

Aus der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie
Geschäftsführender Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Tilo Kircher
des Fachbereichs Medizin an der Philipps-Universität Marburg

In Zusammenarbeit mit dem Universitätsklinikum Gießen und
Marburg GmbH, Standort Marburg

**Hirnmorphologische Korrelate der Methylierung des
Oxytocinrezeptorgens (OXTR) im Kontext elterlicher Bindung**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der
gesamten Humanmedizin

dem Fachbereich Medizin der Phillips-Universität Marburg vorgelegt
von

Georg Conrad Sohnius aus Schwetzingen

Marburg, 2023

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg
am: 25.04.2023

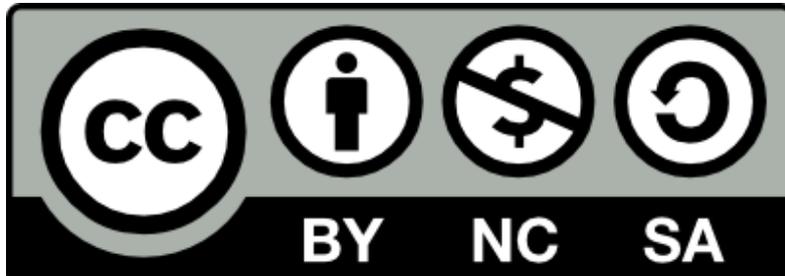
Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs.

Dekanin: Univ.-Prof. Dr. Denise Hilfiker-Kleiner

Referent: Univ.-Prof. Dr. Igor Nenadić

1. Korreferent: Prof. Dr. phil. Inge Kamp-Becker

Originaldokument gespeichert auf dem Publikationsserver der
Philipps-Universität Marburg
<http://archiv.ub.uni-marburg.de>



Dieses Werk bzw. Inhalt steht unter einer
Creative Commons
Namensnennung
Keine Kommerzielle Nutzung
Weitergabe unter gleichen Bedingungen
4.0 Deutschland Lizenz.

Die vollständige Lizenz finden Sie unter:

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Für
Eva Sohnus-Glaser
und
Elisabeth Wieland

Inhalt

Abkürzungsverzeichnis.....	1
Abbildungsverzeichnins.....	3
Tabellenverzeichnis.....	9
Summary.....	10
1. Einleitung	11
1.1 Morphometrie psychiatrischer Erkrankungen	12
1.2 Grundlagen der Epigenetik	13
1.3 Das Oxytocinsystem	16
1.4 Elterliche Bindung.....	23
2 Fragestellung und Zielsetzung.....	26
3 Material und Methoden.....	27
3.1 Zusammensetzung des Samples	27
3.2 epigenetische Analyse des OXTR-Gens	29
3.2.1 Kandidatenapproach	32
3.2.2 CGI-übergreifender Ansatz mittels Faktorenanalyse.....	33
3.3 Bildgebende Verfahren	35
3.3.1 voxelbasierte Verfahren und voxelbasierte Morphometrie (VBM)	36
3.3.2 Gyrfizierung	39
3.3.3 Diffusion Tensor Imaging (DTI).....	40
3.4 Durchführung der Analysen	43
4 Ergebnisse	48
4.1 Korrelation von OXTR-Methylierung und der Morphologie grauer Substanz	48
4.2 Korrelation von OXTR-Methylierung und der Morphologie der Cortexoberfläche (Gyrfizierung)	49
4.3 Korrelation der OXTR-Methylierung und der fraktionellen Anisotropie in Fasertrakten weißer Substanz (DTI)	50

4.4 Korrelation von elterlichen Bindungsstilen und OXTR-Methylierung.....	58
5 Diskussion.....	60
5.1 Einordnung der Befunde in aktuellen wissenschaftlichen Kontext	61
5.2 Einordnung der Befunde im Hinblick auf ihre neuroanatomische Lokalisation.....	76
5.2.1 Gyrus temporalis superior (STG) und Temporalpol.....	76
5.2.2 Insula.....	77
5.2.3 Fasertrakte weißer Substanz.....	78
5.3 Bedeutung unserer Ergebnisse für aktuelle Theorien, den therapeutischen Kontext und Forschungsperspektiven.....	81
5.4 Methodenkritik	83
6 Zusammenfassung.....	86
7 Literatur.....	88
9 Verzeichnis der akademischen Lehrer.....	100
10 Danksagung.....	101

Abkürzungsverzeichnis

BD	Bipolar Disorder
CGI	CpG-Island
CpG-Site	Cytosin-Phosphat-Guanosin-Dinukleotid (in 5'-3'-Richtung)
CSF	cerebrospinale Flüssigkeit
CTQ	Childhood Trauma Questionaire
DNA	deoxyribonucleic acid / Desoxyribonukleinsäure
DTI	Diffusion-Tensor-Imaging
FA	Fraktionelle Anisotropie
FEB	Fragebogen zur elterlichen Bindung
FM	Forceps minor
FWE	family-wise error
IFOF	Fasciculus fronto-occipitalis inferior (inferior fronto-occipital fasciculus)
ILF	Fasciculus longitudinalis inferior (inferior longitudinal fasciculus)
MDD	Major Depression Disorder
MRT	Magnetresonanztomographie
nOXT	nasal appliziertes Oxytocin
OXT	Oxytocin
OXTR	Oxytocinrezeptorgen
PBI	Parental Bonding Instrument
PVN	Nucleus (Ncl.) paraventricularis
PTSD	posttraumatische Belastungsstörung
ROI	Region of Interest
SBNN	Social Behaviour Neural Network
SON	Nucleus (Ncl.) supraopticus
SLF	Fasciculus longitudinalis superior (superior longitudinal fasciculus)
SZ	Schizophrenie

SZA	Schizoaffektive Störung
TIV	totales intrakranielles Volumen
TSS	Transcription Start Site
ZNS	zentrales Nervensystem

Abbildungsverzeichnins

Abbildung 1: Methylierung behindert die Bindung von Transkriptionsfaktoren (modifiziert nach Bird et al); die Methylierung (rot) entlang eines DNS-Strangs (schwarz) hindert den Transkriptionsfaktor (grün) daran, erfolgreich an die Transkriptionsstelle zu binden; oberhalb des DNA-Strangs sind Proteine/Proteinkomplexe abgebildet, die durch den Methylierungsstatus der DNA angezogen werden (MeCP-Komplex, MBD) (Bird, 2002)

Abbildung 2: Ein direkter Vergleich der CpG-Dichte auf Chromosomen des Menschen und *Drosophila melanogaster* (modifiziert nach Chatterjee und Vinson et al): Man beachte die insgesamt geringere Dichte an CpGs im menschlichen Genom bei gleichzeitigen Extremwerten im Rahmen von CGIs, die bei *D. melanogaster* nicht beobachtet werden. Dies verdeutlicht einerseits den Evolutionsdruck, der auf CpGs lastet, aber gleichzeitig auch die Bedeutung, die CGIs insgesamt zukommt. (Chatterjee und Vinson, 2012)

Abbildung 3: Ausschüttung von Oxytocin aus Neuronen (modifiziert nach Caldwell et al): OXT wird nicht nur klassisch axonal ausgeschüttet (lila Kreis), sondern teils auch dendritisch freigesetzt (lila Pfeil); auf diese Weise wird eine deutlich größere Zahl von Neuronen beeinflusst, dies jedoch auf diffusere Weise als durch klassische axonale Freisetzung (Caldwell, 2017)

Abbildung 4: Schematische Darstellung des Social Behaviour Neural Network (modifiziert nach Eslinger et al): das SBNN ist eine über mehrere Säugetierspezies hinweg bestehende neuronale Struktur, die heute maßgeblich als Quelle der Entscheidungsfindung in sozialen Situationen angesehen wird; zwischen allen ihren Bestandteilen besteht eine exzessive hormonelle und neuronale Kommunikation (Eslinger et al., 2021)

Abbildung 5: Modell zur Beeinflussung von Denkschemata durch OXTR-Methylierung (modifiziert nach Simons et al): Simons et al erweitern das Modell der Entstehung der Depression (rot) um die OXTR-Methylierung (grün), die durch negative Erlebnisse (blau) beeinflusst wird und letztendlich – durch die Beeinflussung der Wahrnehmung – zur Entstehung negativer Denkschemata (gelb) beitragen kann. (Simons et al., 2017)

Abbildung 6: Oxytocin und seine Wirkung auf Hirnregionen mit konsekutiver Wirkung und angenommener Beeinflussung verschiedener psychiatrischer Krankheitsbilder (modifiziert nach Kirsch et al): Die Verschiedenen Wirkungsweisen von OXT (erste Spalte links) beeinflussen mehrere neuronale Regionen (zweite Spalte von links) mit

entsprechendem Einfluss auf Verhalten und Wahrnehmung (dritte Spalte von links); diese Einflussmöglichkeiten lassen OXT als einen weiteren Kandidaten bei der Entstehung und im Symptomkomplex von psychiatrischen Erkrankungen erscheinen (ASD = Autismusspektrum-Störungen; BPD = Borderline-Persönlichkeitsstörung; DA = Dopamin; HPA = Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse; SAD = Social Anxiety Disorder) (Kirsch, 2015)

Abbildung 7: Funktionsweise des Illumina Infinium Methylation EPIC Bead Chip (modifiziert nach Pidsley et al): in der linken Spalte ist die Wirkung auf einen unmethylierten Locus gezeigt, in der rechten Spalte auf einen methylierten Locus (dargestellt durch Anhänge in Magenta), wobei die zu untersuchende CpG-Site grün hervorgehoben ist; in der initialen Behandlung mit Natriumhydrogensulfit zeigt sich kein Einfluss auf die methylierte CpG-Site (Cytosin bleibt Cytosin), wohingegen die unmethylierte Seite beeinflusst wird (Cytosin wird zu Thymin); die nun bindenden Sonden sind unterschiedlich farblich markiert, womit detektiert werden kann, welche CpG-Sites methyliert waren, und welche nicht.

Abbildung 8: Definition des Beta-Values (nach Du et al): der Beta-Value ist das reine Verhältnis der methylierten Anteile des untersuchten Bereichs zum gesamten untersuchten Bereich; damit ist er zwar einfach nachzuvollziehen, neigt jedoch zu Extremwerten. (Du et al., 2010)

Abbildung 9: Definition des M-Values (nach Du et al): Der M-Value ist das \log_2 -Verhältnis der methylierten zu den unmethylierten CpG-Sites des untersuchten Bereichs (Du et al., 2010)

Abbildung 10: Histogramm der Methylierungswerte einer Batterie untersuchter CpG-Sites (modifiziert nach Du et al): es zeigt sich, dass die Beta-Values (rot,) aufgrund der prozentualen Darstellungsweise an der Gesamtmenge untersuchter Sites, zu Extremwerten neigen; die M-Values (grün) stellen hingegen ein logarithmiertes Verhältnis der methylierten zu unmethylierten Sites dar, womit sie die Verteilung der Methylierung über das Genom hinweg besser abbilden und auch eher normalverteilt sind, womit sie sich für statistische Analysen anbieten. (Du et al., 2010)

Abbildung 11: Lokalisation der der Methylierungssonden des OXTR-Gens (hg19; chr3:8808962-8811280)(modifiziert nach Beach et al): zusätzlich zu einzelnen CpG-Sites (Benennung oberhalb des gestrichelten Pfeils) im Bereich der CGI (graues Band unterhalb des gestrichelten Pfeils) sind hier auch weitere CpG-Sites im Bereich der CGI gekennzeichnet, die in anderen Papern untersucht worden waren (schwarze Bänder

unterhalb der CGI; man beachte die Position von cg17285225 und cg23391006 im Bereich des ersten Exons des Gens. (Beach et al., 2018)

Abbildung 12: Prinzip der voxelbasierten Analyse (modifiziert nach Gaser); alle zu untersuchenden Gehirne müssen zunächst durch Vorverarbeitung auf ein Referenzgehirn projiziert werden, sodass jedes einzelne Voxel letztendlich in jedem Gehirn die gleiche Struktur darstellen kann (die hierfür notwendige nichtlineare Normalisierung ist als Deformationsfeld dargestellt); erst dann kann eine Voxel-by-Voxel-Analyse beginnen. (Gaser, 2008)

Abbildung 13: Darstellung der *spatial normalization* (modifiziert nach Kurth et al): (A) zeigt die nativen Gehirne zweier Individuen (1 ist ein 23-jähriger Mann, 2 eine 64-jährige Frau); (B) zeigt die beiden Gehirne nach *spatial normalization*, nun mit gleicher Größe, Form und Makroanatomie; (C) zeigt das Deformation Field der einzelnen ProbandInnen (Ausdehnungen in blau, Komprimierungen in rot); (D) zeigt die graue Substanz der ProbandInnen mit dem entsprechenden Ausmaß an notwendigen Veränderungen zur späteren Korrektur für *spatial normalization* (man bemerke den größeren Anteil an orangenen Feldern bei ProbandIn 2, a.e. aufgrund altersbedingter Atrophie)(Kurth et al.)

Abbildung 14: Darstellung der einzelnen Vorverarbeitungsschritte (modifiziert nach Kurth et al): durch die zuvor beschriebenen Schritte wird es erst möglich, die Gehirne von Individuen – die ebenso individuelle Einzigartigkeiten zeigen – miteinander zu vergleichen; nach der Korrektur für Intensitätsunterschiede mit anschließender Gewebezuordnung kann durch *spatial smoothing* erst eine Kongruenz der Gehirne erreicht werden; das anschließende *spatial smoothing* schließlich vereinfacht die kommenden Analyseschritte signifikant (Kurth et al.)

Abbildung 15: Visuelle Darstellung der ursprünglichen Erstellung eines Gyrfizierungsindices (GI, modifiziert nach Zilles et al): man erkennt die lediglich grobe Umfahrung der Gyrfizierung in der äußeren Kurve. Anhand der angegebenen Formel lässt sich erkennen, dass ein großer Gyrfizierungsindex (GI) eine höhere „Faltung“ des Gehirns darstellt, während hingegen eine zunehmende „Verflachung“ des Gehirns mit einer Abnahme des GI Richtung 1 einhergeht. (Zilles et al., 1988)

Abbildung 16: Darstellung möglicher Diffusion von Wasser im Gehirn (modifiziert nach Melhem et al): A zeigt die Diffusion eines Wassermoleküls innerhalb einer stark gerichteten Struktur, während B ein Diffusionsellipsoid mit Darstellung der unterschiedlich starken Bewegungen bei anisotroper Bewegung darstellt. (Melhem et al., 2002)

Abbildung 17: Korrelation der Masse an grauer Substanz in T1-gewichteten morphologischen Daten mit der Methylierung der CGI cg23391006 per multipler Regressionsanalyse; es zeigt sich ein Cluster von 1045 Voxeln bei einer FWE-korrigierten Signifikanz von $p < 0,008$; Projektion des Clusters auf das Gehirn von lateral rechts (o.l.) occipital (o.r.) und cranial (u)

Abbildung 18: Korrelation der Masse an grauer Substanz in T1-gewichteten morphologischen Daten mit der Methylierung der CGI cg23391006 per multipler Regressionsanalyse; Darstellung des Clusters in Transversalschnittebene über mehrere Schnittebenen hinweg (Ansicht von cranial); deutlich zu sehen ist die Ausbreitung im Bereich des rechten Temporalpols ; ebenfalls zur Darstellung kommt ein kleinerer Cluster im Bereich des linken Temporallappens, welcher nach FWE-Korrektur keine Signifikanz mehr zeigte

Abbildung 19: Korrelation der Morphologie der Cortexoberfläche (Gyrifizierung) mit der Methylierung der CGI cg17285225; Darstellung eines FWE-korrigiert signifikanten Clusters ($p < 0,036$) im Bereich der rechten Insula; weiterhin dargestellt ist ein Cluster im Bereich des Gyrus praecentralis, welcher nach FWE-Korrektur keine Signifikanz mehr zeigte

Abbildung 20: grün: FA-Skelett aller Faserbahnen aus den Mittelwerten aller eingeschlossenen Probandinnen; blau/hellblau: Projektion des Clusters mit signifikant ($p < 0,05$, FWE-korrigiert) erniedrigter FA in seinen Anteilen am Fasciculus longitudinalis superior links in Korrelation zum Methylierungsgrad der CGI cg09356330 (Fadenkreuz auf dem Cluster);

Abbildung 21: grün: FA-Skelett aller Faserbahnen aus den Mittelwerten aller eingeschlossenen Probandinnen; rot/orange: Projektion des Clusters mit signifikant ($p < 0,05$, FWE-korrigiert) erhöhter FA in seinen Anteilen an der Forceps minor in Korrelation zum Methylierungsgrad der CGI cg23391006 (Fadenkreuz auf dem Cluster)

Abbildung 22: Darstellung von Cluster 1; Projektion der negativen Korrelation der FA mit Faktor 3; grün: FA-Skelett aller Faserbahnen aus den Mittelwerten aller eingeschlossenen Probandinnen; blau/hellblau: Areale mit signifikant erniedrigter FA ($p < 0,05$, FWE-korrigiert) mit Anteilen an der Forceps minor (29%) und dem linken Cingulum (5%);

Abbildung 23: Darstellung von Cluster 2; Projektion der negativen Korrelation der FA mit Faktor 3; grün: FA-Skelett aller Faserbahnen aus den Mittelwerten aller eingeschlossenen Probandinnen; blau/hellblau: Areale mit signifikant erniedrigter FA ($p < 0,05$, FWE-korrigiert) mit Anteilen an der Forceps minor (84%);

Abbildung 24: Darstellung von Cluster 3; Projektion der negativen Korrelation der FA mit Faktor 3; grün: FA-Skelett aller Faserbahnen aus den Mittelwerten aller eingeschlossenen Probandinnen; blau/hellblau: Areale mit signifikant erniedrigter FA ($p < 0,05$, FWE-korrigiert) mit Anteilen an der Forceps minor (42 %) und dem linken Cingulum (8 %);

Abbildung 25: Darstellung von Cluster 4; Projektion der negativen Korrelation der FA mit Faktor 3 in reiner Transversaldarstellung (Schichtdicke: 1 mm) und in Übersicht; grün: FA-Skelett aller Faserbahnen aus den Mittelwerten aller eingeschlossenen Probandinnen; blau/hellblau: Areale mit signifikant erniedrigter FA ($p < 0,05$, FWE-korrigiert) mit Anteilen am Fasciculus longitudinalis inferior links (50 %) sowie Teilen des Fasciculus fronto-occipitalis links (5 %);

Abbildung 26: Darstellung von Cluster Nr. 5; Projektion der negativen Korrelation der FA mit Faktor 3; grün: FA-Skelett aller Faserbahnen aus den Mittelwerten aller eingeschlossenen Probandinnen; blau/hellblau: Areale mit signifikant erniedrigter FA ($p < 0,05$, FWE-korrigiert) mit Anteilen am Fasciculus fronto-occipitalis inferior rechts (11 %), am Fasciculus longitudinalis superior rechts (3 %), am Fasciculus longitudinalis inferior rechts (3 %) und an der Radiatio thalamici anterior rechts (3 %);

Abbildung 27: Darstellung von Cluster Nr. 6; Projektion der negativen Korrelation der FA mit Faktor 3; grün: FA-Skelett aller Faserbahnen aus den Mittelwerten aller eingeschlossenen Probandinnen; blau/hellblau: Areale mit signifikant erniedrigter FA ($p < 0,05$, FWE-korrigiert) mit Anteilen am Fasciculus fronto-occipitalis inferior rechts (42 %), am Fasciculus longitudinalis inferior rechts (21 %) sowie dem Fasciculus longitudinalis superior rechts (3 %);

Abbildung 28: Darstellung von Cluster Nr. 7; Projektion der negativen Korrelation der FA mit Faktor 3; grün: FA-Skelett aller Faserbahnen aus den Mittelwerten aller eingeschlossenen Probandinnen; blau/hellblau: Areale mit signifikant erniedrigter FA ($p < 0,05$, FWE-korrigiert) mit Anteilen am Fasciculus longitudinalis inferior links (42 %), am Fasciculus fronto-occipitalis inferior links (8 %), am Fasciculus longitudinalis superior links (Haupttrakt 3 %, temporaler Anteil 3 %)

Abbildung 29: Darstellung von Cluster Nr. 8; Projektion der negativen Korrelation der FA mit Faktor 3; grün: FA-Skelett aller Faserbahnen aus den Mittelwerten aller eingeschlossenen Probandinnen; blau/hellblau: Areale mit signifikant erniedrigter FA ($p < 0,05$, FWE-korrigiert) mit Anteilen am Fasc. longitudinalis inferior rechts (32 %) sowie dem Fasciculus fronto-occipitalis inferior rechts (11 %)

Abbildung 30: Darstellung von Cluster Nr. 9; Projektion der negativen Korrelation der FA mit Faktor 3; grün: FA-Skelett aller Faserbahnen aus den Mittelwerten aller eingeschlossenen Probandinnen; blau/hellblau: Areale mit signifikant erniedrigter FA ($p < 0,05$, FWE-korrigiert) mit Anteilen am Fasciculus longitudinalis superior links (Haupttrakt 18 %, temporaler Anteil 16 %)

Abbildung 31: Darstellung von Cluster Nr. 10; Projektion der negativen Korrelation der FA mit Faktor 3; grün: FA-Skelett aller Faserbahnen aus den Mittelwerten aller eingeschlossenen Probandinnen; blau/hellblau: Areale mit signifikant erniedrigter FA ($p < 0,05$, FWE-korrigiert) mit Anteilen am Fasciculus longitudinalis superior rechts (Haupttrakt 18 %, temporaler Anteil 13 %)

Abbildung 32: Darstellung von Cluster Nr. 11; Projektion der negativen Korrelation der FA mit Faktor 3; grün: FA-Skelett aller Faserbahnen aus den Mittelwerten aller eingeschlossenen Probandinnen; blau/hellblau: Areale mit signifikant erniedrigter FA ($p < 0,05$, FWE-korrigiert) mit Anteilen am Fasciculus longitudinalis superior links (Haupttrakt 18 %, temporaler Anteil 16 %)

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: deskriptive Darstellung des Samples; im ersten Abschnitt befinden sich Details bzgl. des Abschneidens der Teilnehmerinnen auf den Achsen des FEB zur späteren Analyse des elterlichen Bindungsstils, und im zweiten Abschnitt die des CTQ, welcher verwendet wurde, um ein etwaiges Risikoprofil durch Umweltfaktoren zu ermitteln.

Tabelle 2: Eingang der einzelnen CpG-Sites in die Bildung der Faktoren (gelb hervorgehoben die CpG-Sites, deren Methylierungsgrad nach Literaturrecherche einzeln analysiert wurde); Extraktion nach *principal component matrix*, Varimaxrotation mit Kaiser Normalisierung.

Tabelle 3: Deskriptive Statistik der verwendeten Covariaten für das vollständige Sample aus 62 Probandinnen; im ersten Abschnitt sind die allgemeinen Parameter aufgeführt (Altersverteilung, Totales intracranielles Volumen (TIV), Anzahl der Probandinnen, deren Testung in Marburg bzw. Münster durchgeführt wurde; Anteil der Raucherinnen bzw. Nichtraucherinnen am Sample (ein positiver Raucherstatus wurde auch dann vergeben, wenn lediglich ein Ex-Nikotinabusus besteht); im zweiten Abschnitt sind die Methylierungswerte der verschiedenen verwendeten Zellreihen aufgeführt: CD8T (CD8-positive T-Zellen), CD4T (CD4-positive T-Zellen), NK (natürliche Killerzellen), Mono (Monocyten) und Gran (Granulocyten)

Tabelle 4: Deskriptive Statistik des reduzierten Samples aus 59 Probandinnen für die DTI-Analysen;

Tabelle 5: Aufstellung der nach FWE-Korrektur signifikanten Analyseergebnisse bezüglich der Korrelation der genweiten Methylierung des OXTR-Gens - dargestellt durch Faktor 3 - und der Integrität der weißen Substanz in den einzelnen Fasertrakten (nach JHU White-Matter Tractography Atlas); zur einfacheren Übersicht wurden die Cluster einzelner analysierter Trakte durchnummeriert; zuletzt die Wholebrain-Analyse.

Tabelle 6: Korrelation der einzelnen Achsen des FEB mit den Methylierungsgraden der zuvor ausgewählten CpG-Sites bzw. berechneten genweiten Methylierungsgraden; die Berechnung der Korrelation erfolgte nach Pearson. Alle statistisch signifikanten ($p < 0,05$) Korrelationen sind farblich hinterlegt, wobei die Korrelation mit höchstem Korrelationskoeffizienten dunkelgrün hinterlegt ist; in cyan sind die weiteren signifikanten Korrelationen hervorgehoben

Summary

Epigenetic factors have gained considerable traction alongside genetic and environmental risk factors in recent studies researching the etiology of psychoses, especially since epigenetics promises to be a link between the other. In this context the oxytocin receptor gene (OXTR) is deemed to be a key element in the development of attachments throughout life, both in interpreting social cues and maintaining interpersonal bonds. Both of which are known to be impeded by psychoses. In this thesis we aimed to uncover correlations between OXTR-methylation and morphological alterations of the brain. Furthermore, the impact of parental bonding of participants was to be assessed by analyzing said bonds and thereby creating a thorough model of the mechanisms that lead from disturbed parental bonding, via epigenetic alteration to morphological correlates.

We recruited 62 healthy candidates from the FOR2107 „Marburg-Münster Affective Disorders Cohort Study“ (MACS) into a high-risk sample and gained epigenetic factors from whole blood via the Illumina Infinium MethylationEPIC BeadChip. In total, 18 CpG-Sites were analyzed, of which - after extensive research - 3 were chosen to be further explored. Furthermore, factor analysis was used to combine the original CpG-Sites into factors; in doing so, a gene-wide approach was also made possible. MR-images of all candidates were acquired for voxel-based morphometrics (VBM, using CAT12 in SPM12), gyrification-analysis (also using CAT12 in SPM12) and diffusion tensor imaging (DTI, using Tract-Based Spatial Statistics (TBSS) in FMRIB Software Library (FSL 5.0.7)). Parental bonding was assessed via the German version of the Parental Bonding Instrument (PBI)

Correlating to increased methylation of single CpGs we found a significant reduction in the cortical grey matter of the superior temporal gyrus (STG) as well as reduced gyrification of the insula. In case of our DTI-analyses we found reduced integrity of cerebral white matter in many fasciculi, including the superior and inferior longitudinal fasciculus (S/ILF), as well as the inferior fronto-occipital fasciculus (IFOF). Regarding parental bonding, increased methylation-values of both factors and single CpGs correlated with axes of the PBI, among others regarding maternal care.

In summary, our findings further substantiate the hypothesis of early childhood bonding affecting brain structure via epigenetic modification, and that especially the OXTR is a prime candidate for this connection. Variations in the cerebral structures we found to correlate with these epigenetic modifications had already been linked with many cases of psychoses.

1. Einleitung

Psychiatrische Erkrankungen, wie beispielsweise die Major Depression Disorder (MDD) oder Schizophrenie (SZ), sind für die Betroffenen und deren Angehörige eine enorme Belastung, sowie ein großer Kostenfaktor für die restliche Gesellschaft (Vogelbacher et al., 2018). Die Erforschung der Ätiologie dieser Erkrankungen, sowie deren anatomischer und physiologischer Korrelate, ist damit anhaltender Gegenstand der Forschung. Zur Weiterentwicklung effektiver Behandlungsstrategien – seien die medikamentöser oder therapeutischer Natur - und erfolgreicher Präventionsmaßnahmen, die langfristig der gesamten Bevölkerung dienen sollen, ist ein genaues Verständnis dieser Erkrankungen erforderlich.

Anstatt nur von einzelnen Genen als Ursache einer spezifischen Erkrankung auszugehen, bezieht man den Einfluss von Umweltfaktoren in die Suche mit ein. Auch diese Umweltfaktoren allein konnten das Auftreten von Erkrankungen nicht erklären, selbst dann nicht, wenn man die Interaktion mehrerer Umweltfaktoren mit einbezog. Somit bildete sich eine multimodale Herangehensweise heraus, die von einer Interaktion genetischer Risikofaktoren mit verschiedenen Umweltfaktoren ausgeht, die das Ausbrechen einer Erkrankung erlauben bzw. die durch ihr Fehlen diese gar nicht erst entstehen lassen. (Uher und Zwicker, 2017)

Dieses Modell erlaubte die Integration von Ansätzen, die für sich allein betrachtet keine zufriedenstellende Erklärung bieten konnten. Misshandlung, Vernachlässigung oder schwere emotionale Verluste stellen beispielsweise einen Umweltfaktor bei der Entstehung psychiatrischer Erkrankungen dar (Heim et al., 2009), aber nicht alle Menschen, die diese Erfahrungen machen, entwickeln auch eine korrespondierende Erkrankung. Nahe Blutsverwandte von Betroffenen wiederum zeigen ebenfalls ein erhöhtes Risiko für das Ausbrechen einer Erkrankung, selbst dann, wenn sich keine entsprechenden Lebensereignisse objektivieren lassen. Dieser Effekt war umso stärker, je mehr Verwandte ersten Grades betroffen waren (Cheng et al., 2018). Biochemische Veränderungen im zentralen Nervensystem (ZNS) von Betroffenen erlaubten wiederum Rückschlüsse auf potenziell veränderte Mechanismen, die zu Veränderungen in Wahrnehmung und Verhalten beitragen, konnten aber allein betrachtet auch keine vollständigen Erklärungen bieten.

Vor diesem komplexen Hintergrund soll das Augenmerk dieser Arbeit auf dem Einfluss der Epigenetik auf die Hirnmorphologie liegen, mit Schwerpunkt auf die Wirkung des Oxytocin-Systems. Der Aspekt der elterlichen Bindung soll hierbei als Rahmen dienen, um einen Kontext für weitere Rückschlüsse zu bieten.

1.1 Morphometrie psychiatrischer Erkrankungen

Auf der Suche nach der Ätiologie von psychiatrischen Erkrankungen liegt ein Hauptaugenmerk auf dem Gehirn, dem Knotenpunkt für Wahrnehmung, Entscheidungsfindung und Handlung, da sich psychiatrische Erkrankungen in Veränderungen dieser Systeme niederschlagen. Ob sich jede Krankheit hier auch in einem morphologischen Korrelat niederschlägt, ist nicht letztendlich geklärt; auch Veränderungen der Neurotransmitter bzw. deren Rezeptoren haben unzweifelhaft einen Einfluss auf o.g. Prozesse. Jedoch sind Anatomie und Physiologie im ZNS so eng verflochten, dass man von einem gegenseitigen Einfluss ausgehen muss. Während sich mit der Zeit einzelne genetische Risikofaktoren für die Entstehung psychiatrischer Erkrankungen herauskristallisierten, so konnte deren Einfluss kaum direkt mit spezifischen Verhaltensmustern verknüpft werden. Es sind stattdessen Mechanismen auf molekularbiologischer und zellulärer Ebene, welche Einfluss auf das Verhalten von Individuen nehmen, indem sie die Struktur und Eigenschaften neuraler Verbindungen beeinflussen (Tost et al., 2012).

Beispielsweise ergaben sich bei der Suche nach der Ätiologie der SZ Korrelationen zwischen neuromotorischen Auffälligkeiten (sakkadierenden Augenbewegungen, Störungen der Augenfolgebewegungen und Dysmetrie) und Positivsymptomen (Wahn, Halluzination, Denkstörungen). In diesem Rahmen fand man auch hirnmorphologische Veränderungen, wie u.a. veränderte Volumina im Bereich des Hippocampus oder dem präfrontalen Cortex. Letztendlich ist die Ätiologie einer so vielschichtigen Erkrankung wie der SZ zu komplex, um sie ausschließlich an neuroanatomischen Veränderungen oder einzelnen Mutationen festzumachen. Es lässt sich jedoch nicht leugnen, dass morphologische Veränderungen auftreten; ein besseres Verständnis dieser Veränderungen (Ursache vs. Folge der Erkrankung) verbessert letztendlich auch unser Verständnis für die Erkrankung selbst, und kann damit dazu beitragen, dass Therapien effizienter werden (Rich und Caldwell, 2015). Und indem man die Mechanismen sozialer und genetischer Risikofaktoren für das Gehirn aufdeckt, erhofft man sich Ansatzpunkte für individualisierte Behandlungs- und Präventionsmaßnahmen (Meyer-Lindenberg und Tost, 2012).

Damit ergeben sich zweierlei Rückschlüsse: Verhaltensweisen bzw. pathologische Phänotypen korrelieren mit neuromorphologischen Veränderungen, und genetische Risikofaktoren, die mit psychiatrischen Erkrankungen korrelieren, bewirken auf zellulärer Ebene Veränderungen im Gehirn, die dessen Struktur verändern. Somit ist die Suche nach hirnmorphologischen Veränderungen ein weiterer Baustein in der Ätiologieforschung der psychiatrischen Erkrankungen.

1.2 Grundlagen der Epigenetik

Der Begriff der Epigenetik beschreibt intrazelluläre Prozesse, die die Expression von Genen beeinflussen, ohne die Basensequenz der DNA zu verändern (Berger et al., 2009). Die Epigenetik übt somit Einfluss auf den Phänotyp von Zellen aus - auch über mehrere Zellgenerationen hinweg - und kommt ohne direkte Veränderungen am genetischen Code aus. Der Sinn dieses Prozesses liegt in der Mehrzelligkeit komplexerer Organismen und deren zunehmender Organspezialisierung. Alle Zellen eines Organismus sind Abkömmlinge der ursprünglichen Zygote; diese benötigte noch die Fähigkeit, alle verschiedenen Arten von Körperzellen hervorbringen zu können (totipotente Stammzelle). In den folgenden Zellgenerationen schränkte sich aber der Bedarf nach dieser „Totipotenz“ immer weiter ein: Ein Hepatocyt muss keine Neurotransmitter synthetisieren, eine Muskelzelle keinen CFTR-Chloridkanal exprimieren. Und doch hat jede Zelle, zumindest theoretisch, die Möglichkeit, jedes einzelne Genprodukt zu bilden und zu integrieren. Hätte jede Zelle unentwegt uneingeschränkten Zugang zu allen Genen würde sich das Risiko für das Ablesen falscher Gene und damit unerwünschter Funktionen exponentiell vergrößern.

Durch epigenetische Prozesse lassen sich nicht benötigte Gene „abschalten“ oder „maskieren“, sodass eine Translation dieser Gene unwahrscheinlich wird. Somit spielt die Epigenetik eine entscheidende Rolle bei der Frage, wie Zellidentität definiert wird; während der genetische Code in allen Zellen fast vollkommen identisch ist (ausgenommen natürlich Mutationen, die im Laufe eines Lebens angehäuft werden), so unterscheidet sich die epigenetische Ausstattung der Zellen von Gewebe zu Gewebe abhängig von Umweltfaktoren, wie beispielsweise Ernährung oder Stress (Bjornsson et al., 2008). Experimente mit dem Ziel, die Identität einer Zelle durch Austausch des Zellkerns zu beeinflussen, zeigten, dass dieser die Identität der Zelle weitgehend unabhängig vom Zellsoma bestimmt. Auch wenn die genetische Ausstattung von altem und neuem Zellkern identisch war, so bestimmte dessen epigenetische „Programmierung“, und nicht die zuvor gebildeten Transkriptionsfaktoren, die Identität der Zelle. Passend zur dieser organspezifischen „Programmierung“ ist das epigenetische Profil einer Zelle langfristig stabil, und bereits während der Replikation der DNA laufen Prozesse ab, die neben der Kopie der Basensequenz auch eine Kopie der Methylierungsmuster erlauben (Cedar und Bergman, 2012).

Zwei der am meisten charakterisierten epigenetischen Markierungen sind DNS-Methylierungen und Histonmodifikationen, wobei die wichtigste epigenetische Veränderung die Methylierung von Cytosin als Nukleobase der DNS ist (Bogdanović und Lister, 2017). Diese biochemischen Veränderungen behindern die Bindung von

Transkriptionsfaktoren an die DNA. Dies geschieht entweder direkt durch eine Störung der Bindung durch die Methylgruppen selbst, oder indirekt durch verstärkte Bindung von Proteinen an besagte Methylgruppen (Bird, 2002), wodurch eine Bindung von Transkriptionsfaktoren unterbunden wird (Abb. 1).

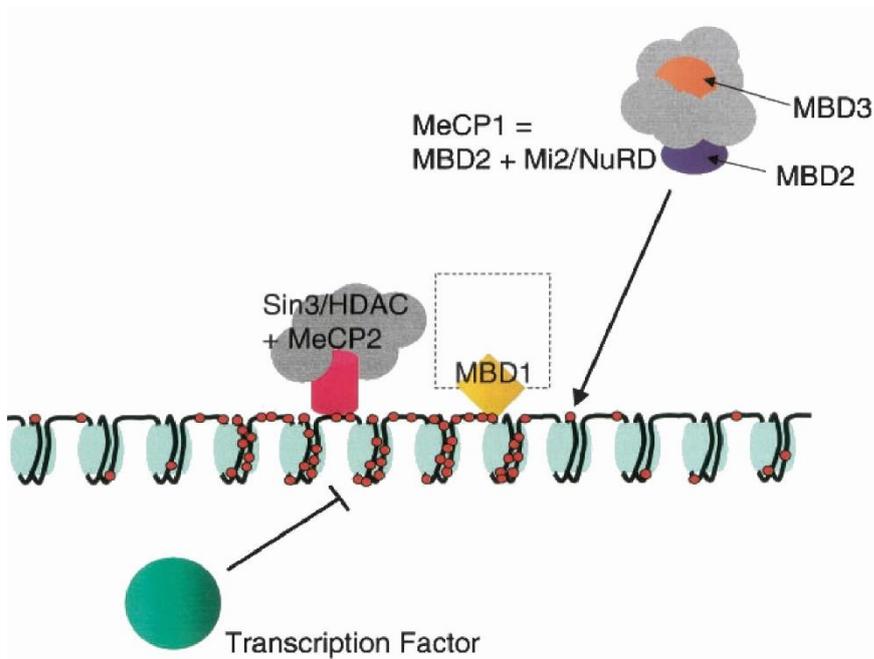


Abbildung 1: Methylierung behindert die Bindung von Transkriptionsfaktoren (modifiziert nach Bird et al); die Methylierung (rot) entlang eines DNS-Strangs (schwarz) hindert den Transkriptionsfaktor (grün) daran, erfolgreich an die Transkriptionsstelle zu binden; oberhalb des DNA-Strangs sind Proteine/Proteinkomplexe abgebildet, die durch den Methylierungsstatus der DNA angezogen werden (MeCP-Komplex, MBD) (Bird, 2002)

Darüber hinaus wirken aber noch andere Mechanismen der Methylierung auf die DNS; es wurde bereits mehrfach beschrieben, dass das Methylierungsmuster auch auf die Superstruktur der DNS wirkt, womit gewisse Genabschnitte einfach nicht zugänglich sind (Cedar und Bergman, 2012). Dies sollte jedoch nicht mit der Histonmodifikation verwechselt werden, die zwar auch ein epigenetischer Prozess ist, und sich auch auf die Chromatinstruktur auswirkt, aber ein biochemischer vollkommen anderer Prozess ist als die Methylierung von DNA-Abschnitten. Es lässt sich somit vermuten, dass die Methylierung von DNA-Abschnitten vor allem der „Stilllegung“ von Genen dient (sog. *silencing*), was auch mehrfach gezeigt werden konnte, wohingegen Gene, die in jeder Körperzelle benötigt werden (sog. *housekeeping genes*), nie methyliert vorgefunden wurden (Cedar und Bergman, 2012) (Chatterjee und Vinson, 2012).

