

**Aus der Klinik und Poliklinik für
Psychiatrie, Psychosomatik und
Psychotherapie der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. Jürgen Deckert**

**Assoziationsuntersuchung von
ausgewählten Polymorphismen der
Gene *DNMT3A* und *DNMT3B* mit der
Panikstörung**

**Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
vorgelegt von
Ann-Cathrine Berking
aus Goslar**

Würzburg, Dezember 2020

Referent: Prof. Dr. Jürgen Deckert

Korreferentin: Prof. Dr. Brenda Gerull

Dekan: Prof. Dr. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 31.03.2021

Die Promovendin ist Ärztin

Für meine Eltern und meine Großmutter Irene.
Ohne Euch wäre ich nicht dort, wo ich bin.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Eidesstattliche Erklärung	IV
Abkürzungsverzeichnis	V
1. Einleitung	1
1.1. Angststörungen	1
1.1.1 Definition und Einteilung	1
1.1.2. Epidemiologie	2
1.1.3. Komorbidität und Kosten von Angsterkrankungen	5
1.1.4. Ätiologie	6
1.2. Die Rolle der Genetik in der Entstehung psychischer Erkrankungen	7
1.2.1. Einzelnukleotidpolymorphismen	9
1.3. Gen-Umwelt-Interaktionen	10
1.4. Die Rolle der Epigenetik in der Entstehung psychischer Erkrankungen	11
1.5. Die Rolle der DNA-Methyltransferasen bei der Entstehung psychischer Erkrankungen	14
1.5.1. Biochemie und Klassifikation der humanen DNA-Methyltransferasen	15
1.5.2. Assoziation von Einzelnukleotidpolymorphismen der DNA-Methyltransferasen mit psychischen Erkrankungen	18
1.6. Fragestellung und Zielsetzung dieser Arbeit	21
2. Stichproben, Materialien und Methoden	22
2.1 Stichproben	22

2.1.1. Demographische Charakterisierung	22
2.1.2. Psychometrische Charakterisierung	26
2.2. Materialien	28
2.2.1. Kits	28
2.2.2. Medien, Puffer, Enzyme und Primer	28
2.2.3. Primer	29
2.2.4. Selbst hergestellte Puffer	29
2.2.5. Chemikalien	31
2.2.6. Verbrauchsmaterialien	31
2.2.7. Gerätschaften	32
2.2.8. Software	33
2.3. Methoden	35
2.3.1. Blutentnahme	35
2.3.2. DNA-Extraktion aus Vollblut	35
2.3.3. Genotypisierungsmethoden	37
2.3.3.1. Polymerasekettenreaktion	37
2.3.3.2. Restriktionsverdau	39
2.3.3.3. Agarosegelelektrophorese	41
2.3.3.4. Geldokumentation und Auswertung	42
2.3.3.5. KASP TM -Assay	43
2.3.4. Statische Auswertung	46
3. Ergebnisse	48
3.1. <i>DNMT3A</i>	48
3.1.1. Fall-Kontroll-Berechnungen	48
3.1.2. Panikpatienten	51
3.1.3. Gesunde Probanden	54
3.2. <i>DNMT3B</i>	67
3.2.1. Fall-Kontroll-Berechnungen	67
3.2.2. Panikpatienten	70
3.2.3. Gesunde Probanden	73

4. Diskussion	84
5. Zusammenfassung	100
6. Literaturverzeichnis	102
7. Abbildungsverzeichnis	117
8. Tabellenverzeichnis	120

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, die Dissertation “ Assoziationsuntersuchung von ausgewählten Polymorphismen der Gene *DNMT3A* und *DNMT3B* mit der Panikstörung“ selbstständig angefertigt und übernommene Inhalte eindeutig gekennzeichnet zu haben. Zudem versichere ich, dass ich die Gelegenheit zum Promotionsvorhaben nicht kommerziell vermittelt bekommen und die Dissertation ohne zur Hilfenahme eines kommerziellen Promotionsberaters erstellt habe. Darüber hinaus erkläre ich, dass die Regeln der Universität Würzburg über gute wissenschaftliche Praxis eingehalten, die Dissertation nicht zuvor teilweise oder vollständig an einer anderen Fakultät vorgelegt und ich bisher nicht versucht habe einen akademischen Grad zu erwerben. Auch versichere ich das gegen mich kein strafrechtliches Ermittlungsverfahren oder Disziplinarverfahren eingeleitet wurden.

Ort, Datum

Ann-Cathrine Berking

Abkürzungsverzeichnis

nis

ACQ	Agoraphobic Cognitions Questionnaire
AdoMet/SAM	S-Adenosylmethionin
ASI	Anxiety Sensitivity Index
bp	Basenpaare
BDNF	<i>Brain-derived neurotrophic factor</i>
cDNA	komplementäre DNA
COMT	Catechol-O-methyltransferase
ddH ₂ O	<i>aqua bidestillata</i>
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DNMT	DNA-Methyltransferase
dNTPs	Desoxyribonukleosidtriphosphate
FAM TM	6-Carboxyfluorescin
FRET	Förster-Resonanzenergietransfer
CRHR1	<i>Corticotropin-releasing-hormone</i> - Rezeptor 1
GWAS	Genomweite Assoziationsstudie
HEX TM	Hexachlorofluorescin
HPA-Achse	Hypothalamus-Hypophysen- Nebennierenrinden-Achse
ICF-Syndrom	Immundefizit-Centromerinstabilitäts- Gesichtsanomalie-Syndrom
LD	<i>linkage disequilibrium</i> (Kopplungs-

	ungleichgewicht)
Lsg.	Lösung
MAF	<i>Minor</i> -Allel-Frequenz
MAO-A	Monoaminoxidase-A
miRNA	Mikro-RNA
mRNA	<i>Messenger</i> -RNA
NPSR	Neuropeptid-S-Rezeptor
PCR	Polymerasekettenreaktion
PD	Panikstörung
pH	Protonenaktivitätsexponent
PTBS	Posttraumatische Belastungsstörung
RNA	Ribonukleinsäure
ROX	5-Carboxy-X-Rhodamin, N-Succinimidylester
PSWQ	Penn State Worry Questionnaire
qPCR	Real-Time-quantitative PCR
rpm	Umdrehungen pro Minute
rs	Referenz- Einzelnukleotidpolymorphismus
SAM	S-Adenosylmethionin
SD	Standardabweichung
SNP	Einzelnukleotidpolymorphismus
U	Einheiten
UTR	untranslatierter Bereich

YLD

Years lived with disability

ZNS

Zentrales Nervensystem

1. Einleitung

1.1. Angststörungen

1.1.1 Definition und Einteilung

Den Angststörungen eigen sind Symptome der Angst und Furcht als Reaktionen gegenüber nicht realen Bedrohungen. Diese führen zu einer Einschränkung der Lebensqualität (Dilling, 2006).

Angst ist in der Regel eine diffuse ungerichtete Emotion, welche sich auf mögliche zukünftige Bedrohungen bezieht (American Psychiatric Association, 2013). Klinisch zählen hierzu die Panikstörung und die Generalisierte Angststörung. Furcht hingegen ist auf bestimmte gegenwärtige Situationen gerichtet (American Psychiatric Association, 2013). Klinisch zählen hierzu die Agoraphobie, die Soziale Phobie und die Spezifischen Phobien.

Die kategoriale Einteilung der Angststörungen in den beiden maßgeblichen Klassifikationssystemen, dem Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition (DSM-IV) (in der deutschen Bearbeitung von Saß (Saß, 2003)) und dem International Classification of Disease, Tenth Edition (ICD-10) (World Health Organisation, 1992), ist weitestgehend ähnlich. 2013 erschien das DSM-5, die überarbeitete Version des DSM-IV. In dieser Arbeit beziehen sich Diagnostik und psychometrische Testungen auf den DSM-IV, da die Probandenrekrutierung vor 2013 begonnen wurde.

In dem ICD-10-System sind die Angststörungen im Kapitel V unter Neurotische, Belastungs- und Somatoforme Störungen zu finden und in Phobische Störungen (Kodierung: F40) sowie andere Angststörungen (Kodierung: F41) eingeteilt (Dilling, 2006). Die Phobischen Störungen umfassen in dieser Klassifikation die Agoraphobie mit (F40.01) und ohne Panikstörung (PD) (F40.00), die Sozialen Phobien (F40.1), Spezifische Phobien (F40.2), sonstige Phobische Störungen (F40.8) sowie die nicht näher bezeichneten Phobischen Störungen (F40.9) (Dilling, 2006). Die Gruppe der anderen Angststörungen wird untergliedert in die Panikstörung (F41.0), deren individuelle Schwere zudem mit mittelgradig (F41.00) oder schwer (F41.01) codiert werden kann, in die Generalisierte

Angststörung (F41.1), in Angst und Depression, gemischt (F41.2), sowie in andere Gemischte Angststörungen (F41.3), sonstige Spezifische Angststörungen (F41.8) und in nicht näher bezeichneten Angststörungen (F41.9) (Dilling, 2006).

Im amerikanischen Klassifikationssystem, dem DSM-IV, weicht die Einteilung der Angststörungen geringfügig von der der ICD-10 ab. So fallen die Zwangsstörungen (300.3), die Posttraumatische Belastungsstörung (309.81), die Akute Belastungsreaktion (308.3), die Angststörung aufgrund eines medizinischen Krankheitsfaktors (293.84) und auch die Substanzinduzierte Angststörung (293.89) ebenfalls unter die Kategorie der Angststörungen (Saß, 2003). Die Diagnose Agoraphobie wird im DSM-IV zudem erweitert um Agoraphobie ohne Panikstörung in der Vorgeschichte (300.22) (Saß, 2003). Agoraphobie allein stellt keine kodierbare Erkrankung dar.

Die 2013 erschienene Version DSM-5 zählt auch die Störung mit Trennungsangst (F93.0) und den Selektiven Mutismus (F94.0) zu den Angststörungen (Falkei, 2015). Darüber hinaus zählen die Posttraumatische Belastungsstörung (F43.10), die Akute Belastungsstörung (F43.0) wie auch die Zwangsstörungen (F42) nicht mehr länger zur Gruppe der Angststörungen (Craske et al., 2017). Die Agoraphobie (F40.00) ist im DSM-5 ohne Zusatzbezeichnung zu kodieren und die Spezifischen Phobien erhalten je nach phobischem Stimulus eine eigenständige Kodierung (Falkei, 2015). Eine Dichotomie der Panikstörung in einen Typ mit und einen Typ ohne Agoraphobie entfällt (Falkei, 2015).

1.1.2. Epidemiologie

Unter allen psychischen Störungen stellen die Angsterkrankungen in den meisten westlichen Staaten die größte Gruppe der psychischen Erkrankungen dar (Baxter, Scott, Vos & Whiteford, 2013; Craske et al., 2017; Kessler, Ruscio, Shear & Wittchen, 2010; Wittchen et al., 2011). Die World Health Organisation schätzt, dass 3,6 % der Weltbevölkerung, und damit 264 Millionen Menschen, 2015 an einer Angsterkrankung litten (World Health Organization, 2017). Die

weltweite 12-Monats-Prävalenz für das Auftreten einer Angsterkrankung liegt laut Baxter und Mitarbeitern bei 11,6 %, sowie die Punktprävalenz bei 7,3 % (Baxter et al., 2013). Vor allem in den westlichen Industrieländern, aber auch in den Schwellenländern, liegen die Angsterkrankungen somit weltweit an der Spitze aller psychischen Störungen (Baxter et al., 2013). Kessler und Mitarbeiter bestätigen, dass die Angsterkrankungen den Großteil psychischer Leiden ausmachen und geben eine globale Lebenszeitprävalenz für Angsterkrankungen von 4,8-31,0 % an (Kessler et al., 2007).

In der Europäischen Union liegt laut Wittchen und Mitarbeitern die 12-Monats-Prävalenz für Angststörungen bei 14 %, dies entspricht 61,5 Millionen betroffenen Menschen (Wittchen et al., 2011). In Europa ist die Angsterkrankung anhand dieser Zahlen ebenfalls die häufigste psychische Erkrankung (Wittchen et al., 2011). Unter allen Angsterkrankungen sind in Europa die spezifischen Phobien am stärksten vertreten (Jacobi et al., 2014; Wittchen et al., 2011).

In der deutschen Allgemeinbevölkerung schätzen Jacobi und Mitarbeiter die 12-Monats-Prävalenz für Angststörungen auf 15,3 % und die Anzahl der innerhalb von 12 Monaten erkrankten Personen auf 9,8 Millionen Menschen (Jacobi et al., 2014).

Die Lebenszeitprävalenz der Panikstörung mit und ohne Agoraphobie wird in den westlichen Staaten auf 1 bis 4 % geschätzt (Kessler et al., 2006; Somers, Goldner, Waraich & Hsu, 2006).

Zu beobachten ist ein sowohl für die Welt- als auch für die europäische und deutsche Bevölkerung beschriebener geschlechtsspezifischer Unterschied in der Prävalenz von Angsterkrankungen. Frauen erkranken 2 bis 2,5fach häufiger an einer Angststörung als Männer (Baxter et al., 2013; Jacobi et al., 2014; Wittchen et al., 2011).

Auch der kulturelle Hintergrund scheint Einfluss auf die Prävalenzen der Angsterkrankungen zu nehmen. So ergeben sich Hinweise, dass die Populationen Westeuropas, Nordamerikas sowie Australasiens verglichen mit der restlichen Weltbevölkerung ein um 20-50 % erhöhtes Risiko aufweisen, an einer Angststörung zu erkranken (Baxter et al., 2013). Baxter und Mitarbeiter beschreiben zudem eine Häufung von Angsterkrankungen in Industrie- und

Schwellenländern. Jedoch weisen sie daraufhin, dass dem bisher nicht ausreichend untersuchtem relativen Einkommen innerhalb einer Gesellschaft womöglich ein großer Einfluss auf die Prävalenzrate zuzusprechen ist (Baxter et al., 2013). Darüber hinaus ist die Prävalenz der Angsterkrankungen wohl zusätzlich moduliert durch das Vorhandensein gewaltsamer Konflikte und dem Wohnort (ländlich vs. Stadt) (Baxter et al., 2013). Auch diesbezüglich ist zur Bestätigung dieser Annahmen die Erfassung weiterer Daten notwendig.

Das Alter der Erstmanifestation einer Angsterkrankung ist über die oben beschriebenen Populationen recht homogen verteilt. So umfassen Kindheit und Jugend die prägnantesten Phasen für die Entstehung einer Angsterkrankung (Beesdo, Knappe & Pine, 2009). Betrachtet man jedoch einzelne Störungsbilder, ergeben sich teilweise starke Unterschiede im Ersterkrankungsalter. Die Trennungsangst (nach dem DSM-5 zu den Angsterkrankungen zählend), sowie auch einige Typen der Spezifischen Phobien, wie beispielsweise der Tier- oder auch der Blut-Spritzen-Verletzungs-Typ, treten vermehrt bereits vor dem 14. Lebensjahr (Kessler et al., 2007) bzw. vor dem 18. Lebensjahr (Beesdo et al., 2009) in Erscheinung. Auch die Sozialen Phobien betreffen am häufigsten Jugendliche oder junge Erwachsene und treten mit zunehmendem Alter seltener auf (Falkei, 2015). Die Generalisierte Angststörung, die Panikstörung und die Posttraumatische Belastungsstörungen entwickeln sich gehäuft erst im Erwachsenenalter (Kessler et al., 2007). Vor allem die Generalisierte Angststörung scheint vornehmlich eine Erkrankung des höheren Alters mit einer Erstmanifestation nach dem 50. Lebensjahr zu sein (Zhang et al., 2015), wohingegen die Posttraumatische Belastungsstörung, wie auch die Agoraphobie, eher Personen im jungen Erwachsenenalter zu betreffen scheinen (Falkei, 2015; Wittchen et al., 2011). Die Prävalenzrate der Panikstörung steigt in der Adoleszenz an, erreicht ihr Maximum im Erwachsenenalter, und fällt im höheren Alter ab (Falkei, 2015). Das mittlere Erkrankungsalter der Panikstörung wird weltweit auf 32 Jahre geschätzt (de Jonge et al., 2016).

1.1.3. Komorbidität und Kosten von Angsterkrankungen

Angsterkrankungen weisen ein hohes Risiko für die Entwicklung psychischer, aber auch somatischer Komorbiditäten auf (Jacobi et al., 2014; Kaufman & Charney, 2000). Kaufmann und Charney geben an, dass etwa 90 % der Angstpatienten an einer weiteren psychischen Erkrankung leiden (Kaufman & Charney, 2000). Am häufigsten mit einer Angststörung vergesellschaftet sind Depression, gefolgt von Substanzmissbrauch und Suchterkrankungen (Craske et al., 2017). Auch der Missbrauch von Alkohol und der Konsum von Tabak zeigen eine hohe epidemiologische Assoziation mit Angsterkrankungen (Craske et al., 2017). Jedoch lassen die derzeitig vorliegenden Studienergebnisse keine Aussage über die Kausalität dieser Assoziation zu (Craske et al., 2017; Moylan, Jacka, Pasco & Berk, 2012). Beschrieben wird auch eine erhöhte Mortalität von Angstpatienten, welche auf eine ebenfalls erhöhte Suizidrate zurückgeführt wird. Dabei scheint besonders die Assoziation mit Depressionen die erhöhte Mortalität zu erklären (Craske et al., 2017; Saeed Mirza, Ikram, Hofman & Tiemeier, 2015). Mit der Angststörung assoziierte somatische Erkrankungen sind im Besonderen kardiovaskuläre Erkrankungen, das metabolische Syndrom, Asthma und Arthritis (Carroll et al., 2009; Holt et al., 2013; Kessler, Alonso, Chatterji & He, 2014; Kyrou et al., 2017). Der Assoziation zwischen somatischen Erkrankungen und der Angststörung scheinen unter anderem biologische Faktoren und soziale Folgen der Angststörungen zu Grunde zu liegen (Carroll et al., 2009; Kessler et al., 2014; Kyrou et al., 2017).

Eine Sonderstellung nehmen die Spezifischen Phobien ein, da in der Regel eine Kontaktvermeidung zu dem angstbezogenen Objekt gut mit dem Alltag zu vereinbaren ist, und die Patienten somit oft weniger Einschränkungen als andere Angstpatienten erfahren.

Angsterkrankungen weisen unbehandelt so eine hohe Chronizität auf (Schiele & Domschke, 2017). Es wird je nach Literaturangabe geschätzt, dass nur etwa 23 % bis 40 % aller Patienten eine Spontanremission erleben (Craske et al., 2017). Persönliche Folgen einer Angsterkrankung, die die eigene Lebensqualität reduzieren und die Erfüllung der eigenen gesellschaftlichen Rolle verhindern, reichen von einer Beeinträchtigung des akademischen Abschneidens über einen

verminderten Erfolg im Berufsleben mit Arbeitslosigkeit/Unterbeschäftigung bis hin zu interaktionellen Problemen mit Bezugspersonen in Ehe, Familie und Freundeskreis (Craske et al., 2017; Kawakami et al., 2012; Kessler et al., 2014). Am Ende all dieser Krankheitsfolgen können die Einengung des persönlichen Aktionsradius, Einsamkeit, finanzielle Belastungen und der soziale Rückzug stehen (Kessler et al., 2014)

Die beschriebenen Belastungen spiegeln sich in den Daten der World Health Organisation wider. Laut WHO besetzen die Angststörungen seit 2000 bis 2015 bezüglich der *Years lived with disability* (YLD) global unter allen Erkrankungen Platz 6 (World Health Organization, 2017). 2010 lag die Rate weltweit bei 390 YLD pro 100 000 Menschen (Baxter, Vos, Scott, Ferrari & Whiteford, 2014).

Auch sind die sozialmedizinischen Folgekosten, die durch Angststörungen generiert werden, erheblich. 2010 verursachten Angsterkrankungen in der Europäischen Union Kosten von 74,38 Milliarden Euro und machten somit 9,3 % der Gesamtkosten aus, die durch psychische und neurologische Erkrankungen in den Mitgliedsstaaten entstanden sind (Olesen, Gustavsson, Svensson, Wittchen & Jonsson, 2012; Schiele & Domschke, 2017).

1.1.4. Ätiologie

Die Pathogenese der Angsterkrankungen wird aus heutiger Sicht am besten durch das multifaktorielle Vulnerabilitäts-Stress-Modell abgebildet (Gottschalk & Domschke, 2016; Schiele & Domschke, 2017; Smoller, 2016). Dieses Modell besagt, dass die individuelle Vulnerabilität gegenüber Angsterkrankungen geprägt ist durch biologische Faktoren, wie zum Beispiel die genetische Ausstattung, psychosoziale Faktoren, wie beispielsweise biographische Eigenheiten und Umwelteinflüsse beziehungsweise Stressoren (Domschke, 2014). Ob die individuelle Vulnerabilität zu einer Angsterkrankung führt, hängt zum einen von dem Ausmaß der sich summierenden Vulnerabilitätsfaktoren, und zum anderen von notwendigen Stressoren ab, die als auslösende Bedingungen anzusehen sind. Solch ein Stressor kann beispielsweise psychosozialer Natur (z.B. Tod eines geliebten Menschen) oder auch eine schwere somatische

Erkrankung sein. Sie werden in der Literatur als kritische Lebensereignisse (*stressful life events*) bezeichnet und stellen einen subjektiven Einschnitt in das eigene Leben dar (McLaughlin & Hatzenbuehler, 2009). Als Vermittler zwischen den Vulnerabilitätsfaktoren und den Stressoren gelten die Gen-Umwelt- und die Epigenetik-Umwelt-Interaktionen, diese wirken sinnbildlich wie eine Brücke zwischen der individuellen Vulnerabilität und den äußeren Einflüssen (Schiele & Domschke, 2017; Smoller, 2016; Zannas & Chrousos, 2017).

Nicht zu vernachlässigen sind nach Ausbruch einer Angsterkrankung aufrechterhaltende Mechanismen, welche etwa interpersoneller (positive Verstärkung) oder intrapsychischer (fehlerhafte Copingstrategien) Natur sind, aber auch durch psychiatrische Komorbiditäten bedingt sein können (Clark, 1999; Norton & Abbott, 2017).

In den Kapiteln 1.2. und 1.3. werden die Rolle der Genetik, das Zusammenspiel von Vulnerabilität und Umwelt und ihre Vermittlung durch die Epigenetik im Einzelnen beschrieben.

1.2. Die Rolle der Genetik in der Entstehung psychischer Erkrankungen

Klinisch-genetische Untersuchungsmethoden dienen dazu zu untersuchen, ob genetische Varianten einen Einfluss auf die Entstehung von Angsterkrankungen haben, wie groß dieser ist, und ob er durch Umwelteinflüsse weiter beeinflusst wird. Innerhalb dieses Forschungsfeldes stehen unter anderem folgende Studiendesigns zu Verfügung:

So wird durch Zwillingsstudien die Konkordanz einer Angststörung bei monozygoten im Vergleich zu dizygoten Zwillingen bestimmt, um eine Aussage über die Heritabilität einer Erkrankung treffen zu können (Shimada-Sugimoto, Otowa & Hettema, 2015; Smoller, 2016). Im Bereich der Angsterkrankungen wird die Heritabilität auf 30 bis 40 % (Craske et al., 2017) bzw. auf bis zu 50 % (Shimada-Sugimoto et al., 2015) geschätzt. Die Konkordanzrate der Angsterkrankungen ist ca. um das 2-3fache bei monozygoten im Gegensatz zu dizygoten Zwillingen erhöht (Domschke & Deckert, 2007). Hettema und

Mitarbeiter beschreiben eine 4-6fach erhöhte Konkordanzrate (Hettema, Neale & Kendler, 2001). Die Panikstörung weist eine Heritabilität von ca. 48 % auf (Hettema et al., 2001) und die Konkordanzrate für eineiige scheint im Gegensatz zu der für zweieiige Zwillinge bezüglich der PD um das 2-3fache erhöht zu sein (Domschke & Deckert, 2007).

Mittels Familienstudien wird die Prävalenz für Angsterkrankungen bei Angehörigen von Angstpatienten mit der Prävalenz von Personen, die keine Verwandtschaft mit Angstpatienten aufweisen, verglichen. So wird getestet, wie die genetischen Einflüsse und die familiäre Umwelt die Auftretswahrscheinlichkeit von Angsterkrankungen bedingen (Domschke & Deckert, 2007). Hier zeigt sich ein 2-3fach höheres Risiko für Verwandte 1. Grades eines Angstpatienten, ebenfalls zu erkranken (Domschke & Deckert, 2007). Für die Panikstörung wird ein 3fach erhöhtes Risiko beschrieben (Domschke & Deckert, 2007).

Letztlich haben die klinisch-genetischen Untersuchungen keinen klaren Mendelschen Erbgang ergeben, so dass man heute von einem komplexen oder polygenen Erbgang bei Angsterkrankungen ausgehen.

Molekulargenetische Untersuchungen dienen dazu, den Beitrag einzelner Gene zur Entstehung von Erkrankungen zu definieren.

Anhand von Kopplungsuntersuchungen wird untersucht, inwiefern innerhalb einer Familie bei erkrankten Personen bestimmte genetische Marker zusammen vererbt werden. Es lassen sich durch dieses Vorgehen Risikoloci finden (Domschke & Deckert, 2007). Diese Methode ist vor allem bei monogenetischen Erkrankungen mit großem Beitrag einzelner Gene zielführend. Gene mit einem geringen Beitrag bei polygenetischem Erbgang bleiben eher unbeachtet (Smoller, 2016). Entsprechend gibt es bei Angsterkrankungen keine eindeutig replizierten Befunde mit diesem Ansatz.

Mit Hinblick auf das polygenetische Erklärungsmodell der Angststörungen ist die aussichtsreichere Untersuchungsform daher die genetische Assoziationsstudie. Hier wird überprüft, ob bestimmte Genvarianten häufiger in gesunden Probanden als in erkrankten zu finden sind und umgekehrt (Smoller, 2016). Das heißt, es wird untersucht, ob eine Assoziation, sei sie negativ oder positiv, mit der

Erkrankung vorhanden ist. Im Rahmen der Angststörungen konnten durch genetische Assoziationsstudien beispielsweise Assoziationen mit Polymorphismen von Genen der monoaminergen Transmission beschrieben werden (Bandelow et al., 2016; Shimada-Sugimoto et al., 2015).

Ziel vieler genetischer Studien ist die Schaffung einer soliden Datenlage, um mit Hilfe dieser zukünftig einen polygenetischen Risiko-Score zu ermitteln. Dieses soll ermöglicht werden, indem genetische Assoziationsstudien auf das Level der genomweiten Assoziationsstudien gehoben werden (Deckert et al., 2017; Erhardt et al., 2011; Otowa et al., 2016; Plomin, Haworth & Davis, 2009).

In dieser Arbeit wurde eine genetische Assoziationsstudie zur Untersuchung verschiedener Genvarianten von Einzelnukleotidpolymorphismen genutzt und die erzielten Ergebnisse an Replikationsstichproben überprüft, um falsch-positive Ergebnisse zu vermeiden.

1.2.1. Einzelnukleotidpolymorphismen

Wenn sich Genomsequenzen nur durch einzelne Nukleotide unterscheiden, spricht man von Einzelnukleotidpolymorphismen (*single nucleotide polymorphisms*, SNPs). SNPs stellen die häufigste Form von genetischer Variation im humanen Genom dar. An etwa jeder 1000ten Stelle im humanen Genom ist ein Einzelnukleotidpolymorphismus zu finden (Auton et al., 2015). Schätzungsweise unterscheidet sich die Genomsequenz zweier nicht verwandter Menschen um ca. 3 Millionen SNPs (Knippers, 2015). Stammen beide Individuen aus einer kleineren Population, sinkt die Anzahl der differenten SNPs. Heute wird davon ausgegangen, dass in der gesamten menschlichen Population über 50 Millionen (Knippers, 2015) bis ca. 85 Millionen (Auton et al., 2015) verschiedene SNPs vorkommen. Sie entstehen durch Punktmutationen, die beispielsweise durch Fehler während der Desoxyribonukleinsäure-(DNA)-Reparatur oder während der Replikation entstehen (Knippers, 2015).

Einige Einzelnukleotidpolymorphismen haben einen Einfluss auf die Ausbildung des Phänotyps und sind somit an der Entstehung von Erkrankungen (Kwok & Chen, 2003) beteiligt. Dies ist durch verschiedene Mechanismen möglich. So gibt

es kodierende SNPs, die direkt die Funktion des Genproduktes beeinflussen. Die meisten im menschlichen Genom zu findenden Einzelnukleotidpolymorphismen haben jedoch keine kodierende Eigenschaft und zählen zu den nicht-kodierenden SNPs. Sie sind dennoch nicht zwingend funktionslos, denn es besteht die Möglichkeit, dass diese Einzelnukleotidpolymorphismen die Genexpression auf dem Level der Transkription, Translation oder auch des *splicing* modifizieren, oder das Methylierungsmuster verändern (Risch, 2000).

Auch nicht kausale SNPs sind für die genetische Forschung von großer Bedeutung, da aufgrund des Kopplungsungleichgewichts (*linkage disequilibrium*, LD) SNPs zusammen mit anderen genetischen Varianten vererbt werden, die mit Erkrankungen assoziiert sein können (Risch, 2000). Einzelnukleotidpolymorphismen können somit als genetische Marker für bestimmte Phänotypen fungieren. Mittels dieses Vorgehens konnten bereits grundlegende Gene für die Entwicklung der Alzheimer-Krankheit und Migräne gefunden werden (Roses, 2000).

1.3. Gen-Umwelt-Interaktionen

Wie zuvor erwähnt haben Zwillingsstudien gezeigt, dass Umwelteinflüsse neben der genetischen Ausstattung eines Individuums die Ausbildung einer Angsterkrankung bedingen. Um die Interaktion von Umwelt und Genom besser zu verstehen, haben bereits mehrere Studien das Zusammenspiel dieser beiden Faktoren untersucht. Hierzu konzentrierten sich die Studiendesigns auf Kandidatengene, welche aufgrund ihrer biologischen Funktion Teil der Gen-Umwelt-Interaktion sein könnten. Es konnten so beispielsweise Wechselbeziehungen zwischen Umwelteinflüssen und Polymorphismen innerhalb von Genen der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HPA-Achse), wie der *Corticotropin-releasing-hormone- Rezeptor 1 (CRHR1)*, der *Neuropeptid-S-Rezeptor (NPSR)*, der Wachstumsfaktor *BDNF (Brain-derived neurotrophic factor)* oder der Serotoninrezeptoren (wie beispielsweise das *HTR1A- Gen*) gefunden werden (Klauke et al., 2014; Shimada-Sugimoto et al., 2015). Gehäuft ergaben sich Hinweise auf eine Interaktion negativer

Lebensereignisse im Kindesalter (wie z.B. Misshandlung oder Verlust- und Separationserlebnisse) und dem Genom (Bandelow et al., 2016; Craske et al., 2017).

Bisher liegen keine Daten genomweiter Untersuchungen von Gen-Umwelt-Interaktionen vor.

1.4. Die Rolle der Epigenetik in der Entstehung psychischer Erkrankungen

Die Bedeutung des Begriffes "Epigenetik" hat sich in den letzten 60 Jahren mit neuen Forschungsergebnissen und einem besseren Verständnis der Genfunktion stark gewandelt. 1996 beschrieben Riggs und Mitarbeiter epigenetische Mechanismen wie folgt: "*The study of mitotically and/or meiotically heritable changes in gene function that cannot be explained by changes in DNA sequence*" (Riggs, Martienssen & Russo, 1996). Wu und Morris definierten die Epigenetik 2001 als "*the study of changes in gene function that are mitotically and/or meiotically heritable and that do not entail a change in DNA sequence*" (Wu & Morris, 2001).

Verschiedene epigenetische Mechanismen führen zur Schaffung des Epigenoms, welches die Gesamtheit aller epigenetischen Informationen eines Individuums darstellt und die Genfunktion moduliert. Alle Zellen des menschlichen Körpers stammen von der Zygote ab und beinhalten daher, bis auf einige Ausnahmen, die gleiche DNA-Sequenz. Welchen Phänotyp sie jedoch im Laufe der Entwicklung einnehmen, wird durch epigenetische Mechanismen entschieden (Jurkowska, Jurkowski & Jeltsch, 2011). Obwohl die so entstandenen epigenetischen Muster bei Zellteilungen in der Regel an die Tochterzelle weitergegeben werden (Walter, 2015), sind sie nicht statisch, sondern durch negative Umwelteinflüsse wie beispielsweise Stress im frühen Lebensalter oder Misshandlung (Domschke, 2012) und positive Umwelteinflüsse wie Psychotherapie (Ziegler et al., 2016) veränderbar. Sie stellen eine Brücke zwischen dem Genom und der Umwelt dar und bestimmen maßgeblich, welche genetischen Informationen zum Tragen kommen (siehe Abbildung 1). Da bei

Entstehung von Angsterkrankungen Umweltfaktoren beteiligt sind, kommt der Epigenetik an dieser Stelle eine wichtige Rolle zu.

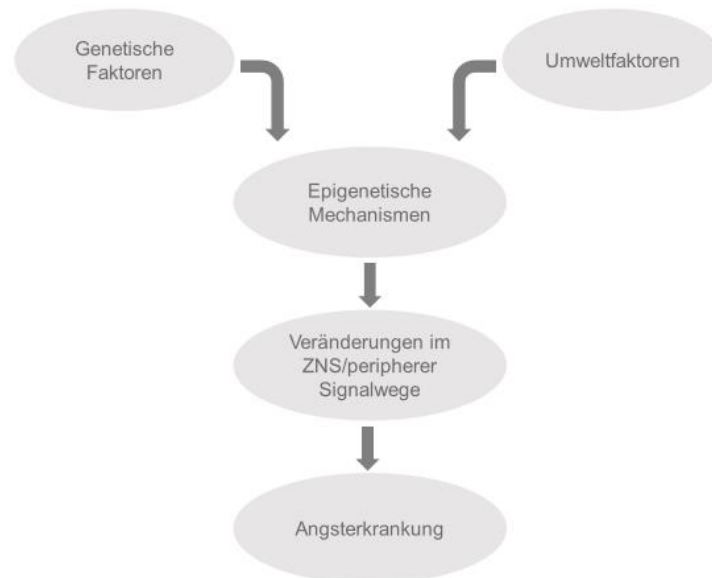


Abbildung 1: Arbeitshypothese der Ätiologie psychischer Erkrankungen (selbst erstellt in Anlehnung an: (Bandelow et al., 2017; Craske et al., 2017; Issler & Chen, 2015; Klauke et al., 2014; Schiele & Domschke, 2017; Smoller, 2016)).

Im Bereich der Angsterkrankungen konnten Hinweise auf veränderte epigenetische Muster bei Angstpatienten gefunden werden. So zeigten Individuen, die unter einer Panikstörung litten, eine vermehrte *MonoaminoxidaseA-* (*MAOA*) wie auch *Glutamatdecarboxylase 1-* (*GAD1*) Gen-Hypomethylierung (Domschke et al., 2013; Ziegler et al., 2016). Zudem liegen Hinweise auf veränderte Methylierungsmuster von Genen vor, die in Verdacht stehen, an neuronalen Netzwerken beteiligt zu sein, die durch Stress aktiviert werden. Dazu zählen Gene des Noradrenalintransportes oder auch der HPA-Achse (Shimada-Sugimoto et al., 2015). Sie könnten somit die Entstehung von Angst und Angstsymptomen triggern.

Da das Epigenom eine dynamische Einheit ist, ist es für die Forschung von Bedeutung zu klären, wie die Epigenetik die Ausbildung psychischer Erkrankungen beeinflusst, und wie dieser Einfluss von außen z.B. mittels Psychotherapie oder Psychopharmaka modifiziert werden kann.

Alle epigenetischen Mechanismen führen zu reversiblen Modifikationen der Histone oder der DNA ohne die Nukleotidsequenz zu verändern (Walter, 2015). Dies zieht Veränderungen in der Transkription, DNA-Reparatur, Replikation, Rekombination und anderer das Genom-regulierender Mechanismen nach sich. Zu den epigenetischen Mechanismen zählen zum einen die Histonmodifikationen. Enzyme regulieren beispielsweise über die Methylierung, Acetylierung, Phosphorylierung oder auch Ubiquitinierung von Histonen das Vorliegen von Chromatinabschnitten als Euchromatin oder Heterochromatin (Walter, 2015). Regulatorische RNAs (Ribonukleinsäuren) greifen zudem in die epigenetische Regulation der Genfunktion ein und bestimmen so unter anderem die DNA- und RNA-Expression mit (Luoni & Riva, 2016). Eine weitere Möglichkeit die Genfunktion epigenetisch zu steuern ist die DNA-Methylierung, welche im nächsten Abschnitt näher beschreiben wird.

Durch DNA-Methyltransferasen wird im menschlichen Genom vornehmlich Cytosin an seiner C5-Position in Cytosin-Guanin-Dinukleotid-Sequenzen (CpG-Stellen) methyliert (Schuebel, Gitik, Domschke & Goldman, 2016). Die Methylgruppe ist in der großen Furche der DNA-Doppelhelix lokalisiert und stört somit nicht die Basenpaarung, während gleichzeitig DNA-interagierenden Proteinen der Zugang zu den Methylgruppen gewährleistet wird (Jurkowska et al., 2011). Die Methylierungsmuster der DNA sind in der Regel zelltypspezifisch und oft in regulatorischen Bereichen wie Bindestellen für *Enhancer* oder auch Promotern zu finden (Walter, 2015). Wenn die CpG-Stellen in einem Sequenzabschnitt in einer erhöhten Dichte vorkommen, werden diese Abschnitte CpG-Inseln genannt. Diese "Inseln" befinden sich gehäuft in Promotorregionen und sind in der Regel kaum methyliert. Im Rahmen von Erkrankungen können die Methylierungsmuster von CpG-Inseln verändert sein, wie z.B. bei der Panikstörung (Domschke et al., 2013), oder auch bei somatischen Erkrankungen. So werden bei einigen Krebsarten durch Hypermethylierung Tumorsuppressorgene stillgelegt (Sproul & Meehan, 2013), da Methylierung in der Promotorregion in der Regel zur transkriptionellen Stilllegung eines Genes führt (Walter, 2015). Hypomethylierung dahingegen ermöglicht den Zugang für transkriptionelle Faktoren zur DNA.

1.5. Die Rolle der DNA-Methyltransferasen bei der Entstehung psychischer Erkrankungen

DNA-Methyltransferasen (DNMTs) vermitteln mit Unterstützung weiterer Faktoren die Methylierung der DNA. Die Wichtigkeit dieser Enzyme v.a. in der Entwicklung eines Organismus wird ersichtlich, wenn man die kurze Lebensdauer von embryonalen Mäusestammzellen mit *DNMT*-Mutationen, betrachtet (Li, Bestor & Jaenisch, 1992; Okano, Bell, Haber & Li, 1999). Auch beim Menschen kann es durch einen autosomal rezessiven Erbgang zu einer Minderaktivität der DNA-Methyltransferase-3B und somit zu einer Hypomethylierung des Genoms kommen (Ehrlich, 2003; Hagleitner et al., 2008). Das Resultat der Hypomethylierung ist das schwere Immundefizit-Centromerinstabilitäts-Gesichtsanomalie-Syndrom (ICF-Syndrom). Mutationen im *DNMT3A*-Gen können zum sogenannten Tatton-Brown-Rahman-Syndrom (mentale Retardierung, faziale Dysmorphie, erhöhte Körpergröße) oder auch gehäuft zu akuter myeloischer Leukämie führen (Abdel-Wahab & Levine, 2013; Tatton-Brown et al., 2014; Tatton-Brown et al., 2018).

