

Aus der Universitätsklinik für Psychiatrie und Psychotherapie  
Tübingen

Abteilung Allgemeine Psychiatrie und Psychotherapie mit Poliklinik

Epigenetik der Borderline-Persönlichkeitsstörung  
Effekte der DBT auf die Methylierungsmuster

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen

vorgelegt von  
Knoblich, Nora

2019

Dekan: Professor Dr. I.B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Juniorprofessor Dr. V. Nieratschker

2. Berichterstatter: Professor Dr. T. Renner

Datum der Disputation: 26.04.2017

# Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis .....	6
Abbildungsverzeichnis .....	7
Abkürzungsverzeichnis .....	9
1 Einleitung .....	11
1.1 Die Borderline-Persönlichkeitsstörung .....	11
1.2 Die dialektisch behaviorale Therapie .....	14
1.3 Epigenetik.....	15
1.4 Studiendesign.....	18
2 Material und Methoden .....	22
2.1 Materialien, Geräte und Hersteller .....	22
2.2 Patienten- und Probandenkollektiv.....	23
2.2.1 DBT-Patienten .....	23
2.2.2 Kontrollgruppe .....	23
2.3 Fragebögen .....	24
2.3.1 SCL90-R.....	25
2.3.2 BSL23.....	27
2.3.3 FDS20 .....	27
2.3.4 KIMS D .....	28
2.3.5 ARES K .....	29
2.3.6 CTQ.....	29
2.3.7 BFI10 .....	30
2.3.8 MWTB .....	31
2.3.9 AUDIT.....	32
2.3.10 Fagerstrøm .....	33

2.4 DNA-Extraktion .....	33
2.4.1 DNA-Extraktion aus Vollblut.....	33
2.4.2 Messung der DNA-Konzentration .....	34
2.5 Bisulfit-Konvertierung .....	35
2.5.1 Vorgehensweise .....	36
2.6 DNA-Vervielfältigung.....	37
2.6.1 PCR.....	37
2.6.2 PCR-Aufreinigung.....	38
2.6.3 Gelelektrophorese .....	38
2.7 Pyrosequenzierung .....	40
2.8 Statistik .....	43
3 Ergebnisse .....	44
3.1 Fragebögen und Therapieverläufe .....	45
3.1.1 Vergleich zwischen Patienten und Kontrollen .....	45
3.1.2 Therapieverläufe.....	50
3.2 Methylierung in BPS-Risikogenen.....	52
3.2.1 APBA3.....	53
3.2.2 MCF2.....	56
3.2.3 BDNF4.....	60
3.2.4 BDNF1, NR3C1, miR124-3, NINJ2 .....	62
4 Diskussion.....	64
4.1 Psychometrische Skalen.....	64
4.2 Epigenetik.....	68
5 Zusammenfassung.....	74
6 Literaturverzeichnis .....	75
7 Erklärungen zum Eigenanteil .....	81

8 Lebenslauf .....	<b>Fehler! Textmarke nicht definiert.</b>
Anhang .....	82
1 PCR-Programme und Primer .....	82
2 CpG-Assays.....	83
3 Behandlungsvertrag.....	84

# Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	DSM IV - Kriterien der Borderline-Persönlichkeitsstörung .....	11
Tabelle 2:	Übersicht zu den Zeitpunkten der Testungen.....	25
Tabelle 3:	Skalen und Kennwerte des SCL90-R.....	26
Tabelle 4:	Dimensionen des KIMS .....	28
Tabelle 5:	Einteilung der Traumatisierung nach Schwere .....	30
Tabelle 6:	DUDEN-Definitionen der Big-Five .....	31
Tabelle 7:	Normentabelle MWT-B .....	32
Tabelle 8:	Sequenzänderung nach der Bisulfit-Konvertierung .....	35
Tabelle 9:	Programm der Bisulfit-Konvertierung .....	36
Tabelle 10:	PCR-Ansatz .....	37
Tabelle 11:	Zusammensetzung TBE (1x) .....	39
Tabelle 12:	Statistische Ergebnisse für den CTQ.. .....	49
Tabelle 13:	Ergebnisse für körperlichen Missbrauch der männlichen Teilnehmer.....	49
Tabelle 14:	Statistische Ergebnisse für das BFI10.....	50
Tabelle 15:	Statistische Ergebnisse für ARES K – Vergleich der Messzeitpunkte.....	52
Tabelle 16:	Statistische Ergebnisse des Geschlechtervergleichs für ARES K zu beiden Messzeitpunkten.....	52
Tabelle 17:	Statistische Analyse für den Einfluss der Medikation in der Patientengruppe. ....	55
Tabelle 18:	Statistische Ergebnisse für APBA3: Vergleich zwischen respondern und non-respondern.....	55
Tabelle 19:	Statistische Ergebnisse zum Vergleich von respondern und non-respondern für BDNF4.....	62

# Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Das biosoziale Modell zur Entstehung von BPS nach Leichsenring et al. [2] .....	14
Abbildung 2:	Zusammenhänge von nicht-codierenden RNAs, Histon-Modifikation und DNA-Methylierung beim Silencing von Genen nach Egger et al. [22]. .....	16
Abbildung 3:	Mechanismus der DNA-Methylierung (Graphik für diese Arbeit erstellt). .....	17
Abbildung 4:	Prinzip der Bisulfit-Reaktion nach Tollefsbol [81] .....	35
Abbildung 5:	Gelelektrophorese der PCR für MCF2 mit acht Proben und einer Negativkontrolle.....	40
Abbildung 6:	Pyrosequenzierungs-Ergebnis einer Patientenprobe für BDNF4.....	43
Abbildung 7:	Ergebnisse der statistischen Analyse für den SCL90-R.....	47
Abbildung 8:	PCR von 12 Proben und einer Negativkontrolle für APBA3. ...	53
Abbildung 9:	Pyrosequenzierung einer Patientenprobe für APBA3 .....	54
Abbildung 10:	Boxplot zum Vergleich von non-respondern und respondern für APBA3. ....	56
Abbildung 11:	PCR von 8 Patientenproben und einer Negativkontrolle für MCF2. ....	56
Abbildung 12:	Pyrosequenzierung einer Patientenprobe für MCF2 .....	57
Abbildung 13:	Korrelation zwischen der Methylierung von MCF2 zum ersten Messzeitpunkt mit dem standardisierten GSI nach der DBT ...	58
Abbildung 14:	Boxplot zum Vergleich von non-respondern und respondern für MCF2. ....	59
Abbildung 15:	PCR einer Probe und einer Negativkontrolle für BDNF4.....	60
Abbildung 16:	Pyrosequenzierung einer Patientenprobe für BDNF4 .....	60
Abbildung 17:	Boxplot zum Vergleich von non-respondern und respondern für BDNF4. ....	62
Abbildung 18:	Beispielhafte PCR mit Proben für BDNF1 mit einer 100 kbp DNA-Ladder. ....	63

Abbildung 19: Boxplot zum Vergleich von non-respondern und respondern für  
MCF2 und APBA3..... 71

# Abkürzungsverzeichnis

<i>A</i>	Adenosin
<i>APS</i>	Adenosin-5-Phosphat
<i>ARES</i>	Action Regulating Emotion Systems
<i>ATP</i>	Adenosintriphosphat
<i>AUDIT</i>	Alcohol Use Disorder Identification Test
<i>BAS</i>	Behavioral Activation System
<i>BFI</i>	Big Five Inventory
<i>BIS</i>	Behavioral Inhibition System
<i>bp</i>	Basenpaare
<i>BPs</i>	Borderline-Persönlichkeitsstörung
<i>BSL</i>	Borderline-Symptom-Liste
<i>C</i>	Cytosin
<i>CCD</i>	„charge-coupled device“
<i>CTQ</i>	Childhood Trauma Questionnaire
<i>DBT</i>	Dialektisch behaviorale Therapie
<i>DNA</i>	Desoxyribonuklein-Acid
<i>DNMT</i>	DNA-Methyltransferasen
<i>dNTP</i>	Desoxynukleosidtriphosphat
<i>DSM IV</i>	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Auflage 4
<i>EDTA</i>	Ethylendiamintetraessigsäure
<i>FDS</i>	Fragebogen für dissoziative Symptome
<i>FTND</i>	Fagerstrøm Test for Nicotine Dependence
<i>G</i>	Guanin
<i>GSI</i>	Global severity index
<i>IPDE</i>	International Personality Disorder Examination
<i>IQ</i>	Intelligenzquotient
<i>KIMS D</i>	Kentucky Inventory of Mindfulness Skills – deutsche Version
<i>MWT</i>	Mehrfach-Wortschatz-Intelligenz-Test
<i>PCR</i>	Polymerase-Chain-Reaktion
<i>PPi</i>	Pyrophosphat
<i>PSDI</i>	Positive symptom distress index
<i>PST</i>	Positive symptom total
<i>PTBS</i>	Posttraumatische Belastungsstörung
<i>rpm</i>	rounds per minute
<i>SAM</i>	S-Adenosin-Methionin
<i>SCL90-R</i>	Symptom-Checklist 90-revised

<i>SVV</i>	Selbstverletzendes Verhalten
<i>T</i>	Thymin
<i>TBE</i>	Trisborat-EDTA
<i>UKT</i>	Uniklinikum Tübingen
<i>UV</i>	Ultraviolett
<i>WHO</i>	Weltgesundheitsorganisation

# 1 Einleitung

## 1.1 Die Borderline-Persönlichkeitsstörung

Die Borderline-Persönlichkeitsstörung (BPS) ist eine komplexe und schwerwiegende psychiatrische Erkrankung. Die Hauptproblembereiche der Betroffenen liegen in der Affektregulation, zwischenmenschlichen Beziehungen, Selbstbild und Impulsivität [1, 2]. Die BPS ist eine Unterform der emotional instabilen Persönlichkeitsstörung. Im Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders IV (DSM IV) sind neun verschiedene Kriterien festgelegt, von denen nur fünf zu erfüllen sind (Tabelle 1). Somit kann die Diagnose einer Borderline-Persönlichkeitsstörung relativ variable Ausprägungen zeigen. Besonders charakteristisch für BPS ist die hohe Suizidrate, die hohe Frequenz an selbstverletzendem Verhalten (SVV), sowie die starke Inanspruchnahme von Behandlungen und die daraus resultierenden sozioökonomischen Kosten [2, 3].

Tabelle 1: DSM IV - Kriterien der Borderline-Persönlichkeitsstörung

Symptom	Beschreibung
<b>Identitätsstörung</b>	Ausgeprägte, andauernde Instabilität von Selbstbild und/oder -wahrnehmung
<b>Schwierige zwischenmenschliche Beziehungen</b>	Muster instabiler, intensiver Beziehungen mit Wechsel zwischen Idealisierung und Entwertung
<b>Leere</b>	Chronisches Gefühl der Leere
<b>Verlustangst</b>	Starke Bemühungen Verlassen werden zu vermeiden (tatsächlich oder eingebildet)
<b>Affektive Instabilität</b>	durch ausgeprägte Labilität der Stimmung
<b>Wut</b>	Unangemessen und heftig
<b>Dissoziation/Paranoia</b>	Vorübergehend, durch Belastung ausgelöst
<b>Impulsivität</b>	in mehreren potentiell selbstschädigenden Bereichen
<b>Suizidalität</b>	Wiederholtes selbstverletzendes Verhalten bis hin zu suizidalen Handlungen

Die Prävalenz für BPS liegt in der Gesamtbevölkerung zwischen 1-2%, im klinischen Umfeld sind 10 - 25% der Patienten betroffen [4, 5]. Sie ist somit eine der häufigsten Persönlichkeitsstörungen.

Zu selbstverletzendem Verhalten gehören neben Selbstverstümmelung und Parasuizid auch Substanzmissbrauch oder andere selbstgefährdende Verhaltensweisen. Parasuizid bezeichnet hierbei einen nicht letalen Selbsttötungsversuch mit primär nicht suizidalen Vorsätzen, sozusagen ein kalkuliert gescheiterter Suizid. Am häufigsten treten jedoch Schneiden, das Zufügen von blauen Flecken und Prellungen, Verbrennen, das Anschlagen des Kopfes oder Beißen auf [6]. Tritt bei einem Patienten SVV oder Parasuizid auf, verdoppelt sich das Risiko eines tatsächlichen Suizides [6]. Die Beweggründe für dieses Verhalten sind mannigfaltig. Unter anderem wird Aufmerksamkeit gesucht, es vermindert Anspannung oder es wird als Selbstbestrafung angesehen [6].

Die Suizidrate für BPS ist mit 10% deutlich höher als die der Gesamtbevölkerung, außerdem begehen bis zu 70% der Patienten mindestens einen nicht-erfolgreichen Suizidversuch [7]. Nicht erfolgreiche Versuche sind somit deutlich häufiger als ein beendeter Suizid.

Eine weitere Besonderheit der Borderline-Persönlichkeitsstörung ist die Häufigkeit der Komorbiditäten. Nicht nur treten gehäuft andere Persönlichkeitsstörungen auf, BPS ist auch mit Schlafstörungen, Angststörungen oder Substanzmissbrauch assoziiert [2]. 12% der Alkoholabhängigen und 17% der Polytoxikomanen sind mit BPS diagnostiziert [1]. Am häufigsten jedoch tritt eine komorbide Depression mit einer Lebenszeitprävalenz unter BPS-Patienten von bis zu 98% auf [1].

Eine posttraumatische Belastungsstörung (PTBS) ist mit einer Prävalenz zwischen 26% und 57% häufig, jedoch nicht allgemein vorhanden bei Betroffenen von BPS [2, 8]. Ein traumatisches Erlebnis in der Kindheit liegt bei deutlich mehr Patienten mit BPS vor und steht im Verdacht einen Einfluss auf die Krankheitsentstehung zu haben [8, 9]. Der Großteil der Betroffenen von

BPS berichtete in mehreren Studien von körperlichem, aber auch sexuellem Missbrauch. Häusliche Gewalt und verbaler Missbrauch traten ebenfalls bei einer Vielzahl der befragten Patienten auf [9-11]. Im Vergleich zu anderen Persönlichkeitsstörungen, wie zum Beispiel antisozialen oder schizoiden Störungen berichteten Betroffene von BPS signifikant öfter von solchen Erfahrungen in der Kindheit [9].

Geschlechtsunterschiede finden sich vor allem in Bezug auf die Komorbiditäten. Männer sind verhältnismäßig öfter von Substanzmissbrauch betroffen, Frauen von Essstörungen [12]. Ob generell mehr Frauen von einer BPS betroffen sind, ist umstritten. In demographischen, jedoch nicht in klinischen Settings, fanden sich die Prävalenz betreffend keine Unterschiede [12].

Trotz dieser schwerwiegenden Komponenten der Störung zeigten sich für Patienten mit einer Borderline-Persönlichkeitsstörung in Kurz- und Langzeitstudien hohe Remissionsraten, was eine frühzeitige und nachhaltige Therapie noch essentieller macht [2, 13]. BPS gilt mittlerweile bei angemessener Therapie als eine Persönlichkeitsstörung mit vergleichbar guter Prognose [4].

Zur Entstehung der Störung herrscht momentan ein biosoziales Modell vor (Abbildung 1). Nach M. Linehans Theorie von 1993 liegt die Ursache der BPS hauptsächlich in Störungen der Emotionsregulation durch eine biologische Vulnerabilität in Kombination mit schädigenden Umwelteinflüssen. Sie legt ein intolerantes und unklares Umfeld Emotionen gegenüber zu Grunde, welches es den Patienten im Kindesalter unmöglich machte, einen gesunden Umgang und eine angemessene Expression von Gefühlen zu erlernen [14, 15].

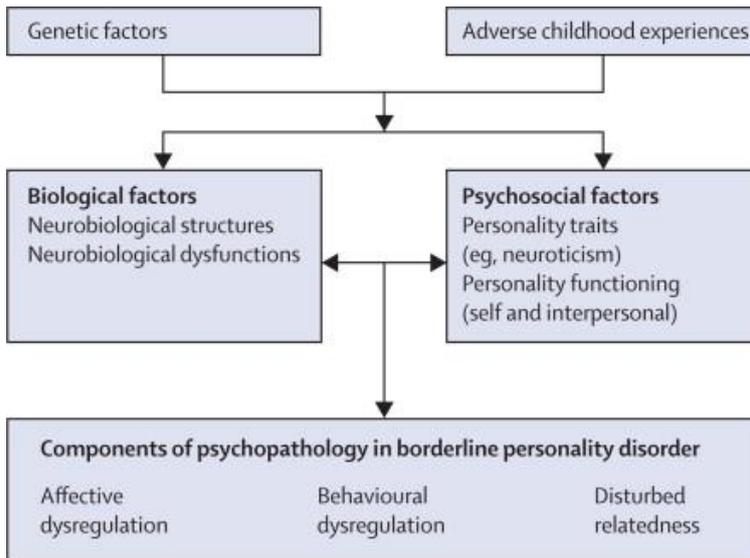


Abbildung 1: Das biosoziale Modell zur Entstehung von BPS nach Leichsenring et al. [2]

Genetische Grundlagen wurden bisher nicht eindeutig identifiziert [16], jedoch spricht die in Zwillingsstudien nachgewiesene hohe Heritabilität dafür, dass ein genetischer Einfluss sehr wahrscheinlich vorliegt [4].

## 1.2 Die dialektisch behaviorale Therapie

Die dialektisch behaviorale Therapie (DBT) ist eine weit verbreitete und durch mehrere Studien in ihrer Wirksamkeit anderen Therapien gegenüber belegte Therapie für BPS [3, 17, 18].

Die DBT wurde für suizidale Patienten, die den Kriterien einer Borderline-Persönlichkeitsstörung entsprechen, entwickelt. Dabei zielt sie auf die Reduktion von suizidalem Verhalten (hierzu zählt auch SVV), sowie Verhalten das eine Therapie behindert und einen Klinikaufenthalt verlängert ab [15, 18]. Die zunächst ambulant durchgeführte Therapie wurde später für einen Klinikaufenthalt modifiziert und bezeichnet nun im europäischen Kreis ein dreimonatiges Programm [18, 19]. Hauptbestandteile sind das Erlernen von Akzeptanz und Validierung von eigenen Ressourcen, sowie das Erlernen von speziellen Fähigkeiten (Skills) um unerwünschtes Verhalten zu vermeiden. So soll eine Balance zwischen Akzeptanz und Veränderung geschaffen werden [19, 20].

Hierbei wird das Programm in drei Phasen eingeteilt: das Erlernen der Fähigkeiten zur Krankheitsbewältigung, Sammeln von Motivation und Verstärken der Skills, gefolgt vom Übertragen der Skills auf alltägliche Situationen. Dabei werden psychosoziale Einzel- und Gruppentherapien zum Erlernen der Skills und individuelle Psychotherapie zur Identifizierung von Motivationsproblemen angewendet. Darüber hinaus wird großen Wert auf die therapeutische Beziehung gelegt. Die Therapieziele folgen einer strengen Hierarchie, die gemeinsam mit dem Patient festgelegt wird [19, 20].

### **1.3 Epigenetik**

Die Regulierung der Gen-Expression ohne direkte Veränderung der DNA-Basenfolge wird unter dem Begriff der Epigenetik zusammengefasst [21], Epigenetik beschäftigt sich also mit Transkriptionsveränderungen die nicht in der Sequenz selbst codiert sind [22]. Aus verschiedenen Modifikationen resultieren Änderungen, die den Phänotyp beeinflussen können [23]. DNA-Methylierung kann beispielsweise zum „Silencing“, also dem Abschalten, bestimmter Genregionen führen [22, 24, 25].

Dies bestimmt das Spektrum der Genaktivitäten in den Zellen [24] und spielt somit eine wichtige Rolle in der embryonalen Stammzellendifferenzierung. Sie nimmt darüber hinaus Einfluss auf Genexpression, den Alterungsprozess und die Chromosomenstabilität. Außerdem spielt die Epigenetik nachweislich eine wichtige Rolle in der Kanzerogenese, sowie bei der Entstehung einiger degenerativer Erkrankungen und mentaler Retardierung [21, 22, 26].

Epigenetische Modifikationen sind vererblich und bleiben über die Zellteilung hinaus erhalten [23, 24]. Mittlerweile nimmt man an, dass diese Vererbung sich in bestimmten Fällen nicht nur auf Zellreihen begrenzt, sondern auch zwischen den Generationen stattfindet [27].

Ging man früher davon aus, dass Methylierung bzw. epigenetische Änderungen während der Embryonalphase abgeschlossen werden und danach nicht mehr wandelbar sind [28], so ist man heute der Meinung, dass dies einen aktiven und beeinflussbaren Vorgang darstellt [23]. Neuere Studien implizieren, dass auch

Umweltfaktoren das Methylierungsmuster prä- sowie postnatal beeinflussen können [27, 29].

Zu epigenetischen Prozessen gehören posttranslationale Histon-Modifikation, DNA-Methylierung und die Aktivität von nichtcodierenden RNAs (Abbildung 2) [23, 26].

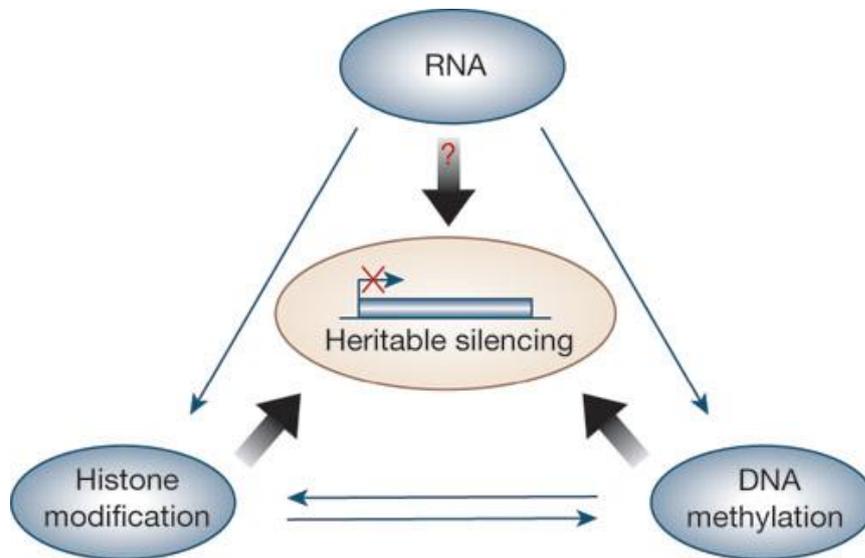


Abbildung 2: Zusammenhänge von nicht-codierenden RNAs, Histon-Modifikation und DNA-Methylierung beim Silencing von Genen nach Egger et al. [22].

Die DNA-Methylierung findet durch sogenannte Methyltransferasen (DNMT) statt [22, 25]. Diese übertragen eine Methylgruppe des S-Adenosin-Methionins (SAM) auf Position 5 der Cytosin-Basen der DNA [21].