Die epigenetische Markierung von Cytosin durch Methylierung hat – entgegen dem Prinzip der Epigenetik – aber auch dauerhafte Folgen für den genetischen Code. Wie alle Bestandteile der DNS kann auch ein Cytosin-Phosphat-Guanosin-Dinukleotid (CpG-

Site, zwei in 5'-3'-Richtung benachbarte Basen der DNA) spontanen Schädigungen und Veränderungen unterworfen sein, die durch Reparaturprozesse der Zelle korrigiert werden können. Eine solche spontane Veränderung ist die Desaminierung einer Base, was beispielsweise im Falle von Cytosin dazu führt, dass sich nun Uracil in der DNA befindet (Illingworth und Bird, 2009). Dieser Baustein ist eigentlich kein Bestandteil der DNA und wird, passend zum gepaart liegenden Guanosin, für gewöhnlich rasch durch Cytosin ersetzt – der Fehler ist behoben.

Handelt es sich bei dem spontan desaminierten Cytosin jedoch um eine methylierte Variante, so ist das neue Produkt Thymin, eine andere Base der DNA. Diese zwei Möglichkeiten der Desaminierung von Cytosin können unterschiedliche Folgen bei der Reparatur der DNA haben. Während im Falle eines demethylierten Cytosins das entstandene Uracil – welches eigentlich nur Teil der RNA ist – schnell als fremd erkannt und durch ein neues Cytosin ersetzt wird, so ist der Fall des methylierten Cytosins folgenreicher. Denn das entstandene Thymin ist selbst eine valide Base der DNA, sodass die Möglichkeit besteht, dass der Reparaturmechanismus das gegenüberliegende Guanosin durch Adenin ersetzt.

Auf diese Weise kann es zu einer dauerhaften Veränderung der DNA kommen: aus einer CpG-Site wurde eine TpG-Site, welches jedoch auch sonst in der DNA vorkommt, sodass die Mutation nicht als solche erkannt wird. Dieser spontane Prozess führt dazu, dass CpG-Dinukleotide im Laufe der Evolution immer mehr aus dem Genom verschwanden, sodass sie heute einen statistisch auffällig kleinen Anteil des Genoms insgesamt ausmachen (Illingworth und Bird, 2009) (Chatterjee und Vinson, 2012).

Die auffällige Ausnahme dieses Umstandes sind die CpG-Islands (CGIs), welche eine im Vergleich zu anderen Genabschnitten hohe Dichte an CpG-Sites aufweisen (Illingworth und Bird, 2009). Diese Bereiche sind passenderweise dadurch gekennzeichnet, dass sie meist nicht methyliert vorliegen (Deaton und Bird, 2011). Dies deckt sich mit der bereits erwähnten Tatsache, dass wichtige Gene des alltäglichen Zellbedarfs unmethyliert vorliegen, da CGIs in einem Großteil von Promotorregionen von Säugern auftreten (Fatemi et al., 2005).

Die Funktion von CGIs im Genom von Säugetieren, insbesondere in ihrer regulatorischen Eigenschaft in Promotorregionen von Housekeeping-Genes, wird daher häufig in Verbindung mit der Entstehung komplexerer Lebensformen gesehen, die einen größeren Bedarf an Modulationsmechanismen auf Zellebene haben.

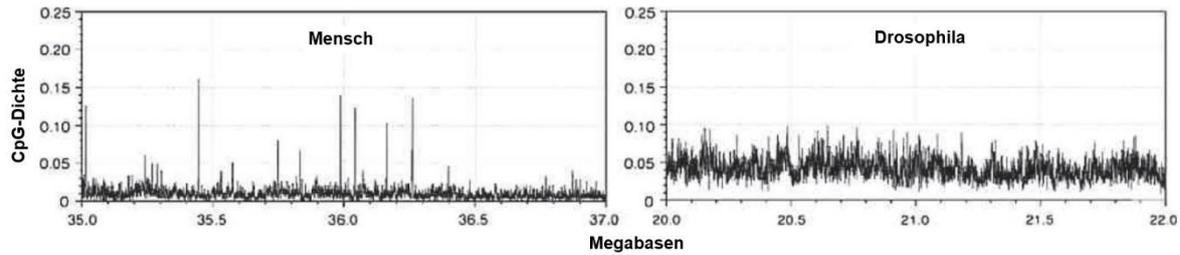


Abbildung 1: Ein direkter Vergleich der CpG-Dichte auf Chromosomen des Menschen und *Drosophila melanogaster* (modifiziert nach Chatterjee und Vinson et al): Man beachte die insgesamt geringere Dichte an CpGs im menschlichen Genom bei gleichzeitigen Extremwerten im Rahmen von CGIs, die bei *D. melanogaster* nicht beobachtet werden. Dies verdeutlicht einerseits den Evolutionsdruck, der auf CpGs lastet, aber gleichzeitig auch die Bedeutung, die CGIs insgesamt zukommt. (Chatterjee und Vinson, 2012)

1.3 Das Oxytocinsystem

Oxytocin (OXT) besteht aus neun Aminosäuren (Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly-NH₂), wobei eine Schwefelbrücke als Verbindung zwischen den beiden Cysteinen dient und dem Hormon eine Ringstruktur verleiht. In seiner Struktur ähnelt OXT einem anderen Neuropeptid, dem Vasopressin, sehr, welches sich lediglich in zwei Aminosäuren unterscheidet. Beide sind hochgradig konservierte Neuropeptide, die in ähnlicher Form auch über mehrere biologische Stämme hinweg, bis hin zu den Fadenwürmern, auftreten und das Sozialverhalten dieser Spezies beeinflussen (Yamashita und Kitano, 2013) (Carter, 2014)(Kirsch, 2015)(Caldwell, 2017); hierbei ist ebenfalls zu erwähnen, dass die neuronalen Strukturen anderer Spezies, die vermehrt OXT exprimieren, evolutionär mit denen des Menschen vergleichbar sind (Knobloch und Grinevich, 2014).

Nicht nur die Struktur und die Syntheseorte von OXT sind über viele Evolutionsstufen hinweg weitgehend unverändert geblieben, sondern auch seine Wirkung. Über viele Spezies hinweg kann eine ähnliche Auswirkung von OXT auf das Sozialverhalten beobachtet werden, was OXT den Laiennamen "Kuschelhormon" eingebracht hat (Olf et al., 2013)(Caldwell und Albers, 2016). Wühlmäuse und andere Nagetiere werden in Tierversuchen mit OXT gerne herangezogen, da sie eine große Bandbreite an Sozialverhalten zeigen können, von extremem Einzelgängertum bis hin zu komplexen sozialen Familienstrukturen und monogamen Partnerbeziehungen. Hierbei zeigt sich insbesondere in weiblichen Tieren eine verstärkte Neigung zur monogamen Beziehung bei erhöhten OXT-Spiegeln, welche wiederum durch gezieltes Applizieren von Antagonisten beendet werden kann. Dies deckt sich mit speziesübergreifenden Studien, die zeigen konnten, dass es insbesondere die Arten mit durchschnittlich höheren OXT-Spiegeln sind, die monogame Beziehungen bilden (Pitkow et al., 2001). Weiterhin binden sich die Wühlmäuse nach Applikation von OXT deutlich schneller an

nur einen Partner, als sie es unter natürlichen Bedingungen täten; dieses Verhalten konnte wiederum durch OXT-Antagonisten aufgehoben werden (Adkins-Regan, 2009). An Schafen konnte gezeigt werden, dass die Applikation von Oxytocin zu vermehrtem mütterlichen Verhalten führt (suchen aktiv die Nähe zu ihren Lämmern, Protest bei Entfernung, vermindertes aggressives Verhalten, stärkere Fellpflege) (Kendrick et al., 1987). In einem Laborversuch mit Ratten erhielten diese Microinjektionen mit einem OXT-Antagonisten, woraufhin die behandelten Tiere ein vermindertes Aufzuchtverhalten gegenüber ihren Jungen zeigten (Caldwell und Albers, 2016).

Die meisten Zellen, die OXT produzieren, sind im Hypothalamus angesiedelt, v.a. im Ncl. paraventricularis (PVN) und dem Ncl. supraopticus (SON) (Carter, 2014) (Rich und Caldwell, 2015). Aber auch andere Regionen können in parvozellulären Komplexen OXT synthetisieren, beispielsweise die Amygdala (Borland et al., 2019). Interessanter als die Syntheseorte von OXT sind jedoch die Projektionen dieser Zellen. Ein Großteil des OXT wird zur Hypophyse transportiert, wo es in Vesikeln gespeichert wird, um später in den Blutkreislauf abgegeben zu werden. Neben dieser neuroendokrinen Achse besteht jedoch auch die Möglichkeit von OXT als Neuropeptid zu wirken. In diesem Rahmen besteht einerseits die Möglichkeit der dendritischen Freisetzung mit unmittelbarer Wirkung auf die umgebenden Zellen. Andererseits bestehen auch direkte Projektionen zu anderen Regionen, wie der Amygdala, dem Hippocampus, dem Ncl. accumbens, dem Striatum und der Insula (McDonald et al., 2016). Dies deckt sich auch mit den bekannten Expressionsorten des Oxytocinrezeptorgens (OXTR) sowie Arbeiten, die diese Areale im Zusammenhang mit Bindungsverhalten sahen (Kirsch, 2015). Im PVN beispielsweise kommen verschiedene neuronale Leitungswege zusammen, die mit der Stressachse (Hypothalamus-Hypophyse-Nebenniere) zusammenhängen. In diesem Rahmen wurde postuliert, dass OXT zeitgleich als Gegenmaßnahme ausgeschüttet wird, um übermäßige negative Effekte von Stress zu kompensieren (Carter, 2014).

Bis heute wurde nur ein Rezeptor für OXT nachgewiesen; (Carter, 2014) dieser besteht aus 7 die Zellmembran durchspannenden Proteinen und ist ein G-Protein-gekoppelter Rezeptor (Caldwell, 2017). Sowohl Oxytocinrezeptoren als auch Vasopressinrezeptoren werden v.a. in Regionen exprimiert, die das Sozialverhalten regulieren. Besonders ist hier das limbische System hervorzuheben, v.a. Amygdala und Ncl. Accumbens, (Dannlowski et al., 2016), jedoch auch das dorsale Cingulum, das Striatum und der Hypothalamus (Schneider-Hassloff et al., 2016). Hierbei ist wiederum der Blick auf die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse und das vegetative Nervensystem (Carter, 2014) interessant, was es OXT erlaubt direkten Einfluss auf das Stresserleben zu nehmen.

Auch die Projektionen der oxitocinergen Neurone fügen sich in das Bild des „sozialen Hormons“ ein. Patienten mit selektiven, beidseitigen Amygdalaläsionen zeigten in Testungen bzgl. ihrer Lernfähigkeit keinerlei Veränderungen, wenn ihnen ein sozialer Verstärkungsfaktor präsentiert wurde. Dagegen zeigten ProbandInnen ohne derartige Schäden eine verbesserte Leistung, wenn ein solcher Faktor anwesend war, und unter OXT-Therapie noch einmal weiter verbesserte Leistungen. Dies lässt darauf schließen, dass die Amygdala als Endziel der OXT-Wirkung essentiell für die prosozialen Effekte von OXT ist (Hurlemann et al., 2010). Dies wird dadurch untermauert, dass fMRT-Bildgebung zeigte, dass die Amygdala durch entgegengebrachtes Vertrauen aktiviert wird, und dieser Effekt durch zusätzliche Applikation von OXT verstärkt werden kann (Rilling et al., 2012).

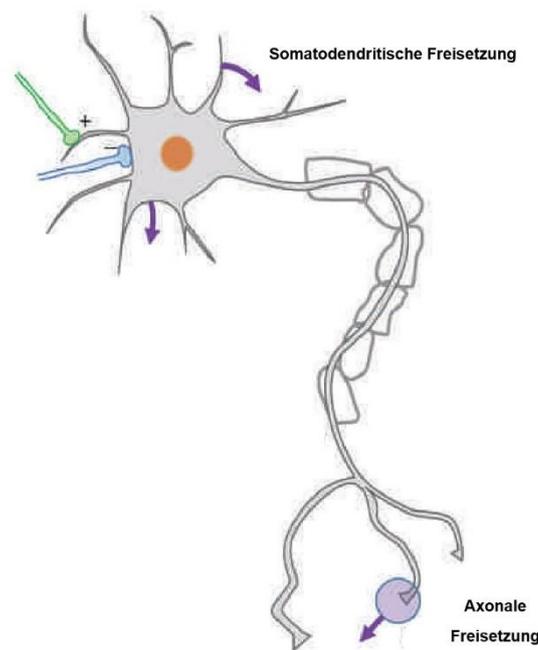


Abbildung 3: Ausschüttung von Oxytocin aus Neuronen (modifiziert nach Caldwell et al): OXT wird nicht nur klassisch axonal ausgeschüttet (lila Kreis), sondern teils auch dendritisch freigesetzt (lila Pfeil); auf diese Weise wird eine deutlich größere Zahl von Neuronen beeinflusst, dies jedoch auf diffusere Weise als durch klassische axonale Freisetzung (Caldwell, 2017)

Da es neben der klassischen axonalen Signalwirkung von OXT auch eine lokale, diffuse Ausschüttung gibt (s. Abb. 3), nimmt man an, dass somit eine allgemeinere/diffusere Wirkung auf mehrere Systeme angestrebt wird. Dies deckt sich mit der Hypothese, dass soziale Interaktion als komplexer Prozess nicht von einem einzigen Hirnareal ausgeht, sondern ein Zusammenspiel mehrerer Bereiche ist, die erst in ihrem Zusammenwirken vielfältige Soziale Reaktionen erlauben (Caldwell und Albers, 2016). Vielmehr geht man aktuell von einer komplexeren Verbindung mehrerer kortikaler und subkortikaler Strukturen aus, die erst durch ihr Zusammenspiel soziales Handeln erlauben. Dieses

Social Behaviour Neural Network (SBNN) ist dadurch gekennzeichnet, dass seine Bestandteile intensiv miteinander kommunizieren, unter hormonalem Einfluss stehen – unter anderem auch OXT - und über viele Säugetierspezies hinweg in ähnlicher Form bestehen. Und über diese Speziesgrenzen hinweg war das SBNN immer wieder an Aggression, Sexualverhalten, elterlichem Verhalten und Kommunikation im sozialen Umfeld beteiligt (Eslinger et al., 2021).

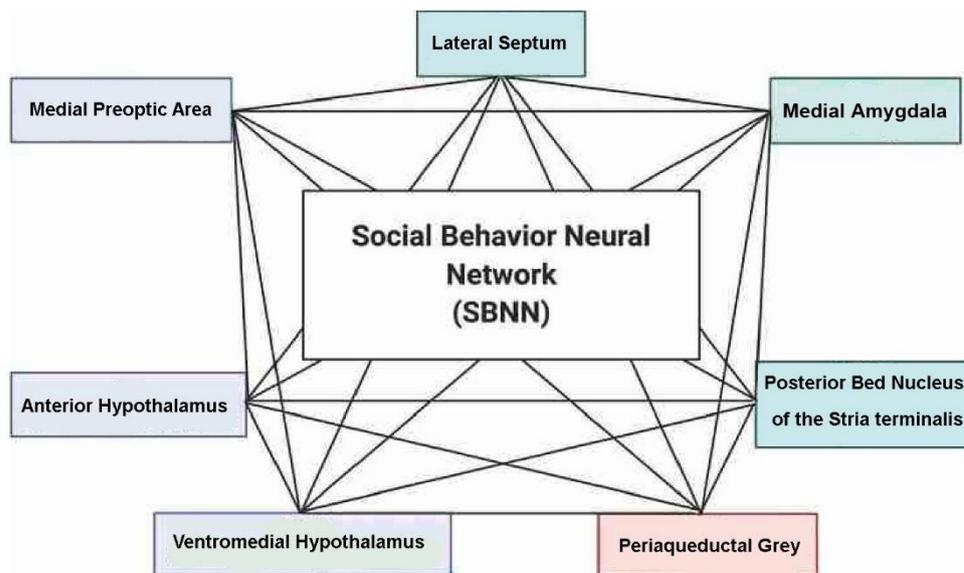


Abbildung 4: Schematische Darstellung des Social Behaviour Neural Network (modifiziert nach Eslinger et al): das SBNN ist eine über mehrere Säugetierspezies hinweg bestehende neuronale Struktur, die heute maßgeblich als Quelle der Entscheidungsfindung in sozialen Situationen angesehen wird; zwischen allen ihren Bestandteilen besteht eine exzessive hormonelle und neuronale Kommunikation (Eslinger et al., 2021)

Dieser soziale Aspekt ist für den Menschen entscheidend. Der Mensch profitiert – wie auch viele andere Spezies - enorm von der Zusammenarbeit in der Gruppe, was es evolutionär nötig machte, ein fein abgestimmtes System aus Signalen innerhalb der Gruppe zu etablieren. (Carter, 2014) In Abhängigkeit von Umwelt und Situation muss das Individuum in der Lage sein, anderen Mitgliedern seiner Gruppe eindeutige Signale zukommen zu lassen, und diese Mitmenschen müssen diese Signale wiederum interpretieren können (Caldwell, 2017). OXT dient hierbei als einer der entscheidenden Mediatoren, sowohl in der Regulierung der eigenen Emotionen, und damit auch der zu sendenden Signale, als auch in der Interpretation von Stimuli.

Testungen an Paaren zeigten, dass Individuen mit höheren OXT-Spiegeln mehr positive Kommunikation betrieben als solche mit niedrigeren Spiegeln. Dazu passend beschrieben Individuen, die mit einer Herausforderung konfrontiert wurden, in Anwesenheit ihrer Partner mehr moralische Unterstützung durch diese bei gleichzeitig höheren OXT-Spiegeln (Gouin et al., 2010).

Aufgrund seiner Regulationsfunktionen in sozialen Kontexten und emotionalen Situationen stellt sich die Frage nach dem Einfluss von OXT auf Erkrankungen mit Beeinträchtigungen dieser Funktionen. Im Falle des Williams-Beuren-Syndroms, einer Mikrodeletion des Chromosoms 7, die sich durch ausgesprochene Freundlichkeit gegenüber Fremden, einer geselligen Persönlichkeit, jedoch auch erhöhter Ängstlichkeit auszeichnet, wurde die Frage nach dem Einfluss von OXT gestellt. Es zeigte sich, dass PatientInnen mit Williams-Beuren-Syndrom nicht nur höhere Grundspiegel von OXT aufwiesen, sondern auch einen höheren Anstieg im Rahmen von positiven und negativen Stimuli zeigten. Da man zuvor bereits eine verstärkte Aktivierung der Amygdala im Rahmen des Williams-Beuren-Syndrom festgestellt hatte, und bekannt war, dass OXT bei der Regulierung der Amygdala eine entscheidende Rolle spielt, lag die Hypothese auf der Hand, dass durch die genetische Mutation der Erkrankung womöglich auch das OXT-System beeinflusst wird (Dai et al., 2012).

Höhere OXT-Spiegel in ProbandInnen konnten auch mit einer höheren Spendebereitschaft für soziale Projekte korreliert werden (Marsh et al., 2015). Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass soziale Faktoren das Lernverhalten von Individuen verbessern (bspw. das Bild eines lächelnden Menschen als Feedback einer richtigen Antwort im Vergleich zu einem grünen Licht). Dieser Effekt konnte noch einmal verstärkt werden, wenn ProbandInnen vor Beginn der Testung intranasal OXT appliziert wurde (Hurlemann et al., 2010). Nach intranasaler Applikation zeigten ProbandInnen unter anderem erhöhte Kooperationsbereitschaft, ein höheres Maß an Vertrauen gegenüber Unbekannten und vermehrt prosoziales Verhalten (Rilling et al., 2012) (Caldwell, 2017).

In einem Doppelblind-Investorenversuch mit echtem monetärem Risiko konnte gezeigt werden, dass durch die nasale Applikation von OXT das Verhalten von Menschen gegenüber Fremden moduliert werden kann. Im Vergleich zur Placebo-Gruppe zeigten die ProbandInnen, welche OXT erhalten hatten, eine erhöhte Bereitschaft einem Fremden ihr Geld anzuvertrauen, wenn die Möglichkeit besteht, dass dieser ihnen später eine größere Menge zurückgibt. Weiterhin zeigten diese Fremden unter Einfluss von OXT auch eine erhöhte Bereitschaft ihre Gewinne tatsächlich mit dem Investor zu teilen (Kosfeld et al., 2005). OXT ist also in der Lage, unser Vertrauen in Fremde zu erhöhen, aber auch die Gegenseitigkeit dieses Vertrauens zu verstärken. In einem ähnlichen Versuch zeigten sich ProbandInnen nach intranasaler Applikation von OXT im Vergleich zu einer Kontrollgruppe spendenbereiter. Es lässt sich damit vermuten, dass OXT die SpenderInnen eher über die Konsequenzen ihres Handelns nachdenken lässt; sie versetzen sich eher in die Lage ihres Gegenübers, der angesichts ihres Angebots enttäuscht sein könnte. OXT wird daher als Modulator der Empathie

angesehen (Zak et al., 2007). Innerhalb verschiedener altruistischer Motivationen kann interessanterweise angefügt werden, dass nasal appliziertes OXT das Spendenverhalten verschiebt. Nach Applikation von OXT und nach Präsentation von 2 Möglichkeiten der Spende (sozialer Zweck vs. ökologischer Zweck) konnte zwar keine erhöhte Spendebereitschaft im Vergleich zur Placebogruppe festgestellt werden, jedoch verschob sich die Geldmenge hin zu pro-sozialen Spenden. Dies deutet darauf hin, dass OXT altruistische Tendenzen zugunsten möglichst direkter, zwischenmenschlicher Effekte verschiebt (Marsh et al., 2015).

Wenn man alle diese Effekte zusammen betrachtet, bildet sich damit ein deutlicher sozialer Benefit für die Gruppe heraus: erst die Förderung von Vertrauen und Kooperation, bei gleichzeitiger Herunterregulierung von Angst, erlaubt ein friedliches Miteinander. Und erst dieses ermöglicht es der Gruppe echten Zusammenhalt zu zeigen, von dem am Ende jedes einzelne Individuum der Gruppe profitiert (Carter, 2014).

Die Auswirkungen von OXT sind jedoch weniger linear, als es von Laien meist verstanden wird. Es zeigt sich viel mehr ein komplexes Zusammenspiel verschiedener Faktoren bei der Bildung einer sozialen Antwort, bei welcher OXT definitiv eine Rolle spielt, jedoch immer auch in Abhängigkeit von Persönlichkeitsstrukturen, sozialem Kontext oder auch dem Geschlecht der Untersuchten (Caldwell, 2017). Auch genetische Polymorphismen an OXT und OXTR zeigten in verschiedenen Studien nicht immer dieselben Auswirkungen, teils sogar gegensätzlichen Einfluss auf das Sozialverhalten der Untersuchten (McDonald et al., 2016). Erneut wurde durch intranasal appliziertes OXT untersucht, ob sich die Gefühlswelt der ProbandInnen veränderte. Hierbei zeigte sich, dass unter dem Einfluss von OXT Gefühle von Neid und Schadenfreude verstärkt waren. Dies unterstützt die Theorie, dass OXT weniger ein Auslöser der oben erwähnten Effekte ist, sondern vielmehr zu einer Verstärkung der im Kontext vorherrschenden Emotionen führt. Dies deckt sich mit Tierversuchen, die nicht nur verstärktes Aufzuchtverhalten unter Einfluss von OXT beobachteten, sondern auch vermehrte Aggressivität gegenüber Fremden und Eindringlingen (Shamay-Tsoory et al., 2009).

Da nun der Einfluss von OXT auf Denkmuster und Verhalten dargelegt wurde, stellt sich die Frage, ob es damit auch ein entscheidender Mediator im Rahmen von psychiatrischen Erkrankungen ist. Erkrankte zeigen häufig einen gestörten Umgang mit ihrer Umwelt und/oder eine verschobene Wahrnehmung in Bezug auf Verhalten und Signale anderer, sodass eine Korrelation schon früh angedacht wurde.

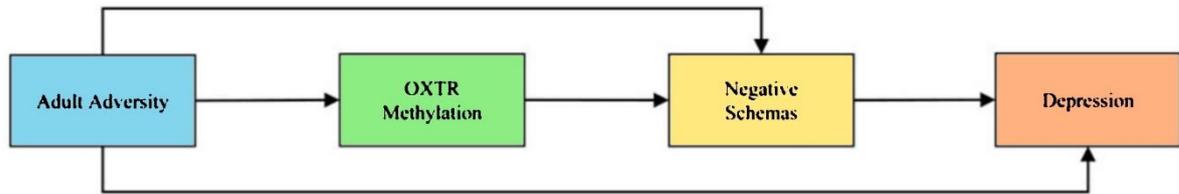


Abbildung 5: Modell zur Beeinflussung von Denkschemata durch OXTR-Methylierung (modifiziert nach Simons et al); Simons et al erweitern das Modell der Entstehung der Depression (rot) um die OXTR-Methylierung (grün), die durch negative Erlebnisse (blau) beeinflusst wird und letztendlich – durch die Beeinflussung der Wahrnehmung – zur Entstehung negativer Denkschemata (gelb) beitragen kann. (Simons et al., 2017)

Beispielsweise ging man davon aus, dass im Rahmen einer MDD die positiven Effekte, die Applikationsstudien mit OXT an ProbandInnen nachgewiesen hatten, als direkte Gegensätze zu den Kernfaktoren negativer Denkschemata von PatientInnen mit MDD gesehen werden können (negativer Eindruck von sich selbst und anderen, sowie negativer Ausblick in die Zukunft). Daher erscheint es logisch einen Einfluss des OXT-Systems auf Entstehung und Unterhaltung der MDD anzunehmen.

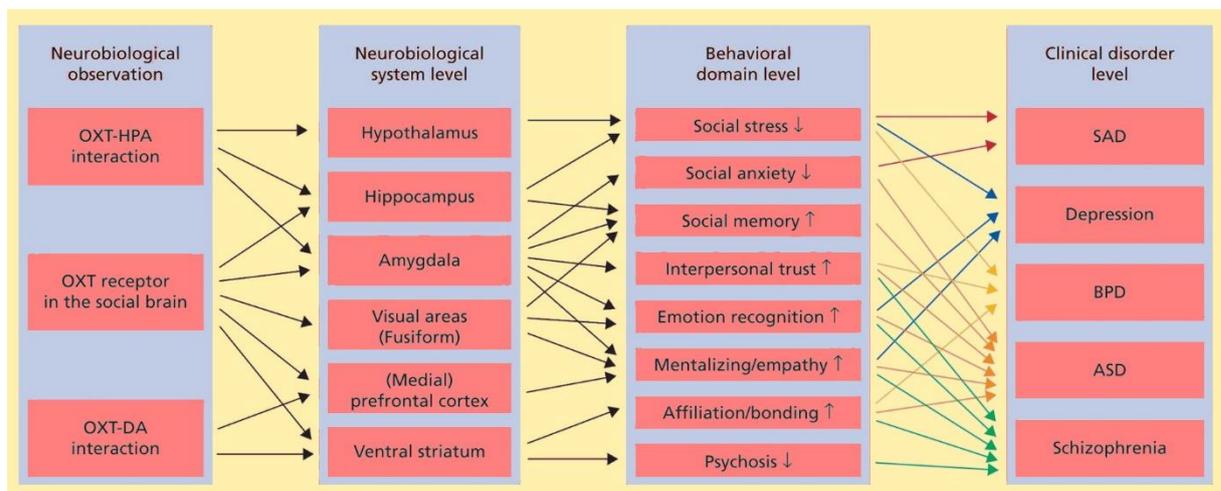


Abbildung 6: Oxytocin und seine Wirkung auf Hirnregionen mit konsekutiver Wirkung und angenommener Beeinflussung verschiedener psychiatrischer Krankheitsbilder (modifiziert nach Kirsch et al): Die Verschiedenen Wirkungsweisen von OXT (erste Spalte links) beeinflussen mehrere neuronale Regionen (zweite Spalte von links) mit entsprechendem Einfluss auf Verhalten und Wahrnehmung (dritte Spalte von links); diese Einflussmöglichkeiten lassen OXT als einen weiteren Kandidaten bei der Entstehung und im Symptomkomplex von psychiatrischen Erkrankungen erscheinen (ASD = Autismusspektrum-Störungen; BPD = Borderline-Persönlichkeitsstörung; DA = Dopamin; HPA = Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse; SAD = Social Anxiety Disorder) (Kirsch, 2015)

Und auch PatientInnen mit bipolarer Störung (BPD), die schlechtere emotionale Selbstkontrolle, Überempfindlichkeit gegenüber sozialen Signalen und schlechterer Verarbeitung von Stress zeigten, boten sich bei der Untersuchung des OXT-Systems an,

und zeigten auch sowohl geringere Basalspiegel von OXT, als auch insgesamt eine geringere Ausschüttung (Bertsch et al., 2013) (Jobst et al., 2014).

Viele medikamentöse antipsychotische Therapieansätze zielen auf das dopaminerge System ab, um psychotische Symptome abzuschwächen. Da OXT und das dopaminerge System in Verbindung stehen kann ein Einfluss des Oxytocin-Systems nicht ausgeschlossen werden (Kirsch, 2015).

1.4 Elterliche Bindung

OXT kristallisierte sich also als Kernfaktor bei der Wahrnehmung und Entscheidungsfindung im Verhältnis zu anderen heraus, und zeigte in diesem Rahmen auch Korrelationen mit einigen der prominentesten psychiatrischen Erkrankungen. Bei der Frage nach der Ätiologie psychiatrischer Erkrankungen kann eine Korrelation mit Bindung als Umwelteinfluss - v.a. Bindungen traumatischer Natur - nicht von der Hand gewiesen werden. Beispielsweise beschreiben ca. 80% der PatientInnen mit Borderline Personality Disorder (BPD) Misshandlung in der Kindheit (Bertsch et al., 2013). Eine der vulnerabelsten Phasen in der menschlichen Entwicklung ist die Kindheit, und in dieser Phase ist die Beziehung zu den eigenen Eltern die stärkste, die ein Kind hat. Damit kommt im Rahmen der Frage nach OXTs Rolle bei der Entstehung von psychiatrischen Erkrankungen dieser speziellen Beziehung eine besondere Aufmerksamkeit zugute.

Die meiste Entwicklung des menschlichen Neocortex findet, wie bei den meisten Säugern, nach der Geburt statt. In dieser Phase ist der junge Mensch vollständig von seinen Fürsorgern abhängig, und in dieser Phase spielen Bindungen zu diesem eine essentielle Rolle. Man kann daher annehmen, dass das Erlernen von Bindungsstilen und sozialen Fähigkeiten in dieser Phase geprägt wird (Carter, 2014). Durch die andauernde Interaktion mit ihrem Kind greifen Eltern in dessen Entwicklung ein, interpretieren dessen Signale, und formen dessen Umgang mit der Welt. Hierbei ist v.a. zu bemerken, dass Eltern eine Resonanz auf das Verhalten der Kinder zeigen, und das Kind durch diese erlernt, welches Verhalten in welchem Fall angebracht ist und wie man adäquat auf die Signale anderer eingeht (Feldman, 2007). Dies verdeutlicht die Auswirkung der Interpretation von Signalen auf alle nachgeschalteten Schritte menschlichen Verhaltens. Und erneut ist es OXT, dass in diesen Bereichen bereits ein Einflussgeber herausgearbeitet wurde.

Genetische Polymorphismen und epigenetische Veränderungen des OXTR tragen zu unterschiedlichen Verhaltensmustern bei Individuen bei, und beeinflussen auch den Umgang mit Herausforderungen über das gesamte Leben hinweg. Dies macht OXT zu

einem idealen Anschauungsobjekt bei der Frage nach Resilienzfaktoren, und auch bei der Betrachtung von Umweltfaktoren im Größeren (Carter, 2014).

Zusammengefasst: Die Bindung zu den Eltern findet in einer kritischen Phase der Entwicklung statt, und prägt somit die soziale Entwicklung der Nachkommen. Hierbei ist OXT das neurophysiologische Korrelat dieser Prozesse. Wie bereits erwähnt, liegt der evolutionäre Vorteil in diesem System in seiner Fähigkeit, das Miteinander in der Gruppe positiv zu beeinflussen, um somit die Lebensumstände darin zu verbessern. Dies gipfelt in der Empathie, der wohlwollenden, im wahrsten Sinne „mit-fühlenden“, Reaktion auf das Verhalten anderer.

Empathie setzt voraus, dass man den emotionalen Ausdruck des Gegenübers versteht und korrekt zuordnen kann. Wie oben beschrieben, besteht die erste Möglichkeit eines Menschen, derartige Muster zu erlernen, in der frühen Kindheit in der Interaktion mit den eigenen Eltern. Und diese prägt letztendlich auch das empathische Handeln der späteren Heranwachsenden (Kochanska, 2002), (Feldman, 2007) vor allem auch in Bezug auf ihre nicht direkte familiäre Umgebung (Zhou et al., 2002) (Moreno et al., 2008) . Diese Entwicklung, hin zu einer empathischen Grundeinstellung gegenüber der Umwelt, verändert den Umgang des Individuums mit seiner Umwelt, und wurzelt anhand der dargelegten Sachverhalte in der ursprünglichen Beziehung des Individuums zu seiner frühkindlichen Umwelt.

Wie diese frühkindliche Umgebung aussieht hängt also maßgeblich von den Fürsorgern ab und eine gestörte Beziehung zu diesen resultiert später mit deutlich höherer Wahrscheinlichkeit in problematischen bis pathologischen Verhaltensmustern. Als ein Kernaspekt einer gestörten frühkindlichen Beziehung wird die Wahrnehmung der Eltern gesehen, die Signale und Verhalten des Kindes eher als bewusste Entscheidungen, denn als einzige mögliche Äußerungsmöglichkeit des Kindes sehen (Kochanska et al., 2019). Somit entscheiden die eigene Wahrnehmung und Interpretation von Signalen über das eigene Verhalten, und wie oben dargelegt, auch langfristig über das Verhalten der Nachkommen.

An diesem Punkt lässt sich die Brücke zu OXT schlagen, welches in den vorherigen Ausführungen bereits als Element der Wahrnehmung und Modulation sozialen Verhaltens ausgemacht wurde. Und dies deckt sich damit, dass Kinder, denen eine fürsorgliche frühkindliche Bindung fehlte, auch noch lange Zeit später verminderte periphere Level an OXT zeigten (Wisner Fries et al., 2005). Solche Beobachtungen konnten bei noch deutlicher gestörten Bindungen – wie bspw. Kindesmissbrauch – ins Erwachsenenalter hinein nachverfolgt werden (Heim et al., 2009). Somit konnte dargelegt werden, dass OXT über das Verhalten des direkt beeinflussten Individuums

andere Menschen ebenfalls mitbeeinflusst, und deren OXT-System entsprechend mitreagiert (Weisman et al., 2012).

Es zeigte sich also, dass Bindung als Umweltfaktor bei der Entstehung psychiatrischer Erkrankungen ein wichtiger Faktor ist, und dass OXT nicht nur auf theoretischer Ebene als neuromodulatorisches Korrelat dieses Einflusses gesehen werden kann. Dementsprechend ergibt es nur Sinn, dass diese drei Punkte zusammen betrachtet werden. Die Eltern-Kind-Bindung ist, zusammenfassend gesagt, ein Grundbaustein unserer frühen Entwicklung, und damit ein entscheidender Faktor bei der Ursachensuche nach den Ursprüngen psychiatrischer Erkrankungen. OXT wiederum ist ein integraler Baustein unseres Gehirns, Signale von Bindung und Interaktion zu interpretieren und zu modulieren. Und es zeigte sich auch ein Zusammenhang zwischen den frühkindlichen Bindungserfahrungen und der späteren Ausbildung des OXT-Systems. Könnten epigenetische Veränderungen in diesem Fall das Bindeglied sein? Inwieweit findet sich hier die Verbindung zwischen dem Verhalten anderer (in diesem Fall: der Eltern) und der Fähigkeit der Kinder, in wohlwollende Interaktion mit ihrer Umwelt zu treten?

2 Fragestellung und Zielsetzung

Die folgende Arbeit soll den Einfluss des Methylierungsgrades verschiedener CpG-Sites mit Beziehung zum Oxytocinrezeptorgen auf hirnmorphologische Parameter unter Berücksichtigung des elterlichen Bindungsverhaltens untersuchen. Dabei sollen folgende Hypothesen überprüft werden:

- 1) Es besteht eine Korrelation zwischen dem Methylierungsgrad des Oxytocinrezeptorgens und strukturellen Variationen der grauen Substanz
- 2) Der Methylierungsgrad des Oxytocinrezeptorgens ist assoziiert mit Markern der strukturellen Integrität der weißen Substanz
- 3) Der Methylierungsgrad des Oxytocinrezeptorgens korreliert mit elterlichen Bindungsstilen

3 Material und Methoden

Die verwendete ProbandInnenmenge setzte sich aus Teilnehmern der FOR2107 „Marburg-Münster Affective Disorders Cohort Study“ (MACS) zusammen. Im Rahmen dieses Projektes waren seit 2014 ProbandInnen mit verschiedenen psychiatrischen Erkrankungen (BD, MDD, SZ, SZA), Angehörige von ProbandInnen, RisikokandidatInnen und gesunde ProbandInnen rekrutiert worden. Alle ProbandInnen durchliefen den gleichen Katalog an Untersuchungen/Testungen, soweit keine gesundheitlichen Gründe dies verhinderten (bspw. akut auftretende Klaustrophobie, die eine MRT-Untersuchung verhinderte):

- klinisches Interview
- neuropsychologische Testung
- Entnahme von Körperproben (Vollblut, Speichel, Urin, Haare, Stuhl)
- Bildgebung mittels Magnetresonanztomographie (MRT): strukturelle T1-Messungen, Diffusions-Tensor-Imaging (DTI) und vier fMRT-Paradigmen mit einer insgesamt Scanzzeit <60 min. (Kircher et al., 2018) (Vogelbacher et al., 2018)

Ausschlusskriterien waren u. A. psychiatrische Erkrankungen, die nicht ins Spektrum der Kohorte fielen, neurologische Erkrankungen mit morphologischen Korrelaten als Störfaktoren (Epilepsie, Z.n. Schlaganfall, Z.n. Schädel-Hirn-Trauma), zum Messzeitpunkt bestehende Suchterkrankung, aktueller Gebrauch von Benzodiazepinen, Schwangerschaft oder andere Kontraindikationen einer MR-Bildgebung (festgestellt durch gründliche „Metallanamnese“ einer jeden ProbandIn).