Da DNMTs Methylierungsmuster bilden, welche bei psychischen Erkrankungen verändert vorkommen können (Schuebel et al., 2016; Ziegler et al., 2015; Ziegler et al., 2016), haben sich einige Studien mit der Rolle der DNA-Methyltransferasen in der Entstehung psychischer Erkrankungen befasst.

Murphy und Mitarbeiter beschreiben beispielsweise eine Assoziation von genetischen Variationen im *DNMT3B*-Gen mit Selbstmordversuchen bei Patienten mit psychischen Erkrankungen (Murphy et al., 2013), Elliott und Mitarbeiter sowie Morris und Mitarbeiter konnten zeigen, dass die Expressionsmuster der *DNMT3A* und *DNMT1* das angstähnliche Verhalten von Mäusen beeinflusst (Elliott et al., 2016; Morris, Na, Autry & Monteggia, 2016). Feng und Mitarbeiter sowie Miller und Sweatt beschrieben eine Assoziation der *Dnmt1* und *Dnmt3a* mit der kontextgebundenen Furchtkonditionierung bei Nagetieren. Sipahi und Mitarbeiter konnten eine Assoziation von Methylierungsmustern der *DNMT*-Gene und der Vulnerabilität gegenüber der Posttraumatischen Belastungsstörung aufzeigen (Feng et al., 2010; Miller & Sweatt, 2007; Sipahi et al., 2014). Die genetische Variabilität der *DNMT*-Gene

sowie deren eigene Methylierungsmuster und Genexpression könnten somit zur veränderten Methylierung von anderen Genen beitragen, die zur Entstehung von Angsterkrankungen beitragen und auf diese Weise die Entwicklung dieser Erkrankungsgruppe indirekt mitbestimmen.

1.5.1. Biochemie und Klassifikation der humanen DNA-Methyltransferasen

Säugetier-DNMTs bestehen zum einen aus einem N-terminalen Abschnitt, welcher regulatorisch wirksam ist und der je nach Organismus und DNMT-Funktion sehr variabel sein kann, und zum anderen aus einem C-terminalen Anteil, der die katalytische Einheit des Enzyms aufweist (Jurkowska et al., 2011). Der N-terminale Anteil der DNMTs beeinflusst darüber hinaus die nukleäre Lokalisation des Enzyms und vermittelt die Interaktion der DNMTs mit anderen Proteinen, der DNA und dem Chromatin (Hermann, Gowher & Jeltsch, 2004; Jurkowska & Jeltsch, 2016). Im C-terminalen Teil sind zehn Aminosäure-Motive (I-X) enthalten, die sowohl die DNA-Erkennung und die Kofaktorenbindung, als auch die Katalyse vermitteln (siehe Abbildung 2) (Jurkowska et al., 2011).

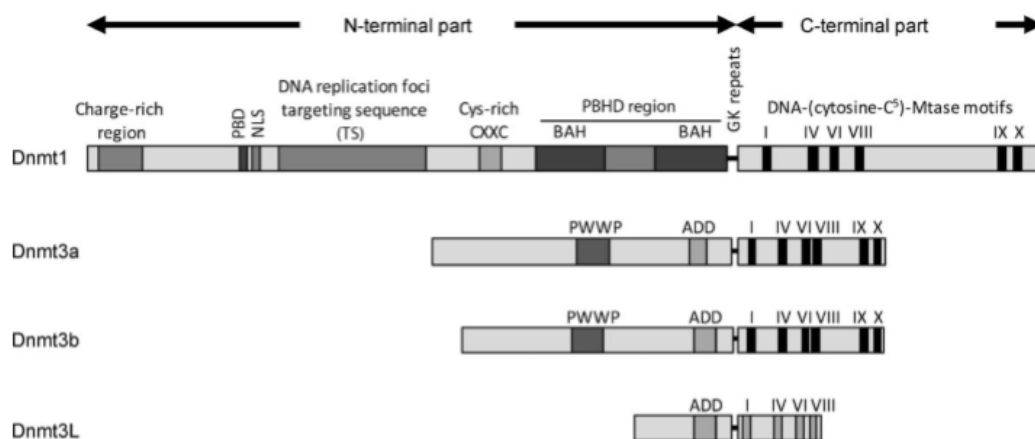


Abbildung 2: Domänenarchitektur der Säugetier-DNMTs aufgeteilt in regulatorischen N- und katalysatorischen C-terminalen Abschnitt nach Jurkowska und Jeltsch (Jurkowska & Jeltsch, 2016; Jurkowska et al., 2011). PBD: PCNA-binding domain, NLS: nuclear localization signal, CXXC: zinc domain, PBHD: polybromo homology domain, BAH: bromo-adjacent homology domain, GK: glycine-lysine repeats, PWWP: PWWP domain, ADD: ATRX-DNMT3-DNMT3L domain.

Der katalytische Anteil der DNMTs sorgt für die Übertragung einer Methylgruppe von dem Kofaktor S-Adenosylmethionin (SAM oder auch AdoMet) auf die C5-

Position eines Cytosins. Um die räumlichen Voraussetzungen für diesen Transfer zu schaffen, drehen die DNMTs ihre Zielbase aus der Doppelhelix in eine hydrophile Enzymtasche (*base-flipping*). Nachdem die Methylgruppe transferiert wurde, kommt es zu einer Deprotonierung am C5-Atom und somit zu einer Freigabe der Zielbase aus der hydrophilen Tasche der DNMT zurück in ihre Doppelhelixposition. (Jurkowska & Jeltsch, 2016).

Derzeit sind fünf humane DNA-Methyltransferasen bekannt. Sie übernehmen unterschiedliche Rollen in der epigenetischen Regulation der Genfunktion (siehe Tabelle 1) und interagieren mit verschiedenen Hilfsfaktoren (Walter, 2015).

Die DNMT1 ist in der Lage, sowohl unmethylierte als auch hemimethylierte CpG *sites* zu methylieren, jedoch ist ihre Affinität und Methylierungsaktivität gegenüber hemimethylierter DNA um ein Vielfaches höher als gegenüber nicht-methylierter (Dan & Chen, 2016). So ist die DNMT1 vornehmlich für die Aufrechterhaltung bereits vorhandener Methylierungsmuster während der Replikation verantwortlich (*maintenance methyltransferase*). Ihr 61791 bp langes Gen ist auf dem kurzen Arm des Chromosom 19 (19p13.2, GRCh38.p7) zu finden und beinhaltet 41 Exons (National Center for Biotechnology Information, 2017a). Genprodukte des *DNMT1*-Gens können in einer Vielzahl menschlicher Gewebe wie auch im Gehirn nachgewiesen werden (The Human Protein Atlas, 2016a). 29 *Splice*-Varianten sind derzeit bekannt, von denen 9 proteinkodierend sind (European Bioinformatics Institute, 2017a).

Zu der DNMT3-Familie zählen die zwei DNMTs 3A und 3B, die beide aktiv unmethylierte DNA methylieren können, sowie die DNMT3L, welche keine eigene Methylierungsaktivität besitzt. Das *DNMT3A*-Gen liegt auf dem kurzen Arm des Chromosom 2 an der Position 2p23.3 (GRCh38.p7), ist 109629 bp lang und beinhaltet 34 Exons (National Center for Biotechnology Information, 2017b). Die RNA- und Proteinexpression des Gens scheint beim Menschen in den meisten Geweben vorzuliegen und ist auch für das Gehirn beschrieben (The Human Protein Atlas, 2016b). Bisher wurden 15 unterschiedliche *Splice*-Varianten entdeckt, von denen 5 für Proteine kodieren (European Bioinformatics Institute, 2017b). Das Gen der *DNMT3B* hingegen liegt auf dem langen Arm des Chromosom 20 (20q11.21, GRCh38.p7), enthält 24 Exons und weist eine Länge

von 46971 bp auf (National Center for Biotechnology Information, 2017c). Auch die RNA- und Proteinexpression des *DNMT3B*-Gens scheint in den menschlichen Gewebetypen sehr weit verbreitet und ist ebenfalls im Gehirn detektiert worden (The Human Protein Atlas, 2016d). Beschrieben sind 6 *Splice*-Varianten, welche alle eine protein-kodierende Funktion aufweisen (European Bioinformatics Institute, 2017c). Da DNMT3A/3B nicht auf einen hemimethylierten Mutterstrang angewiesen sind um Methylierungen auf dem Tochterstrang einzufügen, werden sie als *de novo*-Methyltransferase bezeichnet, die neue Methylierungsmuster etablieren können (Walter, 2015). Wie die DNMT1 weisen beide Enzyme auch eine *Maintenance*-Aktivität auf, welche jedoch auf bestimmte Heterochromatinabschnitte beschränkt ist (Jurkowska et al., 2011). Die zwei *de novo*-Methyltransferasen unterscheiden sich in ihrer Präferenz für bestimmte Genomabschnitte (Walter, 2015). Eine weitere DNMT der Enzymfamilie, die DNMT3L (21q22.3, GRCh38.p7 (National Center for Biotechnology Information, 2017d)) moduliert die Enzymaktivität, Sequenzerkennung und Genomspezifität der DNMT3A und 3B und wird vor allem während der Gametogenese und embryonalen Entwicklung exprimiert (Jurkowska & Jeltsch, 2016; Turek-Plewa & Jagodzinski, 2005; Walter, 2015). Die letzte der DNMTs ist die DNA-Methyltransferase 2. Trotz ihrer Zugehörigkeit zu den DNMTs besitzt die DNMT2 kaum DNA-Methylierungsaktivität. Sie methyliert bevorzugt tRNA (Dan & Chen, 2016).

Tabelle 1: Humane DNMTs und ihre Funktion (Jurkowska & Jeltsch, 2016; Jurkowska et al., 2011; Turek-Plewa & Jagodzinski, 2005; Walter, 2015). DNMT: DNA-Methyltransferase.

DNMT	Funktion
DNMT1	Methylierungsmustererhaltung (<i>maintenance methyltransferase</i>), Hinweis auf geringe <i>de novo</i> -Methylierungsaktivität
DNMT2	geringe DNA-Methylierungsaktivität, methyliert vorwiegend tRNAs
DNMT3A	<i>de novo</i> -Methylierung, Hinweise auf eingeschränkte <i>maintenance</i> -Aktivität

DNMT3B	<i>de novo</i> -Methylierung, Hinweise auf eingeschränkte <i>maintenance</i> -Aktivität
DNMT3L	keine Methylierungsaktivität, moduliert die DNMT3A/3B-Aktivität und somit die <i>de novo</i> -Methylierung, Expression v.a. während der Gametogenese und der embryonalen Entwicklung

Um eine zielgerichtete Methylierung der DNA zu gewährleisten, interagieren die DNMTs mit verschiedenen Faktoren des epigenetischen Netzwerkes wie beispielsweise mit Faktoren, welche die Histonmodifikationen bedingen (Jurkowska et al., 2011). Somit ist die DNA-Methylierung ebenfalls mit der Chromatinorganisation verbunden (Hermann et al., 2004). Da Methylierungsmuster die Genexpression beeinflussen, ist es nicht erstaunlich, dass die DNMTs zudem mit Transkriptionsfaktoren (z.B. E2F1) oder auch Genrepressoren (z.B. Heterochromatinprotein 1) wechselwirken (Jurkowska et al., 2011).

1.5.2. Assoziation von Einzelnukleotidpolymorphismen der DNA-Methyltransferasen mit psychischen Erkrankungen

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine Literatursichtung bzgl. SNPs des *DNMT3A* und *DNMT3B*-Gens durchgeführt, für die bereits Assoziationen mit psychischen Erkrankungen beschrieben werden konnten.

Die Ergebnisse mehrerer Studien weisen darauf hin, dass die beiden *de novo*-Methyltransferasen 3A und 3B den Effekt von Umwelteinflüssen auf die Genexpression modulieren und sie scheinen ebenfalls einen Einfluss auf die menschliche wie auch tierische Reaktion auf Stress und auf das Resilienzverhalten zu haben (Elliott et al., 2016; Hammels et al., 2015). Einige Studien haben sich daher bereits mit einer möglichen Assoziation von verschiedenen Varianten des *DNMT3A*- und *DNMT3B*-Gens mit psychischen Erkrankungen befasst.

Im Besonderen konnten zwei Studien Assoziationen zwischen *DNMT3A/3B*-SNP-Varianten und dem Verhalten gegenüber Stressoren und dem Vorliegen

von Suizidversuchen bei Patienten mit psychischen Erkrankungen beschreiben (Murphy et al., 2013; Pishva et al., 2014). Pishva und Mitarbeiter untersuchten, ob 31 SNPs in Genen mit epigenetisch-regulatorischer Funktion einen Effekt auf emotionale Reaktionen gegenüber stressvollen oder angenehmen Stimuli vermitteln (Pishva et al., 2014). Zu den teilnehmenden Probanden gehörten gesunde Kontrollen, nicht erkrankte Angehörige von Patienten mit psychotischen Erkrankungen und Patienten, die mindestens eine schwere depressive Episode durchlitten haben. Es zeigte sich, dass 3 SNPs der *DNMT3A* (rs11683424, rs1465764, rs1465825) die negative affektive Reaktion der Probanden auf stressvolle Stimuli modulieren (siehe Tabelle 2). Vor allem Träger des rs11683424 T-Allels bewerteten Stressoren als weniger negativ im Vergleich zu anderen Allel-Trägern (Pishva et al., 2014).

Murphy und Mitarbeiter beschäftigten sich mit der Frage, inwiefern Polymorphismen der *DNMT1* und *DNMT3B* einen Einfluss auf das Suizidverhalten haben können (Murphy et al., 2013). Hierzu wählten sie 17 funktionale SNPs aus und überprüften deren Assoziation mit dem Vorliegen von Suizidversuchen bei psychisch Kranken. Zwei Einzelnukleotidpolymorphismen der *DNMT3B* (rs2424932, rs4911259) konnten mit Suizidversuchen in Verbindung gebracht werden. Beide *minor* Allele lagen gehäuft bei Patienten vor, die mindestens einen Suizidversuch aufwiesen, verglichen mit psychisch kranken Patienten ohne Suizidversuch (Murphy et al., 2013).

Aufgrund der dargestellten Datenlage wurden die nachfolgend beschriebenen SNPs für eine genetische Assoziationsuntersuchung ausgewählt (Tabelle 2).

Tabelle 2: Chromosomale Position und funktionelle Charakterisierung ausgewählter SNPs des *DNA-Methyltransferase 3A-* (*DNMT3A*) und *DNA-Methyltransferase 3B-* (*DNMT3B*) Gens. Eigene Recherche: (Genetics and Bioinformatics Team-Aix Marseille Université, 2017; National Center for Biotechnology Information, 2017e, 2017f, 2017g, 2017h, 2017i; National Institute of Environmental Health Sciences, 2017). Literatur: (Murphy et al., 2013; Pishva et al., 2014). Chr.: Chromosom-Position (bp) (GRCh38.p7), bp: Basenpaar, GR: Glukokortikoidrezeptor, HSF: Heat shock factor. Angelehnt an (Berking et al., 2020)

Gen	SNP	Chr.: Position (bp)	minor/ major	Lage	Funktion (eigene Recherche)	Funktion (Literatur)
<i>DNMT3A</i>	rs1465825	2:25255584	C/T	Intron		

	rs11683424	2:25266263	T/C	Intron	Potenzielle Splicingstelle fehlt bei T-Allel	T-allel hat ggf. Einfluss auf Expression der Splicing-variante DNMT3A2
	rs1465764	2:25338138	T/A	Intron	Bindungsstelle für 2 Splicing Enhancer fehlt im T-Allel	
<i>DNMT3B</i>	rs4911259	20:32788476	G/T	Intron		G-Allel bildet ein Splicing-regulierendes Element
	rs2424932	20:32808730	A/G	Exon	A-Allel beinhaltet Bindestelle für microRNA hsa-mi-R920	A-Allel kreiert GR- und HSF-Bindungsstelle

1.6. Fragestellung und Zielsetzung dieser Arbeit

In der Literatur wurden Assoziationen zum einen zwischen der zentralnervösen *Dnmt*-Expression und dem angstähnlichen Verhalten von Nagetieren und zum anderen zwischen verschiedenen SNPs der *DNMT3*-Gene mit der affektiven Reaktion gegenüber stressvollen Ereignissen als auch mit Suizidversuchen beim Menschen beschrieben (Elliott et al., 2016; Miller & Sweatt, 2007; Murphy et al., 2013; Pishva et al., 2014). Auf Grundlage dieser Beschreibungen stellt sich die Frage, ob eine Assoziation zwischen verschiedenen Polymorphismen der *DNMT3*-Gene und Angsterkrankungen beim Menschen, im Speziellen zwischen fünf vorbeschriebenen SNPs des *DNTM3A/B*-Gens und dem Angstphänotypen der Panikstörung, beim Menschen bestehen. Es wurden diesbezüglich die folgenden zwei Hypothesen formuliert:

- 1) Es besteht eine Genotyp-Phänotyp-Assoziation zwischen den fünf ausgewählten SNPs des *DNMT3A/B*-Gens sowie deren Haplotypen und dem kategorialen Angstphänotypen der Panikstörung mit und ohne Agoraphobie.
- 2) Es besteht eine Assoziation zwischen den Allelen der ausgewählten SNPs sowie deren Haplotypen mit dimensional angsteigenschaften.

Zur Überprüfung der ersten Hypothese wurde eine Fall-Kontroll-Analyse mit Genotypisierung der fünf untersuchten SNPs einer Stichprobe aus *gematchten* Panikpatienten und gesunden Kontrollen durchgeführt. Weiterführend wurde eine genetische Assoziationsanalyse zwischen den Allelen der fünf ausgewählten SNPs und den dimensional Daten aus psychometrischen Fragebögen durchgeführt. Die dimensional Daten bilden den Grad der angstbezogenen Kognition und der Angstsensitivität ab.

2. Stichproben, Materialien, Methoden und statistische Auswertung

2.1. Stichproben

2.1.1. Demographische Charakterisierung

Die untersuchte Probandenkohorte bestand aus zwei Subgruppen. Zum einen aus Patienten, welche an einer Panikstörung mit oder ohne Agoraphobie litten, (wie beschrieben in (Gloster et al., 2011)) und zum anderen aus gesunden Probanden (wie beschrieben in (Schiele et al., 2016)).

a) Patienten mit Panikstörung

506 Patienten mit Panikstörung, 95 % litten zudem an Agoraphobie, konnten eingeschlossen werden (Frauen = 356; mittleres Alter = $35,2 \pm 10,7$ Jahre) (siehe Tabelle 3). Diese Patientengruppe wurde von 2007-2015 im Rahmen der MAC-Studie (Mechanisms of Action in CBT) des multizentrischen Forschungsprojektes „Panik-Netz“ rekrutiert. Die Förderung des Projektes erfolgte durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung der Bundesrepublik Deutschland. Zu den Studienzentren zählten die Universitäten Aachen, Berlin, Bremen, Dresden, Greifswald, Marburg, Münster und Würzburg. Auch hier erfolgten zwei voneinander getrennte Rekrutierungsperioden von jeweils vier Jahren. Daten zum Raucherstatus der Patienten lagen nicht vor.

Die Diagnosestellung einer Panikstörung mit oder ohne Agoraphobie erfolgte mittels der deutschen Version des Computer Assisted Personal Interview-World Health Organisation- Composite International Diagnostic Interview (CAPI-WHO-CIDI) (Wittchen & Semler, 1991). Geschulte Experten leisteten die Durchführung des persönlichen, computergestützten und strukturierten Interviews. Alle Experten nahmen vor ihrem Studieneinsatz erfolgreich an einem dreitägigen Training, supervidiert durch zertifizierten CIDI-Gutachter, am klinischen Koordinationszentrum in Bremen teil. Dem CAPI-WHO-CIDI liegen die ICD-10 als auch das DSM-IV zugrunde. Patienten konnten an der Studie teilnehmen,

wenn sie kaukasischer Abstammung und zwischen 18 und 65 Jahre alt waren. Zudem mussten sie vier oder mehr Punkte auf der Clinical Global Impression Scale (CGI) (Guy, 1976) erzielen und die Möglichkeit haben regelmäßig an den von der Studie angedachten Therapiestunden teilnehmen zu können. Das Vorhandensein komorbider Achse-I-Erkrankungen führte zu keinem Ausschluss, solange die Panikstörung die Hauptdiagnose darstellte und die Patienten nicht zusätzlich unter einer der folgenden psychischen Störung litten: Bipolare affektive Erkrankung, psychotische Störungen, substanzinduzierte Störungen wie gegenwärtige Alkoholabhängigkeit sowie Missbrauch oder Abhängigkeit von Benzodiazepinen und anderen psychoaktiven Substanzen. Zu einem Ausschluss der Probanden führten auch eine aktuelle Suizidabsicht, eine Borderline-Persönlichkeitsstörung, eine gegenwärtige Psychotherapie oder Psychopharmakotherapie, sowie ärztliche Bedenken bzgl. der Teilnahme eines Patienten an der Expositions-basierten Kognitiven Verhaltenstherapie (hierzu zählte das Vorliegen einer schweren kardiovaskulären, renalen oder neurologischen Erkrankung). 68 % der Panikpatienten litten damit zusätzlich an einer weiteren psychischen Erkrankung (vornehmlich Affektive Störungen und Phobien), 49 % der Patienten wiesen zusätzlich eine 2. psychische Erkrankung auf und 21 % eine 3. sowie 12 % zusätzlich eine 4. psychische Erkrankung. Vertreten waren vornehmlich Affektive Störungen wie eine mittelgradige depressive Episode und Phobien, v.a. die soziale Phobie.

Alle eingeschlossenen Panikpatienten nahmen keinerlei Medikation ein.

Die MAC-Studie wurde von den Ethikkommissionen der Universitäten Dresden (Ethikvotum: EK164082006) und Würzburg (Ethikvotum: 206/06, 54/10) bewilligt und erfüllt die Anforderungen der Deklaration von Helsinki. Alle eingeschlossenen Teilnehmer unterzeichneten eine schriftliche Einverständniserklärung, nachdem sie ausführlich über das Studiendesign aufgeklärt worden waren.

Für Fall-Kontroll-Assoziationsstudien wurden Probanden aus der Gruppe der gesunden Probanden und der Panikpatienten nach Alter und Geschlecht *gematched* (Gesamtanzahl = 506; Frauen = 356; mittleres Alter = 30,5 ± 8,3 Jahre) (siehe Tabelle 5).

Tabelle 3: Demographische Daten der Patienten mit Panikstörung. Anzahl der eingeschlossenen Frauen und Männer (w/m), Mittelwert (M) und Standardabweichung (SD) der Fragebögen Anxiety Sensitivity Index (ASI) und Agoraphobic Cognitions Questionnaire (ACQ), Anzahl der Patienten mit Panikstörung und Agoraphobie (PD+AG) sowie die Genotypverteilung der untersuchten SNPs der Gene *DNA-Methyltransferase 3A (DNMT3A)* und *DNA-Methyltransferase 3B (DNMT3B)*. rs: Referenz-Einzelnukleotidpolymorphismus, C: C-Allel, T: T-Allel, A: A-Allel, G: G-Allel. Angelehnt an (Berking et al., 2020).

	1.Rekrutierungsperiode	2. Rekrutierungsperiode	Gesamtstichprobe
Geschlecht (w/m)	216/76	140/74	356/150
Alter (M/SD)	36,0/10,8	34,0/10,4	35,2/10,7
ASI (M/SD)	31,1/11,4	31,0/10,7	31,1/11,1
ACQ (M/SD)	2,2/0,6	2,2/0,6	2,2/0,6
Agoraphobie-diagnose (PD+AG)	292 (100 %)	187 (87 %)	479 (95 %)
Genotyp			
<i>DNMT3A</i>			
rs1465825 (CC/CT/TT)	14/121/141	6/73/99	20/194/240
rs11683424 (TT/TC/CC)	10/98/171	13/53/127	23/151/298
rs1465764 (TT/TA/AA)	2/33/240	3/25/173	5/58/413
<i>DNMT3B</i>			
rs4911259 (GG/GT/TT)	27/140/108	33/85/81	60/226/189
rs2424932 (AA/AG/GG)	53/127/91	34/81/85	87/208/176

b) Gesunde Probanden

Es konnten 3112 gesunde Probanden (Frauen = 1729; mittleres Alter = 25,3 ± 5,7 Jahre) in die Arbeit eingeschlossen werden (siehe Tabelle 3), welche von 2008 bis 2016 im Rahmen des Sonderforschungsbereichs Transregio SFB-TRR 58 Subprojekt Z02 in Würzburg (Supervision durch J. Deckert, A. Reif und K. Domschke, Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie des Universitätsklinikums Würzburg), Münster (Supervision durch K. Domschke und P. Zwanzger, Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Universitätsklinikums Münster) und Hamburg (Supervision durch C. Büchel, R. Kalisch und T. Lonsdorf, Institut für Systemische Neurowissenschaften,

Hamburg) in zwei separaten Förderperioden von jeweils vier Jahren rekrutiert worden waren. Es wurde zudem erfasst, ob der jeweilige Proband Raucher oder Nichtraucher war (diese Information lag nicht zu allen Teilnehmern vor).

Eingeschlossen wurden Rechtshänder mit kaukasischer Abstammung über drei Generationen (Selbstauskunft), welche die deutsche Sprache flüssig in Wort und Schrift beherrschen. Zu den Ausschlusskriterien zählten eine manifeste oder stattgehabte DSM-IV-Axis-I-Erkrankung (Testung durch geschulte Psychologen anhand der deutschen Version des Mini International Neuropsychiatric Interview (Ackenheil, Stotz & Dietz-Bauer, 1999; Sheehan et al., 1998)), eine aktuell vorliegende Schwangerschaft, schwere somatische Erkrankungen, die Einnahme zentralwirksamer Medikamente oder illegaler Drogen, exzessiver Alkoholkonsum (>15 Gläser Alkohol/Woche), Nikotinkonsum (>20 Zigaretten/Tag) und Koffeingenuß (>4 Tassen Kaffee/Tag).

Die jeweiligen Studien des SFB-TRR 58, in deren Rahmen die Daten der Probanden gesammelt wurden, sind von den Ethikkommissionen der Universitäten Münster, Hamburg und Würzburg (Ethikvotum: 7/08) genehmigt und erfüllen die Anforderungen der Deklaration von Helsinki. Alle eingeschlossenen Teilnehmer unterzeichneten eine schriftliche Einverständniserklärung, nachdem sie ausführlich über das Studiendesign und den Studienablauf aufgeklärt worden waren.

Tabelle 4: Demographische Daten der gesunden Probandengruppe. Anzahl der eingeschlossenen Frauen und Männer (w/m), Raucher oder Nichtraucher (Raucher (ja/nein), Mittelwert und Standardabweichung (SD) der Fragebögen Anxiety Sensitivity Index (ASI), Agoraphobic Cognitions Questionnaire (ACQ) und Penn State Worry Questionnaire (PSWQ) sowie die Genotypverteilung der untersuchten SNPs der Gene *DNA-Methyltransferase 3A (DNMT3A)* und *DNA-Methyltransferase 3B (DNMT3B)*. rs: Referenz-Einzelnukleotidpolymorphismus, C: C-Allel, T: T-Allel, A: A-Allel, G: G-Allel. Angelehnt an (Berking et al., 2020).

	1.Rekrutierungsperiode	2. Rekrutierungsperiode	Gesamtstichprobe
Geschlecht (w/m)	865/763	864/620	1729/1383
Raucher (ja/nein)	311/1161	247/1237	558/2398
Alter (M/SD)	25,0/5,6	25,6/5,7	25,3/5,7
ASI (M/SD)	13,2/6,5	14,3/7,3	13,7/6,9
ACQ (M/SD)	1,35/0,26	1,34/0,25	1,35/0,26
PSWQ (M/SD)	40,7/9,8	40,7/10,0	40,7/9,9

Genotyp			
<i>DNMT3A</i>			
rs1465825 (CC/CT/TT)	75/563/910	69/500/828	144/1063/1738
rs11683424 (TT/TC/CC)	57/470/1028	45/423/971	102/893/1999
rs1465764 (TT/TA/AA)	7/175/1386	6/165/1273	13/340/2659
<i>DNMT3B</i>			
rs4911259 (GG/GT/TT)	205/723/639	190/654/584	395/1377/1223
rs2424932 (AA/AG/GG)	242/751/566	209/711/503	451/1462/1069

Tabelle 5: Demographische Daten der für die Fall-Kontroll-Stichprobe verwendeten und *gematchten* gesunden Probanden. Anzahl der eingeschlossenen Frauen und Männer (w/m), Mittelwert (M) und Standardabweichung (SD) der Fragebögen Anxiety Sensitivity Index (ASI) und Agoraphobic Cognitions Questionnaire (ACQ) sowie die Genotypverteilung der untersuchten SNPs der Gene *DNA-Methyltransferase 3A (DNMT3A)* und *DNA-Methyltransferase 3B (DNMT3B)*. rs: Referenz-Einzelnukleotidpolymorphismus, C: C-Allel, T: T-Allel, A: A-Allel, G: G-Allel. Angelehnt an (Berking et al., 2020).

	1.Rekrutierungsperiode	2. Rekrutierungsperiode	Gesamtstichprobe
Geschlecht (w/m)	216/76	140/74	356/150
Alter (M/SD)	28,8/7,4	32,8/8,8	30,5/8,3
ASI (M/SD)	12,4/6,6	13,3/7,3	12,8/6,9
ACQ (M/SD)	1,3/0,3	1,3/0,2	1,3/0,2
Genotyp			
<i>DNMT3A</i>			
rs1465825 (CC/CT/TT)	14/114/157	9/69/131	23/183/288
rs11683424 (TT/TC/CC)	9/89/189	11/62/137	20/151/326
rs1465764 (TT/TA/AA)	2/35/250	0/23/189	2/58/439
<i>DNMT3B</i>			
rs4911259 (GG/GT/TT)	30/148/112	30/99/78	60/247/190
rs2424932 (AA/AG/GG)	54/131/102	30/103/76	84/234/178

2.1.2. Psychometrische Charakterisierung

Anhand psychometrischer Fragebögen wurden die psychologischen Charakteristika bezüglich angstbezogener Kognition und der Persönlichkeits-

eigenschaft der Besorgnis der Probanden erfasst. Die gesunden Probanden füllten alle im Folgenden erläuterten Fragebögen aus. Zu den Panikpatienten lagen nur Daten des *Agoraphobic Cognitions Questionnaire* und des *Anxiety Sensitivity Index* vor.

Agoraphobic Cognitions Questionnaire (ACQ):

Deutschsprachige Version (Chambless, Caputo, Bright & Gallagher, 1984; Ehlers, Margraf & Chambless, 1993). Mittels 14 *items* wird mit dem ACQ abgefragt, wie häufig angstbezogene Kognitionen bei dem Befragten vorkommen, wenn dieser Ängstlichkeit oder Nervosität verspürt. Hierzu zählen Gedanken, die angstbezogene körperliche Symptome (wie beispielsweise sich übergeben zu müssen oder einen Herzanfall zu erleiden) und Formen des Kontrollverlustes (z.B. die Idee, verrückt zu werden oder Unsinn zu reden) betreffen. Die 14 *items* können von den Probanden auf einer Likert-Skala, welche von „1 = der Gedanke kommt nie vor“ bis „5 = der Gedanke kommt immer vor“, beurteilt werden. Um den Test auszuwerten werden die Punkte der einzelnen *items* aufsummiert und anschließend der Mittelwert gebildet.

Anxiety Sensitivity Index (ASI):

Deutschsprachige Version (Alpers & Pauli, 2001; Reiss, Peterson, Gursky & McNally, 1986). Der aus 16 *items* bestehende Fragebogen dient zur Erfassung der Angstsensitivität. Diese wird als Persönlichkeitsmerkmal verstanden und beschreibt die Angst vor körperlichen und kognitiven Symptomen einer Angstreaktion. Zu den Items zählen Aussagen wie „Es macht mir Angst, wenn ich nervös bin“ oder auch „Es macht mir Angst, wenn mein Herz schneller schlägt“. Der Proband ist dazu angehalten auf einer Likert-Skala, welche von „0 = sehr wenig“ bis „4 = sehr stark“ reicht, anzugeben wie zutreffend die einzelnen *items* für ihn sind. Die Auswertung erfolgt, indem alle Einzelwerte aufsummiert werden.

Das Ergebnis einer ASI-Testung hat einen prädikativen Wert für die Auftrittswahrscheinlichkeit von Panikattacken (Beutel, Dietrich & Wiltink, 2005; Hoyer & Margraf, 2003).

Penn State Worry Questionnaire (PSWQ):

Deutschsprachige Version (Meyer, Miller, Metzger & Borkovec, 1990; Stöber, 1995). In diesem Test werden 16 *items* zur Erfassung des Grades pathologischer Besorgnis eingesetzt, wie sie z.B. bei der Generalisierten Angststörung vorliegt (Meyer et al., 1990). Auf einer Likert-Skala von „1 = nicht typisch“ bis „5 = äußerst typisch“ erfolgt durch den Probanden die Angabe wie gut die einzelnen *items* mit seiner Kognition übereinstimmen. 11 *items* beziehen sich auf sorgenvolle Gedanken, welche auch im Rahmen der pathologischen Besorgnis auftreten (z.B.: „Ich mache mir die ganze Zeit über Sorgen“, „Meine Sorgen wachsen mir über den Kopf“). Die übrigen fünf *items* beschreiben eine Kognition in der Besorgnis kein Problem darstellt. Diese *items* umfassen beispielsweise die Aussage „Mir fällt es leicht sorgenvolle Gedanken zu vertreiben“ oder „Ich mache mir nie über etwas Sorgen“. Der Test vermag klinische Stichproben (v.a. die Generalisierte Angststörung) von nicht klinischen zu trennen (Hoyer & Margraf, 2003). In der Auswertung erhalten die zuletzt beschriebenen fünf *items* eine andere Gewichtung (1 = 5, 2 = 4, 3 = 3, 4 = 2, 5 = 1). Anschließend werden alle erzielten Werte aufsummiert.