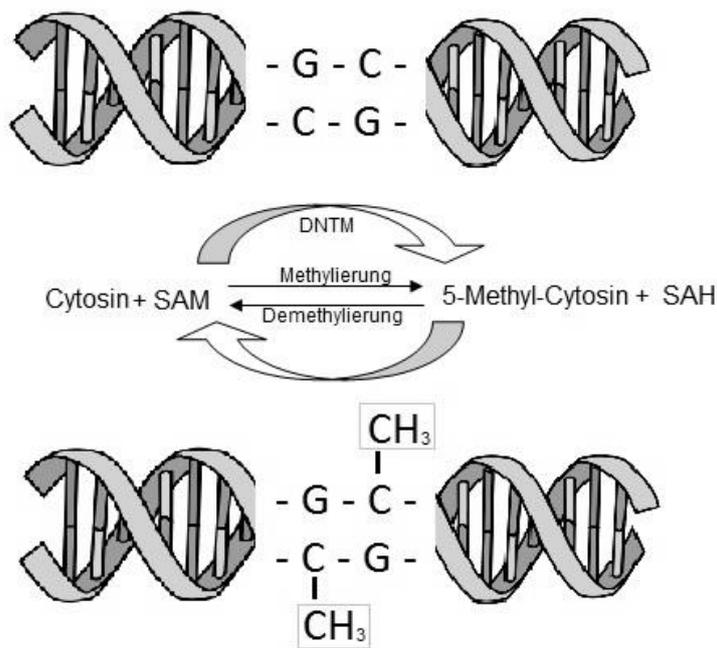


Abbildung 3: Mechanismus der DNA-Methylierung (Graphik für diese Arbeit erstellt). Eine Methylgruppe wird von SAM auf die 5-Position einer Cytosin-Base übertragen.

Im Gesamtbild der DNA ist diese Methylierung unterrepräsentiert, jedoch tritt sie gehäuft in sogenannten CpG-Islands auf [25]. Dort treten Cluster von CG-Dinukleotiden in der Basenfolge auf [21]. Als CpG-Island werden Abschnitte von mehr als 500 Basenpaaren mit einem Anteil von über 50% an Cytosin und Guanin definiert [22]. Diese Abschnitte kommen vor allem in Promotorregionen vor, die einem Gen voraus gehen [23]. Eine erhöhte Methylierung in diesen Regionen führt durch verschiedene Mechanismen dazu, dass das Chromatin sich dort verdichtet und eine Transkription erschwert wird [21].

Die Methylierung nimmt folglich direkten Einfluss auf die Proteinlevel eines Individuums und greift in die Interaktion zwischen Genom und Umwelt ein [23]. Man nimmt an, dass die Epigenetik dadurch eine entscheidende Rolle in Gesundheit und Krankheit des Menschen spielt [30].

In den letzten Jahren rückte die Epigenetik mehr und mehr in den Fokus der Forschung, auch in Bezug auf psychiatrische Erkrankungen, unter anderem Depression und Schizophrenie [31, 32]. Es wird angenommen, dass z.B.

frühkindliche negative Erfahrungen die Epigenetik verändern und dadurch die Anfälligkeit für psychiatrische Erkrankungen erhöhen [29, 31, 33].

Bei Patienten mit einer Borderline-Persönlichkeitsstörung treten gehäuft Polymorphismen bestimmter Rezeptoren auf, zum Beispiel dem Serotonin-Transporter [34]; ein eindeutiges biologisches Korrelat zur Entstehung von BPS wurde bisher jedoch nicht gefunden [16]. Wenn man von Linehans biosozialen Modell ausgeht, könnten epigenetische Veränderungen eben jene biologische Vulnerabilität darstellen, die in ihrem Modell zur Entstehung einer BPS beiträgt [15, 34]. Auch die Annahme dass Umweltfaktoren die Epigenetik beeinflussen können, würde Linehans Modell unterstützen.

Mehrere Studien zeigten bereits, dass auch bei Betroffenen von BPS veränderte Methylierungsmuster bestimmter neuropsychiatrischer Gene vorliegen [34-36].

#### **1.4 Studiendesign**

Ziel der Arbeit ist es, die bisherigen Ergebnisse zu den differentiell methylierten Promotorregionen von *APBA3*, *MCF2* und *BDNF4* bei Betroffenen einer Borderline-Persönlichkeitsstörung zu replizieren. Zusätzlich wurde an *BDNF1*, *NR3C1*, *miR124-3* und *NINJ2* geforscht.

Darüber hinaus werden mögliche Einflüsse der DBT auf die Methylierung untersucht. Dies soll Aufschluss darüber geben, ob eine Psychotherapie als Umweltfaktor Einfluss auf Methylierungsmuster nehmen kann. Auch soll geklärt werden, ob die Epigenetik in Form der DNA-Methylierung als Marker für den Erfolg der Therapie oder als Kontrolle des Therapieverlaufs dienen könnte.

Die Ergebnisse der Untersuchungen sollen zum besseren Verständnis des Zusammenhangs zwischen epigenetischer Regulation und der Borderline-Persönlichkeitsstörung beitragen.

Biomarker für den individuellen Erfolg der Therapie könnten außerdem dazu beitragen, Patienten, die nicht von der langwierigen DBT profitieren würden, frühzeitig andere Therapieoption aufzuzeigen und diese zu initiieren. So könnte

nicht nur den Patienten eine für sie ineffektive Behandlung erspart bleiben, sondern auch Kosten eingespart werden. Auch würden die begehrten Therapieplätze nur an Patienten vergeben werden, die tatsächlich einen Nutzen daraus ziehen.

Patienten und dem Alter und Geschlecht nach passenden psychisch gesunden Kontrollen wurde hierzu Blut entnommen. Die Promotorregionen der oben genannten Gene werden hinsichtlich der Methylierung analysiert. Im Falle der Patienten geschieht dies zu zwei Zeitpunkten: zu Beginn und am Ende der Therapie. Dadurch ist nicht nur ein Vergleich zwischen BPS-Patienten und psychisch Gesunden möglich, sondern auch der Vergleich der epigenetischen Situation vor und nach der DBT. Parallel werden verschiedene psychometrische Skalen verwendet, um psychologische Unterschiede und Fortschritte zu dokumentieren.

Die ausgewählten Genstellen zeichnen sich alle durch einen bereits bekannten Zusammenhang zu neuropsychiatrischen Entwicklungen oder auch Erkrankungen aus. Darüber hinaus waren sie bereits Gegenstand der bisherigen Forschung zur Borderline-Persönlichkeitsstörung.

In einer Studie von Teschler et al. zeigten sich für *APBA3*, *MCF2* und *NINJ2* sowohl in einem genomweiten Bead Chip Array, als auch nach Überprüfung durch Prosequenzierung signifikante Methylierungsunterschiede zwischen BPS Patienten und Kontrollen [35]. Eine weitere genomweite Studie von Prados et al. identifizierte *miR124-3* als differentiell methyliertes Gen in Betroffenen von BPS, mit engem Zusammenhang zu Kindheitstraumata [37]. Da solche traumatischen Erlebnisse in der Kindheit von Patienten mit BPS nicht selten sind und in Zusammenhang mit der Krankheitsentstehung gebracht werden (siehe 1.1 Die Borderline-Persönlichkeitsstörung), sollte auch das Glukokortikoidrezeptor-Gen *NR3C1* untersucht werden. Veränderungen, die eine Rolle in der Entstehung mehrerer psychiatrischer Erkrankungen spielen und durch frühkindlichen Stress und Trauma ausgelöst werden, wurden bereits in mehreren Studien zu *NR3C1* beobachtet [38-41].

*BDNF4* und *BDNF1* wurden auf Grundlage einer Studie zum Einfluss der DBT zum Gegenstand dieser Arbeit [36].

#### **1.4.1 APBA3**

APBA3 gehört zur „Amyloid-beta-Precursor-binding-Protein“-Familie und interagiert mit dem Amyloid-beta-Vorläufer-Protein. Amyloid-Plaques gehören zur Krankheitsentität von Alzheimer [42, 43]. Eine Verbindung zu anderen psychiatrischen Erkrankungen ist denkbar.

#### **1.4.2 MCF2**

In einem Knockout-Maus-Modell konnte gezeigt werden, dass die Dendriten der *MCF2*<sup>-/-</sup>-Mäuse deutlich verkürzt waren [44]. Darüber hinaus steht es im Zusammenhang mit Schizophrenie, sowie Autismus-Spektrum-Störungen [45]. Eine Assoziation mit der Borderline-Persönlichkeitsstörung scheint folglich denkbar.

#### **1.4.3 BDNF4**

*BDNF4* trat bereits in vielen Studien zu psychiatrischen Erkrankungen in Erscheinung. Genpolymorphismen konnten bereits in Zusammenhang mit Alzheimer-Erkrankung [46], sowie Schizophrenie und bipolarer Störung [47, 48] gebracht werden. Bei Patienten mit Alzheimer konnte eine signifikant höhere Methylierung peripherer Blutzellen für *BDNF4* nachgewiesen werden [46]. Auch scheint ein starker Zusammenhang mit Suizidalität zu bestehen [49, 50]. Somit könnten Veränderungen des *BDNF4* Gens auch in Zusammenhang mit der auffällig hohen Suizidrate unter Betroffenen einer Borderline-Persönlichkeitsstörung gebracht werden.

#### **1.4.4 BDNF1, GR, miR124-3, NINJ2**

Ähnlich wie *BDNF4* steht *BDNF1* in Zusammenhang mit der neuronalen Entwicklung verschiedenen psychiatrischen Erkrankungen [47, 48, 51]. Auch die Entstehung von Alzheimer und suizidales Verhalten konnten mit *BDNF1* in Zusammenhang gebracht werden [46] [49, 50, 52].

Frühkindliche Traumata nehmen Einfluss auf die Epigenetik von *NR3C1* [39]. Dadurch verändert sich die individuelle Stressverarbeitung, was im

Zusammenhang mit der Krankheitsentstehung von beispielsweise Depressionen oder bipolaren Störungen steht [40, 41]. Aufgrund der hohen Prävalenz kindlicher Traumata in BPS Patienten ist ein Zusammenhang mit der Borderline-Persönlichkeitsstörung denkbar.

Eine veränderte Expression von MicroRNA, konnte bereits mit Schizophrenie und anderen Erkrankungen in Verbindung gebracht werden [53, 54]. Die differentielle Methylierung der MicroRNA *miR124-3* könnte also ebenfalls im Zusammenhang mit BPS stehen.

Veränderungen im *NINJ2*-Gen korrelieren mit einem verminderten Alzheimer-Risiko [56]. Darüber hinaus codiert es für ein Adhäsionsmolekül mit tragender Rolle beim Neuritenwachstum [55]. Dieser Einfluss auf die neuronale Entwicklung könnte einen Effekt auf die Krankheitsentstehung noch weiterer psychiatrischer Erkrankungen, beispielsweise BPS, haben.

Die Untersuchungen dieser Genstellen konnten aus verschiedenen Gründen nicht durchgeführt oder beendet werden (siehe 3.2.4 BDNF1, NR3C1, miR124-3, NINJ2, sowie 4.2.2 BDNF1, GR, miR124-3, NINJ2).

# 2 Material und Methoden

## 2.1 Materialien, Geräte und Hersteller

<i>Agarose</i>	GE Healthcare, Amersham, UK
<i>Borsäure krist.</i>	MERCK KGaA, Darmstadt
<i>Cyanfarbstoff</i>	SYBR®Safe DNA Gel Stain - lifetechnologies™, Carlsbad, CA, USA (=Invitrogen)
<i>DNA-Ladder</i>	Promega, Fitchburg, WI, USA
<i>EDTA</i>	Titriplex® - MERCK KGaA, Darmstadt
<i>EDTA-Röhrchen</i>	S-Monovette® - SARSTEDT, Nürnbrecht
<i>Elektrophorese-Kämme</i>	PEQLAB, Darmstadt
<i>Eppendorf-Reaktionsgefäß</i>	Eppendorf, Hamburg
<i>Ethanol</i>	AnalaR NORMAPUR Ethanol absolute - VWR Prolab
<i>Falcon-Reaktionsgefäß</i>	BD, Heidelberg
<i>Fluorometer</i>	Qubit® 2.0 Fluorometer - ThermoFisher scientific, Waltham, MA, USA
<i>Geldokumentation</i>	E-Box - PEQLAB, Darmstadt
<i>Heizblock</i>	RSM-10HS – Phoenix Instruments, Garbsen
<i>IBM® SPSS® Statistics</i>	Version 21 - IBM Corp., Armonk, NY, USA
<i>Loading Dye</i>	Blue/Orange 6x Loading Dye - Promega, Fitchburg, WI, USA
<i>PCR-MasterMix</i>	GoTaq-MasterMix, 2x - Promega, Fitchburg, WI, USA PyroMark PCR-MasterMix, 2x - QIAGEN, Hilden
<i>PCR-Platte</i>	96 Multiply PCR-Platte - SARSTEDT, Nürnbrecht
<i>PCR-Tubes</i>	8 strip-reaction tube (0,2ml) + domed caps - Biometra, Göttingen
<i>RNAse-freies Wasser</i>	Promega, Fitchburg, WI, USA
<i>Schüttler</i>	DPC MicroMix® 5 - DPC, Los Angeles, CA, US
<i>Sepharose Beads</i>	GE-Healthcare, Amersham, UK
<i>Stromquelle für Elektrophorese</i>	Electrophoresis Power Supply EPS 300 - Pharmacia Biotech, Uppsala Schweden (jetzt GE Healthcare, Amersham, UK)
<i>Thermocycler</i>	peqSTAR 96 Universal Gradient Thermocycler - PEQLAB, Darmstadt
<i>Tris</i>	Trizma®-base - SIGMA-ALDRICH, St.Louis, MO, USA
<i>Vortexer</i>	VortexMixer neolab® 7-2020 - neolab®, Heidelberg
<i>Waage</i>	Mettler PM 4600 DeltaRange® - Mettler Toledo, Gießen

Wasserbad

GFL®, Burgwedel

Zentrifuge groß

HERAEUS Multifuge 3L-R - Heraeus Holding, Hanau

Zentrifuge klein

HERAEUS Fresco 21 Microzentrifuge - Heraeus Holding, Hanau

## **2.2 Patienten- und Probandenkollektiv**

### **2.2.1 DBT-Patienten**

Seit 2013 wurden im Rahmen der Studie 44 Patienten mit einer Borderline-Persönlichkeitsstörung rekrutiert. Während ihrer Teilnahme an der zwölfwöchigen, stationären DBT nach M. Linehan [18, 19] der Universitätsklinik für Psychiatrie und Psychotherapie Tübingen, wurden Blutproben entnommen und verschiedene psychologische Tests (siehe 2.3 Fragebögen) zur Bearbeitung ausgehändigt. Im Rahmen der Blutentnahme wurden EDTA-Röhrchen verwendet. Die Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) verhindert die Gerinnung des Blutes. Die Entnahmen und Testungen erfolgten innerhalb der ersten Behandlungswoche und bei Abschluss der Therapie.

Einschlusskriterium für die Patienten war eine diagnostizierte Borderline-Persönlichkeitsstörung nach der International Personality Disorder Examination (IPDE; deutschsprachige Fassung, Stand Januar 1998) der Weltgesundheitsorganisation (WHO).

In der IPDE werden Persönlichkeitsstörungen nach dem DSM IV erfasst. Für die Diagnose müssen mindestens fünf der neun Kriterien erfüllt sein (Tabelle 1).

Die Gruppe setzte sich aus 37 weiblichen und sieben männlichen Probanden mit einem durchschnittlichen Alter von 29,5 Jahren zusammen.

24 Patienten (20 weibliche und vier männliche) schlossen die Therapie ab und es war möglich, eine weitere Probe am Ende der Therapie zu entnehmen.

### **2.2.2 Kontrollgruppe**

Die Gruppe der Kontrollen wurde dem Patientenkollektiv in Bezug auf Alter (+/- drei Jahre) und Geschlecht passend zugeordnet und seit März 2015 rekrutiert.

Eine psychiatrische Vorerkrankung wurde als Ausschlusskriterium festgelegt. Es wurden einmalig Blutproben in EDTA-Röhrchen entnommen und psychologische Fragebögen zur Bearbeitung vorgelegt. Die Kontrollgruppe setzte sich aus 44 Personen zusammen, davon 37 weibliche und 7 männliche mit einem Altersdurchschnitt von 29,7 Jahren.

## **2.3 Fragebögen**

Um die psychische Verfassung der Patienten sowie Kontrollprobanden einschätzen zu können, wurden ihnen jeweils mehrere Fragebögen vorgelegt. Abgefragt wurde eine breite Spanne von psychischen Parametern: von BPS-spezifischen Symptomen, traumatischen Erlebnissen, bis hin zu grundlegenden Persönlichkeitseigenschaften. Außerdem wurde die allgemeine Intelligenz erfasst. Diese Informationen werden benötigt, um einen möglichst präzisen Eindruck der mentalen Verfassung zum aktuellen Zeitpunkt und generell zu erhalten.

Diese Parameter erlauben es klar zwischen psychisch gesunden Kontrollen und Patienten mit BPS zu differenzieren. Einige ausgewählte Fragebögen wurden zu beiden Zeitpunkten der Probenentnahme beantwortet. Dies ermöglicht es den Therapieverlauf der Patienten nachzuvollziehen.

Insgesamt wurden acht psychologische Tests verwendet, fünf davon wurden zum Zeitpunkt der zweiten Probenentnahme am Ende der 12-wöchigen DBT erneut bearbeitet (Tabelle 2).

Tabelle 2: Übersicht zu den Zeitpunkten der Testungen

Test	Durchgeführt zu Zeitpunkt T1	Durchgeführt zu Zeitpunkt T2
SCL90-R	X	X
BSL23	X	X
FDS20	X	X
KIMS D	X	X
ARES K	X	X
CTQ	X	-
BFI10	X	-
MWTB	X	-
AUDIT	X	-
Fagerstrøm	X	-
Demographische Daten	X	-

Auf die verwendeten Fragebögen wird in den nachfolgenden Abschnitten genauer eingegangen.

### 2.3.1 SCL90-R

Die Symptom-Checklist 90-revised (SCL90-R) ist eine Liste mit 90 Items, die von Derogatis 1977 entwickelt wurde [57, 58]. Der SCL90-R in dieser Form ist für eine Verlaufskontrolle innerhalb einer psychotherapeutischen Behandlung oder prä- und post-therapeutisch anwendbar.

Für den Zeitraum der letzten sieben Tage soll der Proband beurteilen wie stark belastet er durch das jeweilige Symptom war und dies auf einer Likert-Skala von 0 („überhaupt nicht“) bis 4 („sehr stark“) festhalten. Aus den gegebenen Antworten lassen sich 9 Skalenniveaus, sowie 3 globale Kennwerte ableiten (Tabelle 3).

Tabelle 3: Skalen und Kennwerte des SCL90-R

<b>Beschreibung und/oder Spannweite</b>		
<b>Skala 1</b>	<b>Somatisierung</b>	Symptome autonomer körperlicher Systeme (z.B. gastrointestinal, kardiovaskulär, muskulär, )
<b>Skala 2</b>	<b>Zwanghaftigkeit</b>	Konzentrationsstörungen bis zu zwanghaften Verhaltensmustern
<b>Skala 3</b>	<b>Unsicherheit im Sozialkontakt</b>	Gefühle der Unsicherheit und des Unwohlseins bis zu Selbstentwertung
<b>Skala 4</b>	<b>Depressivität</b>	Symptome dysphorischer Stimmung (z.B. mangelnde Motivation, Hoffnungslosigkeit, Suizidalität, Traurigkeit)
<b>Skala 5</b>	<b>Ängstlichkeit</b>	Körperliche Symptome der Nervosität bis zu Gefühlen der Sorge und Angst
<b>Skala 6</b>	<b>Aggressivität/Feindseligkeit</b>	Zustand des Ärgers, Zorns oder Aggression
<b>Skala 7</b>	<b>Phobische Angst</b>	Gefühle von Bedrohung bis zu phobischer Furcht
<b>Skala 8</b>	<b>Paranoides Denken</b>	Misstrauens- / Minderwertigkeitsgefühle bis zu paranoiden Gedanken
<b>Skala 9</b>	<b>Psychozitimismus</b>	Gefühle der Einsamkeit oder Entfremdung bis zu psychotischen Episoden
<b>Kennwert 1</b>	<b>Global severity index (GSI)</b>	Grundsätzliche psychische Belastung
<b>Kennwert 2</b>	<b>positive symptom distress index (PSDI)</b>	Ausprägung und Schwere der angegebenen Symptomatik
<b>Kennwert 3</b>	<b>positive symptom total (PST)</b>	Anzahl der Items mit Belastung

Die errechneten Skalen-Werte werden nach soziodemographischen Gesichtspunkten (Geschlecht und Bildungsabschluss) standardisiert. Daraus ergeben sich T-Werte von 0-80, wobei höhere Werte für ausgeprägtere Belastungen sprechen. T-Werte > 60 werden als starke Belastung angesehen [57].

Für die Charakterisierung des Patienten- und Probandenkollektivs ist der GSI ausreichend, da er einen Überblick über die globale Schwere der Belastung

eines Individuums gibt und auch für die Einordnung des Therapieerfolgs zweckdienlich ist. Die restlichen erhobenen Parameter wurden daher in der Auswertung nicht betrachtet.

Der SCL90-R wurde in der Patientengruppe zu beiden Testzeitpunkten durchgeführt.

### **2.3.2 BSL23**

Die Borderline-Symptom-Liste 23 (BSL23) ist eine 2008 veröffentlichte Adaptation der BSL95 von Bohus et al. [59-62]. Sie umfasst eine Liste mit 23 Borderline-spezifischen Symptomen, für die der Proband die jeweilige Stärke beurteilt. Hierbei sollen die letzten sieben Tage betrachtet werden. Die Bewertung erfolgt auf einer Likert-Skala von 0 („überhaupt nicht“) bis 4 („sehr stark“).

Die BSL23 dient der Beurteilung der Schwere der Borderline-Persönlichkeitsstörung und der spezifischen Symptomatik. Der sich ergebende Gesamtwert rangiert zwischen 0 und 4, höhere Werte entsprechen einer stärkeren Ausprägung der Borderline-Persönlichkeitsstörung. Der zur Therapiedokumentation und Verlaufskontrolle geeignete Test wurde in der Patientengruppe zu beiden Testzeitpunkten durchgeführt.

In der Normstichprobe für BPS-Patienten beobachteten Bohus und Kollegen Mittelwerte von 2,05 (Standardabweichung 0,9), sowie eine starke Korrelation mit den GSI-Werten des SCL-90 [60].

### **2.3.3 FDS20**

Der Fragebogen zu Dissoziativen Symptomen (FDS) ist die deutsche Version der Dissociative Experience Scale von Bernstein und Putnam [63, 64].