3.1 Zusammensetzung des Samples

Aus diesem KandidatInnenpool wurden 66 Probandinnen zur Bildung eines epigenetischen High-Risk-Samples ausgewählt, mit den Untergruppen „ohne Risiko“, „genetisches Risiko“ (mindestens ein Angehöriger ersten Grades mit sicher diagnostizierter und behandelter MDD, BD, SZ oder SZA) und „Umweltrisiko“ (Überschreitung von 2 Skalen des Childhood Trauma Questionnaire, CTQ). Jede Untergruppe umfasste dabei 22 Kandidatinnen. Es wurden ausschließlich weibliche Probandinnen in das Sample eingeschlossen, da es zum Zeitpunkt der Erstellung nicht ausreichend männliche Probanden mit vollständigen Untersuchungsbatterien gab, die angemessen gematcht hätten werden können. Das so zusammengestellte Sample sollte als Ganzes untersucht werden und eine Bevölkerungssubpopulation mit erhöhtem

Risiko für das spätere Auftreten einer psychiatrischen Erkrankung darstellen, ohne dass bereits eine diagnostizierte psychiatrische Erkrankung vorliegt.

Im Laufe der Analyse musste leider festgestellt werden, dass drei Probandinnen nicht den korrekten Kategorien zugeordnet waren: Eine Kandidatin der Gruppe „Umweltrisiko“ überschreitet lediglich eine Skala des CTQ, und zwei Kandidatinnen der Gruppe „genetisches Risiko“ gaben Mütter mit MDD an, ohne, dass sich diese jemals in Behandlung befunden hätten (womit angenommen werden musste, dass keine valide medizinische Diagnose gestellt wurde).

Weiterhin stellte sich heraus, dass vier Probandinnen (je zwei aus den Untergruppen „genetisches Risiko“ und „Umweltrisiko“) aufgrund nicht-kaukasischer Herkunft ausgeschlossen werden mussten, um einen eventuellen Einfluss von genetischen Unterschieden auf die epigenetischen Untersuchungen bzw. der Schädelanatomie auf die morphologischen Analysen auszuschließen. Zusätzlich konnten die DTI-Scans von 3 Probandinnen der Subgruppe „ohne Risiko“ aufgrund mangelhafter Bildqualität nicht verwendet werden (s. 3.3.4)

Das verwendete Hochrisikosample bestand damit aus 62 Probandinnen für Hirnvolumen- und Gyrfizierungsanalysen; für die Analysen bezüglich der Integrität der weißen Substanz bestand unser Sample aus 59 Kandidatinnen.

Alle Probandinnen des Samples füllten den Fragebogen zur elterlichen Bindung (FEB) aus. Der FEB ist eine leicht überarbeitete und ins Deutsche übersetzte Version (Lutz, 1995) des Parental Bonding Instrument (PBI), entwickelt von Parker et al (1979). Bei der Entwicklung des Tests hatte ein Review bisheriger Daten zum wahrgenommenen Verhalten von Eltern festgestellt, dass bei dem Versuch, die Bindungsstile von Eltern zu ihren Kindern zu beschreiben, immer wieder Schwerpunkte in „Fürsorge“ und „kontrollierendes Verhalten“ auftraten. Anhand dieser Beobachtung wurde eine Fragenbatterie zusammengestellt, deren Inhalte mithilfe einer varimaxrotierten Faktorenanalyse reduziert wurden (Parker et al., 1979).

Der Fragebogen enthält in seiner Endfassung 25 Items: 12 für die Skala „Fürsorge/Care“, mit den Polen fürsorgliches vs. indifferentes/ablehnendes Verhalten, und 13 für die Skala „Kontrolle/Control“, mit den Polen kontrollierendes vs. Autonomie-förderndes Verhalten. Da konträr valente Inhaltsbereiche in einer Skala vereinigt werden, werden einige Items invertiert. Jeder ProbandIn werden die Fragen in doppelter Ausführung präsentiert, je für Mutter und Vater. Die ProbandInnen können auf einer 4-fach abgestuften Skala antworten (trifft zu: gar nicht – eher nicht – eher – sehr). Er bezieht sich retrospektiv auf die ersten 16 Lebensjahre einer jeden ProbandIn.

ProbandInnen schildern, wie sie die Beziehung zwischen ihrer Mutter und sich selbst sowie zwischen ihrem Vater und sich selbst retrospektiv einschätzen.

Bei Überschreitung eines Cutoffs (varierend für Mütter und Väter) wird ein Bindungsverhältnis als „fürsorglich“ bzw. „kontrollierend“ eingestuft; in Testungen werden Mütter eher als fürsorglich und überprotektiv bewertet, sodass für die mütterlichen Scores angepasst ein höherer Cutoff-Wert erreicht werden muss.

Der FEB wurde den ProbandInnen im Rahmen einer größeren Testbatterie postalisch eine Woche vor Durchführung der Testungen zugesandt und am Tag der Testung entgegengenommen. Alle Fragebögen der Batterie waren mit einem für jede ProbandIn einzeln erstellten Barcode versehen, welcher ein späteres Einscannen mittels Remark Office OMR Software erlaubte (Kircher et al., 2018).

Der FEB bzw. seine englische Version (PBI) zeigte in späteren Analysen auch bei wiederholter Durchführung über 20 Jahre hinweg eine stabile Bewertung der abgebildeten elterlichen Bindungsstile (Wilhelm et al., 2005) und wird auch noch 40 Jahre nach seiner Einführung als verlässlicher Fragebogen zur Bewertung der elterlichen Bindung in der Ursachenforschung psychiatrischer Erkrankungen verwendet (Mannarini et al., 2018).

	N (%)	Minimum	Maximum	Mean / Std. Deviation
FEB_Fuersorge_Mutter	62	6	36	25,24 / 8,481
FEB_Fuersorge_Vater	58	5	36	25,45 / 7,602
FEB_Kontrolle_Mutter	56	0	29	11,84 / 8,153
FEB_Kontrolle_Vater	52	1	28	8,81 / 6,331

CTQ_EmotionalerMissbrauch	62	5	19	8,21 / 3,654
CTQ_KoerperlicherMissbrauch	62	5	15	6,16 / 2,27
CTQ_SexuellerMissbrauch	62	5	17	5,48 / 1,853
CTQ_EmotionaleVernachlaessigung	62	5	20	9,85 / 4,497
CTQ_KoerperlicheVernachlaessigung	62	5	12	6,73 / 2,167

Tabelle 1: deskriptive Darstellung des Samples; im ersten Abschnitt befinden sich Details bzgl. des Abschneidens der Teilnehmerinnen auf den Achsen des FEB zur späteren Analyse des elterlichen Bindungsstils, und im zweiten Abschnitt die des CTQ, welcher verwendet wurde, um ein etwaiges Risikoprofil durch Umweltfaktoren zu ermitteln.

3.2 epigenetische Analyse des OXTR-Gens

Über den Illumina Infinium MethylationEPIC BeadChip wurde aus dem Vollblut aller ProbandInnen die individuellen Methylierungskonzentrationen für über 850.000 CpG-sites ermittelt. Das Verfahren, um den Methylierungsstatus von CpG-Sites zu ermitteln, beruht auf zwei Sonden: einer methylierten und einer unmethylierten.

Zu Beginn wird die DNA mit Natriumhydrogensulfit behandelt, was dazu führt, dass unmethylierte Cytosinreste in Thymin umgewandelt werden, wohingegen methyliertes Cytosin unbeeinträchtigt bleibt (Pidsley et al., 2016). Auf diese Weise ist die DNA-Struktur in Abhängigkeit vom Methylierungsstatus verändert, weswegen jeweils andere Sonden erfolgreich an das DNA-Fragment binden können. Die gebundene Sonde kann anschließend detektiert werden und gibt Aufschluss über den Methylierungsstatus der DNA.

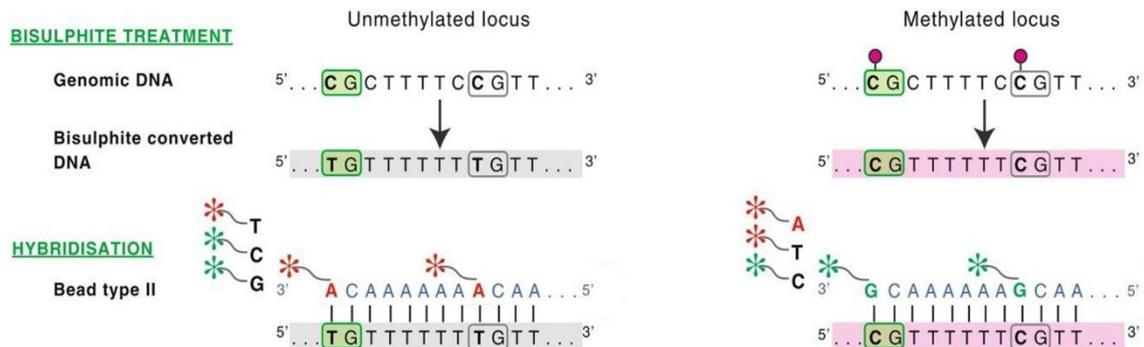


Abbildung 7: Funktionsweise des Illumina Infinium Methylation EPIC Bead Chip (modifiziert nach Pidsley et al): in der linken Spalte ist die Wirkung auf einen unmethylierten Locus gezeigt, in der rechten Spalte auf einen methylierten Locus (dargestellt durch Anhänge in Magenta), wobei die zu untersuchende CpG-Site grün hervorgehoben ist; in der initialen Behandlung mit Natriumhydrogensulfit zeigt sich kein Einfluss auf die methylierte CpG-Site (Cytosin bleibt Cytosin), wohingegen die unmethylierte Seite beeinflusst wird (Cytosin wird zu Thymin); die nun bindenden Sonden sind unterschiedlich farblich markiert, womit detektiert werden kann, welche CpG-Sites methyliert waren, und welche nicht. (Pidsley et al., 2016)

Die so ermittelten Werte lassen sich auf zwei verschiedene Weisen darstellen, als sog. Beta- oder M-Values. Ein Beta-Value stellt die deutlich intuitivere Darstellungsweise dar, da es sich hierbei kurz gesagt um eine reine Prozentangabe handelt; die methylierten Anteile werden direkt im Vergleich zu der Gesamtzahl an untersuchten Loci gesehen, wobei ein eingefügter Faktor α als Korrektur für sehr kleine Methylierungswerte dient.

$$Beta_i = \frac{\max(y_{i,methyl}, 0)}{\max(y_{i,unmethyl}, 0) + \max(y_{i,methyl}, 0) + \alpha}$$

Abbildung 8: Definition des Beta-Values (nach Du et al): der Beta-Value ist das reine Verhältnis der methylierten Anteile des untersuchten Bereichs zum gesamten untersuchten Bereich; damit ist er zwar einfach nachzuvollziehen, neigt jedoch zu Extremwerten. Ein Wert von 0 gäbe somit an, dass alle Kopien der CpG-Site unmethyliert sind. (Du et al., 2010)

Der M-Value dagegen stellt ein log₂-Verhältnis von methylierten und unmethylierten Anteilen dar. Dementsprechend entspricht ein Wert von Null gleich großen Anteilen an methylierten und unmethylierten CpG-Sites, mit Abweichungen Richtung 1 bzw. -1 für eher methylierte bzw. unmethylierte CpG-Sites. Der Faktor α dient hier der

Kompensation kleiner Variationen, die ansonsten große Sprünge in den M-Values erzeugen würden (standardmäßig $\alpha = 1$).

$$M_i = \log_2\left(\frac{\max(y_{i,methy}, 0) + \alpha}{\max(y_{i,unmethy}, 0) + \alpha}\right)$$

Abbildung 9: Definition des M-Values (nach Du et al): Der M-Value ist das log2-Verhältnis der methylierten zu den unmethylierten CpG-Sites des untersuchten Bereichs (Du et al., 2010)

Es ist ersichtlich, warum Beta-Values als „intuitiver“ angesehen werden, jedoch gibt es gute Gründe mit M-Values zu arbeiten. Ein Beta-Value mag als Zahl schnell einleuchten, aber bei einer Betrachtung der Methylierungswerte über mehrere CpG-Sites hinweg fällt auf, dass Beta- und M-Values insgesamt sehr ungleich verteilt sind.

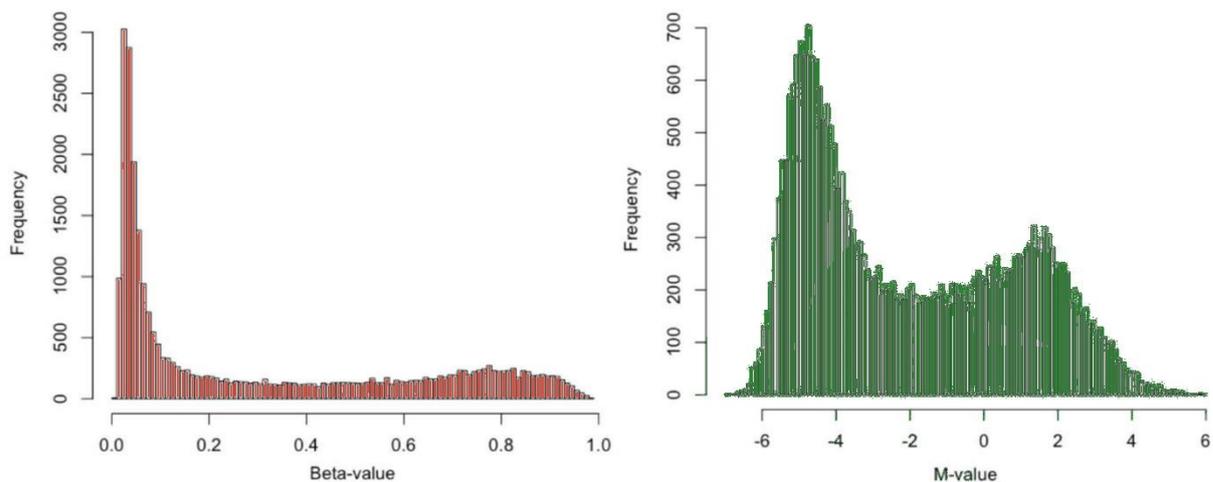


Abbildung 10: Histogramm der Methylierungswerte einer Batterie untersuchter CpG-Sites (modifiziert nach Du et al): es zeigt sich, dass die Beta-Values (rot,) aufgrund der prozentualen Darstellungsweise an der Gesamtmenge untersuchter Sites, zu Extremwerten neigen; die M-Values (grün) stellen hingegen ein logarithmiertes Verhältnis der methylierten zu unmethylierten Sites dar, womit sie die Verteilung der Methylierung über das Genom hinweg besser abbilden und auch eher normalverteilt sind, womit sie sich für statistische Analysen anbieten. (Du et al., 2010)

Während sich Beta-Values vor allem am unteren und oberen Spektrum der Skala sammeln (es sind deutlich mehr CpG-Sites nicht oder kaum methyliert), so erlauben M-Values ein gemischteres Bild mit einer bimodalen Verteilung. Damit erlaubt der M-Value, obgleich nicht biologisch intuitiv, eine leichtere Einschätzung der Methylierungsverteilung über das gesamte untersuchte Gebiet hinweg; dies wäre mit Beta-Values deutlich schwieriger zu erreichen (Du et al., 2010). Ein weiterer Vorteil von M-Werten ist ihre einfachere statistische Anwendbarkeit aufgrund einer höheren Skedastizität; die Standardabweichung von Beta-Values ist bei weitem nicht so konstant wie die von M-Werten, was letztere in für eine Mehrzahl

statistischer Methoden eher anwendbar macht (Du et al., 2010). In Zusammenschau der Daten haben wir uns entschlossen, mit den M-Werten der Methylierungsgrade zu arbeiten.

Die auf diese Weise gewonnene totale Anzahl an CpG-Sites des OXTR-Gens lag bei 18 möglichen Dinukleotiden, und war bei weitem zu groß, um jede einzelne CpG-Sites und ihre eventuellen Folgen für sich zu untersuchen. Aus diesem Grund wurden die folgenden zwei Herangehensweisen gewählt, um eine überschaubare Menge an CpG-Sites herauszufiltern.

3.2.1 Kandidatenapproach

Zunächst wurden die erwähnten CpG-Sites einer eingehenden Literaturrecherche unterworfen, um bisher bereits aufgedeckte Korrelationen zwischen ihnen, psychiatrischen Erkrankungen, hirmorphologischen Veränderungen und auffälligen Bindungsmustern aufzudecken, die eine weiterführende Analyse rechtfertigten. Hierdurch konnten 3 CpGs ausgewählt werden, die in vorherigen Versuchsansätzen durch signifikante Korrelationen aufgefallen waren.

Beispielsweise waren bereits zuvor Korrelationen zwischen Kindesmisshandlung und Methylierungsunterschieden beschrieben worden, sodass auch Veränderungen von OXTR im Verlauf näher untersucht worden waren. Hierbei hatten sich Korrelationen zwischen Methylierungsunterschieden der CpGs und einer Vorgeschichte an Kindesmisshandlung gezeigt; von den 5 beschriebenen CpGs waren 2 Teil unserer Testbatterie (Smearman et al., 2016).

Wie auch am Anfang unserer Untersuchungen sahen sich Simons et al mit einer großen Bandbreite an CpG-Sites konfrontiert, und es wurde eine Konzentration der Informationen durch Faktorenanalyse durchgeführt, was in vier Faktoren resultierte. Von diesen vier Faktoren korrelierte einer direkt mit Adult Adversity, Misstrauen und generellem Pessimismus; dieser Faktor enthielt vier CpG-Sites, von denen drei Teil unserer Testbatterie waren (Simons et al., 2017).

Andere Ansätze fokussierten sich auf Veränderungen der Methylierungswerte des OXTR, beispielsweise durch Intervention bei HochrisikokandidatInnen (Beach et al., 2018). Auch hier waren die CpGs mittels Faktorenanalyse zusammengeführt worden, wobei einer der Faktoren mehrere CpGs im Bereich des ersten Introns des OXTR umfasste. Dieser Bereich wurde als besonders prominent in der Beeinflussung der Genexpression beschrieben (Brenet et al., 2011) (Kusui et al., 2001), und dessen Bestandteile waren Teil der von uns verwendeten Testbatterie. Weiterhin korrelierte der Methylierungsindex mit der Teilnahme an dem durchgeführten Präventionsprogramm,

womit die Abhängigkeit von Umweltfaktoren mit einbezogen war. Nach dieser Literaturrecherche hatten sich drei mögliche CpG-Sites herauskristallisiert, die sowohl im bisherigen wissenschaftlichen Kontext vielversprechend als auch Teil unserer Analysen, waren: *cg17285225*, *cg23391006* und *cg09353063*.

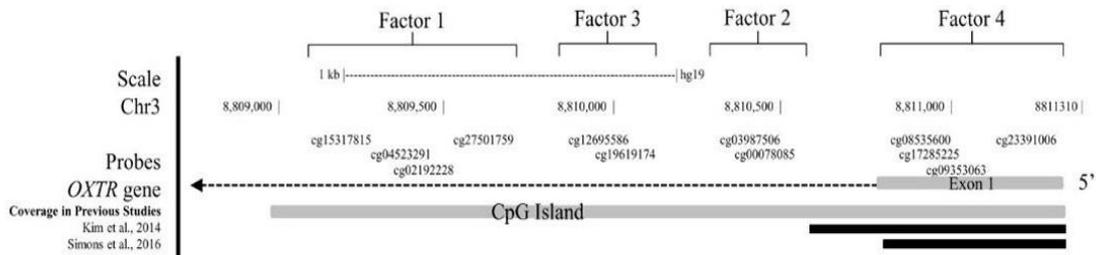


Abbildung 11: Lokalisation der der Methylierungssonden des OXTR-Gens (hg19; chr3:8808962-8811280)(modifiziert nach Beach et al): zusätzlich zu einzelnen CpG-Sites (Benennung oberhalb des gestrichelten Pfeils) im Bereich der CGI (graues Band unterhalb des gestrichelten Pfeils) sind hier auch weitere CpG-Sites im Bereich der CGI gekennzeichnet, die in anderen Papern untersucht worden waren (schwarze Bänder unterhalb der CGI; man beachte die Position von *cg17285225* und *cg23391006* im Bereich des ersten Exons des Gens. (Beach et al., 2018)

Wie Abbildung 11 zeigt, befinden sich alle drei CpG-Sites in der Endregion des ersten Exons bzw. im Anfangsbereich des ersten Introns, was sich wiederum mit aktuellen Ergebnissen über den Einfluss verschiedener CpG-Lokalisationen deckt. Dieser Bereich wurde in einem weiteren Versuch einer Demethylierung unterzogen. Die durch Demethylierung erzeugte Vermehrung an OXTR-RNA konnte zeigen, dass die dort eingeschlossenen CpG-Sites abhängig von ihrem Methylierungsstatus die Bildung neuer OXTR beeinflussten. Die Menge an Transkriptionsprodukt überstieg letztendlich sogar die von Gewebe, das naturgemäß OXTR exprimiert (u.a. Myometrium von Schwangeren und Nicht-Schwangeren) , was die Bedeutung dieser Schlüsselregion bei der Transkription von OXTR noch einmal betont (Kusui et al., 2001).

3.2.2 CGI-übergreifender Ansatz mittels Faktorenanalyse

In einer zweiten Herangehensweise sollte der Einfluss von möglichst vielen verschiedenen CpG-Sites auf Bindung und Hirnmorphologie gebündelt werden, um gemeinsame Einflussfelder aufdecken zu können. Daher wurde, wie bereits erwähnt von Simons et al, eine explorative Faktorenanalyse mit Varimaxrotation durchgeführt, um im Anschluss Faktoren bilden zu können, welche eine möglichst große Menge an Varianz innerhalb der vorliegenden CGI aufklären sollen. Um eine bessere Vergleichbarkeit der Variablen zu erreichen begannen wir mit einer Z-Transformation der Daten; bei der anschließenden Varimaxrotation wurden kleine Ladungen <0,3 nicht berücksichtigt und die Faktoren nach Regression extrahiert.

Zunächst wurde die Rotation auf Basis der Eigenwerte >1 durchgeführt, im Anschluss aber, anhand eines erstellten Scree-Plots, auf drei festgesetzt. Das Kaiser-Meyer-Olkin Kriterium lag bei 0,601, was tragbar ist. Nach Bartlettstest auf Sphärizität war die Faktorenanalyse durchführbar.

	Rotated Component Matrix		
	Component		
	1	2	3
cg26455676			-0,371
cg00385883			
cg15317815	0,937		
cg04523291	0,834		
cg02192228	0,932		
cg27501759	0,791		
cg12695586	0,361		0,643
cg19619174			0,514
cg11171527			0,730
cg03987506			0,554
cg17285225	0,414	0,365	0,380
cg17036624		0,709	
cg03710862		0,633	
cg25085537		0,768	
cg14483142			-0,379
cg09353063			
cg23391006	0,462		
cg00247334		0,576	

Tabelle 2: Eingang der einzelnen CpG-Sites in die Bildung der Faktoren (gelb hervorgehoben die CpG-Sites, deren Methylierungsgrad nach Literaturrecherche einzeln analysiert wurde); Extraktion nach Principal Component Matrix, Varimaxrotation mit Kaiser Normalisierung.

Durch die Faktorenanalyse kristallisierten sich 3 Faktoren zur weiteren Analyse heraus, mit einer Gesamtvarianzauflösung von 43,781%. Von den zuvor im Kandidaten-Approach ausgewählten CpG-Sites war lediglich cg17285225 Bestandteil aller Faktoren.

3.3 Bildgebende Verfahren

Ziel der Arbeit war ein Vergleich der T1-gewichteten MRT-Scans der Probandinnen im Hinblick auf morphologische Korrelate in den Methylierungsunterschieden der ausgewählten CpG-Sites.

Es wurden drei Verfahren zur statistischen Auswertung der MRT-Scans herangezogen: Voxel-basierte Morphometrie (VBM) zwecks Analyse der gesamten grauen Substanz, oberflächenbasierte Morphometrie (SBM) zur Beurteilung der Gyrfizierung, und Diffusion-Tensor-Imaging (DTI) zum Vergleich der Integrität der weißen Substanz.

Die Magnetresonanztomographie ist eine nicht-invasive Form der Schnittbildgebung, mit Schwerpunkt auf der Darstellung von Weichteilgewebe. Das Prinzip dieser Untersuchungsmethode beruht auf der Magnetisierbarkeit des menschlichen Körpers, d.h. auf dem Drehimpuls (Kernspin) von Wasserstoffatomen. Durch Anlegen eines starken, homogenen Magnetfeldes lassen sich diese zuvor ungeordneten Protonen jedoch parallel bzw. antiparallel zu den Feldlinien dieses Magnetfeldes ausrichten, was eine Magnetisierung des Gewebes nach sich zieht.

Im Rahmen des MR-Untersuchung wird ein Hochfrequenzimpuls in das Gewebe abgegeben, was die vorherige longitudinale Magnetisierung in eine transversale umlenkt. Nach Abschalten des Impulses kehren die Dipole unter Abgabe der zuvor zugeführten Energie wieder in ihre longitudinale Ausrichtung zurück; dieser Vorgang wird als „Relaxation“ bezeichnet. Diese abgegebene Energie wird nun durch Spulen empfangen und vom Tomographen gemessen.

Dabei können weiterhin zwei Prozesse der Relaxation, welche zeitgleich stattfinden, unterschieden werden. In unserer Arbeit wird lediglich der erste Prozess verwendet, sodass nur dieser hier erläutert werden soll.

Wird die elektromagnetische Energie an das umgebende Molekülgitter abgegeben, spricht man von T1- oder Spin-Gitter-Relaxation. Dies entspricht der Rückbildung der Transversalmagnetisierung zu Gunsten der Längsmagnetisierung. Hieraus lassen sich in Abhängigkeit von der Protonendichte in einem Gewebe Informationen über die Gewebeart extrahieren. Dominiert diese Relaxationseigenschaft den Bildkontrast spricht man von T1-gewichteten Bildern, in denen Wasser hypointens erscheint.

Für die anschließende Bilderzeugung müssen die empfangenen Signale räumlich zugeordnet werden (Ortskodierung). Dafür werden in ihrer Stärke linear abnehmende Gradientenmagnetfelder zugeschaltet, wodurch ein sog. Schichtgradient entsteht. Dieser erlaubt es an unterschiedlichen Stellen des Körpers verschiedene Magnetfeldstärken entstehen zu lassen, was wiederum unterschiedliche

Präzisionsfrequenzen der Spins ermöglicht. Mit der Auswahl einer bestimmten Frequenz des Hochfrequenzimpulses in Anwesenheit des Schichtgradienten kann demnach selektiv jene Schicht dargestellt werden, deren Spins mit derselben Frequenz wie der des Impulses präzedieren. Die so empfangenen Signale können so räumlich einer Volumeneinheit (Voxel, analog zu Pixel) zugeordnet werden. Diese Information kann anschließend mit Hilfe der Fourier-Transformation dekodiert werden, womit ein Bild zusammengefügt werden kann.

3.3.1 voxelbasierte Verfahren und voxelbasierte Morphometrie (VBM)

Voxelbasierte Verfahren erlauben im Gegensatz zur konventionellen Morphometrie, bei der a priori zu untersuchende Gebiete (Regions of Interest, ROI) definiert werden, Aussagen über das gesamte Gehirn. Da in diesem Fall kein zu untersuchendes Gebiet manuell oder anhand von Atlanten ausgewählt werden musste, verringert sich dadurch die interpersonelle Fehlerrate signifikant und der Vergleich großer ProbandInnenzahlen wird möglich. Die durch Vorverarbeitung „angeglichenen“ Gehirne erlauben es, dass jeder einzelne Voxel der Scans mit allen entsprechenden Voxeln anderer Scans verglichen werden können. Dabei geht man davon aus, dass, bei entsprechender Normalisierung der Scans in der Vorverarbeitung, derselben anatomischen Struktur entspricht.

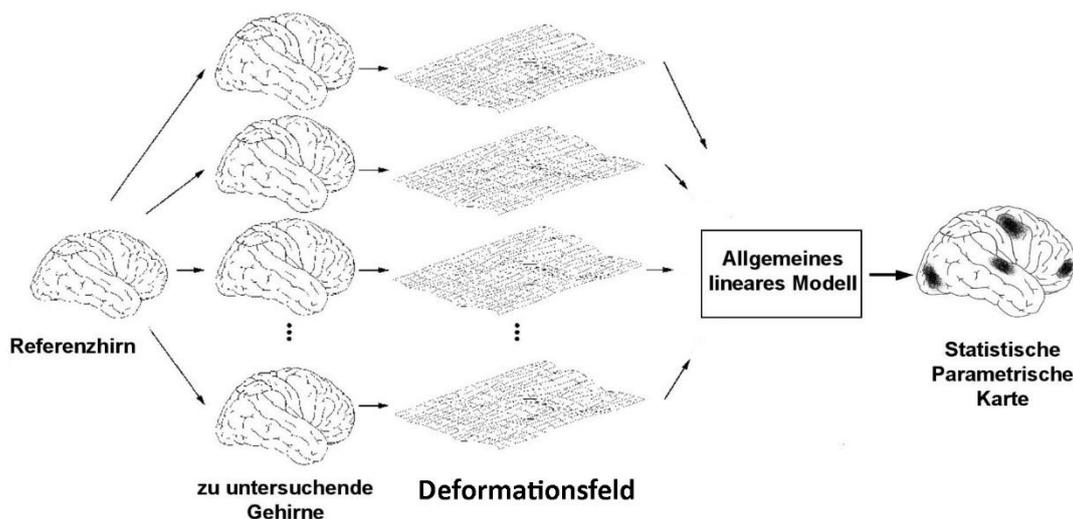


Abbildung 122: Prinzip der voxelbasierten Analyse (modifiziert nach Gaser); alle zu untersuchenden Gehirne müssen zunächst durch Vorverarbeitung auf ein Referenzgehirn projiziert werden, sodass jedes einzelne Voxel letztendlich in jedem Gehirn die gleiche Struktur darstellen kann (die hierfür notwendige nichtlineare Normalisierung ist als Deformationsfeld dargestellt); erst dann kann eine Voxel-by-Voxel-Analyse beginnen. (Gaser, 2008)

Zum Zweck dieser Arbeit sollten die T1-gewichteten Scans der ausgewählten 62 Probandinnen auf Unterschiede auf Basis von Methylierungsunterschieden verglichen werden.

Die verwendeten T1-Daten mussten zunächst in 5 Schritten aufgearbeitet werden:

- bias correction und tissue classification richten sich nach der Intensität der Voxel und dienen der Unterscheidung von grauer Substanz, weißer Substanz und cerebrospinaler Flüssigkeit (Liquor cerebrospinalis, CSF). Die *bias correction* dient der Eliminierung von Intensitätsunterschieden, die durch Inhomogenitäten des verwendeten Magnetfeldes verursacht wurden. Diese Inhomogenitäten werden umso prominenter, je stärker der verwendete Scanner ist, und müssen herauskorrigiert werden, bevor die eigentliche Gewebezuordnung (Tissue Classification) stattfindet; erst im Anschluss kann anhand der Intensität eines Voxels dieser einer spezifischen Gewebeart zugeordnet werden. Dennoch findet ein Überlappen der einzelnen Intensitäten für Gewebearten statt, was dadurch zu erklären ist, dass ein Standard-Voxel von 1 mm³ durchaus mehr als einen Gewebetypus enthalten kann. Als weiterer Sicherheitsfaktor kann eine Wahrscheinlichkeitsmaske verwendet werden, die für jede Lokalisation angibt, welche Art von Gewebe sich dort mit höchster Wahrscheinlichkeit befindet.

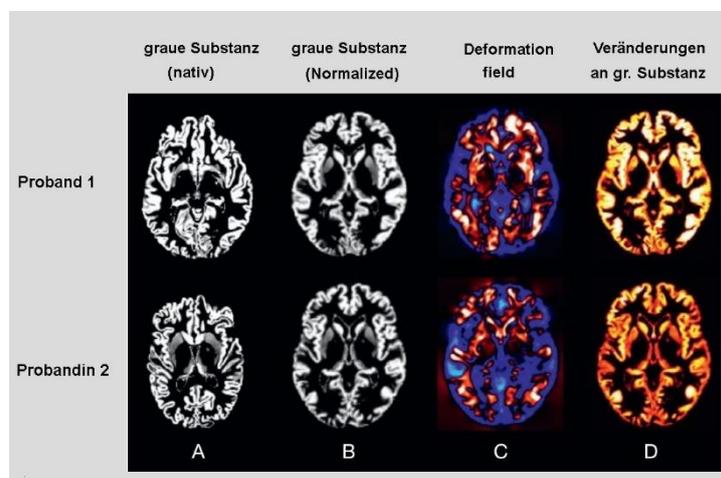


Abbildung 13: Darstellung der spatial normalization (modifiziert nach Kurth et al): (A) zeigt die nativen Gehirne zweier Individuen (1 ist ein 23-jähriger Mann, 2 eine 64-jährige Frau); (B) zeigt die beiden Gehirne nach spatial normalization, nun mit gleicher Größe, Form und Makroanatomie; (C) zeigt das Deformation Field der einzelnen ProbandInnen (Ausdehnungen in blau, Komprimierungen in rot); (D) zeigt die graue Substanz der ProbandInnen mit dem entsprechenden Ausmaß an notwendigen Veränderungen zur späteren Korrektur für spatial normalization (man bemerke den größeren Anteil an orangenen Feldern bei ProbandIn 2, a.e. aufgrund altersbedingter Atrophie)(Kurth et al.)

- spatial normalization beschreibt die Anpassung der Gehirnform an ein Standard-Gehirn und kann in eine lineare und eine non-lineare Komponente unterteilt werden. Bei der *linear normalization* wird jeder Bildbestandteil auf dieselbe Art verändert, was Rotation, Größenanpassung und Scherung beinhaltet. Diese Anpassungsvorgänge

dienen der Größenanpassung des gesamten Gehirns, können jedoch nicht interindividuellen Unterschieden in spezifischen Arealen gerecht werden (beispielsweise unterschiedliche starker Ausprägungen des linken Temporallappens), da jeder einzelne Voxel denselben Veränderungen ausgesetzt ist. Hier setzt die non-lineare Komponente an, die Position, Größe und Verhältnis einzelner Hirnareale durchführt, um eine noch bessere Vergleichbarkeit zu erreichen. Alle diese Anpassungen an das individuelle Gehirn werden in einem Deformation Field gespeichert, um jederzeit rückschließen zu können, welchen Veränderungen ein Areal durchlaufen hat. Letztendlich wird sich jedoch niemals eine vollkommene Vergleichbarkeit von Gehirnen erreichen lassen, schon allein, weil makroanatomische Aspekte, wie die Verteilung von Gyri und Sulci, innerhalb der Population teils drastisch auseinandergehen.

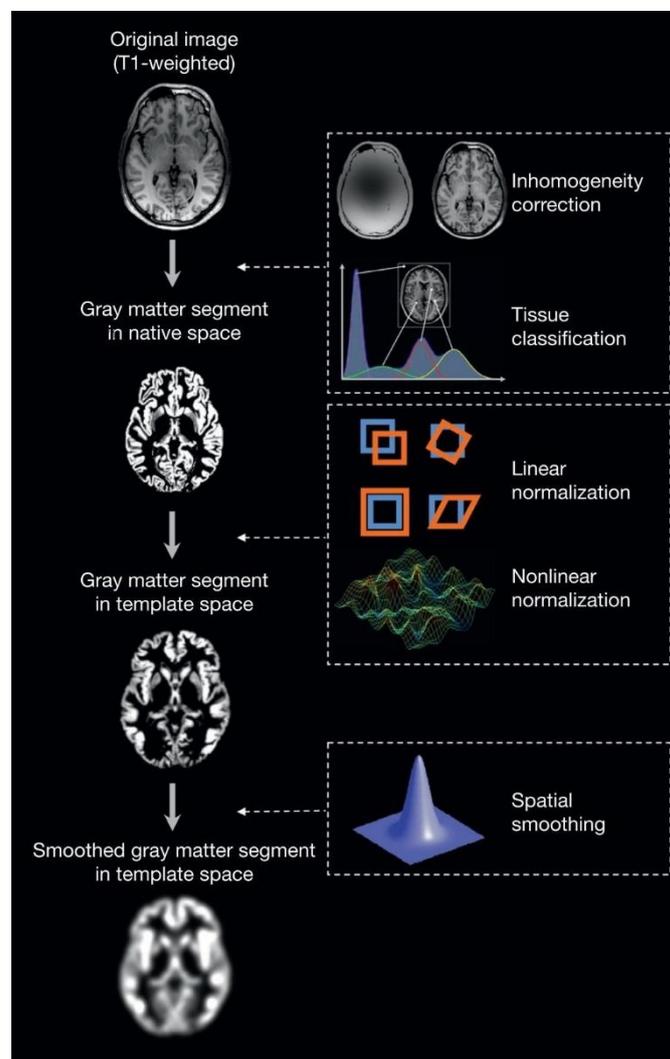


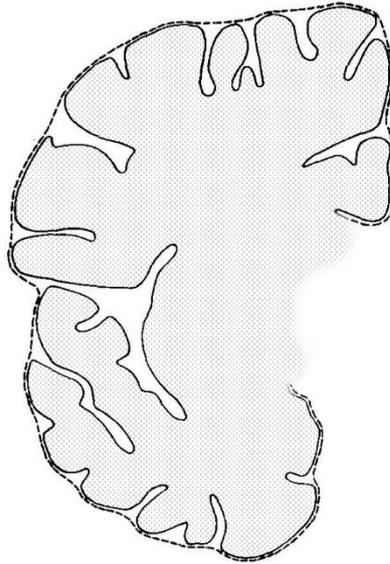
Abbildung 14: Darstellung der einzelnen Vorverarbeitungsschritte (modifiziert nach Kurth et al): durch die zuvor beschriebenen Schritte wird es erst möglich, die Gehirne von Individuen – die ebenso individuelle Einzigartigkeiten zeigen – miteinander zu vergleichen; nach der Korrektur für Intensitätsunterschiede mit anschließender Gewebezuzuordnung kann durch spatial smoothing erst eine Kongruenz der Gehirne erreicht werden; das anschließende spatial smoothing schließlich vereinfacht die kommenden Analyseschritte signifikant (Kurth et al.)

