-HTT) Genotyps (SLC6A4)**

Um den Serotonin Transporter (5-HTT) SNP zu bestimmen, wurde eine Polymerasekettenreaktion (PCR) durchgeführt. Als Primer wurden folgende Sequenzen verwendet: 5' – TGCCGCTCTGAATGCCAGCAC-3' (vorwärts) und 5'-GGGATTCTGGTG CCACCTAGACG -3' (rückwärts). Die PCR wurde mit einem Reaktionsvolumen von 25 µl durchgeführt, in dem sich circa 1 µl der zu untersuchenden DNA, jeweils 1µl der beiden Primer, 1 µL Nuk, 1,0 µl von MgCL<sub>2</sub> und 0,5 µl der Taq-Polymerase sowie 17,0 µl H<sub>2</sub>O befanden. Die Annealing Temperatur war bei 66,5 °C, was 40 Zyklen entspricht. Die Produkte der PCR wurden mit Msp I angereichert (3 Stunden bei 37 °C; Fragmentgrößen: l/l: GG 174 bp + 162 bp + 61 bp + 66 bp; AA 336 bp + 61 bp + 66 bp; AG 336 bp + 174 bp + 162 bp + 61 bp + 66 bp; s/l: G 292bp + 174bp +162bp + 61bp +66bp A 336bp + 292bp + 61bp + 66bp).

## Anhang B: Studie 1

NPSR1-Gruppenaktivierungsunterschiede während der Akquisitionsphase ( $p < 0.001$  unkorrigiert). Die anatomische Lokalisation wurde mit Hilfe des Duvernoy Atlas durchgeführt.<sup>25</sup> Die anatomischen Bezeichnungen sind englisch.

Region	Clustermaximum x,y,z (MNI)	z-Wert	Cluster- grösse (# Voxel)
<b><u>CS+, T&gt;AA</u></b>			
L mid-insula, extending into front operculum	-42, 4, -2	4.28	420
temp operculum	-62, 6, 2	3.70	
L ant thalamus, ext. Into med thalamus or ventricle	-56, 10, -4	3.26	
	-6, -6, 2	4.03	138
R mid-insula	-2, -18, -2	3.24	
	38, 16, 14	3.89	200
	40, 12, -4	3.36	
L ant insula	-34, 26, 6	3.89	213
L middle temp G	-58, -8, -30	3.82	70
L med orbit G (OFC)	-24, 42, -12	3.76	43
R cerebellum	40, -54, -36	3.66	70
L 4 <sup>th</sup> occip G	-20, -90, -16	3.65	263
	-18, -106, -4	3.61	
	-26, -96, -18	3.60	
L inf middle occip G	-54, -72, -10	3.62	23
R med sup front G (dmPFC)	8, 50, 22	3.60	135
L inf front G	-36, 58, 0	3.53	44
L middle temp G	-68, -28, -16	3.53	20
L percentral G	36, -12, 62	3.50	35

<sup>25</sup> Duvernoy HM. *The Human Brain: Surface, blood supply, and three-dimensional sectional anatomy*. Springer: Wien, 1999.

L occip fusiform G	-30, -70, -14	3.49	54
Bilat pregenual/subgenual ant cing G	0, 48, -4	3.48	32
L supramarginal G	-60, -32, 34	3.48	52
R post middle temp G, ext. into	68, -22, -20	3.47	55
L inf temp S	58, -18, -22	3.14	
R olfactory S (OFC)	10, 44, -20	3.47	15
L post putamen	-34, -10, -4	3.39	21
L middle temp G	-64, -6, -14	3.35	6
L mid cing G	-10, 0, 46	3.32	14
R fusiform G	18, -36, -14	3.30	4
L thalamus	-18, 18, 2	3.29	12
R pregenual cing G	-10, 40, 4	3.27	13
R post cing G	10, -18, 38	3.25	10
R post sup temp G	56, -64, 24	3.20	15
R med orbit G (OFC)	18, 48, -12	3.19	10
L sup frontopolar G	-10, 68, 28	3.19	6
L collateral S	-22, -52, -2	3.18	9
L middle frontopolar G	-14, 64, 0	3.18	3
L sup frontopolar G	4, 66, 30	3.17	13
L supraorbit S (mPFC)	-16, 56, 2	3.16	4
R pregenual cing G	4, 46, 12	3.16	6
L sup frontopolar G	16, 68, 22	3.14	4
L sup lingual G (occip C)	-22, -58, -6	3.13	2
R post putamen	36, -10, -4	3.11	1
R ant insula	34, 28, 2	3.11	1