Erfragt werden Zustände von dissoziativen Erfahrungen, das heißt die Patienten erleben eine Abspaltung von Wahrnehmungen, die normalerweise zusammenhängend sind. Diese Phänomene haben eine enorme Bandbreite und können unter anderem Gedächtnis und Erinnerung bis hin zu körperlichen Empfindungen und Funktionen betreffen.

Die verwendete Version fragt in 20 Items nach verschiedensten dissoziativen Zuständen und deren Ausmaß. Diese Kurzfassung des eigentlich 44 Items langen Tests bezieht sich auf ein Zeitfenster von zwei Wochen und wurde zu beiden Zeitpunkten durchgeführt. Die Skalierung reicht von 0% (nie) bis 100% (immer) und erfragt die Häufigkeit des Auftretens bestimmter Symptome. Als Gesamtscore ergibt sich ein Wert zwischen 0 und 100, wobei höhere Werte für ein höheres Ausmaß und häufigeres Auftreten dissoziativer Zustände sprechen.

### 2.3.4 KIMS D

Die deutsche Version des Kentucky Inventory of Mindfulness Skills von Baer et al. (KIMS D, [65, 66]) ist ein 39 Items umfassendes Instrument zur Erfassung von vier Fertigkeiten der Achtsamkeit. Auf einer Likert-Skala von 1 („trifft nie oder sehr selten zu“) bis 5 („trifft sehr oft oder immer zu“) bewerten die Patienten verschiedene Items aus den Bereichen „Beobachten“, „Beschreiben“, „mit Aufmerksamkeit Handeln“ und „Akzeptieren ohne Bewertung“ (Tabelle 4).

Tabelle 4: Dimensionen des KIMS

<b>Fertigkeit</b>	<b>Beschreibung</b>
<b>Beobachten</b>	Wahrnehmen von körperlichen, kognitiven oder emotionalen Empfindungen und Zuständen, sowie Gerüchen und Geräuschen
<b>Beschreiben</b>	Ursprung in Meditation zur Bewusstmachung von Wahrnehmungen, Gedanken und Sinnesinhalten
<b>Mit Aufmerksamkeit Handeln</b>	Konzentration auf momentane Handlung
<b>Akzeptieren ohne Bewertung</b>	Akzeptanz der Realität ohne Wertung oder Bemühen sie zu ändern

Zur Einordnung der Achtsamkeitsfähigkeiten der Probanden und Patienten wurde der Gesamtscore verwendet, der sich in einem Rahmen von 39 bis 195 Punkten bewegt und in dem höhere Werte für stärker ausgeprägt Fertigkeiten sprechen.

Der Erfolg des Achtsamkeitstrainings als zentraler Bestandteil der DBT kann durch das KIMS genau überprüft werden, daher wurde es zu beiden Zeitpunkten von den Patienten bearbeitet.

### **2.3.5 ARES K**

ARES steht für Action Regulation Emotion Systems, also emotionale Systeme, die unser Handeln beeinflussen. Sie beruhen auf einem Modell von J. A. Gray, der zwei unterschiedliche Regelkreisläufe der Emotionen gegenüberstellt [67]: Das Behavioral Inhibition System (BIS), das Handlungen unterdrückt, stoppt oder abschwächt und das Behavioral Activation System (BAS), das ein laufendes Verhalten verstärkt. Das BIS reagiert auf angeborene Angstreize oder negativ konditionierte, sowie unbekannte Reize. Das momentane Verhalten wird gestoppt oder vermindert und die Aufmerksamkeit der Umwelt gegenüber gesteigert. Das BAS spricht auf Belohnung oder das Fehlen einer Bestrafung an, es verstärkt zielgerichtetes Verhalten. In der deutschen Kurzversion des ARES-Tests (ARES-K) werden diese zwei Modalitäten in weitere Unterpunkte gegliedert: BIS1 – Ängstlichkeit bzw. Nervosität und BIS2- Frustration bzw. Traurigkeit; BAS1- Antrieb und BAS2 – Freude über Erfolg.

In dieser Studie wurden die Gesamtwerte für BIS und BAS berücksichtigt um einen Überblick zu erhalten, welches der beiden Emotions-Systeme bei den Probanden und Patienten überwiegt.

### **2.3.6 CTQ**

Frühe traumatische Erlebnisse können zur Entwicklung verschiedener psychischer oder psychosomatischer Störungen beitragen. Auch auf die Aufrechterhaltung und die Art der Therapie dieser Störungen nehmen sie Einfluss. So berichten viele Betroffene der Borderline-Persönlichkeitsstörung von traumatischen Erlebnissen in der Kindheit.

Mit Hilfe der Kurzform des Childhood Trauma Questionnaires (CTQ) ist es möglich, solche Erlebnisse zu erfassen. Die deutsche Kurzform umfasst 28 Items, die körperliche und emotionale Vernachlässigung sowie körperlichen, sexuellen oder emotionalen Missbrauch abfragen. Jeder dieser fünf Modalitäten

sind fünf Items zugeordnet, die von 1 (überhaupt nicht) bis 5 (sehr häufig) in der Frequenz ihres Vorkommens während der Kindheit bewertet werden sollen. Die drei verbleibenden Items dienen zur Bewertung einer eventuellen Bagatellisierung oder Verleugnung der Traumatisierung [68, 69].

In dieser Studie wurden nur die fünf Skalen der Vernachlässigung und des Missbrauchs bewertet um einen Überblick über mögliche Traumatisierungen zu erhalten. Die Scores zwischen 0-25 jeder Subskala werden nochmals nach Schweregraden von 0 („nicht/minimal“) bis 3 („schwer/extrem“) unterteilt (Tabelle 5). Ab einer mäßigen bis schweren Traumatisierung (Grad 2), wurde von einer Beeinflussung der psychischen Verfassung ausgegangen.

Tabelle 5: Einteilung der Traumatisierung nach Schwere

<b>Skala</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
	<b>nicht/minimal</b>	<b>gering/mäßig</b>	<b>mäßig/schwer</b>	<b>schwer/extrem</b>
<b>Emotionaler Missbrauch</b>	5-8	9-12	13-15	16-25
<b>Körperlicher Missbrauch</b>	5-7	8-9	10-12	13-25
<b>Sexueller Missbrauch</b>	5	6-7	8-12	13-25
<b>Emotionale Vernachlässigung</b>	5-9	10-14	15-17	18-25
<b>Körperlicher Vernachlässigung</b>	5-7	8-9	10-12	13-25

### 2.3.7 BFI10

Das Big Five Inventory (BFI) ist ein Test zur Erfassung des Fünf-Faktoren-Modells der Persönlichkeit [70].

Dieses Modell ist das zurzeit am weitesten verbreitete zur Beschreibung der Gesamtpersönlichkeit. Enthalten sind folgende fünf Faktoren bzw. Dimensionen: Extraversion, Verträglichkeit, Gewissenhaftigkeit, Neurotizismus und Offenheit (Tabelle 6). Es basiert auf der Annahme, dass wichtige Dimensionen der Persönlichkeit auch im Sprachgebrauch repräsentiert sind.

Allport und Odbert trafen 1936 [71] eine Auswahl von 17.954 persönlichkeitsbeschreibenden Wörtern aus einem Wörterbuch, die in den Jahren 1943-46 von Catell auf 35 Cluster mit je bis zu zwölf Wörtern verringert wurden [72, 73]. Tupes und Christal extrahierten dann die 5 stärksten der Faktoren [74]. Heute gelten diese „Big-Five“ in allen westlichen Sprachräumen als führendes Modell [75].

Das BFI10 ist eine von Rammsted et al. entwickelte Kurzversion des BFI [70]. Es umfasst zehn Items, je zwei pro Persönlichkeitsdimension. Eines der Items ist positiv formuliert, das andere negativ. Bewertet wird auf einer Skala von 1 („trifft überhaupt nicht zu“) bis 5 („trifft voll und ganz zu“).

Zur Auswertung wird der negative Score invertiert. Der Mittelwert der beiden Items führt zu einem Gesamtscore zwischen 1 und 5 für jede Dimension, wobei höhere Werte für eine stärkere Auswertung stehen.

Tabelle 6: DUDEN-Definitionen der Big-Five

<b>Dimension</b>	<b>Definition nach DUDEN</b>
<b>Extraversion</b>	Seelische Einstellung, die durch Konzentration der Interessen auf äußere Objekte gekennzeichnet ist
<b>Verträglichkeit</b>	das Verträglich sein
<b>Gewissenhaftigkeit</b>	Gewissenhaftes Wesen
<b>Neurotizismus</b>	Gesamtverfassung, die durch emotionale Labilität, Schüchternheit und Gehemmtheit charakterisiert ist
<b>Offenheit</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Freimütige Wesensart; rückhaltlose Ehrlichkeit</li> <li>2. Aufgeschlossenheit; Bereitschaft, sich mit jemandem/etwas unvoreingenommen auseinanderzusetzen</li> </ol>

### 2.3.8 MWTB

Um eine erfolgreiche und nachhaltige Psychotherapie durchführen zu können, ist es von Vorteil, wenn der Patient in der Lage ist, das eigene Befinden zu reflektieren und dies auch mitzuteilen, sowie die Therapieansätze zu verstehen und zu verinnerlichen. Diese Aufgaben können unter einem Intelligenzquotient (IQ) von 80 nicht mehr zuverlässig erfüllt werden [76]. Um die Aussagekraft der

bereits beschriebenen verwendeten psychometrischen Skalen zu überprüfen, wurde das allgemeine Intelligenzniveau bestimmt.

Zur Erfassung des allgemeinen Intelligenzniveaus des Patienten- und Probandenkollektivs wird der 1977 von Siegfried Lehrl entwickelte Mehrfach-Wortschatz-Intelligenztest Version B (MWT-B, [76]) durchgeführt. Dieser besteht aus 37 Wortreihen in denen je fünf Wörter angegeben sind; vier davon sind frei erfunden, eines stammt aus dem umgangs-, bildungs- oder wissenschaftssprachlichen Bereich und soll vom Probanden erkannt werden. Da dieses Testdesign darauf abzielt, Bekanntes wiederzuerkennen und von Unbekanntem zu unterscheiden, werden kaum Anforderungen an die fluide Intelligenz gestellt. Dadurch ist der Test relativ unabhängig von seelisch-geistigen Störungen, objektiv und wiederholungsunabhängig. Außerdem ist die Durchführung schnell und ohne Hilfsmittel möglich.

Jedes richtig erkannte Wort gibt einen Punkt, der so erhaltene Rohwert wird dann auf IQ-Punkte normiert (Tabelle 7).

Tabelle 7: Normentabelle MWT-B

Rohwert	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>IQ</b>	<b>61</b>	<b>64</b>	<b>65</b>	<b>66</b>	<b>67</b>	<b>70</b>	<b>73</b>	<b>74</b>	<b>76</b>	<b>77</b>
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	<b>78</b>	<b>79</b>	<b>80</b>	<b>81</b>	<b>82</b>	<b>83</b>	<b>85</b>	<b>86</b>	<b>88</b>	<b>89</b>
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
	<b>91</b>	<b>92</b>	<b>93</b>	<b>94</b>	<b>95</b>	<b>97</b>	<b>100</b>	<b>101</b>	<b>104</b>	<b>107</b>
	31	32	33	34	35	36	37			
	<b>112</b>	<b>118</b>	<b>124</b>	<b>130</b>	<b>136</b>	<b>143</b>	<b>145</b>			

### 2.3.9 AUDIT

Der in den 90er Jahren im Auftrag der WHO entwickelte Alcohol Use Disorder Identification Test (AUDIT) dient zur Einordnung von gefährlichem Alkoholkonsum. Jeder Antwort ist ein Wert von 0 bis 4 zugeordnet, ein Gesamtwert bis zu 40 Punkten ist erreichbar. Allgemein gilt ein Wert größer als 8 als Anzeichen für ein gefährdendes Trinkverhalten [77, 78].

### **2.3.10 Fagerstrøm**

Um die Stärke der Nikotinabhängigkeit einzuschätzen, wird der Fagerstrøm Test for Nicotin Dependence (FTND) verwendet. Der Gesamtscore reicht von 0 bis zu 10 Punkten. Unter 2 geht man von einer geringen, bis 4 von einer geringen bis mäßigen, bis 7 von einer mäßigen und ab 8 Punkten von einer starken Nikotinabhängigkeit aus [79, 80].

## **2.4 DNA-Extraktion**

Bevor eine Vervielfältigung der zu untersuchenden Genabschnitte mittels Polymerase-Chain-Reaction (PCR, siehe 2.6 DNA-Vervielfältigung) möglich ist, muss zunächst die DNA aus den entnommenen Proben gewonnen werden.

### **2.4.1 DNA-Extraktion aus Vollblut**

Die DNA-Extraktion aus Vollblut wurde mit dem QIAamp® DNA Blood Maxi-Kit (QIAGEN, Hilden) nach Herstelleranleitung durchgeführt. Um DNA zu extrahieren, muss als erster Schritt eine Zelllyse stattfinden. Hierfür wird bei diesem Verfahren eine Protease in Kombination mit einem Lysepuffer (AL) verwendet. Durch den Einsatz eines geladenen Filters (Column) wird die negativ geladene DNA durch einen Binde- und zwei Waschschriffe von den restlichen Blutbestandteilen getrennt und kann darauffolgend in 1 ml eines Puffers (AE) eluiert und gelagert werden.

Zunächst werden 500 µl der QIAGEN Protease in ein 50 ml Falcon-Reaktionsgefäß vorgelegt, die Blutprobe (5 - 10 ml) hinzugegeben und kurz gemischt. Im nächsten Schritt werden 12 ml Puffer AL hinzugefügt und die Probe für mindestens eine Minute stark geschüttelt und mehrmals invertiert. Es folgt eine Inkubation im 70°C Wasserbad für 10 Minuten.

Nach dieser Inkubationszeit werden 10 ml Ethanol (100%) hinzugefügt, das Falcon-Reaktionsgefäß 10-mal invertiert und nochmals stark geschüttelt.

Die Hälfte der Lösung wird in ein QIAamp Maxi column in einem 50 ml Falcon-Reaktionsgefäß überführt und drei Minuten bei Raumtemperatur und 3.000 rpm

zentrifugiert. Das Filtrat wird verworfen und der Vorgang mit der zweiten Hälfte der Lösung wiederholt.

Im nächsten Schritt wird das Filtrat verworfen, das Maxi column mit 5 ml Waschpuffer AW1 befüllt und eine Minute bei 5.000 rpm zentrifugiert. Es folgt eine Befüllung mit 5 ml des Waschpuffers AW2 und Zentrifugation bei 5.000 rpm für 15 Minuten.

Zur Elution wird 1 ml Puffer AE auf das Column gegeben und 1 Minute bei Raumtemperatur inkubiert, dann ebenfalls bei Raumtemperatur für 2 Minuten bei 5.000 rpm zentrifugiert. Der Durchfluss wird gesammelt und nochmals auf das Column gegeben, die Zentrifugation wird unter den gleichen Bedingungen wie im vorherigen Schritt nochmals durchgeführt, um eine vollständige Elution der DNA aus dem Filter zu gewährleisten.

#### **2.4.2 Messung der DNA-Konzentration**

Die Konzentration der in der Elution enthaltenen DNA wird durch ein auf Fluoreszenz basierendes Messverfahren mit dem Qubit® 2.0 Fluorometer gemessen.

Hierfür wird 1 µl der zu messenden DNA in 199 µl Qubit® working solution pipettiert, dann gevortext und für 2 Minuten inkubiert. Die working solution besteht aus 200 µl working buffer und 1 µl des Fluoreszenzfarbstoffs (working dye).

Der verwendete Farbstoff fluoresziert ausschließlich in Verbindung mit DNA. Das Fluorometer kann so durch eine Fluoreszenzmessung und einer Standardkurve die DNA-Konzentration der vorliegenden Probe bestimmen.

Für das weitere Vorgehen ist keine zusätzliche Behandlung oder Modifikation der eluierten DNA notwendig. Sie wird in ein 1,5 ml Eppendorf-Reaktionsgefäß (Eppendorf-Reaktionsgefäß) überführt und bei -20°C gelagert.

## 2.5 Bisulfit-Konvertierung

Die Bisulfit-Konvertierung der gewonnenen DNA ist essentiell für die spätere Analyse des individuellen Methylierungsstatus einzelner Genabschnitte.

Durch die Reaktion mit Bisulfit werden nicht-methylierte Cytosin-Nukleotide des DNA-Strangs zu Uracil-Nukleotiden konvertiert, 5-Methylcytosin allerdings geht keine Reaktion ein und bleibt somit in seiner ursprünglichen Form erhalten (Tabelle 8, Abbildung 4). Diese Modifikation erlaubt es später in der Sequenzanalyse methylierte und nicht-methylierte Cytosine zu differenzieren. Die genauen Vorgänge zur Bestimmung des Methylierungsgehalt des zu untersuchenden DNA-Abschnittes sind im Kapitel 2.7 Pyrosequenzierung beschrieben.

Tabelle 8: Sequenzänderung nach der Bisulfit-Konvertierung

	Originalsequenz	bisulfit-konvertierte Sequenz
unmethyliert:	AACGTGACGT	AAUGTGAUGT
methyliert:	AACGTGACGT	AACGTGACGT

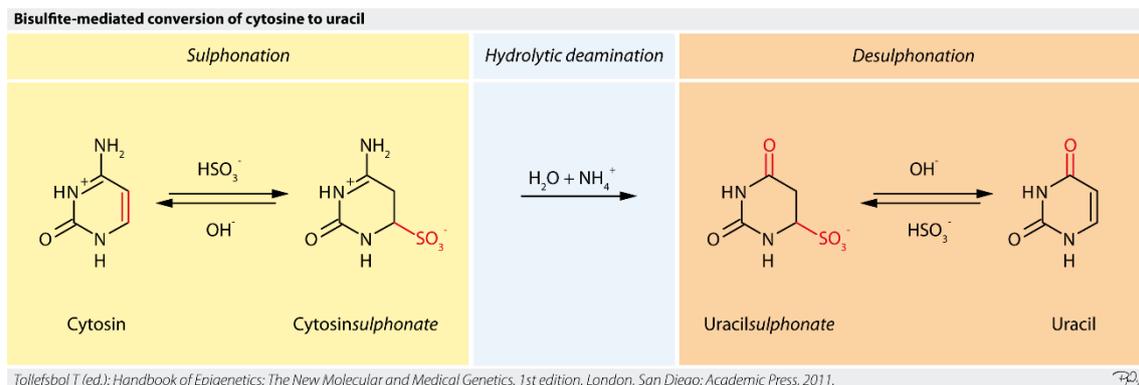


Abbildung 4: Prinzip der Bisulfit-Reaktion nach Tollefsbol [81]

Um eine möglichst vollständige Umwandlung aller unmethylierten Cytosin-Nukleotide zu erreichen, wird die DNA hohen Temperaturen, niedrigen pH-Werten und hohen Bisulfit-Konzentrationen ausgesetzt. Verwendet wurde das EpiTect® Fast DNA Bisulfite Kit (QIAGEN, Hilden).

## 2.5.1 Vorgehensweise

Die Bisulfit-Konvertierung wird nach Herstelleranleitung durchgeführt. Es wird je 500 ng der zuvor extrahierten DNA verwendet. In PCR-Tubes wird diese mit RNase freiem Wasser auf ein Gesamtvolumen von 20 µl bzw. 40 µl, abhängig von der Konzentration der extrahierten DNA, aufgefüllt. Außerdem werden 85 µl der im Kit enthaltenen Bisulfite Solution zugegeben und mit dem DNA Protect Buffer auf 140 µl aufgefüllt. Nach kräftigem Schütteln werden die Tubes im Thermocycler nach einem vorgegebenen Programm inkubiert (Tabelle 9).

Tabelle 9: Programm der Bisulfit-Konvertierung

Schritt	Zeit	Temperatur
Denaturation	5 min	95°C
Inkubation	15 min	60°C
Denaturation	5 min	95°C
Inkubation	15 min	60°C
Lagerung	∞	20°C

Anschließend wird der Inhalt in ein 1,5 ml Eppendorf-Reaktionsgefäß überführt und 310 µl Puffer BL hinzugefügt, gevortext, 250 µl Ethanol (100%) zugegeben, nochmals gevortext und kurz zentrifugiert. Nun wird die Lösung in die spin columns in 2 ml Sammelgefäße übertragen und 60 Sekunden bei 21.100 x g zentrifugiert. Der Durchfluss wird verworfen, 500 µl Puffer BW zugefügt und nochmals unter denselben Bedingungen zentrifugiert, der Durchfluss wird erneut verworfen.

500 µl Puffer DB werden hinzugefügt, es wird 15 min bei Raumtemperatur inkubiert und für 1 Minute bei 21.000 x g zentrifugiert.

Der nächste Schritt wird zweimal wiederholt: Der Durchfluss wird verworfen, 500 µl Puffer BW zugegeben und für eine Minute bei 21.000 x g zentrifugiert.

Vor der nächsten einminütigen Zentrifugation bei 21.100 x g werden 250 µl Ethanol (100%) auf die Säule gegeben. Anschließend werden die spin columns in ein frisches Sammelgefäß übertragen und nochmals zentrifugiert, um eventuelle Flüssigkeitsrückstände zu entfernen.

Im letzten Schritt werden die Säulen in ein 1,5 ml Eppendorf-Reaktionsgefäß platziert und 20 µl Elutionspuffer EB auf die Filtermembran pipettiert. Nach 60 Sekunden Inkubation bei Raumtemperatur folgt eine finale Zentrifugation für eine Minute bei 15.000 x g. Das spin column wird verworfen und die eluierte DNA im Eppendorf-Reaktionsgefäß bei -20°C gelagert.

## 2.6 DNA-Vervielfältigung

Der Methylierungsanalyse geht eine PCR voraus, diese dient der exponentiellen Vervielfältigung spezifischer DNA-Sequenzen.

### 2.6.1 PCR

Zunächst werden die zwei DNA-Stränge voneinander getrennt („denaturation“) um die Bindung spezieller Primer an den gewünschten DNA-Abschnitt zu ermöglichen („annealing“). Der verwendete Reverse-Primer wurde biotinyliert, was für die anschließende Pyrosequenzierung von Bedeutung ist (siehe 2.7 Pyrosequenzierung). Der Abschnitt zwischen den beiden Primern wird anschließend durch eine hitzestabile DNA-Polymerase vervielfältigt („extention“). Diese Vorgänge werden in mehreren Zyklen wiederholt.

Die generelle Zusammensetzung des PCR-Ansatzes findet sich in Tabelle 10, die jeweils verwendeten Programme sowie die verwendeten Primer im Anhang.

Die Ansätze wurden in PCR-Tubes oder –Platten gemischt und im Thermocycler mit dem jeweiligen Programm inkubiert. Bis zur Weiterverarbeitung wird das Produkt bei -20°C aufbewahrt.