- spatial smoothing erfolgt aus mehreren Gründen. Zunächst einmal gehen die parametrischen statistischen Analysen, die ja letztendlich folgen sollen, von normalverteilten Daten aus. Durch das *spatial smoothing* enthält jedes einzelne Voxel ebenfalls Informationen seiner umliegenden Nachbarn, und durch diese Angleichung sind die Daten anschließend eher normalverteilt als zuvor. Weiterhin erlaubt dieses Verfahren eine weitere Reduzierung interindividueller Unterschiede, die nicht durch die *spatial normalization* abgedeckt werden konnten, und erhöht dadurch die Vergleichbarkeit der Daten. Letztendlich sensibilisiert das Smoothing für Analysen in der gewünschten Größenordnung, da nun sehr kleine Veränderungen (ausgelöst durch Störfaktoren; Artefakte) nun keine Beachtung mehr finden und sich die Analyse auf Aspekte oberhalb der Smoothinggröße fokussieren kann.

3.3.2 Gyrfizierung

Der Begriff der Gyrfizierung beschreibt die „Faltung“ des Gehirns, also die Komplexität der Cortexoberfläche. Sie ist damit ein Maß für eine zunehmende Oberfläche des Gehirns im Angesicht eines begrenzten Volumens durch den knöchernen Schädel. Zur Quantifizierung begann man ursprünglich mit einem Vergleich der inneren und äußeren Kurve des Cortex; die innere Kurve folgte dabei dem tatsächlichen Verlauf der Cortexoberfläche, einschließlich aller Sulci, während die äußere Kurve lediglich grob der Oberfläche folgt, ohne die Vertiefungen zu berücksichtigen (Zilles et al., 1988). Der Quotient aus diesen beiden Kurven wird als Gyrfizierungsindex (GI) bezeichnet, der mit steigendem Wert eine komplexere Faltung der Körperoberfläche widerspiegelt.

Dieser zweidimensionale Ansatz erwies sich im weiteren Verlauf jedoch als zunehmend limitiert. Corticale Windungen erfolgen auf einer dreidimensionalen Fläche, sodass ein zweidimensionaler Schnitt nicht jede Richtung des „Abfallens und Ansteigens“ der Fläche erfassen kann; je nach Schnittrichtung gehen so unweigerlich Informationen verloren. Zudem ergibt sich die Problematik, dass der Kontakt zweier Cortexoberflächen darunter befindliche Sulci vollständig verbirgt, womit diese überhaupt nicht erfasst werden.



$$GI = \frac{\text{Length of complete contour (———)}}{\text{Length of outer contour (-----)}}$$

$$GI = 2.95$$

Abbildung 15: Visuelle Darstellung der ursprünglichen Erstellung eines Gyrfizierungsindices (GI, modifiziert nach Zilles et al): man erkennt die lediglich grobe Umfahrung der Gyrfizierung in der äußeren Kurve. Anhand der angegebenen Formel lässt sich erkennen, dass ein großer Gyrfizierungsindex (GI) eine höhere „Faltung“ des Gehirns darstellt, während hingegen eine zunehmende „Verflachung“ des Gehirn mit einer Abnahme des GI Richtung 1 einhergeht. (Zilles et al., 1988)

Als Weiterentwicklung dieses zweidimensionalen Ansatzes wurden daher im Verlauf dreidimensionale Methoden erarbeitet. Diese erlauben es, mit Gittermodellen die komplette, tatsächliche Cortexoberfläche mit einem sphärischen Modell der Cortexoberfläche zu vergleichen. Für weit über tausend Punkte auf der Cortexoberfläche (Vertices) wird dabei die *mean curvature* bestimmt, die Informationen über die Richtungsänderungen entlang Oberfläche enthält. Diese *mean curvature* wird weiterhin mit den umliegenden Punkten gemittelt und nimmt anhand des Grades der Veränderung Werte zwischen 180° und -180° an, wobei große positive Werte die Gyri beschreiben und große negative Werte die Sulci. Hieraus ergibt sich die *absolute mean curvature*, welche nur positive Werte annimmt und als vergleichbares Maß der corticalen Windung dient. So können allen einzelnen Punkten der Cortexoberfläche einzelne GIs zugewiesen werden (Luders et al., 2006).

3.3.3 Diffusion Tensor Imaging (DTI)

Die Diffusion Tensor Bildgebung ist eine Möglichkeit der MR-Bildgebung, die Bewegung von Wasserstoffprotonen nachzuverfolgen. Im biologischen Kontext wird hierbei gerne von „Wassermolekülen“ gesprochen, die das Gros an zu beobachtenden Protonen stellen, obgleich sie natürlich nicht die einzige Quelle von Protonen im Körper sind. Auf diese Weise kann die Bewegung von Diffusion durch das Hirngewebe sichtbar

gemacht werden, und es können Rückschlüsse auf die Integrität der entsprechenden Strukturen geschlossen werden.

Wenn sie auf keinerlei Hindernisse stoßen und ihr Medium keiner von außen zugeführten Energie ausgesetzt ist, bewegen sich Teilchen durch die unmittelbare Reaktion aufeinander (Brownsche Molekularbewegung) frei im Raum. In diesem Fall gibt es keine präferierte Richtung, in die sie sich bewegen, und ihre Bewegungsmuster werden als isotrop (in alle Richtungen) beschrieben. Im Zusammenhang mit der Hirnbildgebung kann man innerhalb der CSF von isotroper Bewegung ausgehen. In Bezug auf weiße Substanz allerdings sind die Wassermoleküle einer Vielzahl an Hindernissen ausgesetzt, beginnend mit intrazellulären Organellen und der zelleigenen Kompartimentierung, über die Zellmembran hin zu suprazellulären Strukturen wie bspw. Markscheiden. Alle diese Barrieren erlauben nur in begrenztem Umfang Diffusion und auch nur in wenige Richtungen; die Zellmembran eines Neurons ist weitgehend undurchdringbar, während Bewegung entlang eines Axons vergleichsweise ungehindert stattfinden kann. Die Bewegung des Wassers ist damit gerichtet bzw. anisotrop. Da ein einzelnes Axon mit heutigen MR-Tomographen unmöglich dargestellt werden kann, benötigt man größere Strukturen, in denen eine gleichgerichtete Bewegung stattfindet.

Glücklicherweise entspricht dies den Fasertrakten weißer Substanz des Gehirns, welche verschiedene Hirnareale miteinander verbinden.

Um diese Informationen gewinnen zu können müssen bei der Messung zwei zusätzliche Gradientenfelder eingesetzt werden, die nach dem Hochfrequenzimpuls, aber vor der Signalaufnahme zugeschaltet werden. Diese beiden Felder werden spiegelbildlich zueinander und variabel anhand einer zu untersuchenden Diffusionsrichtung angelegt. Nach dem initialen Hochfrequenzimpuls ist der Spin der Protonen synchronisiert, wird durch das erste Gradientenfeld aber wieder dephasiert. Das spiegelbildliche Gradientenfeld bringt sie anschließend wieder in Phase. Wassermoleküle, die sich während des Anlegens der Gradientenfelder nicht bewegt haben, erfahren durch diese rückblickend keine Veränderung. Haben sie sich jedoch bewegt (ergo: sind diffundiert), so fällt die Dephasierung umso stärker aus, je weiter sich das Teilchen in dieser Zeit bewegt hat, und das zweite Gradientenfeld kann nur eine begrenzte Rephasierung herbeiführen. Das empfangene Signal wird schwächer, jedoch abhängig in Relation zur Ausrichtung des Gradientenfeldes. Nur Bewegung parallel zum Gradientenfeld führt zu einer maximalen Signalabschwächung. Da die Stärke der Signalabnahme von der Ausrichtung des Gradientenfeldes abhängt, müssen mehrere Felder angelegt werden, um Bewegung im dreidimensionalen Raum korrekt darstellen zu können. Es ergibt sich ein Ellipsoid aus

den Eigenwerten für die verschiedenen Achsen (bei isotroper Diffusion ergäbe sich eine Kugel); in unserem Fall insgesamt 30 Achsen. Nach Abgleich mit einer Referenzaufnahme ohne Diffusion kann die Diffusionsstrecke quantifiziert werden.

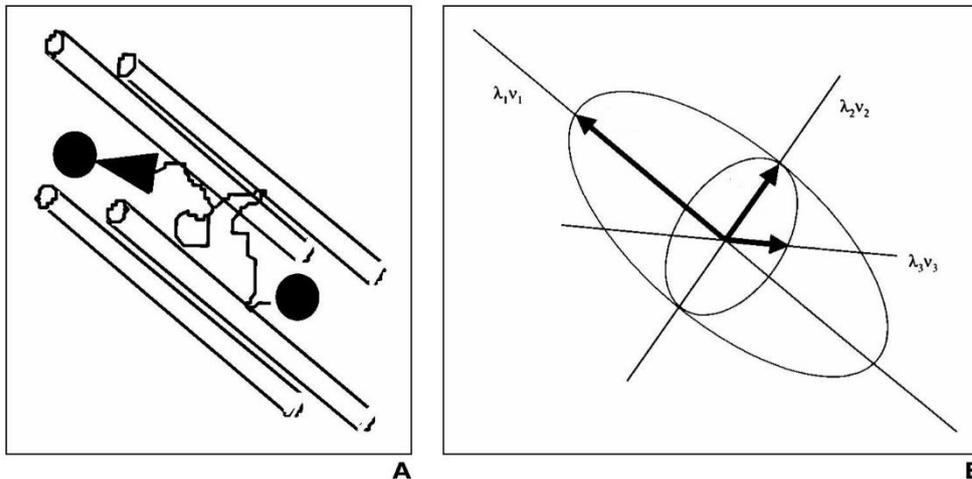


Abbildung 16: Darstellung möglicher Diffusion von Wasser im Gehirn (modifiziert nach Melhem et al): A zeigt die Diffusion eines Wassermoleküls innerhalb einer stark gerichteten Struktur, während B ein Diffusionsellipsoid mit Darstellung der unterschiedlich starken Bewegungen bei anisotroper Bewegung darstellt. (Melhem et al., 2002)

Mit der Kenntnis der Hauptdiffusionsrichtung kann der Verlauf von Fasertrakten nachvollzogen werden. Dies allein erlaubt aber noch keine Darstellung der Informationen, da zu diesem Zeitpunkt je Voxel sechs einzelne Parameter existieren, die keine adäquate Visualisierung erlauben. Aus diesem Grund wurden mehrere Methoden vorgeschlagen, um den Informationsgehalt zu konzentrieren. Eine gerne verwendete Methode ist die Berechnung der Fraktionellen Anisotropie (FA); dabei werden die Standardabweichung der Eigenwerte der verschiedenen Dimensionen ins Verhältnis zum Mittelwert der Eigenwertquadrate gesetzt. (Basser und Pierpaoli, 2011).

Es ergibt sich eine dimensionslose Größe zwischen Null und eins; sie stellt den Grad gerichteter Bewegung innerhalb eines Voxels dar (eins entspräche Bewegung in nur eine einzige Richtung, Null hingegen isotroper Bewegung). In der letztendlichen Darstellung kann die FA in Graustufen abgebildet werden. Auf diese Weise kann zwar nicht die Diffusionsrichtung dargestellt werden, aber Rückschlüsse auf die Integrität eines Fasertraktes geschlossen werden. Eine hohe FA spricht für einen hohen Anteil an gerichteter Bewegung, und damit stark myelinisierte Axone. Degenerative Prozesse (wie bspw. Alter) führen zu einer Verringerung der FA.

3.4 Durchführung der Analysen

Die Durchführung der Messungen erfolgte an den Standorten Marburg und Münster; in Marburg wurde ein 3-Tesla Tim Trio MR-Tomograph der Firma Siemens Medical Systems (Erlangen, Deutschland) mit einer 12-Kanal-Kopfspule zur Signalerfassung verwendet; am Standort Münster ein 3-Tesla Prisma MR-Tomograph der Firma Siemens Medical Systems (Erlangen, Deutschland) mit einer 20-Kanal-Kopfspule verwendet (Vogelbacher et al., 2018). Die Konfigurationen der Messsequenzen wurden, soweit es gerätebedingt möglich war, standardisiert. 58 Probandinnen wurden am Standort Marburg und 8 am Standort Münster gemessen; alle Probandinnen, deren Scans aus den Analysen ausgeschlossen werden mussten, waren in Marburg gemessen worden.

Die deskriptiv-statistische Auswertung des Samples erfolgte mittels SPSS 24 (IBM Corp. Released 2016. IBM SPSS Statistics for Linux, Version 24.0. Armonk, NY: IBM Corp.) für beide Samplegrößen (62 Probandinnen für voxelbasierte Morphometrie und Gyrfizierung, s. Tabelle 3, und 59 Probandinnen für DTI-Analysen, s. Tabelle 4).

Alter und totales intrakranielles Volumen (TIV) mussten trotz Vorverarbeitungsschritten als mögliche Confounder der Hirnmasse berücksichtigt werden, um eine bloße Erhöhung der Masse aufgrund unterschiedlicher Körpergröße und altersentsprechender Hirninvolution auszuschließen. Trotz rigoroser Qualitätskontrollen konnten Unterschiede der beiden Erhebungsstandorte der Bilddaten niemals vollständig ausgeschlossen werden, weswegen das Zentrum der Datenerhebung (Marburg oder Münster) ebenfalls berücksichtigt wurde. Der frühere Raucherstatus der Probandinnen wurde per zugesandtem Fragebogen erhoben; Hannon et al (Hannon et al., 2016) hatten bereits gezeigt, dass der Nikotinkonsum das Methylierungsmuster von Genen beeinflussen kann. Da das gesamte Sample nur aus weiblichen Probandinnen bestand, musste nicht für das Geschlecht korrigiert werden.

In Rücksprache mit den betreuenden GenetikerInnen wurde auch der Einfluss der generell unterschiedlich methylierten Zellreihen, aus denen der Methylierungsstatus erhoben wurde, als Cofaktor eingefügt, welche den Einfluss des Methylierungskoeffizienten insgesamt beeinflusst hätten. Entsprechende Zellreihen waren CD8- und CD4-positive T-Zellen, natürliche Killerzellen, Monocyten und Granulocyten.

	N (%)	Minimum	Maximum	Mean / Std. Deviation
Alter	62	18	50	31,02 / 9,545
TIV	62	1337,06	1769,23	1547,7715 / 97,74827
Testzentrum Marburg	54 (87,1)	-	-	-
Testzentrum Münster	8 (12,9)	-	-	-
früherer/aktueller positiver Raucherstatus	39 (62,9)	-	-	-
negativer Raucherstatus	23 (37,1)	-	-	-

CD-8-positive T-Zellen (CD8T)	62	0,00000001	0,14917382	0,0634576289 / 0,0313347087
CD-4-positive T-Zellen (CD4T)	62	0,06810117	0,33645322	0,1694024179 / 0,0535606994
natürliche Killerzellen (NK)	62	0,00284535	0,15978275	0,0533040112 / 0,0360583855
Monocyten (Mono)	62	0,04053028	0,13264741	0,0785048066 / 0,195563015
Granulocyten (Gran)	62	0,45696844	0,75116629	0,6024963841 / 0,0712154888

Tabelle 3: Deskriptive Statistik der verwendeten Covariaten für das vollständige Sample aus 62 Probandinnen; im ersten Abschnitt sind die allgemeinen Parameter aufgeführt (Altersverteilung, Totales intracraniales Volumen (TIV), Anzahl der Probandinnen, deren Testung in Marburg bzw. Münster durchgeführt wurde; Anteil der Raucherinnen bzw. Nichtraucherinnen am Sample (ein positiver Raucherstatus wurde auch dann vergeben, wenn lediglich ein Ex-Nikotinabusus besteht); im zweiten Abschnitt sind die Methylierungswerte der verschiedenen verwendeten Zellreihen aufgeführt: CD8T (CD8-positive T-Zellen), CD4T (CD4-positive T-Zellen), NK (natürliche Killerzellen), Mono (Monocyten) und Gran (Granulocyten)

	N (%)	Minimum	Maximum	Mean / Std. Deviation
Alter	59	18	50	30,88 / 9,409
TIV	59	1337,06	1769,23	1549,7142 / 98,94996
Testzentrum Marburg	51 (86,4)	-	-	-
Testzentrum Münster	8 (13,6)	-	-	-
früherer/aktueller positiver Raucherstatus	37 (62,7)	-	-	-
negativer Raucherstatus	22 (37,3)	-	-	-

CD-8-positive T-Zellen (CD8T)	59	0,00000001	0,14917382	0,063195172 / 0,031530947
CD-4-positive T-Zellen (CD4T)	59	0,06810117	0,33645322	0,168101033 / 0,051862181
natürliche Killerzellen (NK)	59	0,00284597	0,15978275	0,055108164 / 0,035895059
Monocyten (Mono)	59	0,04053028	0,13264741	0,078675381 / 0,020009870
Granulocyten (Gran)	59	0,45696844	0,75116629	0,601711849 / 0,069389027

Tabelle 4: Deskriptive Statistik des reduzierten Samples aus 59 Probandinnen für die DTI-Analysen;

Voxelbasierte Morphometrie

Es sollte der Einfluss des Methylierungsgrades der zuvor ausgewählten CpG-Sites, sowie der gegenübergreifend ermittelten Faktoren, auf das Volumen der grauen Substanz ermittelt werden.

Die Analyse der Daten für VBM erfolgte mit der CAT12 Toolbox (Computational Anatomy Toolbox, Version r1278) der Structural Brain Mapping Group (Prof. Dr. Christian Gaser - Universität Jena - <http://dbm.neuro.uni-jena.de/cat/>). Diese Toolbox ist eine Erweiterung der SPM12-Software (Statistical Parametric Mapping, Wellcome Trust Centre for Neuroimaging).

Es wurde eine multiple Regressionsanalyse durchgeführt, um den Einfluss des Methylierungsgrades des ausgewählten CpG-Sites zu ermitteln. Hierfür wurde der Methylierungskoeffizient der für die jeweilige Analyse verwendeten CGI im General linear model (GLM) als abhängige Variable festgelegt.

Zwei Kontraste wurden definiert, um positive und negative Effekte der Methylierung auf die graue Substanz zu erfassen. Die Analysen erfolgten auf einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$ mit FWE-Korrektur (family wise error) für multiple Vergleiche. Eine neuroanatomische Zuordnung der Befunde erfolgte anhand des DARTEL-Algorithmus zur morphologischen Bildauswertung (Ashburner, 2007).

Gyrifizierung

Es sollte der Einfluss des Methylierungsgrades der zuvor ausgewählten CpG-Sites, sowie der gegenübergreifend ermittelten Faktoren, auf die Faltung des Cortex ermittelt werden.

Die Gyrifizierungsanalysen wurden ebenfalls mit Hilfe der CAT12 Toolbox in SPM12 durchgeführt. Die Vorverarbeitung der T1-Bilder erfolgte nach dem etablierten Protokoll des CAT12-Manuals der Structural Brain Mapping Group. Eine Kontrolle der Datensätze auf Artefakte oder sonstige Fehler erfolgte visuell und mittels der in CAT12 implementierten Funktion *check sample homogeneity*. Ziel der Vorverarbeitung ist die Differenzierung der verschiedenen Gewebeanteile, um die Grenze zwischen grauer Substanz des Cortex und der CSF bilden zu können. Hauptkriterium ist dabei die Signalintensität der einzelnen Voxel, wobei gerade solche Grenzbereiche aufgrund der Auflösung eine Herausforderung darstellen. CAT12 verwendet Wahrscheinlichkeitskarten, die die Lokalisation jedes Voxels berücksichtigen und dadurch eine genauere Zuordnung ermöglichen. Die Oberflächenkarten wurden für linke und rechte Hemisphären getrennt erstellt. Im

letzten Schritt der Vorverarbeitung erfolgte eine Glättung mit einem Gaußfilter von 20mm *full-width at half maximum* (FWHM).

Es wurden die selben Covariaten wie bereits bei der voxelbasierten Morphometrie verwendet, ausgeschlossen natürlich TIV, da es sich nicht um volumenbezogene Analysen handelte. Die neuroanatomische Zuordnung erfolgte anhand des Desikan-Killiany automated labelling systems (Fischl et al., 2002)(Desikan et al., 2006).

DTI

Im Anschluss an die Volumen- und Gyrfizierungsforschungen sollte der Einfluss des Methylierungsgrades der zuvor festgelegten CpG-Sites und der erhobenen Faktoren auf die Integrität der weißen Substanz untersucht werden.

Die diffusionsgewichteten Aufnahmen wurden mit einer Echoplanarsequenz (EPI) gemessen. Es wurden dazu folgende Parameter festgelegt: Voxelgröße 2,5 mm x 2,5 mm x 2,5 mm, Repetitionszeit 7300 ms, Echozeit 90 ms, 56 Schichten, 30 Gradientenachsen, GRAPPA mit Beschleunigungsfaktor 2, Bandbreite 1502 Hz/Pixel.

Pro Teilnehmer wurden zwei Sets mit je 30 diffusionsgewichteten Bildern (b-Wert = 1000 s/mm²) und 3 nicht-diffusionsgewichtete Referenzaufnahmen (b-Wert = 0 s/mm²) erstellt. Die Akquisitionszeit betrug insgesamt 343 s.

Zur Auswertung wurde die FMRIB Software Library (FSL 5.0.7) der Analysis Group (Oxford, UK. <https://fsl.fmrib.ox.ac.uk>) verwendet. Für jede ProbandIn wurden zunächst die beiden Aufnahmetypen (diffusionsgewichtet und nicht-diffusionsgewichtet) zu einem einzigen 60-Seiten-starken Datensatz zusammengefügt. Es folgte eine Vorverarbeitung in vier Schritten:

- *eddy current correction*: Korrektur von Bewegung von ProbandInnen im Scanner und Artefakten durch eddy current (Wirbelströme).
- Freistellen der Gehirne durch Entfernen des umliegenden Gewebes
- Anpassen der Diffusionstensenoren an eddy-korrigierte Datensätze (DTIFIT in FSL).
- Visuelle Kontrolle der vorverarbeiteten Datensätze auf Artefakte, fehlende Bilder oder anormale Intensitätsunterschiede. Die visuelle Kontrolle führte zum Ausschluss von 3 Probandinnen der Subgruppe „ohne Risiko“.

Die vorverarbeiteten Datensätze wurden mit Hilfe der Tract-Based Spatial Statistics (TBSS) in FSL durchgeführt. Zunächst wurden die FA-Datensätze im 1x1x1 mm MNI-

Standardraum (Montreal Neurological Institute) nichtlinear registriert, und anschließend ein gemitteltes FA-Bild aus allen Datensätzen ermittelt. Weiterhin wurden die Randregionen der einzelnen Fasertrakte ausgeschlossen, da in diesen Bereichen eine sehr hohe Variabilität besteht, und in der letztendlichen Analyse nur große Trakte enthalten sein sollen, die allen Probandinnen gemeinsam sind. Schließlich erfolgte die Projektion der individuellen FA-Daten der Probandinnen auf das gemittelte FA-Skelett mit einem Schwellenwert von $\geq 0,3$, und die Erstellung eines General Linear Models (GLM).

In diesem Modell wurde der Methylierungswert der jeweils zu untersuchenden CGI bzw. einer der ermittelten Faktoren als abhängige Variable definiert. Die Covariaten zur Korrektur waren erneut Alter, Zentrum der Datenerhebung, früherer Raucherstatus, TIV, sowie die Blutzellreihen. Die Auswertung erfolgte traktbasiert, wobei für jeden Trakt eine ROI (*Region of interest*) auf Basis des JHU White-Matter Tractography Atlas der Johns Hopkins University definiert wurde (Melhem et al., 2002) (Hua et al., 2008). Zwei Kontraste wurden festgelegt, die es ermöglichten positive und negative Effekte aufzuspüren. Jeder Trakt wurde für beide Kontraste mit 5000 Permutationen auf einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$ getestet. Dabei kam TFCE (*Threshold-Free Cluster Enhancement*) zum Einsatz (Smith und Nichols, 2009). Eine FWE-Korrektur (*family wise error*) für multiple Vergleiche wurde durchgeführt.

FEB

Die Untersuchungen hinsichtlich der Korrelation von einzelnen Achsen des FEB mit den Methylierungsmustern der zuvor ausgewählten CpG-Sites bzw. der durch Faktorenanalyse gewonnenen genweiten Methylierungsmuster wurden mittels einer linearen Regression mit Korrelation nach Pearson durchgeführt.

Wie bereits bei den deskriptiv-statistischen Analysen kam SPSS 24 (IBM Corp. Released 2016. IBM SPSS Statistics for Linux, Version 24.0. Armonk, NY: IBM Corp.) zum Einsatz.

4 Ergebnisse

4.1 Korrelation von OXTR-Methylierung und der Morphologie grauer Substanz

In unserer Regressionsanalyse von Methylierungsgrad des OXTR und der Morphologie der grauen Substanz zeigte sich eine signifikante ($p < 0,008$, FWE korrigiert), negative Korrelation zwischen der Methylierung von cg23391006 und einem Areal von 1045 Voxeln im Bereich des rechten Temporallappens. Für keine weitere unserer untersuchten CpG-Sites oder Faktoren zeigte sich eine Korrelation zwischen Methylierungsgrad und Morphologie der grauen Substanz, bzw. keine solche in signifikantem Ausmaß.

Der Cluster überschneidet sich nach DARTEL-Algorithmus mit dem rechten Gyrus temporalis superior (41 % des Clusters), dem rechten Temporalpol (30% des Clusters) sowie rostralen Anteilen des Planum temporale (22 % des Clusters); die restlichen 6 % des Clusters werden allgemein dem Temporallappen ohne genauere Lokalisation zugeordnet. Somit ergibt sich eine signifikante Abnahme der Masse an grauer Substanz bei verstärkter Methylierung im Bereich dieser CpG-Site.

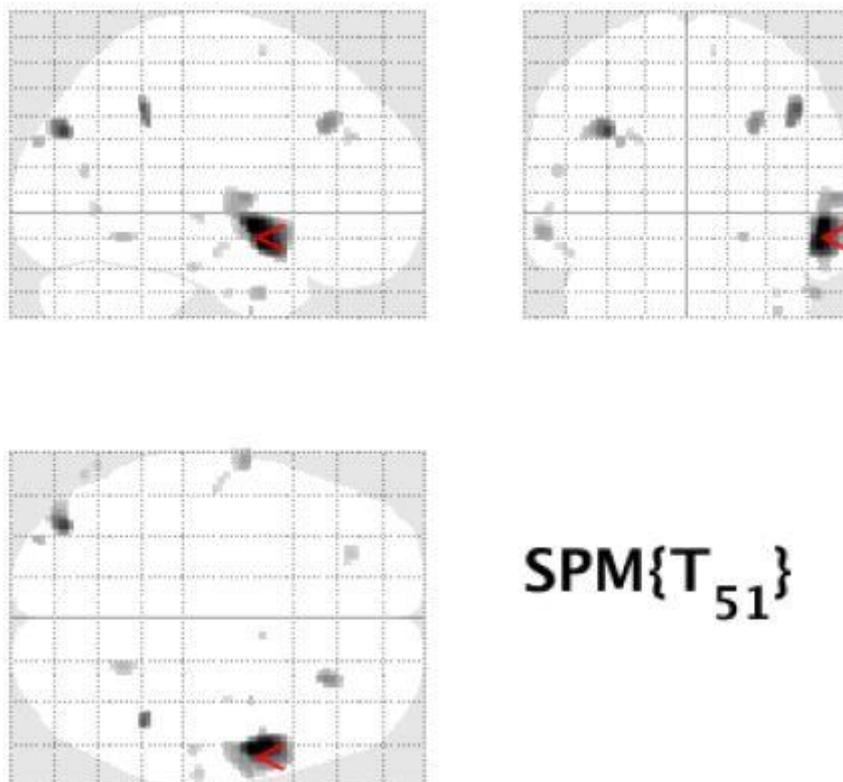


Abbildung 17: Korrelation der Masse an grauer Substanz in T1-gewichteten morphologischen Daten mit der Methylierung der CGI cg23391006 per multipler Regressionsanalyse; es zeigt sich ein Cluster von 1045 Voxeln bei einer FWE-korrigierten Signifikanz von $p < 0,008$; Projektion des Clusters auf das Gehirn von lateral rechts (o.l.) occipital (o.r.) und cranial (u)

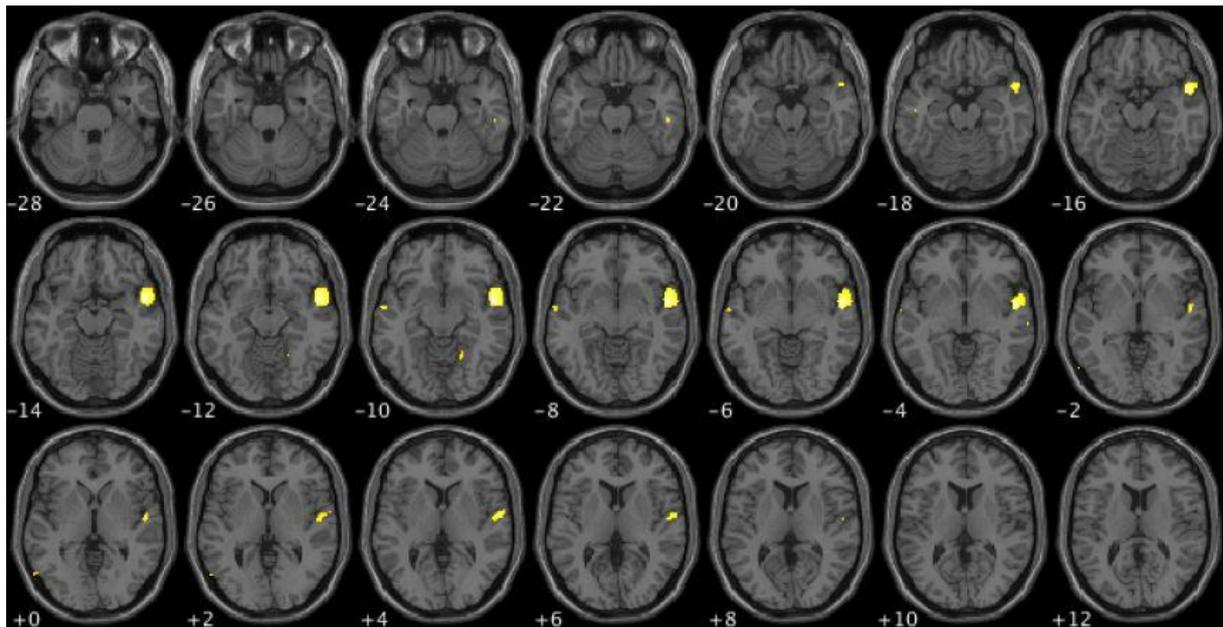


Abbildung 18: Korrelation der Masse an grauer Substanz in T1-gewichteten morphologischen Daten mit der Methylierung der CGI cg23391006 per multipler Regressionsanalyse; Darstellung des Clusters in Transversalschnittebene über mehrere Schnittebenen hinweg (Ansicht von cranial); deutlich zu sehen ist die Ausbreitung im Bereich des rechten Temporalpols; ebenfalls zur Darstellung kommt ein kleinerer Cluster im Bereich des linken Temporallappens, welcher nach FWE-Korrektur keine Signifikanz mehr zeigte

4.2 Korrelation von OXTR-Methylierung und der Morphologie der Cortexoberfläche (Gyrifizierung)

In den Regressionsanalysen von Methylierungsgrad des OXTR und der Morphologie der Cortexoberfläche zeigte sich für cg17285225 eine negative Korrelation zwischen Methylierungsgrad und Gyrifizierungsindex in einem Cluster.

Für keine weitere untersuchte CGI bzw. Faktor ergab sich eine signifikante Korrelation. Der hier dargestellte Bereich entspricht einem Gebiet von 237 Voxeln. Nach Desikan & Killiany ((Desikan et al., 2006), (Fischl et al., 2002)) überschneidet sich der Cluster zu 96 % mit der rechten Insula, wobei die restlichen 4 % der Pars opercularis des Gyrus frontalis inferior zugeordnet werden. Die Signifikanz liegt bei $p > 0,036$ (FWE korrigiert). Somit zeigt sich bei verstärkter Methylierung im Bereich der untersuchten CGI eine verminderte Gyrifizierung in diesem Cortexabschnitt.

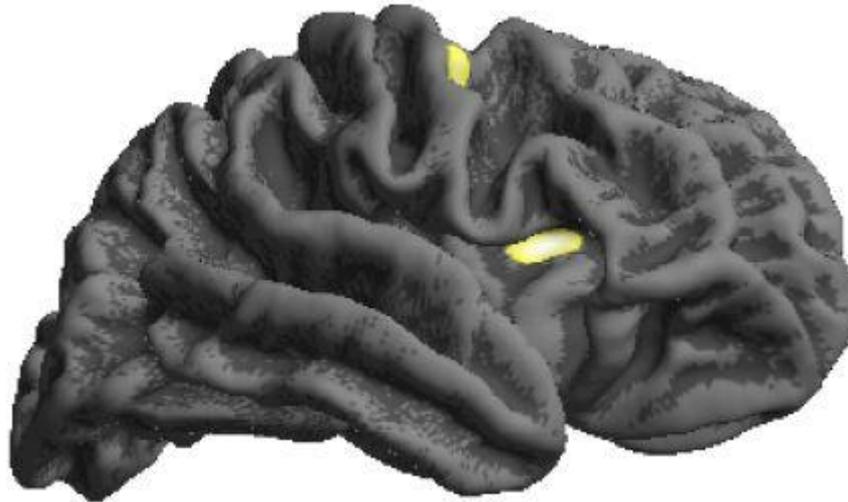


Abbildung 19: Korrelation der Morphologie der Cortexoberfläche (Gyrifizierung) mit der Methylierung der CGI cg17285225; Darstellung eines FWE-korrigiert signifikanten Clusters ($p < 0,036$) im Bereich der rechten Insula; weiterhin dargestellt ist ein Cluster im Bereich des Gyrus praecentralis, welcher nach FWE-Korrektur keine Signifikanz mehr zeigte

4.3 Korrelation der OXTR-Methylierung und der fraktionellen Anisotropie in Fasertrakten weißer Substanz (DTI)

In unserer Regressionsanalyse von Methylierungsgrad des OXTR und der Integrität der Faserbahnen weißer Substanz zeigten sich mehrere signifikante Cluster in verschiedenen neuronalen Fasertrakten. Diese Cluster zeigten teils eine negative, teils eine positive Korrelation in Bezug auf den Methylierungsgrad, entsprechend einer erhöhten bzw. verminderten neuronalen Integrität.

cg09356330

Der erste signifikante Cluster zeigte sich bei einer Korrelation der CGI cg09356330. Hierbei handelt es sich um eine negative Korrelation, ergo um eine verminderte Integrität in einem Feld von insgesamt 20 Voxeln. Diese überschneiden sich zu 37% mit dem Fasciculus longitudinalis superior links. Nach FWE-Korrektur zeigte sich für diesen Cluster eine Signifikanz von $p < 0,05$.

cg23391006

Weiterhin ergab sich eine signifikante, positive Korrelation zwischen der CGI cg23391006 und einem Cluster von 139 Voxeln. Dies ist nennenswert, da es sich hier um die erste und einzige positive Korrelation in dieser Untersuchung handelte, ergo um eine erhöhte Integrität der Fasertrakte im Bereich dieses Clusters bei erhöhtem Methylierungsgrad der CGI. Dieser überschneidet sich zu 5% mit der Forceps minor bei

einer Signifikanz von $p < 0,03$ (FWE korrigiert). Für keine weitere der untersuchten CpG-Sites ergab sich eine signifikante Korrelation mit der Integrität der Fasertrakte weißer Substanz.

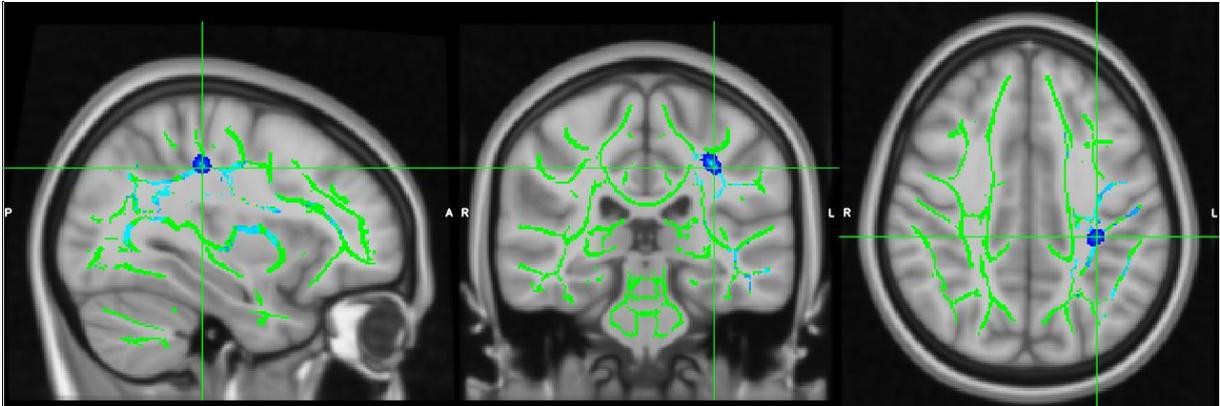


Abbildung 20: grün: FA-Skelett aller Faserbahnen aus den Mittelwerten aller eingeschlossenen Probandinnen; blau/hellblau: Projektion des Clusters mit signifikant ($p < 0,05$, FWE-korrigiert) erniedrigter FA in seinen Anteilen am Fasciculus longitudinalis superior links in Korrelation zum Methylierungsgrad der CGI cg09356330 (Fadenkreuz auf dem Cluster);

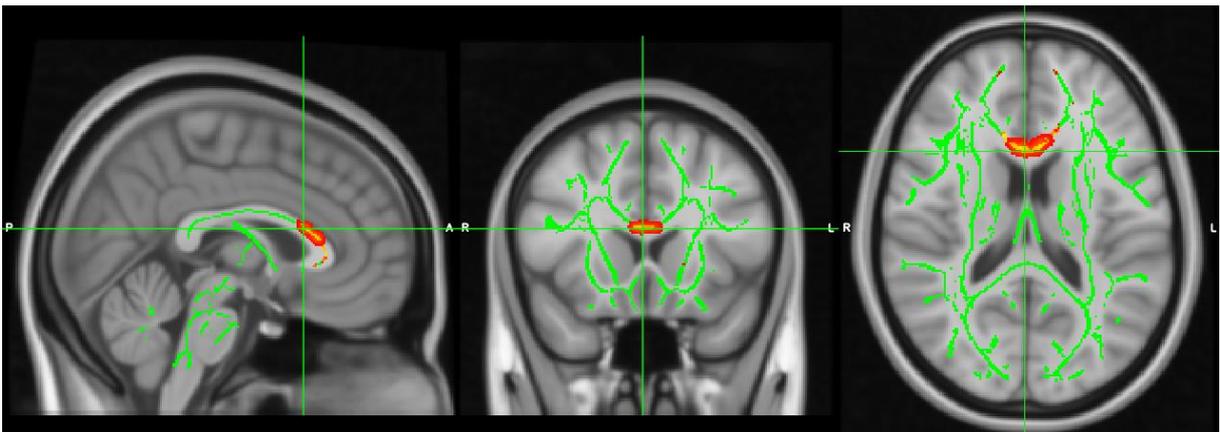


Abbildung 21: grün: FA-Skelett aller Faserbahnen aus den Mittelwerten aller eingeschlossenen Probandinnen; rot/orange: Projektion des Clusters mit signifikant ($p < 0,05$, FWE-korrigiert) erhöhter FA in seinen Anteilen an der Forceps minor in Korrelation zum Methylierungsgrad der CGI cg23391006 (Fadenkreuz auf dem Cluster)

Faktor 3

In unseren Analysen von CGI-übergreifenden Faktoren aus mehreren CpG-Sites und der Integrität der weißen Substanz ergaben sich lediglich für einen der Faktoren signifikante Befunde ($p < 0,05$, FWE korrigiert), jedoch in den Analysen mehrerer verschiedener Fasertrakte. Es handelt sich hierbei um Faktor 3, welcher insgesamt 11,353 % der Varianz erklärt, und welcher von den einzelnen untersuchten CpG-Sites lediglich cg17285225 enthält, für welche keine andere signifikante Korrelation gefunden werden konnte. Die Korrelation dieses Faktors zeigte eine Vielzahl von Clustern auf, vor allem lokalisiert im Fasciculus longitudinalis superior (SLF) (beidseits), im Fasciculus

longitudinalis inferior (ILF) (beidseits), der Forceps minor (FM) und dem linken Cingulum (sowie kleineren Anteilen weiterer Fasertrakte). Die Cluster wurden im Folgenden durchnummeriert, um eine einfachere Erläuterung möglich zu machen (s. Tabelle 5). Alle der signifikanten Cluster zeigten eine negative Korrelation mit dem Methylierungsindex des gebildeten Faktors und damit eine verminderte Integrität der Faserbahnen weißer Substanz, denen sie nachfolgenden anhand des White Matter Tractography Atlas (Hua et al., 2008) (Melhem et al., 2002) zugeordnet werden konnten; nachfolgend die graphische Darstellung der Cluster.