2.2. Materialien

2.2.1. Kits

Kit	Hersteller
KASP™ Assay Master mix	LGC Limited, Hoddesdon, Großbritannien
KASP™ Assay mix	LGC Limited, Hoddesdon, Großbritannien

2.2.2. Medien, Puffer und Enzyme

Medium Puffer Enzyme	Hersteller
Agarose LE	Biozym, Hessisch Oldendorf, Deutschland

CutSmart® Puffer	New England Biolabs, Inc., Ipswich, Massachusetts, USA
DNA Gel Loading Dye (6X)	Thermo Fisher Scientific Inc, Waltham, Massachusetts, USA
GeneRuler 100 bp-Marker	Thermo Fisher Scientific Inc, Waltham, Massachusetts, USA
Desoxyribonukleosidtriphosphate (dATP, dCTP, dGTP, dTTP)	Promega Corporation, Madison, Wisconsin, USA
Pronase E (4000 U/mg)	AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland
Restriktionsenzym Afl I Restriktionsenzym Afl II (20000 U/ml)	New England Biolabs, Inc., Ipswich, Massachusetts, USA
House- <i>Taq</i> -Polymerase (0,3 U/µl)	AG Funktionelle Genomik, ZEP, Würzburg, Deutschland

2.2.3. Primer

SNP	Primersequenz	Hersteller
<i>DNMT3A</i> -F (rs1465825)	5`-AGAGCCTAAAAGAGGTGCTGG-3`	Sigma-Aldrich Co. LLC., Steinheim, Deutschland
<i>DNMT3A</i> -R (rs1465825)	5`-CCCAGGAGAATGATGCACCC-3`	Sigma-Aldrich Co. LLC., Steinheim, Deutschland
<i>DNMT3A</i> (rs11683424, rs1465764), <i>DNMT3B</i> (rs2424932, rs4911259)	KASP™ by design Primer Mix	LGC Limited, Hoddesdon, Großbritannien

2.2.4. Selbst hergestellte Puffer

Puffer	Zusammensetzung	Hersteller
Gefrierlysepuffer	2,5 ml Nonidet® P40	AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland
	22,5 g 15,4 mM Natrium-Chlorid mittels ddH ₂ O für	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland

	Chromotographie (LiChrosolv®) auf 2,5 l auffüllen	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Goldstar-DNA-PCR-Puffer	Trizma® pH 9,0 1 M	Sigma-Aldrich Co. LLC., Steinheim, Deutschland
	200 µl 20 mM Ammoniumsulfat	AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland
	10 µl 0,1 % Tween® 20	Sigma-Aldrich Co. LLC., Steinheim, Deutschland
	mittels ddH ₂ O für Chromotographie (LiChrosolv®) auf 1 ml auffüllen	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Loading-Puffer für Gelelektrophorese	25 mg Bromphenolblau-Xylene Cyanol	Sigma-Aldrich Co. LLC., Steinheim, Deutschland
	1 ml Glycerol wasserfrei	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Lysispuffer	155 ml 1 M Ammonium-Chlorid	AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland
	10 ml 1 M Kalium-Bicarbonat	AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland
	200 µl EDTA-Lsg. 0,5 M pH 8,0	AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland
	mittels ddH ₂ O für Chromotographie (LiChrosolv®) auf 1 l Auffüllen	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
SE-Puffer pH 8,0	4,383 g 75 mM Natriumchlorid	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
	50 ml 0,5 M pH 8,0 EDTA-Lsg.	AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland
	mittels ddH ₂ O für Chromotographie (LiChrosolv®) auf 1 l auffüllen	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
TAE-Puffer	121 g Tris altrapure (M121)	AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland

	28,5 g Essigsäure 99-100 %	Mallinckrodt Baker, Deventer, Niederlande
	mittels ddH ₂ O für Chromotographie (LiChrosolv®) auf 1 l auffüllen	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
TE-Puffer (1X) pH 8,0		AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland

2.2.5. Chemikalien

Chemikalien	Hersteller
ddH ₂ O für Chromotographie (LiChrosolv®)	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Ethanol 70 %	AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland
Ethidiumbromid-Lsg. 0,07 %	AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland
Isopropylalkohol	AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland
Magnesiumchlorid 1 M	Sigma-Aldrich Co. LLC., Steinheim, Deutschland
Natriumchlorid	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
SDS 20 %	AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland

2.2.6. Verbrauchsmaterialien

Materialien	Hersteller
Becherglas 1000 ml Duran	Schott AG, Mainz, Deutschland
Combitips advanced 0,1/0,2 ml	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Falcon® konisches Zentrifugenröhrchen 50 ml	Fisher Scientific GmbH, Schwerte, Deutschland
FrameStar® 96-Well ohne Rahmen	4titude® Limited, Wotton, Großbritannien
FrameStar® 96-Well ABI® FastPlate Style Plates	4titude® Limited, Wotton, Großbritannien
Multiply-µStrip Pro 4er-Kette	Sarstedt AG&Co, Nümbrecht, Deutschland

PCR-Gefäße 8er-Strips 0,2 ml	Brand GmbH & Co KG, Wertheim, Deutschland
PCR-Kappen für 8er Stripes	4titude® Limited, Wotton, Großbritannien
PCR-Platte 384-Well mit Rahmen	Brand GmbH & Co KG, Wertheim, Deutschland
Pipettenspitzen Biosphere Fil. Tip (steril) 1250 extra long/300/100/20/10 µl	Sarstedt AG&Co, Nümbrecht, Deutschland
Schraubröhre 5 ml (steril)	Sarstedt AG&Co, Nümbrecht, Deutschland
S-Monovette® 9 ml K3E	Sarstedt AG&Co, Nümbrecht, Deutschland

2.2.7. Gerätschaften

Gerät	Produktbezeichnung	Hersteller
Chemilumineszenz- /Fluoreszenzsystem	Fusion FX6 Spectra	VILBER LOURMAT Deutschland GmbH, Eberhardzell, Deutschland
Elektrophoresekämme 16 Well	Standardkamm 1,0 mm, 16 Zähne, 20 µl	PEQLAB Biotechnologie GmbH, Erlangen, Deutschland
Gelkammer	PerfectBlue™ Gelsystem Mini L	PEQLAB Biotechnologie GmbH, Erlangen, Deutschland
Gelgießkammer	MultiCast™ Gelgießstand	PEQLAB Biotechnologie GmbH, Erlangen, Deutschland
Inkubator	Heraeus B 5042 E	Heraeus Holding GmbH, Hanau, Deutschland
Magnetrührer/Heizplatte	L-81	Labinco BV, Breda, Niederlande
Mikrowelle	R-239 W	Sharp Electronics GmbH, Hamburg, Deutschland
Netzgerät	El phor Powerpack P24	Biometra GmbH, Göttingen, Deutschland
Netzgerät	E431	Consort bvba, Turnhout, Belgien
Netzgerät	E844	Consort bvba, Turnhout, Belgien

Photometer	NanoDrop ND-1000	PEQLAB Biotechnologie GmbH, Erlangen, Deutschland
Real-Time PCR Detektionssystem	CFX384 C1000 Touch	Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, Kalifornien, USA
Real-Time PCR Detektionssystem	CFX384 C1000	Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, Kalifornien, USA
Thermocycler	T Professional Basic Gradient	Biometra GmbH, Göttingen, Deutschland
Thermocycler	T Professional	Biometra GmbH, Göttingen, Deutschland
Thermocycler	T 1 Thermocycler 96	Biometra GmbH, Göttingen, Deutschland
Vortex-Mixer	Labinco L46	Labinco BV, Breda, Niederlande
Vortex-Mixer	Vortex-Genie 2 G560E	Scientific Industries, Inc., Bohemia, NY, USA
Waage	PM300	Mettler-Toledo GmbH, Gießen, Deutschland
Zentrifuge	Centrifuge 5430	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Zentrifuge	Hereaus Megafuge 1.0 R	Hereaus Holding GmbH, Hanau, Deutschland
Zentrifuge	Microspin FV 2400	Biosan, Riga, Lettland
Zentrifuge	Rotanta 460 R	Andreas Hettich GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Deutschland
Zentrifuge	Rotanta 965	Andreas Hettich GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Deutschland
Zentrifuge	Spectrafuge C1301 230V	Labnet International, Inc., Edison, NJ, USA

2.2.8. Software

Software	Hersteller/Bezugsquelle
PLINK V1.9	Shaun Purcell, Cambridge, Massachusetts, USA/Boston, Massachusetts, USA, http://pngu.mgh.harvard.edu/purcell/plink/

R V2.15.2	R Foundation for Statistical Computing, Wien, Österreich, http://www.R-project.org/ .
Evolution-CAPT for Fusion FX6	VILBER LOURMAT Deutschland GmbH, Eberhardzell, Deutschland
G*Power V3.1.9.4.	Allgemeine Psychologie und Arbeitspsychologie, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Deutschland, http://www.gpower.hhu.de/
Haploview V4.1	Broad Institute of MIT and Harvard, Cambridge, Massachusetts, USA, https://www.broadinstitute.org/haploview/haploview
Bio-Rad CFX-Manager™ 3.0	Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, Kalifornien, USA
Primer-Blast	National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine, Bethesda, Maryland, USA, https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/
NEBcutter V2.0	New England Biolabs, Inc., Ipswich, Massachusetts, USA, http://nc2.neb.com/NEBcutter2/
Nanodrop 1000 3.8.1	Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, USA
Strukturelle und funktionelle Analysen	
Ensembl genome browser 91	European Bioinformatics Institute, EMBL-EBI, Hinxton, Großbritannien, https://www.ensembl.org
Human Protein Atlas	Human Protein Atlas, https://www.proteinatlas.org
Human Splicing Finder 3.0	Genetics and Bioinformatics Team-Aix Marseille Université, Marseille, Frankreich, http://umd.be/HSF3
NCBI Gene	National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine, Bethesda, Maryland, USA, https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene
NCBI SNP	National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine, Bethesda, Maryland, USA, https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP
SNP Function Prediction (FuncPred)	National Institute of Environmental Health Sciences, Durham, USA, https://manticore.niehs.nih.gov/snpinfo/snpfunc.html

2.3. Methoden

2.3.2. Blutentnahme

Pro Proband wurden bis zu 18 ml venöses Vollblut mittels EDTA K- (Kalium-Ethylendiamintetraessigsäure) Röhrchen (Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) entnommen. Anschließend wurde das gewonnene Blut höchstens sieben Tage bei einer maximalen Temperatur von +4,0 °C gelagert. Die DNA-Extraktion erfolgte daraufhin an der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie des Universitätsklinikums Würzburg.

2.3.3. DNA-Extraktion aus Vollblut

Die Extraktion der DNA aus Vollblut erfolgte an der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie des Universitätsklinikums Würzburg aus Leukozyten mittels eines modifizierten Standardverfahrens der Salzfällung nach Miller und Mitarbeitern (Miller, Dykes & Polesky, 1988). Das Verfahren besteht aus drei Schritten, die auf zwei Arbeitstage verteilt waren. Zur Überprüfung des DNA-Gehalts in jeder Probandenprobe wurde anschließend eine photometrische Konzentrations- und Reinheitskontrolle (NanoDrop ND-1000, PEQLAB Biotechnologie GmbH, Erlangen, Deutschland) durchgeführt.

1 Schritt: Lyse der Erythrozyten und Trennung des Erythrozytenlysats von den Leukozyten

Im ersten Schritt erfolgte die Lyse der Erythrozyten mit Hilfe eines hypotonen Milieus und anschließend die Abtrennung der Leukozyten vom Erythrozytenlysats. Hierzu wurden maximal 10 ml Vollblut eines Probanden mit dem Lysispuffer auf das vierfache Ausgangsvolumen verdünnt und für 30 min auf Eis inkubiert. Daraufhin erfolgte die Zentrifugation (Rotanta 460 R/Rotanta 965, Andreas Hettich GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Deutschland) für 15 min bei 4,0 °C und einer Drehzahl von 2500 rpm. Danach wurde der Überstand dekantiert. Das Leukozytenpellet wurde erneut in 5 ml Lysispuffer resuspendiert und durch Zentrifugation (15 min, 4,0 °C, 2500 rpm) aufgereinigt. Der entstandene Überstand wurde anschließend dekantiert und verworfen.

2. Schritt: Lyse der Leukozyten und Abtrennung des Lysats von der DNA

Um die Leukozyten zu lysieren, wurde das Leukozytenpellet in 5 ml SE-Puffer gelöst und mit 250 µl Pronase E und mit 250 µl 20 %igem SDS versetzt. Dieses Gemisch wurde bei 37,0 °C über Nacht in einem Inkubator (Heraeus B 5042 E, Heraeus Holding GmbH, Hanau, Deutschland) inkubiert, um einen vollständigen enzymatischen Verdau zu gewährleisten.

Anschließend wurden dem Leukozytenlysats 2,5 ml SE-Puffer zugefügt und zusätzlich 2,5 ml Natriumchlorid hinzugegeben. Es erfolgte daraufhin eine gründliche Durchmischung der Lösung mittels eines Vortex-Mixers (Vortex-Genie 2 G560E, Scientific Industries, IncBohemia, NY, USA; Labinco L46, Labinco BV, Breda, Niederlande) von ca. 15 s und eine zwanzigminütige Zentrifugation bei 4000 rpm und Raumtemperatur.

3. Schritt: Ausfällung der Leukozyten-DNA

Abschließend wurde die DNA durch Zugabe von 15 ml Isopropylalkohol ausgefällt. Um die DNA zu pelletieren, wurde die Suspension bei Raumtemperatur und 3000 rpm für 20 min zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das DNA-Pellet mit 4 ml Ethanol (70 %) gewaschen. Das so gewonnene DNA-Pellet wurde anschließend in 800 µl TE-Puffer (1x) resuspendiert und für zwei Stunden bei 37,0 °C inkubiert (Heraeus B 5042 E, Heraeus Holding GmbH, Hanau, Deutschland), um die ausgefällte DNA wieder vollständig zu lösen bevor eine photometrische Überprüfung der DNA-Konzentration und -reinheit durchgeführt wurde (NanoDrop ND-1000, PEQLAB Biotechnologie GmbH, Erlangen, Deutschland).

Konnte für die Proben jeweils bei einer Wellenlänge von 260 nm eine Extinktion von 1 detektiert werden, war von einer DNA-Konzentration von 50 ng/µl auszugehen. Darüber hinaus wurde die Reinheit jeder Probe mittels des Extinktionsquotienten (Extinktion bei 260 nm / Extinktion bei 230 nm) geprüft. Bei einem Extinktionsquotienten >2, konnte davon ausgegangen werden, dass keine Verunreinigung durch Salze oder andere organische Verbindungen bestand. Zudem wurde der Extinktionsquotient aus der Extinktion bei 260 nm und der Extinktion bei 280 nm gebildet. Lag dieser zweite Quotient zwischen 1,8 und 2,

war die Beimengung von Proteinen oder Phenolen unwahrscheinlich. Die DNA-Probe konnte somit zur weiteren Analyse genutzt werden.

2.3.4. Genotypisierungsmethoden

Zur Allelbestimmung wurden zwei unterschiedliche Methoden genutzt. Die Genotypisierung von rs1465825 des *DNMT3A*-Gens erfolgte mittels PCR, Restriktionsverdau, Gelelektrophorese und anschließender Auswertung durch Chemilumineszenz-Imaging, dem sog. PCR-Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus-Assay (PCR-RFLP) (Ota, Fukushima, Kulski & Inoko, 2007). Alle übrigen Einzelnukleotidpolymorphismen wurden mittels des KASP™-Assays untersucht.

2.3.4.1. Polymerasekettenreaktion (*DNMT3A* rs1465825)

Um definierte DNA-Abschnitte für weitere Sequenzanalysen zu amplifizieren, wurden Polymerasekettenreaktionen (PCR) durchgeführt (T Professional Basic Gradient/T Professional/T 1 Thermocycler 96, Biometra GmbH, Göttingen, Deutschland). Dabei handelt es sich um eine *in vitro* Amplifikationsmethode zur Vervielfältigung spezifischer DNA-Sequenzen (Mullis & Faloona, 1987; Saiki et al., 1988).

Das verwendete PCR-Protokoll bestand aus sechs Schritten (siehe Tabelle 6 und 7). Schritt zwei bis fünf wurden 35-mal wiederholt, um eine exponentielle Amplifikation zu erreichen.

1.Schritt: Initiale Denaturierung und Polymeraseaktivierung / 2. Schritt: Denaturierung

Zu Beginn der PCR wurde die DNA in ihre Einzelstränge denaturiert, um den Primern wie auch der Polymerase den Zugang zur DNA zu gewähren. Zudem wurde im ersten Schritt durch eine Temperatur von 95,0 C° die *Taq*-Polymerase aktiviert. Der PCR-Ansatz (siehe Tabelle 2) wurde daher initial für 5 min auf

95,0 °C erhitzt. In den darauffolgenden Zyklen war eine Denaturierung bei 95,0 °C von nur 45 s notwendig.

3. Schritt Primerhybridisierung

Damit die Polymerase den gewünschten DNA-Abschnitt vervielfältigen konnte, wurden zwei sequenzspezifische Primer (Oligonukleotide) benötigt, an deren Enden die Synthese eines neuen korrespondierenden DNA-Stranges begonnen wurde. Notwendig waren zwei Primer (Sigma-Aldrich Co. LLC., Steinheim, Deutschland). Nach Anlagerung der Primer an die jeweilige komplementäre DNA--Sequenz verlief die Synthese der neuen Stränge gegenläufig, ausgehend von beiden Primern stets vom 5`-Ende aus. Das Primerdesign war zuvor mittels Primer-Blast (National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine, Bethesda, Maryland, USA, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>). erfolgt. Als optimale Anlagerungstemperatur stellte sich 62,5 °C heraus. Die PCR-Lösungen wurden daher im 3. Schritt für 45 s auf 62,5 °C heruntergekühlt.

4.Schritt: Elongation

Nachdem sich die Primer an die jeweiligen DNA-Stränge anlegten, begann die von uns verwendete *Taq*-Polymerase nun mit der Herstellung des DNA-Stranges. Hierfür nutzte die Polymerase die in der PCR-Lösung enthaltenen Desoxyribonukleosidtriphosphate. Um eine maximale enzymatische Aktivität zu erhalten, wurde eine Temperatur von 72,0 °C benötigt. Bei der Länge der gewünschten DNA-Sequenz waren 45 s für den Elongationsvorgang desiderabel.

5. Schritt: Finale Elongation/ 6. Schritt: Pause

Es erfolgte erneut eine letzte Elongation. Am Ende wurde das PCR-Produkt (*amplicon*) auf 10,0 °C heruntergekühlt, um dessen Qualität nicht zu gefährden (Pause).

Tabelle 6: PCR-Protokoll für *DNMT3A* rs1465825

Schritt	Temperatur	Zeit	Zyklen
Initiale Denaturierung	95,0 °C	5 min	
/Polymeraseaktivierung			
Denaturierung	95,0 °C	45 sec	} 35x
Primerhybridisierung	62,5 °C	45 sec	
Elongation	72,0 °C	45 sec	
Finale Elongation	72,0 °C	5 min	
Pause	10,0 °C		

Tabelle 7: PCR-Komponenten für *DNMT3A* rs1465825

Komponente	Menge
Goldstar-DNA-PCR-Puffer	2,5 µl
MgCl ₂ 25 mM	1,0 µl
dNTPs je 2,5 mM	1,0 µl
Oligonukleotide: 5' <i>DNMT3A</i> -F: (10 pmol/µl)	1,0 µl
Oligonukleotide: 5' <i>DNMT3A</i> -R: (10 pmol/µl)	1,0 µl
<i>Taq</i> -Polymerase (5 Units)	0,3 µl
H ₂ O	17,2 µl
DNA-Template (10-50 ng/µl)	1,0 µl

Nach jeder durchgeführten PCR erfolgte eine stichprobenartige Kontrolle der PCR-Produkte mittel Gelelektrophorese (siehe unten). War die PCR erfolgreich, so wurden die Produkte dem Restriktionsverdau zugeführt.

2.3.4.2. Restriktionsverdau (*DNMT3A* rs1465825)

Mit Hilfe von Typ I | Restriktionsenzyme (Restriktionsendonukleasen) können Phosphodiesterase-bindungen an spezifischen Stellen der DNA hydrolisiert

werden (Arber, 1978). Restriktionsendonukleasen erkennen palindromische Sequenzen. Kommt es jedoch, so wie in dem von uns untersuchten *DNMT3A*-Gen, zu Einzelnukleotidpolymorphismen, welche in der Erkennungssequenz eines Restriktionsenzym liegen, kann das Enzym diese Sequenz nicht erkennen und folglich die DNA-Stränge nicht hydrolysieren. Liegt ein Einzelnukleotidpolymorphismus heterozygot vor, entstehen nach einem Restriktionsverdau drei unterschiedlich lange DNA-Sequenzen. Hierbei handelt es sich um ein längeres, ungeschnittenes und zwei kurze durch Hydrolyse entstandene DNA-Fragmente. Kommt der SNP jedoch homozygot vor, werden entweder beide Allele hydrolysiert und es entstehen zwei unterschiedlich lange Fragmente. Liegt das andere Allel homozygot vor kann keine Hydrolyse erfolgen und alle DNA-Fragmente bleiben gleich lang.

Im Fall des Einzelnukleotidpolymorphismuses rs1465825 des *DNMT3A*-Gens wurde in dieser Arbeit das Restriktionsenzym Afl I I verwendet. Dieses schneidet an der palindromischen Sequenz 5`-CTTAAG-3`. Es entstanden so Restriktionsprodukte mit einem 5`-Überhang (5`-sticky-End). Da bei C-Allelträgern folgende Sequenz vorhanden ist: 5`-CTCAAG-3`, konnte Afl I I diese nicht erkennen und hydrolysieren. So ergaben sich DNA-Fragmente unterschiedlicher Länge (siehe Tabelle 8).

Tabelle 8: Fragmentenlänge der rs1465825 Genotypen

Genotyp	Fragmentenlänge
T/T	212 bp, 118 bp
C/T	330 bp, 212 bp, 118 bp
C/C	330 bp

Die Auswahl des passenden Restriktionsenzym erfolgte mit Hilfe des NEBcutter V2.0 (New England Biolabs, Inc., Ipswich, Massachusetts, USA, <http://nc2.neb.com/NEBcutter2/>).

Pro DNA-Probe wurde der in Tabelle 9 beschriebene Reaktionsansatz hergestellt und für mindestens drei Stunden bei 37,0 °C inkubiert (Heraeus B 5042 E, Heraeus Holding GmbH, Hanau, Deutschland). Anschließend wurden 10 µl des

so erhaltenen Reaktionsansatzes mittels Gelelektrophorese aufgetrennt und anschließend durch Chemilumineszenz-Imaging analysiert (siehe 2.3.4.3).

Tabelle 9: Reaktionsansatz des Restriktionsverdau für *DNMT3A* rs1465825

Komponente	Menge
Restriktionsenzym Afl II	0,5 µl
CutSmart® Puffer	2,0 µl
ddH ₂ O	7,5 µl
Amplicon	10,0 µl

2.3.4.3. Agarosegelelektrophorese (*DNMT3A* rs1465825)

Die Agarosegelelektrophorese ist ein Verfahren zur Trennung geladener Moleküle entlang eines elektrischen Gradienten (Aaij & Borst, 1972; McDonell, Simon & Studier, 1977). Aufgrund der negativ geladenen Phosphatreste sind DNA-Fragmente Anionen. In einem elektrischen Feld wandern diese somit zur Anode. Durch das Auftragen des Reaktionsansatzes (siehe 2.3.4.2.) auf die Agarosegelmatrix erfolgte so eine Auftrennung der DNA-Fragmente nach deren Größe. Die Laufstrecke eines Moleküls ist umgekehrt proportional zu dem Logarithmus seiner Molekülmasse. Für die in dieser Arbeit zu untersuchenden DNA-Fragmente von 118 bis 330 bp ergab sich eine optimale Agarosekonzentration von 3 % und eine ideale Spannung von 120 V (El phor Powerpack P24, Biometra GmbH, Göttingen, Deutschland; E431/E844, Consort bvba, Turnhout, Belgien). Zudem wurde dem Agarosegel der Farbstoff Ethidiumbromid zugefügt (siehe Tabelle 10). Dieses interkalierte in die DNA, während die DNA-Fragmente entlang des elektrischen Feldes wanderten und ermöglichte im Anschluss die UV-photometrische Auswertung durch Fluoreszenz. Anschließend konnten anhand eines zusätzlich aufgetragenen Leiters (GeneRuler 100 bp-Marker, Thermo Fisher Scientific Inc, Waltham, Massachusetts, USA) die Längen der DNA-Fragmente abgelesen werden.

Die Komponenten des Agarosegels (siehe Tabelle 10) wurden durch Erhitzen für ca. 5 min in einer Mikrowelle gelöst (R-239 W, Sharp Electronics GmbH, Hamburg, Deutschland) gelöst. Anschließend kühlte die Mischung während

kontinuierlichen Rührens auf circa 60 °C ab. Erst dann wurden 80 µl Ethidiumbromidlösung (Ethidiumbromid-Lsg. 0,07 %, AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland) hinzugegeben und die flüssige Agarosemasse in die mit Elektrophoresekämmen bestückte Gießkammer (MultiCast™ Gelgießstand, PEQLAB Biotechnologie GmbH, Erlangen, Deutschland) gegossen. Ein Agarosegel konnte nach ca. 30 min Abkühlung verwendet werden. Die Auftrennung erfolgte mittels horizontaler Gelelektrophorese (PerfectBlue™ Gelsystem Mini L, PEQLAB Biotechnologie GmbH, Erlangen, Deutschland) innerhalb von etwa 15 min in TAE-Puffer. Es wurden jeweils pro Geltasche 7 µl des Reaktionsansatzes (siehe 2.3.4.2.) zusammen mit 3 µl Gel-Ladepuffer (DNA Gel Loading Dye (6X), Thermo Fisher Scientific Inc, Waltham, Massachusetts, USA) zur optischen Diskriminierung aufgetragen.

Tabelle 10: Komponenten des verwendeten Agarosegels

Komponente	Menge
Agarose LE	3 g
TAE-Puffer	100 ml
Ethidiumbromid-Lsg. 0,07 %	80 µl

2.3.4.4. Geldokumentation und Auswertung

Nachdem die DNA-Fragmente im elektrischen Feld aufgetrennt wurden, konnte das zwischen den Basen interkalierte Ethidiumbromid mit Hilfe von UV-Licht sichtbar gemacht und das Fluoreszenzmuster durch ein Chemilumineszenz-/Fluoreszenzsystem (Fusion FX6 Spectra, VILBER LOURMAT Deutschland GmbH, Eberhardzell, Deutschland) detektiert werden. Die anschließende Auswertung der Messdaten und die damit verbundene Diskriminierung der vorliegenden Allele erfolgte mittels spezieller Software zur Fluoreszenzdarstellung (Evolution-CAPT for Fusion FX6, VILBER LOURMAT Deutschland GmbH, Eberhardzell, Deutschland) (siehe Abbildung 3).

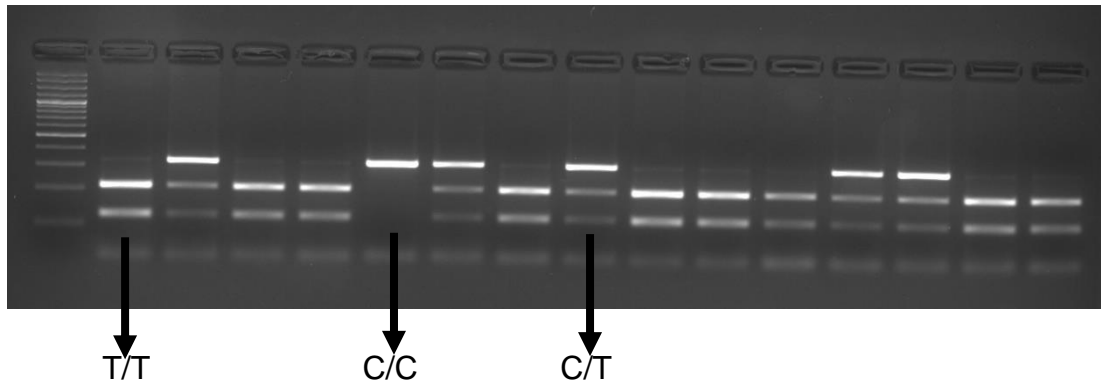


Abbildung 3: Beispiel einer Geldokumentation von *DNMT3A* rs1465825 und dessen Allele. T: T-Allel; C: C-Allel.

2.3.4.5. KASP™-Assay (*DNMT3A* rs11683424 und rs1465764 sowie *DNMT3B* rs2424932 und rs4911259)

Die allelische Diskriminierung von rs11683424 und rs1465764 des *DNMT3A*-Gens wie auch von rs2424932 und rs4911259 des *DNMT3B*-Gens wurden mit dem KASP™ Genotypisierungs-Assays (LGC Limited, Hoddesdon, Grossbritannien) durchgeführt. KASP™ steht für kompetitives Allel-spezifisches PCR-Genotypisierungssystem und stellt ein Fluoreszenz basiertes Detektionssystem dar, um SNP-Varianten mittels quantitativer Echtzeit-PCR zu bestimmen (He, Holme & Anthony, 2014). Dieses Detektionssystem beruht auf dem sogenannten Förster-Resonanzenergietransfer (FRET), auch als Fluoreszenz-Resonanzenergietransfer bezeichnet (LGC Limited, 2013; Sapsford, Berti & Medintz, 2006). Bei diesem physikalischen Phänomen kommt es zu einer strahlungslosen Übertragung von Energie zwischen einem angeregten Fluorophor (Donor) und einem weiteren Fluorophor (Akzeptor) im Rahmen einer Dipol-Dipol-Wechselwirkung (Lakowicz, 2006; Sapsford et al., 2006). Der Akzeptor geht so in einen angeregten Zustand über und emittiert Photonen. Der Akzeptor muss nicht notgedrungen ein Fluorophor sein. Voraussetzung ist, dass die Emissionsbande des Donors mit der Absorptionsbande des Akzeptors übereinstimmt und sich beide in räumlicher Nähe zueinander befinden. Beträgt der Abstand von Donor und Akzeptor mehr als 10 nm ist eine FRET wenig wahrscheinlich (Sapsford et al., 2006). Ist der Akzeptor selber kein Fluorophor, so wird er auch als Fluoreszenz-auslöser

(*dark quencher*) bezeichnet, da er die Emission des Donors unterbindet (Didenko, 2001). Im KASP™ Assay Master mix liegen zwei Fluorophoren (FAM™ und HEX™) jeweils gepaart mit einem Fluoreszenzauslöser vor. Es folgt eine Beschreibung des Vorgehens und der Komponenten (LGC Limited, 2013).

Das verwendete KASP™-Gemisch bestand aus dem KASP™ Assay Master mix, dem KASP™ Assay mix, destilliertem Wasser sowie der zu untersuchenden DNA. IM KASP™ Assay Master mix waren zwei Oligonukleotide enthalten, an deren 5`-Enden jeweils ein Fluorophor gebunden war, entweder 6-Carboxyfluorescein (FAM™) oder Hexachlorfluorescein (HEX™). Beide Fluorophor-gekennzeichneten Oligonukleotide befanden sich in einer Basenpaarbindung mit einem weiteren Oligonukleotid, das am Ende einen Fluoreszenzauslöser aufwies und somit die Fluoreszenz von FAM™ und HEX™ unterband, solange die beiden korrespondierenden Oligonukleotide verbunden waren. Darüber hinaus waren die KASP™-*Taq*-Polymerase, Puffer-Lösungen (50mM MgCl₂, Dimethylsulfoxid), Nukleotide und der passive Referenzfarbstoff 5-Carboxy-X-Rhodamin, N-Succinimidylester (ROX), Bestandteile des Mastermix. Der KASP™ Assay mix beinhaltete einen Rückwärtsprimer sowie zwei allelspezifische Vorwärtsprimer, die jeweils spezifisch für einen der beiden vorliegenden SNP-Varianten waren, und zudem am 5`-Ende eine spezielle zusätzliche Basenpaarfolge aufwiesen.

Das Prinzip des KASP™-Assays gleicht dem oben beschriebenen Verfahren der Polymerasekettenreaktion. Im ersten Schritt wurden die DNA-Doppelstränge denaturiert um eine darauffolgende Primeranlagerung zu gewährleisten, sowie um die Polymerase zu aktivieren. Da es sich beim KASP™ Assay um eine kompetitive PCR handelt, banden die beiden Vorwärtsprimer allelspezifisch. Der enthaltende Rückwärtsprimer lagerte sich allelunspezifisch an. Nun konnten von den Primern ausgehend die DNA-Stränge durch die KASP™-*Taq*-Polymerase vervollständigt werden. Konnten die allelspezifischen Primer an die Probanden-DNA binden, wurden sie in einen der neuen DNA-Einzelstränge inkorporiert. In folgenden PCR-Zyklen wurden nach wiederholter Denaturierung zu den 5`-Enden der Vorwärtsprimer komplementäre DNA-Abschnitte generiert (von LGC als X-Komponenten bezeichnet), welche ebenfalls komplementär zu der

Basenpaarfolge der FAMTM- oder HEXTM-tragenden Oligonukleotide waren. Daher erfolgte im Verlauf weiterer Zyklen eine Anlagerung der Fluorophor-tragenden Oligonukleotide an die passenden X-Komponenten. Bei jedem weiteren PCR-Zyklus stieg die Anzahl der DNA-Stränge, die ein FAMTM- oder HEXTM-Ende besaßen (sogenannte FRET-Kassetten), exponentiell an. Die Fluoreszenzauslöschung, welche zuvor durch die Bindung an den jeweiligen *quencher* vermittelt worden war, wurde so aufgehoben. Nach Beendigung der PCR kam es zur Abkühlung des PCR-Gemisches. Konnten FRET-Kassetten nicht an komplementäre X-Komponenten binden, so verbanden sie sich bedingt durch den Temperaturabfall erneut mit der *quencher*-Sequenz und eine Fluoreszenz wurde unterbunden. Anschließend wurde die von den Fluorophoren emittierte Wellenlänge erfasst.

Konnten entweder FAMTM-oder HEXTM- Oligonukleotide inkorporiert werden, so wurde nur eine Emissionswellenlänge gemessen. Daraus konnte geschlossen werden, dass eine SNP-Variante homozygot vorlag. Kam es zur Detektion zweier unterschiedlicher Wellenlängen, war der Proband heterozygot für die Allele.

Die Durchführung der KASPTM Assays erfolgte mittels eines *real-time*-Detektionssystems (CFX384 C1000/CFX384 C1000 Touch, Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, Kalifornien, USA) in 384-Well-PCR-Platten (Brand GmbH & Co KG, Wertheim, Deutschland). Es wurde dem von LGC Limited vorgegebenen PCR-Protokoll gefolgt (LGC Limited, 2014) (siehe Tabelle 10 und 11). Im Anschluss an jede PCR wurde ein Recycling-Programm zum Ausgleich von Messunterschieden aufgrund von variablen DNA-Qualitäten und Konzentrationen der einzelnen Proben durchgeführt. Am Ende des Recycling-Programms stand die Abkühlung des PCR-Gemisches auf 30 °C um eine Wellenlängenbestimmung durchführen zu können.

Tabelle 11: Komponenten des KASPTM Assays

Komponente	Menge
KASP TM Assay Master mix	5 µl
KASP TM Assay mix	0,14 µl

ddH ₂ O	2,5 µl
DNA-Template (10-50 ng/µl)	2,5 µl

Tabelle 12: PCR-Protokoll des KASP™ Assays für *DNMT3A* rs11683424 und rs1465764 sowie *DNMT3B* rs2424932 und rs4911259

Schritt	Temperatur	Zeit	Zyklen
Initiale Denaturierung /Polymeraseaktivierung	94,0 °C	15 min	1
Denaturierung	94,0 °C	20 sec	10
Primerhybridisierung /Elongation	61,0-55,0 °C (pro Zyklus Reduktion um 0,06 °C)	60 sec	
Denaturierung	94 °C	20 sec	26
Primerhybridisierung /Elongation	55 °C	60 sec	
Recycling-Programm	1. 94,0 °C	20 sec	3
	2. 57,0 °C	60 sec	
	3. 30,0 °C	60 sec	

2.3.5. Statistische Auswertung

Vor der Durchführung der statistischen Auswertung, welche mittels PLINK v1.9 (Purcell, 2014; Purcell et al., 2007) sowie R v2.15.2 (Ihaka & Gentleman, 1996; R Core Team, 2014) erfolgte, wurde die Qualität der Genotypisierungen überprüft: Alle in der gesunden Probandengruppe untersuchten Allele befanden sich im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht ($p \geq 0,05$). In der Gesamtstichprobe lag die Genotypisierungsrate bei $\geq 90\%$ und die *minor*-Allel-Frequenz (MAF) bei $> 0,05$. Um eine Normalverteilung der dimensional Variablen/Daten zu gewährleisten, wurden alle Extremwerte, welche außerhalb der dreifachen Standardabweichung des jeweiligen Mittelwertes lagen, von der Analyse ausgeschlossen.

Für die Analyse der Kopplungsungleichgewicht (LD)-Musters und der Darstellung der Haplotyp-Blöcke wurde Haploview V4.1 genutzt (Barrett, Fry, Maller & Daly, 2005; Broad Institute of MIT and Harvard, 2006)

Anschließend erfolgte die statistische Auswertung der dimensionalen Daten mittels einer linearen Regressionsanalyse im additiv allelischen Modell. Um den Einfluss von Alter und Geschlecht auf das Ergebnis ausschließen zu können, wurden beide Faktoren als Kovariablen verwendet. Die Fall-Kontroll-Untersuchung und die Berechnungen der Haplotypen-Assoziationen erfolgten anhand logistischer Regression. Alter und Geschlecht wurden auch hierbei als Kovariablen berücksichtigt.

Zur Adjustierung einer α -Fehler-Kumulierung erfolgte die Korrektur aller Ergebnisse nach Bonferroni für die Anzahl der getesteten SNPs (x5) und Haplotypen (x6). Das einfache Signifikanzniveau wurde auf $p < 0,05$ festgelegt. Alle beschriebenen Analysen wurden jeweils für die Gesamtstichprobe, als auch gesondert für die einzelnen Rekrutierungsperioden und für das Geschlecht gesondert durchgeführt. Die Daten der gesunden Kontroll-Gruppe wurden zudem in einer weiteren Analyse neben Alter und Geschlecht für den Raucherstatus korrigiert. Informationen zum Raucherstatus lagen vollständig in der 2. Rekrutierungsperiode und teilweise in der 1. Rekrutierungsperiode der gesunden Kontrollgruppe vor (siehe Tabelle 3).

Die Berechnung der Teststärke erfolgte mit G*Power v3.1.9.4. (Faul, Erdfelder, Buchner & Lang, 2009, 2019)

In der Fall-Kontroll-Gruppe konnte anhand eines Wilcoxon-Mann-Whitney-Tests in der ersten Rekrutierungsperiode eine Teststärke von 39 %, in der zweiten eine von 28 % und in der Gesamtstichprobe eine von 59 % erreicht werden, um SNPs mit einer geringen Effektstärke von $d = 0,2$ zu detektieren.

Für die dimensionalen Daten der Panikpatienten bzw. der gesunden Kontrollprobanden ergaben sich folgende Teststärken, um einen Genotypeneffekt mit einer Effektstärke von $d = 0,2$ detektieren zu können: 91 % und 99 % in der ersten Rekrutierungsperiode, 81 % und 99 % in der zweiten Rekrutierungsperiode und 98 % bzw. 99 % in der jeweiligen Gesamtstichprobe.

3. Ergebnisse

Die gewonnenen Genotypisierungsdaten wie auch die Fragebögenergebnisse wurden Assoziationsanalysen und Haplotypenanalysen zugeführt und für Alter, Geschlecht und in der Stichprobe der gesunden Probanden für Nikotinkonsum korrigiert. Zudem wurde eine deskriptive Statistik erstellt (wie teilweise beschrieben in (Berking et al., 2020)).

3.1. DNMT3A

3.1.1. Fall-Kontroll-Berechnungen

In den logistischen Regressionsanalysen, in die Daten von jeweils 506 Patienten und gesunden Probanden einfließen, bestand, auch nach Geschlecht stratifizierter Betrachtung, keinerlei signifikanter Unterschied zwischen den gesunden Probanden und den an einer Panikstörung leidenden Patienten (siehe Tabelle 13-15). In den Haplotypenanalysen konnten ebenfalls keine signifikanten Assoziationen berechnet werden. (siehe Tabelle 16-18).

Zwei der drei untersuchten SNPs (rs11683424, rs1465764) des *DNMT3A*-Gens zeigten ein deutliches Kopplungsungleichgewicht, das die Darstellung eines Haplotypenblocks ermöglichte (siehe Abbildung 4).

Tabelle 13: Fall-Kontroll-Berechnungen *DNMT3A*. SNP ID: Einzelnukleotidpolymorphismus, m/M: *minor/major* Allel, N (m/M): *minor/major*- Allelanzahl, OR: Odds-Ratio, Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben. Die Regression bezieht sich auf das *minor* Allel.

SNP ID	m/M	N (m/M)	1. Rekrutierungs- periode		2. Rekrutierungs- periode		Gesamtstich- probe	
			OR	P (B)	OR	P (B)	OR	P (B)
rs1465825	C/T	149/403	1,10	0,541 (1)	1,22	0,276 (1)	1,19	0,132 (0,675)
rs11683424	T/C	118/440	1,20	0,262 (1)	1,01	0,961 (1)	1,07	0,550 (1)
rs1465764	T/A	37/513	1,13	0,631 (1)	1,44	0,195 (0,973)	1,21	0,288 (1)

Tabelle 14: Fall-Kontroll-Berechnungen für weibliche Probanden *DNMT3A*. SNP ID: Einzelnukleotidpolymorphismus, m/M: *minor/major* Allel, N (m/M): *minor/major*- Allelanzahl, OR: Odds-Ratio, Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben. Die Regression bezieht sich auf das *minor* Allel.

SNP ID	m/M	N (m/M)	1. Rekrutierungsperiode		2. Rekrutierungsperiode		Gesamtstichprobe	
			OR	P (B)	OR	P (B)	OR	P (B)
rs1465825	C/T	114/294	1,12	0,527 (1)	1,32	0,220 (1)	1,26	0,092 (0,458)
rs11683424	T/C	84/328	1,21	0,317 (1)	0,83	0,354 (1)	0,96	0,782 (1)
rs1465764	T/A	28/378	1,11	0,723 (1)	0,953	0,886 (1)	1,03	0,885 (1)

Tabelle 15: Fall-Kontroll-Berechnungen für männliche Probanden *DNMT3A*. SNP ID: Einzelnukleotidpolymorphismus, m/M: *minor/major* Allel, N (m/M): *minor/major*- Allelanzahl, OR: Odds-Ratio, Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben. Die Regression bezieht sich auf das *minor* Allel.

SNP ID	m/M	N (m/M)	1. Rekrutierungsperiode		2. Rekrutierungsperiode		Gesamtstichprobe	
			OR	P (B)	OR	P (B)	OR	P (B)
rs1465825	C/T	35/109	1,01	0,964 (1)	1,07	0,824 (1)	1,03	0,903 (1)
rs11683424	T/C	34/112	1,25	0,477 (1)	1,49	0,183 (0,917)	1,40	0,115 (0,573)
rs1465764	T/A	9/135	1,04	0,934 (1)	3,82	0,022 (0,109)	1,64	0,134 (0,672)

Tabelle 16: Haplotypenanalyse des *DNMT3A*-Gens in der Fall-Kontroll-Stichprobe. Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben.