CS+, AA > T+

Keine signifikanten Voxel über dem Schwellenwert

<u>CS-, T+&gt; AA</u>			
L angular G	-56, -66, 38	4.34	498
	-40, -58, 36	3.71	
	-62, -54, 32	3.36	
R post hippocampus or ventricle	16, -38, 14	4.18	76
R post orbit G	42, 36, -20	4.11	97
L post hippocampus or ventricle	-16, -46, 16	4.07	213
R dors mid/ant insula	38, 16, 14	4.05	82
L intrapariet S	-18, -68, 40	4.02	55
R post collateral S, extending into	36, -42, -8	3.79	92
R post sup temp G (horizontal)	50, -46, -8	3.61	
bilat post cing G	-2, -34, 40	3.66	109
R inf temp G	56, -36, -20	3.65	62
L middle front G	-42, 16, 50	3.62	71
L subcallosal G/nucl accumbens	-8, 14, -14	3.62	28
R post temp S (ascending)	46, -52, 38	3.61	97
R sup precentral S	32, 4, 40	3.56	10
R middle temp G	70, -26, -20	3.54	33
R orbit G	22, 44, -10	3.49	26
R inf front G/ front operculum	-50, 22, -6	3.46	36
R post inf front S	-16, 2, 46	3.45	14
L post temp G (horizontal)	-52, -44, 2	3.41	18
R post cing S	14, -18, 44	3.39	15
R inf frontopolar G	18, 58, -6	3.30	7
L hippocampus	-24, -22, -10	3.27	8
R middle temp G	64, -8, -30	3.18	3
R fusiform G	22, -40, -14	3.12	2
R supraorbit S (mPFC)	10, 56, -6	3.11	1
R post inf temp G	54, -62, -16	3.10	1

CS-,AA>T+

R pons	10, -18, -44	4.08	115
R pons	10, -20, -26	3.59	30
L pons	-10, -14, -30	3.16	2

CS+>CS-,T+>AA

Keine signifikanten Voxel über dem Schwellenwert

CS+>CS-,AA>T+

Keine signifikanten Voxel über dem Schwellenwert

DMPFC, dorsomedial prefrontal cortex; G, gyrus; l, left; LPFC, lateral prefrontal cortex; MNI, Montreal Neurological Institute; OFC, orbitofrontal cortex; r, right; S, sulcus; SN/VTA, substantia nigra/ventral tegmental area; VLPFC, ventrolateral prefrontal cortex; VMPFC, ventromedial prefrontal cortex; VS, ventral striatum.

## Anhang C: Studie 2

### Analyse der Bildgebung über das gesamte Experiment.

Es werden die Ergebnisse der gesamten Stichprobe für die drei experimentellen Phasen angegeben ( $p < 0.001$  unkorrigiert). Die anatomische Lokalisation wurde mit Hilfe des Duvernoy Atlas durchgeführt.<sup>26</sup> Die anatomischen Bezeichnungen sind englisch.

Region	Clustermaximum x,y,z (MNI)	z-Wert	Cluster- grösse (# Voxel)	p korr. (FWE) (gesamtes Gehirn)*
<b>AKQUISITION</b>				
<b>Aversiver Wert <math>V_{av}</math></b>				
L mid insula	-50 0 6	6.21	1091	<0,001
	-32 -10 -12	4.62		
	-36 -4 -4	4.39		
L posteroventr thalamus, incl. SN/VTA, sup colliculi	-6 -20 -2	6.01	1343	<0,001
L VS	-10 2 -2	5.69		0,001
R VS	14 -16 -4	4.98		0,016
R mid insula	58 0 8	5.89	616	<0,001
	52 6 -2	5.42		0,002
	50 -2 10	4.61		
L mid cing G	-4 8 38	5.82	821	<0,001
R DMPFC/mid cing G	4 2 56	4.72		0,048
L mid cing G	-10 14 38	4.23		
R caudate, mid striatum	14 6 2	5.23	249	0,005

<sup>26</sup> Duvernoy HM. The Human Brain: Surface, blood supply, and three-dimensional sectional anatomy. Springer: Wien, 1999.