Cluster	Korrelation	Voxelanzahl	Threshold / p-Wert	Anteile an Fasertrakten in % (anhand des JHU White-Matter Tractography Atlas)
1	negativ	340	0,998	29% Forceps minor, 5% Cingulum L
2	negativ	328	0,98	84% Forceps minor
3	negativ	524	0,993	42% Forceps minor, 8% Cingulum L
4	negativ	1569	0,992	50% Inferior Longitudinal Fasciculus L 5% Inferior fronto occipital fasciculus L
5	negativ	590	0,984	11% Inferior fronto-occipital fasciculus R, 3% Superior longitudinal fasciculus R, 3% Inferior longitudinal fasciculus R, 3% Anterior thalamic radiation R
6	negativ	607	0,972	42% Inferior fronto-occipital fasciculus R, 21% Inferior longitudinal fasciculus R, 3% Superior longitudinal fasciculus R
7	negativ	3841	0,999	42% Inferior longitudinal fasciculus L, 8% Inferior fronto-occipital fasciculus L, 3% Superior longitudinal fasciculus (temporal part) L, 3% Superior longitudinal fasciculus L
8	negativ	2267	0,993	32% Inferior longitudinal fasciculus R, 11% Inferior fronto-occipital fasciculus R
9	negativ	5072	0,999	18% Superior longitudinal fasciculus L, 16% Superior longitudinal fasciculus (temporal part) L
10	negativ	577	0,97	18% Superior longitudinal fasciculus R, 13% Superior longitudinal fasciculus (temporal part) R
11	negativ	3409	0,999	18% Superior longitudinal fasciculus L, 16% Superior longitudinal fasciculus (temporal part) L
Wholebrain	negativ	46408	0,996	32.0% Inferior longitudinal fasciculus L, 8.0% Superior longitudinal fasciculus (temporal part) L, 8.0% Superior longitudinal fasciculus L, 3.0% Inferior fronto-occipital fasciculus L

Tabelle 5: Aufstellung der nach FWE-Korrektur signifikanten Analyseergebnisse bezüglich der Korrelation der genweiten Methylierung des OXTR-Gens - dargestellt durch Faktor 3 - und der Integrität der weißen Substanz in den einzelnen Fasertrakten (nach JHU White-Matter Tractography Atlas); zur einfacheren Übersicht wurden die Cluster einzelner analysierter Trakte durchnummeriert; zuletzt die Wholebrain-Analyse.

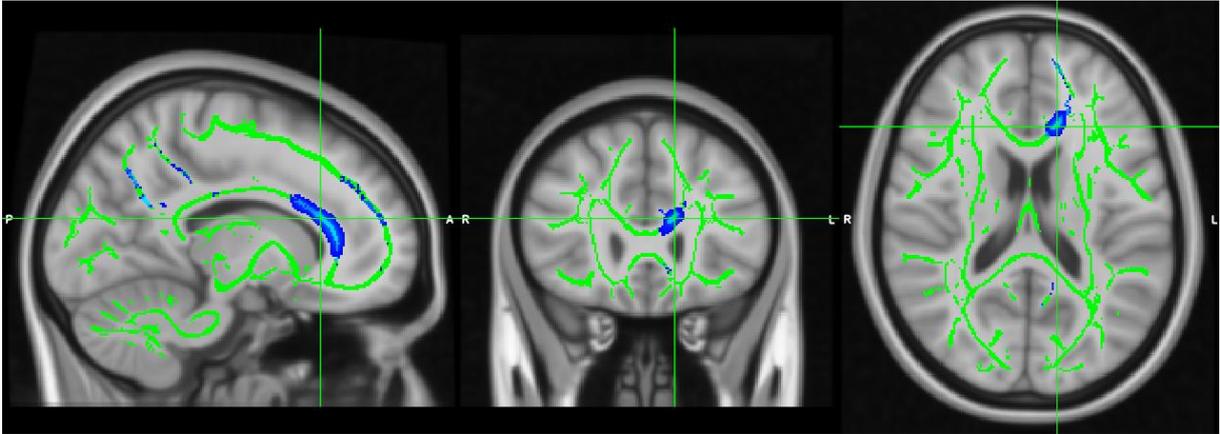


Abbildung 22: Darstellung von Cluster 1; Projektion der negativen Korrelation der FA mit Faktor 3; grün: FA-Skelett aller Faserbahnen aus den Mittelwerten aller eingeschlossenen Probandinnen; blau/hellblau: Areale mit signifikant erniedrigter FA ($p < 0,05$, FWE-korrigiert) mit Anteilen an der Forceps minor (29%) und dem linken Cingulum (5%);

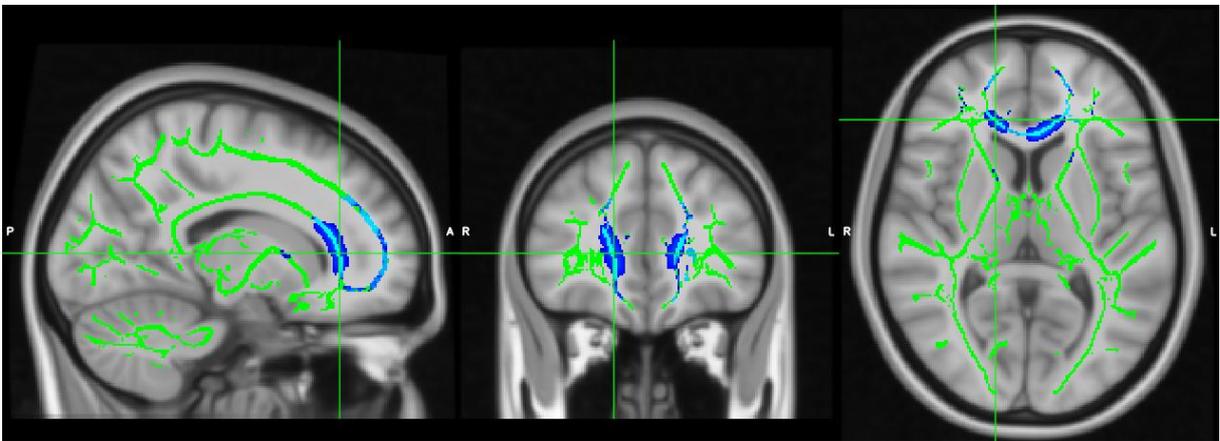


Abbildung 23: Darstellung von Cluster 2; Projektion der negativen Korrelation der FA mit Faktor 3; grün: FA-Skelett aller Faserbahnen aus den Mittelwerten aller eingeschlossenen Probandinnen; blau/hellblau: Areale mit signifikant erniedrigter FA ($p < 0,05$, FWE-korrigiert) mit Anteilen an der Forceps minor (84%);

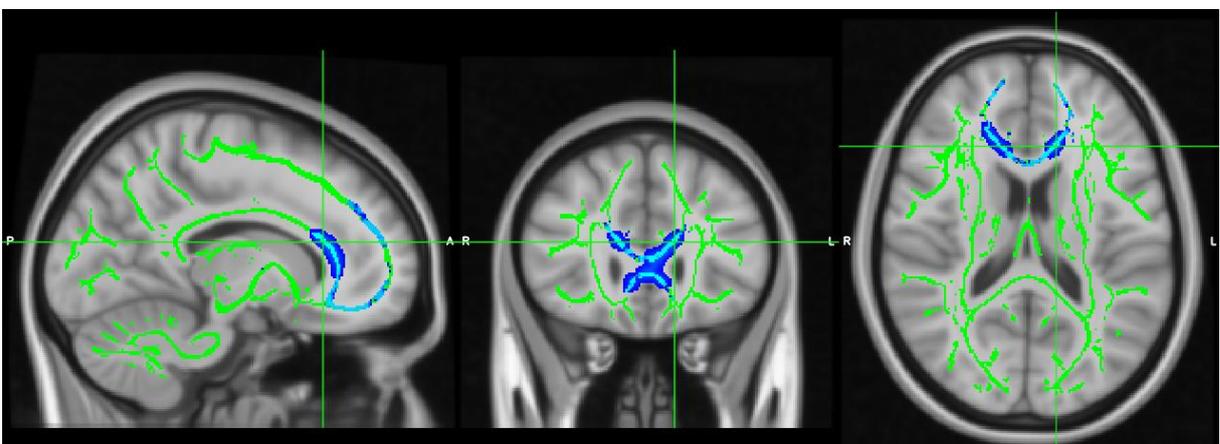


Abbildung 24: Darstellung von Cluster 3; Projektion der negativen Korrelation der FA mit Faktor 3; grün: FA-Skelett aller Faserbahnen aus den Mittelwerten aller eingeschlossenen Probandinnen; blau/hellblau: Areale mit signifikant erniedrigter FA ($p < 0,05$, FWE-korrigiert) mit Anteilen an der Forceps minor (42 %) und dem linken Cingulum (8 %);

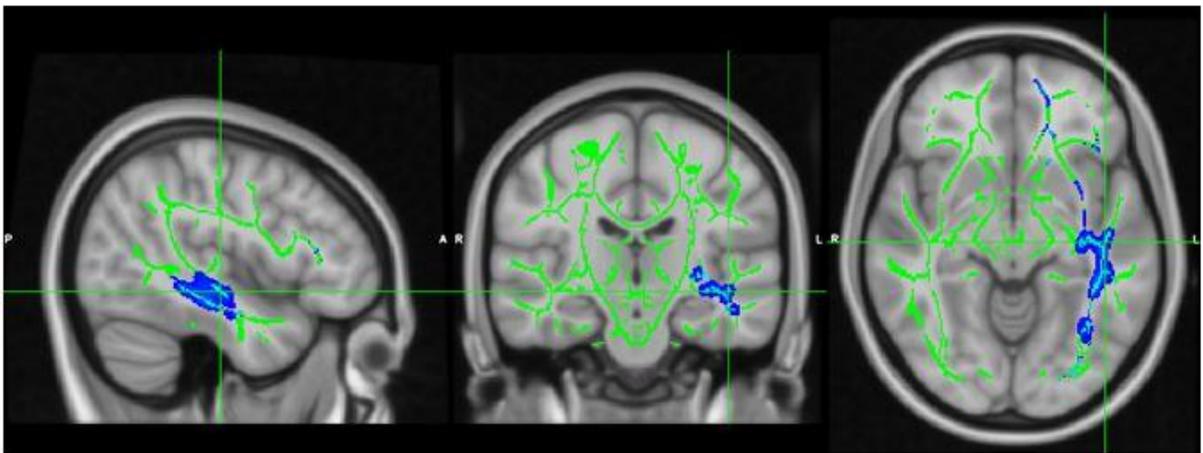
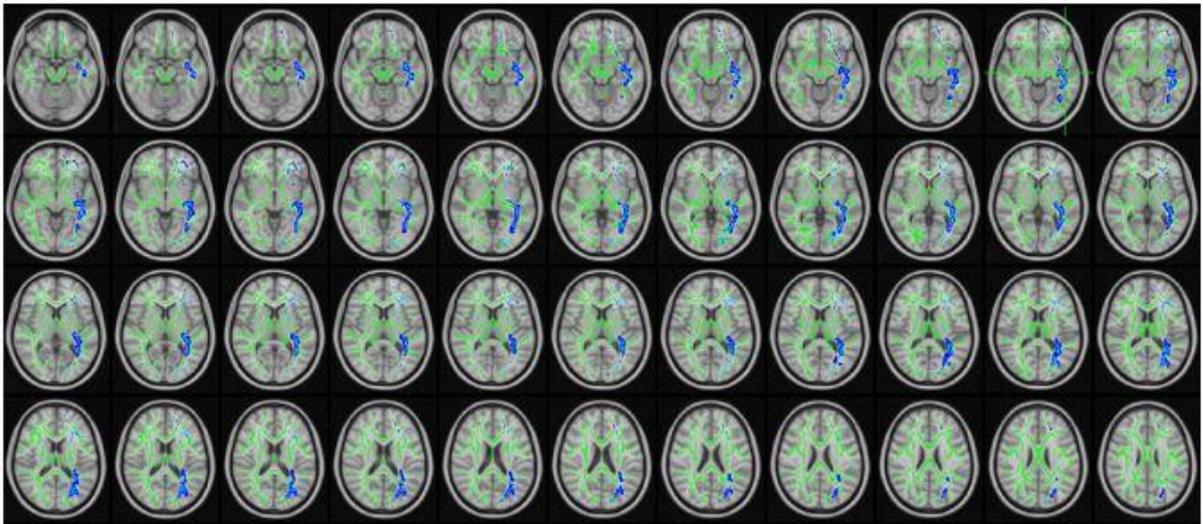


Abbildung 25: Darstellung von Cluster 4; Projektion der negativen Korrelation der FA mit Faktor 3 in reiner Transversaldarstellung (Schichtdicke: 1mm) und in Übersicht; grün: FA-Skelett aller Faserbahnen aus den Mittelwerten aller eingeschlossenen Probandinnen; blau/hellblau: Areale mit signifikant erniedrigter FA ($p < 0,05$, FWE-korrigiert) mit Anteilen am Fasciculus longitudinalis inferior links (50 %) sowie Teilen des Fasciculus fronto-occipitalis links (5 %);

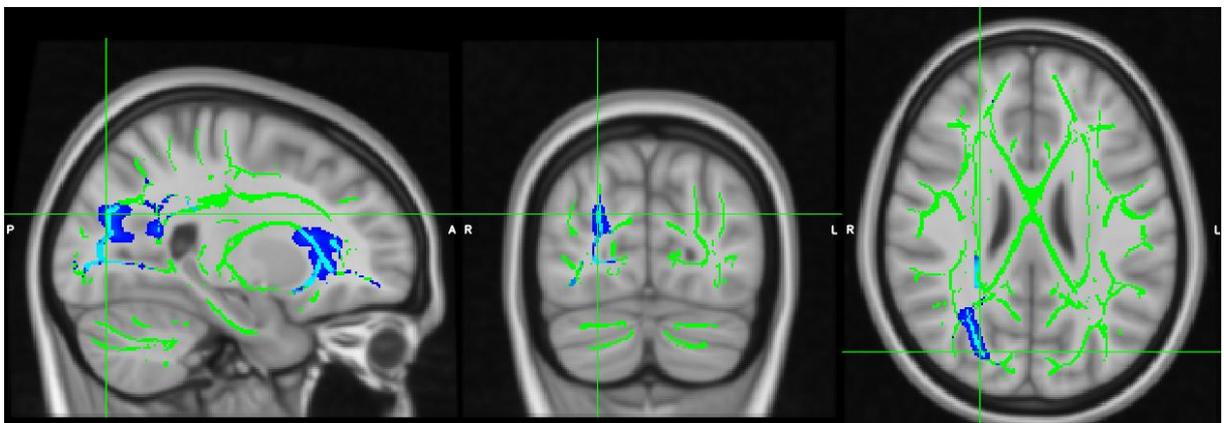


Abbildung 26: Darstellung von Cluster Nr. 5; Projektion der negativen Korrelation der FA mit Faktor 3; grün: FA-Skelett aller Faserbahnen aus den Mittelwerten aller eingeschlossenen Probandinnen; blau/hellblau: Areale mit signifikant erniedrigter FA ($p < 0,05$, FWE-korrigiert) mit Anteilen am Fasciculus fronto-occipitalis inferior rechts (11 %), am Fasciculus longitudinalis superior rechts (3 %), am Fasciculus longitudinalis inferior rechts (3 %) und an der Radiatio thalamicus anterior rechts (3 %);

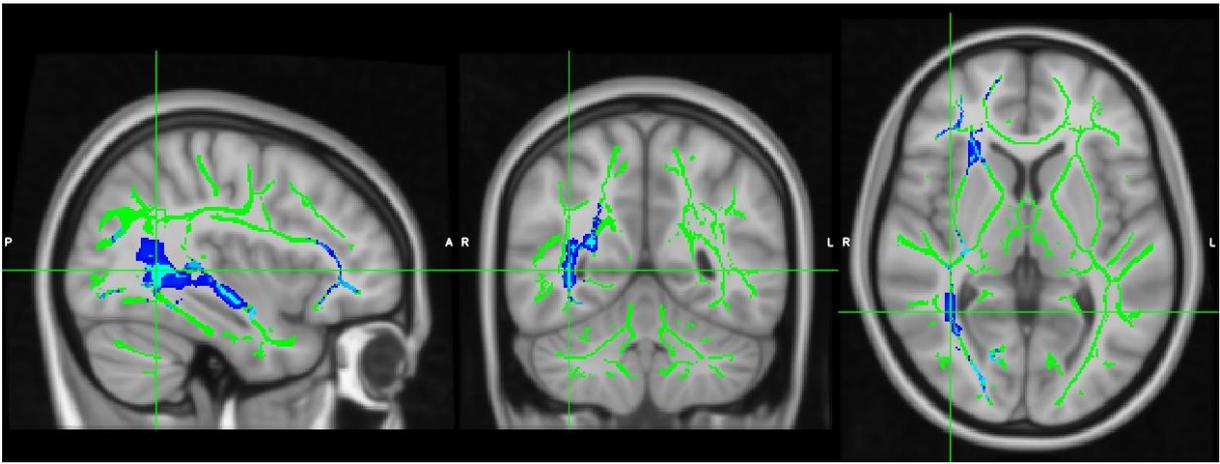


Abbildung 27: Darstellung von Cluster Nr. 6; Projektion der negativen Korrelation der FA mit Faktor 3; grün: FA-Skelett aller Faserbahnen aus den Mittelwerten aller eingeschlossenen Probandinnen; blau/hellblau: Areale mit signifikant erniedrigter FA ($p < 0,05$, FWE-korrigiert) mit Anteilen am Fasciculus fronto-occipitalis inferior rechts (42 %), am Fasciculus longitudinalis inferior rechts (21 %) sowie dem Fasciculus longitudinalis superior rechts (3 %);

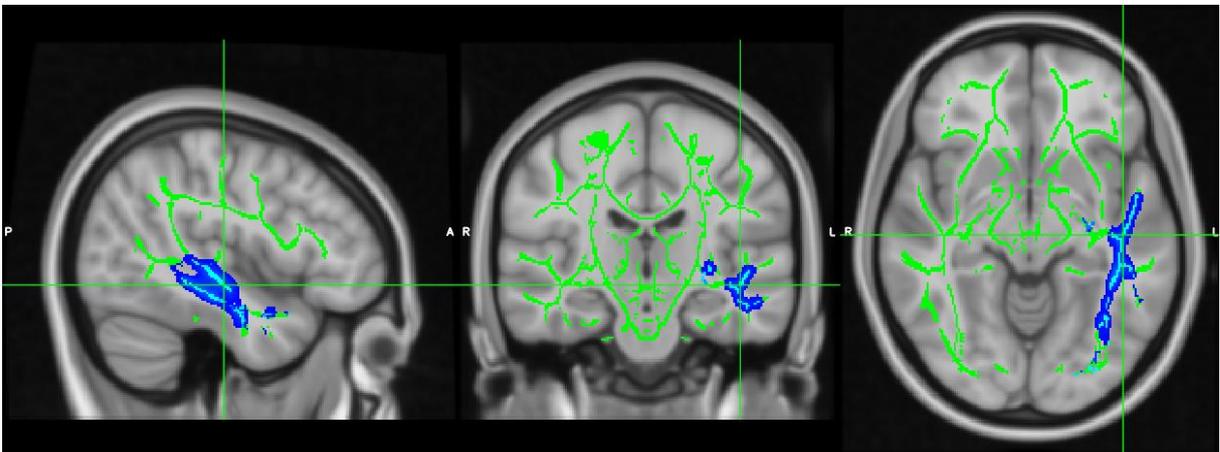


Abbildung 28: Darstellung von Cluster Nr. 7; Projektion der negativen Korrelation der FA mit Faktor 3; grün: FA-Skelett aller Faserbahnen aus den Mittelwerten aller eingeschlossenen Probandinnen; blau/hellblau: Areale mit signifikant erniedrigter FA ($p < 0,05$, FWE-korrigiert) mit Anteilen am Fasciculus longitudinalis inferior links (42 %), am Fasciculus fronto-occipitalis inferior links (8 %), am Fasciculus longitudinalis superior links (Haupttrakt 3 %, temporaler Anteil 3 %)

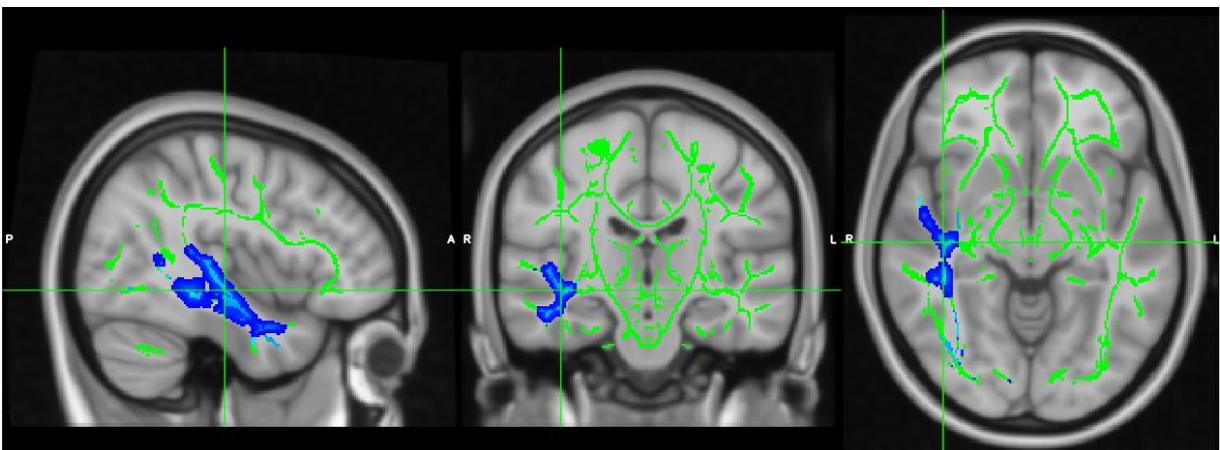


Abbildung 29: Darstellung von Cluster Nr. 8; Projektion der negativen Korrelation der FA mit Faktor 3; grün: FA-Skelett aller Faserbahnen aus den Mittelwerten aller eingeschlossenen Probandinnen; blau/hellblau: Areale mit signifikant erniedrigter FA ($p < 0,05$, FWE-korrigiert) mit Anteilen am Fasc. longitudinalis inferior rechts (32 %) sowie dem Fasciculus fronto-occipitalis inferior rechts (11 %)

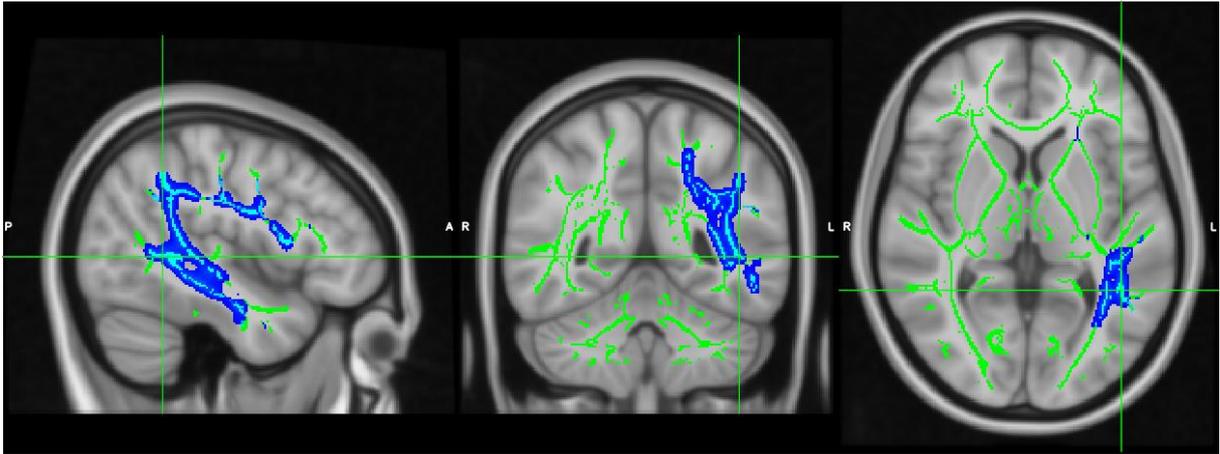


Abbildung 30: Darstellung von Cluster Nr. 9; Projektion der negativen Korrelation der FA mit Faktor 3; grün: FA-Skelett aller Faserbahnen aus den Mittelwerten aller eingeschlossenen Probandinnen; blau/hellblau: Areale mit signifikant erniedrigter FA ($p < 0,05$, FWE-korrigiert) mit Anteilen am Fasciculus longitudinalis superior links (Haupttrakt 18 %, temporaler Anteil 16 %)

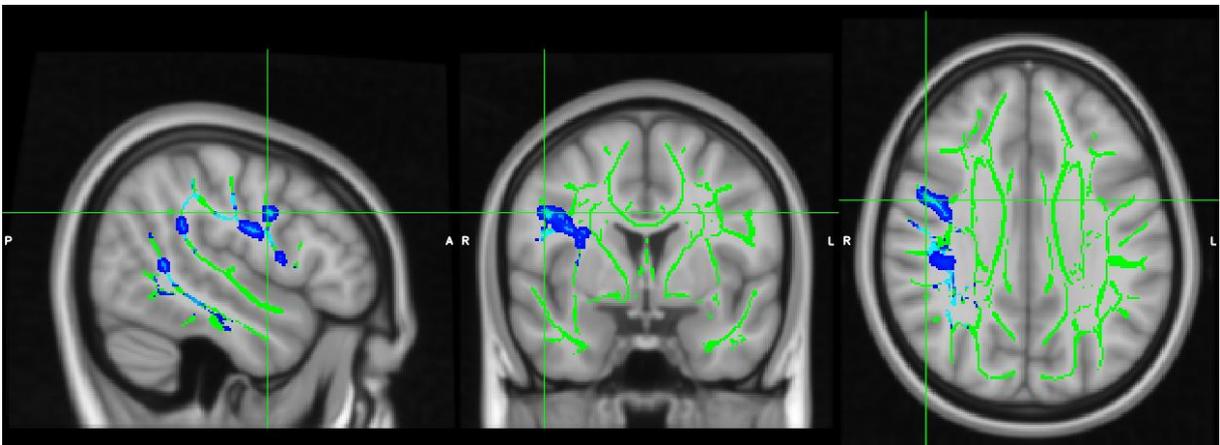


Abbildung 31: Darstellung von Cluster Nr. 10; Projektion der negativen Korrelation der FA mit Faktor 3; grün: FA-Skelett aller Faserbahnen aus den Mittelwerten aller eingeschlossenen Probandinnen; blau/hellblau: Areale mit signifikant erniedrigter FA ($p < 0,05$, FWE-korrigiert) mit Anteilen am Fasciculus longitudinalis superior rechts (Haupttrakt 18 %, temporaler Anteil 13 %)

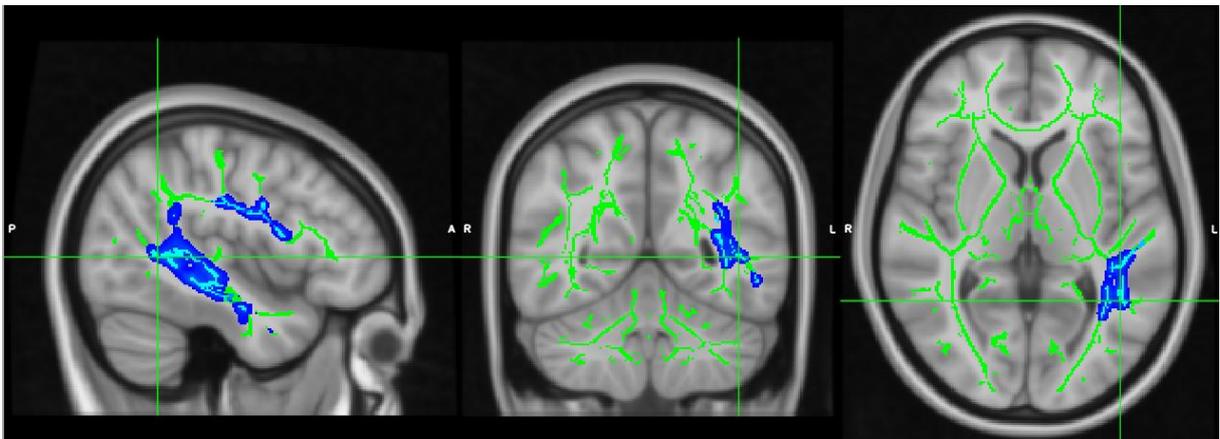


Abbildung 32: Darstellung von Cluster Nr. 11; Projektion der negativen Korrelation der FA mit Faktor 3; grün: FA-Skelett aller Faserbahnen aus den Mittelwerten aller eingeschlossenen Probandinnen; blau/hellblau: Areale mit signifikant erniedrigter FA ($p < 0,05$, FWE-korrigiert) mit Anteilen am Fasciculus longitudinalis superior links (Haupttrakt 18 %, temporaler Anteil 16 %)

4.4 Korrelation von elterlichen Bindungsstilen und OXTR-Methylierung

Abschließend soll überprüft werden, ob eine Korrelation zwischen den Methylierungswerten der untersuchten CpG-Sites bzw. den gebildeten Faktoren über die genweite Methylierung, und den einzelnen Bindungsfaktoren des FEB besteht. Hierbei zeigten sich 6 signifikante Korrelationen, allesamt negativ.

		FEB_Fuersorge _Mutter	FEB_Fuersorge _Vater	FEB_Kontrolle _Mutter	FEB_Kontrolle _Vater
cg23391006	Pearson Correlation	-0,25	-0,275	-0,045	-0,215
	Sig. (2-tailed)	0,05	0,031	0,726	-0,093
cg17285225	Pearson Correlation	-0,328	-0,132	-0,254	-0,264
	Sig. (2-tailed)	0,009	0,307	0,046	0,038
cg09353063	Pearson Correlation	-0,003	0,114	-0,134	-0,096
	Sig. (2-tailed)	0,981	0,379	0,297	0,457
Faktor 1	Pearson Correlation	-0,069	-0,016	-0,263	-0,203
	Sig. (2-tailed)	0,593	0,903	0,039	0,113
Faktor 2	Pearson Correlation	-0,032	-0,157	0,034	-0,042
	Sig. (2-tailed)	0,808	0,222	0,791	0,747
Faktor 3	Pearson Correlation	-0,251	-0,097	-0,115	-0,173
	Sig. (2-tailed)	0,049	0,452	0,373	0,178

Tabelle 6: Korrelation der einzelnen Achsen des FEB mit den Methylierungsgraden der zuvor ausgewählten CpG-Sites bzw. berechneten genweiten Methylierungsgraden; die Berechnung der Korrelation erfolgte nach Pearson. Alle statistisch signifikanten ($p < 0,05$) Korrelationen sind farblich hinterlegt, wobei die Korrelation mit höchstem Korrelationskoeffizienten dunkelgrün hinterlegt ist; in cyan sind die weiteren signifikanten Korrelationen hervorgehoben

Es zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen der Methylierung von cg17285225 und der Skala „Fuersorge/Care“ in Bezug auf die Mutter. Hierbei handelt es sich um eine negative Korrelation, entsprechend einer geringeren, retrograden Wahrnehmung von mütterlichem fürsorglichen Verhalten bei erhöhtem Methylierungsgrad im Bereich dieser CpG-Site ($p < 0,009$, Korrelationskoeffizient -0,328 nach Pearson).

Demgegenüber zeigen sich für dieselbe CpG-Site ebenfalls negative Korrelationen, jedoch kleinere Koeffizienten, mit den Skalen für „Control/Kontrolle“ in Bezug auf Mutter und Vater ($p < 0,046$ bzw. 0,038; Korrelationskoeffizient nach Pearson -0,254 bzw. -0,264). Dies entspricht bei einer stärkeren Methylierung im Bereich dieser CpG-Site einer als geringer eingeschätzten Kontrolle durch sowohl Mutter als auch Vater.

Eine weitere Korrelation in Bezug auf mütterliche Fürsorge zeigte sich für Faktor 3. Hierbei zeigte sich eine knapp signifikante ($p < 0,049$) negative Korrelation, mit jedoch geringerer Stärke als für cg17285225 (Korrelationskoeffizient nach Pearson $-0,251$).

Die Achse der väterlichen Fürsorge zeigte lediglich eine einzige signifikante Korrelation, und zwar mit der CGI cg23391006. Auch hierbei handelte es sich wieder um eine negative Korrelation vergleichbarer Stärke und Signifikanz wie bereits in Bezug auf Faktor 3 ($p < 0,031$, Korrelationskoeffizient nach Pearson $-0,275$).

Eine letzte negative Korrelation ergab sich für Faktor 1 und die Achse „Control/Kontrolle“ in Bezug auf die Mutter ($p < 0,039$; Korrelationskoeffizient nach Pearson $-0,263$).

5 Diskussion

Oxytocin und sein neuronales System sind hochgradig konservierte Teile der menschlichen Neuroanatomie und -physiologie. Ihr Einfluss erstreckt sich von der Lactationsphase der Mutter nach Entbindung, über die Prägung der elterlichen Bindungsstile bis hin zur Beeinflussung des menschlichen Miteinanders über die gesamte Lebensspanne. Eine veränderte Wahrnehmung zwischenmenschlicher Signale und des Umgang mit Anderen zeigt sich in vielen psychiatrischen Erkrankungen, weswegen das OXT-System in den letzten zwei Jahrzehnten vermehrt Gegenstand der Ursachenforschung psychiatrischer Erkrankungen war.

Der Einfluss epigenetischer Veränderungen auf dieses System wurde damit zunehmend als Korrelat der veränderten zwischenmenschlichen Interaktion gesehen und erfuhr damit ebenfalls zunehmend mehr Aufmerksamkeit. Inwieweit diese Veränderungen jedoch nicht nur die OXT-Spiegel von Individuen beeinflussten, sondern auch langfristige Veränderungen der Hirnmorphologie nach sich zogen, ist bisher leider nicht hinreichend untersucht worden.

Daher wurde in der nun vorliegenden Arbeit die Korrelation der Methylierung ausgewählter CpG-Sites, sowie eigens erstellter genomweiter Methylierungsfaktoren, mit der Dicke grauer Substanz, der Gyrfizierung des Cortex, sowie der Integrität Faserbahnen weißer Substanz untersucht. Um einen assoziativen Rahmen für die Arbeit zu schaffen, wurde weiterhin untersucht, inwieweit diese Methylierungsgrade mit retrograd wahrgenommenen Bindungsstilen, erfasst durch den FEB, korrelierten.

Hierbei sollte gezielt ein Hochrisikosample nicht-vorerkrankter Probandinnen untersucht werden, bestehend aus annähernd gleichen Anteilen von Probandinnen ohne Risikofaktoren, Probandinnen mit erhöhtem genetischem Risiko und Probandinnen mit erhöhtem Umweltrisiko.

Es zeigten sich insgesamt vor allem negative Korrelationen, entsprechend verminderter Dicke grauer Substanz bzw. verminderter Gyrfizierung bzw. verminderter Integrität der Leitungsbahnen bei erhöhten Methylierungsgraden der untersuchten CpGs bzw. Faktoren. Die Lokalisation der von uns dargestellten Cluster im Hinblick auf ihre Funktion soll im Folgenden in den aktuellen wissenschaftlichen Kontext gesetzt werden. Vor diesem Hintergrund zeigte sich ein gemischtes Bild hinsichtlich der Wahrnehmung elterlicher Bindungsstile. Obgleich sich eine verminderte Methylierung bei gleichzeitig als geringer wahrgenommener Fürsorge mit den in der unter 1.4 dargelegten Ergebnissen deckt, so stellt die ebenfalls als geringer wahrgenommene Kontrolle durch die Eltern einen Widerspruch dar. Auch dies soll hier kritisch aufgearbeitet werden.

5.1 Einordnung der Befunde in aktuellen wissenschaftlichen Kontext

Volumen grauer Substanz

Zu Beginn soll eine Einordnung der in der vorliegenden Arbeit festgestellten hirmorphologischen Veränderungen in den aktuellen wissenschaftlichen Kontext erfolgen, beginnend mit den dargelegten Volumenminderungen im Bereich des rechten Temporallappens in Korrelation zu einer Hypermethylierung im Bereich der CpG cg23391006.

Der Einfluss epigenetischer Veränderungen auf die Hirnmorphologie ist insgesamt ein noch sehr junges Themenfeld, sodass in einer 2020 durchgeführten Übersichtsarbeit nach ausführlicher Literatursuche nur 60 stichhaltige Arbeiten vorlagen (Wheater et al., 2020). Hierbei stießen Wheeler et al auf große Unterschiede in Samplezusammensetzung, Studiendesign und Korrekturmethode der verschiedenen Arbeiten, und merkten selbst an, dass dies - zusammen mit teils fehlenden Angaben bezüglich verwendeter Technologie und Software - die Vergleichbarkeit der vorliegenden Daten sehr einschränkt. Allein die Nomenklatur epigenetischer Loci variierte teils stark, was jedoch auch dem veränderbaren Charakter epigenetischer Veränderungen geschuldet ist. Von den 60 aufgelisteten Arbeiten wiederum beschäftigten sich lediglich 4 mit den epigenetischen Veränderungen des OXTR, und zeigten ansonsten auch nur bedingt Überschneidungen mit dem in dieser vorliegenden Arbeit verwendeten Studiendesign. Und obgleich seit der Veröffentlichung von Wheeler & Stoye weitere Arbeiten zu diesem Thema erschienen sind, so sind die bereits aufgeführten Probleme doch nach wie vor prävalent. Nichtsdestoweniger sollen die hier näher aufgearbeiteten Texte einen Rahmen bilden, um die Ergebnisse dieser Arbeit genauer betrachten zu können.