Tabelle 10: PCR-Ansatz

Menge	Reagenz
20 ng	DNA
je 0,4 µM	Primer
12,5 µl	PyroMark PCR-MasterMix, 2x (QIAGEN, Hilden) oder GoTaq-MasterMix, 2x (Promega, Fitchburg, WI, USA)
ad 25 µl	RNAse-freies Wasser

### **2.6.2 PCR-Aufreinigung**

Um Rückstände von Enzymen oder Primern aus den PCR-Produkten zu entfernen, wurde das QIAquick® PCR-Purification Kit (QIAGEN, Hilden) verwendet. Hierbei wird durch hohe Salzkonzentration und einem pH-Wert von 7,5 des Puffers PB die Bindung der DNA-Fragmente an eine Silika-Membran bewirkt. Alle anderen Unreinheiten binden nicht und können durch einen Ethanol-haltigen Waschpuffer (EB) entfernt werden.

Dazu wird das fünffache Volumen an Puffer PB dem PCR-Produkt zugegeben und gemixt. Anschließend wird die Mischung in ein QIAquick spin column in einem 2 ml Sammelgefäß überführt und für 60 Sekunden bei 17.900 x g zentrifugiert. Nach Verwerfen des Durchflusses wird dem spin column 750 µl Puffer BE hinzugefügt und für eine Minute zentrifugiert.

Der Durchfluss wird erneut verworfen, eine Zentrifugation zum Entfernen der restlichen Flüssigkeit folgt. Daraufhin wird die Säule in einem 1,5 ml Eppendorf-Reaktionsgefäß platziert. Die in der Filtermembran gebundene DNA wird dann in 30 µl eines Puffers (TE) mit niedriger Salzkonzentration eluiert und in einem 1,5 ml Eppendorf-Reaktionsgefäß bei -20°C gelagert.

### **2.6.3 Gelelektrophorese**

Anhand einer Gelelektrophorese kann man den Erfolg der PCR prüfen. Bei der Gelelektrophorese werden DNA-Fragmente ihrer Größe nach aufgetrennt. Hierbei nutzt man die physikalische Begebenheit aus, dass negative Ladungen im elektrischen Feld zum positiven Pol wandern. Die im neutralen bis alkalischen pH-Bereich negativ geladenen DNA-Fragmente wandern folglich durch Anlegen einer Spannung zur positiven Anode. Abhängig von ihrer Größe und Konformation geschieht dies mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten, kürzere Fragmente durchlaufen die vernetzte Agarose-Matrix schneller.

Ein zweiprozentiges Agarosegel dient als Trägermedium; hierfür werden 2 g Agarose in 100 ml Trisborat-EDTA Puffer (TBE, Tabelle 11) aufgekocht und gelöst. 40 ml der Lösung werden mit 1 µl SYBR®Safe DNA Gel Stain, einem

Cyanfarbstoff zur Markierung der DNA, versetzt und zum Gießen des Gels verwendet.

Tabelle 11: Zusammensetzung TBE (1x)

Substrat	
90 mM	Tris
90 mM	Borsäure
2 mM	EDTA

Sobald das Gel ausgehärtet ist werden die einzelnen Taschen befüllt. 1  $\mu$ l Blue/Orange 6x Loading Dye werden mit 5  $\mu$ l des PCR-Produktes vermischt und anschließend 5  $\mu$ l des Gemischs in jede Tasche pipettiert. Für die Referenz werden 5  $\mu$ l 100 bp DNA-Ladder anstelle des PCR-Produktes verwendet. Der glycerinhaltige Loading Dye sorgt dafür, dass die DNA entgegen der eigentlichen Dichteverhältnisse am Boden der Geltasche verbleibt, bis die Spannung angelegt wird.

Für 45 bis 50 Minuten wird nun über eine Stromquelle eine Spannung von 100 V angelegt. Danach wird das Gel entnommen und kann nun unter UV-Licht mit der Geldokumentation analysiert werden (Abbildung 5).

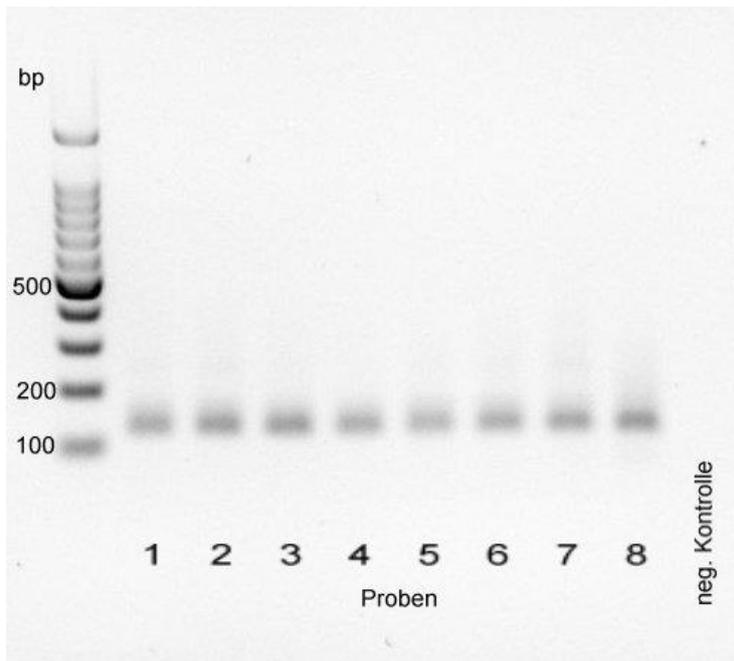


Abbildung 5: Gelelektrophorese der PCR für MCF2 mit acht Proben und einer Negativkontrolle. Als Referenz dient eine 100 bp DNA-Ladder.

## 2.7 Pyrosequenzierung

Die Pyrosequenzierung stellt die eigentliche Analyse des Methylierungsstatus dar. Verwendet wurde der Pyrosequenzierer PyroMark Q24 und die Pyromark GoldReagents von QIAGEN, Hilden.

Mit der Pyrosequenzierung können bekannte DNA-Sequenzen auf Mutationen oder den Status der Methylierung untersucht werden. Die Sequenzierung basiert auf verschiedenen enzymatischen Reaktionen, die in einer Lichtreaktion enden.

Zunächst wird das PCR-Produkt an Sepharose-Beads gebunden. Diese Bindung ist durch eine Biotinylierung des bei der PCR verwendeten Reverse-Primers möglich. Zu diesem Zweck werden in PCR-Tubes zu 10 µl des PCR-Produktes 1 µl der Beads, 29 µl Wasser und 40 µl des Binding Puffers von QIAGEN gegeben und für 10 min im Schüttler bei 1.410 rpm vermengt. Nach Denaturierung an der PyroMark-work station kann an diesen DNA-Einzelstrang nun der Sequenzierungs-Primer binden.

Durch den Vakuum-Kamm der Station werden die Beads an Filterproben gebunden, es folgt eine Inkubation für fünf Sekunden in Ethanol (70%), fünf Sekunden im Denaturierungs-Puffer und zehn Sekunden im Wasch-Puffer. Durch Abschalten des angelegten Vakuums können die Beads nun in ein Well der Pyromark Platte, die vorher mit 24 µl des Annealing-Puffers und 1 µl Sequenzierungs-Primers befüllt wurde, abgeschüttelt werden.

Nach zwei Minuten auf dem Heizblock bei 80°C werden die Proben für 15 Minuten abgekühlt, dieser Schritt dient dem Annealing, also dem Anlagern des Sequencing-Primers. Anschließend werden die Proben in den PyroMark Q24 Sequencer eingesetzt. Das im Vorfeld designte Programm mit den entsprechenden Assays zu den jeweiligen Genabschnitten wird gestartet. Im Assay muss die zu analysierende Sequenz nach der Bisulfit-Konvertierung angegeben werden und die Art des Assays (in diesem Fall ein CpG-Assay zur Berechnung des Methylierungsstatus), das Gerät erstellt dann eine passende Dispensations-Reihenfolge für die einzelnen Nukleotide (siehe Anhang).

Im Verlauf der Analyse wird eine DNA-Polymerase, ATP-Sulfurylase, Apyrase und Luziferase, sowie Adenosin-5-Phosphat (APS) und Luziferin hinzugefügt.

Der Dispensierungs-Reihenfolge entsprechend wird nun eine der vier Desoxynukleosidtriphosphaten (dNTP) zugegeben. Handelt es sich um die zum Matrizenstrang komplementäre Base, katalysiert die DNA-Polymerase die Anknüpfung an den Sequenzierungs-Primer. Hierbei wird Pyrophosphat (PP<sub>i</sub>) freigesetzt. Dieses PP<sub>i</sub> wird nun von der ATP-Sulfurylase in der Anwesenheit von APS zu Adenosintriphosphat (ATP) umgewandelt. Durch die von ATP bereitgestellte Energie wird nun die von der Luziferase katalysierte Reaktion, bei der Luziferin in Oxyluziferin umgesetzt wird, möglich. Bei dieser Reaktion entsteht sichtbares Licht. Die Intensität des entstandenen Lichts ist proportional zur Menge an ATP und somit zur Menge der eingebauten dNTPs.

Dieses Licht wird von „charge-coupled device“-Sensoren (CCD-Sensoren) des Pyromark Q24 registriert. Auf die Elektronen im Material dieser Sensoren wird bei Lichteinfall so viel Energie übertragen, dass freie negativ-geladene

Elektronen und entsprechende positiv-geladene „Löcher“ im Material entstehen. Die so entstandenen Ladungen werden im CCD-Sensor gespeichert und die Ladungsmenge entspricht dabei der einfallenden Lichtmenge. Der Pyrosequenzierer liest nun die Ladungsmenge pro Dispensation aus und wandelt diese in einen der Lichtintensität entsprechenden Peak um, der folglich Rückschlüsse auf die Anzahl der eingebauten Nukleotide zulässt.

Bei der Pyrosequenzierung handelt es sich um ein konsumierendes Prinzip: Nach jeder Reaktion baut die Apyrase nicht-eingebaute dNTPs und überschüssiges ATP ab. Eine andere Art dNTPs kann im nächsten Schritt zugegeben werden und der Reaktionszyklus beginnt von neuem. Handelt es sich nicht um eine komplementäre Base, bleibt die Lichtreaktion und somit der Peak aus.

Den Grad der Methylierung kann der Pyromark Q24 dank der Bisulfit-Konvertierung bestimmen. Befand sich in der ursprünglichen Sequenz ein unmethyliertes Cytosin, wurde dieses zu Uracil modifiziert. In der anschließenden PCR ist das komplementäre Adenosin zu finden. Die DNA-Polymerase des Pyrosequenzierers katalysiert nun den Einbau des zu Adenosin komplementären Thymins. Ein methyliertes Cytosin an dieser Stelle hätte im Sequenzierungsvorgang wiederum den Einbau eines Cytosins zur Folge. Aus dem Verhältnis dieser beiden Nukleotide in den CpG-Islands berechnet die PyroMark-Software nun die prozentuale Methylierung.

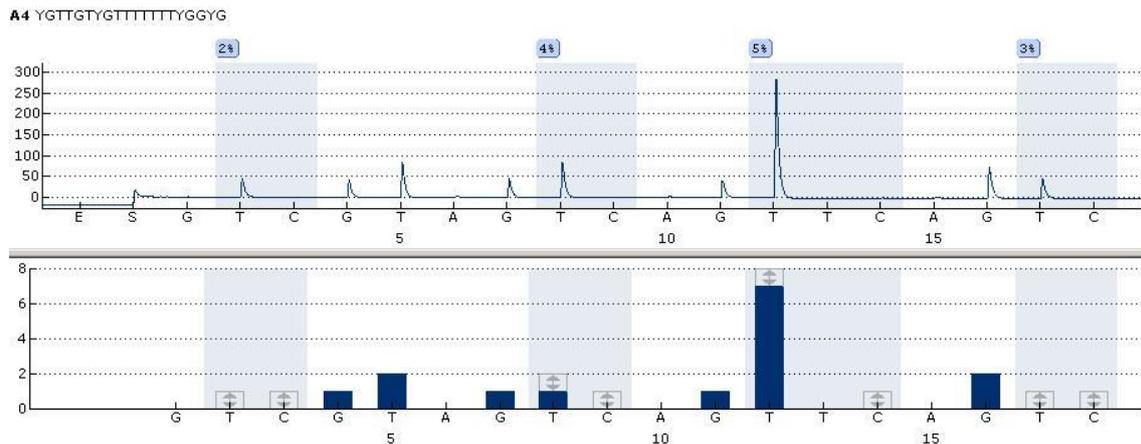


Abbildung 6: Pyrosequenzierungs-Ergebnis einer Patientenprobe für BDNF4. Die obere Grafik zeigt das berechnete Pyrogramm, darunter findet sich die Dispensationsreihenfolge mit den erwarteten Peaks.

Die Analysen wurden mehrfach für jede Probe durchgeführt und nur dann verwendet wenn der Unterschied für die jeweilige CpG-Site unter drei Prozent lag. Das genaue Vorgehen wird gemeinsam mit den Ergebnissen der Analyse unter „3.2 Methylierung in BPS-Risikogenen“ vorgestellt.

Die verwendeten Primer und Assays sind dem Anhang (2 CpG-Assays) zu entnehmen.

## 2.8 Statistik

Die statistische Auswertung der Ergebnisse (Fragebögen, sowie Sequenzierung) wurde mit SPSS® Statistics Version 21 (IBM, NY, USA) erstellt.

Die Daten wurden anhand des Shapiro-Wilk-Tests und einem Histogramm auf Normalverteilung geprüft. Für  $t > 0,05$  wurde eine normalverteilte Stichprobe angenommen und es wurde mit dem zweiseitigen T-Test weiterverfahren. Im gegenteiligen Fall wurden nicht-parametrische Verfahren angewendet: für unabhängige Variablen der Mann-Whitney U-Test, für abhängige Variablen der Wilcoxon-Test.

Als Signifikanzniveau wurde für alle Verfahren  $\alpha \leq 0,05$  festgesetzt.

### 3 Ergebnisse

Die Ergebnisse der Fragebögen, sowie der Pyrosequenzierung wurden ausgewertet und unter Verwendung von SPSS analysiert (siehe 2.8 Statistik). Diese Analysen wurden mit der Absicht durchgeführt, mögliche Unterschiede oder Zusammenhänge aufzudecken: Sowohl zwischen Kontrollen und Patienten, als auch zwischen den Geschlechtern. Eventuelle Änderungen durch die DBT wurden berücksichtigt, sowie der Zusammenhang zwischen der Methylierung und den Ergebnissen der Fragebögen.

Hierfür wurden die Patienten zusätzlich anhand der Fragebögen in responder und non-responder eingeteilt. In der Literatur zur BPS wurden solche Einteilungen bisher anhand verschiedener Fragebögen zu Depressivität, Impulsivität oder Hoffnungslosigkeit (Beck Depression Inventory und Barrat Impulsiveness Scale) [36] vorgenommen, sowie anhand des GSI-Wertes des ebenfalls in dieser Studie verwendeten SCL-90 [18, 19]. Auch die Minderung des SSV gilt als Therapieerfolg. Daten zum SSV wurden allerdings nicht erhoben. Die Einteilung in dieser Studie erfolgte deshalb anhand des GSI und der BSL23. So soll eine spezifische Einteilung für die Borderline-Persönlichkeitsstörung erreicht werden.

Als responder gelten jene Patienten, für die eine Verbesserung der seelischen Belastung nach der Therapie erkennbar ist. Definiert wurden sie als diejenigen, deren T-Wert für den GSI des SCL90 R um mindestens 5 Punkte gefallen ist und die zusätzlich nach der Therapie einen Wert unter 2,05 in der BSL 23 erreichten. Als Referenz für diese Einteilung diente der von Bohus et. al in mehreren Kohorten beobachtete BSL23-Durchschnittswert für Patienten mit BPS [60]. So ergab sich eine responder-Gruppe von 7 Patienten, davon 1 männlicher Teilnehmer.

Da der Großteil der von BPS Betroffenen weiblich ist, wurden die statistischen Analysen zusätzlich unter Exklusion der männlichen Proben durchgeführt. Auch zwischen den Geschlechtern wurden vergleichende Analysen durchgeführt.

Diese Ergebnisse werden im Folgenden nur erwähnt falls sich ein signifikanter Unterschied ergab.

## **3.1 Fragebögen und Therapieverläufe**

Wie bereits im Abschnitt „2.3 Fragebögen“ beschrieben, wurden allen Teilnehmern verschiedene psychometrische Skalen zur Bearbeitung vorgelegt. Im Folgenden sollen deren Ergebnisse vorgestellt werden. Zum einen dienen die vorgenommenen Analysen zum Nachweis, dass die Kontrollgruppe eindeutig frei von psychischen Störungen oder Vorerkrankungen ist und zum anderen, inwiefern die Effekte der DBT auf psychologischer Basis erkennbar sind.

### **3.1.1 Vergleich zwischen Patienten und Kontrollen**

#### **3.1.1.1 Koffein, Nikotin, Alkohol und Medikation**

Unter anderem wurden den Teilnehmern Fragen zu ihrem Lebensstil gestellt: Nikotin-, Koffein-, Alkohol- und Medikamentenkonsum wurden abgefragt. In Bezug auf die Medikation wurden nur neuroaktive Substanzen wie Antidepressiva oder Antipsychotika in die Auswertung mit einbezogen, da diese im Verdacht stehen einen Einfluss auf die epigenetische Regulation zu haben.

Das Matching konnte nur im Hinblick auf den Kaffeekonsum ohne signifikante Unterschiede ausgeführt werden (Mann-Whitney U:  $Z=-1,8$ ;  $p=0,71$ ). Nikotin und Alkohol wurden innerhalb der Patientengruppe signifikant öfter konsumiert (Mann-Whitney U: Nikotin -  $Z= -4,9$ ;  $p=7,6E-007$  / Alkohol -  $Z= -4,5$ ;  $p=8,4E-006$ ).

Innerhalb der Kontrollgruppe wurden keine wie oben definierten Medikamente eingenommen.

Um das Ausmaß des Nikotin- und Alkoholkonsums einzuordnen wurden die Scores des AUDIT und FTND verglichen. Durchschnittlich erreichten die Patienten im AUDIT 8,8 Punkte, die Kontrollen jedoch nur 4,5 Punkte – der Alkoholkonsum ist somit bei den Patienten signifikant stärker ausgeprägt (Mann-Whitney U:  $Z= -3,5$ ;  $p=0,001$ ). Die Patienten liegen durchschnittlich

bereits über dem cut-off für gefährliches Trinkverhalten, der für den AUDIT-Test bei 8 Punkten angesetzt ist [77]. In der Gruppe der Risikopatienten waren signifikant mehr Therapie-Abbrecher als unter denjenigen, die weniger als 8 Punkte erreichten (Mann-Whitney U:  $Z=-2,7$ ;  $t=0,006$ ).

Im Fagerstrøm-Test zeigten sich ebenfalls höhere Werte im Patientenkollektiv (durchschnittlich 3,95) als für die Kontrollgruppe (0,83). Statistisch signifikant ist dieser Unterschied jedoch nicht (Mann-Whitney U:  $Z=-1,750$ ;  $p=0,097$ ).

### **3.1.1.2 Psychometrische Skalen**

Für die SCL90-R wurden nur die Ergebnisse für den GSI betrachtet, also die generelle psychische Belastung. Dieser Wert verschafft einen sehr guten Überblick über die psychische Verfassung und die Stärke der Belastung, die eine Person dadurch empfindet.

Es konnte sowohl für die Rohwerte, als auch für die standardisierten T-Werte ein deutlicher Unterschied nachgewiesen werden. Die Patienten gaben extrem hohe Belastungen an (Durchschnittswert 2,1 bzw. 79), wohingegen die Kontrollen kaum Probleme angaben (Durchschnittswert 0,27 bzw. 44,73) und deutlich unter der Grenze zur starken Belastung (T-Score > 60) lagen [57] (Abbildung 7).

### Ranks

	patient	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SCL90	patient	41	65,00	2665,00
	control	44	22,50	990,00
	Total	85		
SCL90_T	patient	41	65,00	2665,00
	control	44	22,50	990,00
	Total	85		

### Test Statistics<sup>a</sup>

	SCL90	SCL90_T
Mann-Whitney U	,000	,000
Wilcoxon W	990,000	990,000
Z	-7,934	-8,228
Asymp. Sig. (2-tailed)	2,129E-015	1,904E-016

a. Grouping Variable: patient

Abbildung 7: Ergebnisse der statistischen Analyse für den SCL90-R. Die Rohwerte sind mit „SCL90“ bezeichnet, die standardisierten T-Werte mit „SCL90\_T“

Die im BSL23 abgefragte Schwere der Borderline-Persönlichkeitsstörung lag für die Patienten durchschnittlich bei 2,42, somit über dem von Bohus beobachteten Durchschnittswert von 2,05 [60]. Für die Kontrollprobanden liegt mit einem durchschnittlichen Wert von 0,22 ein statistisch signifikant niedriger Wert vor (Mann-Whitney U:  $Z=-7,8$ ;  $p=5,1E-015$ ).

Dissoziative Symptome sind häufige Vorkommnisse bei Borderline-Betroffenen. Der zu Ihrer Erfassung durchgeführte FDS20 zeigte für die Patienten mit einem Wert von 31% gegenüber den Kontrollen mit einem Wert von 3% signifikant höhere Ergebnisse (Mann-Whitney U:  $Z=-7,6$ ;  $p=4,3E-014$ ).

Ein weiterer bereits beschriebener Test der durchgeführt wurde, ist der KIMS D zur Erfassung der Achtsamkeitsfähigkeiten. Ein zentraler Punkt der DBT ist die Verbesserung dieser Fähigkeiten. Die Befragungen im Rahmen dieser Studie zeigten, dass Patienten signifikant niedrigere Werte im KIMS erreichten: rund 94 Punkte im Vergleich zu 137 unter den Kontrollen (independent samples t-test:  $t=-10,7$ ;  $p=2,2E-017$ ).

Die Erfassung zweier unterschiedlicher Emotionsregulationssysteme anhand des ARES K, zeigte, dass die Patienten signifikant höhere Werte im BIS (Ängstlichkeit/Frustration) und niedrigere Werte im BAS (Freude/Antrieb) aufwiesen, als die entsprechenden Kontrollen. Die Patienten erreichten 3,41 im BIS und 2,68 Punkte im BAS, die Kontrollen hingegen 2,32 im BIS und 2,5 im BAS. Beide Unterschiede sind statistisch signifikant (Mann-Whitney U: BIS:  $Z=-6,5$ ;  $p=6,5E-011$  / BAS:  $Z=-6,5$ ;  $p=7,2E-011$ ).