Haplotyp		1. Rekrutierungsperiode			2. Rekrutierungsperiode			Gesamtstichprobe		
rs11683424	rs1465764	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)
C	T	0,067	1,14	0,596 (1)	0,067	1,50	0,147 (0,882)	0,067	1,25	0,230 (1)
T	A	0,199	1,18	0,315 (1)	0,202	1,01	0,964 (1)	0,200	1,06	0,596 (1)
C	A	0,734	0,83	0,222 (1)	0,731	0,88	0,395 (1)	0,733	0,88	0,241 (1)

Tabelle 17: Haplotypenanalyse des *DNMT3A*-Gens in der weiblichen Fall-Kontroll-Stichprobe. Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter p -Wert. Signifikante p -Werte sind dick hervorgehoben.

Haplotyp		1. Rekrutierungsperiode			2. Rekrutierungsperiode			Gesamtstichprobe		
rs11683424	rs1465764	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)
C	T	0,065	1,15	0,651 (1)	0,070	0,99	0,986 (1)	0,067	1,07	0,766 (1)
T	A	0,195	1,18	0,397 (1)	0,214	0,83	0,353 (1)	0,202	0,95	0,702 (1)
C	A	0,740	0,83	0,303 (1)	0,716	1,18	0,385 (1)	0,731	1,02	0,857 (1)

Tabelle 18: Haplotypenanalyse des *DNMT3A*-Gens in der männlichen Fall-Kontroll-Stichprobe. Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter p -Wert. Signifikante p -Werte sind dick hervorgehoben.

Haplotyp		1. Rekrutierungsperiode			2. Rekrutierungsperiode			Gesamtstichprobe		
rs11683424	rs1465764	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)
C	T	0,072	1,01	0,987 (1)	0,063	4,02	0,017 (0,104)	0,068	1,64	0,133 (0,798)
T	A	0,209	1,27	0,446 (1)	0,180	1,49	0,183 (1)	0,194	1,41	0,106 (0,636)
C	A	0,719	0,83	0,492 (1)	0,757	0,50	0,012 (0,069)	0,738	0,64	0,021 (0,124)

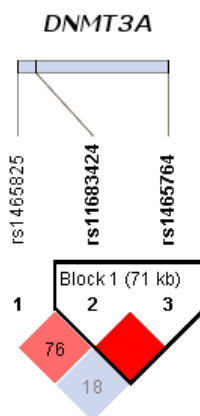


Abbildung 4: Kopplungsungleichgewicht (LD)- Plot des *DNMT3A*-Gens in der Gesamtstichprobe der Fall-Kontroll-Gruppe (N=506). LD ist abgebildet als *D'prime*-Haplotypenblöcke, definiert nach der *solid spine Methode* von Haploview (Broad Institute of MIT and Harvard, 2006)

3.1.2. Panikpatienten

In der Stichprobe der Panikpatienten, welche Daten von insgesamt 506 Patienten beinhaltet, konnten keinerlei signifikante Assoziationen zwischen den dimensional Daten des ASI und ACQ oder den Haplotypen und den untersuchten SNPs des *DNMT3A*-Gens (rs1465825, rs11683424, rs1465764) dokumentiert werden (siehe Tabelle 19, 22). Dies änderte sich auch nach einer gesonderten geschlechtsspezifischen Betrachtung der Daten nicht (siehe Tabelle 20, 21, 23, 24).

Tabelle 19: Panikpatienten *DNMT3A*. SNP ID: Einzelnukleotidpolymorphismus, m/M: *minor/major* Allel, N (m/M): *minor/major*- Allelanzahl, Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben. Die Regression bezieht sich auf das *minor* Allel.

SNP ID	m/M	N (m/M)	N	1. Rekrutierungsperiode		2. Rekrutierungsperiode		Gesamtstichprobe	
				Beta	P (B)	Beta	P (B)	Beta	P (B)
<i>Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)</i>									
rs1465825	C/T	186/536	361	-0,07	0,246 (1)	0,08	0,438 (1)	-0,04	0,484 (1)
rs11683424	T/C	158/588	373	0,03	0,591 (1)	-0,12	0,197 (1)	-0,02	0,750 (1)
rs1465764	T/A	48/698	373	0,60	0,751 (1)	-0,73	0,703 (1)	0,04	0,975 (1)
<i>Anxiety Sensitivity Index (ASI)</i>									
rs1465825	C/T	226/650	438	-0,69	0,553 (1)	0,60	0,673 (1)	-0,19	0,834 (1)
rs11683424	T/C	197/717	457	1,06	0,383 (1)	0,34	0,799 (1)	0,76	0,401 (1)
rs1465764	T/A	67/855	461	0,60	0,751 (1)	-0,73	0,703 (1)	0,04	0,975 (1)

Tabelle 20: Weibliche Panikpatienten *DNMT3A*. SNP ID: Einzelnukleotidpolymorphismus, m/M: *minor/major* Allel, N (m/M): *minor/major*- Allelanzahl, Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben. Die Regression bezieht sich auf das *minor* Allel.

SNP ID	m/M	N (m/M)	N	1. Rekrutierungsperiode		2. Rekrutierungsperiode		Gesamtstichprobe	
				Beta	P (B)	Beta	P (B)	Beta	P (B)
<i>Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)</i>									
rs1465825	C/T	135/381	258	-0,07	0,153 (0,763)	-0,01	0,946 (1)	-0,09	0,146 (0,731)

rs11683424	T/C	103/429	266	0,02	0,768 (1)	-0,17	0,95 (1)	-0,04	0,496 (1)
rs1465764	T/A	34/498	266	0,02	0,859 (1)	0,04	0,839 (1)	0,03	0,762 (1)
Anxiety Sensitivity Index (ASI)									
rs1465825	C/T	162/458	310	-1,70	0,211 (1)	-0,40	0,816 (1)	-1,20	0,257 (1)
rs11683424	T/C	131/513	322	0,55	0,711 (1)	0,26	0,869 (1)	0,38	0,721 (1)
rs1465764	T/A	44/604	324	0,87	0,700 (1)	-1,45	0,561(1)	-0,06	0,973 (1)

Tabelle 21: Männliche Panikpatienten *DNMT3A*. SNP ID: Einzelnukleotidpolymorphismus, m/M: *minor/major* Allel, N (m/M): *minor/major*- Allelanzahl, Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben. Die Regression bezieht sich auf das *minor* Allel.

SNP ID	m/M	N (m/M)	N	1. Rekrutierungs- periode		2. Rekrutierungs- periode		Gesamtstich- probe	
				Beta	P (B)	Beta	P (B)	Beta	P (B)
Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)									
rs1465825	C/T	51/155	103	0,03	0,790 (1)	0,20	0,272 (1)	0,09	0,307 (1)
rs11683424	T/C	55/159	107	0,07	0,500 (1)	0,03	0,884 (1)	0,04	0,628 (1)
rs1465764	T/A	14/200	107	0,02	0,859 (1)	0,04	0,839 (1)	0,03	0,762 (1)
Anxiety Sensitivity Index (ASI)									
rs1465825	C/T	64/192	128	2,31	0,313 (1)	2,44	0,340 (1)	2,43	0,149 (1)
rs11683424	T/C	66/204	135	2,60	0,233 (1)	0,77	0,769 (1)	1,67	0,315 (1)
rs1465764	T/A	23/251	137	-1,21	0,723 (1)	0,16	0,960 (1)	0,08	0,972 (1)

Tabelle 22: Haplotypenanalyse des *DNMT3A*-Gens in der Gesamtstichprobe der Panikpatienten. Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben.

Haplotyp		1. Rekrutierungsperiode			2. Rekrutierungs- periode			Gesamtstichprobe		
rs11683424	rs1465764	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)
Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)										
C	T	0,067	-0,01	0,918 (1)	0,081	0,15	0,351 (1)	0,073	0,04	0,658 (1)
T	A	0,211	0,04	0,547 (1)	0,204	-0,12	0,202 (1)	0,208	-0,01	0,799 (1)

C	A	0,722	-0,03	0,618 (1)	0,715	0,06	0,488 (1)	0,719	0,00	0,994 (1)
Anxiety Sensitivity Index (ASI)										
C	T	0,067	0,60	0,751 (1)	0,081	-0,48	0,804 (1)	0,073	0,15	0,912 (1)
T	A	0,211	1,34	0,270 (1)	0,204	0,09	0,950 (1)	0,208	0,79	0,376 (1)
C	A	0,722	-1,33	0,231 (1)	0,715	0,12	0,923 (1)	0,719	-0,70	0,386 (1)

Tabelle 23: Haplotypenanalyse des *DNMT3A*-Gens in der Gruppe der weiblichen Panikpatienten. Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben.

Haplotyp		1. Rekrutierungsperiode			2. Rekrutierungsperiode			Gesamtstichprobe		
rs11683424	rs1465764	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)
Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)										
C	T	0,069	0,02	0,859 (1)	0,069	0,01	0,960 (1)	0,069	0,03	0,801 (1)
T	A	0,202	0,02	0,754 (1)	0,199	-0,17	0,099 (0,596)	0,201	-0,04	0,519 (1)
C	A	0,729	-0,03	0,701 (1)	0,732	0,15	0,132 (0,792)	0,730	0,03	0,647 (1)
Anxiety Sensitivity Index (ASI)										
C	T	0,069	0,87	0,700 (1)	0,069	-1,11	0,657 (1)	0,069	0,09	0,958 (1)
T	A	0,202	0,71	0,635 (1)	0,199	-0,09	0,952 (1)	0,201	0,31	0,772 (1)
C	A	0,729	-0,88	0,510 (1)	0,732	0,44	0,758 (1)	0,730	-0,29	0,769 (1)

Tabelle 24: Haplotypenanalyse des *DNMT3A*-Gens in der Gruppe der männlichen Panikpatienten. Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben.

Haplotyp		1. Rekrutierungsperiode			2. Rekrutierungsperiode			Gesamtstichprobe		
rs11683424	rs1465764	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)
Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)										
C	T	0,063	-0,11	0,476 (1)	0,103	0,38	0,207 (1)	0,082	0,05	0,699 (1)
T	A	0,236	0,08	0,425 (1)	0,213	0,03	0,884 (1)	0,225	0,05	0,580 (1)
C	A	0,701	-0,03	0,734 (1)	0,684	-0,12	0,434 (1)	0,693	-0,06	0,462 (1)

Anxiety Sensitivity Index (ASI)										
C	T	0,063	-1,21	0,723 (1)	0,103	0,16	0,960 (1)	0,082	0,14	0,951 (1)
T	A	0,236	3,26	0,114 (0,684)	0,213	0,77	0,769 (1)	0,225	1,96	0,225 (1)
C	A	0,701	-2,48	0,202 (1)	0,684	-0,61	0,780 (1)	0,693	-1,63	0,260 (1)

3.1.3. Gesunde Probanden

In die Analyse der gesunden Probanden konnten Daten von insgesamt 3112 Personen eingeschlossen werden. In der Gesamtstichprobe, wie auch in der 1. und 2. Rekrutierungsperiode, wies der SNP rs1465764 des *DNMT3A*-Gens vornehmlich nominal signifikante Assoziationen auf (siehe Tabelle 25). Der Regressionskoeffizient β aller nominal signifikanten und signifikanten Werte war negativ. Dies lässt darauf schließen, dass in der Stichprobe der gesunden Probanden mit jedem minor Allel die Scores der Fragebögen geringer ausfallen, und zwar um den Faktor des β Regressionskoeffizienten.

Nur die p -Werte für rs1465764 in der Gesamtstichprobe in Assoziation mit den Ergebnissen des PSWQ (siehe Abbildung 5) und in der 2. Rekrutierungsperiode in Assoziation mit dem *Outcome* des ASI (siehe Abbildung 6) erwiesen sich auch nach der Korrektur nach Bonferroni als signifikant (PSWQ Gesamtstichprobe: $p_{nominal} = 0,001$, $p_{korrigiert} = 0,006$, ASI 2. Rekrutierungsperiode $p_{nominal} = 0,006$, $p_{korrigiert} = 0,031$).

Die anderen p -Werte des SNP rs1465764 erwiesen sich nach Bonferroni-Korrektur als nominal signifikant (PSWQ 1. Rekrutierungsperiode: $p_{nominal} = 0,018$, $p_{korrigiert} = 0,888$; PSWQ 2. Rekrutierungsperiode: $p_{nominal} = 0,025$, $p_{korrigiert} = 0,127$; ACQ 2. Rekrutierungsperiode: $p_{nominal} = 0,018$, $p_{korrigiert} = 0,089$; ACQ Gesamtstichprobe: $p_{nominal} = 0,018$, $p_{korrigiert} = 0,091$) (siehe Abbildung 7-10). Bei geschlechtsspezifischer Betrachtung der Daten, war zu erkennen, dass in der Gruppe der weiblichen gesunden Probanden erneut der Einzelnukleotidpolymorphismus rs1465764 nominal signifikant war, jedoch nur in der 2. Rekrutierungsperiode ($p_{nominal} = 0,036$, $p_{korrigiert} = 0,179$) und in der

Gesamtstichprobe ($p_{nominal} = 0,013$, $p_{korrigiert} = 0,063$) in Assoziation mit den Ergebnissen des PSWQ (siehe Tabelle 26, Abbildung 11 und 12). Auch die männlichen Probanden wiesen für den SNP rs1465764 in Assoziation mit dem ASI in der 2. Rekrutierungsperiode ($p_{nominal} = 0,030$, $p_{korrigiert} = 0,150$) und in der Gesamtstichprobe ($p_{nominal} = 0,039$, $p_{korrigiert} = 0,195$) nach der Korrektur nach Bonferroni nur noch nominal signifikante Werte auf (siehe Tabelle 27, Abbildung 13 und 14). In Assoziation mit dem PSWQ konnte nach Bonferroni-Korrektur ebenfalls für die männliche Gesamtstichprobe nur ein nominales Signifikanzniveau ($p_{nominal} = 0,046$, $p_{korrigiert} = 0,231$) detektiert werden (siehe Abbildung 15).

In den Haplotypenanalysen konnte eine signifikante Assoziation zwischen dem Haplotypen CT des *DNMT3A*-Gens und den Ergebnissen des ASI in der 2. Rekrutierungsperiode nach der Korrektur für multiples Testen berechnet werden ($p_{korrigiert} = 0,030$) (siehe Tabelle 31). Es zeigten sich nach Bonferroni-Korrektur nominale Assoziationen zwischen den Ergebnissen des ACQ (2.Rekrutierungsperiode: $p_{nominal} = 0,022$, $p_{korrigiert} = 0,130$; Gesamtstichprobe: $p_{nominal} = 0,041$, $p_{korrigiert} = 0,246$) und des PSWQ (2.Rekrutierungsperiode: $p_{nominal} = 0,038$, $p_{korrigiert} = 0,227$; Gesamtstichprobe: $p_{nominal} = 0,010$, $p_{korrigiert} = 0,059$) mit dem Haplotypen CT des *DNMT3A*-Gens (siehe Tabelle 31).

Eine nach Geschlecht gesondert durchgeführte Haplotypenanalyse erbrachte in der Gruppe der weiblichen Kontrollprobanden eine nominal signifikante Assoziation zwischen dem *DNMT3A*-Haplotypen CA und den Fragebögenenergebnissen des ASI in der 1. Rekrutierungsperiode ($p_{nominal} = 0,024$, $p_{korrigiert} = 0,145$) und zwischen dem *DNMT3A*-Haplotypen CT und den Ergebnissen des PSWQ in der 2. Rekrutierungsperiode ($p_{nominal} = 0,046$, $p_{korrigiert} = 0,278$) und der Gesamtstichprobe ($p_{nominal} = 0,019$, $p_{korrigiert} = 0,116$) (siehe Tabelle 32).

Nach Korrektur der Daten für den Raucherstatus zeigten die p -Werte der Regressions- und Haplotypenanalysen nur eine geringe Abweichung von den nicht für den Raucherstatus korrigierten Daten der gesunden Kontrollgruppe mit

der Tendenz zu einer geringeren Signifikanz vornehmlich in der Gruppe der weiblichen Probanden (siehe Tabelle 28, 29, 30, 34, 35, 36).

Tabelle 25: Gesunde Probanden *DNMT3A*. SNP ID: Einzelnukleotidpolymorphismus, m/M: *minor/major* Allel, N (m/M): *minor/major*-Allelanzahl, Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben. Die Regression bezieht sich auf das *minor* Allel.

SNP ID	m/M	N (m/M)	N	1. Rekrutierungsperiode		2. Rekrutierungsperiode		Gesamtstichprobe	
				Beta	P (B)	Beta	P (B)	Beta	P (B)
<i>Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)</i>									
rs1465825	C/T	1333/4481	2907	0,00	0,638 (1)	0,02	0,098 (0,492)	0,01	0,459 (1)
rs11683424	T/C	1085/4829	2957	0,00	0,906 (1)	0,00	0,973 (1)	0,00	0,960 (1)
rs1465764	T/A	360/5590	2975	-0,02	0,333 (1)	-0,04	0,018 (0,089)	-0,03	0,018 (0,091)
<i>Anxiety Sensitivity Index (ASI)</i>									
rs1465825	C/T	1316/4432	2906	0,31	0,257 (1)	-0,47	0,131 (0,657)	-0,07	0,749 (1)
rs11683424	T/C	1077/4773	2956	0,25	0,374 (1)	0,10	0,771 (1)	0,16	0,451 (1)
rs1465764	T/A	356/5528	2974	0,03	0,955 (1)	-1,44	0,006 (0,031)	-0,67	0,056 (0,28)
<i>Penn State Worry Questionnaire (PSWQ)</i>									
rs1465825	C/T	1366/4588	2874	-0,27	0,513 (1)	0,04	0,931 (1)	-0,13	0,674 (1)
rs11683424	T/C	1109/4945	2925	0,85	0,049 (0,245)	-0,27	0,571 (1)	0,32	0,310 (1)
rs1465764	T/A	369/5719	2942	-1,66	0,018 (0,088)	-1,69	0,025 (0,127)	-1,67	0,001 (0,006)

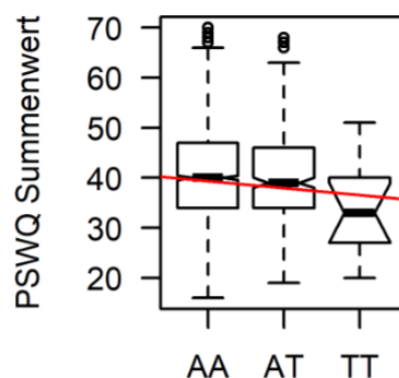


Abbildung 5: Boxplot der PSWQ-Summenwerte in Abhängigkeit der Genotypen des *DNMT3A*-Gens bezüglich des SNP rs1465764 der gesunden Gesamtstichprobe. A: *major* Allel; T: *minor* Allel; -: Regressionsgerade.

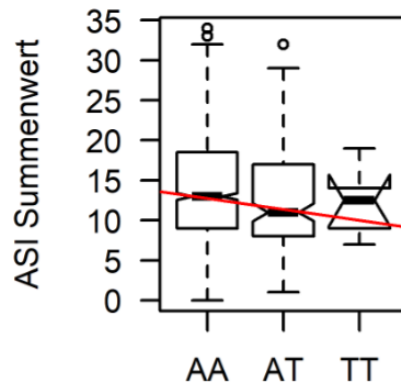


Abbildung 6: Boxplot der ASI-Summenwerte in Abhängigkeit der Genotypen des *DNMT3A*-Gens bezüglich des SNP rs1465764 der gesunden Probanden der 2. Rekrutierungsperiode. A: *major* Allel; T: *minor* Allel; -: Regressionsgerade.

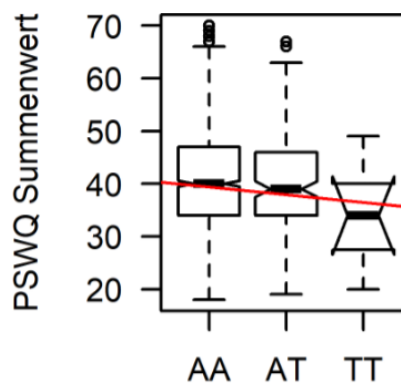


Abbildung 7: Boxplot der PSWQ-Summenwerte in Abhängigkeit der Genotypen des *DNMT3A*-Gens bezüglich des SNP rs1465764 der gesunden Probanden der 1. Rekrutierungsperiode. A: *major* Allel; T: *minor* Allel; -: Regressionsgerade.

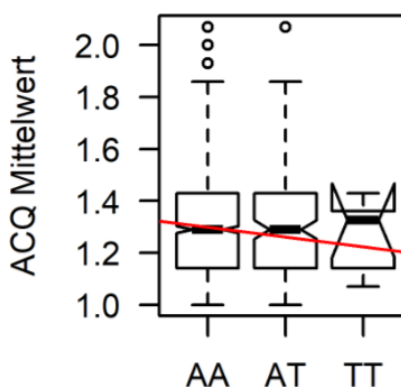


Abbildung 8: Boxplot der ACQ-Mittelwerte in Abhängigkeit der Genotypen des *DNMT3A*-Gens bezüglich des SNP rs1465764 der gesunden Probanden der 2. Rekrutierungsperiode. A: *major* Allel; T: *minor* Allel; -: Regressionsgerade.

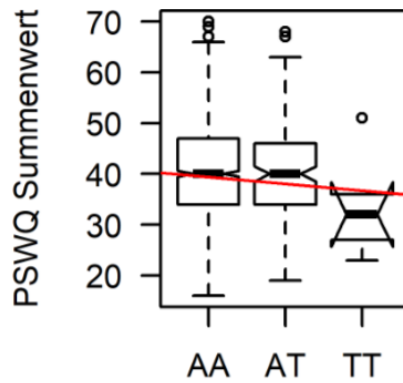


Abbildung 9: Boxplot der PSWQ-Summenwerte in Abhängigkeit der Genotypen des *DNMT3A*-Gens bezüglich des SNP rs1465764 der gesunden Probanden der 2. Rekrutierungsperiode. A: *major* Allel; T: *minor* Allel; -: Regressionsgerade.

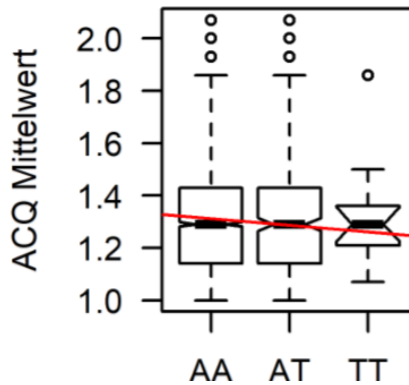


Abbildung 10: Boxplot der ACQ-Mittelwerte in Abhängigkeit der Genotypen des *DNMT3A*-Gens bezüglich des SNP rs1465764 der gesunden Gesamtstichprobe. A: *major* Allel; T: *minor* Allel; -: Regressionsgerade.

Tabelle 26: Weibliche gesunde Probanden *DNMT3A*. SNP ID: Einzelnukleotidpolymorphismus, m/M: *minor/major* Allel, N (m/M): *minor/major*- Allelanzahl, Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben. Die Regression bezieht sich auf das *minor* Allel.

SNP ID	m/M	N (m/M)	N	1. Rekrutierungsperiode		2. Rekrutierungsperiode		Gesamtstichprobe	
				Beta	P (B)	Beta	P (B)	Beta	P (B)
<i>Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)</i>									
rs1465825	C/T	718/2498	1608	0,01	0,668 (1)	0,02	0,101 (0,506)	0,01	0,191 (0,957)
rs11683424	T/C	591/2665	1628	0,03	0,098 (0,491)	0,00	0,974 (1)	0,01	0,199 (0,955)
rs1465764	T/A	209/3081	1645	-0,02	0,421(1)	-0,03	0,113 (0,564)	-0,03	0,096 (0,479)
<i>Anxiety Sensitivity Index (ASI)</i>									
rs1465825	C/T	714/2500	1607	0,26	0,497 (1)	-0,74	0,077 (0,383)	-0,26	0,357 (1)

rs11683424	T/C	592/2662	1627	0,71	0,078 (0,389)	0,32	0,477 (1)	0,51	0,086 (0,429)
rs1465764	T/A	212/3076	1644	0,49	0,448 (1)	-1,19	0,076 (0,380)	-0,35	0,456 (1)
Penn State Worry Questionnaire (PSWQ)									
rs1465825	C/T	706/2458	1582	-0,02	0,971 (1)	0,74	0,212 (1)	0,33	0,430 (1)
rs11683424	T/C	583/2623	1603	0,90	0,138 (0,688)	0,22	0,732 (1)	0,56	0,197 (0,985)
rs1465764	T/A	208/3030	1619	-1,43	0,139 (0,697)	-2,03	0,036 (0,179)	-1,71	0,013 (0,063)

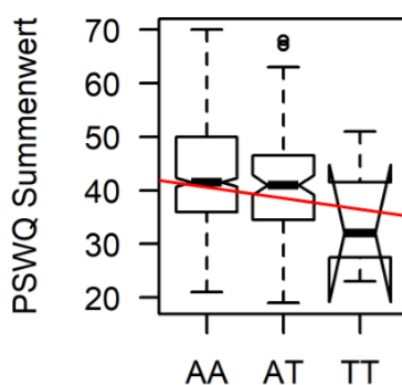


Abbildung 11: Boxplot der PSWQ-Summenwerte in Abhängigkeit der Genotypen des *DNMT3A*-Gens bezüglich des SNP rs1465764 der weiblichen gesunden Probanden der 2. Rekrutierungsperiode. A: *major* Allel; T: *minor* Allel; -: Regressionsgerade.

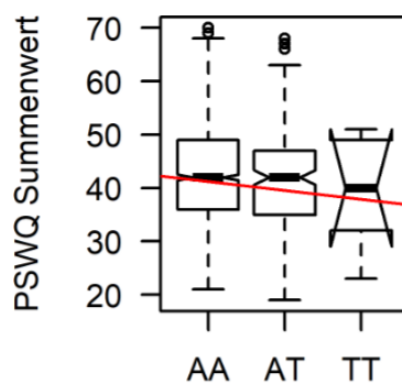


Abbildung 12: Boxplot der PSWQ-Summenwerte in Abhängigkeit der Genotypen des *DNMT3A*-Gens bezüglich des SNP rs1465764 der weiblichen gesunden Gesamtstichprobe. A: *major* Allel; T: *minor* Allel; -: Regressionsgerade.

Tabelle 27: Männliche gesunde Probanden *DNMT3A*. SNP ID: Einzelnukleotidpolymorphismus, m/M: *minor/major* Allel, N (m/M): *minor/major*- Allelanzahl, Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben. Die Regression bezieht sich auf das *minor* Allel.

SNP ID	m/M	N (m/M)	N	1. Rekrutierungsperiode		2. Rekrutierungsperiode		Gesamtstichprobe	
				Beta	P (B)	Beta	P (B)	Beta	P (B)
<i>Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)</i>									
rs1465825	C/T	615/1983	1299	-0,01	0,273 (1)	0,01	0,530 (1)	0,00	0,719 (1)
rs11683424	T/C	494/2164	1329	-0,02	0,080 (0,400)	0,00	0,929 (1)	-0,02	0,163 (0,814)
rs1465764	T/A	151/2531	1330	-0,01	0,596 (1)	-0,05	0,068 (0,340)	-0,03	0,098 (0,498)
<i>Anxiety Sensitivity Index (ASI)</i>									
rs1465825	C/T	615/1983	1299	0,38	0,316 (1)	-0,10	0,831 (1)	0,17	0,566 (1)
rs11683424	T/C	495/2163	1329	-0,24	0,552 (1)	-0,19	0,704 (1)	-0,25	0,426 (1)
rs1465764	T/A	150/2510	1330	-0,48	0,465 (1)	-1,84	0,030 (0,150)	-1,09	0,039 (0,195)
<i>Penn State Worry Questionnaire (PSWQ)</i>									
rs1465825	C/T	610/1974	1292	-0,42	0,469 (1)	-0,42	0,178 (0,890)	-0,62	0,149 (0,747)
rs11683424	T/C	494/2150	1322	0,79	0,192 (0,959)	-0,87	0,219 (1)	0,08	0,861 (1)
rs1465764	T/A	148/2498	1323	-1,92	0,055 (0,277)	-1,02	0,398 (1)	-1,54	0,046 (0,231)

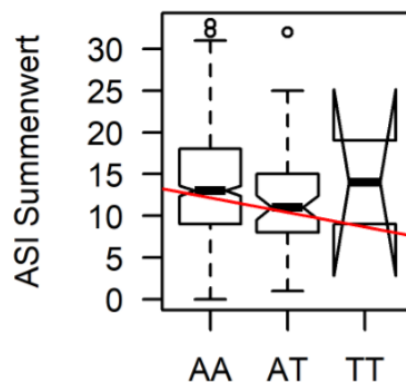


Abbildung 13: Boxplot der ASI-Summenwerte in Abhängigkeit der Genotypen des *DNMT3A*-Gens bezüglich des SNP rs1465764 der gesunden Probanden der 2. Rekrutierungsperiode. A: *major* Allel; T: *minor* Allel; -: Regressionsgerade.

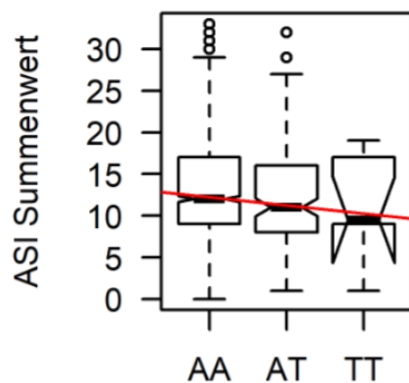


Abbildung 14: Boxplot der ASI-Summenwerte in Abhängigkeit der Genotypen des *DNMT3A*-Gens bezüglich des SNP rs1465764 der männlichen gesunden Gesamtstichprobe. A: *major* Allel; T: *minor* Allel; -: Regressionsgerade.

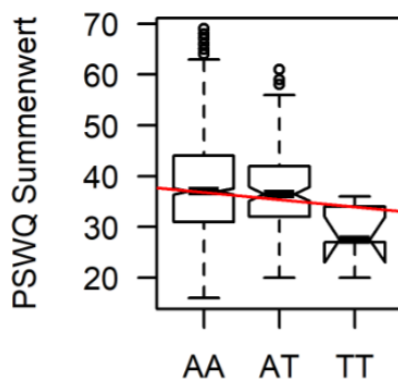


Abbildung 15: Boxplot der PSWQ-Summenwerte in Abhängigkeit der Genotypen des *DNMT3A*-Gens bezüglich des SNP rs1465764 der männlichen gesunden Gesamtstichprobe. A: *major* Allel; T: *minor* Allel; -: Regressionsgerade.

Tabelle 28: Gesunde Probanden *DNMT3A* korrigiert für Nikotinkonsum. SNP ID: Einzelnukleotidpolymorphismus, m/M: *minor/major* Allel, N (m/M): *minor/major*-Allelanzahl, Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben. Die Regression bezieht sich auf das *minor* Allel.

SNP ID	m/M	N (m/M)	N	1. Rekrutierungsperiode		2. Rekrutierungsperiode		Gesamtstichprobe	
				Beta	P (B)	Beta	P (B)	Beta	P (B)
<i>Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)</i>									
rs1465825	C/T	1250/4208	2729	0,00	0,771 (1)	0,02	0,098 (0,490)	0,01	0,373 (1)
rs11683424	T/C	1019/4547	2783	0,00	0,669 (1)	0,00	0,968 (1)	0,00	0,795 (1)
rs1465764	T/A	338/5248	2793	-0,03	0,150 (0,750)	-0,04	0,016 (0,080)	-0,03	0,005 (0,025)
<i>Anxiety Sensitivity Index (ASI)</i>									
rs1465825	C/T	1246/4204	2725	0,47	0,097 (1)	-0,49	0,114 (0,570)	-0,02	0,935 (1)

rs11683424	T/C	1020/4540	2780	-0,02	0,940 (1)	0,09	0,785 (1)	0,02	0,929 (1)
rs1465764	T/A	339/5239	2789	-0,19	0,694 (1)	-1,46	0,006 (0,030)	-0,83	0,021 (0,105)
Penn State Worry Questionnaire (PSWQ)									
rs1465825	C/T	1240/4170	2705	-0,16	0,699 (1)	0,02	0,955 (1)	-0,07	0,811 (1)
rs11683424	T/C	1015/4505	2760	0,89	0,047 (0,235)	-0,29	0,542 (1)	0,31	0,342 (1)
rs1465764	T/A	334/5204	2769	-1,66	0,023 (0,115)	-1,69	0,025 (0,125)	-1,68	0,001 (0,005)

Tabelle 29: Gesunde weibliche Probanden *DNMT3A* korrigiert für Nikotinkonsum. SNP ID: Einzelnukleotidpolymorphismus, m/M: *minor/major* Allel, N (m/M): *minor/major*- Allelanzahl, Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben. Die Regression bezieht sich auf das *minor* Allel.

SNP ID	m/M	N (m/M)	N	1. Rekrutierungsperiode		2. Rekrutierungsperiode		Gesamtstichprobe	
				Beta	P (B)	Beta	P (B)	Beta	P (B)
Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)									
rs1465825	C/T	659/2323	1491	0,01	0,659 (1)	0,02	0,100 (0,500)	0,01	0,185 (0,925)
rs11683424	T/C	550/2484	1517	0,02	0,262 (1)	0,00	0,974 (1)	0,01	0,374 (1)
rs1465764	T/A	192/2858	1525	-0,03	0,224(1)	-0,04	0,104 (0,520)	-0,03	0,040 (0,200)
Anxiety Sensitivity Index (ASI)									
rs1465825	C/T	655/2321	1488	0,41	0,309 (1)	-0,75	0,073 (0,365)	-0,23	0,440 (1)
rs11683424	T/C	551/2479	1515	0,43	0,307 (1)	0,31	0,488 (1)	0,37	0,229 (1)
rs1465764	T/A	194/2850	1522	0,13	0,854 (1)	-1,23	0,066 (0,330)	-0,60	0,218 (1)
Penn State Worry Questionnaire (PSWQ)									
rs1465825	C/T	651/2291	1471	0,27	0,651 (1)	0,74	0,214 (1)	0,48	0,258 (1)
rs11683424	T/C	545/2451	1498	0,97	0,126 (0,630)	0,21	0,734 (1)	0,58	0,192 (0,960)
rs1465764	T/A	190/2820	1505	-1,70	0,101 (0,505)	-2,03	0,036 (0,180)	-1,87	0,008 (0,040)

Tabelle 30: Gesunde männliche Probanden *DNMT3A* korrigiert für Nikotinkonsum. SNP ID: Einzelnukleotidpolymorphismus, m/M: *minor/major* Allel, N (m/M): *minor/major*- Allelanzahl, Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben. Die Regression bezieht sich auf das *minor* Allel.

SNP ID	m/M	N (m/M)	N	1. Rekrutierungsperiode		2. Rekrutierungsperiode		Gesamtstichprobe	
				Beta	P (B)	Beta	P (B)	Beta	P (B)
<i>Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)</i>									
rs1465825	C/T	591/1885	1238	-0,01	0,426 (1)	0,01	0,530 (1)	0,00	0,889 (1)
rs11683424	T/C	469/2063	1266	-0,03	0,052 (0,260)	0,00	0,971 (1)	-0,02	0,155 (0,775)
rs1465764	T/A	146/2390	1268	-0,02	0,451 (1)	-0,05	0,067 (0,335)	-0,03	0,066 (0,330)
<i>Anxiety Sensitivity Index (ASI)</i>									
rs1465825	C/T	591/1883	1237	0,55	0,155 (0,775)	-0,15	0,745 (1)	0,23	0,449 (1)
rs11683424	T/C	469/2061	1265	-0,52	0,213 (1)	-0,22	0,663 (1)	-0,42	0,197 (0,985)
rs1465764	T/A	145/2389	1267	-0,46	0,497 (1)	-1,87	0,028 (0,140)	-1,11	0,038 (0,190)
<i>Penn State Worry Questionnaire (PSWQ)</i>									
rs1465825	C/T	589/1879	1234	-0,45	0,436 (1)	-0,93	0,160 (0,800)	-0,67	0,126 (0,630)
rs11683424	T/C	470/2054	1262	0,77	0,219 (1)	-0,95	0,180 (0,900)	0,00	0,994 (1)
rs1465764	T/A	144/2384	1264	-1,56	0,126 (0,630)	-1,08	0,372 (1)	-1,34	0,085 (0,425)

Tabelle 31: Haplotypenanalyse des *DNMT3A*-Gens in der Gruppe der gesunden Probanden. Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben.

Haplotyp		1. Rekrutierungsperiode			2. Rekrutierungsperiode			Gesamtstichprobe		
rs11683424	rs1465764	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)
<i>Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)</i>										
C	T	0,060	-0,01	0,470 (1)	0,060	-0,04	0,022 (0,130)	0,060	-0,03	0,041 (0,246)
T	A	0,187	0,00	0,938 (1)	0,176	0,00	0,979 (1)	0,182	0,00	0,946 (1)
C	A	0,751	0,00	0,807 (1)	0,762	0,01	0,166 (0,996)	0,756	0,01	0,290 (1)
<i>Anxiety Sensitivity Index (ASI)</i>										
C	T	0,060	0,24	0,617 (1)	0,060	-1,51	0,005 (0,030)	0,060	-0,60	0,096 (0,574)
T	A	0,187	0,28	0,334 (1)	0,176	0,12	0,730 (1)	0,182	0,19	0,387 (1)

C	A	0,751	-0,30	0,238 (1)	0,762	0,38	0,205 (1)	0,756	0,02	0,906 (1)
Penn State Worry Questionnaire (PSWQ)										
C	T	0,060	-1,38	0,059 (0,352)	0,060	-1,61	0,038 (0,227)	0,060	-1,38	0,010 (0,059)
T	A	0,187	0,72	0,101 (0,606)	0,176	-0,25	0,594 (1)	0,182	0,29	0,377 (1)
C	A	0,751	-0,17	0,660 (1)	0,762	0,73	0,085 (0,512)	0,756	0,20	0,489 (1)

Tabelle 32: Haplotypenanalyse des *DNMT3A*-Gens in der Gruppe der gesunden weiblichen Probanden. Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben.

Haplotyp		1. Rekrutierungsperiode			2. Rekrutierungsperiode			Gesamtstichprobe		
rs11683424	rs1465764	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)
Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)										
C	T	0,058	-0,02	0,340 (1)	0,066	-0,03	0,152 (0,912)	0,062	-0,03	0,094 (0,556)
T	A	0,182	0,02	0,131 (0,786)	0,176	0,00	0,986 (1)	0,179	0,01	0,254 (1)
C	A	0,758	-0,01	0,349 (1)	0,755	0,01	0,345 (1)	0,756	0,00	0,933 (1)
Anxiety Sensitivity Index (ASI)										
C	T	0,058	0,76	0,268 (1)	0,066	-1,23	0,074 (0,442)	0,062	-0,27	0,575 (1)
T	A	0,182	0,73	0,073 (0,440)	0,176	0,32	0,480 (1)	0,179	0,52	0,085 (0,512)
C	A	0,758	-0,83	0,024 (0,145)	0,755	0,17	0,674 (1)	0,756	-0,34	0,211 (1)
Penn State Worry Questionnaire (PSWQ)										
C	T	0,058	-1,36	0,182 (1)	0,066	-1,99	0,046 (0,278)	0,062	-1,67	0,019 (0,116)
T	A	0,182	0,92	0,131 (0,786)	0,176	0,21	0,741 (1)	0,179	0,57	0,198 (1)
C	A	0,758	-0,34	0,536 (1)	0,755	0,53	0,349 (1)	0,756	0,09	0,822 (1)

Tabelle 33: Haplotypenanalyse des *DNMT3A*-Gens in der Gruppe der gesunden männlichen Probanden. Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben.