R ant insula	34 28 -2	4.99	239	0,015
	36 16 4	3.89		
	30 24 -12	3.59		
L post insula, lateral fissure	-52 -20 20	4.83	609	0,03
	-56 -32 20	4.83		0,03
	-46 -36 24	3.77		
L cerebellum	-34 -48 -32	4.83	132	0,03
brainstem, pons	4 -32 -46	4.69	149	
L precentr G	-46 -10 50	4.58	240	
R cerebellum	22 -68 -50	4.44	179	
	32 -54 -50	3.53		
	18 -68 -38	3.51		
R precentr G	44 -10 48	4.3	94	
R cerebellum	32 -52 -28	4.15	97	
R post insula/lateral fissure	56 -30 18	4.13	200	
	68 -26 22	3.29		
R subpariet S	16 -18 40	3.89	11	
cerebellum	2 -62 -32	3.84	112	
L cerebellum	-16 -42 -50	3.81	104	
	-26 -48 -50	3.54		
	-18 -66 -50	3.43		
R sup temp S	46 -20 -10	3.73	33	
L cerebellum	-50 -40 -42	3.49	20	
L postcentr S	-34 -34 56	3.46	5	
R ant middle temp G	60 18 -24	3.43	10	
L front pole	-22 70 4	3.36	45	
	-30 68 10	3.17		
R front pole	34 68 2	3.34	6	
R cerebellum	24 -52 -50	3.32	12	

L ant insula	-32 26 10	3.25	2
L centr S	-36 -28 60	3.23	2
R ventr pallidum	18 0 -8	3.19	1
R front pole	26 70 16	3.17	3
L centr S	-36 -22 56	3.12	1
R post inf front G	60 14 10	3.11	1
L temp-pariet-occip transition zone	-54 -62 10	3.11	1
R sup temp S	52 -26 2	3.1	1
L cerebellum	-26 -58 -24	3.1	1
L temp-pariet-occip transition zone	-52 -60 8	3.09	1

#### Appetitiver Wert $V_{app}$ (invers zu $V_{av}$ )

L lat OFC/VLPFC (inf front G)	-50 34 -12	3.81	246
	-40 40 -14	3.77	
	-36 46 -10	3.7	
bilat VMPFC	2 54 -18	3.35	28
L OFC (H-shaped S)	-18 48 -18	3.19	2
L VMPFC	-4 40 -22	3.17	7

#### Aversiver Vorhersagefehler $\delta_{av}$

R retrosplenial cortex	6 -54 20	5.3	1139	0,004
L retrosplenial cortex	-8 -54 16	5.2		0,006
R retrosplenial cortex	10 -52 12	5.01		0,015
R angular G	52 -70 36	5.18	278	0,007
R sup temp S, ascending post segment	44 -60 32	3.59		
L ant hippocampus/rhinal cortex	-20 -14 -22	4.66	308	0,07
	-18 -4 -26	4.19		
L collateral S	-28 -6 -32	4.17		
L middle temp G	-56 -14 -24	4.31	207	

	-70 -10 -24	4.04		
Bilateral ant dorsomedial sup front G	0 64 36	4.15	122	
	0 68 28	3.5		
L sup front G	-12 48 44	3.99	131	
L sup front S	-20 28 46	3.88		
L sup front S	-18 20 50	3.35		
R rhinal cortex	26 -6 -30	3.9	112	
	24 -18 -20	3.59		
	18 -4 -26	3.29		
L VMPFC	-2 50 -2	3.78	67	
R inf temp S	56 2 -28	3.77	68	
R middle temp G	66 2 -24	3.65		
R sup temp S, horizontal post segment	46 -68 22	3.35	6	
L OFC (G rectus)	-4 18 -24	3.22	4	
<b>Appetitiver Vorhersagefehler <math>\delta_{app}</math> (invers zu <math>\delta_{av}</math>)</b>				
L thalamus, internal capsule	-14 -12 4	5.43	233	0,002
	-12 -16 12	4.89		0,027
	-18 -12 -4	3.68		
R thalamus	10 -14 8	4.38	182	
R Nucl ruber	14 -10 -4	3.89		
SN/VTA	-6 -22 -10	4.14	109	
L supramarginal G	-58 -40 30	4.09	254	
	-60 -28 24	3.53		
	-52 -26 26	3.45		
R supramarginal/postcentr G	54 -30 30	4.05	204	
R lateral OFC/VLPFC (inf front G)	52 28 -14	3.86	45	
R post cing G	6 -24 32	3.86	49	