Dem explorativen Ansatz unseres Studiendesigns folgend waren die Regressionsanalysen in der vorliegenden Arbeit als Wholebrainanalysen an einem Hochrisikosample durchgeführt worden, sodass primär ein Vergleich mit einem ähnlichen Konzept anzustreben ist.

In einem vergleichbaren Ansatz analysierten Hiraoka et al die Mechanismen, mit welchen die Methylierung des OXT-Gens Einfluss auf die Empathie von Müttern nimmt. Es konnte gezeigt werden, dass die Methylierung mehrerer CpGs positiv mit der Fähigkeit der Mütter, negative Gefühle nachzuempfinden, korrelierten. Weiterhin korrelierte die Methylierung dieser CpGs in MRT-morphologischen Untersuchungen

negativ mit dem Volumen an grauer Substanz im Bereich des Gyrus temporalis inferior rechts (Hiraoka et al., 2021).

Laut Stand von Hiraoka – sowie auch unserem – war dies das erste Mal, dass eine derartige Korrelation von DNS-Methylierung, Hirnstruktur und einem quantifizierbaren Phänotypen festgestellt wurde. Das hierbei veränderte Areal im Bereich des Temporallappens wurde in mehreren Studien bereits als ein Ort der emotionalen Verarbeitung beschrieben (Jenness et al., 2021) (Haas et al., 2016), was sich mit der Annahme von Hiraoka deckt, dass eine veränderte Methylierung des OXT-Gens, in diesem Fall als Hypermethylierung, ergo verminderte Translation, sich in einer Abnahme von Masse in entsprechenden Hirnarealen zeigen sollte. Der Temporallappen als Areal ist besonders interessant, als dass er eine der am stärksten wachsenden Regionen grauer Substanz in der frühkindlichen Entwicklung ist. Diesen Trend führt er bis ins zweite Lebensjahr fort. Weiterhin gehört auch die Insula zu Regionen mit verstärktem Wachstum (Gilmore et al., 2012).

Die hier vorliegende Arbeit konnte eine Korrelation zwischen der Hypermethylierung der CpG cg23391006 des OXT-Gens und einer Volumenabnahme im Bereich des rechten Temporallappens aufzeigen, jedoch im Bereich des Gyrus temporalis superior mit Übergang in den Temporalpol. Die von Hiraoka et al herangezogene Literatur beschreibt diesbezüglich eine Beteiligung temporaler Strukturen an der Fähigkeit zur Empathie, vor allem in Bezug auf die Fähigkeit, sich in andere hineinzusetzen (Shamay-Tsoory, 2011). Obgleich sich die beschriebenen Gebiete nach jeweiliger Zuordnung nicht decken (Gyrus temporalis medialis vs. Gyrus temporalis superior), so ist die anatomische Nähe zueinander nicht von der Hand zu weisen, und eine Beteiligung des Temporalpols wurde sowohl in dieser Arbeit nachgewiesen als auch in der Literatur vorbeschrieben. Weitere Unterschiede in der Lokalisation der Befunde könnten zudem der unterschiedlichen verwendeten Software und Atlanten geschuldet sein (Hiraoka et al verwendeten SPM12 und Freesurfer).

Insgesamt muss im Rahmen dieser Untersuchungen betont werden, dass die Strukturen des Temporallappens einen nicht zu übersehenden Anteil an den Folgen epigenetischer Veränderungen des OXT-Systems tragen, obgleich deren genaues Ausmaß und Bedeutung weiterhin vage bleiben. Der dominanten Hypothese folgend kann eine Reduktion des Volumens, auch über mehrere Gyri hinweg, als Folge einer Anpassung an negative soziale Stimuli gesehen werden, wobei epigenetische Veränderungen diese vermitteln. Jedoch ist die Abschätzung konkreter Folgen solcher Stimuli im Rahmen eines derart adaptiven Systems wie dem Gehirn schwierig. Andere Arbeiten konnten beispielsweise eine Korrelation zwischen verbaler elterlicher Aggression und einer

Volumenzunahme im Bereich des linken STG feststellen (Tomoda et al., 2011). Hierbei handelte es sich jedoch um ein kleineres Sample sowie einen direkten Gruppenvergleich (18 ProbandInnen mit verbaler Missbrauchserfahrung und 19 Gesunde KontrollprobandInnen). Dem entgegen stellten Schneider-Hassloff et al fest, dass das Volumen der grauen Substanz des linken Temporalpols bei homozygoten Trägern eines OXTR-Risikoallels (rs53576) vermindert ist (Schneider-Hassloff et al., 2016). Zusammenfassend lässt sich damit zunächst sagen, dass der Temporallappen eine Rolle im Rahmen des OXT-Systems spielt. Wie genau diese definiert ist, und wie groß diese Rolle ist, bleibt dagegen noch schwer einzuschätzen und sollte beispielsweise durch ROI-basierte Analysen ergänzt werden.

Ein direkter Vergleich der Befunde in der vorliegenden Arbeit und denen von Hiraoka et al mit dem übrigen Kontext gestaltet sich leider dadurch schwierig, dass die Mehrheit der aktuell vorliegenden Arbeiten sich bereits mit ROI-Untersuchungen -ausgewählt anhand bisheriger Arbeiten, die mit dem OXTR assoziierte Areale beschrieben - beschäftigen. In diesem Rahmen spielen temporale Strukturen bisher leider keine signifikante Rolle. So wurden zwar weitere Korrelationen zwischen epigenetischen Veränderungen des OXTR und anderen Hirnarealen aufgedeckt, jedoch mögliche weitere Befunde im Bereich des Temporallappens übersehen. So beschrieben beispielsweise Fujisawa et al ebenfalls negative Korrelationen zwischen dem Methylierungsgrad des OXTR und dem Volumen grauer Substanz, jedoch im Bereich des linken orbitofrontalen Cortex (Fujisawa et al., 2019). Bei der VBM-Analyse von Fujisawa et al handelte es sich um eine ROI-gestützte Untersuchung, gezielt ausgerichtet auf das dorsale Striatum sowie den orbitofrontalen Cortex, ausgewählt nach deren OXTR-Ausstattung, sowie deren Assoziation mit vermehrter Aktivierung nach intranasaler Applikation von OXT. Auch hier kann angeführt werden, dass der in der hier vorliegenden Arbeit gewählte Ansatz der Wholebrain-Analyse gegenüber zuvor ausgewählten ROIs den Nachteil besitzt, Veränderungen in spezifischen Hirnregionen zu übersehen. Dies kann als mögliche Erklärung dienen, warum die hier vorliegende Arbeit keine mit Fujisawa übereinstimmenden Resultate liefern konnte. Umgekehrt kann aber auch nicht ausgeschlossen werden, dass Fujisawa et al möglicherweise Veränderungen des Temporallappens durch ihre ROI-gestützte Methode übersehen haben. Womersley et al suchten ebenfalls nach Korrelationen zwischen dem Volumen von grauer Substanz in spezifischen ROIs (Amygdala und Hippocampus), epigenetischen und genetischen Variationen (in Form von SNPs) des OXTRs und emotionaler Vernachlässigung in der Kindheit (Womersley et al., 2020). Hierbei zeigte sich keine signifikante Korrelation zwischen den Volumina der untersuchten Regionen und den erhobenen Methylierungswerten. Es zeigte sich jedoch eine Korrelation zwischen der genetischen

und epigenetischen Variation, sowie hirmorphologische Korrelate eines SNPs, welches von Womersley daher als Risikoallel gewertet wurde. Hierbei handelte es sich um reduziertes Volumen im Bereich des Hippocampus links sowie beider Amygdalae in Abhängigkeit von rs2254298. Für keines dieser Gebiete konnte in der hier vorliegenden Arbeit eine Volumenänderung beobachtet werden.

Womersley et al führten in ihrer Diskussion bereits an, dass selbst die komplexeren Modelle des gegenseitigen Einflusses von OXT, Hirnmorphologie und menschlichem Verhalten von einer Vielzahl von Einflussfaktoren ausgehen, u.a. auch Geschlecht und Alter (Hannon et al., 2016). Obgleich bei Womersley et al das Geschlecht der ProbandInnen (N = 67) als Covariate berücksichtigt wurde, muss der wesentliche Unterschied des Kollektivs in seiner Geschlechterverteilung erwähnt werden, zumal weibliche Probandinnen und Versuchstiere im Vergleich zu männlichen Kontrollgruppen eine andere Affinität zu und Reaktion auf OXT zeigten (Pitkow et al., 2001). Hinsichtlich der Samplegröße ist weiterhin zu erwähnen, dass lediglich für 53 der ProbandInnen vollständige MR-Datensätze vorlagen, sodass das in dieser Arbeit verwendete Sample eine größere statistische Power aufweist. Umgekehrt muss angeführt werden, dass von Womersley ProbandInnen mit diagnostizierten psychiatrischen Erkrankungen eingeschlossen wurden, was zu einer gewissen Erwartbarkeit von morphologischen Korrelaten führt.

Hiraoka et al im Gegenzug rekrutierten, ähnlich wie auch in der vorliegenden Arbeit, ausschließlich Frauen - 57 Mütter von Kleinkindern (Durchschnittsalter: 35,2 Jahre), womit auch die Samplegröße und das Alter der Probandinnen nahe an dem hier verwendeten Sample liegen. Zusätzlich schlossen Hiraoka et al ebenfalls keine bereits psychiatrisch vorerkrankten Probandinnen in ihre Studie ein. Die Unterschiede lagen vielmehr in den Auswahlkriterien der Probandinnen, da in der vorliegenden Arbeit bewusst ein Ansatz mit Hochrisikokandidatinnen gewählt wurde, während Hiraoka gezielt junge Mütter von Kleinkindern rekrutierte. Diese wiederum spielten bei der Beurteilung des OXT-Systems eine besondere Rolle, da OXT, wie bereits erwähnt, ein entscheidender Faktor in der Bindung von Eltern und Kind darstellt (Caldwell und Albers, 2016) (Wisner Fries et al., 2005). Eine zusätzliche Aktivierung dieses Systems im von Hiraoka verwendeten Sample muss daher mit entsprechenden Konsequenzen für die Ergebnisse berücksichtigt werden.

Fujisawa et al wiederum schlossen ebenfalls keine ProbandInnen mit diagnostizierten psychiatrischen Erkrankungen ein, führten jedoch einen direkten Vergleich zweier Gruppen japanischer Kinder mit und ohne Missbrauchserfahrung durch. Die hier vorliegende Arbeit, Hiraoka et al und Womersley et al hingegen haben ihr gesamtes

Sample als Ganzes ohne direkten Gruppenvergleich betrachtet, was die Vergleichbarkeit einschränkt. Die Zusammenstellung mit ausschließlich gesunden ProbandInnen und einer hohen Anzahl an solchen mit Umweltrisikofaktoren ähnelt in der Risikoanalyse zwar eher dem in dieser verwendeten Sample, was jedoch nicht von der Hand gewiesen werden kann, ist das Alter der ProbandInnen (Kinder und Jugendliche, N = 85, Durchschnittsalter von 12,9 Jahren). Und obgleich dieses als Covariate in die Berechnungen aufgenommen wurde, so muss dessen potentieller Einfluss auf die Befunde diskutiert werden. Ein Großteil der teilnehmenden Kinder befand sich demnach noch in Stadien der hirnmorphologischen – wie auch epigenetischen – Entwicklung (s. o.g. Veränderungen im Rahmen der Pubertät), sodass ein abschließender Vergleich mit dem in der vorliegenden Arbeit verwendeten Sample (Durchschnittsalter 31,02 Jahre) nur schwer möglich ist. Allein in den 17 Jahren an mittlerem Altersunterschied können nicht nur weitere epigenetische Veränderungen angehäuft werden, sondern auch noch signifikante neuronale Umbauprozesse stattfinden. Es ist daher auch als Option zu betrachten, ob die von Fujisawa aufgedeckten Korrelate auch in einer älteren Kohorte gefunden werden können. Jedoch zeigte eine Arbeit von Fries et al (Wisner Fries et al., 2005), dass Kinder mit einer Vorgeschichte an Misshandlung/Vernachlässigung, auch noch Jahre nach ihrer Entfernung aus einer pathologischen Umgebung – wie es bei den von Fujisawa verwendeten Kindern auch beschrieben wurde – verminderte periphere OXT-Level zeigten, sodass von einer gewissen Kontinuität ausgegangen werden muss. Nichts desto weniger untermauert die Arbeit von Fujisawa die Theorie des epigenetischen Einflusses auf die Hirnmorphologie.

Es muss angemerkt werden, dass es sich bei den von Womersley untersuchten Methylierungswerten lediglich um die durchschnittlichen Methylierungswerte von 12 CpGs des dritten Exons handelte, und nicht um gezielt ausgewählte CpGs. Weiterhin liegen die in der vorliegenden Arbeit untersuchten CpGs im Endbereich des ersten Exons, sodass womöglich auch somit keine direkte Vergleichbarkeit besteht. An dieser Stelle muss bewusst eine vage Bezeichnung gewählt werden, weil der genaue Einfluss derartiger Veränderungen auf das letztendlich translatierte Produkt immer noch nicht hinreichend verstanden wird. Es ist jedoch festzuhalten, dass die in dieser Arbeit untersuchten CpGs – anders als die von Womersley untersuchten – in der Promotorregion des OXTRs liegen, womit ein Einfluss von molekularbiologischer Seite wahrscheinlicher ist; in einem Vergleich von Methylierung im Bereich der Promotorregion und weiter stromabwärts liegender Bereiche eines Gens zeigte nur die Methylierung im Bereich der Promotorregion einen Einfluss auf die Transkriptionsrate. (Suzuki und Bird, 2008).

Hiraoka et al untersuchten den Einfluss des OXT-Gens, und nicht des OXTR, sodass zwar ein Zusammenhang angenommen werden muss, aber keine direkte Vergleichbarkeit vorliegt. Weiterhin wurde aus den untersuchten CpGs ein gemeinsamer Methylierungswert gebildet und keine Untersuchungen hinsichtlich des Einflusses einzelner CpGs vorgenommen. Dies erlaubt zwar eine allgemeine Aussage über die Methylierung des OXT-Gens, passt diesbezüglich. aber eher zu den von uns gebildeten genweiten Faktoren. Dies ist aber lediglich eine theoretische Überlegung, da wie bereits erwähnt nicht abschließend benannt werden kann, wie viel Überschneidung in Bezug auf die untersuchte Methylierung bereits vorlag.

Fujisawa untersuchte letztendlich nur einen möglichen Faktor bei der Entstehung epigenetischer Veränderungen: Misshandlungserfahrung in der Kindheit. Leider fand diesbezüglich keine Analyse der Methylierungsgrade, und auch keine spezifische Betrachtung des OXTR statt, sodass hierzu keine näheren Vergleiche angestellt werden können.

Im Hinblick auf den epigenetischen Aspekt der dargelegten Untersuchungen kann die eingangs von Wheater et al erwähnte Problematik epigenetischer Untersuchungen nur noch einmal unterstrichen werden: das Fehlen eine einheitlichen Nomenklatur macht die Einordnung von Ergebnissen ungemein schwieriger.

Die Studien, die den Einfluss des OXTR gezielt untersuchten, taten dies auch im Kontext von Bindungsverhalten, entweder in Bezug auf die ProbandInnen und deren Umgang mit der Umwelt, oder retrospektiv in Betrachtung ihrer Erfahrung mit zwischenmenschlichen Beziehungen. Hiraoka et al hatten hierzu zunächst die maternale OXTR-Methylierung quantifiziert, und im Anschluss das empathische Verhalten der Mütter gegenüber ihren Kleinkindern. Es konnte gezeigt werden, dass die Methylierung mehrerer CpGs positiv mit der Fähigkeit der Mütter, negative Gefühle nachzuempfinden, korrelierten. Inwieweit sich dies jedoch mit der Tatsache deckt, dass die entsprechende Hypermethylierung mit einem verstärkten empathischen Empfinden einhergeht, bleibt kritisch zu betrachten und wurde auch nicht weiter beleuchtet. Denn der zuvor erwähnten Theorie entsprechend, dass die Hypermethylierung des OXTR in einer geringeren Translation des Gens resultiert, was zu der Volumenabnahme im Bereich des Temporallappens führte, will eine vermehrte Empathie nicht ins Bild passen. Man müsste in diesem Rahmen vielmehr von abnehmenden sozialen Fähigkeiten ausgehen. Es wäre allenfalls zu diskutieren, ob die Hypermethylierung des OXTR weniger eine Ursache (bzw. Folge) vermindelter sozialer Fähigkeiten zu sehen ist, sondern im Kontext der jungen Mütter womöglich eine Anpassung des Gehirns an erhöhte OXT-Spiegel darstellt, um eine übermäßige Stimulation zu verhindern. Dies bestätigt erneut, dass eine

gezielte Auswahl spezifischer ProbandInnengruppen sehr schnell eine Vielzahl weiterer möglicher Einflüsse mit sich bringt.

Womersley et al fanden im Gegenzug keine signifikante Korrelation zwischen dem Methylierungsstatus von OXTR und dem durch den CTQ erhobenen Maß an emotionaler Vernachlässigung. Demgegenüber konnte in der hier vorliegenden Arbeit bereits für einzelne CPGs eine signifikante Korrelation mit bis zu mittlerer Stärke mit dem retrograd beschriebenen Bindungsstil der Eltern aufgedeckt werden. Der hierfür verwendete FEB zielt dabei natürlich insgesamt auf andere Faktoren ab, und geht beispielsweise überhaupt nicht auf Misshandlung an sich ein. Die Definition von Vernachlässigung die Womersley et al für Vernachlässigung ins Feld führen bezieht sich jedoch vor allem auf den Umgang der Eltern mit ihrem Kind, und zeigt damit Parallelen. Beides sind retrospektive Instrumente, wobei der CTQ im Gegensatz zum FEB deutlich direkter nach Ereignissen und Situationen fragt, wohingegen der FEB seinen Schwerpunkt auf das erlebte Verhalten anderer legt. Letztendlich sind die beiden Instrumente somit nicht hinreichend vergleichbar, obgleich sie gewisse Schnittmengen in ihren Zielen aufweisen. Es kann ergo argumentiert werden, dass der CTQ möglicherweise nicht hinreichend geeignet ist, das komplexe Interaktionsfeld von Eltern und Kindern abzudecken, und hierfür ein nuancierter Blickwinkel nötig ist. Hierfür spricht auch, dass der CTQ als Ganzes nicht allein Vernachlässigung abbildet, sondern auch andere Formen der Kindesmisshandlung. Erhöhte Werte auf einzelnen Achsen des CTQ korrelieren wiederum mit erhöhten Werten auf anderen Achsen, sodass angenommen werden muss, dass emotionale Vernachlässigung somit nicht alleinstehend bewertet werden kann.

Weiterhin decken sich unsere Ergebnisse in dieser Hinsicht besser mit der von Womersley aufgestellten Hypothese, dass die Erfahrungen der Kindheit sich in epigenetischen Korrelaten widerspiegeln. Die von uns dargestellte Korrelationen zwischen cg17285225 und mütterlichen „Fuersorge/Care“-Achse ist in dieser Hinsicht erwähnenswert, auch, da sie als einzige Korrelation mit mittlerer Stärke auftritt. Die negative Korrelation impliziert, dass eine zunehmende Methylierung der CpG mit einer geringer wahrgenommenen Fürsorge von Seiten der Mutter einhergeht, was biologisch als bessere Rezeptorausstattung zu erklären wäre, und sich auch mit Befunden von Haas et al deckt, in denen eine verminderte Methylierung des OXT-Gens selbst mit verbesserter sozialer Interaktion assoziiert war (Haas et al., 2016).

Gyrifizierung

In der hier vorliegenden Arbeit sollte auch die Gyrifizierung der Probandinnen, und der Einfluss der Methylierung des OXTR auf diese untersucht werden. Die zunehmende Faltung des menschlichen Gehirns erlaubte es, durch eine immer größer werdende Cortexoberfläche auch immer komplexere neuronale Verbindungen aufzubauen, und so die dominante Spezies des Planeten zu werden (White et al., 2010) (Li und Xie, 2021). Somit kann das Ausmaß an Gyrifizierung als Maß für die Komplexität des Gehirns dienen, und sollte damit bei der Untersuchung psychiatrischer Erkrankungen und zwischenmenschlicher Interaktion nicht vernachlässigt werden. Obgleich die Hauptphase der Gyrifizierung im 3. Trimenon der fötalen Entwicklung stattfindet, und vor allem von genetischen Faktoren abhängt, die große Ähnlichkeiten in der Gyrifizierung der Individuen hervorrufen – man bedenke, dass die Hauptgyri eine Einteilung jedes Gehirns erlauben – so kommen im Laufe des Heranwachsens doch weitere Unterschiede hinzu (White et al., 2010). Diese kleineren Unterschiede sind insofern interessant, als dass sie v.a. in der Pubertät entstehen, in der sich auch oftmals die ersten schwerwiegenden Symptome einer psychiatrischen Erkrankung zeigen. Weiterhin zeigt sich die Gyrifizierung des Gehirns deutlich stabiler als beispielsweise die corticale Dicke oder das Volumen grauer Substanz, die beide wesentlichen Veränderungen mit fortschreitendem Lebensalter und der Einnahme von Substanzen zeigen (Sasabayashi et al., 2017).

Dennoch sind die Arbeiten, die sich mit epigenetischen Veränderungen und deren Einfluss auf die Gyrifizierung beschäftigen, ausgesprochen rar, und auch das OXT-System wird meist nur am Rande erwähnt. Dies könnte der Tatsache geschuldet sein, dass v.a. subcorticale Strukturen im Rahmen der OXT-Forschung Aufmerksamkeit erhielten (Amygdala, Hippocampus), sodass man nicht die Notwendigkeit zur Berücksichtigung der Cortexoberfläche sah. Aber mannigfaltige psychiatrische Erkrankungen zeigen Korrelationen zu Veränderungen der Gyrifizierung (Sasabayashi et al., 2021) (Hirjak et al., 2016), und auch HochrisikopatientInnen besitzen bereits vor dem Auftreten erster psychiatrischer Symptome eine veränderte Gyrifizierung. Verwandte ersten Grades von PatientInnen mit SZ zeigen bereits typische Veränderungen der Gyrifizierung. Dieser Effekt war bei ProbandInnen, die im Verlauf selbst erkrankten, noch einmal stärker (Vogelely et al., 2001). Auch sind corticale Strukturen des OXT-Systems beeinflusst worden, und der Einfluss dieses Systems auf psychiatrische Erkrankungen sei nun hinreichend dargelegt, sodass wir es als notwendig ansehen, dass die Gyrifizierung ebenfalls als morphologische Veränderung in Studien zum OXT-System eingebunden wird.

Leider konnte auch eine intensive Literaturrecherche keine bisher durchgeführten Studien zu Tage fördern, die direkt mit der hier vorliegenden Arbeit vergleichbar wären. Es ließ sich lediglich eine Arbeit ausmachen, die sich explizit mit dem Einfluss der Epigenetik auf die Gyrfizierung beschäftigte. Hierbei konnte gezeigt werden, dass epigenetische Prozesse an der Gyrfizierung in utero beteiligt sind. Die Arbeit von Li et al konzentrierte sich hierbei auf das TBC1D3-Gen, welches in Zusammenspiel mit der G9-Methyltransferase über Methylierung die Regulierung von Genen steuert, die an der Proliferation neuronaler Vorläuferzellen beteiligt sind. Natürlich ist dies in keiner Form ein Vergleich zum OXTR, welches keinen direkten Einfluss auf die Zellproliferation ausübt. Weiterhin beschäftigten sich Li et al nicht mit Bildgebung, sondern humanen Stammzellen und genetisch veränderten Mäusen, um den epigenetischen Einfluss auf die Entwicklung des Gehirns zu untersuchen. Somit wurden auch keine expliziten Hirnregionen benannt, wobei die bereits fehlende Vergleichbarkeit des OXTR und TBC1D3-Gens wohl auch keinen Vergleich möglich machte. Jedoch ist die Arbeit von Li et al die bisher einzige, die sich gezielt mit dem Einfluss der Epigenetik auf die Gyrfizierung beschäftigte, sodass wir hier womöglich noch ganz am Anfang weiterer Forschung stehen (Li und Xie, 2021). Und auch wenn Li et al sich direkt mit den epigenetischen Prozessen an sich beschäftigt haben, anstatt dem Einfluss dieser Prozesse auf andere Gene und deren konsekutive Veränderung der Morphologie, so muss doch angemerkt werden, dass die zuvor beschriebene Bedeutung der Gyrfizierung für neuronale Komplexität, und der hier nun nachgewiesene epigenetische Einfluss auf deren Steuerungsmechanismen, deren Bedeutung für zukünftige morphologische Forschung unterstreicht.

Zusammenfassend muss bezüglich der Erforschung epigenetischer Veränderungen des OXT-Systems und deren Einfluss auf die Gyrfizierung des menschlichen Gehirns gesagt werden, dass die hier vorliegende Arbeit die erste ist, die diese Zusammenhänge beleuchtet. Auch der Einfluss des OXT-Systems an sich auf die Gyrfizierung scheint bisher ein vollkommen unterrepräsentierter Aspekt der Forschung zu sein, da Oxytocin meistens nur am Rande verschiedener Arbeiten erwähnt wird und nie Gegenstand der eigentlichen Versuche ist. Dies macht die Einordnung unseres Befundes der Insula umso schwieriger. Es lassen sich jedoch in anderen Arbeiten Hinweise auf Veränderungen des GI der Insula im Zusammenhang mit Risiken für psychiatrische Erkrankungen finden. So zeigten Kinder mit Missbrauchserfahrung in einem direkten Vergleich zu Kindern ohne Risiko (n jeweils = 22) einen verminderten GI im Bereich der linken Insula (Kelly et al., 2013). Weiterhin konnte im Rahmen derselben Untersuchung auch ein verminderter GI im Bereich des Gyrus occipitotemporalis medialis. Die hier vorgestellte Arbeit konnte in Korrelation mit einer CpG des OXTR ebenfalls einen Bereich mit verminderter

Gyrifizierung ausmachen, jedoch in der rechten Insula, und ohne weitere Cluster. Die Entfernung der Befunde der unterschiedlichen Arbeiten zueinander macht die Unterschiede in der verwendeten Software zu einer unwahrscheinlichen Ursache. Die Hauptunterschiede liegen vielmehr in Versuchsaufbau und Samplegröße/-zusammensetzung. In der hier liegenden Arbeit wurde kein direkter Vergleich von Risiko- zu NichtrisikokandidatInnen durchgeführt, sodass die von Kelly et al verwendete Kontrollgruppe hier in die Gruppe eingeschlossen worden war; im Rahmen der Diskussion bzgl. des Samples muss jedoch angemerkt werden, dass die Zahl von 22 ProbandInnen mit Missbrauchserfahrung auch der Menge an Kandidatinnen mit Umweltrisiko in der hier vorliegenden Arbeit entspricht. Weiterhin war diese Missbrauchserfahrung nicht direkt Gegenstand der vorliegenden Arbeit, sondern nur Einschlusskriterium, während das Hauptaugenmerk auf dem Einfluss epigenetischer Veränderungen lag.

Faserbahnen weißer Substanz

Bezüglich der Analyse der FA weißer Substanz in Abhängigkeit von epigenetischen Veränderungen zeigt sich ebenfalls ein lediglich dünnes Feld an Forschung. Auch im Hinblick auf den Einfluss des OXT-Systems auf die Integrität der neuronalen Faserbahnen gibt es bisher nur eine überschaubare Menge an Arbeiten, sodass die Einordnung der in dieser Arbeit erhobenen Befunde nur näherungsweise erfolgen kann. Tatsächlich ließ sich zum Zeitpunkt der Fertigstellung dieser Arbeit nicht eine einzige vergleichbare Abhandlung finden, die sich mit der Methylierung des OXTR und dessen Folgen für die Integrität weißer Substanz beschäftigte. Nichts desto weniger zeigen verschiedene psychiatrische Erkrankungen eine Veränderung der Fa weißer Substanz (Jenkins et al., 2016). Auch in Bezug auf die postnatale Entwicklung des Gehirns muss eine Korrelation von OXT-Spiegeln und der Ausbildung von Fasertrakten beleuchtet werden. Gerade die Entwicklung während der Pubertät - gekennzeichnet durch eine deutliche Sensibilisierung gegenüber sozialer Stimuli - zeigt eine Abhängigkeit von OXT; dies ist auch eine Phase des vermehrten Strukturaufbaus zwischen einzelnen Hirnregionen, sodass ein Einfluss auf die FA plausibel erscheint (Colver und Longwell, 2013).

Daher halten wir die Beschäftigung mit der FA weißer Substanz für einen wichtigen Bestandteil der Erforschung des OXT-Systems. Beispielsweise spielt diese eine Rolle in einem Erklärungsmodell der posttraumatischen Belastungsstörung (PTSD), die von einer verminderten inhibitorischen Wirkung des ventromedialen präfrontalen Cortexes auf die Amygdala ausgeht (Costanzo et al., 2016). Die Verbindung dieser Systeme stellt der Fasciculus uncinatus dar, eine entscheidende Verbindungsstelle in der Verarbeitung

von Gefühlen. Diesem Fasertrakt kam daher bei der Erforschung der PTSD eine erhöhte Aufmerksamkeit zu Gute, und es konnten verminderte FA-Werte bei PatientInnen mit PTSD im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe mit Traumaerfahrung festgestellt werden (Koch et al., 2017). Zwar wurde in dieser Forschung auch ein Placebo-kontrollierter Test mit nasal appliziertem Oxytocin (nOXT) durchgeführt, jedoch war man nicht von einem kurzfristigen Effekt der Applikation auf die FA weißer Substanz ausgegangen. Dass aber dennoch ein Versuch mit OXT in dieses Versuchsmodell integriert worden war, zeigt, dass die Bedeutung von OXT für die Wahrnehmung von Stimuli nicht von der Hand zu weisen ist. Es bestätigte sich auch in den Testungen, dass es keinen Unterschied der FA zwischen Placebo und nOXT gab. Wir waren von einem langfristigeren Einfluss epigenetischer Modifikationen von OXTR auf neuronale Strukturen ausgegangen, konnten jedoch ebenfalls keine veränderte FA des Fasciculus uncinatus in unseren traktbasierten Auswertungen finden. Jedoch war von Koch et al ein größeres Sample (38 PatientInnen mit PTSD vs. 39 in der Kontrollgruppe) mit Erkrankten gewählt worden, sodass wir im Vergleich der beiden Ansätze Raum für eine Anpassung zukünftiger Studien sehen, die sowohl epigenetische Veränderungen des OXT-Systems, als auch Erkrankte einbeziehen.

Als Grund hierfür kann angeführt werden, dass Koch et al nach einer Auswertung von Daniels et al den Fasciculus longitudinalis superior (SLF) in ihre ROI-gestützte Auswertung einschlossen, da dieser ebenfalls eine verminderte FA im Rahmen von PTSD gezeigt hatte (Koch et al., 2017). Zwar konnten Koch et al in ihrem Gruppenvergleich keine Unterschiede zwischen den Gruppen feststellen, und ebenso wenig eine Veränderung der FA durch nOXT, jedoch zeigte sich in der vorliegenden Arbeit eine Beteiligung des SLF an mehreren Clustern, inklusive der Wholebrain-Analyse. Hierzu kann angemerkt werden, dass es sich jeweils nur um einen kleinen Anteil der Cluster handelte, jedoch zeigen sich auch in anderen Wholebrain-Analysen FA-Veränderungen innerhalb eines Clusters als nicht immer eindeutig gerichtet, sodass die Möglichkeit nur weniger veränderter Anteile eines Clusters ergibt (Daniels et al., 2013). Eine ROI-gestützte Untersuchung an Erkrankten mit Beteiligung epigenetischer Methoden erscheint daher sinnvoll.

Zusammengefasst lässt sich sagen, dass OXT und das OXTR in Studien bzgl. der Integrität Faserbahnen weißer Substanz meist nur als Randnotiz erscheinen, und nicht Gegenstand der eigentlichen Forschungsarbeit sind. Wir sehen hier ein Defizit in der aktuellen Forschung und hoffen auf Follow-up-Arbeiten zu diesem Thema.

elterliche Bindung

Zu Beginn dieser Arbeit wurde vor dem Hintergrund des Einflusses von kindlicher Bindung auf das OXT-System postuliert, dass dieser Einfluss über epigenetische Modulation vermittelt wird. Dementsprechend müsste eine Korrelation zwischen den von uns gewählten CpG-Sites bzw. den von uns gebildeten Faktoren und den durch den FEB erhobenen Werten bzgl. elterlicher Bindungsstile bestehen.

Die „Fuersorge/Care“-Achse des FEB bildet retrograd die wahrgenommene Wärme ab, die die Elternteile den ProbandInnen entgegenbrachten. Wie in Tabelle 6 dargestellt, zeigten sich hier drei Korrelationen mit unseren CpG-Sites bzw. den von uns gebildeten Faktoren. Hierbei ist zu betonen, dass die Korrelation zwischen cg17285225 und der mütterlichen „Fuersorge/Care“-Achse die größte Signifikanz zeigte. Dies deckt sich mit der von uns aufgestellten Hypothese, wonach verminderte elterliche Fürsorge über eine Hypermethylierung des OXTR das OXT-System herunterreguliert. OXTR-Methylierung wäre damit die dynamische Antwort auf Umwelteinflüsse, die als biologische Verbindung von Ereignissen zu Krankheitsanfälligkeit führt (Kraaijevanger et al., 2019). Ähnliche Ergebnisse zeigten sich auf in Bezug auf Faktor 3 und die cg23391006, letztere jedoch in Bezug auf die väterliche Fürsorge. Weiterhin ergab sich, auch für cg23391006, ein passender negativer Trendbefund im Hinblick auf die mütterliche „Fuersorge/Care“-Achse. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von Unternaehrer et al, die ebenfalls eine negative Korrelation zwischen den Werten der "Fuersorge/Care"-Achse und der Methylierung des OXTR nachwiesen. Wie auch in der vorliegenden Arbeit wurde dies als Hinweis dafür interpretiert, dass die Methylierung des OXTR als Vektor für frühkindliche Erfahrungen dient. Eine genauere Vergleichbarkeit der Arbeiten war leider nicht möglich, da erneute eine unterschiedliche Nomenklatur der CpGs verwendet wurde. Zudem soll angemerkt werden, dass das von Unternaehrer et al verwendete Sample aus einer größeren ProbandInnengruppe aufgrund erniedrigter Werte der "Fuersorge/Care"-Achse des FEB herausgefiltert wurde, sodass bei allen ProbandInnen eine subjektiv geringere Fuersorge bestand (Unternaehrer et al., 2015).

Es zeigten sich für cg17285225 aber auch negative Korrelationen in Bezug auf die „Kontrolle/Control“-Achse, von sowohl väterlicher als auch mütterlicher Seite. Dies erscheint paradox, als dass dies doch für abnehmende Methylierung bei geringerer wahrgenommener Kontrolle bedeuten würde. Die Achse "Kontrolle/Control" des FEB wurde im Testdesign so konzipiert, dass sie "einengendes" elterliches Verhalten abbildet, welches die Kinder als unangenehm empfinden, und welches langfristig nicht geeignet ist, die Selbstständigkeit des Kindes zu fördern (Huang et al., 2020), und hohe Werte auf der "Kontrolle/Control"-Achse des FEB wurden wiederholt als Risikofaktor bei

der Entstehung psychiatrischer Erkrankungen definiert (Mannarini et al., 2018). Studien aus nicht-westlichen Kulturkreisen zeigten jedoch im Vergleich zu anderen Arbeiten ein gemischteres Bild, sodass die die Achsen des FEB womöglich im unterschiedlichen kulturellen Kontext anders bewertet werden müssen (Cataldo et al., 2021). Aufgrund der geringen Samplegröße wäre damit auch zu diskutieren, ob die wahrgenommene Kontrolle durch die Eltern auch hier den entsprechenden negativen Impact aufweist, um sich in epigenetischen Veränderungen niederzuschlagen.

Es soll an dieser Stelle auch erläutert werden, warum die Einbeziehung der elterlichen Bindung in den Kontext unserer Untersuchungen mit einbezogen wurde. Denn über die Korrelation von Methylierungsunterschieden und hirnorganischen Veränderungen hinaus stellt sich immer auch die Frage nach der Ursache einer Veränderung, und im Falle der Epigenetik muss hierbei der Umwelt entscheidende Aufmerksamkeit zukommen. Wie zuvor beschrieben entwickelt sich der Cortex v.a. in den ersten Lebensjahren, und das OXT-System ist, wie von Hiraoka et al bereits dargelegt, ein wichtiger Faktor empathischen Verhaltens in dieser frühen Entwicklungsphase.

Empathie setzt voraus, dass man den emotionalen Ausdruck des gegenüber versteht und korrekt zuordnen kann. Wie oben beschrieben, besteht die erste Möglichkeit eines Menschen, derartige Muster zu erlernen, in der frühen Kindheit bei der Interaktion mit den eigenen Eltern. Dies deckt sich mit Ergebnissen, die eine Korrelation zwischen starker Eltern-Kind-Beziehung im Säuglingsalter und frühen Kinderjahren mit verstärkter Empathie im jungen Erwachsenenalter feststellten. Je früher und deutlicher Kinder von ihren Bezugspersonen erlernen, wie man adäquat auf die Gefühle anderer reagiert, desto sicherer werden die Kinder darin und zeigen verstärkte Empathie (Feldman, 2007) (Kochanska, 2002). Kinder, denen schon früh positive Emotionen entgegengebracht werden, und deren Mütter selbst empathisch auf das Kind eingehen, zeigen später eine erhöhte Bereitschaft, um selbst empathisch zu reagieren. Ein wichtiger Punkt ist hierbei, dass sich dies im Verlauf auch auf Fremde, und nicht nur die eigene Mutter ausdehnt (Moreno et al., 2008). Eltern, die mehr Wärme und unterstützendes Verhalten gegenüber ihren Kindern zeigten, waren auch offener darin, positive Gefühle zu zeigen. Dies wiederum korrelierte mit einer größeren Neigung der Kinder, empathisch auf die Gefühle anderer zu reagieren. Dies stützt die Hypothese, dass das offene Zeigen positiver Gefühle und Mitgefühl in Kindern die Fähigkeit weckt, selbst stärker auf die Gefühle anderer einzugehen (Zhou et al., 2002). Es zeigte sich also, dass ein im Verlauf ein Sprung stattfindet: Von der Empathie zu denen, mit denen man bereits eine Beziehung hat, hin zur Empathie gegenüber denjenigen, die einem fremd sind. Dies ist ein wichtiger Entwicklungsschritt im Umgang mit anderen Menschen, denn im Laufe des Lebens muss man mehr und mehr mit Fremden interagieren und laufend neue Beziehungen

etablieren. Eine empathische Grunddisposition erleichtert hierbei die Interaktion mit Anderen und trägt dazu bei, die unterschwellige Stimmung in der neuen Gruppe zu verbessern.