Haplotyp		1. Rekrutierungsperiode			2. Rekrutierungsperiode			Gesamtstichprobe		
rs11683424	rs1465764	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)
<i>Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)</i>										
C	T	0,059	-0,01	0,610 (1)	0,052	-0,06	0,058 (0,345)	0,056	-0,03	0,089 (0,536)
T	A	0,195	-0,02	0,184 (1)	0,178	0,00	0,974 (1)	0,188	-0,01	0,296 (1)
C	A	0,745	0,02	0,140 (0,840)	0,770	0,02	0,302 (1)	0,756	0,02	0,063 (0,379)
<i>Anxiety Sensitivity Index (ASI)</i>										
C	T	0,059	-0,47	0,481 (1)	0,052	-1,93	0,024 (0,144)	0,056	-1,11	0,035 (0,209)
T	A	0,195	-0,17	0,670 (1)	0,178	-0,14	0,778 (1)	0,188	-0,19	0,544 (1)
C	A	0,745	0,28	0,442 (1)	0,770	0,65	0,149 (0,894)	0,756	0,48	0,093 (0,557)
<i>Penn State Worry Questionnaire (PSWQ)</i>										
C	T	0,059	-1,84	0,067 (0,404)	0,052	-0,97	0,429 (1)	0,056	-1,46	0,059 (0,356)
T	A	0,195	0,78	0,195 (1)	0,178	-0,85	0,235 (1)	0,188	0,09	0,838 (1)
C	A	0,745	-0,10	0,858 (1)	0,770	0,96	0,136 (0,816)	0,756	0,34	0,410 (1)

Tabelle 34: Haplotypenanalyse des *DNMT3A*-Gens in der Gruppe der gesunden Probanden korrigiert für Nikotinkonsum. Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben.

Haplotyp		1. Rekrutierungsperiode			2. Rekrutierungsperiode			Gesamtstichprobe		
rs11683424	rs1465764	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)
<i>Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)</i>										
C	T	0,060	-0,01	0,470 (1)	0,060	-0,04	0,021 (0,126)	0,060	-0,03	0,041 (0,246)
T	A	0,187	0,00	0,937 (1)	0,176	-0,00	0,976 (1)	0,182	0,00	0,952 (1)
C	A	0,751	0,00	0,807 (1)	0,762	0,01	0,163 (0,978)	0,756	0,01	0,287 (1)
<i>Anxiety Sensitivity Index (ASI)</i>										
C	T	0,060	0,23	0,632 (1)	0,060	-1,54	0,004 (0,024)	0,060	-0,60	0,095 (0,570)
T	A	0,187	0,26	0,361 (1)	0,176	0,11	0,737 (1)	0,182	0,18	0,399 (1)

C	A	0,751	-0,29	0,263 (1)	0,762	0,39	0,193 (1)	0,756	0,03	0,889 (1)
Penn State Worry Questionnaire (PSWQ)										
C	T	0,060	-1,39	0,056 (0,336)	0,060	-1,64	0,038 (0,228)	0,060	-1,38	0,010 (0,060)
T	A	0,187	0,701	0,108 (0,648)	0,176	-0,25	0,594 (1)	0,182	0,28	0,394 (1)
C	A	0,751	-0,156	0,692 (1)	0,762	0,74	0,085 (0,510)	0,756	0,21	0,468 (1)

Tabelle 35: Haplotypenanalyse des *DNMT3A*-Gens in der Gruppe der gesunden weiblichen Probanden korrigiert für Nikotinkonsum. Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben.

Haplotyp		1. Rekrutierungsperiode			2. Rekrutierungsperiode			Gesamtstichprobe		
rs11683424	rs1465764	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)
Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)										
C	T	0,058	-0,02	0,369 (1)	0,066	-0,03	0,148 (0,888)	0,062	-0,03	0,096 (0,576)
T	A	0,182	0,02	0,128 (0,768)	0,176	-0,00	0,980 (1)	0,179	0,01	0,252 (1)
C	A	0,758	-0,01	0,329 (1)	0,755	0,01	0,337 (1)	0,756	-0,00	0,925 (1)
Anxiety Sensitivity Index (ASI)										
C	T	0,058	0,72	0,298 (1)	0,066	-1,27	0,066 (0,396)	0,062	-0,81	0,565 (1)
T	A	0,182	0,72	0,075 (0,450)	0,176	0,31	0,495 (1)	0,179	0,52	0,086 (0,516)
C	A	0,758	-0,81	0,027 (0,162)	0,755	0,19	0,638 (1)	0,756	-0,34	0,215 (1)
Penn State Worry Questionnaire (PSWQ)										
C	T	0,058	-1,38	0,177 (1)	0,066	-2,00	0,045 (0,270)	0,062	-1,68	0,019 (0,114)
T	A	0,182	0,92	0,132 (0,792)	0,176	0,21	0,743 (1)	0,179	0,57	0,198 (1)
C	A	0,758	-0,34	0,542 (1)	0,755	0,54	0,345 (1)	0,756	0,09	0,816 (1)

Tabelle 36: Haplotypenanalyse des *DNMT3A*-Gens in der Gruppe der gesunden männlichen Probanden korrigiert für Nikotinkonsum. Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben.

Haplotyp		1. Rekrutierungsperiode			2. Rekrutierungsperiode			Gesamtstichprobe		
rs11683424	rs1465764	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)
<i>Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)</i>										
C	T	0,059	-0,01	0,617 (1)	0,057	-0,06	0,056 (0,336)	0,056	-0,03	0,089 (0,534)
T	A	0,195	-0,02	0,179 (1)	0,178	-0,00	0,978 (1)	0,188	-0,01	0,297 (1)
C	A	0,745	0,02	0,138 (0,828)	0,770	0,02	0,301 (1)	0,756	0,02	0,063 (0,378)
<i>Anxiety Sensitivity Index (ASI)</i>										
C	T	0,059	-0,43	0,516 (1)	0,052	-1,95	0,022 (0,132)	0,056	-1,11	0,036 (0,216)
T	A	0,195	-0,20	0,612 (1)	0,178	-0,14	0,783 (1)	0,188	-0,20	0,528 (1)
C	A	0,745	0,29	0,417 (1)	0,770	0,65	0,147 (0,882)	0,756	0,48	0,090 (0,540)
<i>Penn State Worry Questionnaire (PSWQ)</i>										
C	T	0,059	-1,83	0,069 (0,414)	0,052	-1,01	0,409 (1)	0,056	-1,47	0,058 (0,348)
T	A	0,195	0,78	0,198 (1)	0,178	-0,84	0,240 (1)	0,188	0,10	0,832 (1)
C	A	0,745	-0,10	0,861 (1)	0,770	0,96	0,134 (0,804)	0,756	0,34	0,412 (1)

3.2. *DNMT3B*

3.2.1. Fall-Kontroll-Berechnungen

In der Fall-Kontroll-Analyse der Genvarianten des *DNMT3B*-Gens wurden Daten von je 506 Probanden untersucht. In den logistischen Regressionsanalysen konnten, auch nach einer geschlechtsspezifischen Auswertung der Daten, keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten und gesunden Probanden identifiziert werden (siehe Tabelle 37-39). In den Haplotypenanalysen konnten ebenfalls keine signifikanten Assoziationen berechnet werden. (siehe Tabelle 40-42).

Zwischen den SNPs rs4911259 und rs2424932 bot sich in der Kopplungsanalyse ein ausgeprägtes Kopplungsungleichgewicht, das die Darstellung eines Haplotypenblocks ermöglichte (siehe Abbildung 16).

Tabelle 37: Fall-Kontroll-Berechnungen *DNMT3B*. SNP ID: Einzelnukleotidpolymorphismus, m/M: *minor/major* Allel, N (m/M): *minor/major*- Allelanzahl, OR: Odds-Ratio, Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben. Die Regression bezieht sich auf das *minor* Allel.

SNP ID	m/M	N (m/M)	1. Rekrutierungs- periode		2. Rekrutierungs- periode		Gesamtstich- probe	
			OR	P (B)	OR	P (B)	OR	P (B)
rs4911259	G/T	194/356	0,94	0,676 (1)	0,985	0,917 (1)	0,97	0,769 (1)
rs2424932	A/G	233/309	1,02	0,873 (1)	0,935	0,632 (1)	1,00	0,975 (1)

Tabelle 38: Fall-Kontroll-Berechnungen für weibliche Probanden *DNMT3B*. SNP ID: Einzelnukleotidpolymorphismus, m/M: *minor/major* Allel, N (m/M): *minor/major*- Allelanzahl, OR: Odds-Ratio, Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben. Die Regression bezieht sich auf das *minor* Allel.

SNP ID	m/M	N (m/M)	1. Rekrutierungs- periode		2. Rekrutierungs- periode		Gesamtstich- probe	
			OR	P (B)	OR	P (B)	OR	P (B)
rs4911259	G/T	144/262	1,02	0,891 (1)	1,18	0,358 (1)	1,11	0,383 (1)
rs2424932	A/G	166/232	1,00	0,993 (1)	0,80	0,200 (1)	0,92	0,470 (1)

Tabelle 39: Fall-Kontroll-Berechnungen für männliche Probanden *DNMT3B*. SNP ID: Einzelnukleotidpolymorphismus, m/M: *minor/major* Allel, N (m/M): *minor/major*- Allelanzahl, OR: Odds-Ratio, Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben. Die Regression bezieht sich auf das *minor* Allel.

SNP ID	m/M	N (m/M)	1. Rekrutierungs- periode		2. Rekrutierungs- periode		Gesamtstich- probe	
			OR	P (B)	OR	P (B)	OR	P (B)
rs4911259	G/T	50/94	0,75	0,287 (1)	0,71	0,168 (0,825)	0,72	0,072 (0,360)
rs2424932	A/G	67/77	1,11	0,667 (1)	1,30	0,297 (1)	1,21	0,259 (0,019)

Tabelle 40: Haplotypenanalyse des *DNMT3B*-Gens in der Fall-Kontroll-Stichprobe. Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter p -Wert. Signifikante p -Werte sind dick hervorgehoben.

Haplotyp		1. Rekrutierungsperiode			2. Rekrutierungsperiode			Gesamtstichprobe		
rs4911259	rs2424932	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)
T	A	0,424	1,03	0,803 (1)	0,374	0,97	0,807 (1)	0,403	1,01	0,887 (1)
G	G	0,359	0,94	0,643 (1)	0,376	1,00	0,990 (1)	0,366	0,97	0,797 (1)
T	G	0,217	1,03	0,838 (1)	0,244	1,08	0,659 (1)	0,228	1,02	0,835 (1)

Tabelle 41: Haplotypenanalyse des *DNMT3B*-Gens in der weiblichen Fall-Kontroll-Stichprobe. Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter p -Wert. Signifikante p -Werte sind dick hervorgehoben.

Haplotyp		1. Rekrutierungsperiode			2. Rekrutierungsperiode			Gesamtstichprobe		
rs4911259	rs2424932	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)
T	A	0,416	1,01	0,968 (1)	0,362	0,84	0,332 (1)	0,395	0,94	0,585 (1)
G	G	0,354	1,02	0,917 (1)	0,381	1,23	0,249 (1)	0,364	1,13	0,327 (1)
T	G	0,230	0,97	0,871 (1)	0,250	1,02	0,910 (1)	0,238	0,96	0,772 (1)

Tabelle 42: Haplotypenanalyse des *DNMT3B*-Gens in der männlichen Fall-Kontroll-Stichprobe. Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter p -Wert. Signifikante p -Werte sind dick hervorgehoben.

Haplotyp		1. Rekrutierungsperiode			2. Rekrutierungsperiode			Gesamtstichprobe		
rs4911259	rs2424932	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)
T	A	0,446	1,13	0,593 (1)	0,395	1,26	0,347 (1)	0,421	1,21	0,253 (1)
G	G	0,374	0,74	0,272 (1)	0,367	0,69	0,128 (0,768)	0,371	0,71	0,057 (0,341)
T	G	0,180	1,22	0,555 (1)	0,234	1,17	0,581 (1)	0,207	1,16	0,474 (1)



Abbildung 16: Kopplungsungleichgewicht (LD)- Plot des *DNMT3B*-Gens in der Gesamtstichprobe der Fall-Kontroll-Gruppe (N=506). LD ist abgebildet als *D'prime*-Haplotypenblöcke, definiert nach der *solid spine Methode* von Haploview (Broad Institute of MIT and Harvard, 2006).

3.2.2. Panikpatienten

In die Assoziationsanalysen der *DNMT3B*-Genvarianten in der Gruppe der Panikpatienten wurden Daten zu 506 Patienten eingeschlossen. Es konnten keinerlei Signifikanzen in den linearen Regressionsanalysen noch in den Haplotypenanalysen zwischen den untersuchten SPNs und den dimensional Daten des ACQ und ASI detektiert werden (siehe Tabelle 43 und 46). Dies änderte sich auch nach einer geschlechtsspezifischen Betrachtung der Daten nicht (siehe Tabelle 44, 45, 47 und 48).

Tabelle 43: Panikpatienten *DNMT3B*. SNP ID: Einzelnukleotidpolymorphismus, m/M: *minor/major* Allel, N (m/M): *minor/major*- Allelanzahl, Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben. Die Regression bezieht sich auf das *minor* Allel.

SNP ID	m/M	N (m/M)	N	1. Rekrutierungsperiode		2. Rekrutierungsperiode		Gesamtstichprobe	
				Beta	P (B)	Beta	P (B)	Beta	P (B)
<i>Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)</i>									
rs4911259	G/T	268/476	372	-0,02	0,754 (1)	0,03	0,646 (1)	0,01	0,897 (1)
rs2424932	A/G	299/437	368	0,03	0,526 (1)	0,02	0,846 (1)	0,02	0,632 (1)
<i>Anxiety Sensitivity Index (ASI)</i>									
rs4911259	G/T	334/586	460	-0,26	0,813 (1)	0,25	0,819 (1)	-0,02	0,979 (1)

rs2424932	A/G	369/543	456	-0,45	0,645 (1)	0,71	0,518 (1)	0,02	0,978 (1)
-----------	-----	---------	-----	-------	--------------	------	--------------	------	--------------

Tabelle 44: Weibliche Panikpatienten *DNMT3B*. SNP ID: Einzelnukleotidpolymorphismus, m/M: *minor/major* Allel, N (m/M): *minor/major*- Allelanzahl, Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben. Die Regression bezieht sich auf das *minor* Allel.

SNP ID	m/M	N (m/M)	N	1. Rekrutierungs- periode		2. Rekrutierungs- periode		Gesamtstich- probe	
				Beta	P (B)	Beta	P (B)	Beta	P (B)
<i>Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)</i>									
rs4911259	G/T	190/340	265	-0,07	0,239 (1)	0,04	0,623 (1)	-0,03	0,543 (1)
rs2424932	A/G	205/317	261	0,06	0,282 (1)	-0,01	0,957 (1)	0,03	0,473 (1)
<i>Anxiety Sensitivity Index (ASI)</i>									
rs4911259	G/T	241/405	323	-0,99	0,424 (1)	0,18	0,897 (1)	-0,52	0,572 (1)
rs2424932	A/G	247/391	319	0,36	0,757 (1)	0,66	0,612 (1)	0,50	0,565 (1)

Tabelle 45: Männliche Panikpatienten *DNMT3B*. SNP ID: Einzelnukleotidpolymorphismus, m/M: *minor/major* Allel, N (m/M): *minor/major*- Allelanzahl, Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben. Die Regression bezieht sich auf das *minor* Allel.

SNP ID	m/M	N (m/M)	N	1. Rekrutierungs- periode		2. Rekrutierungs- periode		Gesamtstich- probe	
				Beta	P (B)	Beta	P (B)	Beta	P (B)
<i>Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)</i>									
rs4911259	G/T	78/136	107	0,17	0,091 (0,457)	0,01	0,938 (1)	0,10	0,191 (0,955)
rs2424932	A/G	94/120	107	-0,05	0,588 (1)	0,06	0,655 (1)	-0,02	0,816 (1)
<i>Anxiety Sensitivity Index (ASI)</i>									
rs4911259	G/T	93/181	137	2,09	0,348 (1)	0,37	0,845 (1)	1,19	0,405 (1)
rs2424932	A/G	122/153	137	-2,42	0,202 (1)	0,77	0,696 (1)	-1,04	0,439 (1)

Tabelle 46: Haplotypenanalyse des *DNMT3B*-Gens in der Gesamtstichprobe der Panikpatienten. Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter p -Wert. Signifikante p -Werte sind dick hervorgehoben.

Haplotyp		1. Rekrutierungsperiode			2. Rekrutierungsperiode			Gesamtstichprobe		
rs4911259	rs2424932	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)
<i>Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)</i>										
T	A	0,433	0,03	0,491 (1)	0,369	0,01	0,875 (1)	0,405	0,02	0,618 (1)
G	G	0,356	-0,01	0,815 (1)	0,377	0,03	0,668 (1)	0,365	0,01	0,872 (1)
T	G	0,212	-0,03	0,559 (1)	0,251	-0,06	0,476 (1)	0,228	-0,04	0,420 (1)
<i>Anxiety Sensitivity Index (ASI)</i>										
T	A	0,433	-0,47	0,632 (1)	0,369	0,41	0,708 (1)	0,405	-0,12	0,870 (1)
G	G	0,356	-0,19	0,863 (1)	0,377	-0,05	0,965 (1)	0,365	-0,13	0,867 (1)
T	G	0,212	0,94	0,436 (1)	0,251	-0,93	0,474 (1)	0,228	0,16	0,859 (1)

Tabelle 47: Haplotypenanalyse des *DNMT3B*-Gens in der Gruppe der weiblichen Panikpatienten. Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter p -Wert. Signifikante p -Werte sind dick hervorgehoben.

Haplotyp		1. Rekrutierungsperiode			2. Rekrutierungsperiode			Gesamtstichprobe		
rs4911259	rs2424932	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)
<i>Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)</i>										
T	A	0,418	0,06	0,287 (1)	0,341	-0,01	0,957 (1)	0,388	0,03	0,474 (1)
G	G	0,360	-0,07	0,285 (1)	0,407	0,04	0,623 (1)	0,378	-0,03	0,599 (1)
T	G	0,222	-0,01	0,918 (1)	0,252	-0,05	0,610 (1)	0,234	-0,01	0,801 (1)
<i>Anxiety Sensitivity Index (ASI)</i>										
T	A	0,418	0,25	0,830 (1)	0,341	0,68	0,612 (1)	0,388	0,44	0,615 (1)
G	G	0,360	-0,92	0,467 (1)	0,407	0,18	0,897 (1)	0,378	-0,47	0,610 (1)
T	G	0,222	0,74	0,591 (1)	0,252	-1,29	0,434 (1)	0,234	-0,04	0,972 (1)

Tabelle 48: Haplotypenanalyse des *DNMT3B*-Gens in der Gruppe der männlichen Panikpatienten. Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben.

Haplotyp		1. Rekrutierungsperiode			2. Rekrutierungsperiode			Gesamtstichprobe		
rs4911259	rs2424932	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)
Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)										
T	A	0,472	-0,04	0,671 (1)	0,420	0,06	0,682 (1)	0,446	-0,01	0,843 (1)
G	G	0,345	0,16	0,103 (0,618)	0,322	0,01	0,962 (1)	0,333	0,10	0,216 (1)
T	G	0,183	-0,14	0,201 (1)	0,249	-0,10	0,560 (1)	0,216	-0,11	0,224 (1)
Anxiety Sensitivity Index (ASI)										
T	A	0,472	-2,25	0,243 (1)	0,420	-0,12	0,951 (1)	0,446	-1,38	0,305 (1)
G	G	0,345	2,07	0,357 (1)	0,322	-0,49	0,803 (1)	0,333	0,69	0,635 (1)
T	G	0,183	1,26	0,621 (1)	0,249	-0,34	0,876 (1)	0,216	0,50	0,758 (1)

3.2.3. Gesunde Probanden

Auch in den Analysen zum *DNMT3B*-Gen konnten die Daten 3112 gesunder Probanden untersucht werden. Es zeigte sich in der linearen Regressionsanalyse, dass zwischen dem SNP rs2424932 und den dimensional Daten des ACQ und des PSWQ der 1. Rekrutierungsperiode der Gesamtstichprobe der gesunden Probanden (ACQ: $p_{nominal} = 0,012$, $p_{korrigiert} = 0,060$; PSWQ: $p_{nominal} = 0,022$, $p_{korrigiert} = 0,111$) wie auch der 1. Rekrutierungsperiode der weiblichen gesunden Probanden nominal signifikante Assoziationen (ACQ: $p_{nominal} = 0,041$, $p_{korrigiert} = 0,204$; PSWQ: $p_{nominal} = 0,034$, $p_{korrigiert} = 0,171$) (siehe Tabelle 49-50 und Abbildung 17-20) bestanden. Der Regressionskoeffizient β aller nominal signifikanten und signifikanten Werte war erneut negativ. Dies ließ auch in der gesunden Probandenkohorte des *DNMT3B*-Gens darauf schließen, dass in der Stichprobe der gesunden Probanden mit jedem *minor* Allel die Punktezahl der Fragebögen jeweils um den Faktor des Regressionskoeffizienten geringer ausfiel.

Nach Korrektur der Daten für Nikotinkonsum zeigte sich eine signifikante Assoziation zwischen den Testergebnissen des ACQ und dem *minor* Allel des

SNPs rs2424932 in der 1. Rekrutierungsperiode der gesunden Probanden (ACQ: $p_{nominal} = 0,002$, $p_{korrigiert} = 0,010$) (siehe Tabelle 52). Eine ebenfalls signifikante Assoziation ergab sich zwischen den Testergebnissen des ACQ und dem *minor* Allel des SNPs rs2424932 in der 1. Rekrutierungsperiode der gesunden weiblichen Probanden (ACQ: $p_{nominal} = 0,003$, $p_{korrigiert} = 0,015$) (siehe Tabelle 53). Zwischen dem *minor* Allel des SNPs rs2424932 und den ACQ- Ergebnissen der Gesamtstichprobe wie auch den ASI-Ergebnissen der 1. Rekrutierungsperiode, jeweils der gesunden weiblichen Probanden, konnte nach Bonferroni-Korrektur eine nominale Signifikanz berechnet werden (Gesamtstichprobe ACQ: $p_{nominal} = 0,044$, $p_{korrigiert} = 0,220$; 1. Rekrutierungsperiode ASI: $p_{nominal} = 0,047$, $p_{korrigiert} = 0,235$) (siehe Tabelle 53).

In den Haplotypenanalysen der zum *DNMT3B*-Gen gewonnen Daten konnten keine signifikanten Assoziationen berechnet werden. Nach der Korrektur für multiples Testen zeigten sich nominale Assoziationen zwischen den Ergebnissen des ACQ und des PSWQ mit dem Haplotypen TA des *DNMT3B*-Gens (ACQ 1.Rekrutierungsperiode gesunde Probanden: $p_{nominal} = 0,009$, $p_{korrigiert} = 0,056$; ACQ 1.Rekrutierungsperiode weibliche gesunde Probanden: $p_{nominal} = 0,042$, $p_{korrigiert} = 0,249$; PSWQ 1.Rekrutierungsperiode gesunde Probanden: $p_{nominal} = 0,014$, $p_{korrigiert} = 0,083$; PSWQ 1.Rekrutierungsperiode weibliche gesunde Probanden: $p_{nominal} = 0,027$, $p_{korrigiert} = 0,161$; PSWQ Gesamtstichprobe gesunde Probanden: $p_{nominal} = 0,027$, $p_{korrigiert} = 0,161$) (siehe Tabelle 55 und 56). Zwischen den Ergebnissen des ACQ und dem Haplotypen GG wie auch TG des *DNMT3B*-Gens boten sich folgende nominal signifikante p -Werte: $p_{nominal} = 0,042$, $p_{korrigiert} = 0,254$ (Haplotyp GG, 1.Rekrutierungsperiode gesunde Probanden); $p_{nominal} = 0,014$, $p_{korrigiert} = 0,085$ (Haplotyp TG, 2. Rekrutierungsperiode männliche gesunde Probanden), $p_{nominal} = 0,045$, $p_{korrigiert} = 0,269$ (Haplotyp TG, Gesamtstichprobe männliche gesunde Probanden) (siehe Tabelle 55 und 57).

Eine Korrektur der Haplotypendaten für den Raucherstatus zeigte ähnliche nominale Signifikanzen wie die Berechnungen der nicht für den Nikotinkonsum korrigierten Haplotypendaten (siehe Tabelle 58-60).

Tabelle 49: Gesunde Probanden *DNMT3B*. SNP ID: Einzelnukleotidpolymorphismus, m/M: *minor/major* Allel, N (m/M): *minor/major*- Allelanzahl, Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben. Die Regression bezieht sich auf das *minor* Allel.

SNP ID	m/M	N (m/M)	N	1. Rekrutierungsperiode		2. Rekrutierungsperiode		Gesamtstichprobe	
				Beta	P (B)	Beta	P (B)	Beta	P (B)
<i>Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)</i>									
rs4911259	G/T	2138/3778	2958	0,01	0,079 (0,396)	0,01	0,495 (1)	0,01	0,077 (0,385)
rs2424932	A/G	2335/3557	2946	-0,02	0,012 (0,060)	0,01	0,274 (1)	-0,01	0,297 (1)
<i>Anxiety Sensitivity Index (ASI)</i>									
rs4911259	G/T	2109/3745	2959	0,14	0,558 (1)	0,17	0,510 (1)	0,16	0,369 (1)
rs2424932	A/G	2311/3519	2946	-0,25	0,278 (1)	-0,06	0,834 (1)	-0,16	0,371(1)
<i>Penn State Worry Questionnaire (PSWQ)</i>									
rs4911259	G/T	2192/3864	2927	0,29	0,411 (1)	-0,06	0,874 (1)	0,12	0,629 (1)
rs2424932	A/G	2392/3636	2915	-0,79	0,022 (0,111)	-0,11	0,776 (1)	-0,47	0,065 (0,327)

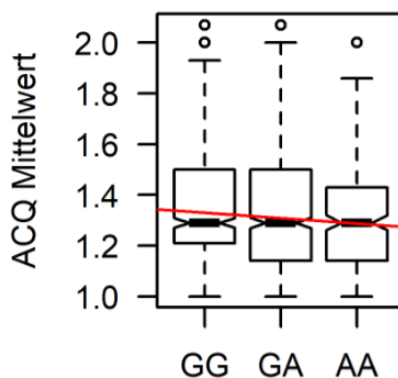


Abbildung 17: Boxplot der ACQ-Mittelwerte in Abhängigkeit der Genotypen des *DNMT3B*-Gens bezüglich des SNP rs2424932 der gesunden Probanden der 1. Rekrutierungsperiode. A: *major* Allel; T: *minor* Allel; -: Regressionsgerade.

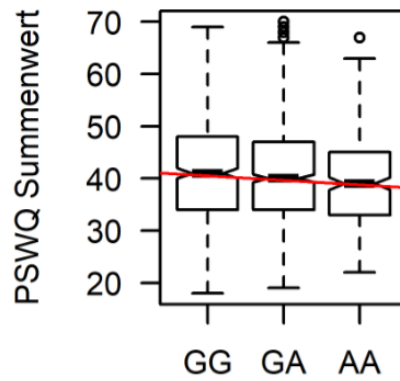


Abbildung 18: Boxplot der PSWQ-Summenwerte in Abhängigkeit der Genotypen des *DNMT3B*-Gens bezüglich des SNP rs2424932 der gesunden Probanden der 1. Rekrutierungsperiode. A: *major* Allel; T: *minor* Allel; -: Regressionsgerade.

Tabelle 50: Gesunde weibliche Probanden *DNMT3B*. SNP ID: Einzelnukleotidpolymorphismus, m/M: *minor/major* Allel, N (m/M): *minor/major*-Allelanzahl, Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben. Die Regression bezieht sich auf das *minor* Allel.

SNP ID	m/M	N (m/M)	N	1. Rekrutierungsperiode		2. Rekrutierungsperiode		Gesamtstichprobe	
				Beta	P (B)	Beta	P (B)	Beta	P (B)
<i>Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)</i>									
rs4911259	G/T	1189/2085	1637	0,01	0,395 (1)	0,00	0,807 (1)	0,01	0,431 (1)
rs2424932	A/G	1261/1987	1624	-0,02	0,041 (0,204)	0,00	0,920 (1)	-0,01	0,135 (0,673)
<i>Anxiety Sensitivity Index (ASI)</i>									
rs4911259	G/T	2085/1191	1638	0,15	0,645 (1)	0,19	0,599 (1)	0,16	0,499 (1)
rs2424932	A/G	1261/1989	1625	-0,45	0,165 (0,823)	-0,29	0,425 (1)	-0,37	0,132 (0,659)
<i>Penn State Worry Questionnaire (PSWQ)</i>									
rs4911259	G/T	1167/2057	1612	0,54	0,264 (1)	-0,76	0,132 (0,660)	-0,11	0,760 (1)
rs2424932	A/G	1244/1956	1600	-1,01	0,034 (0,171)	0,49	0,346 (1)	-0,27	0,433 (1)

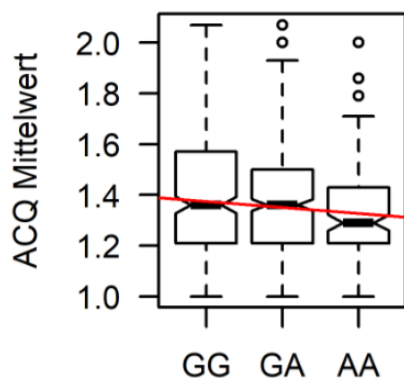


Abbildung 19: Boxplot der ACQ-Mittelwerte in Abhängigkeit der Genotypen des *DNMT3B*-Gens bezüglich des SNP rs2424932 der weiblichen gesunden Probanden der 1. Rekrutierungsperiode. A: *major* Allel; T: *minor* Allel; -: Regressionsgerade.

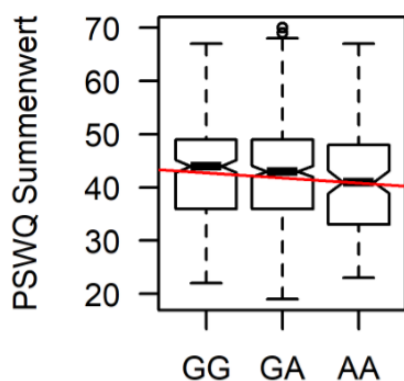


Abbildung 20: Boxplot der PSWQ-Summenwerte in Abhängigkeit der Genotypen des *DNMT3B*-Gens bezüglich des SNP rs2424932 der weiblichen gesunden Probanden der 1. Rekrutierungsperiode. A: *major* Allel; T: *minor* Allel; -: Regressionsgerade.

Tabelle 51: Gesunde Männliche Probanden *DNMT3B*. SNP ID: Einzelnukleotidpolymorphismus, m/M: *minor/major* Allel, N (m/M): *minor/major*- Allelanzahl, Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben. Die Regression bezieht sich auf das *minor* Allel.

SNP ID	m/M	N (m/M)	N	1. Rekrutierungsperiode		2. Rekrutierungsperiode		Gesamtstichprobe	
				Beta	P (B)	Beta	P (B)	Beta	P (B)
<i>Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)</i>									
rs4911259	G/T	949/1693	1321	0,02	0,091 (0,454)	0,01	0,448 (1)	0,02	0,076 (0,378)
rs2424932	A/G	1104/1570	1337	-0,02	0,132 (0,662)	0,02	0,080 (0,398)	0,00	0,886 (1)
<i>Anxiety Sensitivity Index (ASI)</i>									
rs4911259	G/T	947/1695	1321	0,11	0,729 (1)	0,15	0,707 (1)	0,15	0,570 (1)

rs2424932	A/G	1072/1570	1321	-0,04	0,905 (1)	0,25	0,522 (1)	0,09	0,714 (1)
Penn State Worry Questionnaire (PSWQ)									
rs4911259	G/T	942/1688	1315	-0,02	0,962 (1)	0,82	0,148 (0,742)	0,35	0,351 (1)
rs2424932	A/G	1067/1563	1315	-0,56	0,256 (1)	-0,79	0,157 (0,783)	-0,66	0,074 (0,369)

Tabelle 52: Gesunde Probanden *DNMT3B* korrigiert für Nikotinkonsum. SNP ID: Einzelnukleotidpolymorphismus, m/M: *minor/major* Allel, N (m/M): *minor/major*- Allelanzahl, Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben. Die Regression bezieht sich auf das *minor* Allel.

SNP ID	m/M	N (m/M)	N	1. Rekrutierungsperiode		2. Rekrutierungsperiode		Gesamtstichprobe	
				Beta	P (B)	Beta	P (B)	Beta	P (B)
Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)									
rs4911259	G/T	1992/3562	2777	0,02	0,050 (0,250)	0,01	0,473 (1)	0,01	0,056 (0,280)
rs2424932	A/G	2197/3331	2764	-0,03	0,002 (0,010)	0,01	0,269 (1)	-0,01	0,184 (0,920)
Anxiety Sensitivity Index (ASI)									
rs4911259	G/T	1989/3561	2775	0,22	0,379 (1)	0,16	0,551 (1)	0,20	0,276 (1)
rs2424932	A/G	2193/3329	2761	-0,43	0,079 (0,395)	-0,02	0,952 (1)	-0,23	0,214(1)
Penn State Worry Questionnaire (PSWQ)									
rs4911259	G/T	1970/3538	2754	0,19	0,597 (1)	-0,11	0,779 (1)	0,04	0,870 (1)
rs2424932	A/G	2180/3304	2742	-0,55	0,126 (0,630)	-0,04	0,924 (1)	-0,29	0,261 (1)

Tabelle 53: Gesunde weibliche Probanden *DNMT3B* korrigiert für Nikotinkonsum. SNP ID: Einzelnukleotidpolymorphismus, m/M: *minor/major* Allel, N (m/M): *minor/major*- Allelanzahl, Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben. Die Regression bezieht sich auf das *minor* Allel.

SNP ID	m/M	N (m/M)	N	1. Rekrutierungsperiode		2. Rekrutierungsperiode		Gesamtstichprobe	
				Beta	P (B)	Beta	P (B)	Beta	P (B)
Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)									
rs4911259	G/T	1096/1940	1518	0,01	0,274 (1)	0,00	0,799 (1)	0,01	0,347 (1)
rs2424932	A/G	1171/1839	1505	-0,04	0,003 (0,015)	0,00	0,952 (1)	-0,02	0,044 (0,220)
Anxiety Sensitivity Index (ASI)									
rs4911259	G/T	1097/1937	1517	0,18	0,594 (1)	0,19	0,583 (1)	0,18	0,457 (1)

rs2424932	A/G	1169/1839	1504	-0,68	0,047 (0,235)	-0,28	0,442 (1)	-0,47	0,064 (0,320)
Penn State Worry Questionnaire (PSWQ)									
rs4911259	G/T	1080/1918	1499	0,32	0,534 (1)	-0,76	0,133 (0,665)	-0,25	0,479 (1)
rs2424932	A/G	1158/1816	1487	-0,75	0,142 (0,710)	0,49	0,346 (1)	-0,09	0,810 (1)

Tabelle 54: Gesunde männliche Probanden *DNMT3B* korrigiert für Nikotinkonsum. SNP ID: Einzelnukleotidpolymorphismus, m/M: *minor/major* Allel, N (m/M): *minor/major*- Allelanzahl, Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben. Die Regression bezieht sich auf das *minor* Allel.

SNP ID	m/M	N (m/M)	N	1. Rekrutierungs- periode		2. Rekrutierungs- periode		Gesamtstich- probe	
				Beta	P (B)	Beta	P (B)	Beta	P (B)
Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)									
rs4911259	G/T	896/1622	1259	0,02	0,088 (0,440)	0,01	0,424 (1)	0,02	0,070 (0,350)
rs2424932	A/G	1026/1492	1259	-0,02	0,181 (0,905)	0,02	0,083 (0,415)	0,00	0,788 (1)
Anxiety Sensitivity Index (ASI)									
rs4911259	G/T	892/1624	1258	0,25	0,481 (1)	0,10	0,809 (1)	0,21	0,432 (1)
rs2424932	A/G	1024/1490	1257	-0,18	0,598 (1)	0,34	0,396 (1)	0,05	0,848 (1)
Penn State Worry Questionnaire (PSWQ)									
rs4911259	G/T	890/1620	1255	0,01	0,989 (1)	0,71	0,201 (1)	0,34	0,380 (1)
rs2424932	A/G	1022/1488	1255	-0,37	0,475 (1)	-0,64	0,252 (1)	-0,49	0,194 (0,970)

Tabelle 55: Haplotypenanalyse des *DNMT3B*-Gens in der Gruppe der gesunden Probanden. Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben.

Haplotyp		1. Rekrutierungsperiode			2. Rekrutierungs- periode			Gesamtstichprobe		
rs4911259	rs2424932	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)
Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)										
T	A	0,399	-0,02	0,009 (0,056)	0,396	0,01	0,290 (1)	0,398	-0,01	0,222 (1)
G	G	0,364	0,02	0,042 (0,254)	0,362	0,00	0,649 (1)	0,363	0,01	0,068 (0,410)
T	G	0,237	0,01	0,465 (1)	0,240	-0,02	0,097 (0,580)	0,238	0,00	0,546 (1)

Anxiety Sensitivity Index (ASI)										
T	A	0,399	-0,29	0,216 (1)	0,396	-0,05	0,841 (1)	0,398	-0,18	0,311 (1)
G	G	0,364	0,16	0,487 (1)	0,362	0,19	0,474 (1)	0,363	0,18	0,320 (1)
T	G	0,237	0,17	0,531 (1)	0,240	-0,16	0,587 (1)	0,238	0,01	0,969 (1)
Penn State Worry Questionnaire (PSWQ)										
T	A	0,399	-0,87	0,014 (0,083)	0,396	-0,17	0,650 (1)	0,398	-0,58	0,027 (0,161)
G	G	0,364	0,45	0,211 (1)	0,362	-0,17	0,655 (1)	0,363	0,17	0,525 (1)
T	G	0,237	0,59	0,151 (0,906)	0,240	0,39	0,362 (1)	0,238	0,52	0,079 (0,476)

Tabelle 56: Haplotypenanalyse des *DNMT3B*-Gens in der Gruppe der gesunden weiblichen Probanden. Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben.

Haplotyp		1. Rekrutierungsperiode			2. Rekrutierungsperiode			Gesamtstichprobe		
rs4911259	rs2424932	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)
Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)										
T	A	0,392	-0,02	0,042 (0,249)	0,390	0,00	0,958 (1)	0,391	-0,01	0,145 (0,870)
G	G	0,371	0,01	0,360 (1)	0,360	0,00	0,897 (1)	0,366	0,01	0,444 (1)
T	G	0,238	0,02	0,187 (1)	0,248	0,00	0,930 (1)	0,243	0,01	0,431 (1)
Anxiety Sensitivity Index (ASI)										
T	A	0,392	-0,46	0,154 (0,924)	0,390	-0,34	0,359 (1)	0,391	-0,39	0,105 (0,630)
G	G	0,371	0,16	0,624 (1)	0,360	0,17	0,637 (1)	0,366	0,16	0,516 (1)
T	G	0,238	0,41	0,275 (1)	0,248	0,16	0,687 (1)	0,243	0,28	0,302 (1)
Penn State Worry Questionnaire (PSWQ)										
T	A	0,392	-1,06	0,027 (0,161)	0,390	0,46	0,373 (1)	0,391	-0,31	0,373 (1)
G	G	0,371	0,61	0,209 (1)	0,360	-0,83	0,101 (0,606)	0,366	-0,10	0,770 (1)
T	G	0,238	0,63	0,258 (1)	0,248	0,45	0,435 (1)	0,243	0,51	0,199 (1)

Tabelle 57: Haplotypenanalyse des *DNMT3B*-Gens in der Gruppe der gesunden männlichen Probanden. Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben.