Im MWT B wird das allgemeine Intelligenzniveau erfragt, vornehmlich mit der Intention herauszufinden wie zuverlässig die Selbsteinschätzungen des Probanden oder Patienten sind. Unter einem IQ-Wert von 80 ist nicht gewährleistet, dass eine Person zu einer validen Selbsteinschätzung fähig ist [76]. Sowohl Kontrollen, als auch Patienten überschritten dieses Niveau, durchschnittlich lag der IQ bei 105 für die Patienten und 114 für die Kontrollgruppe. Nach dem t-Test für unabhängige Variablen ist dieser Unterschied signifikant ( $t=-3,2$ ;  $p=0,002$ ).

Um einen Überblick über eventuelle Traumatisierungen in der Kindheit zu erhalten wurde der CTQ eingesetzt. Abgefragt werden emotionaler Missbrauch, körperlicher Missbrauch, sexueller Missbrauch, emotionale Vernachlässigung und körperliche Vernachlässigung. In allen Kategorien waren Patienten signifikant stärker betroffen (Tabelle 12).

Tabelle 12: Statistische Ergebnisse für den CTQ. Alle Ergebnisse wurden mittels einem „Mann-Whitney U-Test“ ermittelt.

	Durschnitt Patienten	Durchschnitt Kontrollen	Statistik
<b>Emotionaler Missbrauch</b>	2,27*	0,5	Z=-6,3; p=2,4E-010
<b>Körperlicher Missbrauch</b>	1,38	0,14	Z=-5,0; p=5,5E-007
<b>Sexueller Missbrauch</b>	1,46	0,09	Z=-5,5; p=2,9E-008
<b>Emotionale Vernachlässigung</b>	1,93	0,39	Z=-5,6; p=2,2E-008
<b>Körperliche Vernachlässigung</b>	1,44	0,2	Z=-5,2; p=1,7E-007

\*Ab einem Wert von 2 wurde eine schwere Traumatisierung mit Einfluss auf die psychische Verfassung angenommen.

Für den körperlichen Missbrauch konnte ein signifikanter Unterschied zwischen männlichen und weiblichen Teilnehmern festgestellt werden. Sowohl die männlichen Patienten, also auch die männlichen Kontrollen erreichten höhere Werte als die weiblichen Teilnehmer (Tabelle 13). Signifikant waren diese Unterschiede jedoch nur für die Gesamtzahl der Teilnehmer und innerhalb der Patientengruppe. Innerhalb des Kontrollkollektivs konnte keine Signifikanz nachgewiesen werden.

Tabelle 13: Ergebnisse für körperlichen Missbrauch der männlichen Teilnehmer. Alle Ergebnisse wurden mittels einem „Mann-Whitney U-Test“ ermittelt.

	Durchschnitt Männlich	Durchschnitt Weiblich	Statistik
<b>Gesamte Gruppe</b>	1,36	0,63	Z=-2,3; p=0,024
<b>Patienten</b>	2,29*	1,2	Z=-2,1; p=0,049
<b>Kontrollen</b>	0,4	0,08	Z=-2,3; p=0,706

\*Ab einem Wert von 2 wurde eine schwere Traumatisierung mit Einfluss auf die psychische Verfassung angenommen.

Der CTQ war darüber hinaus der einzige Test für den ein Zusammenhang mit einem Therapieabbruch nachgewiesen werden konnte. In der Skala der emotionalen Vernachlässigung hatten diejenigen, die die Therapie abbrachen, niedrigere Wert als jene, die die DBT abschlossen. Für den Unterschied zwischen den Scores von 1,41 zu 2,29 im Durchschnitt ergab sich im Mann-Whitney u-Test eine statistische Signifikanz ( $U=-2,3$ ;  $p=0,023$ ).

Das BFI10 erfasst die fünf großen Persönlichkeits-Dimensionen Neurotizismus, Extraversion, Offenheit, Gewissenhaftigkeit und Verträglichkeit. Signifikante Unterschiede traten nur für Neurotizismus, Extraversion und Verträglichkeit auf (Tabelle 14 ).

Tabelle 14: Statistische Ergebnisse für das BFI10. Alle Ergebnisse wurden mittels einem „Mann-Whitney U-Test“ ermittelt, die Ergebnisse für die Subskala Gewissenhaftigkeit mit einem „independent samples t-test“.

	Neurotizis- mus	Extraversion	Offenheit	Gewissen- haftigkeit	Verträglich- keit
<b>Durchschnitt Patienten</b>	4,31	2,59	3,67	3,01	3,27
<b>Durchschnitt Kontrollen</b>	3,05	4,48	3,97	3,48	3,92
<b>Statistik</b>	Z=-5,4; p=6,8E-008	Z=-3,6; p=3,0E-004	Z=-1,1; p=0,282	t=-1,9; p=0,66	Z=-3,8; p=1,7E-004

### 3.1.2 Therapieverläufe

Einige Tests wurden den Patienten zu Beginn und nach Abschluss der Therapie vorgelegt. In diesem Abschnitt werden die Veränderungen der Ergebnisse durch die Therapie untersucht.

Der erste Test, der zweimalig durchgeführt wurde, war der SCL90. Sowohl für die Rohwerte als auch die standardisierten T-Werte konnte eine eindeutige Änderung festgestellt werden. Die Höhe der Belastung ging von 2,01 auf 1,45 bzw. von 79 auf 73 Punkte zurück (Rohwerte: paired samples t-test;  $t=5,3$ ,  $p=2,0E-005$  / T-Werte: Wilcoxon;  $U=-2,7$ ;  $p=0,008$ ).

Die Werte zur Schwere der Borderline-Persönlichkeitsstörung gingen von durchschnittlich 2,27 auf 1,87 zurück. Dieser Wert liegt nach der Therapie unter dem Durchschnitt für die BPS. Die Ergebnisse für den BSL23 sind statistisch signifikant (paired samples t-test:  $t=2,5$ ;  $p=0,02$ ).

Zwischen den Geschlechtern fand sich zum Messzeitpunkt 1 ein Ungleichgewicht, die weiblichen Patienten hatten deutlich höhere Scores als die männlichen Teilnehmer der DBT. Es ergab sich zwischen 2,45 im Durchschnitt der Frauen zu 1,37 im Durchschnitt der Männer ein signifikanter Unterschied (Mann-Whitney U:  $U=-2,366$ ;  $p=0,013$ ). Für den Messzeitpunkt 2 fand sich keine Differenz mehr (Mann-Whitney U:  $U=-0,505$ ;  $p=0,627$ ).

Die Stärke und Häufigkeit der dissoziativen Symptome, mit dem FDS20 abgefragt, blieb konsistent nach der DBT. Der Wert sank von rund 31% auf durchschnittlich 25%, statistisch gesehen ist diese Änderung jedoch nicht signifikant (paired samples t-test:  $t=1,9$ ;  $p=0,067$ ).

Betrachtet man allerdings nur die weiblichen Patienten ergibt sich eine signifikante Erniedrigung der Werte von 32% auf 24% (paired samples t-test:  $t=2,4$ ;  $p=0,026$ ).

Die Auswirkungen der Achtsamkeitsübungen als zentraler Punkt in der DBT können anhand des KIMS D abgefragt werden. Unter den Patienten zeigte sich eine statistisch relevante Erhöhung der Scores in diesem Test. Der Durchschnittswert stieg von 90 auf 112 Punkte (paired samples t-test:  $t=-5,5$ ;  $p=1,4E-005$ ).

Geschlechterunterschiede ergaben sich für Messzeitpunkt 1: Männer zeigten deutlich höhere Werte als Frauen, sie lagen mit durchschnittlich 106 erreichten Punkten weit vor den Frauen mit 88 Punkten (Mann-Whitney U:  $U=-2,0$ ;  $p=0,045$ ). Für Zeitpunkt 2 ist kein Unterschied mehr erkennbar (Mann-Whitney U:  $U=0,4$ ;  $p=0,404$ ).

Der letzte Test, der zu beiden Messungen bearbeitet wurde, ist der ARES K. Er erfasst zwei Emotionsregulations-Systeme die als Antagonisten interagieren.

Zum einen das BIS, das Ängstlichkeit und Frustration erfasst, zum anderen das BAS, das Freude und Antrieb abfragt. Für keines der beiden Systeme findet sich eine statistisch relevante Änderung (Tabelle 15).

Tabelle 15: Statistische Ergebnisse für ARES K – Vergleich der Messzeitpunkte. Alle Ergebnisse wurden mittels einem „Wilcoxon-Test“ ermittelt.

	<b>BIS</b>	<b>BAS</b>
<b>Durchschnitt T1</b>	3,49	2,63
<b>Durchschnitt T2</b>	3,25	2,73
<b>Statistik</b>	U=-1,7; p=0,089	U=-0,9; p=0,383

Zwischen den Geschlechtern findet sich lediglich in der zweiten Messung der BAS-Sensibilität ein Unterschied. Frauen erreichen Werte von 2,83, Männer nur von 2,25 (Tabelle 16).

Tabelle 16: Statistische Ergebnisse des Geschlechtervergleichs für ARES K zu beiden Messzeitpunkten. Alle Ergebnisse wurden mittels einem „Mann-Whitney U-Test“ ermittelt.

	<b>BIS</b>	<b>BAS</b>
<b>Messzeitpunkt 1</b>	U=-1,3; p=0,210	U=-0,7; p=0,525
<b>Messzeitpunkt 2</b>	U=-0,3; p=0,794	U=-2,3; p=0,023

### 3.2 Methylierung in BPS-Risikogenen

Nach der DNA-Extraktion, der Bisulfit-Konvertierung und anschließender Vervielfältigung des gewünschten DNA-Abschnitts, folgte eine Methylierungsanalyse mittels Pyrosequenzierung.

Diese Analyse wurde für jede Probe mehrmals durchgeführt, um den tatsächlichen Methylierungsstatus möglichst genau zu erfassen und Platten-Effekte auszuschließen. Zu diesem Zweck wurden Proben von Patienten und Kontrollen gemischt auf einer Platte untersucht.

Unterschieden sich zwei Läufe um weniger als 3% in den jeweiligen CpG-Sites wurde keine weitere Analyse durchgeführt.

Zusätzlich zu den Patienten- und Probandenproben wurden standardisierte Proben mit 0%, 25%, 50%, 75% und 100% analysiert um die Linearität der Analysen zu bestätigen. Für *MCF2* konnte diese bestätigt werden, für *APBA3* und *BDNF4* war eine Analyse der Kontroll-DNA nicht möglich, da kein PCR-Produkt herstellbar war, das den Anforderungen für die Pyrosequenzierung entsprach. Weder Veränderungen der PCR-Zusammensetzung, noch des Programms resultierten in einem passenden Produkt.

Sowohl die Ergebnisse der Patienten- und Kontrollproben, sowie der beiden Messzeitpunkte, als auch die psychologischen Parameter wurden in die Auswertung der Ergebnisse mit einbezogen und auf signifikante Unterschiede bzw. Zusammenhänge untersucht. Die Einteilung in responder und non-responder wurde zusätzlich berücksichtigt.

Eine Korrelation der psychometrischen Skalen mit der Methylierung der getesteten Gene, ebenso wie Geschlechterunterschiede wurden lediglich für statistisch signifikante Ergebnisse genauer aufgeführt.

### 3.2.1 APBA3

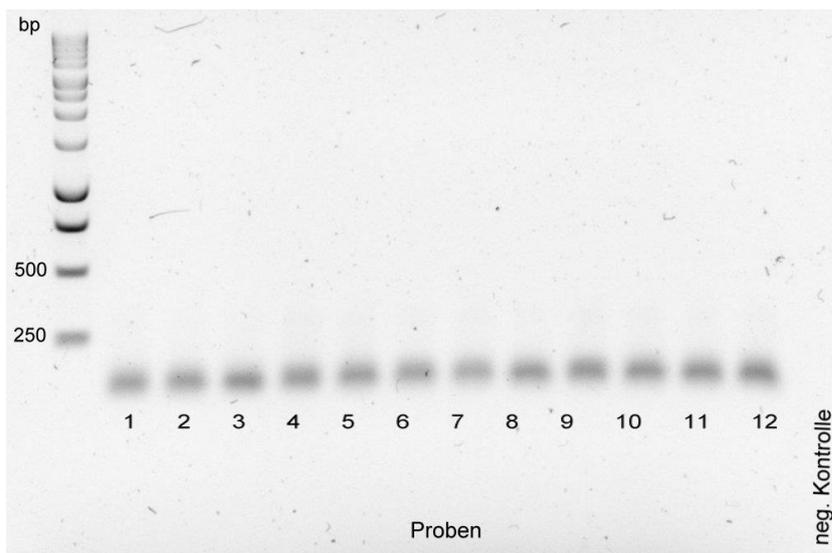


Abbildung 8: PCR von 12 Proben und einer Negativkontrolle für *APBA3*. Als Größenvergleich dient eine 1 kbp DNA-Ladder. Das Produkt ist 105 bp lang.

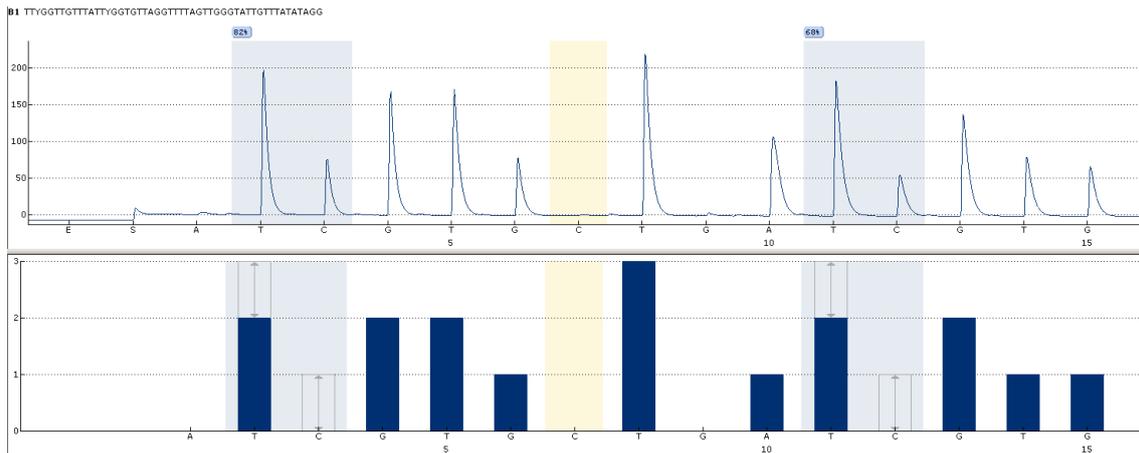


Abbildung 9: Pyrosequenzierung einer Patientenprobe für *APBA3*

In der Promotorregion von *APBA3* wurden zwei CpG-Sites untersucht. Die Ergebnisse einer exemplarischen PCR finden sich in Abbildung 8, eine Sequenzierungsanalyse in Abbildung 9.

Die durchschnittliche Methylierung der Patienten betrug für die erste Site 83,7%, für die Zweite 75,2% und im Schnitt somit 79,5%. In den Proben der Kontrollgruppe fanden sich Werte von 82,7%, 74,5% und als Gesamtwert 78,6%. Die statistische Analyse mit dem independent samples t-test zeigte keine Signifikanz (Site1:  $t=1,0$ ;  $p=0,323$  / Site 2:  $t=0,6$ ;  $p=0,529$  / Durchschnitt:  $t=0,8$ ;  $p=0,41$ ). Ein Vergleich beider Messzeitpunkte in der Patientengruppe zeigte, dass sich die durchschnittliche Methylierung nicht verändert hat (paired samples t-test: Site1 mit  $t=0,7$  und  $p=0,489$ ; Site 2 mit  $t=0,3$  und  $p=0,760$ ; Gesamtwert mit  $t=0,5$  und  $p=0,624$ ).

Einige Patienten wurden zusätzlich mit Antidepressiva oder Antipsychotika behandelt. Ein Vergleich der Patienten mit Medikation mit denjenigen, die nur psychotherapeutisch betreut wurden, ergab für alle Sites zum zweiten Messzeitpunkt signifikante Unterschiede. Eine Behandlung mit psychoaktiven Medikamenten hatte jedoch keinen Einfluss auf die Veränderung durch die DBT (Tabelle 17).

Tabelle 17: Statistische Analyse für den Einfluss der Medikation in der Patientengruppe. Alle Ergebnisse wurden mittels einem „independent samples t-test“ ermittelt, der Vergleich der beiden Zeitpunkte T1 und T2 wurde mit Hilfe des „paired samples t-test“ durchgeführt.

	Site1	Site2	Durchschnitt
<b>T1</b>	t=1,700; p=0,103	t=0,730; p=0,473	t=1,235; p=0,230
<b>T2</b>	t=2,532; p=0,019	t=5,997; p=5,789E-006	t=2,07; p=0,038
<b>Vergleich T1 – T2</b>	t=0,880; p=0,389	t=0,594; p=0,559	t=0,742; p=0,466

Die Gruppe der Patienten wurde nach bereits beschriebenen Kriterien in responder und non-responder eingeteilt. Ein Vergleich der Methylierungsmuster macht deutlich, dass die Patienten, die auf die Therapie ansprachen zum Teil differentiell methylierte Werte aufwiesen. Für den ersten Messzeitpunkt ergaben sich für Site 2 und im Gesamtdurchschnitt deutlich höhere Werte (Tabelle 18, Abbildung 10). Für die Messungen am Ende der DBT war kein Unterschied nachweisbar.

Tabelle 18: Statistische Ergebnisse für APBA3: Vergleich zwischen respondern und non-respondern (Site 2 und Durchschnitt). Alle Ergebnisse wurden mittels einem „independent samples t-test“ ermittelt.

	Site2	Durchschnitt
<b>responder</b>	78,2 %	81,5%
<b>Non-responder</b>	72,9%	77,7%
<b>Statistik</b>	t=-2,9; p=0,009	t=-2,1; p=0,044

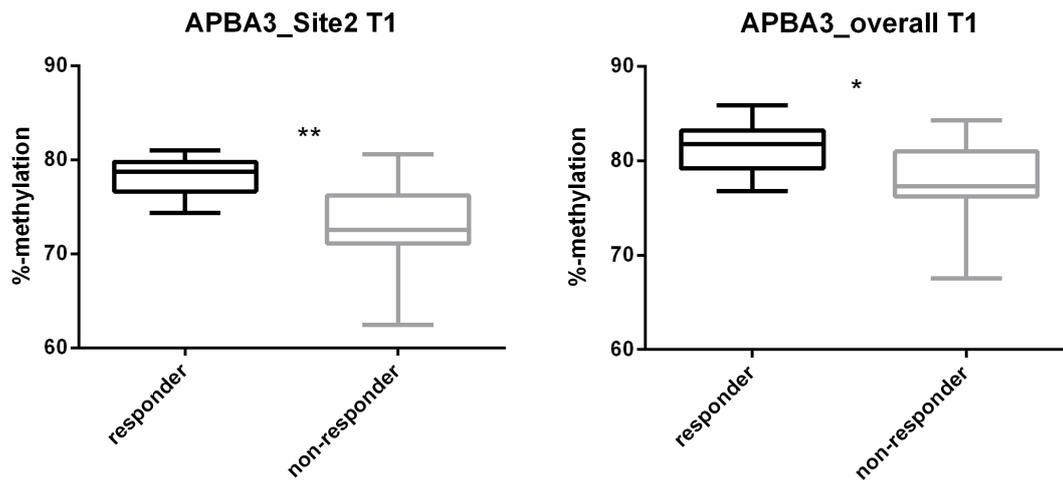


Abbildung 10: Boxplot zum Vergleich von non-respondern und respondern für *APBA3*. Signifikanzniveaus wurden mit \* ( $p \leq 0,05$ ) bzw. \*\* ( $p \leq 0,01$ ) gekennzeichnet.

Ein Geschlechtsunterschied innerhalb der Personen, die auf die Therapie ansprachen konnte nicht nachgewiesen werden. Eine laut dem CTQ vorliegende Traumatisierung, also für einen Wert von 2 oder größer in einer der Skalen, hatte ebenfalls keinen nachweisbaren Einfluss auf die Methylierung.

### 3.2.2 MCF2

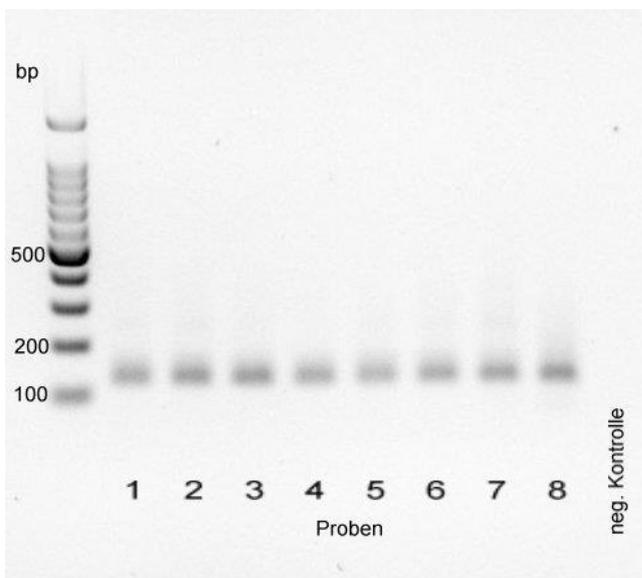


Abbildung 11: PCR von 8 Patientenproben und einer Negativkontrolle für *MCF2*. Als Referenz dient eine 100 bp DNA-Ladder. Das Produkt ist ca. 130 bp lang.

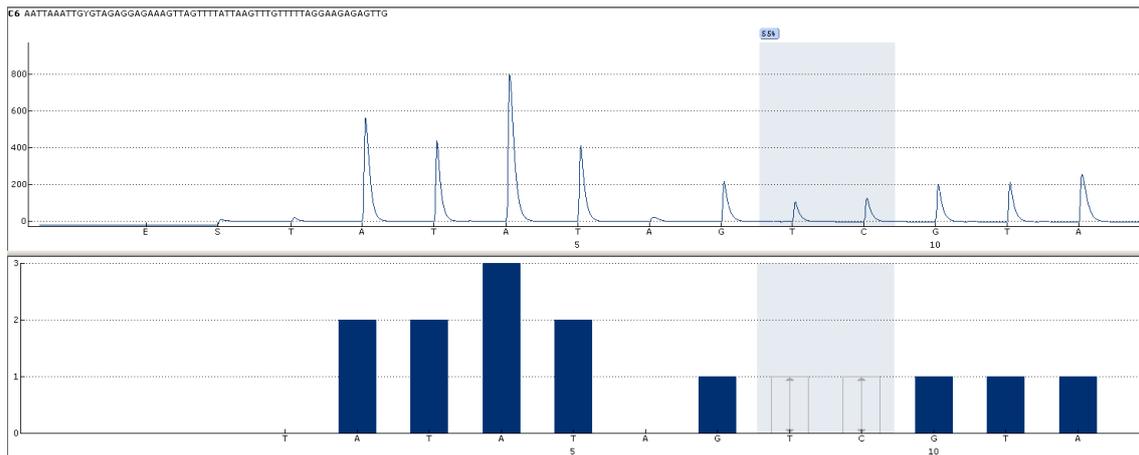


Abbildung 12: Pyrosequenzierung einer Patientenprobe für *MCF2*

Für die CpG-Site in der Promotorregion von *MCF2* konnte eine durchschnittliche Methylierung von 47% für die Patientengruppe und 50% für die Kontrollgruppe nachgewiesen werden – statistisch signifikant ist dieser Unterschied jedoch nicht (Mann-Whitney U-Test mit  $Z = -1,0$  und  $p=0,321$ ). In Abbildung 11 ist eine PCR für die Genstelle dargestellt. Das entsprechende Pyrogramm findet sich in Abbildung 12.