Die Bindung zu den eigenen Eltern als prägender Grundbaustein in der Entwicklung des Umgangs mit Anderen zeigt sich auch darin, wie sie andere, scheinbar prädestinierte Faktoren beeinflusst. Es konnte gezeigt werden, dass gerade Kinder, die schon früh schwieriges Verhalten zeigten (Ärger, Reizbarkeit, Hemmungslosigkeit, schwer zu kontrollierendes Temperament, wenig Rücksicht auf Regeln) gefährdet sind, später asoziale Verhaltensweisen zu zeigen. Diese Entwicklungskaskade zeigte sich jedoch fast ausschließlich in Fällen, in denen sich keine harmonische Eltern-Kind-Beziehung bilden konnte, sodass diese Beziehung als Moderator angesehen wurde. Als Erklärung hierfür wird die Wahrnehmung der Eltern in diesen Beziehungen gesehen; die internalisierten Annahmen der Eltern über das Verhalten anderer prägen die Reaktion auf besagtes Verhalten. Wenn Kinder schwieriges Verhalten zeigten, und die Eltern dieses weniger als unabsichtliche, natürliche Äußerungen der inneren Gefühlswelt des Kindes sahen, denn als absichtliche Handlungen, dann zeigten die Eltern auch eher ärgerliches, harsches Verhalten gegenüber ihren Kindern. Dies wiederum unterwandert die Bildung einer harmonischen Eltern-Kind-Beziehung. Das Schlüsselwort in diesem Kontext ist die Wahrnehmung des Verhaltens Anderer, das als Basis für unsere eigene Verhaltensweise dient (Kochanska et al., 2019). Dies verdeutlicht Zweierlei: einerseits, wie wichtig eine harmonische Bindung zu den Eltern als Ausgleich zu anderen Faktoren ist, die das Verhalten beeinflussen. Und andererseits, wie die Wahrnehmung der Eltern deren Verhalten beeinflusst, und somit indirekt wiederum deren Möglichkeit, die erstgenannten Faktoren auszugleichen. Es findet sozusagen eine Weitergabe von Mustern statt: wer selbst in der Wahrnehmung von Signalen beeinträchtigt ist, kann diese Wahrnehmung durch sein eigenes Verhalten – ausgelöst durch die Wahrnehmung – in anderen auslösen.

Und dies hat langfristige Folgen für die beteiligten Kinder, auch über die initial vulnerable Phase hinaus. Wendet man sich wieder OXT zu, dessen genetische Polymorphismen mit unterschiedlichen Verhaltensmustern korreliert wurden, stellt sich die Frage, ob auch diese, nicht-genetische Achse einen größeren Einfluss haben könnte. Zumindest hatte sich derartiges bereits in Tierversuchen zeigen lassen, in denen Jungtiere bei verminderter Aufmerksamkeit durch die Eltern selbst weniger Affinität für die Auswirkungen von OXT zeigten. In Beobachtungen von Ratten konnte gezeigt werden, dass das Ausmaß des Aufzuchtverhaltens der Elterntiere ("licking and grooming") das OXTR-Methylierungsmuster der Jungtiere verändert. Im Falle von vermindertem Aufzuchtverhalten zeigten die Jungtiere letztendlich weniger Affinität gegenüber OXT als

ihre Artgenossen, denen mehr Aufmerksamkeit durch die Elterntiere zuteilwurde. (Caldwell und Albers, 2016) Auf den Menschen übertragen zeigten sich ähnliche Zusammenhänge. In einem Vergleich von Kindern, die die ersten Lebensjahre in Waisenhäusern verbrachten, mit solchen, die von Anfang an in ihren biologischen Familien aufwuchsen, zeigten sich Unterschiede in der Ausschüttung von OXT. Auch nachdem beide Gruppen über längere Zeit bereits in gesunde Familien integriert worden waren, zeigten die Adoptivkinder nach Interaktionen mit ihrer Adoptivmutter eine verminderte Ausschüttung von OXT. Nach Interaktion mit einer fremden Person zeigten beide Gruppen vergleichbare OXT-Anstiege. Dies deutet darauf hin, dass Erfahrungen der frühen Kindheit, so sie denn von verminderter Wärme und weniger Zuwendung geprägt waren, das OXT-System prägen (Wismer Fries et al., 2005). Frauen, die in ihrer Kindheit Misshandlung erlebt hatten, zeigten im Vergleich zu nicht-misshandelten Frauen geringere Konzentrationen von OXT in ihrem Liquor. Dies ist ein weiteres Argument dafür, dass frühe Bindungsverhältnisse (in diesem Fall gestörte Bindungsverhältnisse) einen langfristigen Einfluss auf das OXT-System ausüben, selbst wenn die Initialereignisse bereits lange zurücklagen. (Heim et al., 2009)

Dies stützt nicht nur die zuvor beobachteten Korrelationen von frühkindlicher Bindung und späterer Empathie, sondern betont gleichermaßen auch noch einmal die Rolle von OXT in diesem Kontext. Es zeigt sich also ein Intergenerationeneffekt in Bezug auf Bindung und OXT. Es konnte nicht nur gezeigt werden, dass höhere OXT-Spiegel mit verstärktem Bindungsverhalten gegenüber ihren Kindern korrelierte, sondern auch, dass deren OXT-System parallel reagierte. Im Rahmen der erhöhten OXT-Spiegel der Väter stieg auch der peripher gemessene OXT-Spiegel der Kinder an und sie beteiligten sich stärker an der Interaktion mit ihren Vätern. Somit konnte dargelegt werden, dass OXT über das Verhalten des direkt beeinflussten Individuums andere Menschen ebenfalls mitbeeinflusst, und deren OXT-System entsprechend mitreagiert. (Weisman et al., 2012)

Es zeigte sich also, dass Bindung als Umweltfaktor bei der Entstehung psychiatrischer Erkrankungen ein wichtiger Faktor ist, und dass OXT nicht nur auf theoretischer Ebene als neuromodulatorisches Korrelat dieses Einflusses gesehen werden kann. Dementsprechend ergibt es nur Sinn, dass diese drei Punkte zusammen betrachtet werden. Während einer Erfassung von OXT-Spiegeln bei Pat. mit BPD in Abhängigkeit von sozialer Zurückweisung zeigte sich, im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe, eine negative Korrelation. Je stärker die Misshandlung in der Kindheit war (sowohl körperlicher als auch seelischer Natur), desto geringer zeigte sich die Veränderung des OXT-Levels. Dies deutet darauf hin, dass negative Bindungserlebnisse der Kindheit langfristig das OXT-System verändern können (Jobst et al., 2014).

5.2 Einordnung der Befunde im Hinblick auf ihre neuroanatomische Lokalisation

Nachdem nun der Kontext zum bisherigen wissenschaftlichen Diskurs hergestellt ist, soll nunmehr die neuroanatomische Bedeutung der Areale betrachtet werden, in denen sich signifikante Cluster zeigten. Hierdurch soll die neurobiologische Basis der aufgestellten Hypothesen untermauert und, wie im vorherigen Abschnitt bereits erwähnt, der mögliche Wert von ROI-gestützten Untersuchungen für zukünftige Ansätze beleuchtet werden.

5.2.1 Gyrus temporalis superior (STG) und Temporalpol

Die Korrelation eines Clusters mit verringertem corticalen Volumen im Bereich des Temporallappens ist in Bezug auf den Gedanken hinter der aufgestellten Hypothese interessant, als dieser Bereich mehrfach in Zusammenhang mit Mentalisierung gesehen wurde. Mentalisierung, die Fähigkeit aus dem Verhalten und den Signalen anderer deren innere Denkprozesse und emotionale Zustände abzulesen (Dornes, 2004), erscheint als plausibler Prozess, auf welchen das OXT-System Einfluss nimmt (Schneider-Hassloff et al., 2016). Die Temporalpole des Gehirns wurden in diesem Zusammenhang als Knotenpunkte von verschiedenen Informationsstellen ausgemacht. Er ist, abseits bekannter Sprachzentren, ein Konvergenzbereich verschiedener Informationen zu einer Person, angefangen bei Namen und Eigenschaften, bis hin zu Erlebniserinnerungen an diese Person (Damasio et al., 2004). Der Temporalpol taucht immer wieder in Arbeiten der Informationsverarbeitung auf; er ist Teil des limbischen Systems, wurde mit der Verarbeitung von Musik, Gesichtserkennung und Sprachverständnis in Verbindung gebracht, sowie, wie bereits oben beschrieben, bei der Regulierung von Sozialverhalten (Mar, 2011) (Wigton et al., 2015). In fMRT-Studien konnte wiederholt repliziert werden, dass die Verarbeitung emotionaler Gesichtsausdrücke zu einer Mehraktivierung des STG und der Insula führt (Fusar-Poli et al., 2009). Durch die Zusammenführung von sozialen Informationen an diesem Punkt kann bereits vorhandenes Wissen über Situationen und Personen dem aktuellen Kontext angeglichen werden, und erlaubt eine angepasste Reaktion auf neuartige Einflüsse. Dies ist eine Kernfähigkeit im Rahmen der Mentalisierung, da sie es Individuen gestattet, nicht starr auf immer gleiche Weise einem anderen Menschen zu begegnen, sondern aus dessen Signalen heraus das Verhalten anzupassen (Frith und Frith, 2006). Auch das angrenzende Gebiet des anterioren STGs wurde zusammen mit den Temporalpolen als Gebiet der Informationszusammenführung gesehen (Mar, 2011). Weitere Arbeiten sehen die anterioren Strukturen des Temporallappens in diesem Zusammenhang als Zentren sozialer Prozesse, die über den Fasciculus uncinatus mit Amygdala und orbitofrontalem Cortex verbunden sind und so die weitere Prozessierung sozialen Inputs erlauben (Olson et al., 2013).

Die in dieser Arbeit gezeigten Änderungen im Volumen im Bereich des Temporalpols und des STGs deuten somit ebenfalls auf eine Einflussnahme des OXT-Systems auf die Verarbeitung sozialer Stimuli hin, was sich mit der zuvor bereits beschriebenen Rolle von OXT deckt. fMRT-Daten konnten beispielsweise Unterschiede in der Verarbeitung mehrdeutiger Stimuli zeigen. Wurden ProbandInnen unbelebte, sich bewegende Formen gezeigt, so änderte sich auch die Aktivität des STGs abhängig von deren Bewegungsmustern und dem Methylierungsstatus des OXTR. Bewegten sich die Formen rein zufällig, zeigte sich keine Korrelation zwischen Methylierung und Aktivität im STG. Sobald die Bewegungen jedoch ein Bewusstsein der Formen implizierten, zeigte sich eine Mehraktivierung im Bereich des STG mit pos. Korrelation zur Methylierung des OXTR (Jack et al., 2012). Somit kann man zwar davon ausgehen, dass eine Modulation von Sinneseindrücken durch OXTR stattfindet, und ein Ort dieser Einflussnahme der STG ist, jedoch erscheinen die Ergebnisse von Jack et al und die der hier vorliegenden Arbeit widersprüchlich. Eine verstärkte Methylierung des OXTR, eine Minderaktivierung des gesamten Systems implizierend, passt zwar zu einer Volumenminderung der assoziierten Areale, scheint sich aber nicht mit einer Mehraktivierung bei Präsentation sozialer Stimuli zu decken.

Diese Assoziationen von OXTR und psychiatrischen Erkrankungen wurden bereits in ersten Therapieansätzen probatorisch untersucht. Auch hierbei ergaben sich erneut Hinweise auf den Einfluss des OXT-Systems auf temporale Strukturen. Über mehrere fMRT-gestützte Studien hinweg zeigte der Temporallappen - und insbesondere der STG und MTG - eine Mehraktivierung nach Applikation von nOXT. Und obgleich auch andere Areale eine Mehraktivierung zeigten (Amygdala, Insula), so war die Beteiligung des Temporallappens von allen Regionen die stabilste (Wigton et al., 2015).

5.2.2 Insula

Im Rahmen der in dieser durchgeführten Analysen hatte sich auch eine verringerte Gyrfizierung im Bereich der Insula bei vermehrter Methylierung des OXTR gezeigt. Bereits bei der Erörterung der Bedeutung des Temporallappens für die Modulierung des Sozialverhaltens zeigte sich mehrfach eine Beteiligung der Insula an diesen Prozessen. Eine häufige Assoziation von psychiatrischen Erkrankungen und hirnmorphologischen Veränderungen ist eine Reduktion des Insulavolumens bei SZ -PatientInnen (Saxe et al., 2007). Es stellte sich die Frage nach der Ursache dieser Volumenreduktion: ist sie Ursache, oder Folge der Erkrankung? Hierzu konnte gezeigt werden, dass bereits ProbandInnen mit erhöhtem Risiko, später einmal an Schizophrenie zu erkranken, eine Volumenreduktion der Insula, insbesondere rechtsseitig, zeigten. Von diesen RisikokandidatInnen entwickelten einige im Verlauf auch eine Schizophrenie, wobei

diese, verglichen mit den im Verlauf nicht erkrankten ProbandInnen eine im Vergleich nochmal deutlichere Reduktion des Insulavolumens gezeigt hatten (Borgwardt et al., 2008) (Takahashi et al., 2009). Dies unterstreicht die Bedeutung neuroanatomischer Korrelate psychiatrischer Erkrankungen, da hiermit aufgezeigt werden konnte, dass diese nicht ausschließlich als Folge ihrer Erkrankung, sondern auch als potentielle Prädiktoren gesehen werden müssen. Zudem zeigen solche HochrisikoprobantInnen eine schwerere Symptomlast, als solche mit höherem Insulavolumen (Takahashi et al., 2009), sodass durch ein vorausgehendes klinisches Assessment bereits vor Durchführung invasiver Bildgebung eine Vorauswahl getroffen werden könnte.

Auch ein Einfluss von OXT auf die Insula konnte bereits dargelegt werden. In einer fMRT-Studie an PatientInnen mit MDD konnten Pincus et al im Vergleich mit gesunden KontrollprobandInnen eine verstärkte Aktivität der Insula nach Applikation von nOXT verzeichnen. Hierbei hatten die ProbandInnen eine Mentalizing-Aufgabe zu lösen, wobei interessanterweise auch gezeigt werden konnte, dass die Reaktionszeit gesunder ProbandInnen unter OXT zunahm, während ProbandInnen mit MDD unter OXT eine verringerte Reaktionszeit zeigten (Pincus et al., 2010). Ersteres könnte als Hinweis darauf dienen, dass PatientInnen mit MDD womöglich an verminderten zentralnervösen OXT-Spiegeln leiden, sodass kompensatorisch die OXTR-Ausstattung der Insula vergrößert wurde, die nach künstlicher Applikation „überreagierte“. Derartige Effekte zeigten sich jedoch nicht nur bei PatientInnen mit MDD. Gorka et al zeigten, dass PatientInnen mit generalisierter Angststörung nach Applikation von nOXT eine höhere Aktivität zwischen Amygdala und Insula zeigen, wenn sie Bilder von verängstigten Menschen betrachteten. Dieser Effekt konnte bei den gesunden KontrollprobandInnen nicht nachgewiesen werden. Dies war insofern bemerkenswert, als genau diese neuronale Verbindung bei besagten PatientInnen zuvor als weniger ausgebildet beschrieben worden war (Gorka et al., 2015). Dies könnte ebenfalls dafür sprechen, dass ein zuvor unterentwickelter OXT-Spiegel mit einer höheren OXTR-Ausstattung kompensiert werden sollte, sodass nach nOXT diese Verbindung eine deutliche Steigerung in ihrer Aktivität erfuhr.

Somit zeigt die Insula in ihrer Reaktion auf OXT in mehreren weit verbreiteten psychiatrischen Erkrankungen ein signifikantes Ansprechen, und kann gerade im Kontext der SZ als eines der Kernareale der Erkrankung gesehen werden.

5.2.3 Fasertrakte weißer Substanz

Veränderungen der FA weißer Substanz zeigen sich bei einer Bandbreite psychiatrischer Erkrankungen, wobei deren genaue Beteiligung an Entstehung und Ausprägung der Erkrankung noch diskutiert wird. Tatsache ist, dass sich Veränderungen

der FA bei einer Vielzahl von Erkrankungen zeigen, jedoch teils in einer Zu-, und teils in einer Abnahme der FA (Jenkins et al., 2016). Da diese Veränderungen auch bereits an ProbandInnen mit erhöhtem Risiko für die Entstehung einer psychiatrischen Erkrankung festzustellen waren (Samartzis et al., 2014), scheint die Veränderung der FA keine direkte Folge der Erkrankung selbst zu sein, sondern trägt entweder zu deren Entstehung bei, oder ist eine Folge der veränderten Prozesse, die zur Erkrankung führen.

Fasciculus longitudinalis superior (SLF)

Der SLF verbindet mit seinen verschiedenen Anteilen Parietal-, Temporal- und Frontallappen der gleichen Hemisphäre miteinander. Durch diese Verbindungen dient der SLF der Integration von Sinneswahrnehmungen in Handlungsplanung und Aufmerksamkeit. Man nimmt an, dass er nicht nur an der eigenen Körper- und der Umweltwahrnehmung beteiligt ist, sondern auch die Steuerung von Aufmerksamkeit und Sprachwahrnehmung beeinflusst (Schmahmann et al., 2008). Im Falle des SLF ist im Hinblick auf die vorherigen Ergebnisse in Bezug auf graue Substanz zu erwähnen, dass er Teile des STG mit dem lateralen präfrontalen Gyrus verbindet, was dessen Veränderungen in Abhängigkeit von Methylierung des OXTR in einen größeren Kontext setzt. Es lässt sich damit vermuten, dass die Abnahme des Volumens im Bereich des STG - in diesem Fall als generell verminderte Nutzung gesehen - auch eine Abnahme der Integrität der verbindenden Faserbahnen nach sich zieht. Oder aber, dass die verminderte Nutzung der Faserbahn eine Abnahme des corticalen Volumens nach sich zieht (Makris et al., 2005). Diese Hypothese wird dadurch gestützt, dass Ambrosi et al im einem Vergleich von BD-PatientInnen mit gesunden KontrollprobandInnen nicht nur eine Abnahme der FA im Bereich des SLF bei PatientInnen fanden, sondern auch eine Volumenreduktion im Bereich des STG (Ambrosi et al., 2013). Hier könnten ROI-gestützte fMRT-Untersuchungen das Bild komplettieren.

Der SLF zeigte in der Metaanalyse von Jenkins et al vor allem im Kontext von MDD eine robuste Minderung der FA, jedoch konnte auch im Rahmen Zwangs- und Angststörungen einer Verminderung der FA des SLF festgestellt werden. Bezüglich MDD zeigte sich weiterhin eine Korrelation zwischen der Abnahme der FA und der Symptomschwere der PatientInnen. BD hingegen zeigte ein eher gemischtes Bild, mit teils erhöhten, aber auch erniedrigten FA-Werten in verschiedenen Bereichen des SLF. Eine verminderte FA im Bereich des SLF kann im Rahmen seiner Rolle als Einschränkung im Bereich der räumlichen und Sprachwahrnehmung gedeutet werden (Jenkins et al., 2016). Auch im Rahmen einer PTSD konnten im Bereich des SLF sowohl Ab-, als auch Zunahmen der FA festgestellt werden (Daniels et al., 2013). Die erwähnte

Korrelation der FA mit der Symptomschwere deckt sich weiterhin mit der Arbeit von de Diego-Adeliño et al. Diese konnten nicht nur die gleiche Korrelation mit der Symptomschwere bei MDD-PatientInnen nachweisen, sondern zeigten auch, dass innerhalb der PatientInnengruppe vor allem diese mit einer therapierefraktären MDD eine Abnahme der FA im Bereich des SLF und ILF zeigten (Diego-Adeliño et al., 2014).

Dies deckt sich mit der bereits mehrfach dargelegten Einschränkung psychisch Kranker, Signale der Umwelt korrekt zu erfassen und zu interpretieren. Die ebenfalls beschriebene erhöhte FA des SLF wiederum darf demgegenüber nicht als "gesunde" Gegenseite dieser Interpretation gesehen werden. Sie könnte dagegen für Kompensationsmechanismen, oder eine pathologische Mehrmyelinisierung der Faserbahnen sprechen.

Fasciculus occipitofrontalis inferior (IFOF)

Der IFOF verbindet die infero- und dorso-lateralen Anteile des Frontallappens, die Mehraktivierung bei der Betrachtung emotionaler Gesichter zeigten (Nakamura et al., 1999), mit den posterioren Anteilen des Temporallappens und dem Occipitallappen (Catani et al., 2002). In seinen Verbindungen ist der IFOF an der visuellen emotionalen Wahrnehmung beteiligt, einer Funktion, deren Einschränkung mehrfach bei verschiedensten psych. Erkrankungen, insbesondere aber der MDD vorbeschrieben wurden (Kieseppä et al., 2010). Kieseppä et al konnten in einem Vergleich von MDD-PatientInnen ebenfalls eine Abnahme der FA des IFOF im Vergleich zu gesunden ProbandInnen darstellen.

Bei SZ-PatientInnen zeigte sich eine positive Korrelation zwischen der FA des IFOF und deren Last an Positivsymptomen. Dies unterstreicht, dass eine vermehrte FA nicht einfach als Gegenstück zu einer inhärenten Pathologie einer verminderten FA gesehen werden darf, sondern ihrerseits wiederum Ausdruck einer Pathologie sein kann. (Samartzis et al., 2014)

Forceps minor (FM)

Das Corpus callosum stellt eine Verbindung zwischen den beiden Hirnhemisphären dar, wobei Rostrum und Genu die Frontallappen miteinander verbinden. Die hufeisenförmigen Fasern, die sich nach frontal ausbreiten, werden als Forceps minor (FM, manchmal auch Forceps anterior genannt) bezeichnet (Catani et al., 2002). Die FM ist Teil des Corpus callosum und zeigt mitunter die stärksten Veränderungen im einem Vergleich von therapierefraktären MDD-PatientInnen mit Erstdiagnostizierten und gesunden KontrollprobandInnen (Diego-Adeliño et al., 2014).

5.3 Bedeutung unserer Ergebnisse für aktuelle Theorien, den therapeutischen Kontext und Forschungsperspektiven

Der Einfluss des OXT-Systems auf das Gehirn wurde in der hier vorliegenden Arbeit bereits mehrfach herausgearbeitet. Jedoch ist der Zusammenhang von epigenetischen Veränderungen des OXT-Systems und hirmorphologischen Korrelaten, sowie deren Bedeutung für die Entwicklung psychiatrischer Erkrankungen, weiterhin unterrepräsentiert. Aus diesem Grund war die Einordnung der von uns aufgezeigten Befunde und Zusammenhänge nur schwer in einen größeren Rahmen zu setzen; obgleich die einzelnen Standbeine der hier vorliegenden Arbeit (epigenetische Veränderungen des OXTR, hirmorphologische Korrelate der grauen und weißen Substanz, Bindungsverhalten in der Kindheit) jeweils Gegenstand aktueller Forschung sind, so werden sie doch kaum in direktem Zusammenhang betrachtet.

Die hier vorliegende Arbeit soll betonen, dass diese Einflussfaktoren nicht als einzeln und unabhängig voneinander betrachtet werden können. In den letzten zwei Jahrzehnten wurden zunehmend Risikoallele und SNPs definiert, die mit dem Auftreten verschiedener psychiatrischer Erkrankungen korrelierten. Diese ergaben mit bereits bekannten Umweltfaktoren – protektiver wie gefährdender Natur – ein klareres Bild bei der Suche nach der Ätiologie psychiatrischer Erkrankungen. Epigenetische Faktoren bieten letztendlich die Möglichkeit der Verknüpfung dieser beiden Standbeine (Schiele und Domschke, 2018), und sollten daher in Zukunft gleichwertig in die Ursachenforschung integriert werden.

Weiterhin verbinden wir mit dieser Arbeit die Hoffnung, dass die Erforschung des OXT-Systems in Bezug auf psychiatrische Erkrankungen und deren hirmorphologischer Korrelate in Zukunft auch verstärkt Aspekte der Gyrfizierung und Integrität weißer Faserbahnen miteinbezieht. Diese erscheinen im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit sinnvoll und vielversprechend, sind jedoch nach aktuellem Stand auch weiterhin kritisch unterrepräsentiert. Obgleich in der Diskussion vieler Arbeiten zu Hirnmorphologie die Thematik des OXT-Systems und seiner Bedeutung angerissen wird, so ist dieses doch nur selten tatsächlicher Gegenstand der Forschung und lässt damit noch viel Raum für weitere Forschung, die wir für notwendig halten.

Die nasale Applikation von OXT als potentielle Therapie & Gegenstand der Forschung

Da OXT bereits bei gesunden ProbandInnen mit einer verstärkten prosozialen Wirkung in Verbindung gebracht wurde, war man im Verlauf dazu übergegangen, sein Potential als Co-Therapeutikum bei psychisch Kranken zu testen. Im Falle von PatientInnen mit SZ konnte in einer placebokontrollierten Studie gezeigt werden, dass nOXT als Co-Therapeutikum geeignet ist, sowohl die Positiv-, wie auch die Negativsymptomlast der

PatientInnen zu verringern (Feifel et al., 2010). Ergänzend zur antipsychotischen Wirkung von nOXT bestand auch von Anfang an ein großes Interesse an möglichen prosozialen Effekten auf Erkrankte. PatientInnen mit SZ konnten in einer folgenden Studie deutlich schlechter Emotionen in Gesichtern ablesen, als eine gesunde Kontrollgruppe. Dies ist ein bekanntes Defizit im Rahmen mehrerer psychiatrischer Erkrankungen und stellt eine Barriere im täglichen Umgang mit anderen Menschen dar. Die gleiche Studie – sowie folgende - konnte jedoch auch zeigen, dass die Applikation von nOXT als Co-Therapeutikum neben der bereits implementierten neuroleptischen Medikation, die Resultate im oben beschriebenen Versuch signifikant verbesserte (Pedersen et al., 2011), (Averbeck et al., 2012). Diese Effekte ließen sich auch über längere Zeiträume beobachten (Modabbernia et al., 2013) . Auf funktioneller Ebene konnte nachgewiesen werden, dass nOXT auf ProbandInnen mit SZ eine andere Wirkung entfaltet, als auf gesunde Kontrollgruppen; im Rahmen von Gesichtserkennungsaufgaben zeigten PatientInnen unter OXT eine verminderte Aktivierung der Amygdala, wohingegen die gesunde Kontrollgruppe eine vermehrte Aktivierung zeigte (Shin et al., 2015). Die genaue Interpretation dieser Ergebnisse ist jedoch weiterhin nicht abschließend geklärt, da die Aktivierung der Amygdala unter nOXT in einzelnen Subregionen divergiert und stark von der applizierten nOXT-Dosis abhängt (Martins et al., 2022). Der genaue Wirkmechanismus von nOXT bleibt somit leider weiterhin vage, zumal über die genauen pharmakokinetischen Aspekte weiter diskutiert wird. Obgleich die Korrelation von nOXT und Veränderungen der Hirnaktivität nicht von der Hand gewiesen werden kann, so ist doch unklar, welche Anteile dieser Wirkung durch direkte Penetration des Gehirns nach Applikation erreicht werden. Die Bindung an periphere Rezeptoren, oder ein Passieren der Blut-Hirn-Schranke, bleiben weiterhin mögliche Wirkmechanismen. Dies könnte auch als Erklärungsansatz für die scheinbar paradoxen Wirkungs-Dosis-Zusammenhänge gesehen werden (Yao und Kendrick, 2022). Zusammenfassend stellt nOXT eine zukünftige Möglichkeit dar, nicht nur die Symptomlast der Betroffenen zu vermindern, sondern auch potentiell eine verbesserte Interaktion mit der Umwelt zu ermöglichen, die es PatientInnen erlaubt, sich leichter in ein soziales Gefüge einzufügen (Wigton et al., 2022). Auf diese Weise böte sich die Möglichkeit, indirekt auch auf das Umfeld der Betroffenen Einfluss zu nehmen, welche ebenfalls von der verbesserten Kommunikation profitieren. Dies konnte bereits an Vätern demonstriert wurden, deren Kinder, nachdem der Vater nOXT erhalten hatte, ebenfalls erhöhte OXT-Spiegel nach gemeinsamer Interaktion zeigten (Weisman et al., 2012).

OXT & Bindung als Bestandteil von Therapieansätzen

Die Aufarbeitung frühkindlichen Erfahrungen und biographisches Arbeiten sind bereits ein fester Bestandteil vieler psychotherapeutischer Herangehensweisen, dessen Wirksamkeit an dieser Stelle nicht weiter herausgearbeitet werden muss. Vielmehr soll durch die erhobenen Daten verdeutlicht werden, auf welchen Wegen derartige Erfahrungen – mitigiert über epigenetische Anpassungsprozesse - phänotypische Konsequenzen haben, seien sie neurobiochemischer, oder letztendlich neuromorphologischer Natur. Das OXT-System bietet einen plausiblen Ansatzpunkt für eine neurophysiologische Erklärung des Einflusses solcher biographischen Einflüsse. Die gestörten Bindungsverhältnisse der Kindheit korrelieren auch langfristig mit Veränderungen des OXT-Systems (Heim et al., 2009), wofür unterschiedliche Expressionsraten des OXTR in Abhängigkeit von elterlichem Bindungsverhalten eine mögliche Ursache sein können (Meaney, 2001). Bindung prägt das OXT-System, und dieses im Verlauf wiederum das Bindungsverhalten (Feldman, 2012), womit betont werden soll, dass in zukünftigen Arbeiten, welche sich mit dem Einfluss des OXT-Systems auseinandersetzen, der frühkindliche Einfluss von Bindungsverhalten auf dieses System berücksichtigt werden muss.

5.4 Methodenkritik

Es handelt sich bei dieser Arbeit um einen explorativen Ansatz, sodass die hier dargestellten Befunde als vorläufige Ergebnisse betrachtet werden sollen. In diesem Rahmen wurde unter anderem auf eine Korrektur für multiples Testen im Sinne einer Bonferroni-Korrektur verzichtet, da diese im Rahmen des explorativen Ansatzes als zu harsch angesehen wurde. Nachfolgende Arbeiten mit gezielteren Ansätzen sind unserer Ansicht nach notwendig, und die hier vorgestellten Ergebnisse zu verifizieren.

Wie bei allen epigenetischen Arbeiten zu psychiatrischen Erkrankungen an lebenden ProbandInnen ergibt sich das Problem der Probengewinnung. Obgleich mehrfach Korrelationen zwischen zentralen und peripheren Methylierungswerten aufgezeigt werden konnten (Gouin et al., 2017), so bleiben epigenetische Veränderungen doch meist gewebespezifisch. Im Rahmen von Studien an der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenachse konnte argumentiert werden, dass die entsprechenden Rezeptoren sowohl im ZNS, als auch in peripherem Gewebe exprimiert werden. OXTR wird jedoch nicht von den hier gewonnenen Zellen exprimiert, obgleich sie natürlich das entsprechende Gen aufweisen (Klengel et al., 2014). Weiterhin bestehen signifikante Unterschiede zwischen den Methylierungsgraden unterschiedlicher Hirnregionen (Harony-Nicolas et al., 2014), sodass die Aussagekraft peripher gewonnener Methylierungswerte umso kritischer betrachtet werden müssen. Die Problematik der

peripheren Probengewinnung wird seit 20 Jahren diskutiert (Suzuki und Bird, 2008), und zurecht kritisch bewertet, muss jedoch mangels valider Alternativen vorerst als eine der wenigen Möglichkeiten der Probengewinnung beibehalten werden.

Es ergaben sich bereits viele Hinweise darauf, dass die Methylierung von Promotorregionen zur Zelldifferenzierung beiträgt, jedoch scheint der Mechanismus komplexer zu sein, als dass eine Methylierung einfach nur mit einem Silencing des entsprechenden Gens einhergeht. Nicht jede Promotorregion reagiert gleich oder gleich stark auf deren Methylierung, sodass weitere Grundlagenforschung notwendig ist (Suzuki und Bird, 2008).

Weiterhin ergeben sich Probleme aus dem verwendeten Sample. Hierbei ist zunächst die geringe Größe an sich zu nennen, welche für unsere FA-Analysen noch einmal abnahm. Daher empfehlen wir die Wiederholung unserer Ansätze in größerem Umfang. Zudem bestand das Sample ausschließlich aus weiblichen Probandinnen, was eine allgemein gültige Bewertung schwierig macht. Ein Einfluss des Geschlechts auf das Bindungsverhalten in der frühen Kindheit kann ebenfalls nicht ausgeschlossen werden. Abhängig von der frühkindlichen Erfahrung von Männern, reagierte deren OXT-Level unterschiedlich auf die nOXT-Applikation (Meinlschmidt und Heim, 2007), was Parallelen zu den Ergebnissen bei weiblichen Probandinnen aufweist, jedoch nicht als ausreichend angesehen werden kann, um zu definieren, dass es keinerlei Unterschiede gebe. Weiterhin scheint das Geschlecht der ProbandInnen eine Rolle in der Gesamtinteraktion zu spielen (Caldwell, 2017).

In einer Metaanalyse von Wigton et al zeigten sich funktionelle Unterschiede nach der Applikation von nOXT vor allem bei Frauen. Allerdings musste auch angefügt werden, dass die gestellten Aufgaben während der Untersuchungen in Arbeiten mit Frauen nicht zwangsläufig mit den Aufgaben verglichen werden konnten, die in Studien an Männern verwendet wurden. Somit muss angemerkt werden, dass der Einfluss von OXT auf neuronale Strukturen davon abhängen kann, welches Geschlecht der Empfänger hat, und welche Form von Aufgabe er oder sie lösen muss. In dieser Hinsicht ist das in dieser Studie verwendete Sample kritisch zu betrachten, da es ausschließlich aus Frauen bestand; eine allgemeine Aussage über die Gesamtbevölkerung ist somit schwierig. Umgekehrt bezog sich die hier vorliegende Arbeit – anders als bei Wigton et al - rein auf neuroanatomische Strukturen, und nicht auf deren Aktivierung (Wigton et al., 2015).

Die Gehirne weiblicher Probandinnen zeigten im Vergleich zu männlichen Kontrollgruppen erhöhte Methylierungswerte im Bereich von Frontal-, Parietal-, Temporal und Occipitallappen; da man die Notwendigkeit zur Gyrfizierung des Gehirns mit der Begrenzung eines knöchernen Schädels erklärt, wurde als Ursache für die

geschlechtsspezifischen Unterschiede die stärkere räumliche Limitierung des kleineren weiblichen Cerebrums angeführt. Vor diesem Hintergrund bietet die Verwendung ausschließlich weiblicher Probandinnen die Möglichkeit zur Vermeidung eines Bias im Hinblick auf die Vergleichbarkeit der Gyrfizierung (Luders et al., 2006).

Ein weiterer Schwachpunkt der Analysen ist der retrospektive Charakter des FEB an sich. Die Glaubwürdigkeit der Angaben muss kritisch betrachtet werden, da Erinnerungen an teils lange zurückliegende Ereignisse anfällig sind; bereits eine später im Leben stattfindende Neubewertung der eigenen Erinnerungen führt zu einer Veränderung der gemachten Angaben, obgleich die tatsächliche Wahrnehmung von Ereignissen in der Kindheit, und damit deren potentieller Einfluss auf epigenetische Mechanismen, selbst womöglich andere waren. Hinzu kommen schlicht und ergreifend das Vergessen von Ereignissen sowie die Abhängigkeit von Aussagen von der aktuellen Tagesstimmung von ProbandInnen, sodass auch hier mit teils verzerrten Angaben gerechnet werden muss. Vor diesem Hintergrund muss auch angeführt werden, dass OXT - zumindest in Tierversuchen - das soziale Gedächtnis beeinflusst (Maroun und Wagner, 2016). Es war zum aktuellen Zeitpunkt jedoch noch unklar, wie dies im Rahmen der ambivalenten, sozialen Wirkung von OXT zu sehen ist, da Hypothesen auch davon ausgehen, dass erhöhte OXT-Spiegel im Rahmen negativer Emotionen dazu dienen können, Vermeidungsverhalten zu verstärken. Die Annahme, dass OXT nur rein positive Erinnerungen beeinflusst wäre damit zu kurz gegriffen.

Im Hinblick auf die morphologische Komponente der hier vorliegenden Arbeit in Bezug auf elterliche Bindung und soziale Stimuli ergibt sich durch den Charakter des FEB eine weitere Problematik. Der FEB unterscheidet nicht zwischen den einzelnen Phasen des Heranwachsens, sondern bildet alle Erlebnisse vor dem sechzehnten Lebensjahr ab, sodass nicht berücksichtigt wird, welche Form problematischer Bindung in welcher Lebensphase auftrat. Dies ist insofern relevant, als dass Art und Zeitpunkt der sozialen Einflüsse bestimmen, welche cerebalen Strukturen betroffen sein können (Klengel et al., 2014) (Tyborowska et al., 2018). Insofern ist der FEB zwar weiterhin ein geeignetes Instrument, um die elterliche Bindung als Ganzes abzubilden, gegebenenfalls jedoch zeitlich zu weit gefächert, um für morphologische Arbeiten geeignet zu sein.

Zuletzt muss angemerkt werden, dass nur für eine einzige Subskala des FEB vollständige Fragebögen der Probandinnen erhoben wurden. Insofern sind abschließende Aussagen für das gesamte Sample nicht möglich, und es kann nur eine kontextuelle Einordnung erfolgen, anstatt tiefere Parallelen zwischen Hirnmorphologie und Bindungsstilen zu ziehen.

6 Zusammenfassung

Bei der Suche nach den multimodalen Ursachen psychiatrischer Erkrankungen gewinnt die Epigenetik neben den bekannten genetischen und umweltbedingten Risikofaktoren zunehmend an Bedeutung, insbesondere als mögliche Verbindung letzterer. Vor diesem Hintergrund kommt dem Oxytocinrezeptorgen (OXTR) als Baustein des Oxytocinsystems eine besondere Bedeutung zu, da dieses essentiell an der Interpretation sozialer Stimuli, sowie dem Aufbau zwischenmenschlicher Bindungen beteiligt ist. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, Korrelationen zwischen der Methylierung des OXTR und hirmorphologischen Veränderungen aufzudecken. Zudem sollte der Einfluss der elterlichen Bindung auf die kindliche Entwicklung miteinbezogen werden, um ein vollständigeres Erklärungsmodell erstellen zu können, wie epigenetische Veränderungen auftreten können, und welche langfristigen Folgen sie haben.