Haplotyp		1. Rekrutierungsperiode			2. Rekrutierungsperiode			Gesamtstichprobe		
rs4911259	rs2424932	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)
<i>Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)</i>										
T	A	0,407	-0,02	0,154 (0,924)	0,406	0,02	0,101 (0,606)	0,407	0,00	0,915 (1)
G	G	0,355	0,02	0,067 (0,400)	0,362	0,01	0,588 (1)	0,358	0,02	0,083 (0,500)
T	G	0,236	-0,01	0,699 (1)	0,229	-0,04	0,014 (0,085)	0,233	-0,02	0,045 (0,269)
<i>Anxiety Sensitivity Index (ASI)</i>										
T	A	0,407	-0,07	0,840 (1)	0,406	0,31	0,427 (1)	0,407	0,10	0,693 (1)
G	G	0,355	0,14	0,665 (1)	0,362	0,21	0,597 (1)	0,358	0,19	0,470 (1)
T	G	0,236	-0,11	0,784 (1)	0,229	-0,62	0,172 (1)	0,233	-0,35	0,233 (1)
<i>Penn State Worry Questionnaire (PSWQ)</i>										
T	A	0,407	-0,51	0,307 (1)	0,406	-0,91	0,103 (0,618)	0,407	-0,68	0,066 (0,394)
G	G	0,355	0,02	0,972 (1)	0,362	0,66	0,252 (1)	0,358	0,29	0,437 (1)
T	G	0,236	0,68	0,236 (1)	0,229	0,34	0,599 (1)	0,233	0,53	0,220 (1)

Tabelle 58: Haplotypenanalyse des *DNMT3B*-Gens in der Gruppe der gesunden Probanden korrigiert für Nikotinkonsum. Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben.

Haplotyp		1. Rekrutierungsperiode			2. Rekrutierungsperiode			Gesamtstichprobe		
rs4911259	rs2424932	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)
<i>Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)</i>										
T	A	0,399	-0,02	0,010 (0,060)	0,396	0,01	0,277 (1)	0,398	-0,01	0,227 (1)
G	G	0,364	0,02	0,045 (0,270)	0,362	0,00	0,658 (1)	0,363	0,01	0,073 (0,438)
T	G	0,237	0,01	0,458 (1)	0,240	-0,02	0,093 (0,558)	0,238	-0,00	0,557 (1)
<i>Anxiety Sensitivity Index (ASI)</i>										
T	A	0,399	-0,27	0,248 (1)	0,396	-0,03	0,898 (1)	0,398	-0,17	0,322 (1)
G	G	0,364	0,13	0,578 (1)	0,362	0,18	0,496 (1)	0,363	0,17	0,343 (1)

T	G	0,237	0,19	0,489 (1)	0,240	-0,18	0,557 (1)	0,238	0,01	0,947 (1)
Penn State Worry Questionnaire (PSWQ)										
T	A	0,399	-0,842	0,017 (0,102)	0,396	-0,15	0,650 (1)	0,398	-0,57	0,029 (0,174)
G	G	0,364	0,412	0,248 (1)	0,362	-0,18	0,655 (1)	0,363	0,15	0,570 (1)
T	G	0,237	0,598	0,142 (0,852)	0,240	0,38	0,362 (1)	0,238	0,53	0,074 (0,444)

Tabelle 59: Haplotypenanalyse des *DNMT3B*-Gens in der Gruppe der gesunden weiblichen Probanden korrigiert für Nikotinkonsum. Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben.

Haplotyp		1. Rekrutierungsperiode			2. Rekrutierungsperiode			Gesamtstichprobe		
rs4911259	rs2424932	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)
Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)										
T	A	0,392	-0,02	0,040 (0,240)	0,390	-0,00	0,96 (1)	0,391	-0,01	0,145 (0,870)
G	G	0,371	0,01	0,349 (1)	0,360	0,00	0,887 (1)	0,366	0,01	0,442 (1)
T	G	0,238	0,02	0,190 (1)	0,248	-0,00	0,930 (1)	0,243	0,01	0,432 (1)
Anxiety Sensitivity Index (ASI)										
T	A	0,392	-0,45	0,16 (0,960)	0,390	-0,35	0,346 (1)	0,391	-0,39	0,107 (0,642)
G	G	0,371	0,15	0,65 (1)	0,360	0,18	0,616 (1)	0,366	0,15	0,530 (1)
T	G	0,238	0,41	0,267 (1)	0,248	0,16	0,690 (1)	0,243	0,29	0,296 (1)
Penn State Worry Questionnaire (PSWQ)										
T	A	0,392	-1,05	0,027 (0,162)	0,390	0,46	0,373 (1)	0,391	-0,31	0,377 (1)
G	G	0,371	0,61	0,212 (1)	0,360	-0,83	0,102 (0,612)	0,366	-0,11	0,760 (1)
T	G	0,238	0,63	0,258 (1)	0,248	0,45	0,437 (1)	0,243	0,51	0,197 (1)

Tabelle 60: Haplotypenanalyse des *DNMT3B*-Gens in der Gruppe der gesunden männlichen Probanden korrigiert für Nikotinkonsum. Beta: Regressionskoeffizient, P: nominaler und in Klammern nach Bonferroni korrigierter *p*-Wert. Signifikante *p*-Werte sind dick hervorgehoben.

Haplotyp		1. Rekrutierungsperiode			2. Rekrutierungsperiode			Gesamtstichprobe		
rs4911259	rs2424932	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)	Freq.	Beta	P (B)
<i>Agoraphobic Cognition Questionnaire (ACQ)</i>										
T	A	0,407	-0,02	0,159 (0,954)	0,406	0,02	0,091 (0,546)	0,407	0,00	0,915 (1)
G	G	0,355	0,02	0,071 (0,426)	0,362	0,01	0,602 (1)	0,358	0,02	0,084 (0,504)
T	G	0,236	-0,00	0,712 (1)	0,229	-0,04	0,013 (0,078)	0,233	-0,02	0,045 (0,270)
<i>Anxiety Sensitivity Index (ASI)</i>										
T	A	0,407	-0,04	0,899 (1)	0,406	0,36	0,361 (1)	0,407	0,10	0,687 (1)
G	G	0,355	0,10	0,765 (1)	0,362	0,19	0,644 (1)	0,358	0,18	0,485 (1)
T	G	0,236	-0,08	0,835 (1)	0,229	-0,65	0,155 (1)	0,233	-0,35	0,241 (1)
<i>Penn State Worry Questionnaire (PSWQ)</i>										
T	A	0,407	-0,51	0,307 (1)	0,406	-0,86	0,130 (0,780)	0,407	-0,69	0,065 (0,390)
G	G	0,355	0,02	0,974 (1)	0,362	0,62	0,283 (1)	0,358	0,30	0,428 (1)
T	G	0,236	0,68	0,235 (1)	0,229	0,30	0,642 (1)	0,233	0,52	0,223 (1)

4. Diskussion

Die Pathogenese der Angsterkrankungen, die in den westlichen Industriestaaten die häufigsten psychischen Erkrankungen darstellen, ist bisher nicht hinreichend geklärt (Baxter et al., 2013; Craske et al., 2017). Nach heutigem Wissensstand ist das Vulnerabilitäts-Stress-Modell am ehesten geeignet, die Ätiopathogenese der Angsterkrankungen abzubilden (Gottschalk & Domschke, 2016; Schiele & Domschke, 2017). Innerhalb dieses multifaktoriellen Modells werden epigenetische Mechanismen, wie beispielsweise die DNA-Methylierung, als vermittelnde Schnittstelle zwischen Vulnerabilitätsfaktoren und Stressoren verstanden (Schiele & Domschke, 2017). Diese Schnittstelle ist von großem klinischem Interesse, denn es besteht die Hoffnung, mittels Therapiemaßnahmen wie der kognitiven Verhaltenstherapie oder zukünftig mittels medikamentöser Behandlung, positiv in die epigenetischen Mechanismen eingreifen zu können um eine Angsterkrankung gezielt zu therapieren.

Einer dieser epigenetischen Mechanismen, die DNA-Methylierung, wird durch die DNA-Methyltransferasen vermittelt. Bisher wurden große Anstrengungen unternommen, um Methylierungsmuster und deren Einfluss auf unterschiedliche psychische Erkrankungen zu untersuchen. Da aber in diesem Zusammenhang nur wenig über die DNA-Methyltransferasen, die für die Methylierungsmuster verantwortlich sind, bekannt ist, wurde in dieser Arbeit untersucht, ob ausgewählte Polymorphismen der *de novo Methyltransferase-Gene 3A* und *3B* mit der Panikstörung und mit angstbezogenen psychologischen Charakteristiken assoziiert sind. Ausgewählt wurden drei Einzelnukleotidpolymorphismen des *DNMT3A*- und zwei Einzelnukleotidpolymorphismen des *DNMT3B*-Gens. In der Literatur wurden diese fünf SNPs bereits als assoziiert mit einem negativen Effekt stressvoller Stimuli auf den Affekt und Suizidversuchen beschrieben (Murphy et al., 2013; Pishva et al., 2014).

Von insgesamt 3618 Personen wurden sowohl Genotypisierungsdaten zu den fünf ausgewählten SNPs als auch dimensionale Daten aus psychometrischen Fragebögen erhoben. Ziel dieser Untersuchungen war es zum einen zu ermitteln, ob eine Genotyp-Phänotyp-Assoziation zwischen den fünf ausgewählten SNPs des *DNMT3A/B*-Gens sowie deren Haplotypen und dem kategorialen

Angstphänotypen der Panikstörung mit und ohne Agoraphobie besteht und zum anderem, ob eine Assoziation zwischen den Allelen der ausgewählten SNPs sowie deren Haplotypen mit dimensional psychologischen Charakteristiken, wie angstbezogener Kognition oder Angstsensitivität, vorliegt.

Es zeigte sich, dass nur einer der drei untersuchten SNPs des *DNMT3A*-Gens, rs1465764, signifikante Ergebnisse erbrachte. In der gesunden Probandengruppe wiesen Berechnungen bezogen auf das T-Allel von rs1465764 eine negative Assoziation mit den in den Fragebögen erzielten Werten auf. Mit jedem T-Allel sank demzufolge die von den gesunden Probanden erreichte Punktzahl in den Fragebögen um den jeweils ermittelten Wert des Regressionskoeffizienten. In der Gruppe der gesunden Probanden konnte nach der Korrektur für multiples Testen in der 2. Rekrutierungsperiode und in der Gesamtstichprobe für den ACQ wie auch in der 1. Rekrutierungsperiode für den PSWQ und in der 2. Rekrutierungsperiode für den ASI eine nominale Signifikanz festgestellt werden. Eine nominale Signifikanz boten auch die Ergebnisse der Assoziationsanalysen der Individuen der 2. Rekrutierungsperiode für den ASI. In der Gesamtstichprobe der gesunden Probanden zeigte sich eine signifikante Assoziation (adjustierter p -Wert = 0,006) nach der Korrektur für multiples Testen nur in Bezug auf den PSWQ. In der Gesamtstichprobe der weiblichen gesunden Probanden zeigte sich eine nominale Signifikanz ebenfalls nur bei Betrachtung der im PSWQ erreichten Punktzahlen. Weitere geschlechtsspezifische Unterschiede wurden nicht abgebildet. Die anderen beiden untersuchten SNPs des *DNMT3A*-Gens wiesen keinerlei Assoziation mit den Fragebogenergebnissen auf. In der Stichprobe der Panikpatienten konnte keine Assoziation zwischen den Allelen der drei SNPs des *DNMT3A*-Gens und den Fragebogenergebnissen identifiziert werden. Die logistische Regressionsanalyse zeigte zudem keinen Unterschied zwischen der Probandengruppe und der Patientengruppe bezüglich Allelhäufigkeiten.

In der linearen Regressionsanalyse der dimensional Daten zu den beiden SNPs des *DNMT3B*-Gens zeigte sich eine nominal signifikante Assoziation

zwischen dem SNP rs2424932 und den Fragebögenenergebnissen des ACQ in der Gruppe der gesunden Probanden (1. Rekrutierungsperiode). Auch bei dieser Assoziation war der Regressionskoeffizient in Bezug auf das *minor* Allel (A-Allel) negativ. Mit jedem *minor* Allel sank somit das Ergebnis der Fragebögen um den jeweiligen Regressionskoeffizienten. Diese Ergebnisse hielten jedoch einer Korrektur für multiples Testen nicht stand.

Auch die Assoziationsuntersuchung der beiden *DNMT3B*-SNPs in der Gruppe der Panikpatienten in Hinblick auf die Fragebogenergebnisse und die nach Geschlecht stratifizierte Betrachtung der Daten zeigten keinerlei Signifikanzen. Eine logistische Regressionsanalyse erbrachte zudem keinen Unterschied zwischen der Probanden- und der Patientengruppe bezüglich der Allelhäufigkeiten.

In den Haplotypenanalysen der gesunden Probanden boten sich signifikante und nominale Assoziationen zwischen dem *minor* Allel T des SNPs rs1465764 und dem *major* Allel des SNPs rs11683424 im *DNMT3A*-Gen mit den Ergebnissen des ACQ und v.a. des PSWQ. Die Haplotypenanalysen bzgl. der beiden untersuchten SNPs im *DNMT3B*-Gen zeigten nominal signifikante Assoziationen zwischen dem *minor* Allel A des SNPs rs2424932 und dem *major* Allel T des SNPs rs4911259 mit den Ergebnissen des ACQ und PSWQ. Die jeweilige Kombination der Einzelnukleotidpolymorphismen wiesen vornehmlich, bei einem negativen Regressionskoeffizienten, auf einen nominal signifikanten protektiven Effekt der Haplotypen hin. In der linearen Regressionsanalyse des SNPs rs11683424 und des SNPs rs4911259 ergab sich kein Anhalt für einen protektiven Effekt dieser SNPs. Der nachgewiesene protektive Effekt in der Haplotypenanalyse lässt darauf schließen, dass die gemessenen Signifikanzen durch ein Aufsummieren der Einzeleffekte zustande kam und möglicherweise ein funktioneller Einfluss der SNPs besteht. Denkbar ist auch, dass nur jeweils einer der beiden Einzelnukleotidpolymorphismen eine Funktionalität aufweist und der in den Haplotypenanalysen berechnete Effekte durch ein hohes Kopplungsungleichgewicht der jeweiligen SNPs erklärt werden kann. Die Haploblockanalysen untermauern ein hohes Kopplungsungleichgewicht der beiden SNPs im *DNMT3A*- und der beiden SNPs im *DNMT3B*-Gen (siehe

Abbildung 4 und 16). Zur Klärung eventueller funktioneller Eigenschaften der Einzelnukleotidpolymorphismen ist die Durchführung funktioneller Untersuchungen geeignet, die im Verlauf diskutiert werden.

Somit konnte nur in der gesunden Probandengruppe eine negative Assoziation mit dem Vorliegen des *minor* Allels sowohl des rs1465764 im *DNMT3A*- als auch des rs2424932 im *DNMT3B*-Gen und der erreichten Punktzahlen in den Fragebögen, im Sinne eines protektiven Effekts, gefunden werden.

Pishva und Mitarbeiter beschrieben eine Assoziation zwischen den *minor* Allelen der SNPs rs1465764 und rs1465825 und der emotionalen Reaktion auf stressvolle Stimuli. Die *minor* Allele zeigten sich als protektiv. Träger der *minor* Allele des rs1465764 und des rs1465825 konnten den Effekt stressvoller Ereignisse besser "abpuffern". Eine signifikante Assoziation zwischen dem SNP rs1465764 und der Reaktion auf stressvolle Ereignisse konnten die Autoren ebenfalls nur in den Stichproben der gesunden Probanden (gesunde Kontrollprobanden, gesunde Zwillingspaare, gesunde Geschwister an einer schizophrenen Störung erkrankter Patienten) erzielen. Für den Einzelnukleotidpolymorphismus rs1465825 fand sich ein signifikantes Ergebnis in zwei der drei gesunden Probandenstichproben (gesunde Kontrollprobanden, gesunde Zwillingspaare) und in der Stichprobe an einer Depression erkrankter Patienten. In der Kohorte der schizophrenen Patienten fanden sich keine Assoziationen.

Der Einzelnukleotidpolymorphismus rs11683424, der in dieser Arbeit zu keinem signifikanten Ergebnis führte, wurde von Pishva und Mitarbeitern ebenfalls als signifikanter protektiver Faktor identifiziert. Neben einer signifikanten Assoziation des *minor* Allels dieses SNPs in zwei Stichproben gesunder Probanden, zeigte sich auch in der Gruppe von an Depressionen Erkrankter eine signifikante Assoziation.

Die Vergleichbarkeit der Untersuchung von Pishva und Kollegen und dieser Arbeit ist jedoch aufgrund andersartiger Studiendesigns und unterschiedlicher demographischer Daten der Probanden eingeschränkt. So untersuchten die Autoren nicht nur mit Patienten, die an einer Depression leiden, sondern auch mit Patienten, die an einer schizophrenen Störung erkrankt sind, zwei

andersartige Phänotypen und erhobene Daten zu andersartigen psychologischen Charakteristiken.

So sind sowohl die Stichproben der gesunden Probanden als auch die Stichproben der von einer psychischen Erkrankung betroffenen Patienten in der Studie von Pishva und Mitarbeitern kleiner (insgesamt Einschluss von 867 Probanden, davon 631 gesunde Probanden). Eine kleineren Stichprobengröße könnte in der Untersuchung von Pishva und Mitarbeitern einen falsch positiven Effekt des SNPs 11683424 und des SNPs rs1465825 bedingt haben. Das mittlere Alter der Probanden in der Untersuchung von Pishva und Mitarbeitern bewegt sich zwischen 27,6 und 43,7 Jahren, im Vergleich zu 25,3 Jahren der gesunden Probanden und 35,2 Jahren der Panikpatienten in dieser Studie. Da ein Alter zwischen 16 und 55 Jahren als ein Einschlusskriterium für die Subgruppe weiblicher und männlicher Kontrollen ($w=78/m=34$) von Pishva und Kollegen festgelegt wurde, kann ein Einschluss Minderjähriger in ihre Studie anhand der zur Verfügung gestellten Daten nicht ausgeschlossen werden.

Der Anteil weiblicher zu männlichen Probanden war in den einzelnen Stichproben sehr unterschiedlich. So kam es in der Studie von Pishva und Mitarbeitern in der Gruppe der gesunden Zwillingspaare ($N=434$) ausschließlich zum Einschluss weiblicher Probanden und der Frauenanteil in der Gesamtstichprobe lag um etwa das 7fache höher als der Anteil der männlichen Probanden. In der vorliegenden Arbeit überstieg der weibliche Probandenanteil den männlichen um das 1,2fache. Da Frauen etwa 2 bis 2,5fach häufiger an einer Angststörung erkranken als Männer (Baxter et al., 2013; Jacobi et al., 2014; Wittchen et al., 2011), kann die Anzahl untersuchter weiblicher und männlicher Probanden einen in dieser Arbeit nicht abgebildeten Einfluss auf die SNP-Effekte haben. In der geschlechtsspezifischen Auswertung der Daten zeigte sich jedoch keine geschlechtsspezifische Wirkung der beiden untersuchten Gene, so dass ein geschlechtsspezifischer Effekt, wenn vorhanden, als wahrscheinlich gering einzuschätzen ist.

Ein Vergleich der Ergebnisse dieser Arbeit mit den Untersuchungsergebnissen der Studie von Pishva und Mitarbeitern wäre bezogen auf den Nikotinkonsum der Probanden interessant gewesen. Ein signifikant divergenter Nikotinkonsum der

Probandengruppen könnte ebenfalls einen Einfluss auf die voneinander abweichenden Untersuchungsergebnisse haben. Denn ein durch Nikotinkonsum diversifiziertes Methylierungsmuster des *DNMT3A*- und *DNMT3B*-Gens kann Einfluss auf deren Expression und somit auf das Methylom nehmen. Jedoch finden sich in der Studie von Pishva und Mitarbeitern hierzu keine Daten und eine Erhebung des Raucherstatus der Panikpatienten ist in der vorliegenden Arbeit nicht erfolgt. (Pishva et al., 2014)

Murphy und Mitarbeiter fanden eine Assoziation mit den beiden SNPs rs2424932 und rs4911259 des *DNMT3B*-Gens und Suizidversuchen von Patienten, die an unterschiedlichen psychischen Erkrankungen litten (unter anderem Angststörungen und Depression). Die Autoren identifizierten das A-Allel des SNPs rs2424932 und das G-Allel des SNPs rs4911259 als Risiko-Allele, welche sich als signifikant assoziiert mit Suizidversuchen zeigten. In der vorliegenden Arbeit konnte jedoch nur eine nominal signifikante Assoziation zwischen dem *minor* Allel des Einzelnukleotidpolymorphismus rs2424932 und den psychometrischen Fragebogenergebnissen festgestellt werden. Zudem deuten die Ergebnisse unserer Arbeit auf einen protektiven Effekt des A-Allels dieses SNPs hin. Diese gegensätzlichen Ergebnisse und Effekte könnten auch hier auf den unterschiedlichen demographischen und phänotypischen Eigenschaften der Stichproben beruhen. Murphy und Mitarbeiter untersuchten keine gesunden Probanden. Auch das mittlere Alter der eingeschlossenen Patienten lag mit 33,6 (Patienten mit Suizidversuch) und 40,9 Jahren (Patienten ohne Suizidversuch) teilweise über dem mittleren Alter der Probanden dieser Arbeit (mittleres Alter Gesamtstichprobe gesunder Probanden: 25,3 Jahre; mittleres Alter Gesamtstichprobe der Patienten: 35,2 Jahre). Der Anteil der eingeschlossenen Männer lag in der Untersuchung von Murphy und Mitarbeitern (in der Gruppe der Patienten mit Suizidversuch 47,4 % Männer; in der Gruppe der Patienten ohne Suizidversuch 61,3 % Männer) über dem dieser Arbeit (42,4%). Die Anzahl der insgesamt eingeschlossenen Personen in der Untersuchung von Murphy und Mitarbeitern lag bei 159 (Murphy et al., 2013), das beträgt weniger als ein Zwanzigstel der in der vorliegenden Arbeit analysierten Anzahl von Individuen.

Zusammenfassend stellt sich die Frage, wieso in dieser Arbeit signifikante Ergebnisse nur in der gesunden Probandengruppe nachgewiesen werden konnten und warum der Effekte des *minor* Allels des SNPs rs2424932 diametral zu dem von Murphy und Mitarbeitern beschriebenen berechnet wurde.

Eine denkbare Erklärung ist, dass der von uns ermittelte protektive Effekt der *minor* Allele nach Manifestation einer Panikstörung aufgrund der geringen Effektstärke nicht mehr zum Tragen kommt und daher in der Patientengruppe nicht abgebildet werden kann. Einen Hinweis hierauf bietet das mittlere Alter der gesunden Probanden (25,3 Jahre) im Vergleich zu dem mittleren Alter der Panikpatienten (35,2 Jahre). Angststörungen wie die Panikstörung, aber auch die Generalisierte Angststörung und die Posttraumatische Belastungsstörung, weisen weltweit ein mittleres Erkrankungsalter zwischen dem 24. und dem 50. Lebensjahr auf (Kessler et al., 2014). Das mittlere Erkrankungsalter der Panikstörung wird auf 32 Jahre geschätzt (de Jonge et al., 2016). Denkbar ist daher, dass gesunde Probanden im Laufe ihres Erwachsenenalters an einer Panikstörung erkranken werden, und das zuvor protektive Allel dann nicht mehr als solches mittels nachzuweisen ist.

Die in dieser Arbeit gemessene Effektumkehr der von Murphy und Mitarbeitern beschriebenen Risiko-Allele könnte zudem durch das sogenannte "Flip-Flop-Phänomen" erklärt werden (Lin, Vance, Pericak-Vance & Martin, 2007). Stellen die untersuchten SNPs selber keine kausale Variante dar, sondern weisen eine Assoziation mit einem Phänotypen auf, weil sie in der untersuchten Population im LD mit einer kausalen Variante liegen, kann zwischen unterschiedlichen Populationen eine Effektumkehr beobachtet werden, wenn sich das LD der Populationen in diesem Sequenzabschnitt unterscheidet. Werden einzelne Varianten untersucht, so kann es zudem aufgrund der Interaktion mit anderen nicht untersuchten Risiko- oder auch protektiven Faktoren zu einem "Flip-Flop-Phänomen" kommen. Zusammenfassend postulieren Lin und Mitarbeiter, dass verschiedene Untersuchungen der gleichen Varianten aufgrund von Gen-Gen-Interaktion und einem unterschiedlichen LD selbst bei der Untersuchung gleicher Phänotypen zu einer Effektumkehr führen können. Somit könnte dasselbe Allel eines Einzelnukleotidpolymorphismus im Sinne von Multi-Lokus-Effekten sowohl

einen protektiven Effekt vermitteln als auch ein Risiko-Allel darstellen. (Lin et al., 2007)

Interessant ist zudem, dass sich die stärkste Assoziation zwischen dem SNP rs1465764 und den Ergebnissen des PSWQ zeigte. Dieser psychometrische Fragebogen besteht zu einem Großteil aus Fragen, welche sich auf sorgenvolle Gedanken im Sinne einer pathologischen Besorgnis beziehen und daher geeignet ist um Patienten, die an einer Generalisierten Angststörung erkrankt sind, von Gesunden zu unterscheiden (Hoyer & Margraf, 2003). Es lagen jedoch keine Daten zum PSWQ-Fragebogen in der Panikpatientenkohorte vor. Demnach wäre zu überprüfen, ob eine Assoziation des SNPs rs1465764 und den Fragebogenergebnissen bei Panikpatienten besteht. Interessant wäre darüber hinaus eine Untersuchung des SNPs rs1465764 in Verbindung mit der Generalisierten Angststörung als einem anderen Angstphänotypen.

Eine Genotyp-Phänotyp-Assoziation zwischen den Allelen der fünf ausgewählten SNPs des *DNMT3A/B*-Gens und deren Haplotypen mit dem kategorialen Angstphänotypen der Panikstörung sowie mit dimensional Angsteigenschaften kann anhand der vorliegenden Daten somit abschließend nicht zurückgewiesen werden, auch wenn die nachgewiesenen Effekte als eher gering einzuschätzen sind. Denn die nachgewiesenen Assoziationen sind ferner auf dem Boden der Limitationen dieser Arbeit zu bewerten. Zu den Limitationen zählt zum einen die zu geringe Teststärke der Fall-Kontroll-Gruppe. Mögliche kleine Effektstärken sind bei der geringen Teststärke nicht sicher abzubilden. Falsch positive Effekte in der gesunden Probandengruppe ist ebenfalls denkbar. Um die gefundenen Assoziationen besser bewerten zu können, wäre eine Replikation in einer weiteren gesunden Probandengruppe und in einer angemessen großen Patienten- und Fall-Kontroll-Gruppe mit ausreichender Teststärke angezeigt. Dabei sollte eine Erfassung des Nikotinkonsums sowohl bei Patienten als auch bei gesunden Kontrollen erfolgen um diesen als Kovariablen mit einzubeziehen.

Die derzeitige Studienlage weist einzelnen Polymorphismen im Zusammenhang mit der Entstehung von Angsterkrankungen jeweils geringe Effektstärken zu, die sich jedoch aufsummieren können und so den Phänotyp der Angsterkrankung mit bedingen (Otowa et al., 2016). Mittels genomweiter Assoziationsstudien könnten in einer ausreichend großen Stichprobe auch kleine Effekte abgebildet werden und Assoziationen mit anderen Genloci einen Einblick in die komplexe Interaktion zwischen den DNMTs mit anderen Genen bieten.

Da es sich bei dieser Arbeit um eine Assoziationsstudie handelt, bleibt fraglich, ob die gefundenen Assoziationen auf einen direkten funktionellen Einfluss der untersuchten SNPs selbst zurückzuführen sind, oder ob die SNPs mit anderen Genloci assoziiert sind, in denen die eigentlichen kausalen genetischen Varianten für die Entwicklung der Panikstörung liegen. Anhand der durchgeführten funktionellen Charakterisierung fanden sich für die signifikanten SNPs die folgenden funktionellen Eigenschaften: Der SNP rs1465764 im *DNMT3A*-Gen befindet sich in einem Intron. Liegt das T-Allel dieses SNPs vor, für das in dieser Arbeit ein protektiver Effekt nachgewiesen werden konnte, so fehlt eine Bindungsstelle für zwei *splicing enhancer*. Es kann daher vermutet werden, dass der jeweilige Allelstatus zu verschiedenen prozessierten *Messenger-RNAs* (mRNAs) und somit zu unterschiedlichen Proteineigenschaften führt. Der SNP rs2424932, der eine nominal signifikante Assoziation mit den psychometrischen Fragebogenergebnissen gezeigt hat, ist in einem Exon des *DNMT3B*-Gens zu finden und liegt innerhalb der 3`UTR-Region und zwar im Bereich einer Transkriptionsfaktorbindungsstelle wie auch einer Bindungsstelle für die Mikro-RNA (miRNA)- 920. Über die Funktion dieser miRNA ist derzeit wenig bekannt. In der Literatur wird berichtet, dass miRNA-920 vermehrt in der Erholungsphase nach Schlaganfällen exprimiert wird und möglicherweise mit der zentralnervösen Regeneration assoziiert ist (Sepramaniam et al., 2014).

Ob und wie diese funktionellen Eigenschaften der SNPs die Proteinstruktur (rs1465764) der DNMTs bzw. die Transkription (rs2424932) der beiden Gene beeinflussen, muss anhand funktioneller Studien, z. B. durch die Untersuchung der jeweiligen komplementären DNA (cDNA) oder der Genexpression mittels Biolumineszenz-Reaktion, überprüft werden. Andere funktionelle

Untersuchungsmöglichkeiten werden im weiteren Verlauf der Diskussion erörtert. (Genetics and Bioinformatics Team-Aix Marseille Université, 2017; Murphy et al., 2013; National Center for Biotechnology Information, 2017e, 2017g; National Institute of Environmental Health Sciences, 2017; Pishva et al., 2014)

Untersuchungen der *Dnmt*-Expression im ZNS anhand von Mausmodellen lassen darauf schließen, dass Polymorphismen der *DNMT*-Gene aufgrund ihrer funktionellen Charakteristika (s. Tabelle 2) über die Regulation der Expression als kausale Variablen mit Angsterkrankungen assoziiert sein können. So wird in der Literatur von Zusammenhängen der zentralnervösen *Dnmt*-Expression und einem anxiolytischen Effekt oder auch einer Modulierung von depressionsähnlichem Verhalten bei Nagetieren berichtet (Elliott et al., 2016; Morris et al., 2016).

Elliott und Mitarbeiter beschreiben beispielsweise, dass bei Mäusen im medialen präfrontalen Cortex die *Dnmt3a*-mRNA-Level sinken, wenn diese chronischem sozialen Stress ausgesetzt sind und daraufhin ein angstähnliches Verhalten zeigten. Bei Überexpression der *Dnmt3a* im medialen präfrontalen Cortex, basierend auf einem Lentivirus-Mausmodell, kam es bei Mäusen zu einem anxiolytischen Effekt. Wurde die *Dnmt3a*-Expression vermindert zeigten auch nicht gestresste Mäuse einen angstähnlichen Phänotyp. (Elliott et al., 2016)

Ergänzend berichten LaPlant und Mitarbeiter, dass es im Nucleus accumbens von Mäusen, die chronischen sozialen Stress erfahren haben, zu einer vermehrten Expression des *Dnmt3a*-Gens kam (LaPlant et al., 2010). Im Rahmen eines Lentivirus-basierenden Mausmodells konnten LaPlant und Mitarbeiter ein depressionsähnliches Verhalten bei den Nagetieren durch eine gezielte *Dnmt3a*-Überexpression im Nucleus accumbens hervorrufen (LaPlant et al., 2010). Eine verminderte Expression der *Dnmt1* im Prosencephalon zeigte in Mäusen dahingegen eine anxiolytische und antidepressive Wirkung (Morris et al., 2016). Dies deutet einerseits auf eine Expressions-abhängige diverse und lokal spezifische Funktion der Dnmts in postmitotischen Neuronen hin und unterstreicht andererseits die Hypothese, dass andere Phänotypen wie beispielsweise die Depression mit den DNMTs assoziiert sind.

Im Vorderhirn und im Hippocampus von Nagetieren wurde zudem ein Zusammenhang zwischen der Expression der *Dnmt1*, *Dnmt3a* und *Dnmt3b* und dem Lernen und der Gedächtnisbildung beschrieben (Feng et al., 2010; Hammels et al., 2015; Miller & Sweatt, 2007). Feng und Mitarbeiter untersuchten die neuronale Plastizität, Lernen und Gedächtnisbildung von Mäusen, bei denen das *Dnmt1*- und/oder das *Dnmt3a*-Gen gezielt im Vorderhirn ausgeschaltet wurde. Es zeigte sich, dass sich nur bei Mäusen, bei denen beide Gene ausgeschaltet wurden, ein vermindertes hippocampales Volumen so wie Schwächen beim Lernen und in der Gedächtnisbildung zeigten. Die Autoren untersuchten zudem, in welchem Ausmaß die Furchtkonditionierung von der Stilllegung der Gene beeinträchtigt wurde. Hier zeigten erneut nur die Mäuse, bei denen beide *DNA-Methyltransferase*-Gene ausgeschaltet wurden, eine verminderte Furchtkonsolidierung (Feng et al., 2010). Da nur das Ausschalten beider Gene einen Effekt zeigte, kann dies erklären, warum die Betrachtung einzelner SNPs in dieser Arbeit zu einer geringen Anzahl signifikanter Ergebnisse mit einer niedrigen Effektstärke geführt hat. Denkbar ist eine Aufsummierung der funktionalen Einflüsse mehrerer Polymorphismen simultan in verschiedenen *DNMT*-Genen.

Miller und Mitarbeiter beobachteten darüber hinaus im Rahmen der kontextgebundenen Furchtkonditionierung von Ratten eine erhöhte Genexpression des *Dnmt3a*- aber auch des *Dnmt3b*-Gens im Hippocampus, einhergehend mit einer Änderung zentralnervöser Methylierungsmuster (Miller & Sweatt, 2007). Sie zeigten zudem, dass die Aktivität der Methyltransferasen entscheidend für die Furchtkonditionierung ist. Ratten, die eine lokale hippocampale Injektion eines *DNMT*-Inhibitors (5-Aza-2'-desoxycytidin) 24 Stunden nach kontextgebundener Furchtkonditionierung erhielten, zeigten im Vergleich zu unbehandelten Artgenossen ein vermindertes angstähnliches Verhalten (Miller & Sweatt, 2007). Daraufhin wurde der Methylierungsstatus und die Expression des *Ppp1cc*- wie auch des *Reln*-Gens im Mäusehippocampus nach kontextgebundener Furchtkonditionierung ohne Inhibitorgabe von Miller und Mitarbeitern untersucht. Nach kontextgebundener Furchtkonditionierung lagen eine vermehrte Methylierung und verminderte mRNA-Level des *Ppp1cc*-

Gens vor, einem Gen, dessen Genprodukt an der Hemmung der Gedächtnisbildung beteiligt sein soll (Genoux et al., 2002; Miller & Sweatt, 2007). Im Gegensatz dazu gilt das Genprodukt des *Reln*-Gens (Reelin), durch seinen positiven Einfluss auf die Langzeitpotenzierung und somit auf die neuronale Plastizität, als förderlich für die Gedächtnisbildung (Genoux et al., 2002). Am *Reln*-Gen bot sich eine Demethylierung wie auch ein erhöhtes hippocampales *Reln*-mRNA-Level (Miller & Sweatt, 2007). Dementsprechend kann geschlussfolgert werden, dass Dnmts eine Rolle in der Furchtkonditionierung, im Speziellen in der Konsolidierung, spielen und durch Modulierung der Dnmt-Aktivität bzw. Expression, z.B. durch funktionelle Polymorphismen oder auch den Methylierungsmustern der *DNMT*-Gene selbst, direkt Einfluss auf das Angstgedächtnis genommen werden kann.

Es muss jedoch betont werden, dass diese Assoziationen anhand von Mausmodellen gefunden und dass je nach untersuchter Hirnregion teils Assoziationen mit entgegengesetzten Effekten entdeckt wurden. Auch muss erwähnt werden, dass *Dnmt3b* in den Gehirnen von Mäusen und Ratten vornehmlich in der Embryogenese exprimiert werden und im erwachsenen Mäuse- beziehungsweise Rattengehirn die Expression von *Dnmt3a* vorherrscht (Feng, Chang, Li & Fan, 2005; Hirasawa & Sasaki, 2009; Simmons, Stringfellow, Glover, Wagle & Clinton, 2013; Watanabe, Suetake, Tada & Tajima, 2002).

In der Literatur finden sich Daten zur Expression des *DNMT3A*- und *3B*-Gens beim Menschen derzeit vornehmlich in zwei Datenbanken, dem Genotype-Tissue Expression (GTEx) project (Lonsdale et al., 2013; The Broad Institute of MIT and Harvard, 2019) und dem Functional Annotation of Mammalian Genomes 5 (FANTOM5) project (Forrest et al., 2014; RIKEN, 2014). Die Daten des Genotype-Tissue Expression (GTEx) project und des Functional Annotation of Mammalian Genomes 5 (FANTOM5) project sind auf der Website des Humanen Protein Atlas zusammengefasst (The Human Protein Atlas, 2016g; Uhlen et al., 2015). Zudem sind Expressionsdaten der HPA RNA-seq data in einem kleineren Umfang von Kindern und Erwachsenen, darunter neoplastische Zellen, in die Datenbank des Human Protein Atlas eingeflossen (The Human Protein Atlas,

2016f). Grundlage der GTEx-Daten sind post mortem Gewebe von Erwachsenen (≥ 20 Jahre). Es zeigt sich anhand dieser Daten im menschlichen adulten Hirngewebe wie bei Nagetieren eine vermehrte Expression des *DNMT3A*-Gens (Neurone wie auch Gliazellen) (The Human Protein Atlas, 2019a) verglichen mit der Expression des dem *DNMT3B*-Gens (Neurone und Gliazellen) (The Human Protein Atlas, 2019b). FANTOM5 bezieht die Expressionsdaten dahingegen aus fetalen, adulten und neoplastischen Zellproben (Forrest et al., 2014; Noguchi et al., 2017). Eine zellspezifische Zuordnung (Gliazellen oder Neurone) der Expression ist den FANTOM5-Daten nicht zu entnehmen. Die Expressionsdaten des FANTOM5-Projekts und die HPA RNA-seq data sind daher nur unter Vorbehalt mit einzubeziehen, zeigen aber auch eine vermehrte *DNMT3A*-Expression im humanen Gehirngewebe im Vergleich zur Expression des *DNMT3B*-Gens (The Human Protein Atlas, 2019a, 2019b). Daraus lässt sich der Schluss ziehen, dass beim Menschen, ähnlich den Nagetieren, im adulten Gehirn die Expression des *DNMT3A*-Gens vorherrscht. Auch in humanen Leukozyten von Erwachsenen bestehen höhere *DNMT3A*-mRNA- als *3B*-mRNA-Level (The Human Protein Atlas, 2016c, 2016e). Da die *DNMT3B* im adulten menschlichen Gewebe eine untergeordnete Rolle zu spielen scheint, können die unterschiedlichen Expressionslevel der *DNMTs* im adulten Gewebe (Gehirn und Leukozyten) erklären warum in dieser Arbeit signifikante Assoziationen v.a. zwischen den dimensional Daten der psychometrischen Tests und den Einzelnukleotidpolymorphismen des *DNMT3A*- und nicht des *DNMT3B*-Gens gefunden wurden, wenn das *DNMT3B* nach der Embryogenese nur noch eine untergeordnete Rolle in der Vermittlung der Gen-Umwelt-Interaktion spielt. Natürlich sind auch die Ergebnisse des GTEx-Projekts aufgrund der post mortem gewonnen Gewebe mit Vorbehalt zu bewerten, könnte doch die Agoniephase einen Einfluss auf die *DNMT*-Expression nehmen.