	12 -26 38	3.6	
R mid cing G	6 0 36	3.8	36
L occipit pole	-16 -104 -2	3.62	44
R post middle front G	48 -2 48	3.57	12
L middle front G	-44 42 24	3.52	20
L mid cing G	-10 -4 42	3.45	20
R cing S	14 4 46	3.41	21
R mid cing G	8 4 52	3.28	
R cerebellum	38 -38 -34	3.36	24
	28 -38 -34	3.32	
L precentral S	-36 -8 42	3.34	13
R brainstem/pons	10 -28 -28	3.3	5
R cerebellum	28 -50 -26	3.25	4
L ant insula	-28 14 16	3.2	1
L ant insula	-42 22 -12	3.16	2
R post hippocampus	32 -36 -4	3.13	2
R OFC	26 42 -18	3.13	1
L central S	-62 -24 32	3.1	2
R post insula	-50 -4 8	3.09	1

### EXTINKTION

#### Aversiver Wert $V_{av}$

Keine signifikanten Voxel über dem Schwellenwert

#### Appetitiver Wert $V_{app}$ (invers zu $V_{av}$ )

L lat OFC/VLPFC (inf front G)	-42 40 -22	4.05	89
L precentr G	-58 8 46	4	50
L mid temp G	-60 2 -32	3.75	33
L sup front G	-20 50 44	3.72	38

L caudate or white matter	-20 -2 22	3.64	27
R mid cing G	8 2 30	3.59	10
R cerebellum	24 -64 -32	3.57	33
R middle front G	36 22 54	3.56	49
R fusiform G	36 -42 -16	3.55	18
R post sup temp S	40 -62 32	3.35	20
L middle temp G	-70 -30 -4	3.35	13
R cerebellum	44 -60 -46	3.31	11
R cerebellum	8 -82 -34	3.27	9
L post DMPFC	-2 18 58	3.2	9
L cerebellum	-30 -66 -38	3.2	5
L cerebellum	-14 -80 -44	3.18	3
R cerebellum	8 -86 -20	3.16	2
R cerebellum	48 -76 -34	3.11	2

#### Aversiver Vorhersagefehler $\bar{\delta}_{av}$

Keine signifikanten Voxel über dem Schwellenwert

#### Appetitiver Vorhersagefehler $\bar{\delta}_{app}$ (invers zu $\bar{\delta}_{av}$ )

L ant insula	-40 14 8	4.03	171
	-34 18 -2	3.73	
	-38 22 -8	3.19	
R ant LPFC (middle front G)	36 58 10	3.97	114
L ant LPFC (middle front G)	-42 50 28	3.78	109
R lat OFC/VLPFC (inf front G)	44 42 -8	3.55	14
L ant insula	-46 8 -8	3.43	7
R DLPFC (post middle front G)	44 10 58	3.42	37
brainstem	4 -36 -34	3.41	27
	-4 -32 -38	3.19	
R ant insula	36 16 -4	3.4	9

L ant LPFC (middle front G)	-38 50 10	3.33	13
VS (R ventr pallidum)	12 -4 -10	3.31	5
VS (R ventr pallidum or Nucl accumbens)	14 8 -6	3.22	9
R sup precentr S	48 18 24	3.19	3
R angular G	62 -44 32	3.17	2
R cerebellum	24 -60 -44	3.13	1
L mid cing G	-2 8 30	3.1	1

### REAKQUISITION

#### Aversiver Wert $V_{av}$

L dors ant/mid cing G	10 12 36	4.89	444	0,018
	-10 6 38	4.39		
R dors ant cing G	-4 20 30	3.38		
R ant insula	34 24 8	4.81	406	0,027
	40 28 0	4.07		
R SN/VTA	10 -14 -10	4.56	188	
L SN/VTA	-6 -18 -6	3.98		
L ant insula	-34 26 0	4.04	260	
	-36 10 4	3.6		
L mid/ventr striatum	-12 4 2	3.86	88	
	-24 4 0	3.46		
brainstem/pons	2 -30 -42	3.86	138	
L mid insula/temp operculum	-58 2 4	3.81	79	
R mid/ventr striatum	10 6 2	3.72	112	
	18 2 2	3.6		
L front pole	-24 70 0	3.56	85	
R sub pariet S	16 -24 40	3.44	30	
L dorsomed front cortex	-4 -10 54	3.38	37	