Der Vergleich der beiden Messzeitpunkte für Patienten zeigte, dass sich der Grad der Methylierung im Durchschnitt nicht verändert hat (paired samples t-Test mit  $t = -0,010$  und  $p=0,992$ ).

Innerhalb der Patientengruppe zeigte die Medikation mit Antidepressiva oder Antipsychotika keinen Einfluss (independent samples t-test mit  $t=0,357$  und  $p=0,723$ ). Auch auf den Effekt der DBT hat eine psychoaktive Medikation keinen Einfluss (paired samples t-test mit  $t=0,340$  und  $p=0,737$ ).

Ein Zusammenhang zwischen den Ergebnissen der Fragebögen und der Methylierung ergab sich lediglich für den GSI. Zwischen dem Methylierungsstatus für *MCF2* der Patienten vor der Therapie (MCF\_M1) und ihrer psychischen Gesamtbelastung (standardisierter GSI des SCL90-R, SCL90T\_2) nach der DBT ergab sich eine statistisch signifikante Verbindung. Die beiden Werte sind negativ miteinander korreliert: war die prozentuale Methylierung von *MCF2* vor der Therapie höher, gaben die Patienten nach der Therapie eine niedrigere Belastung an (Abbildung 13).

### Correlations

		MCF_M1	SCL90T_2
MCF_M1	Pearson Correlation	1	-,426*
	Sig. (2-tailed)		,038
	N	24	24
SCL90T_2	Pearson Correlation	-,426*	1
	Sig. (2-tailed)	,038	
	N	24	24

\*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Abbildung 13: Korrelation zwischen der Methylierung von *MCF2* zum ersten Messzeitpunkt mit dem standardisierten GSI nach der DBT

Betrachtet man in diesem Zusammenhang nur die weiblichen Teilnehmer, ist die beobachtete Korrelation jedoch knapp oberhalb der Grenze der Signifikanz ( $p=0,61$ ).

Ein Vergleich der responder und non-responder zeigte, dass Patienten, die auf die Therapie ansprachen, für den ersten Messzeitpunkt eindeutig höhere Methylierungswerte für die untersuchte CpG-Site von *MCF2* aufwiesen (Mann-Whitney U:  $U=-2,826$ ;  $p=0,003$ ; Abbildung 14). Für den zweiten Zeitpunkt zeigte sich kein Unterschied (Mann-Whitney U:  $U=-0,159$ ;  $p=0,901$ ).

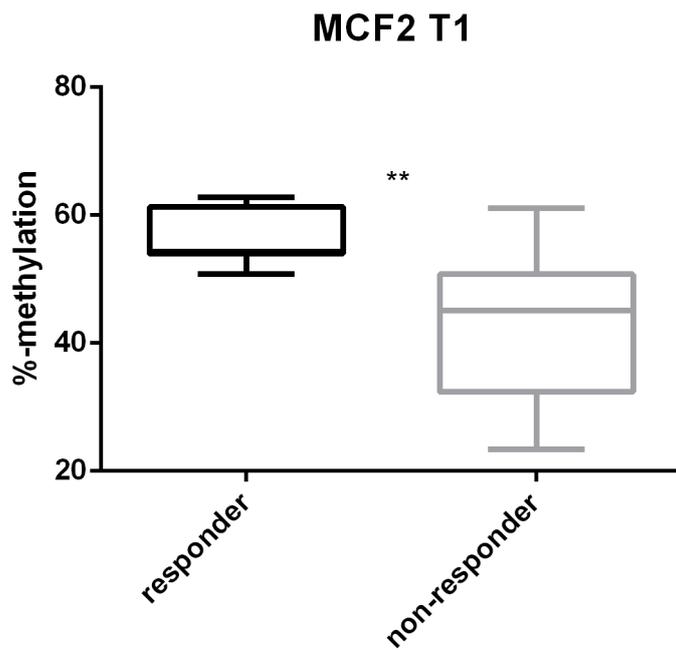


Abbildung 14: Boxplot zum Vergleich von non-respondern und respondern für *MCF2*. Signifikanzniveaus wurden mit \* ( $p \leq 0,05$ ) bzw. \*\* ( $p \leq 0,01$ ) gekennzeichnet.

Unter den respondern war für die verschiedenen Geschlechter keine differentielle Methylierung nachweisbar.

Keinen nachweisbaren Einfluss auf die Methylierung hatte eine vorliegende Traumatisierung.

### 3.2.3 BDNF4

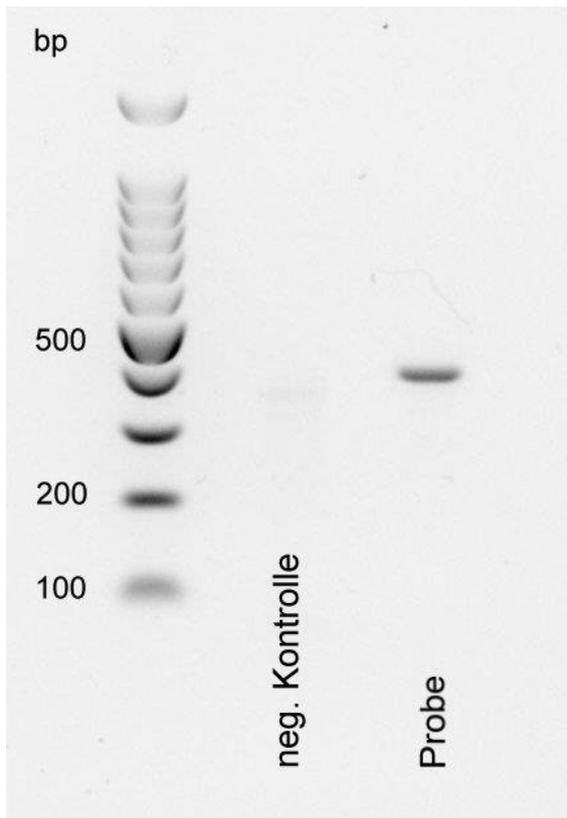


Abbildung 15: PCR einer Probe und einer Negativkontrolle für BDNF4. Als Referenz dient eine 100 bp DNA-Ladder. Das Produkt ist ca. 380 bp lang.

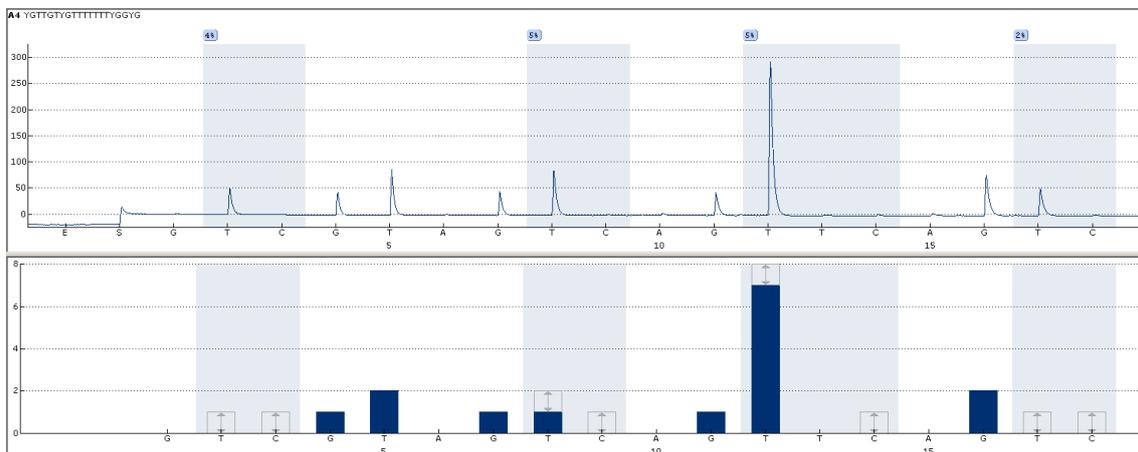


Abbildung 16: Pyrosequenzierung einer Patientenprobe für BDNF4

Für BDNF4 wurden vier Sites untersucht, sowie die durchschnittliche Methylierung aus diesen vier Werten (Abbildung 17).

Für Patienten und Kontrollen lag die Methylierung für die erste CpG-Site bei 3,9% für Patienten und 3,8% für Kontrollen. Für Site 2 lagen beide Gruppen bei 6,9%. Für Site 3 ergaben sich 7,4% für Patienten und 7% für Kontrollen, für Site 4 3,4% bzw. 3,7%. Durchschnittlich ergibt dies 5,4% für beide Gruppen.

Es wurden dieselben Testungen ausgeführt wie für die anderen Gene in dieser Arbeit. Für keine Analyse wurden statistisch relevante Unterschiede oder Zusammenhänge gefunden.

Weder zwischen Kontrollen und Patienten, noch zwischen den Proben vor und nach der DBT konnten Unterschiede beobachtet werden. Geschlechtsunterschiede oder ein Einfluss der Medikation mit Antidepressiva oder Antipsychotika konnten nicht beobachtet werden. Zusammenhänge zwischen den Ergebnissen der psychologischen Tests und der prozentualen Methylierung wurden für BDNF4 nicht gefunden.

Ein Unterschied zwischen respondern und non-respondern ist für Site 2 zum 2. Messzeitpunkt vorhanden (Tabelle 19, Abbildung 17). Die Patienten, die auf die Therapie ansprachen haben signifikant niedrigere Werte.

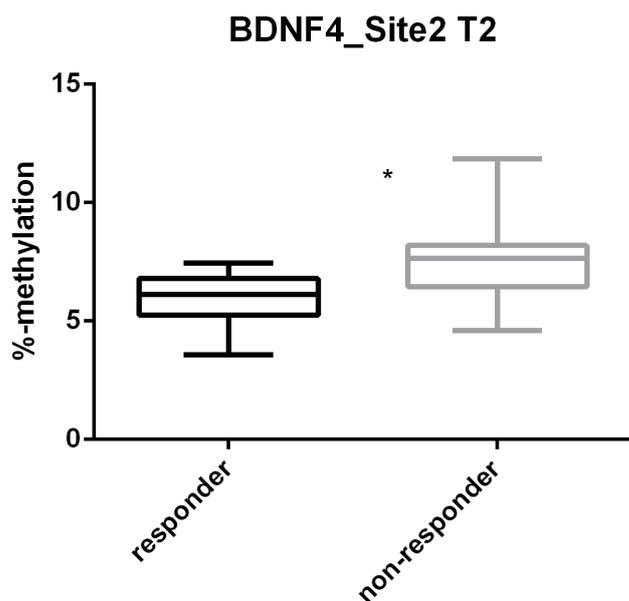


Abbildung 17: Boxplot zum Vergleich von non-respondern und respondern für BDNF4. Signifikanzniveaus wurden mit \* ( $p \leq 0,05$ ) gekennzeichnet.

Tabelle 19: Statistische Ergebnisse zum Vergleich von respondern und non-respondern für BDNF4. Alle Ergebnisse wurden mittels einem „independent samples t-test“ ermittelt.

	Site1	Site2	Site3	Site4	Durchschnitts wert
<b>T1</b>	t=0,911; p=0,372	t=0,880; p=0,388	t=0,854; p=0,102	t=-0,12; p=0,990	t=0,789; p=0,439
<b>T2</b>	t=0,401; p=0,692	t=2,182; p=0,400	t=1,136; p=0,268	t=0,339; p=0,738	t=1,347; p=0,192

### 3.2.4 BDNF1, NR3C1, miR124-3, NINJ2

Methylierungsanalysen wurden ebenfalls für *BDNF1*, *NR3C1* und *miR123-4* geplant. Allerdings konnte hier aus verschiedenen Gründen kein Ergebnis erzielt werden.

*BDNF1* wurde von Ikegame et al. [51] gemeinsam mit *BDNF4* untersucht, die Untersuchungen für *BDNF1* konnten jedoch nicht abgeschlossen werden, da

verwendbare PCR-Produkte auch mit unterschiedlichsten Modifikationen nicht erreichbar waren.

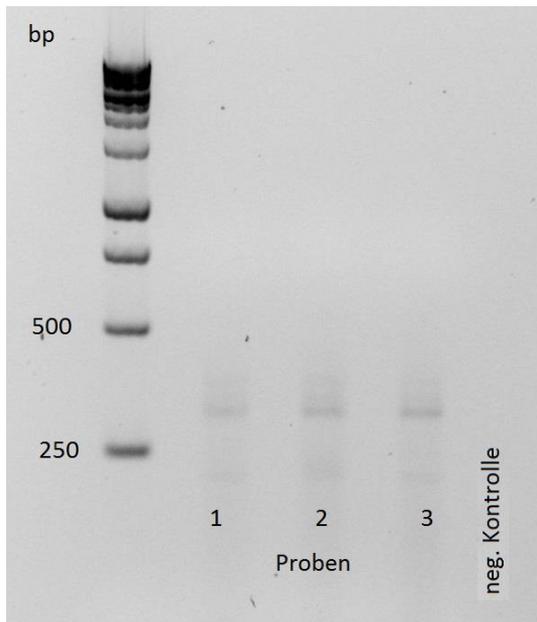


Abbildung 18: Beispielhafte PCR mit Proben für *BDNF1* mit einer 100 kbp DNA-Ladder. Unabhängig von Annealing-Temperatur, verwendeter Polymerase oder anderen Faktoren wurde zu keinem Zeitpunkt ein PCR-Produkt erreicht, das für eine Pyrosequenzierung ausreichend gewesen wäre.

Die für das Glukokortikoidrezeptor-Gen *NR3C1* durchgeführten Untersuchungen wurden auf der Grundlage eines Papers von Oberlander et al. ausgewählt [38]. Allerdings war auch hier nach verschiedensten Modifikationen keine PCR möglich.

Für miR123-4, dessen Gen-Produkt eine MicroRNA ist, die unter anderem mit *NR3C1* interagiert, fanden Prados et al. in einer genomweiten Analyse signifikante Unterschiede zwischen von BPS betroffenen Patienten und gesunden Kontrollen [37]. Eine Replikation der Ergebnisse war nicht möglich, da eine Pyrosequenzierung für diese gewünschte Sequenz mit dem PyroMark Q24 nicht in ausreichender Qualität durchführbar war.

Dieselbe Problematik ergab sich für *NINJ2*. Wie *MCF2* und *APBA3* sollte die Analyse auf der Grundlage einer genomweiten Analyse von Teschler et al. stattfinden [35], jedoch war eine Pyrosequenzierung nicht möglich.

## 4 Diskussion

Die Borderline-Persönlichkeitsstörung ist eine schwerwiegende und komplexe psychiatrische Erkrankung. Affektregulation, zwischenmenschliche Beziehungen und Selbstbild stellen die Hauptproblembereiche der Betroffenen dar. Die Patienten fallen in schweren Fällen durch starkes selbstverletzendes Verhalten und eine hohe Suizid- und Hospitalisierungsrate auf. In den letzten Jahren ergaben sich mehr und mehr Hinweise darauf, dass die Epigenetik auch bei Entstehung und Verlauf psychiatrischer Erkrankungen eine Rolle spielt. Epigenetische Forschung könnte also neue Einblicke und Möglichkeiten für das Verständnis solcher Erkrankungen bieten.

Diese Arbeit zielte darauf ab sowohl Methylierungsunterschiede zwischen Patienten, die unter einer Borderline-Persönlichkeitsstörung leiden und gesunden Probanden aufzuzeigen, als auch den Einfluss der DBT zu untersuchen.

### 4.1 Psychometrische Skalen

Die Fragebögen zeigen durchweg einen Unterschied zwischen Patienten und Probanden. Dieser ist für jede Testung wie erwartet, die Kontrollgruppe zeigt sich nahezu frei von psychischer Belastung.

In der SCL90 zeigt sich eine höhere psychische Gesamtbelastung für die Patienten, die mit durchschnittlich 79 sehr nah am Höchstwert von 80 im GSI liegen, die aber durch die DBT verringert wird. Ein interessanter Zusammenhang zwischen der Methylierung für *MCF2* und dem Score des SCL90 kann festgestellt werden. Je höher die Methylierung der Genstelle vor der Therapie war, desto niedriger fielen die GSI-Scores nach der Therapie aus (siehe 4.2.1 Biomarker).

Für die BSL 23 kann bei der Kontrollgruppe mit einem Wert von 0,22 kein Hinweis auf eine Borderline-Persönlichkeitsstörung gefunden werden. Die Patienten dieser Studie fallen durch einen Wert deutlich über dem Durchschnitt, der von Bohus et al. 2008 in ihren Stichproben beobachtet wurde, auf [60, 62].

Dies macht deutlich, wie wichtig eine erfolgreiche Therapie für diese Patienten ist. Zwar liegen nur sieben der 24 Patienten, die die DBT abschlossen, danach unter diesem Wert, generell verbessern sich aber die Werte in der BSL. Dass eine so extreme Belastung auch durch eine zwölfwöchige Therapie nicht vollständig eradiziert werden kann, ist nicht verwunderlich. Da wie bereits erwähnt die typischen Erfolgskriterien wie zum Beispiel eine Reduktion des SSV am Ende der Therapie nicht erhoben wurden, wurde der GSI und der Score der BSL23 zur Einteilung verwendet. Um eine mathematisch stichhaltige Grundlage der Einteilung zu gewährleisten, wurde der Durchschnittswert der BSL23 verwendet, trotz der Tatsache, dass nur verhältnismäßig wenige Patienten diesen Wert unterschritten.

Für die dissoziativen Symptome zeigt sich im Therapieverlauf keine Verbesserung. Bereits Spitzer et al. [63] stellten fest, dass die Änderungssensitivität des FDS20 zu wünschen übrig lässt. Zum einen kann dies daran liegen, dass ein Zeitraum von zwei Wochen abgefragt wird, dieser ist in anderen Tests deutlich geringer (im SCL90 z.B. nur sieben Tage). Zum anderen wäre zu prüfen, ob Dissoziation ein relativ stabiles Vorkommnis ist [63]. In einer zehnjährigen Follow-up Studie von Zanarini et al. [82] konnte gezeigt werden, dass von BPS betroffene Patienten zwar sinkende dissoziative Erfahrungen angeben, aber Dissoziationen für ein Drittel selbst nach dieser Zeit noch ein Problem darstellen [82]. Die DBT könnte somit auf Grund der Art dieses Phänomens nur eine geringe Auswirkung auf Dissoziationen haben.

Das KIMS D bringt zu Tage, dass die Patienten mehr Probleme mit achtsamem Handeln aufweisen als die Kontrollen. Dies wurde 2004 von Baer et al. in Stichproben nachgewiesen [65]. Im Therapieverlauf verbessert sich dies jedoch deutlich, was für eine Wirksamkeit des Achtsamkeitstrainings als Bestandteil der DBT spricht.

Für die beiden Dimensionen der ARES-Skalen ergeben sich deutliche Unterschiede, die implizieren, dass in Patienten eher das Handlungsverhindernde System, welches auf negative Reize reagiert, aktiv ist, als jenes, welches Handlungen auf Grund positiver Erfahrungen fördert. Für den

Therapieverlauf zeigt sich hier allerdings keine Änderung der Testwerte. Wie von McCrae und Cost 1991 festgestellt wurde, ist es oft schwer zwischen Persönlichkeitseigenschaften und Emotionen zu differenzieren [83]. Ob der ARES K in diesem Fall also wirklich die Aktivität der Emotions-Regulationssysteme der Patienten erfasst, bleibt kritisch zu hinterfragen.

Im MWT B erreichten alle Teilnehmer einen IQ-Score über 80, was Voraussetzung für eine valide Selbsteinschätzung ist [76]. Dass die Kontrollen einen durchschnittlich höheren Wert erreichen, lässt sich dadurch erklären, dass vor allem Studenten rekrutiert werden konnten, wohingegen sich im Patientenkollektiv ein breiteres Spektrum an Bildungsschichten findet.

Die Traumatisierung im Kindesalter spielt für Borderline eine große Rolle und liegt laut Herman et. al. bei 81% einer solchen vor [9]. Für die untersuchte Stichprobe waren 100% von einer Traumatisierung betroffen, wobei Männer im Bereich der körperlichen Misshandlung schlimmer betroffen waren als Frauen. Unterschiede in den Werten ergeben sich daraus allerdings nicht. Auch kann kein Einfluss der Traumatisierung auf die Methylierung der untersuchten Gene festgestellt werden.

Allerdings ist auffällig, dass die Patienten, die die Therapie frühzeitig abbrachen, niedrigere Scores im Bereich der emotionalen Vernachlässigung erreichten. Dies lässt vermuten, dass die große persönliche Aufmerksamkeit, die in der DBT sowohl durch Einzelgespräche, als auch durch Gruppentherapien zu Stande kommt, als starker Anreiz dienen kann. Menschen, die in der Kindheit eben diese Zuwendung und emotionales Interesse durch die Familie vermisst haben, finden dies nun im stationären Umfeld durch Pfleger und Therapeuten. Dies könnte den negativen Zusammenhang zwischen Abbruch und emotionaler Vernachlässigung in der Kindheit erklären. In anderen Studien konnte bereits gezeigt werden, dass der frühe Verlust eines Elternteiles oder die Trennung von eben jenem einen positiven Effekt auf das Ansprechen gegenüber der Kognitiven-Verhaltenstherapie hat [84]. Unsere Ergebnisse legen nahe, dass ein ähnlicher Effekt möglicherweise auch für die DBT vorhanden sein könnte.