Nicht nur funktionelle Einzelnukleotidpolymorphismen oder die Interaktion mit anderen Genen können einen Einfluss auf die DNA-Methyltransferasen haben, sondern auch der Methylierungsstatus ihrer Gene. Bisher ist wenig bekannt über die Methylierungsmuster der *DNMT*-Gene in Bezug auf psychische

Erkrankungen. Ein Einfluss der DNMTs in Abhängigkeit ihrer Genexpression auf die Furchtkonditionierung und die Konsolidierung des Angstgedächtnisses auch beim Menschen ist denkbar. Sipahi und Mitarbeiter untersuchten daher, ob sich die Methylierungsmuster der *DNMT*-Gene bei Patienten, die nach einem traumatischen Erlebnis eine Posttraumatische Belastungsstörung (PTBS) entwickelten, von Personen unterscheiden, bei denen nach solchen Erlebnissen keine PTBS auftrat. Es zeigte sich, dass bei Personen, die nach einem Trauma eine PTBS entwickelten, an einer CpG-Stelle (ein häufig im Promotorbereich liegendes transkriptionsregulatorisches Element) des *DNMT3B*-Gens sowohl vor als auch nach dem Trauma eine verminderte Methylierung bestand und dass eine verminderte Methylierung an dieser Stelle mit einem schwereren Erscheinungsbild der PTBS assoziiert ist (Sipahi et al., 2014). Eine verminderte Methylierung könnte auf eine vermehrte Expression des *DNMT3B*-Gens und somit auf eine vermehrte Methylierungsaktivität im ZNS hinweisen.

Somit konnte gezeigt werden, dass die Methylierungsmuster der *DNMTs* selbst mit Angsterkrankungen assoziiert sein können. Jedoch wurde mit dem *DNMT3B* das Gen untersucht, das anscheinend im adulten ZNS nur eine geringe Expression erfährt. Eine Replikation der Untersuchung von Sipahi und Mitarbeiter in einer weiteren Stichprobe zur Überprüfung der gefundenen Methylierungsmuster wäre daher sinnvoll.

Ob anhand peripherer Methylierungsmuster der *DNMTs* auch bei der Panikstörung Aussagen beispielsweise über Symptomschwere oder Therapieerfolg möglich ist, kann anhand der derzeitigen Datenlage nicht beurteilt werden. Es bedarf weiterer Daten zur Überprüfung möglicher Assoziationen peripherer *DNMT*-Methylierungsmuster und Angsterkrankungen. Anzumerken ist, dass anhand von peripheren Methylierungsmustern beim Menschen nicht direkt auf zentralnervöse Methylierungsmuster geschlossen werden kann. Da es sich jedoch um periphere Biomarker handeln würde, besteht nicht der Anspruch, dass diese mit dem zentralnervösen Status identisch sind, sondern eine messbare diagnostische oder prognostische Aussage ermöglichen.

Eine Assoziationsstudie von Polymorphismen des *DNMT1*-Gens und dimensionalen Angstphänotypen wie auch der Panikstörung ist zu überdenken, da gezeigt wurde, dass sowohl die *Dnmt3a* als auch die *Dnmt1* in postmitotischen Mäuseuronen als *de novo* Methyltransferasen in den Prozess der Furchtkonditionierung integriert sind (Feng et al., 2010).

Darüber hinaus zeigten sich signifikante Assoziationen vornehmlich mit den Summenwerten des PSWQ (s. Tabelle 13 und 14). Demzufolge ist eine Untersuchung der ausgewählten SNPs der *DNMT*-Gene in Assoziation mit einem anderen Angstphänotypen wie der Generalisierten Angststörung denkbar.

Um die funktionellen Auswirkungen der untersuchten SNPs (Expression und Proteinfunktion) zu überprüfen wäre eine neuronale *in vitro* Zellkultur denkbar. Mononukleäre Zellen aus peripherem Blut oder auch Fibroblasten von Trägern des *minor* Alleles des SNPs rs2424932 (*DNMT3B*) könnten in induzierten pluripotenten Stammzellen umgewandelt und über neuronale Progenitorzellen zu neuronalen Zellverbänden differenziert werden (Chen et al., 2018; Sobol et al., 2019). Anschließend kann ein funktioneller Einfluss des SNPs rs2424932 auf die Transkription des *DNMT3B*-Gens mittels Real-Time-quantitativer PCR (qPCR) überprüft werden. Der Einfluss des *minor* Alleles des SNPs rs1465764 (*DNMT3A*) auf die mRNA-Prozessierung und somit Funktion des *DNMT3A*-Genprodukts kann anhand der Herstellung rekombinanter *DNMT3A*-Proteine und anschließendem Methylierungsassay untersucht werden (Aoki et al., 2001; Chen, Ueda, Xie & Li, 2002). Denkbar ist zudem eine Untersuchung der Methylierungsaktivität verbunden mit einer Untersuchung von Methylierungsmustern in Kandidatengenen, deren Assoziation mit Angststörungen beschrieben wurde, wie beispielsweise des *COMT*-, *CRHR1*- oder auch *RGS2*-Gens (Meier & Deckert, 2019).

Wie oben beschrieben weisen Untersuchungen an Mausmodellen den *Dnmt*-Genen eine wichtige Rolle in der Furchtkonditionierung zu und Sipahi und Mitarbeiter beschreiben eine Assoziation von Methylierungsmustern zumindest des *DNMT3B*-Gens mit der Entwicklung eines Angstphänotyps (PTBS) und dessen Schwere, so ist es denkbar, dass die Methylierungsmuster der *DNMT*-

Gene auch mit weiteren Angstphänotypen assoziiert sein könnten. Dies kann anhand von Nagetiermodellen untersucht werden, um Daten über die zentralnervösen Methylierungsmuster und peripheren Methylierungsmuster der *Dnmt*-Gene und deren Zusammenhang mit Angst-ähnlichem Verhalten zu erhalten. Interessant ist die Untersuchung der Methylierungsmuster im Zusammenhang mit möglichen lokale Expressionsunterschieden in zentralnervösen Gehirnregionen wie dem Hippocampus oder auch dem präfrontalen Kortex.

Eine Untersuchung peripherer Methylierungsmuster der *DNMT*-Gene in Assoziation mit (dimensionalen) Angstphänotypen im Sinne eines peripheren Biomarkers ist auch wie oben erläutert beim Menschen denkbar.

Ebenfalls möglich ist, dass die untersuchten SNPs selbst keinen funktionellen Einfluss besitzen und somit keine kausalen Variablen darstellen. Eine genomweite Assoziationsstudie (GWAS) ist daher die geeignete Methode, um andere kausale Varianten zu identifizieren und mögliche Gen-Gen-Interaktionen abzubilden.

5. Zusammenfassung

Angsterkrankungen stellen weltweit die größte Gruppe der psychischen Erkrankungen dar. Sie weisen sowohl eine hohe Komorbiditäts- als auch Chronifizierungsrate auf und verursachen hohe sozioökonomische Kosten.

Die Panikstörung mit und ohne Agoraphobie, die durch wiederkehrende anfallsartige Angstzustände gekennzeichnet ist, weist eine Lebenszeitprävalenz von 1-4% auf und kann die Lebensqualität der Betroffenen weitreichend beeinträchtigen.

Derzeit gilt das Vulnerabilitäts-Stressmodell im Sinne eines multifaktoriellen Erklärungsmodells als am besten geeignet, um die Ätiopathogenese der Angsterkrankungen abzubilden. Als Brücke zwischen den genetischen Faktoren (Vulnerabilitätsfaktoren) und den auf ein Individuum einwirkenden Umweltfaktoren (Stressoren) werden epigenetische Mechanismen verstanden. Hierzu zählt die Methylierung bestimmter DNA-Bereiche, welche durch die DNA-Methyltransferasen vermittelt wird. Diese Enzyme waren in Verbindung mit Angsterkrankungen bisher kaum im Fokus psychiatrischer Forschung.

Diese Arbeit beschäftigt sich daher mit ausgewählten Einzelnukleotidpolymorphismen des *DNMT3A*- und *DNMT3B*-Gens und untersucht, ob diese SNPs und/oder deren Haplotypen zum einen mit der Panikstörung und zum anderen mit dimensionalen psychologischen Charakteristiken, wie angstbezogener Kognition oder Angstsensitivität, assoziiert sind. Hierzu erfolgte die Genotypisierung von insgesamt 3618 Probanden, gesunden Probanden wie auch Panikpatienten. Zu jedem Probanden und Patienten lagen dimensionale Daten aus psychometrischen Fragebögen vor.

Bei der Betrachtung der dimensionalen Daten zeigte sich in der gesunden Probandengruppe ein signifikant protektiver Effekt des T-Allels des SNPS rs1465764 im *DNMT3A*-Gen (vor allem im Penn State Worry Questionnaire) und eine nominal signifikante Assoziation mit dem A-Allel des SNP rs2424932 im *DNMT3B*-Gen.

Zusammenfassend konnte eine signifikante bzw. nominal signifikante Assoziation der beiden SNPs mit angstbezogenen Charakteristiken wie der angstbezogenen Kognition und der Angstsensitivität gezeigt werden.

Um die gefundenen Assoziationen besser beurteilen zu können, ist in Folgeuntersuchungen eine Replikation in einer weiteren Probandengruppe und in einer angemessen großen Patienten- und Fall-Kontroll-Gruppe mit ausreichender Teststärke erforderlich. Aufgrund der nachgewiesenen Assoziation mit dem PSWQ bietet sich auch die Untersuchung eines anderen Angstphänotypen, der Generalisierten Angststörung, an. Als weiterer Schritt sind Untersuchungen zur Klärung der Funktionalität der signifikant assoziierten SNPs anzustreben. In der Literatur wird zudem eine weitere DNMT, die Dnmt1, mit der Furchtkonditionierung assoziiert und auch die Methylierungsmuster der DNMTs selbst scheinen einen Einfluss auf die Entwicklung von Angststörungen zu haben. Eine Untersuchung des *DNMT1*-Gens und der Methylierungsmuster der *DNMT*-Gene sind daher weitere sinnvolle Schritte, um einen möglichen Einfluss von DNMTs auf die Entstehung von Angsterkrankungen und auf angstbezogene psychologische Charakteristiken besser zu verstehen.

6. Literaturverzeichnis

- Aaij, C., & Borst, P. (1972). The gel electrophoresis of DNA. *Biochim Biophys Acta*, 269(2), 192-200.
- Abdel-Wahab, O., & Levine, R. L. (2013). Mutations in epigenetic modifiers in the pathogenesis and therapy of acute myeloid leukemia. *Blood*, 121(18), 3563-3572.
- Ackenheil, M., Stotz, G., & Dietz-Bauer, R. (1999). *Mini International Neuropsychiatric Interview. German Version 5.0.0, DSM-IV*. München: Psychiatrische Universitätsklinik München.
- Alpers, G. W., & Pauli, P. (2001). *Angst-Sensitivitäts-Index (ASI)*. Julius-Maximilians-Universität Würzburg. Würzburg.
- American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5®)* (5. Aufl.). Washington, DC: American Psychiatric Association.
- Aoki, A., Suetake, I., Miyagawa, J., Fujio, T., Chijiwa, T., Sasaki, H., & Tajima, S. (2001). Enzymatic properties of de novo-type mouse DNA (cytosine-5) methyltransferases. *Nucleic Acids Res*, 29(17), 3506-3512.
- Arber, W. (1978). Restriction Endonucleases. *Angewandte Chemie International Edition*, 17(2), 73-79.
- Auton, A., Brooks, L., Durbin, R., Garrison, E., Kang, H., Korbel, J., Marchini, J., McCarthy, S., McVean, G., & Abecasis, G. (2015). A global reference for human genetic variation. *Nature*, 526(7571), 68-74.
- Bandelow, B., Baldwin, D., Abelli, M., Altamura, C., Dell'Osso, B., Domschke, K., Fineberg, N. A., Grunblatt, E., Jarema, M., Maron, E., Nutt, D., Pini, S., Vaghi, M. M., Wichniak, A., Zai, G., & Riederer, P. (2016). Biological markers for anxiety disorders, OCD and PTSD - a consensus statement. Part I: Neuroimaging and genetics. *World J Biol Psychiatry*, 17(5), 321-365.
- Bandelow, B., Baldwin, D., Abelli, M., Bolea-Alamanac, B., Bourin, M., Chamberlain, S. R., Cinosi, E., Davies, S., Domschke, K., Fineberg, N., Grunblatt, E., Jarema, M., Kim, Y. K., Maron, E., Masdrakis, V., Mikova, O., Nutt, D., Pallanti, S., Pini, S., Strohle, A., Thibaut, F., Vaghi, M. M., Won, E., Wedekind, D., Wichniak, A., Woolley, J., Zwanzger, P., & Riederer, P. (2017). Biological markers for anxiety disorders, OCD and PTSD: A consensus statement. Part II: Neurochemistry, neurophysiology and neurocognition. *World J Biol Psychiatry*, 18(3), 162-214.
- Barrett, J. C., Fry, B., Maller, J., & Daly, M. J. (2005). Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics*, 21(2), 263-265.
- Baxter, A. J., Scott, K. M., Vos, T., & Whiteford, H. A. (2013). Global prevalence of anxiety disorders: a systematic review and meta-regression. *Psychol Med*, 43(5), 897-910.
- Baxter, A. J., Vos, T., Scott, K. M., Ferrari, A. J., & Whiteford, H. A. (2014). The global burden of anxiety disorders in 2010. *Psychol Med*, 44(11), 2363-2374.
- Beesdo, K., Knappe, S., & Pine, D. S. (2009). Anxiety and anxiety disorders in children and adolescents: developmental issues and implications for DSM-V. *Psychiatr Clin North Am*, 32(3), 483-524.

- Berking, A.-C., Thiel, C., Schiele, M. A., C., B., Kalisch, R., Zwanzger, P., A., P.-F. C., Hamm, A., Alpers, G. W., Fydrich, T., Fehm, L., Gerlach, A. L., Straube, B., Kircher, T., Rief, W., Plag, J., Ströhle, A., Lang, T., Wittchen, H.-U., Arolt, V., Romanos, M., Pauli, P., Reif, A., Deckert, J., Domschke, K., & Weber, H. (2020). An investigation of genetic variability of DNA methyltransferases DNMT3A and 3B does not provide evidence for a major role in the pathogenesis of panic disorder and dimensional anxiety phenotypes. Retrieved from <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00702-020-02206-x> citeas website:
- Beutel, M. E., Dietrich, S., & Wiltink, J. (2005). Entstehung und Verlauf der Panikstörung. *Psychotherapeut*, *50*(4), 249-257.
- Broad Institute of MIT and Harvard. (2006). Haploview. Abgerufen von: <https://www.broadinstitute.org/haploview/haploview>
- Carroll, D., Phillips, A. C., Thomas, G. N., Gale, C. R., Deary, I., & Batty, G. D. (2009). Generalized anxiety disorder is associated with metabolic syndrome in the Vietnam experience study. *Biol Psychiatry*, *66*(1), 91-93.
- Chambless, D. L., Caputo, G. C., Bright, P., & Gallagher, R. (1984). Assessment of fear of fear in agoraphobics: the body sensations questionnaire and the agoraphobic cognitions questionnaire. *J Consult Clin Psychol*, *52*(6), 1090-1097.
- Chen, M., Lee, H. K., Moo, L., Hanlon, E., Stein, T., & Xia, W. (2018). Common proteomic profiles of induced pluripotent stem cell-derived three-dimensional neurons and brain tissue from Alzheimer patients. *J Proteomics*, *182*, 21-33.
- Chen, T., Ueda, Y., Xie, S., & Li, E. (2002). A novel Dnmt3a isoform produced from an alternative promoter localizes to euchromatin and its expression correlates with active de novo methylation. *J Biol Chem*, *277*(41), 38746-38754.
- Clark, D. M. (1999). Anxiety disorders: why they persist and how to treat them. *Behav Res Ther*, *37 Suppl. 1*, S. 5-27.
- Craske, M. G., Stein, M. B., Eley, T. C., Milad, M. R., Holmes, A., Rapee, R. M., & Wittchen, H. U. (2017). Anxiety disorders. *Nat Rev Dis Primers*, *3*, 17024.
- Dan, J., & Chen, T. (2016). Genetic studies on Mammalian DNA Methyltransferases. In A. Jeltsch & R. Z. Jurkowska (Hrsg.), *DNA Methyltransferases - Role and Function* (S. 123-150). Cham: Springer International Publishing.
- de Jonge, P., Roest, A. M., Lim, C. C., Florescu, S. E., Bromet, E. J., Stein, D. J., Harris, M., Nakov, V., Caldas-de-Almeida, J. M., Levinson, D., Al-Hamzawi, A. O., Haro, J. M., Viana, M. C., Borges, G., O'Neill, S., de Girolamo, G., Demyttenaere, K., Gureje, O., Iwata, N., Lee, S., Hu, C., Karam, A., Moskalewicz, J., Kovess-Masfety, V., Navarro-Mateu, F., Browne, M. O., Piazza, M., Posada-Villa, J., Torres, Y., Ten Have, M. L., Kessler, R. C., & Scott, K. M. (2016). Cross-national epidemiology of panic disorder and panic attacks in the world mental health surveys. *Depress Anxiety*, *33*(12), 1155-1177.

- Deckert, J., Weber, H., Villmann, C., Lonsdorf, T. B., Richter, J., Andreatta, M., Arias-Vasquez, A., Hommers, L., Kent, L., Schartner, C., Cichon, S., Wolf, C., Schaefer, N., von Collenberg, C. R., Wachter, B., Blum, R., Schumann, D., Scharfenort, R., Schumacher, J., Forstner, A. J., Baumann, C., Schiele, M. A., Notzon, S., Zwanzger, P., Janzing, J. G. E., Galesloot, T., Kiemeny, L. A., Gajewska, A., Glotzbach-Schoon, E., Muhlberger, A., Alpers, G., Fydrich, T., Fehm, L., Gerlach, A. L., Kircher, T., Lang, T., Strohle, A., Arolt, V., Wittchen, H. U., Kalisch, R., Buchel, C., Hamm, A., Nothen, M. M., Romanos, M., Domschke, K., Pauli, P., & Reif, A. (2017). GLRB allelic variation associated with agoraphobic cognitions, increased startle response and fear network activation: a potential neurogenetic pathway to panic disorder. *Mol Psychiatry*, *22*(10), 1431-1439.
- Didenko, V. V. (2001). DNA probes using fluorescence resonance energy transfer (FRET): designs and applications. *Biotechniques*, *31*(5), 1106-1116, 1118, 1120-1101.
- Dilling, H. (2006). *Taschenführer zur ICD-10-Klassifikation psychischer Störungen*. Bern: Huber.
- Domschke, K. (2012). Patho-genetics of posttraumatic stress disorder. *Psychiatr Danub*, *24*(3), 267-273.
- Domschke, K. (2014). Prädiktive Faktoren bei Angststörungen. *Nervenarzt*, *85*(10), 1263-1268.
- Domschke, K., & Deckert, J. (2007). [Genetics of anxiety disorders. Current clinical and molecular research]. *Nervenarzt*, *78*(7), 825-833; quiz 834-825.
- Domschke, K., Tidow, N., Schrepf, M., Schwarte, K., Klauke, B., Reif, A., Kersting, A., Arolt, V., Zwanzger, P., & Deckert, J. (2013). Epigenetic signature of panic disorder: a role of glutamate decarboxylase 1 (GAD1) DNA hypomethylation? *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, *46*, 189-196.
- Ehlers, A., Margraf, J., & Chambless, D. L. (1993). *Fragebogen zu körperbezogenen Ängsten, Kognitionen und Vermeidung: AKV*. Beltz Test, Weinheim.
- Ehrlich, M. (2003). The ICF syndrome, a DNA methyltransferase 3B deficiency and immunodeficiency disease. *Clin Immunol*, *109*(1), 17-28.
- Elliott, E., Manashirov, S., Zwang, R., Gil, S., Tsoory, M., Shemesh, Y., & Chen, A. (2016). Dnmt3a in the Medial Prefrontal Cortex Regulates Anxiety-Like Behavior in Adult Mice. *J Neurosci*, *36*(3), 730-740.
- Erhardt, A., Czubere, L., Roeske, D., Lucae, S., Unschuld, P. G., Ripke, S., Specht, M., Kohli, M. A., Kloiber, S., Ising, M., Heck, A., Pfister, H., Zimmermann, P., Lieb, R., Putz, B., Uhr, M., Weber, P., Deussing, J. M., Gonik, M., Bunck, M., Kebler, M. S., Frank, E., Hohoff, C., Domschke, K., Krakowitzky, P., Maier, W., Bandelow, B., Jacob, C., Deckert, J., Schreiber, S., Strohmaier, J., Nothen, M., Cichon, S., Rietschel, M., Bettecken, T., Keck, M. E., Landgraf, R., Muller-Myhsok, B., Holsboer, F., & Binder, E. B. (2011). TMEM132D, a new candidate for anxiety phenotypes: evidence from human and mouse studies. *Mol Psychiatry*, *16*(6), 647-663.

- European Bioinformatics Institute, E.-E. (2017a). Gene: DNMT1 ENSG00000130816. Abgerufen von: https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Splice?db=core;g=ENSG00000130816;r=19:10133345-10231286
- European Bioinformatics Institute, E.-E. (2017b). Gene: DNMT3A ENSG00000119772. Abgerufen von: https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000119772;r=2:25227855-25342590
- European Bioinformatics Institute, E.-E. (2017c). Gene: DNMT3B ENSG00000088305. Abgerufen von: https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000088305;r=20:32762385-32809356
- Falkei, P. (2015). *Diagnostisches und statistisches Manual psychischer Störungen DSM-5* Göttingen ; Bern ; Wien [u.a.]: ogrefe.
- Faul, F., Erdfelder, E., Buchner, A., & Lang, A. G. (2009). Statistical power analyses using G*Power 3.1: tests for correlation and regression analyses. *Behav Res Methods*, *41*(4), 1149-1160. doi:10.3758/brm.41.4.1149
- Faul, F., Erdfelder, E., Buchner, A., & Lang, A. G. (2019). G*Power V3.1.9.4. Abgerufen von: <https://www.psychologie.hhu.de/arbeitsgruppen/allgemeine-psychologie-und-arbeitspsychologie/gpower.html>
- Feng, J., Chang, H., Li, E., & Fan, G. (2005). Dynamic expression of de novo DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b in the central nervous system. *J Neurosci Res*, *79*(6), 734-746.
- Feng, J., Zhou, Y., Campbell, S. L., Le, T., Li, E., Sweatt, J. D., Silva, A. J., & Fan, G. (2010). Dnmt1 and Dnmt3a maintain DNA methylation and regulate synaptic function in adult forebrain neurons. *Nat Neurosci*, *13*(4), 423-430.
- Forrest, A. R. R., Kawaji, H., Rehli, M., Kenneth Baillie, J., de Hoon, M. J. L., Haberle, V., Lassmann, T., Kulakovskiy, I. V., Lizio, M., Itoh, M., Andersson, R., Mungall, C. J., Meehan, T. F., Schmeier, S., Bertin, N., Jørgensen, M., Dimont, E., Arner, E., Schmidl, C., Schaefer, U., Medvedeva, Y. A., Plessy, C., Vitezic, M., Severin, J., Semple, C. A., Ishizu, Y., Young, R. S., Francescato, M., Alam, I., Albanese, D., Altschuler, G. M., Arakawa, T., Archer, J. A. C., Arner, P., Babina, M., Rennie, S., Balwiercz, P. J., Beckhouse, A. G., Pradhan-Bhatt, S., Blake, J. A., Blumenthal, A., Bodega, B., Bonetti, A., Briggs, J., Brombacher, F., Maxwell Burroughs, A., Califano, A., Cannistraci, C. V., Carbajo, D., Chen, Y., Chierici, M., Ciani, Y., Clevers, H. C., Dalla, E., Davis, C. A., Detmar, M., Diehl, A. D., Dohi, T., Drabløs, F., Edge, A. S. B., Edinger, M., Ekwall, K., Endoh, M., Enomoto, H., Fagiolini, M., Fairbairn, L., Fang, H., Farach-Carson, M. C., Faulkner, G. J., Favorov, A. V., Fisher, M. E., Frith, M. C., Fujita, R., Fukuda, S., Furlanello, C., Furuno, M., Furusawa, J.-i., Geijtenbeek, T. B., Gibson, A. P., Gingeras, T., Goldowitz, D., Gough, J., Guhl, S., Guler, R., Gustincich, S., Ha, T. J., Hamaguchi, M., Hara, M., Harbers, M., Harshbarger, J., Hasegawa, A., Hasegawa, Y., Hashimoto, T., Herlyn, M., Hitchens, K. J., Ho Sui, S. J., Hofmann, O. M., Hoof, I., Hori, F., Huminiecki, L., Iida, K., Ikawa, T., Jankovic, B. R., Jia, H., Joshi, A.,

- Jurman, G., Kaczowski, B., Kai, C., Kaida, K., Kaiho, A., Kajiyama, K., Kanamori-Katayama, M., Kasianov, A. S., Kasukawa, T., Katayama, S., Kato, S., Kawaguchi, S., Kawamoto, H., Kawamura, Y. I., Kawashima, T., Kempfle, J. S., Kenna, T. J., Kere, J., Khachigian, L. M., Kitamura, T., Peter Klinken, S., Knox, A. J., Kojima, M., Kojima, S., Kondo, N., Koseki, H., Koyasu, S., Krampitz, S., Kubosaki, A., Kwon, A. T., Laros, J. F. J., Lee, W., Lennartsson, A., Li, K., Lilje, B., Lipovich, L., Mackay-sim, A., Manabe, R.-i., Mar, J. C., Marchand, B., Mathelier, A., Mejhert, N., Meynert, A., Mizuno, Y., de Lima Morais, D. A., Morikawa, H., Morimoto, M., Moro, K., Motakis, E., Motohashi, H., Mummery, C. L., Murata, M., Nagao-Sato, S., Nakachi, Y., Nakahara, F., Nakamura, T., Nakamura, Y., Nakazato, K., van Nimwegen, E., Ninomiya, N., Nishiyori, H., Noma, S., Nozaki, T., Ogishima, S., Ohkura, N., Ohmiya, H., Ohno, H., Ohshima, M., Okada-Hatakeyama, M., Okazaki, Y., Orlando, V., Ovchinnikov, D. A., Pain, A., Passier, R., Patrikakis, M., Persson, H., Piazza, S., Prendergast, J. G. D., Rackham, O. J. L., Ramilowski, J. A., Rashid, M., Ravasi, T., Rizzu, P., Roncador, M., Roy, S., Rye, M. B., Saijyo, E., Sajantila, A., Saka, A., Sakaguchi, S., Sakai, M., Sato, H., Satoh, H., Savvi, S., Saxena, A., Schneider, C., Schultes, E. A., Schulze-Tanzil, G. G., Schwegmann, A., Sengstag, T., Sheng, G., Shimoji, H., Shimoni, Y., Shin, J. W., Simon, C., Sugiyama, D., Sugiyama, T., Suzuki, M., Suzuki, N., Swoboda, R. K., 't Hoen, P. A. C., Tagami, M., Takahashi, N., Takai, J., Tanaka, H., Tatsukawa, H., Tatum, Z., Thompson, M., Toyoda, H., Toyoda, T., Valen, E., van de Wetering, M., van den Berg, L. M., Verardo, R., Vijayan, D., Vorontsov, I. E., Wasserman, W. W., Watanabe, S., Wells, C. A., Winteringham, L. N., Wolvetang, E., Wood, E. J., Yamaguchi, Y., Yamamoto, M., Yoneda, M., Yonekura, Y., Yoshida, S., Zabierowski, S. E., Zhang, P. G., Zhao, X., Zucchelli, S., Summers, K. M., Suzuki, H., Daub, C. O., Kawai, J., Heutink, P., Hide, W., Freeman, T. C., Lenhard, B., Bajic, V. B., Taylor, M. S., Makeev, V. J., Sandelin, A., Hume, D. A., Carninci, P., Hayashizaki, Y., The, F. C., the, R. P., & Clst. (2014). A promoter-level mammalian expression atlas. *Nature*, *507*(7493), 462-470.
- Genetics and Bioinformatics Team-Aix Marseille Université. (2017). Human Splicing Finder,. Abgerufen von: <http://umd.be/HSF3/>
- Genoux, D., Haditsch, U., Knobloch, M., Michalon, A., Storm, D., & Mansuy, I. M. (2002). Protein phosphatase 1 is a molecular constraint on learning and memory. *Nature*, *418*(6901), 970-975.
- Gloster, A. T., Wittchen, H. U., Einsle, F., Lang, T., Helbig-Lang, S., Fydrich, T., Fehm, L., Hamm, A. O., Richter, J., Alpers, G. W., Gerlach, A. L., Strohle, A., Kircher, T., Deckert, J., Zwanzger, P., Hofler, M., & Arolt, V. (2011). Psychological treatment for panic disorder with agoraphobia: a randomized controlled trial to examine the role of therapist-guided exposure in situ in CBT. *J Consult Clin Psychol*, *79*(3), 406-420.
- Gottschalk, M. G., & Domschke, K. (2016). Novel developments in genetic and epigenetic mechanisms of anxiety. *Curr Opin Psychiatry*, *29*(1), 32-38.
- Guy, W. (1976). ECDEU assessment manual for psychopharmacology. Rockville, MD: U.S. Department of Health, Education, and Welfare.

- Hagleitner, M. M., Lankester, A., Maraschio, P., Hulten, M., Fryns, J. P., Schuetz, C., Gimelli, G., Davies, E. G., Gennery, A., Belohradsky, B. H., de Groot, R., Gerritsen, E. J., Mattina, T., Howard, P. J., Fasth, A., Reisli, I., Furthner, D., Slatter, M. A., Cant, A. J., Cazzola, G., van Dijken, P. J., van Deuren, M., de Greef, J. C., van der Maarel, S. M., & Weemaes, C. M. (2008). Clinical spectrum of immunodeficiency, centromeric instability and facial dysmorphism (ICF syndrome). *J Med Genet*, *45*(2), 93-99.
- Hammels, C., Prickaerts, J., Kenis, G., Vanmierlo, T., Fischer, M., Steinbusch, H. W., van Os, J., van den Hove, D. L., & Rutten, B. P. (2015). Differential susceptibility to chronic social defeat stress relates to the number of Dnmt3a-immunoreactive neurons in the hippocampal dentate gyrus. *Psychoneuroendocrinology*, *51*, 547-556.
- He, C., Holme, J., & Anthony, J. (2014). SNP genotyping: the KASP assay. *Methods Mol Biol*, *1145*, 75-86.
- Hermann, A., Gowher, H., & Jeltsch, A. (2004). Biochemistry and biology of mammalian DNA methyltransferases. *Cell Mol Life Sci*, *61*(19-20), 2571-2587.
- Hettema, J. M., Neale, M. C., & Kendler, K. S. (2001). A review and meta-analysis of the genetic epidemiology of anxiety disorders. *Am J Psychiatry*, *158*(10), 1568-1578.
- Hirasawa, R., & Sasaki, H. (2009). Dynamic transition of Dnmt3b expression in mouse pre- and early post-implantation embryos. *Gene Expr Patterns*, *9*(1), 27-30.
- Holt, R. I., Phillips, D. I., Jameson, K. A., Cooper, C., Dennison, E. M., & Peveler, R. C. (2013). The relationship between depression, anxiety and cardiovascular disease: findings from the Hertfordshire Cohort Study. *J Affect Disord*, *150*(1), 84-90.
- Hoyer, J., & Margraf, J. (2003). *Angstdiagnostik: Grundlagen und Testverfahren*. Berlin, Heidelberg, New York, Hongkong, London, Mailand, Paris, Tokio Springer.
- Ihaka, R., & Gentleman, R. (1996). R: A Language for Data Analysis and Graphics. *Journal of Computational and Graphical Statistics*, *5*(3), 299-314.
- Issler, O., & Chen, A. (2015). Determining the role of microRNAs in psychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci*, *16*(4), 201-212.
- Jacobi, F., Höfler, M., Siegert, J., Mack, S., Gerschler, A., Scholl, L., Busch, M., Maske, U., Hapke, U., Gaebel, W., Maier, W., Wagner, M., Zielasek, J., & Wittchen, H. U. (2014). Psychische Störungen in der Allgemeinbevölkerung: Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland und ihr Zusatzmodul Psychische Gesundheit (DEGS1-MH). *Nervenarzt*, *85*(1), 77-87.
- Jurkowska, R. Z., & Jeltsch, A. (2016). Enzymology of Mammalian DNA Methyltransferases. In A. Jeltsch & R. Z. Jurkowska (Hrsg.), *DNA Methyltransferases - Role and Function* (S. 87-122). Cham: Springer International Publishing.
- Jurkowska, R. Z., Jurkowski, T. P., & Jeltsch, A. (2011). Structure and function of mammalian DNA methyltransferases. *Chembiochem*, *12*(2), 206-222.

- Kaufman, J., & Charney, D. (2000). Comorbidity of mood and anxiety disorders. *Depress Anxiety, 12 Suppl 1*, 69-76.
- Kawakami, N., Abdulghani, E. A., Alonso, J., Bromet, E. J., Bruffaerts, R., Caldas-de-Almeida, J. M., Chiu, W. T., de Girolamo, G., de Graaf, R., Fayyad, J., Ferry, F., Florescu, S., Gureje, O., Hu, C., Lakoma, M. D., Leblanc, W., Lee, S., Levinson, D., Malhotra, S., Matschinger, H., Medina-Mora, M. E., Nakamura, Y., Oakley Browne, M. A., Okoliyski, M., Posada-Villa, J., Sampson, N. A., Viana, M. C., & Kessler, R. C. (2012). Early-life mental disorders and adult household income in the World Mental Health Surveys. *Biol Psychiatry, 72*(3), 228-237.
- Kessler, R. C., Alonso, J., Chatterji, S., & He, Y. (2014). Disability and Costs *The Wiley Handbook of Anxiety Disorders*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
- Kessler, R. C., Angermeyer, M., Anthony, J. C., R, D. E. G., Demyttenaere, K., Gasquet, I., G, D. E. G., Gluzman, S., Gureje, O., Haro, J. M., Kawakami, N., Karam, A., Levinson, D., Medina Mora, M. E., Oakley Browne, M. A., Posada-Villa, J., Stein, D. J., Adley Tsang, C. H., Aguilar-Gaxiola, S., Alonso, J., Lee, S., Heeringa, S., Pennell, B. E., Berglund, P., Gruber, M. J., Petukhova, M., Chatterji, S., & Ustun, T. B. (2007). Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of mental disorders in the World Health Organization's World Mental Health Survey Initiative. *World Psychiatry, 6*(3), 168-176.
- Kessler, R. C., Chiu, W. T., Jin, R., Ruscio, A. M., Shear, K., & Walters, E. E. (2006). The epidemiology of panic attacks, panic disorder, and agoraphobia in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch Gen Psychiatry, 63*(4), 415-424.
- Kessler, R. C., Ruscio, A. M., Shear, K., & Wittchen, H. U. (2010). Epidemiology of anxiety disorders. *Curr Top Behav Neurosci, 2*, 21-35.
- Klauke, B., Deckert, J., Zwanzger, P., Baumann, C., Arolt, V., Pauli, P., Reif, A., & Domschke, K. (2014). Neuropeptide S receptor gene (NPSR) and life events: G x E effects on anxiety sensitivity and its subdimensions. *World J Biol Psychiatry, 15*(1), 17-25.
- Knippers, R. (2015). Variabilität des Genoms. In A. Nordheim & R. Knippers (Hrsg.), *Molekulare Genetik* (S. 506-519). Stuttgart: Thieme.
- Kwok, P. Y., & Chen, X. (2003). Detection of single nucleotide polymorphisms. *Curr Issues Mol Biol, 5*(2), 43-60.
- Kyrou, I., Kollia, N., Panagiotakos, D., Georgousopoulou, E., Chrysohoou, C., Tsigos, C., Randeava, H. S., Yannakoulia, M., Stefanadis, C., Papageorgiou, C., & Pitsavos, C. (2017). Association of depression and anxiety status with 10-year cardiovascular disease incidence among apparently healthy Greek adults: The ATTICA Study. *Eur J Prev Cardiol, 24*(2), 145-152.
- Lakowicz, J. R. (2006). *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Boston, MA: Springer US
- LaPlant, Q., Vialou, V., Covington, H. E., 3rd, Dumitriu, D., Feng, J., Warren, B. L., Maze, I., Dietz, D. M., Watts, E. L., Iniguez, S. D., Koo, J. W., Mouzon, E., Renthal, W., Hollis, F., Wang, H., Noonan, M. A., Ren, Y., Eisch, A. J., Bolanos, C. A., Kabbaj, M., Xiao, G., Neve, R. L., Hurd, Y. L., Oosting, R.