	-8 -12 46	3.29		
R inf occip G	36 -98 -2	3.34	9	
<b>Appetitiver Wert <math>V_{app}</math> (invers zu <math>V_{av}</math>)</b>				
Keine signifikanten Voxel über dem Schwellenwert				
<b>Aversiver Vorhersagefehler <math>\delta_{av}</math></b>				
R retrosplenial cortex	12 -52 10	5.05	1316	0,011
L retrosplenial cortex	-2 -54 24	4.61		
R retrosplenial cortex	8 -54 18	4.36		
L angular G	-42 -70 34	4.47	166	
	-38 -74 28	3.64		
R angular G	48 -68 28	4.42	346	
	42 -64 20	3.42		
L sup front S	-20 30 46	4.19	83	
bilateral VMPFC	2 52 -4	3.72	185	
L subgenual cing G	-10 30 -12	3.64		
L subgenual cing G	-2 42 -10	3.49		
L precentral S	-46 -2 30	3.59	9	
L middle temp G	-64 -8 -18	3.48	30	
L inf occip G	-50 -64 -18	3.38	14	
R inf front S	20 30 36	3.36	3	
R cerebellum	46 -54 -46	3.29	8	
L fusiform G	-16 -72 -6	3.26	6	
<b>Appetitiver Vorhersagefehler <math>\delta_{app}</math> (invers zu <math>\delta_{av}</math>)</b>				
R putamen	30 12 8	3.48	6	
R inf front G	38 8 40	3.44	38	
bilat sup colliculi	4 -26 -4	3.32	20	
L mid insula	-36 2 4	3.21	10	
L mid insula	-34 -4 -4	3.21	8	

R Nucl ruber	6 -20 -10	3.17	1
--------------	-----------	------	---

\*nur gezeigt, wenn  $p < 0.05$

DMPFC, dorsomedial prefrontal cortex; G, gyrus; l, left; LPFC, lateral prefrontal cortex; MNI, Montreal Neurological Institute; OFC, orbitofrontal cortex; r, right; S, sulcus; SN/VTA, substantia nigra/ventral tegmental area; VLPFC, ventrolateral prefrontal cortex; VMPFC, ventromedial prefrontal cortex; VS, ventral striatum.

## Anhang D: Studie 2

Analyse der Bildgebung über die Extinktionsphase. Es werden die Ergebnisse der DAT1 Analyse angegeben ( $p < 0.001$  unkorrigiert). Die anatomische Lokalisation wurde mit Hilfe des Duvernoy Atlas durchgeführt.<sup>27</sup> Die anatomischen Bezeichnungen sind englisch.

Region	Clustermaximum x,y,z (MNI)	z-Wert	Clustergröße (# Voxel)
<b><u>EXTINKTION</u></b>			
<b>Appetitiver <math>V_{app}</math>: DAT1 9R &lt; non9R</b>			
L inf front S	-32 52 8	3.26	34
L dmPFC	-8 2 70	3.18	3
<b>Entgegengesetzter Vergleich</b>			
Keine signifikanten Voxel über dem Schwellenwert			
<b>Appetitiver Vorgersagefehler <math>\delta_{app}</math>: DAT1 9R &gt; non9R</b>			
L ant cing S	-16 40 18	3.67	19
L intrapariet S	-16 -62 44	3.45	10
L basal forebrain	-2 2 -10	3.2	4
L post sup front S	-16 2 50	3.15	3
<b>Entgegengesetzter Vergleich</b>			
Keine signifikanten Voxel über dem Schwellenwert			

dmPFC, dorsomedial prefrontal cortex; l left; r, right; S sulcus

<sup>27</sup> Duvernoy HM. The Human Brain: Surface, blood supply, and three-dimensional sectional anatomy. Springer: Wien, 1999.

**Erklärung nach § 9 Abs. 1, Nr. c der Promotionsordnung zur Doktorin/ zum Doktor der Philosophie oder der Naturwissenschaften des Fachbereichs Psychologie der Universität Hamburg vom 03. Februar 2004**

Hiermit erkläre ich, dass die von mir vorgelegte Dissertation nicht Gegenstand eines anderen Prüfungsverfahrens gewesen ist.

Hamburg,

\_\_\_\_\_

Unterschrift

**Eidesstattliche Erklärung nach § 9 Abs. 1, Nr. d der Promotionsordnung zur Doktorin/  
zum Doktor der Philosophie oder der Naturwissenschaften des Fachbereichs Psychologie  
der Universität Hamburg vom 03. Februar 2004**

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe. Andere als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel habe ich nicht benutzt und die wörtlich oder inhaltlich übernommenen Stellen als solche kenntlich gemacht.

Hamburg,

\_\_\_\_\_

Unterschrift