Für den BFI 10 finden sich in drei Persönlichkeits-Dimensionen Unterschiede, die für die Borderline-Persönlichkeit einleuchtend erscheinen. BPS-Betroffene erzielen höhere Werte im Neurotizismus. Neurotizismus ist definiert als ein Zustand von emotionaler Instabilität. Die Borderline-Persönlichkeitsstörung, eine Unterform der emotional instabilen Persönlichkeitsstörung, wird genau durch diesen charakterisiert. Auch erscheinen die Patienten nach den Testergebnissen eher introvertiert, was auf ein diagnostisches Kriterium der BPS zurückgeführt werden könnte. Nach DSM IV ist ein „Muster instabiler, intensiver Beziehungen mit Wechsel zwischen Idealisierung und Entwertung“ ein Kriterium der Borderline-Persönlichkeitsstörung. Solche negativen Erfahrungen im zwischenmenschlichen Bereich könnten der Grund für ein zum Großteil eher zurückhaltendes Wesen der Betroffenen einer Borderline-Persönlichkeitsstörung sein. Auch die niedrigeren Werte im Bereich Verträglichkeit könnten auf der Charakteristik der Störung gründen. Nicht nur eine Instabilität der Affektregulation, sondern auch Schwierigkeiten mit zwischenmenschlichen Beziehungen, sowie zum Teil aggressiven Verhaltensmustern tragen nicht zur Verträglichkeit im Umgang mit anderen bei [2, 3].

Im AUDIT zeichnet sich ab, dass der Alkoholkonsum der Patientengruppe deutlich über dem der Kontrollgruppe liegt, durchschnittlich sogar mit über 15 Punkten über dem cut-off für gefährdendes Trinkverhalten. Diese Befunde decken sich mit der Tatsache, dass ca. 12% der Alkoholabhängigen eine Borderline-Persönlichkeitsstörung aufweisen [1]. Auch die Tatsache, dass signifikant mehr Abbrecher aus der Gruppe der Risikopatienten stammen als aus dem Kollektiv derjenigen, die Alkohol in nicht gefährdenden Mengen konsumieren, lässt sich wie folgt erklären: Im Behandlungsvertrag für die DBT am Universitätsklinikum Tübingen (UKT) ist ein Alkoholverzicht mit eingeschlossen (siehe Anhang, 3 Behandlungsvertrag). Diese Zeit der Abstinenz ist für Patienten, die starken Konsum gewöhnt sind oftmals nicht tolerierbar und führt zu einem vorzeitigen Beenden der Therapie.

## 4.2 Epigenetik

Signifikante Unterschiede zwischen Kontrollen und Patienten können für keines der untersuchten Gene gefunden werden und auch ein Einfluss der DBT ist in der Gesamtgruppe nicht detektierbar. Es ergeben sich allerdings Hinweise, dass *APBA3* und *MCF2* einen prädiktiven Wert in Bezug auf den Erfolg der Therapie haben könnten.

*APBA3* ist in der Epigenetik bereits aus dem Fachbereich der Onkologie bekannt. Regelmäßig werden differentielle Methylierungen im Bereich von Adenomen oder gastrointestinalen Tumoren beschrieben [85, 86]. Darüber hinaus interagiert *APBA3* mit dem Amyloid-beta-Vorläufer-Protein. Amyloid-Plaques gehören zur Krankheitsentität von Alzheimer, eine Verbindung zu anderen psychiatrischen Erkrankungen ist also denkbar [42, 43].

In einer genomweiten Analyse von Teschler et. al wurde eine differentielle Methylierung für die CpG-Sites der Promotorregion von *APBA3* in BPS-Patienten nachgewiesen [35]. Hier wurde für die Patienten im Schnitt eine 5,6% höhere Methylierung festgestellt. Diese Ergebnisse können jedoch nicht bestätigt werden.

Signifikante Unterschiede nach der Therapie können nur für diejenigen Patienten nachgewiesen werden, die eine psychoaktive Medikation einnehmen. Fraglich ist, inwiefern diese Ergebnisse einen Hinweis auf den Einfluss von psychoaktiver Medikation auf die Epigenetik liefern. Zwar stehen Antidepressiva schon längere Zeit im Verdacht diese zu beeinflussen und es konnten bereits Effekte nachgewiesen werden [29, 87-89], aber bei allen Patienten wurde die Medikation bereits vor der Therapie angesetzt und lediglich leicht modifiziert oder gar nicht verändert. Eine zufällige Signifikanz sollte also in Betracht gezogen werden.

Konträr zu dieser Überlegung liegen auch Hinweise vor, dass eine Kombination von Antidepressiva und Psychotherapie deren Wirkung deutlich verstärkt [90]. Ob dieser Effekt auch auf epigenetischer Ebene beobachtet werden kann, ist

bisher nicht untersucht. Somit bleibt diese Beobachtung zwar kritisch zu bewerten, könnte aber ein interessanter Bestandteil weiterer Forschung sein.

Auch *MCF2* wurde in der Studie von Teschler et. al als differentiell methyliertes Gen identifiziert. Bekannt ist *MCF2* unter anderem aus Studien zur Länge von Dendriten. In einem Knockout-Maus-Modell konnte gezeigt werden, dass die Dendriten der *MCF2*<sup>-/-</sup>-Mäuse deutlich verkürzt waren [44]. Auch wurde für Betroffene von Schizophrenie, sowie Autismus-Spektrum-Störungen ein gehäuftes Vorkommen von Mutationen im *MCF2*-Gen nachgewiesen [45].

Eine solche Veränderung der neuronalen Entwicklung könnte ein Faktor psychiatrischer Erkrankungen sein. Im präfrontalen Kortex von Patienten mit Schizophrenie wurde für bestimmte Schichten bereits eine veränderte Dendritendichte und Konformation nachgewiesen [91]. Doch auch für diese Genstelle kann in der vorliegenden Arbeit kein epigenetischer Unterschied zwischen den beiden Kohorten festgestellt werden.

Teschler et. al untersuchten allerdings ein Kollektiv von lediglich 24 Patienten und 11 Kontrollen. Mit einer größeren Anzahl Patienten und genau zugeteilten Kontrollen ist ein zufälliger Unterschied zwar mit größerer Sicherheit auszuschließen, jedoch sollten noch weitere Studien mit einer höheren Anzahl an Patienten angestrebt werden um dieser Diskrepanz auf den Grund zu gehen. Um zu überprüfen ob tatsächlich durch die DBT keine Änderung der Methylierung hervorgerufen wird, wie die im vorherigen Kapitel dargelegten Ergebnisse nahe legen, sollte eine größere Fallzahl untersucht werden.

Der Einfluss der DBT auf die Epigenetik wurde erstmals von Perroud et al. untersucht [36]. *BDNF4* trat bereits in vielen Studien, vor allem im Bereich psychiatrischer Erkrankungen in Erscheinung. Die Plasmaspiegel von BDNF und Genpolymorphismen scheinen im Zusammenhang mit dem Risiko einer Alzheimer-Erkrankung zu stehen [46], sowie bei Schizophrenie und bipolarer Störung verändert zu sein [47, 48]. In verschiedenen Hirnareal von Suizidopfern fanden sich stark erhöhte Methylierungsraten des *BDNF4*-Exons [49, 50]. Veränderungen des *BDNF4* Gens könnten somit auch im Zusammenhang mit

der auffällig hohen Suizidrate unter Patienten mit BPS stehen. Darüber hinaus stehen die Methylierungswerte aus Blutzellen und denen von Hirngewebe für *BDNF4* in hoher Korrelation zu einander, was die Aussagekraft der Blutuntersuchungen verstärkt [92].

In Studien zu BPS wurde allerdings bereits festgestellt, dass sich kein Unterschied zwischen Kontrollen und Patienten mit BPS finden lässt [51]. Diese Ergebnisse können bestätigt werden.

Der von Perroud et al. beobachtete Einfluss der DBT allerdings wird in dieser Arbeit nicht ersichtlich [36]. Die Therapiedauer unterschied sich ebenfalls: die in der Studie von Perroud et al. untersuchte Form der DBT dauert lediglich vier Wochen, am UKT dauert die Therapie 12 Wochen. Ob und wie dieser zeitliche Unterschied einen Einfluss auf die Ergebnisse der Untersuchung hat, ist fraglich.

Ein signifikanter Unterschied vor und nach der Therapie ergibt sich allerdings in der Gruppe der Responder. Für die zweite der vier analysierten CpG-Sites von *BDNF4* finden sich nach der Therapie signifikant niedrigere Werte als vor der Therapie in der kleinen Gruppe der Responder. Mit einer größeren Fallzahl könnten solche Unterschiede möglicherweise auch im globalen Kollektiv erkennbar sein. Unterstützt wird diese These dadurch, dass Perroud et al. mit 115 Patienten im Vergleich zu dieser Arbeit auf mehr als die 2,5fache Anzahl von Studienteilnehmern zurückgreifen konnte und sich so ein Einfluss abzeichnete.

#### **4.2.1 Biomarker**

Ein bisher für die Borderline-Persönlichkeitsstörung nicht verfolgter Forschungsansatz stellen sogenannte epigenetische Biomarker dar. Yedhua et al. untersuchten einen prädiktiven Wert des Methylierungsstatus des Glukokortikoid-Rezeptor-Gens *NR3C1* und *FKBP5*-Gens in Bezug auf die Behandlung einer PTBS [93]. Für *NR3C1* wurde eine Korrelation zwischen dem Methylierungsstatus vor der Therapie und dem Ansprechen der Patienten

gefunden. Responder zeigten eine deutlich höhere Methylierung als non-responder, im Therapieverlauf veränderten sich die Werte allerdings nicht.

Diese Zusammenhänge können in dieser Arbeit für *MCF2* und *APBA3* ebenfalls gefunden werden. Scheint die Therapie keinen Einfluss auf die Methylierung zu nehmen, so zeigen doch die responder vor der Therapie deutlich höhere Werte.

Dies kann für die CpG-Site nachgewiesen werden, die für *MCF2* untersucht wurde, sowie für eine der zwei Sites, die für *APBA3* untersucht wurden. Auch im Durchschnittswert für *APBA3* zeigt sich ein signifikanter Unterschied.

Für *MCF2* findet sich außerdem eine Korrelation mit den GSI-Werten des SCL90 nach der Therapie. Je höher die Methylierung vor der Therapie, desto niedriger die gesamtpsychische Belastung nach der Therapie. Dies unterstützt zusätzlich die Annahme, dass der Methylierungsstatus von *MCF2* einen prädiktiven Wert besitzen könnte.

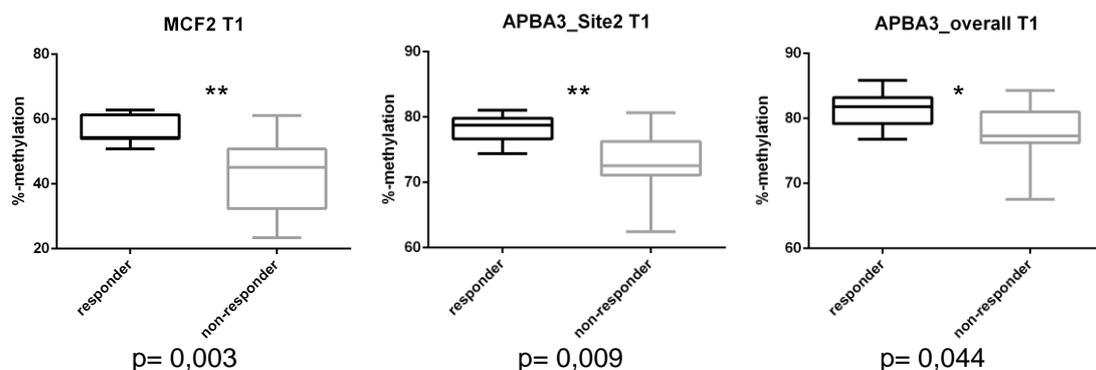


Abbildung 19: Boxplot zum Vergleich von non-respondern und respondern für *MCF2* und *APBA3*. Zu sehen sind die Werte für *MCF2* (links), die zweite CpG Site in *APBA3* (Mitte) und für den Mittelwert aller *APBA3* sites (rechts). Signifikanzniveaus wurden mit \* ( $p \leq 0,05$ ) bzw. \*\* ( $p \leq 0,01$ ) gekennzeichnet.

Die Gruppe der responder ist auf 7 Personen begrenzt, eine größere Fallzahl sollte Aufschluss darüber geben, in wie fern diese Ergebnisse als valide anzusehen sind. Die geringe Fallzahl ist auch der sehr strikten Einteilung in responder und non-responder geschuldet. Da Angaben zu einzelnen Diagnosekriterien des DSM- IV nach der Therapie nicht mehr erhoben wurden und auch keine Werte zu selbstverletzendem Verhalten vorhanden sind, wurde

auf eine in den zugrundeliegenden Veröffentlichungen verwendete Einteilung nach Fragebögen zurückgegriffen. Hierfür wurden die Ergebnisse des GSI aus dem SCL90R und des BSL23 verwendet, da sie diagnostisch eingesetzt werden, sowie einen guten Überblick über das Gesamtbefinden des Patienten geben.

Da diese Forschung sich auf recht neuem Gebiet bewegt, müssen weitere Untersuchungen mit größeren Fallzahlen folgen.

#### **4.2.2 BDNF1, GR, miR124-3, NINJ2**

*BDNF1* als Teil des BDNF-Genkomplexes spielt ebenso wie *BDNF4* eine Rolle in Bezug auf neuronale Plastizität und nimmt Einfluss in verschiedenen Psychiatrischen Erkrankungen wie Schizophrenie und bipolarer Störung [47, 48, 51]. Außerdem spielt es eine Rolle in der Entwicklung von Alzheimer [46] und steht in Zusammenhang mit Suizid [49, 50, 52].

Die Methylierung des Glukokortikoid-Rezeptor Gen *NR3C1* wird durch frühe traumatische oder belastende Erfahrungen verändert [39]. Solche Veränderungen hängen eng mit dem Auftreten vieler psychiatrischer Erkrankungen zusammen, da die Stressverarbeitung verändert ist, wie zum Beispiel Depressionen oder bipolare Störung [40, 41].

Für beide Gene war kein oder kein qualitativ ausreichendes PCR-Produkt zu gewinnen. Dies könnte an einer zu geringen Spezifität oder qualitativen Mängeln der verwendeten Primer liegen. Auch das Durchführen einer Gradienten-PCR, um die optimale Annealing-Temperatur der Primer zu identifizieren, konnte dieses Problem nicht beheben.

MicroRNA stehen im Verdacht bei vielen Psychiatrischen Erkrankungen eine Rolle zu spielen, nachdem eine veränderte Expression bereits mit Schizophrenie und anderen Erkrankungen in Verbindung gebracht werden konnte [53, 54].

*NINJ2* codiert für ein Adhäsionsmolekül, das beim Neuritenwachstum eine entscheidende Rolle spielt [55]. Außerdem sind Veränderungen in diesem Gen mit einem verminderten Risiko für Alzheimer vergesellschaftet [56].

Weder für *miR124-3*, noch für *NINJ2* konnte eine qualitativ hochwertige Sequenzierung durchgeführt werden. Auch hier könnten die verwendeten Primer im Verdacht stehen, zu unspezifisch zu sein. Darüber hinaus ist für *miR124-3* eine Sequenz von mehr als 100 bp mit vielen homologen Basen zu analysieren, was bei einer Analyse mit dem PyroMark Q24 Probleme verursachen kann.

## 5 Zusammenfassung

Die Borderline-Persönlichkeitsstörung (BPS) ist eine schwere und komplexe psychiatrische Erkrankung. Bezeichnend sind hohe Suizid- und Hospitalisierungsraten. Selbstbild, zwischenmenschliche Beziehungen und Affektregulation stellen die Hauptprobleme der Betroffenen dar. Häufig treten zusätzlich weitere psychische Erkrankungen auf. Eine weithin angewendete Therapieoption für Betroffene ist die dialektisch behaviorale Therapie (DBT).

In den letzten Jahren erhärtete sich der Verdacht, dass epigenetische Mechanismen die Interaktion zwischen Genom und Umwelt beeinflussen. Neueste Studien zeigen, dass auch der Pathomechanismus psychiatrischer Erkrankungen von der Epigenetik beeinflusst wird, was neue Möglichkeiten für Verständnis und Behandlung der BPS bieten könnte. Die Methylierung von Promotorregionen wird als reversibler Prozess angesehen, der von äußeren Faktoren beeinflusst wird. Folglich drängt sich die Frage auf, ob auch eine Psychotherapie die Methylierung von Risikogenen beeinflussen kann. Der Einfluss der DBT wurde bisher jedoch nur in einer Studie untersucht [36], weitere Forschung ist nötig. Um die bisherigen Erkenntnisse für *APBA3*, *MCF2* und *BDNF4* zu reproduzieren wurden Vollblut-Proben von 44 Patienten und passenden Kontrollen gesammelt. Zusätzlich wurden psychometrische Skalen angewendet um den psychischen Zustand und den Therapieverlauf zu dokumentieren. 24 Patienten schlossen die DBT ab. Der Methylierungsstatus wurde durch Pyrosequenzierung analysiert.

Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen Patienten und Kontrollen, und kein Einfluss der Therapie auf die Methylierung der untersuchten Gene. Für *MCF2* und *APBA3* konnte ein Zusammenhang zwischen Methylierung und Therapieerfolg beobachtet werden. Bei Patienten, die auf die Therapie ansprachen, waren die Genstellen vor Therapie signifikant höher methyliert. Auf Grund dieser Ergebnisse könnte eine stärkere Methylierung ein Indikator für ein besseres Therapieansprechen darstellen. Der Status von *APBA3* und *MCF2* als mögliche Biomarker für einen Therapieerfolg bedarf noch weiterer Forschung.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Bohus, M., *Borderline-Persönlichkeitsstörung*. 2002, Göttingen: Hogrefe-Verlag.
2. Leichsenring, F., et al., *Borderline personality disorder*. *Lancet*, 2011. **377**(9759): p. 74-84.
3. Lieb, K., et al., *Borderline personality disorder*. *Lancet*, 2004. **364**(9432): p. 453-61.
4. Gunderson, J.G., *Borderline personality disorder: ontogeny of a diagnosis*. *Am J Psychiatry*, 2009. **166**(5): p. 530-9.
5. Torgersen, S., E. Kringlen, and V. Cramer, *The prevalence of personality disorders in a community sample*. *Arch Gen Psychiatry*, 2001. **58**(6): p. 590-6.
6. Gunderson, J.G. and M.E. Ridolfi, *Borderline personality disorder. Suicidality and self-mutilation*. *Ann N Y Acad Sci*, 2001. **932**: p. 61-73; discussion 73-7.
7. Oldham, J.M., *Borderline personality disorder and suicidality*. *Am J Psychiatry*, 2006. **163**(1): p. 20-6.
8. Golier, J.A., et al., *The relationship of borderline personality disorder to posttraumatic stress disorder and traumatic events*. *Am J Psychiatry*, 2003. **160**(11): p. 2018-24.
9. Herman, J.L., J.C. Perry, and B.A. van der Kolk, *Childhood trauma in borderline personality disorder*. *Am J Psychiatry*, 1989. **146**(4): p. 490-5.
10. Ogata, S.N., et al., *Childhood sexual and physical abuse in adult patients with borderline personality disorder*. *Am J Psychiatry*, 1990. **147**(8): p. 1008-13.
11. Zanarini, M.C., et al., *Childhood experiences of borderline patients*. *Compr Psychiatry*, 1989. **30**(1): p. 18-25.
12. Grant, B.F., et al., *Prevalence, correlates, disability, and comorbidity of DSM-IV borderline personality disorder: results from the Wave 2 National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions*. *J Clin Psychiatry*, 2008. **69**(4): p. 533-45.
13. Zanarini, M.C., et al., *Prediction of the 10-year course of borderline personality disorder*. *Am J Psychiatry*, 2006. **163**(5): p. 827-32.
14. Crowell, S.E., T.P. Beauchaine, and M.M. Linehan, *A biosocial developmental model of borderline personality: Elaborating and extending Linehan's theory*. *Psychol Bull*, 2009. **135**(3): p. 495-510.
15. M., L., *Cognitive-behavioral treatment of borderline personality disorder*. 1993, New York: Guilford Press.
16. Carpenter, R.W., et al., *Gene-environment studies and borderline personality disorder: a review*. *Curr Psychiatry Rep*, 2013. **15**(1): p. 336.
17. Turner, R.M., *Naturalistic evaluation of dialectical behavior therapy-oriented treatment for borderline personality disorder*. *Cognitive and Behavioral Practice*, 2000. **7**(4): p. 413-419.
18. Bohus, M., et al., *Effectiveness of inpatient dialectical behavioral therapy for borderline personality disorder: a controlled trial*. *Behav Res Ther*, 2004. **42**(5): p. 487-99.

19. Bohus, M., et al., *Evaluation of inpatient dialectical-behavioral therapy for borderline personality disorder--a prospective study*. Behav Res Ther, 2000. **38**(9): p. 875-87.
20. Barlow, D.H., *Clinical Handbook of Psychological Disorders, Fourth Edition: A Step-by-Step Treatment Manual*. 2007, New York: Guilford Press. 722.
21. Sutherland, J.E. and M. Costa, *Epigenetics and the environment*. Ann N Y Acad Sci, 2003. **983**: p. 151-60.
22. Egger, G., et al., *Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy*. Nature, 2004. **429**(6990): p. 457-63.
23. Nieratschker, V., A. Batra, and A.J. Fallgatter, *Genetics and epigenetics of alcohol dependence*. J Mol Psychiatry, 2013. **1**(1): p. 11.
24. Holliday, R., *DNA methylation and epigenetic mechanisms*. Cell Biophys, 1989. **15**(1-2): p. 15-20.
25. Jones, P.A. and D. Takai, *The role of DNA methylation in mammalian epigenetics*. Science, 2001. **293**(5532): p. 1068-70.
26. Hashimoto, H., P.M. Vertino, and X. Cheng, *Molecular coupling of DNA methylation and histone methylation*. Epigenomics, 2010. **2**(5): p. 657-69.
27. Feil, R. and M.F. Fraga, *Epigenetics and the environment: emerging patterns and implications*. Nat Rev Genet, 2011. **13**(2): p. 97-109.
28. Razin, A. and A.D. Riggs, *DNA methylation and gene function*. Science, 1980. **210**(4470): p. 604-10.
29. Menke, A. and E.B. Binder, *Epigenetic alterations in depression and antidepressant treatment*. Dialogues Clin Neurosci, 2014. **16**(3): p. 395-404.
30. Mill, J. and B.T. Heijmans, *From promises to practical strategies in epigenetic epidemiology*. Nat Rev Genet, 2013. **14**(8): p. 585-94.
31. Nieratschker, V., et al., *MORC1 exhibits cross-species differential methylation in association with early life stress as well as genome-wide association with MDD*. Transl Psychiatry, 2014. **4**: p. e429.
32. Januar, V., R. Saffery, and J. Ryan, *Epigenetics and depressive disorders: a review of current progress and future directions*. Int J Epidemiol, 2015. **44**(4): p. 1364-87.
33. Perroud, N., et al., *Increased methylation of glucocorticoid receptor gene (NR3C1) in adults with a history of childhood maltreatment: a link with the severity and type of trauma*. Transl Psychiatry, 2011. **1**: p. e59.
34. Dammann, G., et al., *Increased DNA methylation of neuropsychiatric genes occurs in borderline personality disorder*. Epigenetics, 2011. **6**(12): p. 1454-62.
35. Teschler, S., et al., *Aberrant methylation of gene associated CpG sites occurs in borderline personality disorder*. PLoS One, 2013. **8**(12): p. e84180.
36. Perroud, N., et al., *Response to psychotherapy in borderline personality disorder and methylation status of the BDNF gene*. Transl Psychiatry, 2013. **3**: p. e207.
37. Prados, J., et al., *Borderline personality disorder and childhood maltreatment: a genome-wide methylation analysis*. Genes Brain Behav, 2015. **14**(2): p. 177-88.