- S., Fan, G., Morrison, J. H., & Nestler, E. J. (2010). Dnmt3a regulates emotional behavior and spine plasticity in the nucleus accumbens. *Nat Neurosci*, *13*(9), 1137-1143.
- LGC Limited. (2013). KASP genotyping chemistry. User guide and manual. Abgerufen von: <https://www.lgcgroup.com/LGCGroup/media/PDFs/Products/Genotyping/KASP-genotyping-chemistry-User-guide.pdf>
- LGC Limited. (2014). KASP genotyping. Quick start guide. Abgerufen
- Li, E., Bestor, T. H., & Jaenisch, R. (1992). Targeted mutation of the DNA methyltransferase gene results in embryonic lethality. *Cell*, *69*(6), 915-926.
- Lin, P. I., Vance, J. M., Pericak-Vance, M. A., & Martin, E. R. (2007). No gene is an island: the flip-flop phenomenon. *Am J Hum Genet*, *80*(3), 531-538.
- Lonsdale, J., Thomas, J., Salvatore, M., Phillips, R., Lo, E., Shad, S., Hasz, R., Walters, G., Garcia, F., Young, N., Foster, B., Moser, M., Karasik, E., Gillard, B., Ramsey, K., Sullivan, S., Bridge, J., Magazine, H., Syron, J., Fleming, J., Siminoff, L., Traino, H., Mosavel, M., Barker, L., Jewell, S., Rohrer, D., Maxim, D., Filkins, D., Harbach, P., Cortadillo, E., Berghuis, B., Turner, L., Hudson, E., Feenstra, K., Sobin, L., Robb, J., Branton, P., Korzeniewski, G., Shive, C., Tabor, D., Qi, L., Groch, K., Nampally, S., Buia, S., Zimmerman, A., Smith, A., Burges, R., Robinson, K., Valentino, K., Bradbury, D., Cosentino, M., Diaz-Mayoral, N., Kennedy, M., Engel, T., Williams, P., Erickson, K., Ardlie, K., Winckler, W., Getz, G., DeLuca, D., MacArthur, D., Kellis, M., Thomson, A., Young, T., Gelfand, E., Donovan, M., Meng, Y., Grant, G., Mash, D., Marcus, Y., Basile, M., Liu, J., Zhu, J., Tu, Z., Cox, N. J., Nicolae, D. L., Gamazon, E. R., Im, H. K., Konkashbaev, A., Pritchard, J., Stevens, M., Flutre, T., Wen, X., Dermitzakis, E. T., Lappalainen, T., Guigo, R., Monlong, J., Sammeth, M., Koller, D., Battle, A., Mostafavi, S., McCarthy, M., Rivas, M., Maller, J., Rusyn, I., Nobel, A., Wright, F., Shabalin, A., Feolo, M., Sharopova, N., Sturcke, A., Paschal, J., Anderson, J. M., Wilder, E. L., Derr, L. K., Green, E. D., Struwing, J. P., Temple, G., Volpi, S., Boyer, J. T., Thomson, E. J., Guyer, M. S., Ng, C., Abdallah, A., Colantuoni, D., Insel, T. R., Koester, S. E., Little, A. R., Bender, P. K., Lehner, T., Yao, Y., Compton, C. C., Vaught, J. B., Sawyer, S., Lockhart, N. C., Demchok, J., & Moore, H. F. (2013). The Genotype-Tissue Expression (GTEx) project. *Nat Genet*, *45*(6), 580-585.
- Luoni, A., & Riva, M. A. (2016). MicroRNAs and psychiatric disorders: From aetiology to treatment. *Pharmacol Ther*, *167*, 13-27.
- McDonnell, M. W., Simon, M. N., & Studier, F. W. (1977). Analysis of restriction fragments of T7 DNA and determination of molecular weights by electrophoresis in neutral and alkaline gels. *J Mol Biol*, *110*(1), 119-146.
- McLaughlin, K. A., & Hatzenbuehler, M. L. (2009). Stressful life events, anxiety sensitivity, and internalizing symptoms in adolescents. *J Abnorm Psychol*, *118*(3), 659-669.
- Meier, S. M., & Deckert, J. (2019). Genetics of Anxiety Disorders. *Curr Psychiatry Rep*, *21*(3), 16.
- Meyer, T. J., Miller, M. L., Metzger, R. L., & Borkovec, T. D. (1990). Development and validation of the Penn State Worry Questionnaire. *Behav Res Ther*, *28*(6), 487-495.

- Miller, C. A., & Sweatt, J. D. (2007). Covalent modification of DNA regulates memory formation. *Neuron*, 53(6), 857-869.
- Miller, S. A., Dykes, D. D., & Polesky, H. F. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*, 16(3), 1215.
- Morris, M. J., Na, E. S., Autry, A. E., & Monteggia, L. M. (2016). Impact of DNMT1 and DNMT3a forebrain knockout on depressive- and anxiety like behavior in mice. *Neurobiol Learn Mem*, 135, 139-145.
- Moylan, S., Jacka, F. N., Pasco, J. A., & Berk, M. (2012). Cigarette smoking, nicotine dependence and anxiety disorders: a systematic review of population-based, epidemiological studies. *BMC Med*, 10, 123.
- Mullis, K. B., & Faloona, F. A. (1987). Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol*, 155, 335-350.
- Murphy, T. M., Mullins, N., Ryan, M., Foster, T., Kelly, C., McClelland, R., O'Grady, J., Corcoran, E., Brady, J., Reilly, M., Jeffers, A., Brown, K., Maher, A., Bannan, N., Casement, A., Lynch, D., Bolger, S., Buckley, A., Quinlivan, L., Daly, L., Kelleher, C., & Malone, K. M. (2013). Genetic variation in DNMT3B and increased global DNA methylation is associated with suicide attempts in psychiatric patients. *Genes Brain Behav*, 12(1), 125-132.
- National Center for Biotechnology Information. (2017a). DNMT1 DNA methyltransferase 1 [Homo sapiens (human)] Abgerufen von: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?term=\(dnmt1\[gene\]\)%20AND%20\(Homo%20sapiens\[orgn\]\)%20AND%20alive\[prop\]%20NOT%20newentry\[gene\]&sort=weight](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?term=(dnmt1[gene])%20AND%20(Homo%20sapiens[orgn])%20AND%20alive[prop]%20NOT%20newentry[gene]&sort=weight)
- National Center for Biotechnology Information. (2017b). DNMT3A DNA methyltransferase 3 alpha [Homo sapiens (human)] Abgerufen von: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?term=\(dnmt3a\[gene\]\)%20AND%20\(Homo%20sapiens\[orgn\]\)%20AND%20alive\[prop\]%20NOT%20newentry\[gene\]&sort=weight#genomic-regions-transcripts-products](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?term=(dnmt3a[gene])%20AND%20(Homo%20sapiens[orgn])%20AND%20alive[prop]%20NOT%20newentry[gene]&sort=weight#genomic-regions-transcripts-products)
- National Center for Biotechnology Information. (2017c). DNMT3B DNA methyltransferase 3 beta [Homo sapiens (human)] Abgerufen von: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?term=\(dnmt3b\[gene\]\)%20AND%20\(Homo%20sapiens\[orgn\]\)%20AND%20alive\[prop\]%20NOT%20newentry\[gene\]&sort=weight](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?term=(dnmt3b[gene])%20AND%20(Homo%20sapiens[orgn])%20AND%20alive[prop]%20NOT%20newentry[gene]&sort=weight)
- National Center for Biotechnology Information. (2017d). DNMT3L DNA methyltransferase 3 like [Homo sapiens (human)] Abgerufen von: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?term=\(dnmt3l\[gene\]\)%20AND%20\(Homo%20sapiens\[orgn\]\)%20AND%20alive\[prop\]%20NOT%20newentry\[gene\]&sort=weight](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?term=(dnmt3l[gene])%20AND%20(Homo%20sapiens[orgn])%20AND%20alive[prop]%20NOT%20newentry[gene]&sort=weight)
- National Center for Biotechnology Information. (2017e). Reference SNP (refSNP) Cluster Report: rs1465764. Abgerufen von: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1465764
- National Center for Biotechnology Information. (2017f). Reference SNP (refSNP) Cluster Report: rs1465825. Abgerufen von: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1465825

- National Center for Biotechnology Information. (2017g). Reference SNP (refSNP) Cluster Report: rs2424932 Abgerufen von: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=2424932
- National Center for Biotechnology Information. (2017h). Reference SNP (refSNP) Cluster Report: rs4911259 Abgerufen von: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=4911259
- National Center for Biotechnology Information. (2017i). Reference SNP (refSNP) Cluster Report: rs11683424 Abgerufen von: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=11683424
- National Institute of Environmental Health Sciences. (2017). SNP Function Prediction (FuncPred). Abgerufen von: <https://manticore.niehs.nih.gov/snpinfo/snpfunc.html>
- Noguchi, S., Arakawa, T., Fukuda, S., Furuno, M., Hasegawa, A., Hori, F., Ishikawa-Kato, S., Kaida, K., Kaiho, A., Kanamori-Katayama, M., Kawashima, T., Kojima, M., Kubosaki, A., Manabe, R.-i., Murata, M., Nagao-Sato, S., Nakazato, K., Ninomiya, N., Nishiyori-Sueki, H., Noma, S., Saijyo, E., Saka, A., Sakai, M., Simon, C., Suzuki, N., Tagami, M., Watanabe, S., Yoshida, S., Arner, P., Axton, R. A., Babina, M., Baillie, J. K., Barnett, T. C., Beckhouse, A. G., Blumenthal, A., Bodega, B., Bonetti, A., Briggs, J., Brombacher, F., Carlisle, A. J., Clevers, H. C., Davis, C. A., Detmar, M., Dohi, T., Edge, A. S. B., Edinger, M., Ehrlund, A., Ekwall, K., Endoh, M., Enomoto, H., Eslami, A., Fagiolini, M., Fairbairn, L., Farach-Carson, M. C., Faulkner, G. J., Ferrai, C., Fisher, M. E., Forrester, L. M., Fujita, R., Furusawa, J.-i., Geijtenbeek, T. B., Gingeras, T., Goldowitz, D., Guhl, S., Guler, R., Gustincich, S., Ha, T. J., Hamaguchi, M., Hara, M., Hasegawa, Y., Herlyn, M., Heutink, P., Hitchens, K. J., Hume, D. A., Ikawa, T., Ishizu, Y., Kai, C., Kawamoto, H., Kawamura, Y. I., Kempfle, J. S., Kenna, T. J., Kere, J., Khachigian, L. M., Kitamura, T., Klein, S., Klinken, S. P., Knox, A. J., Kojima, S., Koseki, H., Koyasu, S., Lee, W., Lennartsson, A., Mackay-sim, A., Mejhert, N., Mizuno, Y., Morikawa, H., Morimoto, M., Moro, K., Morris, K. J., Motohashi, H., Mummery, C. L., Nakachi, Y., Nakahara, F., Nakamura, T., Nakamura, Y., Nozaki, T., Ogishima, S., Ohkura, N., Ohno, H., Ohshima, M., Okada-Hatakeyama, M., Okazaki, Y., Orlando, V., Ovchinnikov, D. A., Passier, R., Patrikakis, M., Pombo, A., Pradhan-Bhatt, S., Qin, X.-Y., Rehli, M., Rizzu, P., Roy, S., Sajantila, A., Sakaguchi, S., Sato, H., Satoh, H., Savvi, S., Saxena, A., Schmidl, C., Schneider, C., Schulze-Tanzil, G. G., Schwegmann, A., Sheng, G., Shin, J. W., Sugiyama, D., Sugiyama, T., Summers, K. M., Takahashi, N., Takai, J., Tanaka, H., Tatsukawa, H., Tomoiu, A., Toyoda, H., van de Wetering, M., van den Berg, L. M., Verardo, R., Vijayan, D., Wells, C. A., Winteringham, L. N., Wolvetang, E., Yamaguchi, Y., Yamamoto, M., Yanagi-Mizuochi, C., Yoneda, M., Yonekura, Y., Zhang, P. G., Zucchelli, S., Abugessaisa, I., Arner, E., Harshbarger, J., Kondo, A., Lassmann, T., Lizio, M., Sahin, S., Sengstag, T., Severin, J., Shimoji, H., Suzuki, M., Suzuki, H., Kawai, J., Kondo, N., Itoh, M., Daub, C. O., Kasukawa, T., Kawaji, H., Carninci, P., Forrest, A. R. R., & Hayashizaki, Y. (2017). FANTOM5 CAGE profiles of human and mouse samples. *Scientific Data*, 4(1), 170112.

- Norton, A. R., & Abbott, M. J. (2017). Bridging the Gap between Aetiological and Maintaining Factors in Social Anxiety Disorder: The Impact of Socially Traumatic Experiences on Beliefs, Imagery and Symptomatology. *Clin Psychol Psychother*, 24(3), 747-765.
- Okano, M., Bell, D. W., Haber, D. A., & Li, E. (1999). DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for de novo methylation and mammalian development. *Cell*, 99(3), 247-257.
- Olesen, J., Gustavsson, A., Svensson, M., Wittchen, H. U., & Jonsson, B. (2012). The economic cost of brain disorders in Europe. *Eur J Neurol*, 19(1), 155-162.
- Ota, M., Fukushima, H., Kulski, J. K., & Inoko, H. (2007). Single nucleotide polymorphism detection by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. *Nat. Protocols*, 2(11), 2857-2864.
- Otowa, T., Hek, K., Lee, M., Byrne, E. M., Mirza, S. S., Nivard, M. G., Bigdeli, T., Aggen, S. H., Adkins, D., Wolen, A., Fanous, A., Keller, M. C., Castelao, E., Kutalik, Z., der Auwera, S. V., Homuth, G., Nauck, M., Teumer, A., Milaneschi, Y., Hottenga, J. J., Direk, N., Hofman, A., Uitterlinden, A., Mulder, C. L., Henders, A. K., Medland, S. E., Gordon, S., Heath, A. C., Madden, P. A., Pergadia, M. L., van der Most, P. J., Nolte, I. M., van Oort, F. V., Hartman, C. A., Oldehinkel, A. J., Preisig, M., Grabe, H. J., Middeldorp, C. M., Penninx, B. W., Boomsma, D., Martin, N. G., Montgomery, G., Maher, B. S., van den Oord, E. J., Wray, N. R., Tiemeier, H., & Hottenga, J. M. (2016). Meta-analysis of genome-wide association studies of anxiety disorders. *Mol Psychiatry*, 21(10), 1485.
- Pishva, E., Drukker, M., Viechtbauer, W., Decoster, J., Collip, D., van Winkel, R., Wichers, M., Jacobs, N., Thiery, E., Derom, C., Geschwind, N., van den Hove, D., Lataster, T., Myin-Germeys, I., van Os, J., Rutten, B. P., & Kenis, G. (2014). Epigenetic genes and emotional reactivity to daily life events: a multi-step gene-environment interaction study. *PLoS One*, 9(6), e100935.
- Plomin, R., Haworth, C. M., & Davis, O. S. (2009). Common disorders are quantitative traits. *Nat Rev Genet*, 10(12), 872-878.
- Purcell, S. (2014). PLINK V1.9. Abgerufen von: <http://pngu.mgh.harvard.edu/purcell/plink/>
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., de Bakker, P. I., Daly, M. J., & Sham, P. C. (2007). PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet*, 81(3), 559-575.
- R Core Team. (2014). R: A language and environment for statistical computing. Abgerufen von: <http://www.R-project.org/>
- Reiss, S., Peterson, R. A., Gursky, D. M., & McNally, R. J. (1986). Anxiety sensitivity, anxiety frequency and the prediction of fearfulness. *Behav Res Ther*, 24(1), 1-8.
- Riggs, A. D., Martienssen, R. A., & Russo, V. E. A. (1996). Introduction *Epigenetic mechanisms of gene regulation* (S. 1-4). Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- RIKEN. (2014). FANTOM5. Abgerufen von: <http://fantom.gsc.riken.jp/5/>
- Risch, N. J. (2000). Searching for genetic determinants in the new millennium. *Nature*, 405(6788), 847-856.

- Roses, A. D. (2000). Pharmacogenetics and the practice of medicine. *Nature*, 405(6788), 857-865.
- Saeed Mirza, S., Ikram, M. A., Hofman, A., & Tiemeier, H. (2015). Anxiety does not predict mortality. A population-based study. *World Psychiatry*, 14.
- Saiki, R. K., Gelfand, D. H., Stoffel, S., Scharf, S. J., Higuchi, R., Horn, G. T., Mullis, K. B., & Erlich, H. A. (1988). Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 239(4839), 487-491.
- Sapsford, K. E., Berti, L., & Medintz, I. L. (2006). Materials for fluorescence resonance energy transfer analysis: beyond traditional donor-acceptor combinations. *Angew Chem Int Ed Engl*, 45(28), 4562-4589.
- Saß, H. (2003). *Diagnostische Kriterien des Diagnostischen und statistischen Manuals psychischer Störungen DSM-IV-TR*. Göttingen [u.a.]: Hogrefe, Verl. für Psychologie.
- Schiele, M. A., & Domschke, K. (2017). Epigenetics at the crossroads between genes, environment and resilience in anxiety disorders. *Genes Brain Behav*.
- Schiele, M. A., Ziegler, C., Holitschke, K., Schartner, C., Schmidt, B., Weber, H., Reif, A., Romanos, M., Pauli, P., Zwanzger, P., Deckert, J., & Domschke, K. (2016). Influence of 5-HTT variation, childhood trauma and self-efficacy on anxiety traits: a gene-environment-coping interaction study. *J Neural Transm (Vienna)*, 123(8), 895-904.
- Schuebel, K., Gitik, M., Domschke, K., & Goldman, D. (2016). Making Sense of Epigenetics. *International Journal of Neuropsychopharmacology*. doi:10.1093/ijnp/pyw058
- Sepramaniam, S., Tan, J. R., Tan, K. S., DeSilva, D. A., Tavintharan, S., Woon, F. P., Wang, C. W., Yong, F. L., Karolina, D. S., Kaur, P., Liu, F. J., Lim, K. Y., Armugam, A., & Jeyaseelan, K. (2014). Circulating microRNAs as biomarkers of acute stroke. *Int J Mol Sci*, 15(1), 1418-1432.
- Sheehan, D. V., Lecrubier, Y., Sheehan, K. H., Amorim, P., Janavs, J., Weiller, E., Hergueta, T., Baker, R., & Dunbar, G. C. (1998). The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.): the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. *J Clin Psychiatry*, 59 Suppl. 20, 22-33;quiz 34-57.
- Shimada-Sugimoto, M., Otowa, T., & Hettema, J. M. (2015). Genetics of anxiety disorders: Genetic epidemiological and molecular studies in humans. *Psychiatry Clin Neurosci*, 69(7), 388-401.
- Simmons, R. K., Stringfellow, S. A., Glover, M. E., Wagle, A. A., & Clinton, S. M. (2013). DNA methylation markers in the postnatal developing rat brain. *Brain Res*, 1533, 26-36.
- Sipahi, L., Wildman, D. E., Aiello, A. E., Koenen, K. C., Galea, S., Abbas, A., & Uddin, M. (2014). Longitudinal epigenetic variation of DNA methyltransferase genes is associated with vulnerability to post-traumatic stress disorder. *Psychol Med*, 44(15), 3165-3179.
- Smoller, J. W. (2016). The Genetics of Stress-Related Disorders: PTSD, Depression, and Anxiety Disorders. *Neuropsychopharmacology*, 41(1), 297-319.

- Sobol, M., Klar, J., Laan, L., Shahsavani, M., Schuster, J., Annerén, G., Konzer, A., Mi, J., Bergquist, J., Nordlund, J., Hoeber, J., Huss, M., Falk, A., & Dahl, N. (2019). Transcriptome and Proteome Profiling of Neural Induced Pluripotent Stem Cells from Individuals with Down Syndrome Disclose Dynamic Dysregulations of Key Pathways and Cellular Functions. *Molecular Neurobiology*, *56*(10), 7113-7127.
- Somers, J. M., Goldner, E. M., Waraich, P., & Hsu, L. (2006). Prevalence and incidence studies of anxiety disorders: a systematic review of the literature. *Can J Psychiatry*, *51*(2), 100-113.
- Sproul, D., & Meehan, R. R. (2013). Genomic insights into cancer-associated aberrant CpG island hypermethylation. *Brief Funct Genomics*, *12*(3), 174-190.
- Stöber, J. (1995). *Besorgnis: Ein Vergleich dreier Inventare zur Erfassung allgemeiner Sorgen* (Vol. 16).
- Tatton-Brown, K., Seal, S., Ruark, E., Harmer, J., Ramsay, E., Del Vecchio Duarte, S., Zachariou, A., Hanks, S., O'Brien, E., Aksglaede, L., Baralle, D., Dabir, T., Gener, B., Goudie, D., Homfray, T., Kumar, A., Pilz, D. T., Selicorni, A., Temple, I. K., Van Maldergem, L., Yachelevich, N., van Montfort, R., & Rahman, N. (2014). Mutations in the DNA methyltransferase gene DNMT3A cause an overgrowth syndrome with intellectual disability. *Nat Genet*, *46*(4), 385-388.
- Tatton-Brown, K., Zachariou, A., Loveday, C., Renwick, A., Mahamdallie, S., Aksglaede, L., Baralle, D., Barge-Schaapveld, D., Blyth, M., Bouma, M., Breckpot, J., Crabb, B., Dabir, T., Cormier-Daire, V., Fauth, C., Fisher, R., Gener, B., Goudie, D., Homfray, T., Hunter, M., Jorgensen, A., Kant, S. G., Kirally-Borri, C., Koolen, D., Kumar, A., Labilloy, A., Lees, M., Marcelis, C., Mercer, C., Mignot, C., Miller, K., Neas, K., Newbury-Ecob, R., Pilz, D. T., Posmyk, R., Prada, C., Ramsey, K., Randolph, L. M., Selicorni, A., Shears, D., Suri, M., Temple, I. K., Turnpenny, P., Val Maldergem, L., Varghese, V., Veenstra-Knol, H. E., Yachelevich, N., Yates, L., & Rahman, N. (2018). The Tatton-Brown-Rahman Syndrome: A clinical study of 55 individuals with de novo constitutive DNMT3A variants. *Wellcome Open Res*, *3*, 46.
- The Broad Institute of MIT and Harvard. (2019). GTExPortal. V8. Abgerufen von: <https://www.gtexportal.org>
- The Human Protein Atlas. (2016a). DNMT1. Abgerufen von: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000130816-DNMT1/tissue>
- The Human Protein Atlas. (2016b). DNMT3A. Abgerufen von: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000119772-DNMT3A/tissue>
- The Human Protein Atlas. (2016c). DNMT3A Blood Atlas. Abgerufen von: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000119772-DNMT3A/blood>
- The Human Protein Atlas. (2016d). DNMT3B. Abgerufen von: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000088305-DNMT3B/tissue>
- The Human Protein Atlas. (2016e). DNMT3B Blood Atlas. Abgerufen von: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000088305-DNMT3B/blood>
- The Human Protein Atlas. (2016f). HPA RNA-seq data. Abgerufen von: <https://www.proteinatlas.org/about/assays+annotation#rna>

- The Human Protein Atlas. (2016g). The Human Protein Atlas. Abgerufen von: <https://www.proteinatlas.org/>
- The Human Protein Atlas. (2019a). DNMT3A. Abgerufen von: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000119772-DNMT3A/tissue>
- The Human Protein Atlas. (2019b). DNMT3B. Abgerufen von: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000088305-DNMT3B/tissue>
- Turek-Plewa, J., & Jagodzinski, P. P. (2005). The role of mammalian DNA methyltransferases in the regulation of gene expression. *Cell Mol Biol Lett*, *10*(4), 631-647.
- Uhlen, M., Fagerberg, L., Hallstrom, B. M., Lindskog, C., Oksvold, P., Mardinoglu, A., Sivertsson, A., Kampf, C., Sjostedt, E., Asplund, A., Olsson, I., Edlund, K., Lundberg, E., Navani, S., Szgyarto, C. A., Odeberg, J., Djureinovic, D., Takanen, J. O., Hober, S., Alm, T., Edqvist, P. H., Berling, H., Tegel, H., Mulder, J., Rockberg, J., Nilsson, P., Schwenk, J. M., Hamsten, M., von Feilitzen, K., Forsberg, M., Persson, L., Johansson, F., Zwahlen, M., von Heijne, G., Nielsen, J., & Ponten, F. (2015). Proteomics. Tissue-based map of the human proteome. *Science*, *347*(6220), 1260419.
- Walter, J. (2015). Epigenetische Mechanismen. In A. Nordheim & R. Knippers (Hrsg.), *Molekulare Genetik* (S. 443-458). Stuttgart: Thieme.
- Watanabe, D., Suetake, I., Tada, T., & Tajima, S. (2002). Stage- and cell-specific expression of Dnmt3a and Dnmt3b during embryogenesis. *Mech Dev*, *118*(1-2), 187-190.
- Wittchen, H. U., Jacobi, F., Rehm, J., Gustavsson, A., Svensson, M., Jonsson, B., Olesen, J., Allgulander, C., Alonso, J., Faravelli, C., Fratiglioni, L., Jennum, P., Lieb, R., Maercker, A., van Os, J., Preisig, M., Salvador-Carulla, L., Simon, R., & Steinhausen, H. C. (2011). The size and burden of mental disorders and other disorders of the brain in Europe 2010. *Eur Neuropsychopharmacol*, *21*(9), 655-679.
- Wittchen, H. U., & Semler, G. (1991). *Composite International Diagnostic Interview. CIDI Interviewerheft (deutsche Bearbeitung)*. Weinheim: Beltz Test.
- World Health Organisation. (1992). *The ICD-10 classification of mental and behavioural disorders : clinical descriptions and diagnostic guidelines ; ICD-10 / World Health Organization Geneva : WHO*
- World Health Organization. (2017). *Depression and Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates*. Geneva.
- Wu, C., & Morris, J. R. (2001). Genes, genetics, and epigenetics: a correspondence. *Science*, *293*(5532), 1103-1105.
- Zannas, A. S., & Chrousos, G. P. (2017). Epigenetic programming by stress and glucocorticoids along the human lifespan. *Mol Psychiatry*, *22*(5), 640-646.
- Zhang, X., Norton, J., Carriere, I., Ritchie, K., Chaudieu, I., & Ancelin, M. L. (2015). Generalized anxiety in community-dwelling elderly: Prevalence and clinical characteristics. *J Affect Disord*, *172*, 24-29.
- Ziegler, C., Dannlowski, U., Brauer, D., Stevens, S., Laeger, I., Wittmann, H., Kugel, H., Dobel, C., Hurlemann, R., Reif, A., Lesch, K. P., Heindel, W., Kirschbaum, C., Arolt, V., Gerlach, A. L., Hoyer, J., Deckert, J., Zwanzger, P., & Domschke, K. (2015). Oxytocin receptor gene methylation:

converging multilevel evidence for a role in social anxiety. *Neuropsychopharmacology*, 40(6), 1528-1538.

Ziegler, C., Richter, J., Mahr, M., Gajewska, A., Schiele, M. A., Gehrman, A., Schmidt, B., Lesch, K. P., Lang, T., Helbig-Lang, S., Pauli, P., Kircher, T., Reif, A., Rief, W., Vossbeck-Elsebusch, A. N., Arolt, V., Wittchen, H. U., Hamm, A. O., Deckert, J., & Domschke, K. (2016). MAOA gene hypomethylation in panic disorder-reversibility of an epigenetic risk pattern by psychotherapy. *Transl Psychiatry*, 6, e773.

7. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Arbeitshypothese der Ätiologie psychischer Erkrankungen	12
Abbildung 2: Domänenarchitektur der Säugetier-DNMTs aufgeteilt in regulatorischen N- und katalysatorischen C-terminalen Abschnitt nach Jurkowska und Jeltsch	15
Abbildung 3: Beispiel einer Geldokumentation von <i>DNMT3A</i> rs1465825 und dessen Allele	43
Abbildung 4: Kopplungsungleichgewicht (LD)- Plot des <i>DNMT3A</i> -Gens in der Gesamtstichprobe der Fall-Kontroll-Gruppe (N=506)	50
Abbildung 5: Boxplot der PSWQ-Summenwerte in Abhängigkeit der Genotypen des <i>DNMT3A</i> -Gens bezüglich des SNP rs1465764 der gesunden Gesamtstichprobe	56
Abbildung 6: Boxplot der ASI-Summenwerte in Abhängigkeit der Genotypen des <i>DNMT3A</i> -Gens bezüglich des SNP rs1465764 der gesunden Probanden der 2. Rekrutierungsperiode	57
Abbildung 7: Boxplot der PSWQ-Summenwerte in Abhängigkeit der Genotypen des <i>DNMT3A</i> -Gens bezüglich des SNP rs1465764 der gesunden Probanden der 1. Rekrutierungsperiode	57
Abbildung 8: Boxplot der ACQ-Mittelwerte in Abhängigkeit der Genotypen des <i>DNMT3A</i> -Gens bezüglich des SNP rs1465764 der gesunden Probanden der 2. Rekrutierungsperiode	57
Abbildung 9: Boxplot der PSWQ-Summenwerte in Abhängigkeit der Genotypen des <i>DNMT3A</i> -Gens bezüglich des SNP rs1465764 der gesunden Probanden der 2. Rekrutierungsperiode	

tierungsperiode	58
Abbildung 10: Boxplot der ACQ-Mittelwerte in Abhängigkeit der Genotypen des <i>DNMT3A</i> -Gens bezüglich des SNP rs1465764 der gesunden Gesamtstichprobe	58
Abbildung 11: Boxplot der PSWQ-Summenwerte in Abhängigkeit der Genotypen des <i>DNMT3A</i> -Gens bezüglich des SNP rs1465764 der weiblichen gesunden Probanden der 2. Rekrutierungsperiode	59
Abbildung 12: Boxplot der PSWQ-Summenwerte in Abhängigkeit der Genotypen des <i>DNMT3A</i> -Gens bezüglich des SNP rs1465764 der weiblichen gesunden Gesamtstichprobe	59
Abbildung 13: Boxplot der ASI-Summenwerte in Abhängigkeit der Genotypen des <i>DNMT3A</i> -Gens bezüglich des SNP rs1465764 der gesunden Probanden der 2. Rekrutierungsperiode	60
Abbildung 14: Boxplot der ASI-Summenwerte in Abhängigkeit der Genotypen des <i>DNMT3A</i> -Gens bezüglich des SNP rs1465764 der männlichen gesunden Gesamtstichprobe	61
Abbildung 15: Boxplot der PSWQ-Summenwerte in Abhängigkeit der Genotypen des <i>DNMT3A</i> -Gens bezüglich des SNP rs1465764 der männlichen gesunden Gesamtstichprobe	61
Abbildung 16: Kopplungsungleichgewicht (LD)- Plot des <i>DNMT3B</i> -Gens in der Gesamtstichprobe der Fall-Kontroll-Gruppe	70
Abbildung 17: Boxplot der ACQ-Mittelwerte in Abhängigkeit der Genotypen des <i>DNMT3B</i> -Gens bezüglich des SNP rs2424932 der gesunden Probanden der 1. Rekrutierungsperiode	75
Abbildung 18: Boxplot der PSWQ-Summenwerte in Abhängigkeit der Genotypen des <i>DNMT3B</i> -Gens bezüglich des SNP	

rs2424932 der gesunden Probanden der 1. Rekrutierungsperiode 76

Abbildung 19: Boxplot der ACQ-Mittelwerte in Abhängigkeit der Genotypen des *DNMT3B*-Gens bezüglich des SNP rs2424932 der weiblichen gesunden Probanden der 1. Rekrutierungsperiode 77

Abbildung 20: Boxplot der PSWQ-Summenwerte in Abhängigkeit der Genotypen des *DNMT3B*-Gens bezüglich des SNP rs2424932 der weiblichen gesunden Probanden der 1. Rekrutierungsperiode 77

8. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Humane DNMTs und ihre Funktion	17
Tabelle 2:	Chromosomale Position und funktionelle Charakterisierung ausgewählter SNPs des <i>DNA-Methyltransferase 3A-</i> (<i>DNMT3A</i>) und <i>DNA-Methyltransferase 3B-</i> (<i>DNMT3B</i>) Gens	19
Tabelle 3:	Demographische Daten der Patienten mit Panikstörung	24
Tabelle 4:	Demographische Daten der gesunden Probandengruppe	25
Tabelle 5:	Demographische Daten der für die Fall-Kontroll-Stichprobe verwendeten und <i>gematchten</i> gesunden Probanden.	26
Tabelle 6:	PCR-Protokoll für <i>DNMT3A</i> rs1465825	39
Tabelle 7:	PCR-Komponenten für <i>DNMT3A</i> rs1465825	39
Tabelle 8:	Fragmentenlänge der rs1465825 Genotypen	40
Tabelle 9:	Reaktionsansatz des Restriktionsverdau für <i>DNMT3A</i> rs1465825	41
Tabelle 10:	Komponenten des verwendeten Agarosegels	42
Tabelle 11:	Komponenten des KASP™ Assay	45
Tabelle 12:	PCR-Protokoll des KASP™ Assay für <i>DNMT3A</i> rs11683424 und rs1465764 sowie <i>DNMT3B</i> rs2424932 und rs4911259	46
Tabelle 13:	Fall-Kontroll-Berechnungen <i>DNMT3A</i>	48
Tabelle 14:	Fall-Kontroll-Berechnungen für weibliche Probanden <i>DNMT3A</i>	49
Tabelle 15:	Fall-Kontroll-Berechnungen für männliche Probanden <i>DNMT3A</i>	49
Tabelle 16:	Haplotypenanalyse des <i>DNMT3A</i> -Gens in der Fall-Kontroll-Stichprobe	49

Tabelle 17: Haplotypenanalyse des <i>DNMT3A</i> -Gens in der weiblichen Fall-Kontroll-Stichprobe	50
Tabelle 18: Haplotypenanalyse des <i>DNMT3A</i> -Gens in der männlichen Fall-Kontroll-Stichprobe	50
Tabelle 19: Panikpatienten <i>DNMT3A</i>	51
Tabelle 20: Weibliche Panikpatienten <i>DNMT3A</i>	51
Tabelle 21: Männliche Panikpatienten <i>DNMT3A</i>	52
Tabelle 22: Haplotypenanalyse des <i>DNMT3A</i> -Gens in der Gesamtstichprobe der Panikpatienten	52
Tabelle 23: Haplotypenanalyse des <i>DNMT3A</i> -Gens in der Gruppe der weiblichen Panikpatienten	53
Tabelle 24: Haplotypenanalyse des <i>DNMT3A</i> -Gens in der Gruppe der männlichen Panikpatienten	53
Tabelle 25: Gesunde Probanden <i>DNMT3A</i>	56
Tabelle 26: Gesunde weibliche Probanden <i>DNMT3A</i>	58
Tabelle 27: Gesunde Männliche Probanden <i>DNMT3A</i>	60
Tabelle 28: Gesunde Probanden <i>DNMT3A</i> korrigiert für Nikotinkonsum	61
Tabelle 29: Gesunde weibliche Probanden <i>DNMT3A</i> korrigiert für Nikotinkonsum	62
Tabelle 30: Gesunde männliche Probanden <i>DNMT3A</i> korrigiert für Nikotinkonsum	63
Tabelle 31: Haplotypenanalyse des <i>DNMT3A</i> -Gens in der Gruppe der gesunden Probanden	63
Tabelle 32: Haplotypenanalyse des <i>DNMT3A</i> -Gens in der Gruppe der gesunden weiblichen Probanden	64
Tabelle 33: Haplotypenanalyse des <i>DNMT3A</i> -Gens in der Gruppe der	

gesunden männlichen Probanden	65
Tabelle 34: Haplotypenanalyse des <i>DNMT3A</i> -Gens in der Gruppe der gesunden Probanden korrigiert für Nikotinkonsum	65
Tabelle 35: Haplotypenanalyse des <i>DNMT3A</i> -Gens in der Gruppe der gesunden weiblichen Probanden korrigiert für Nikotinkonsum	66
Tabelle 36: Haplotypenanalyse des <i>DNMT3A</i> -Gens in der Gruppe der gesunden männlichen Probanden korrigiert für Nikotinkonsum	67
Tabelle 37: Fall-Kontroll-Berechnungen <i>DNMT3B</i>	68
Tabelle 38: Fall-Kontroll-Berechnungen für weibliche Probanden <i>DNMT3B</i>	68
Tabelle 39: Fall-Kontroll-Berechnungen für männliche Probanden <i>DNMT3B</i>	68
Tabelle 40: Haplotypenanalyse des <i>DNMT3B</i> -Gens in der Fall-Kontroll-Stichprobe	69
Tabelle 41: Haplotypenanalyse des <i>DNMT3B</i> -Gens in der weiblichen Fall-Kontroll-Stichprobe	69
Tabelle 42: Haplotypenanalyse des <i>DNMT3B</i> -Gens in der männlichen Fall-Kontroll-Stichprobe	69
Tabelle 43: Panikpatienten <i>DNMT3B</i>	70
Tabelle 44: Weibliche Panikpatienten <i>DNMT3B</i>	71
Tabelle 45: Männliche Panikpatienten <i>DNMT3B</i>	71
Tabelle 46: Haplotypenanalyse des <i>DNMT3B</i> -Gens in der Gesamtstichprobe der Panikpatienten	72
Tabelle 47: Haplotypenanalyse des <i>DNMT3B</i> -Gens in der Gruppe der weiblichen Panikpatienten	72

Tabelle 48: Haplotypenanalyse des <i>DNMT3B</i> -Gens in der Gruppe der männlichen Panikpatienten	73
Tabelle 49: Gesunde Probanden <i>DNMT3B</i>	75
Tabelle 50: Gesunde weibliche Probanden <i>DNMT3B</i>	76
Tabelle 51: Gesunde männliche Probanden <i>DNMT3B</i>	77
Tabelle 52: Gesunde Probanden <i>DNMT3B</i> korrigiert für Nikotinkonsum	78
Tabelle 53: Gesunde weibliche Probanden <i>DNMT3B</i> korrigiert für Nikotinkonsum	78
Tabelle 54: Gesunde männliche Probanden <i>DNMT3B</i> korrigiert für Nikotinkonsum	79
Tabelle 55: Haplotypenanalyse des <i>DNMT3B</i> -Gens in der Gruppe der gesunden Probanden	79
Tabelle 56: Haplotypenanalyse des <i>DNMT3B</i> -Gens in der Gruppe der gesunden weiblichen Probanden	80
Tabelle 57: Haplotypenanalyse des <i>DNMT3B</i> -Gens in der Gruppe der gesunden männlichen Probanden	81
Tabelle 58: Haplotypenanalyse des <i>DNMT3B</i> -Gens in der Gruppe der gesunden Probanden korrigiert für Nikotinkonsum	81
Tabelle 59: Haplotypenanalyse des <i>DNMT3B</i> -Gens in der Gruppe der gesunden weiblichen Probanden korrigiert für Nikotinkonsum	82
Tabelle 60: Haplotypenanalyse des <i>DNMT3B</i> -Gens in der Gruppe der gesunden männlichen Probanden korrigiert für Nikotinkonsum	83

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Frau Professor Dr. Dr. Katharina Domschke und Herrn Prof. Dr. Jürgen Deckert für die Überlassung des Themas. Ich möchte mich zudem für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes im Labor der Klinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie wie auch für die fachliche und menschliche Unterstützung meines Doktorvaters bedanken, die ich erfahren durfte.

Ich möchte mich herzlich bedanken, dass ich meine Doktorarbeit im Rahmen des Sonderforschungsbereichs Transregio SFB-TRR 58 Subprojekt Z02 anfertigen konnte.

Herzlich danken möchte ich auch Frau Dr. Heike Weber und Frau Dr. Christiane Ziegler für die hervorragende Betreuung, die konstruktiven wie auch kritischen Ideen und die viele Geduld.

Ein großer Dank gilt den Mitarbeitern des Labors der Klinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie für die tatkräftige Unterstützung beim Erlernen von Methoden und für die allumfassende fachliche Hilfe. Insbesondere möchte ich Frau Carola Gagel, Herrn Thomas Elpel, Frau Gabriele Ortega und Frau Inge Reck danken.