Im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit wurden 62 Probandinnen der FOR2107 „Marburg-Münster Affective Disorders Cohort Study“ (MACS) zu einem Hochrisikosample für die Entwicklung einer psychiatrischen Erkrankung zusammengefasst. Methylierungswerte für insgesamt 18 CpG-Sites wurden mithilfe des Illumina Infinium MethylationEPIC BeadChip erhoben, und nach ausführlicher Literaturrecherche wurden 3 Kandidaten-CpG-Sites zur weiteren Analyse ausgewählt. Weiterhin bildeten wir aus der Gesamtzahl der analysierten CpGs 3 Faktoren, um zusätzlich eine genweite Analyse zu ermöglichen. Mittels MR-Bildgebung erhoben wir T1-gewichtete sowie Diffusion-Tensor-Imaging-Bilddaten (DTI) aller Probandinnen. Zur Bestimmung der elterlichen Bindungsstile wurde der Fragebogen zur elterlichen Bindung (FEB, übersetzte Version des „Parental Bonding Instrument“, PBI) verwendet. Die Analysen der T1-gewichteten Bilddaten hinsichtlich der Dicke grauer Substanz (voxelbasierte Morphometrie, VBM) und der Cortexgyrifizierung erfolgten mittels der CAT12 Toolbox in SPM12. Die Auswertung der DTI-Bilddaten erfolgte mittels Tract-Based Spatial Statistics (TBSS) in der FMRIB Software Library (FSL 5.0.7).

Es zeigten sich eine Abnahme des Cortexvolumens im Bereich des Gyrus temporalis superior (STG), sowie eine verminderte Gyrifizierung im Bereich der Insula in Korrelation zu einer vermehrten Methylierung des OXTR. Weiterhin zeigten sich mehrere negative Korrelationen zwischen der Methylierung des OXTR und der Integrität der Faserbahnen weißer Substanz, insbesondere im Bereich des Fasciculus longitudinalis superior und inferior (S/ILF), sowie dem Fasciculus occipitofrontalis inferior (IFOF). Auch im Hinblick auf die elterliche Bindung zeigten sich Korrelationen mit der OXTR-Methylierung, u.a. im Hinblick auf die subjektiv wahrgenommene Fürsorge durch die Mutter.

Im Kontext der bisherigen Forschung untermauern die Ergebnisse der hier vorliegenden Arbeit die Hypothese, dass sich die elterlichen Beziehungen eines Individuums langfristig in epigenetischen Veränderungen niederschlagen können, und dass das OXT-System hierfür ein plausibler Kandidat ist. Weiterhin erhärten sich die Hinweise dafür, dass diese epigenetischen Veränderungen, entgegen ihrem veränderlichen Grundcharakter, womöglich langfristig unveränderliche Folgen haben, indem sie sich in hirnmorphologischen Korrelaten niederschlagen, die auch im Rahmen verschiedener psychiatrischer Erkrankungen nachgewiesen worden sind.

Die Korrelation von epigenetischen Veränderungen und hirnmorphologischen Korrelaten (insbesondere im Hinblick auf Gyrfizierungsanalysen und die Integrität von Faserbahnen weißer Substanz) ist in der bisherigen Forschung bisher ein unterrepräsentierter Aspekt. Weitere Arbeiten zu diesem Thema mit größeren Fallzahlen, und ggf. enger definierter Regions of Interest (ROI) sind zweifelsohne notwendig.

7 Literatur

- Adkins-Regan E: Neuroendocrinology of social behavior. *ILAR journal* 2009;50:5–14 DOI: 10.1093/ilar.50.1.5.
- Ambrosi E, Rossi-Espagnet MC, Kotzalidis GD, et al.: Structural brain alterations in bipolar disorder II: a combined voxel-based morphometry (VBM) and diffusion tensor imaging (DTI) study. *Journal of affective disorders* 2013;150:610–615 DOI: 10.1016/j.jad.2013.02.023.
- Ashburner J: A fast diffeomorphic image registration algorithm. *NeuroImage* 2007;38:95–113 DOI: 10.1016/j.neuroimage.2007.07.007.
- Averbeck BB, Bobin T, Evans S, et al.: Emotion recognition and oxytocin in patients with schizophrenia. *Psychological medicine* 2012;42:259–266 DOI: 10.1017/S0033291711001413.
- Basser PJ, Pierpaoli C: Microstructural and physiological features of tissues elucidated by quantitative-diffusion-tensor MRI. 1996. *Journal of magnetic resonance (San Diego, Calif. : 1997)* 2011;213:560–570 DOI: 10.1016/j.jmr.2011.09.022.
- Beach SRH, Lei MK, Brody GH, et al.: Prevention of Early Substance Use Mediates, and Variation at SLC6A4 Moderates, SAAF Intervention Effects on OXTR Methylation. *Prevention science : the official journal of the Society for Prevention Research* 2018;19:90–100 DOI: 10.1007/s11121-016-0709-5.
- Berger SL, Kouzarides T, Shiekhattar R, et al.: An operational definition of epigenetics. *Genes & development* 2009;23:781–783 DOI: 10.1101/gad.1787609.
- Bertsch K, Schmidinger I, Neumann ID, et al.: Reduced plasma oxytocin levels in female patients with borderline personality disorder. *Hormones and behavior* 2013;63:424–429 DOI: 10.1016/j.yhbeh.2012.11.013.
- Bird A: DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes & development* 2002;16:6–21 DOI: 10.1101/gad.947102.
- Bjornsson HT, Sigurdsson MI, Fallin MD, et al.: Intra-individual change over time in DNA methylation with familial clustering. *JAMA* 2008;299:2877–2883 DOI: 10.1001/jama.299.24.2877.
- Bogdanović O, Lister R: DNA methylation and the preservation of cell identity. *Current opinion in genetics & development* 2017;46:9–14 DOI: 10.1016/j.gde.2017.06.007.
- Borgwardt SJ, Fusar-Poli P, Radue E-W, et al.: Insular pathology in the at-risk mental state. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience* 2008;258:254–255 DOI: 10.1007/s00406-007-0794-3.
- Borland JM, Rilling JK, Frantz KJ, et al.: Sex-dependent regulation of social reward by oxytocin: an inverted U hypothesis. *Neuropsychopharmacol.* 2019;44:97–110 DOI: 10.1038/s41386-018-0129-2.

Brenet F, Moh M, Funk P, et al.: DNA methylation of the first exon is tightly linked to transcriptional silencing. *PloS one* 2011;6:e14524 DOI: 10.1371/journal.pone.0014524.

Caldwell HK: Oxytocin and Vasopressin: Powerful Regulators of Social Behavior. *The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry* 2017;23:517–528 DOI: 10.1177/1073858417708284.

Caldwell HK, Albers HE: Oxytocin, Vasopressin, and the Motivational Forces that Drive Social Behaviors. *Current topics in behavioral neurosciences* 2016;27:51–103 DOI: 10.1007/7854_2015_390.

Carter CS: Oxytocin pathways and the evolution of human behavior. *Annual review of psychology* 2014;65:17–39 DOI: 10.1146/annurev-psych-010213-115110.

Cataldo I, Bonassi A, Lepri B, et al.: Recalled Parental Bonding Interacts with Oxytocin Receptor Gene Polymorphism in Modulating Anxiety and Avoidance in Adult Relationships. *Brain sciences* 2021;11 DOI: 10.3390/brainsci11040496.

Catani M, Howard RJ, Pajevic S, et al.: Virtual in vivo interactive dissection of white matter fasciculi in the human brain. *NeuroImage* 2002;17:77–94 DOI: 10.1006/nimg.2002.1136.

Cedar H, Bergman Y: Programming of DNA methylation patterns. *Annual review of biochemistry* 2012;81:97–117 DOI: 10.1146/annurev-biochem-052610-091920.

Chatterjee R, Vinson C: CpG methylation recruits sequence specific transcription factors essential for tissue specific gene expression. *Biochimica et biophysica acta* 2012;1819:763–770 DOI: 10.1016/j.bbagr.2012.02.014.

Cheng C-M, Chang W-H, Chen M-H, et al.: Co-aggregation of major psychiatric disorders in individuals with first-degree relatives with schizophrenia: a nationwide population-based study. *Molecular psychiatry* 2018;23:1756–1763 DOI: 10.1038/mp.2017.217.

Colver A, Longwell S: New understanding of adolescent brain development: relevance to transitional healthcare for young people with long term conditions. *Archives of disease in childhood* 2013;98:902–907 DOI: 10.1136/archdischild-2013-303945.

Costanzo ME, Jovanovic T, Pham D, et al.: White matter microstructure of the uncinate fasciculus is associated with subthreshold posttraumatic stress disorder symptoms and fear potentiated startle during early extinction in recently deployed Service Members. *Neuroscience letters* 2016;618:66–71 DOI: 10.1016/j.neulet.2016.02.041.

Dai L, Carter CS, Ying J, et al.: Oxytocin and vasopressin are dysregulated in Williams Syndrome, a genetic disorder affecting social behavior. *PloS one* 2012;7:e38513 DOI: 10.1371/journal.pone.0038513.

Damasio H, Tranel D, Grabowski T, et al.: Neural systems behind word and concept retrieval. *Cognition* 2004;92:179–229 DOI: 10.1016/j.cognition.2002.07.001.

- Daniels JK, Lamke J-P, Gaebler M, et al.: White matter integrity and its relationship to PTSD and childhood trauma--a systematic review and meta-analysis. *Depression and anxiety* 2013;30:207–216 DOI: 10.1002/da.22044.
- Dannlowski U, Kugel H, Grotegerd D, et al.: Disadvantage of Social Sensitivity: Interaction of Oxytocin Receptor Genotype and Child Maltreatment on Brain Structure. *Biological psychiatry* 2016;80:398–405 DOI: 10.1016/j.biopsych.2015.12.010.
- Deaton AM, Bird A: CpG islands and the regulation of transcription. *Genes & development* 2011;25:1010–1022 DOI: 10.1101/gad.2037511.
- Desikan RS, Ségonne F, Fischl B, et al.: An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. *NeuroImage* 2006;31:968–980 DOI: 10.1016/j.neuroimage.2006.01.021.
- Diego-Adeliño J de, Pires P, Gómez-Ansón B, et al.: Microstructural white-matter abnormalities associated with treatment resistance, severity and duration of illness in major depression. *Psychological medicine* 2014;44:1171–1182 DOI: 10.1017/S003329171300158X.
- Dornes M: ber Mentalisierung, Affektregulierung und die Entwicklung des Selbst. *Forum Psychoanal* 2004;20 DOI: 10.1007/s00451-004-0195-4.
- Du P, Zhang X, Huang C-C, et al.: Comparison of Beta-value and M-value methods for quantifying methylation levels by microarray analysis. *BMC bioinformatics* 2010;11:587 DOI: 10.1186/1471-2105-11-587.
- Eslinger PJ, Anders S, Ballarini T, et al.: The neuroscience of social feelings: mechanisms of adaptive social functioning. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 2021;128:592–620 DOI: 10.1016/j.neubiorev.2021.05.028.
- Fatemi M, Pao MM, Jeong S, et al.: Footprinting of mammalian promoters: use of a CpG DNA methyltransferase revealing nucleosome positions at a single molecule level. *Nucleic acids research* 2005;33:e176 DOI: 10.1093/nar/gni180.
- Feifel D, Macdonald K, Nguyen A, et al.: Adjunctive intranasal oxytocin reduces symptoms in schizophrenia patients. *Biological psychiatry* 2010;68:678–680 DOI: 10.1016/j.biopsych.2010.04.039.
- Feldman R: Mother-infant synchrony and the development of moral orientation in childhood and adolescence: direct and indirect mechanisms of developmental continuity. *The American journal of orthopsychiatry* 2007;77:582–597 DOI: 10.1037/0002-9432.77.4.582.
- Feldman R: Oxytocin and social affiliation in humans. *Hormones and behavior* 2012;61:380–391 DOI: 10.1016/j.yhbeh.2012.01.008.

- Fischl B, Salat DH, Busa E, et al.: Whole Brain Segmentation. *Neuron* 2002;33:341–355
DOI: 10.1016/S0896-6273(02)00569-X.
- Frith CD, Frith U: The neural basis of mentalizing. *Neuron* 2006;50:531–534 DOI:
10.1016/j.neuron.2006.05.001.
- Fujisawa TX, Nishitani S, Takiguchi S, et al.: Oxytocin receptor DNA methylation and
alterations of brain volumes in maltreated children. *Neuropsychopharmacol.*
2019;44:2045–2053 DOI: 10.1038/s41386-019-0414-8.
- Fusar-Poli P, Placentino A, Carletti F, et al.: Functional atlas of emotional faces
processing: a voxel-based meta-analysis of 105 functional magnetic resonance
imaging studies. *JPN* 2009;34:418–432.
- Gaser C: Deformationsbasierte Morphometrie: Eine Methode zur Analyse
hirnstruktureller Veränderungen. Saarbrücken, VDM Verlag Dr. Müller, 2008.
- Gilmore JH, Shi F, Woolson SL, et al.: Longitudinal development of cortical and
subcortical gray matter from birth to 2 years. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*
2012;22:2478–2485 DOI: 10.1093/cercor/bhr327.
- Gorka SM, Fitzgerald DA, Labuschagne I, et al.: Oxytocin modulation of amygdala
functional connectivity to fearful faces in generalized social anxiety disorder.
Neuropsychopharmacol. 2015;40:278–286 DOI: 10.1038/npp.2014.168.
- Gouin JP, Zhou QQ, Booij L, et al.: Associations among oxytocin receptor gene (OXTR)
DNA methylation in adulthood, exposure to early life adversity, and childhood
trajectories of anxiousness. *Scientific reports* 2017;7:7446 DOI: 10.1038/s41598-017-
07950-x.
- Gouin J-P, Carter CS, Pournajafi-Nazarloo H, et al.: Marital behavior, oxytocin,
vasopressin, and wound healing. *Psychoneuroendocrinology* 2010;35:1082–1090
DOI: 10.1016/j.psyneuen.2010.01.009.
- Haas BW, Filkowski MM, Cochran RN, et al.: Epigenetic modification of OXT and human
sociability. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of
America* 2016;113:E3816-23 DOI: 10.1073/pnas.1602809113.
- Hannon E, Dempster E, Viana J, et al.: An integrated genetic-epigenetic analysis of
schizophrenia: evidence for co-localization of genetic associations and differential
DNA methylation. *Genome biology* 2016;17:176 DOI: 10.1186/s13059-016-1041-x.
- Harony-Nicolas H, Mamrut S, Brodsky L, et al.: Brain region-specific methylation in the
promoter of the murine oxytocin receptor gene is involved in its expression regulation.
Psychoneuroendocrinology 2014;39:121–131 DOI:
10.1016/j.psyneuen.2013.10.004.

- Heim C, Young LJ, Newport DJ, et al.: Lower CSF oxytocin concentrations in women with a history of childhood abuse. *Molecular psychiatry* 2009;14:954–958 DOI: 10.1038/mp.2008.112.
- Hiraoka D, Nishitani S, Shimada K, et al.: Epigenetic modification of the oxytocin gene is associated with gray matter volume and trait empathy in mothers. *Psychoneuroendocrinology* 2021;123:105026 DOI: 10.1016/j.psyneuen.2020.105026.
- Hirjak D, Wolf RC, Paternoga I, et al.: Neuroanatomical Markers of Neurological Soft Signs in Recent-Onset Schizophrenia and Asperger-Syndrome. *Brain topography* 2016;29:382–394 DOI: 10.1007/s10548-015-0468-9.
- Hua K, Zhang J, Wakana S, et al.: Tract probability maps in stereotaxic spaces: analyses of white matter anatomy and tract-specific quantification. *NeuroImage* 2008;39:336–347 DOI: 10.1016/j.neuroimage.2007.07.053.
- Huang V, DiMillo J, Koszycki D: Psychometric Properties of the Parental Bonding Instrument in a Sample of Canadian Children. *Child psychiatry and human development* 2020;51:754–768 DOI: 10.1007/s10578-020-00999-2.
- Hurlemann R, Patin A, Onur OA, et al.: Oxytocin enhances amygdala-dependent, socially reinforced learning and emotional empathy in humans. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 2010;30:4999–5007 DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5538-09.2010.
- Illingworth RS, Bird AP: CpG islands--'a rough guide'. *FEBS letters* 2009;583:1713–1720 DOI: 10.1016/j.febslet.2009.04.012.
- Jack A, Connelly JJ, Morris JP: DNA methylation of the oxytocin receptor gene predicts neural response to ambiguous social stimuli. *Frontiers in human neuroscience* 2012;6:280 DOI: 10.3389/fnhum.2012.00280.
- Jenkins LM, Barba A, Campbell M, et al.: Shared white matter alterations across emotional disorders: A voxel-based meta-analysis of fractional anisotropy. *NeuroImage. Clinical* 2016;12:1022–1034 DOI: 10.1016/j.nicl.2016.09.001.
- Jenness JL, Peverill M, Miller AB, et al.: Alterations in neural circuits underlying emotion regulation following child maltreatment: a mechanism underlying trauma-related psychopathology. *Psychological medicine* 2021;51:1880–1889 DOI: 10.1017/S0033291720000641.
- Jobst A, Albert A, Bauriedl-Schmidt C, et al.: Social exclusion leads to divergent changes of oxytocin levels in borderline patients and healthy subjects. *Psychotherapy and psychosomatics* 2014;83:252–254 DOI: 10.1159/000358526.

- Kelly PA, Viding E, Wallace GL, et al.: Cortical thickness, surface area, and gyrification abnormalities in children exposed to maltreatment: neural markers of vulnerability? *Biological psychiatry* 2013;74:845–852 DOI: 10.1016/j.biopsych.2013.06.020.
- Kendrick KM, Keverne EB, Baldwin BA: Intracerebroventricular oxytocin stimulates maternal behaviour in the sheep. *Neuroendocrinology* 1987;46:56–61 DOI: 10.1159/000124796.
- Kieseppä T, Eerola M, Mäntylä R, et al.: Major depressive disorder and white matter abnormalities: a diffusion tensor imaging study with tract-based spatial statistics. *Journal of affective disorders* 2010;120:240–244 DOI: 10.1016/j.jad.2009.04.023.
- Kircher T, Wöhr M, Nenadic I, et al.: Neurobiology of the major psychoses: a translational perspective on brain structure and function-the FOR2107 consortium. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience* 2018 DOI: 10.1007/s00406-018-0943-x.
- Kirsch P: Oxytocin in the socioemotional brain: implications for psychiatric disorders. *Dialogues in Clinical Neuroscience* 2015;17:463–476.
- Klengel T, Pape J, Binder EB, et al.: The role of DNA methylation in stress-related psychiatric disorders. *Neuropharmacology* 2014;80:115–132 DOI: 10.1016/j.neuropharm.2014.01.013.
- Knobloch HS, Grinevich V: Evolution of oxytocin pathways in the brain of vertebrates. *Frontiers in behavioral neuroscience* 2014;8:31 DOI: 10.3389/fnbeh.2014.00031.
- Koch SB, van Zuiden M, Nawijn L, et al.: Decreased uncinate fasciculus tract integrity in male. *JPN* 2017;42:331–342 DOI: 10.1503/jpn.160129.
- Kochanska G: Mutually Responsive Orientation Between Mothers and Their Young Children: A Context for the Early Development of Conscience. *Curr Dir Psychol Sci* 2002;11:191–195 DOI: 10.1111/1467-8721.00198.
- Kochanska G, Boldt LJ, Goffin KC: Early relational experience: A foundation for the unfolding dynamics of parent-child socialization. *Child development perspectives* 2019;13:41–47 DOI: 10.1111/cdep.12308.
- Kosfeld M, Heinrichs M, Zak PJ, et al.: Oxytocin increases trust in humans. *Nature* 2005;435:673–676 DOI: 10.1038/nature03701.
- Kraaijenvanger EJ, He Y, Spencer H, et al.: Epigenetic variability in the human oxytocin receptor (OXTR) gene: A possible pathway from early life experiences to psychopathologies. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 2019;96:127–142 DOI: 10.1016/j.neubiorev.2018.11.016.
- Kurth F, Luders E, Gaser C: Voxel-Based Morphometry:345–349 DOI: 10.1016/B978-0-12-397025-1.00304-3.

- Kusui C, Kimura T, Ogita K, et al.: DNA methylation of the human oxytocin receptor gene promoter regulates tissue-specific gene suppression. *Biochemical and biophysical research communications* 2001;289:681–686 DOI: 10.1006/bbrc.2001.6024.
- Li D, Xie Y: An Evolved Human-specific Epigenetic Mechanism for Cortical Expansion and Gyrfication. *Neuroscience bulletin* 2021;37:1370–1372 DOI: 10.1007/s12264-021-00719-3.
- Luders E, Thompson PM, Narr KL, et al.: A curvature-based approach to estimate local gyrfication on the cortical surface. *NeuroImage* 2006;29:1224–1230 DOI: 10.1016/j.neuroimage.2005.08.049.
- Lutz R: *Wie gesund sind Kranke? Zur seelischen Gesundheit psychisch Kranker.* Göttingen, Verl. für Angewandte Psychologie, 1995.
- Makris N, Kennedy DN, McInerney S, et al.: Segmentation of subcomponents within the superior longitudinal fascicle in humans: a quantitative, in vivo, DT-MRI study. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)* 2005;15:854–869 DOI: 10.1093/cercor/bhh186.
- Mannarini S, Balottin L, Palmieri A, et al.: Emotion Regulation and Parental Bonding in Families of Adolescents With Internalizing and Externalizing Symptoms. *Frontiers in psychology* 2018;9:1493 DOI: 10.3389/fpsyg.2018.01493.
- Mar RA: The neural bases of social cognition and story comprehension. *Annual review of psychology* 2011;62:103–134 DOI: 10.1146/annurev-psych-120709-145406.
- Maroun M, Wagner S: Oxytocin and Memory of Emotional Stimuli: Some Dance to Remember, Some Dance to Forget. *Biological psychiatry* 2016;79:203–212 DOI: 10.1016/j.biopsych.2015.07.016.
- Marsh N, Scheele D, Gerhardt H, et al.: The Neuropeptide Oxytocin Induces a Social Altruism Bias. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 2015;35:15696–15701 DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3199-15.2015.
- Martins D, Brodmann K, Veronese M, et al.: "Less is more": a dose-response account of intranasal oxytocin pharmacodynamics in the human brain. *Progress in neurobiology* 2022:102239 DOI: 10.1016/j.pneurobio.2022.102239.
- McDonald NM, Baker JK, Messinger DS: Oxytocin and parent-child interaction in the development of empathy among children at risk for autism. *Developmental psychology* 2016;52:735–745 DOI: 10.1037/dev0000104.
- Meaney MJ: Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. *Annual review of neuroscience* 2001;24:1161–1192 DOI: 10.1146/annurev.neuro.24.1.1161.

- Meinlschmidt G, Heim C: Sensitivity to intranasal oxytocin in adult men with early parental separation. *Biological psychiatry* 2007;61:1109–1111 DOI: 10.1016/j.biopsych.2006.09.007.
- Melhem ER, Mori S, Mukundan G, et al.: Diffusion tensor MR imaging of the brain and white matter tractography. *AJR. American journal of roentgenology* 2002;178:3–16 DOI: 10.2214/ajr.178.1.1780003.
- Meyer-Lindenberg A, Tost H: Neural mechanisms of social risk for psychiatric disorders. *Nature Neuroscience* 2012;15:663–668 DOI: 10.1038/nn.3083.
- Modabbernia A, Rezaei F, Salehi B, et al.: Intranasal oxytocin as an adjunct to risperidone in patients with schizophrenia : an 8-week, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *CNS drugs* 2013;27:57–65 DOI: 10.1007/s40263-012-0022-1.
- Moreno AJ, Klute MM, Robinson JL: Relational and Individual Resources as Predictors of Empathy in Early Childhood. *Social Development* 2008;17:613–637 DOI: 10.1111/j.1467-9507.2007.00441.x.
- Nakamura K, Kawashima R, Ito K, et al.: Activation of the right inferior frontal cortex during assessment of facial emotion. *Journal of neurophysiology* 1999;82:1610–1614 DOI: 10.1152/jn.1999.82.3.1610.
- Olf M, Frijling JL, Kubzansky LD, et al.: The role of oxytocin in social bonding, stress regulation and mental health: an update on the moderating effects of context and interindividual differences. *Psychoneuroendocrinology* 2013;38:1883–1894 DOI: 10.1016/j.psyneuen.2013.06.019.
- Olson IR, McCoy D, Klobusicky E, et al.: Social cognition and the anterior temporal lobes: a review and theoretical framework. *Social cognitive and affective neuroscience* 2013;8:123–133 DOI: 10.1093/scan/nss119.
- Parker G, Tupling H, Brown LB: A Parental Bonding Instrument. *British Journal of Medical Psychology* 1979;52:1–10 DOI: 10.1111/j.2044-8341.1979.tb02487.x.
- Pedersen CA, Gibson CM, Rau SW, et al.: Intranasal oxytocin reduces psychotic symptoms and improves Theory of Mind and social perception in schizophrenia. *Schizophrenia research* 2011;132:50–53 DOI: 10.1016/j.schres.2011.07.027.
- Pidsley R, Zotenko E, Peters TJ, et al.: Critical evaluation of the Illumina MethylationEPIC BeadChip microarray for whole-genome DNA methylation profiling. *Genome biology* 2016;17:208 DOI: 10.1186/s13059-016-1066-1.
- Pincus D, Kose S, Arana A, et al.: Inverse effects of oxytocin on attributing mental activity to others in depressed and healthy subjects: a double-blind placebo controlled fMRI study. *Frontiers in psychiatry* 2010;1:134 DOI: 10.3389/fpsy.2010.00134.

- Pitkow LJ, Sharer CA, Ren X, et al.: Facilitation of Affiliation and Pair-Bond Formation by Vasopressin Receptor Gene Transfer into the Ventral Forebrain of a Monogamous Vole. *J. Neurosci.* 2001;21:7392–7396 DOI: 10.1523/JNEUROSCI.21-18-07392.2001.
- Rich ME, Caldwell HK: A Role for Oxytocin in the Etiology and Treatment of Schizophrenia. *Frontiers in endocrinology* 2015;6:90 DOI: 10.3389/fendo.2015.00090.
- Rilling JK, DeMarco AC, Hackett PD, et al.: Effects of intranasal oxytocin and vasopressin on cooperative behavior and associated brain activity in men. *Psychoneuroendocrinology* 2012;37:447–461 DOI: 10.1016/j.psyneuen.2011.07.013.
- Samartzis L, Dima D, Fusar-Poli P, et al.: White matter alterations in early stages of schizophrenia: a systematic review of diffusion tensor imaging studies. *Journal of neuroimaging : official journal of the American Society of Neuroimaging* 2014;24:101–110 DOI: 10.1111/j.1552-6569.2012.00779.x.
- Sasabayashi D, Takahashi T, Takayanagi Y, et al.: Anomalous brain gyrification patterns in major psychiatric disorders: a systematic review and transdiagnostic integration. *Translational psychiatry* 2021;11:176 DOI: 10.1038/s41398-021-01297-8.
- Sasabayashi D, Takayanagi Y, Takahashi T, et al.: Increased Occipital Gyrification and Development of Psychotic Disorders in Individuals With an At-Risk Mental State: A Multicenter Study. *Biological psychiatry* 2017;82:737–745 DOI: 10.1016/j.biopsych.2017.05.018#.
- Saze T, Hirao K, Namiki C, et al.: Insular volume reduction in schizophrenia. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience* 2007;257:473–479 DOI: 10.1007/s00406-007-0750-2.
- Schiele MA, Domschke K: Epigenetics at the crossroads between genes, environment and resilience in anxiety disorders. *Genes, brain, and behavior* 2018;17:e12423 DOI: 10.1111/gbb.12423.
- Schmahmann JD, Smith EE, Eichler FS, et al.: Cerebral white matter: neuroanatomy, clinical neurology, and neurobehavioral correlates. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2008;1142:266–309 DOI: 10.1196/annals.1444.017.
- Schneider-Hassloff H, Straube B, Jansen A, et al.: Oxytocin receptor polymorphism and childhood social experiences shape adult personality, brain structure and neural correlates of mentalizing. *NeuroImage* 2016;134:671–684 DOI: 10.1016/j.neuroimage.2016.04.009.

- Shamay-Tsoory SG: The neural bases for empathy. *The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry* 2011;17:18–24 DOI: 10.1177/1073858410379268.
- Shamay-Tsoory SG, Fischer M, Dvash J, et al.: Intranasal administration of oxytocin increases envy and schadenfreude (gloating). *Biological psychiatry* 2009;66:864–870 DOI: 10.1016/j.biopsych.2009.06.009.
- Shin NY, Park HY, Jung WH, et al.: Effects of Oxytocin on Neural Response to Facial Expressions in Patients with Schizophrenia. *Neuropsychopharmacol.* 2015;40:1919–1927 DOI: 10.1038/npp.2015.41.
- Simons RL, Lei MK, Beach SRH, et al.: Methylation of the oxytocin receptor gene mediates the effect of adversity on negative schemas and depression. *Development and psychopathology* 2017;29:725–736 DOI: 10.1017/S0954579416000420.
- Smearman EL, Almli LM, Conneely KN, et al.: Oxytocin Receptor Genetic and Epigenetic Variations: Association With Child Abuse and Adult Psychiatric Symptoms. *Child development* 2016;87:122–134 DOI: 10.1111/cdev.12493.
- Smith SM, Nichols TE: Threshold-free cluster enhancement: addressing problems of smoothing, threshold dependence and localisation in cluster inference. *NeuroImage* 2009;44:83–98 DOI: 10.1016/j.neuroimage.2008.03.061.
- Suzuki MM, Bird A: DNA methylation landscapes: provocative insights from epigenomics. *Nature reviews. Genetics* 2008;9:465–476 DOI: 10.1038/nrg2341.
- Takahashi T, Wood SJ, Yung AR, et al.: Insular cortex gray matter changes in individuals at ultra-high-risk of developing psychosis. *Schizophrenia research* 2009;111:94–102 DOI: 10.1016/j.schres.2009.03.024.
- Tomoda A, Sheu Y-S, Rabi K, et al.: Exposure to parental verbal abuse is associated with increased gray matter volume in superior temporal gyrus. *NeuroImage* 2011;54 Suppl 1:S280-6 DOI: 10.1016/j.neuroimage.2010.05.027.
- Tost H, Bilek E, Meyer-Lindenberg A: Brain connectivity in psychiatric imaging genetics. *NeuroImage* 2012;62:2250–2260 DOI: 10.1016/j.neuroimage.2011.11.007.
- Tyborowska A, Volman I, Niermann HCM, et al.: Early-life and pubertal stress differentially modulate grey matter development in human adolescents. *Scientific reports* 2018;8:9201 DOI: 10.1038/s41598-018-27439-5.
- Uher R, Zwicker A: Etiology in psychiatry: embracing the reality of poly-gene-environmental causation of mental illness. *World psychiatry : official journal of the World Psychiatric Association (WPA)* 2017;16:121–129 DOI: 10.1002/wps.20436.
- Unternaehrer E, Meyer AH, Burkhardt SCA, et al.: Childhood maternal care is associated with DNA methylation of the genes for brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and oxytocin receptor (OXTR) in peripheral blood cells in adult men and women. *Stress*

- (Amsterdam, Netherlands) 2015;18:451–461 DOI: 10.3109/10253890.2015.1038992.
- Vogelbacher C, Möbius TWD, Sommer J, et al.: The Marburg-Münster Affective Disorders Cohort Study (MACS): A quality assurance protocol for MR neuroimaging data. *NeuroImage* 2018;172:450–460 DOI: 10.1016/j.neuroimage.2018.01.079.
- Vogeley K, Tepest R, Pfeiffer U, et al.: Right frontal hypergyria differentiation in affected and unaffected siblings from families multiply affected with schizophrenia: a morphometric mri study. *The American journal of psychiatry* 2001;158:494–496 DOI: 10.1176/appi.ajp.158.3.494.
- Weisman O, Zagoory-Sharon O, Feldman R: Oxytocin administration to parent enhances infant physiological and behavioral readiness for social engagement. *Biological psychiatry* 2012;72:982–989 DOI: 10.1016/j.biopsych.2012.06.011.
- Wheater ENW, Stoye DQ, Cox SR, et al.: DNA methylation and brain structure and function across the life course: A systematic review. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 2020;113:133–156 DOI: 10.1016/j.neubiorev.2020.03.007.
- White T, Su S, Schmidt M, et al.: The development of gyrification in childhood and adolescence. *Brain and cognition* 2010;72:36–45 DOI: 10.1016/j.bandc.2009.10.009.
- Wigton R, Radua J, Allen P, et al.: Neurophysiological effects of acute oxytocin administration: systematic review and meta-analysis of placebo-controlled imaging studies. *Journal of psychiatry & neuroscience : JPN* 2015;40:E1-22 DOI: 10.1503/jpn.130289.
- Wigton R, Tracy DK, Verneuil TM, et al.: The importance of pro-social processing, and ameliorating dysfunction in schizophrenia. An fMRI study of oxytocin. *Schizophrenia research. Cognition* 2022;27:100221 DOI: 10.1016/j.scog.2021.100221.
- Wilhelm K, Niven H, Parker G, et al.: The stability of the Parental Bonding Instrument over a 20-year period. *Psychological medicine* 2005;35:387–393 DOI: 10.1017/S0033291704003538.
- Wisner Fries AB, Ziegler TE, Kurian JR, et al.: Early experience in humans is associated with changes in neuropeptides critical for regulating social behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2005;102:17237–17240 DOI: 10.1073/pnas.0504767102.
- Womersley JS, Hemmings SMJ, Ziegler C, et al.: Childhood emotional neglect and oxytocin receptor variants: Association with limbic brain volumes. *The world journal of biological psychiatry : the official journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry* 2020;21:513–528 DOI: 10.1080/15622975.2019.1584331.

- Yamashita K, Kitano T: Molecular evolution of the oxytocin-oxytocin receptor system in eutherians. *Molecular phylogenetics and evolution* 2013;67:520–528 DOI: 10.1016/j.ympev.2013.02.017.
- Yao S, Kendrick KM: Effects of Intranasal Administration of Oxytocin and Vasopressin on Social Cognition and Potential Routes and Mechanisms of Action. *Pharmaceutics* 2022;14:323 DOI: 10.3390/pharmaceutics14020323.
- Zak PJ, Stanton AA, Ahmadi S: Oxytocin increases generosity in humans. *PLoS one* 2007;2:e1128 DOI: 10.1371/journal.pone.0001128.
- Zhou Q, Eisenberg N, Losoya SH, et al.: The relations of parental warmth and positive expressiveness to children's empathy-related responding and social functioning: a longitudinal study. *Child development* 2002;73:893–915 DOI: 10.1111/1467-8624.00446.
- Zilles K, Armstrong E, Schleicher A, et al.: The human pattern of gyrification in the cerebral cortex. *Anatomy and embryology* 1988;179:173–179 DOI: 10.1007/BF00304699.

9 Verzeichnis der akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrenden in Marburg waren die Damen und Herren:

Adamkiewicz, Adarkwah, Alter, Bartsch, Bauer, Bauer, Baum, Baumann, Becker, Becker, Best, Bette, Beutel, Bien, Bliemel, Bösner, Brehm, Carl, Cetin, Czubayko, Daut, Decher, Del Rey, Dettmeyer, Dietz, Discher, Divchev, Dodel, Donner-Banzhoff, Eggert, Eming, Engenhardt-Cabilic, Fendrich, Feuser, Frink, Fritz, Fuchs-Winkelmann, Gallmeier, Garaedts, Geks, Görg, Greene, Gress, Greulich, Grgic, Grimm, Grosse, Grote, Grundmann, Haas, Hertl, Hildebrandt, Hofmann, Holland, Holzer, Hoyer, Jaques, Jerrentrup, Kalder, Kann, Kanngießner, Keil, Kenn, Kill, Kinscherf, Kircher, Kirschbaum, Knake, Koczulla, Köhler, König, Kortus-Götze, Kühnert, Leinweber, Lill, Lohoff, Lüsebrink, Luster, Mahnken, Maier, Maisner, Mandic, Metzelder, Milani, Moll, Moosdorf, Mueller, Müller-Brüsselbach, Mutters, Nenadić, Neubauer, Neumüller, Nimphius, Nimsky, Nonnenmacher, Oberkircher, Oberwinkler, Oertel, Oliver, Opitz, Pagenstecher, Pankuweit, Patrascan, Peterlein, Pfützner, Plant, Portig, Preisig-Müller, Printz, Quint, Ramaswamy, Reese, Renz, Richter, Riera-Knorrenschild, Rinné, Rost, Ruchholtz, Rust, Sahmland, Schäfer, Schäfer, Schieffer, Schindler, Schmidt, Schneider, Schratt, Schu, Schüttler, Seifart, Seitz, Sekundo, Sevinc, Sibai, Sommer, Stahl, Steiniger, Stiewe, Strik, Tackenberg, Teepker, Teymoortash, Thieme, Thum, Timmermann, Timmesfeld, Vogelmeier, Vogt, Wagner, Weihe, Werner, Westermann, Westermann, Wilhelm, Wissniowski, Worzfeld, Wrocklage, Wulf, Zavorotnyy, Zemlin, Zwiorek

10 Danksagung

Ich danke in erster Linie meinem Betreuer, Herrn Univ.-Prof. Dr. Igor Nenadić, der mir stets mit hilfreichen Ratschlägen, sowie einem offenen Ohr für die Sorgen eines Doktoranden, die Last der Arbeit deutlich erleichterte, und ohne dessen Hingabe und Humor ich sie wohl auch nie fertiggestellt hätte.

Natürlich wäre diese Arbeit auch nicht ohne Mittel, Material und Mitarbeiter der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Universitätsklinikums Marburg, unter der Leitung von Univ.-Prof. Dr. med. Tilo Kircher, möglich gewesen, denen ich an dieser Stelle meinen ausdrücklichen Dank aussprechen möchte

Ein ganz besonderer Dank gebührt den übrigen Mitgliedern der FOR2107-Forscherguppe, mit denen ich viele Monate in der Datenakquirierung und -auswertung verbracht habe, was letztendlich zu einer einmaligen Form von Freundschaft und Kollegialität führt. In diesem Rahmen sind F. Fröhlich und E. Holstein hervorzuheben, mit denen ich in die Tiefen der Epigenetik vorgestoßen bin.

Zu guter Letzt danke ich natürlich meiner Familie, meinen Freunden und meinen Kollegen, die mir während der Verfassung dieser Arbeit immer wieder Mut machten und die Hoffnung nie aufgegeben haben.

Letztendlich war die hier vorliegende Arbeit, sowie die darin dargelegten Erkenntnisse, nur dank der Unterstützung so vieler Menschen möglich, dass es nicht möglich wäre, sie hier alle in adäquater Form zu nennen und würdigen.

- Danke! -