38. Oberlander, T.F., et al., *Prenatal exposure to maternal depression, neonatal methylation of human glucocorticoid receptor gene (NR3C1) and infant cortisol stress responses*. *Epigenetics*, 2008. **3**(2): p. 97-106.
39. Palma-Gudiel, H., et al., *Glucocorticoid receptor gene (NR3C1) methylation processes as mediators of early adversity in stress-related disorders causality: A critical review*. *Neurosci Biobehav Rev*, 2015. **55**: p. 520-35.
40. Perroud, N., et al., *Childhood maltreatment and methylation of the glucocorticoid receptor gene NR3C1 in bipolar disorder*. *Br J Psychiatry*, 2014. **204**(1): p. 30-5.
41. Slavich, G.M., et al., *Black sheep get the blues: a psychobiological model of social rejection and depression*. *Neurosci Biobehav Rev*, 2010. **35**(1): p. 39-45.
42. Sullivan, S.E., et al., *Mint proteins are required for synaptic activity-dependent amyloid precursor protein (APP) trafficking and amyloid beta generation*. *J Biol Chem*, 2014. **289**(22): p. 15374-83.
43. Csiszar, A., et al., *Synergistic effects of hypertension and aging on cognitive function and hippocampal expression of genes involved in beta-amyloid generation and Alzheimer's disease*. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2013. **305**(8): p. H1120-30.
44. Hirsch, E., et al., *Defective dendrite elongation but normal fertility in mice lacking the Rho-like GTPase activator Dbl*. *Mol Cell Biol*, 2002. **22**(9): p. 3140-8.
45. Piton, A., et al., *Systematic resequencing of X-chromosome synaptic genes in autism spectrum disorder and schizophrenia*. *Mol Psychiatry*, 2011. **16**(8): p. 867-80.
46. Chang, L., et al., *Elevation of peripheral BDNF promoter methylation links to the risk of Alzheimer's disease*. *PLoS One*, 2014. **9**(11): p. e110773.
47. Chen, S.L., et al., *The BDNF Val66Met polymorphism and plasma brain-derived neurotrophic factor levels in Han Chinese patients with bipolar disorder and schizophrenia*. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2014. **51**: p. 99-104.
48. Carrard, A., et al., *Genetic association of the Phosphoinositide-3 kinase in schizophrenia and bipolar disorder and interaction with a BDNF gene polymorphism*. *Brain Behav*, 2011. **1**(2): p. 119-24.
49. Keller, S., et al., *Increased BDNF promoter methylation in the Wernicke area of suicide subjects*. *Arch Gen Psychiatry*, 2010. **67**(3): p. 258-67.
50. Dwivedi, Y., et al., *Altered gene expression of brain-derived neurotrophic factor and receptor tyrosine kinase B in postmortem brain of suicide subjects*. *Arch Gen Psychiatry*, 2003. **60**(8): p. 804-15.
51. Ikegame, T., et al., *DNA methylation analysis of BDNF gene promoters in peripheral blood cells of schizophrenia patients*. *Neurosci Res*, 2013. **77**(4): p. 208-14.
52. Perroud, N., et al., *Interaction between BDNF Val66Met and childhood trauma on adult's violent suicide attempt*. *Genes Brain Behav*, 2008. **7**(3): p. 314-22.

53. Smalheiser, N.R., et al., *Expression of microRNAs and other small RNAs in prefrontal cortex in schizophrenia, bipolar disorder and depressed subjects*. PLoS One, 2014. **9**(1): p. e86469.
54. Dwivedi, Y., *Emerging role of microRNAs in major depressive disorder: diagnosis and therapeutic implications*. Dialogues Clin Neurosci, 2014. **16**(1): p. 43-61.
55. Araki, T. and J. Milbrandt, *Ninjurin2, a novel homophilic adhesion molecule, is expressed in mature sensory and enteric neurons and promotes neurite outgrowth*. J Neurosci, 2000. **20**(1): p. 187-95.
56. Lin, K.P., et al., *Genetic polymorphisms of a novel vascular susceptibility gene, Ninjurin2 (NINJ2), are associated with a decreased risk of Alzheimer's disease*. PLoS One, 2011. **6**(6): p. e20573.
57. Franke, G.H., *Symptom-Checkliste von L.R. Derogatis – Deutsche Version (SCL-90-R)*. Vol. 2. vollständig überarbeitete und neu normierte Auflage. 2002, Göttingen: Beltz Test.
58. Derogatis, L.R., R.S. Lipman, and L. Covi, *SCL-90: an outpatient psychiatric rating scale--preliminary report*. Psychopharmacol Bull, 1973. **9**(1): p. 13-28.
59. Bohus, M., et al., *Development of the borderline symptom list (BSL)*. Psychotherapie Psychosomatik Medizinische Psychologie, 2001. **51**(5): p. 201-211.
60. Bohus, M., et al., *Psychometric properties of the borderline symptom list (BSL)*. Psychopathology, 2007. **40**(2): p. 126-132.
61. Wolf, M., et al., *Short Version of the Borderline Symptom List (BSL-23): Development and Psychometric Evaluation*. Psychotherapie Psychosomatik Medizinische Psychologie, 2009. **59**(8): p. 321-324.
62. Bohus, M., et al., *The Short Version of the Borderline Symptom List (BSL-23): Development and Initial Data on Psychometric Properties*. Psychopathology, 2009. **42**(1): p. 32-39.
63. Spitzer, C., et al., *[Screening and Measurement of Change of Dissociative Psychopathology: Psychometric Properties of the Short Version of the Fragebogen zu Dissoziativen Symptomen (FDS-20)]*. Psychother Psychosom Med Psychol, 2004. **54**(3-4): p. 165-72.
64. Bernstein, E.M. and F.W. Putnam, *Development, reliability, and validity of a dissociation scale*. J Nerv Ment Dis, 1986. **174**(12): p. 727-35.
65. Baer, R.A., G.T. Smith, and K.B. Allen, *Assessment of mindfulness by self-report - The Kentucky inventory of mindfulness skills*. Assessment, 2004. **11**(3): p. 191-206.
66. Strohle, G., et al., *Measuring mindfulness as a multidimensional construct: a German version of the Kentucky Inventory of Mindfulness Skills (KIMS-D)*. Zeitschrift Fur Klinische Psychologie Und Psychotherapie, 2010. **39**(1): p. 1-12.
67. Hartig, J.M., H., *Die ARES-Skalen zur Erfassung der individuellen BIS- und BAS-Sensitivität: Entwicklung einer Lang- und einer Kurzfassung*. Zeitschrift für Differentielle und Diagnostische Psychologie, 2003. **24**(4): p. 293-310.
68. Bernstein, D., & Fink, L. (1998). Childhood Trauma Questionnaire: A retrospective self-report. San Antonio, TX: The Psychological

- Corporation., *Childhood Trauma Questionnaire: A retrospective self-report*. 1998, San Antonio, TX: The Psychological Corporation.
69. Bernstein, D.P., et al., *Development and validation of a brief screening version of the Childhood Trauma Questionnaire*. *Child Abuse Negl*, 2003. **27**(2): p. 169-90.
  70. Rammstedt, B. and O.P. John, *Measuring personality in one minute or less: A 10-item short version of the Big Five Inventory in English and German*. *Journal of Research in Personality*, 2007. **41**(1): p. 203-212.
  71. Allport, G.W.O., Henry S., *Trait-names: A psycho-lexical study*. *Psychological Monographs*, 1936. **47**(1): p. i-171.
  72. Cattell, R.B., *Personality structure and measurement; the operational determination of trait unities*. *Br J Psychol Gen Sect*, 1946. **36**: p. 88-103.
  73. Revelle, W., *Personality structure and measurement: the contributions of Raymond Cattell*. *Br J Psychol*, 2009. **100**(Pt 1A): p. 253-7.
  74. Tupes, E.C. and R.E. Christal, *Recurrent personality factors based on trait ratings*. *J Pers*, 1992. **60**(2): p. 225-51.
  75. McCrae, R.R. and O.P. John, *An introduction to the five-factor model and its applications*. *J Pers*, 1992. **60**(2): p. 175-215.
  76. Lehrl, S., *Mehrfachwahl-Wortschatz-Intelligenztest : MWT-B*. Vol. Deutsch : 4., überarb. Aufl. 1999, Balingen: Spitta.
  77. Reinert, D.F. and J.P. Allen, *The Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT): a review of recent research*. *Alcohol Clin Exp Res*, 2002. **26**(2): p. 272-9.
  78. Reinert, D.F. and J.P. Allen, *The alcohol use disorders identification test: an update of research findings*. *Alcohol Clin Exp Res*, 2007. **31**(2): p. 185-99.
  79. Fagerstrom, K.O. and N.G. Schneider, *Measuring nicotine dependence: a review of the Fagerstrom Tolerance Questionnaire*. *J Behav Med*, 1989. **12**(2): p. 159-82.
  80. Heatherton, T.F., et al., *The Fagerstrom Test for Nicotine Dependence: a revision of the Fagerstrom Tolerance Questionnaire*. *Br J Addict*, 1991. **86**(9): p. 1119-27.
  81. T, T., *Handbook of Epigenetics: The New Molecular and Medical Genetics*. 1 ed. 2011, London, San Diego: Academic Press.
  82. Zanarini, M.C., et al., *The course of dissociation for patients with borderline personality disorder and axis II comparison subjects: a 10-year follow-up study*. *Acta Psychiatr Scand*, 2008. **118**(4): p. 291-6.
  83. McCrae, R.R., & Costa, P. T., Jr., *Adding Liebe and Arbeit: The full five-factor model and well-being*. *Personality and Social Psychology Bulletin*, 1991. **17** (2): p. 227-232.
  84. Niciu, M.J., et al., *A history of early life parental loss or separation is associated with successful cognitive-behavioral therapy in major depressive disorder*. *J Affect Disord*, 2015. **187**: p. 241-4.
  85. Rashid, A., et al., *CpG island methylation in colorectal adenomas*. *Am J Pathol*, 2001. **159**(3): p. 1129-35.
  86. Kim, S.G., et al., *Epigenetic and genetic alterations in duodenal carcinomas are distinct from biliary and ampullary carcinomas*. *Gastroenterology*, 2003. **124**(5): p. 1300-10.

87. Zimmermann, N., et al., *Antidepressants inhibit DNA methyltransferase 1 through reducing G9a levels*. *Biochem J*, 2012. **448**(1): p. 93-102.
88. Detich, N., V. Bovenzi, and M. Szyf, *Valproate induces replication-independent active DNA demethylation*. *J Biol Chem*, 2003. **278**(30): p. 27586-92.
89. Dong, E., et al., *Clozapine and sulpiride but not haloperidol or olanzapine activate brain DNA demethylation*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008. **105**(36): p. 13614-9.
90. Cuijpers, P., et al., *Adding psychotherapy to antidepressant medication in depression and anxiety disorders: a meta-analysis*. *World Psychiatry*, 2014. **13**(1): p. 56-67.
91. Glantz, L.A. and D.A. Lewis, *Decreased dendritic spine density on prefrontal cortical pyramidal neurons in schizophrenia*. *Arch Gen Psychiatry*, 2000. **57**(1): p. 65-73.
92. Stenz, L., et al., *BDNF promoter I methylation correlates between post-mortem human peripheral and brain tissues*. *Neurosci Res*, 2015. **91**: p. 1-7.
93. Yehuda, R., et al., *Epigenetic Biomarkers as Predictors and Correlates of Symptom Improvement Following Psychotherapy in Combat Veterans with PTSD*. *Front Psychiatry*, 2013. **4**: p. 118.

## 7 Erklärungen zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde in der Arbeitsgruppe für molekulare Psychiatrie der Universitätsklinik Tübingen für Psychiatrie und Psychotherapie Tübingen durchgeführt.

Das Studiendesign, sowie die Betreuung übernahm Frau Jun.-Prof. Nieratschker. Ebenfalls bei der Betreuung haben Dr. Nadja Freund und Christof Brückmann mitgewirkt. Dipl. Psych. Friederike Gundel hat die Fragebögen ausgewählt und bis März 2015 die Rekrutierung der Patienten geleitet und unter Mithilfe von Dr. Christian Frischholz Blut- und Speichelproben entnommen.

Rekrutierung, Blut- und Speichelentnahme und Auswertung der Fragebögen wurden seit März 2015 von mir übernommen. Dies betrifft alle Kontrollprobanden, sowie einen Großteil der Patienten (darüber hinaus Auswertung von 1088 Fragebögen). Die Weiterverarbeitung der Proben bis hin zur Sequenzierung und statistischen Analyse war nach Einarbeitung durch Christof Brückmann ebenfalls vollständig mir übertragen. Im Rahmen dieser Arbeit wurden ausschließlich die Blutproben verwertet.

Die statistische Auswertung erfolgte durch mich. Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben. Alle enthaltenen und nicht anders markierten Abbildungen wurden von mir erstellt. Eine Veröffentlichung von Teilen dieses Manuskriptes ist angedacht.

Tübingen, den

Nora Knoblich

# Anhang

## 1 PCR-Programme und Primer

Primer	Sequenz	PCR-Programm	
<b>APBA3BSU1</b>	5'-ATTTTAGTTTGGGTGATAGAGTGAGGTTT	95°C	15min
<b>APBA3BSL1</b>	5'-BIO-CCTATATAAACAATACCCAACCTAAAACCTAA	94°C	30s
		49°C	30s
		72°C	30s
		72°C	10min
	(45 Zyklen, PCR-MasterMix von QIAGEN)	8°C	storage
<b>APBA3BSU11</b>	5'-GAGGTTTTGTTTTAAAAAATAAATAAATT	95°C	15 min
<b>APBA3BSL1</b>	5'-BIO-CCTATATAAACAATACCCAACCTAAAACCTAA	94°C	30s
<b>APBA3BSSeq</b>	5'-TTYGAAAAATAAAAAATTTGAGGTTT	45°C	30s
Teschler et al, 2013 [35]		72°C	30s
		72°C	10min
	(45 Zyklen, PCR-MasterMix von QIAGEN)	8°C	storage
<b>MCF2BSU1</b>	5'-GGGTAGGAYGAGAGTAAAAAGTATGAGTT	95°C	2min
<b>MCF2BSL1</b>	5'-BIO-CAACTCTCTTCCTAAAAACAACTTAATAAA	95°C	30s
<b>MCF2BSSeq</b>	5'-TTTATAAAGATTTTTAGTATTTTTATTTAAA	48,5°C	30s
Teschler et al, 2013 [35]		72°C	30s
		72°C	10min
	(45 Zyklen, GoTaq-MasterMix von Promega)	8°C	storage
<b>NINJ2BSU4</b>	5'-TTTATAYGTGTGTAGGTGTATATTTTTTT	95°C	15 min
<b>NINJ2BSL2</b>	5'-BIO-AAACAACTACRTAAACTCCTCCAAA	94°C	30s
<b>NINJ2BSSeq</b>	5'-GTGTGTGTAGGTGTATATTTTTTTTAGAGG	47°C	30s
Teschler et al, 2013 [35]		72°C	30s
		72°C	10min
	(45 Zyklen, PCR-MasterMix von QIAGEN)	8°C	storage
<b>BDNF4F</b>	5'-GGTTGGAAGTGAAAATATTTGTAAAAG	95°C	3 min
<b>BDNF4R</b>	5'-BIO-ACTCCTTCTATTCTACAACAAAAAAT	98°C	10s
<b>BDNF4Seq</b>	5'-GGAGAGGGTTGTTTT	57°C	30s
Ikegame et al, 2013 [51]		72°C	30s
		72°C	10min
	(45 Zyklen, GoTaq-MasterMix von Promega)	8°C	storage

Die verwendeten Primer wurden von Eurofins Genomics (Ebersberg, Deutschland) synthetisiert.

## 2 CpG-Assays

MCF2	5' to 3' DNA sequence
<b>Sequenzierungs-Primer</b>	5'-TTTATAAAGATTTTTAGTATTTTATTTTAAA
<b>Zu analysierende Sequenz</b>	AATTAATTGYGTAGAGGAGAAAAGTTAGTTTTATTAAGTTTGTTTTAGG AAGAGAGTTG
<b>Dispensations-Reihenfolge</b>	TATATAGTCGTA

APBA3	5' to 3' DNA sequence
<b>Sequenzierungs-Primer</b>	5'-TTYGAAAAATAAAAAATTTGAGGTTT
<b>Zu analysierende Sequenz</b>	TTYGGTTGTTTATTYGGTGTTAGGTTTTAGTTGGGTATTGTTTATATAGG
<b>Dispensations-Reihenfolge</b>	ATCGTGTGATCGTG

BDNF IV	5' to 3' DNA sequence
<b>Sequenzierungs-Primer</b>	5'-GGAGAGGGTTGTTTT
<b>Zu analysierende Sequenz</b>	YGTTGTYGTTTTTTTYGGYG
<b>Dispensations-Reihenfolge</b>	ACTCGTGTGATCGTGTG

# 3 Behandlungsvertrag

## BEHANDLUNGSVERTRAG FÜR DIE STATIONÄRE BEHANDLUNG

Station 22, Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie in Tübingen

### DBT-BPS

Ein Schwerpunkt der psychotherapeutischen Behandlung in der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie in Tübingen liegt auf der Behandlung von PatientInnen mit Borderline-Störungen. Neben den individuellen Zielen jeder Einzeltherapie beinhaltet die dialektisch-behaviorale Therapie von PatientInnen mit Borderline-Störungen nach M. Linehan einige grundsätzliche Zielsetzungen. Diese sind nach Wichtigkeit sowohl für die PatientInnen als auch für das therapeutische Team geordnet:

1. Reduzierung von suizidalem Verhalten.
2. Reduzierung von Verhaltensmustern, die die Therapie behindern oder unmöglich machen.
3. Reduzierung von Verhaltensmustern, die zu stationären Aufnahmen führen bzw. diese verlängern.

Daraus ergeben sich folgende Grundlagen bzw. Ziele für die stationäre Behandlung:

- Ich werde während der Behandlung keinen Suizidversuch unternehmen.
- Ich werde an der Reduzierung suizidaler Verhaltensmuster arbeiten.
- Ich werde an der Reduzierung von Verhaltensmustern arbeiten, die die Therapie behindern bzw. unmöglich machen (z.B. Nichtteilnahme an Therapiesitzungen, Brechen von Vereinbarungen, mangelnde Offenheit, Beeinträchtigung der Behandlung der anderen PatientInnen).
- Ich werde an der Reduzierung von Verhaltensmustern arbeiten, die zur stationären Aufnahme geführt haben bzw. diese verlängern.

**Außerdem stimme ich folgenden Regeln zu:**

- **Kommunikation innerhalb der Therapie**  
Grundsätzlich verpflichten wir uns zu einer wertschätzenden Zusammenarbeit. Das betrifft das therapeutische Team und die Mitpatienten! Bitte unterstützen Sie ihre Mitpatienten dabei, deren Therapieziele erfolgreich zu bewältigen und versuchen Sie, unterstützende Angebote anzunehmen. Auf dieser Station pflegen wir einen freundlichen, offenen und unterstützenden Gesprächsstil. Abfällige Intrigen, Ausgrenzungen und Abfälligkeiten, wie Sie es vielleicht in ihrem bisherigen Leben erlebt haben, sollten auf dieser Station keinen Platz finden. Verhaltensweisen anderer Personen (von Behandlern wie Mitpatientinnen/en), die von ihnen als störend empfunden werden, sollten möglichst freundlich und direkt an die jeweils Betreffenden zurückgemeldet werden und nicht über Dritte (oder in anderer Form indirekt) kommuniziert werden. Falls Sie Schwierigkeiten bei den Rückmeldungen erleben, sollte dies in der Einzeltherapie thematisiert werden, um Lösungswege zu finden.  
Insbesondere in sozialen Netzwerken (z. B. „Facebook“) darf unter keinen Umständen abwertende Kommunikation über Mitpatientinnen/en oder die Therapie oder Therapeuten stattfinden. Diese Form des Cyber-Mobbings halten wir für a) unsozial und b) für therapiestörend und werden gegebenenfalls Konsequenzen ziehen. Auf keinen Fall dürfen persönliche Informationen über Mitpatientinnen und BehandlerInnen ohne deren Zustimmung (online) öffentlich gemacht werden.
- **Keine Drogen oder Alkohol.**  
Drogen, Alkohol oder unverordnete Medikamente dürfen weder auf Station gebracht, noch außerhalb der Station konsumiert werden. Falls Ihnen auf Station Drogen angeboten werden oder Sie erfahren, dass MitpatientInnen Drogen konsumieren, müssen Sie dies unverzüglich an ein Mitglied Ihres Teams weitergeben.
- **Keine Waffen.**  
"Waffen" zur Selbstschädigung dürfen nicht auf Station gebracht werden.
- **Keine Gewalt.**  
Gewalt beinhaltet verbale oder körperliche Angriffe und schließt auch Schreien, Türenknallen usw. mit ein.
- **Keine suizidale Kommunikation.**  
Falls ein/e Mitpatient/in Ihnen mitteilt, dass er/sie suizidal ist, müssen Sie dies unverzüglich an ein Mitglied des therapeutischen Teams weitergeben; falls Sie einem/einer Mitpatienten/in mitteilen, dass Sie suizidal sind, muss diese/r dies unverzüglich an ein Mitglied des therapeutischen Teams weitergeben.
- **Keine impulsiven Therapieabbrüche.**  
Wenn ein/e Patient/in sich entschließt, die Behandlung gegen den Rat des Behandlungsteams abbrechen, dann stimmt er/sie folgenden Regelungen zu: Therapieabbruchentschlüsse können dem Team nur werktags zwischen 8.00 Uhr und 16.00 Uhr mitgeteilt werden, an Wochenenden und an Feiertagen nicht. Der/die Pat. wird nach Mitteilung des Entschlusses weitere 24 Stunden an den Therapien teilnehmen. Frühestens 3 Monate nach einem Therapieabbruch kann über eine Wiederaufnahme verhandelt werden.
- **Keine intimen Beziehungen mit anderen Patienten oder Patientinnen.**
- **Einhalten der Routineabläufe der Station im täglichen Zusammenleben.**
- **Abgabe aller vorliegenden Psychopharmaka.**
- **Aufgrund möglicher Infektionsgefahr sind neue Piercings und Tätowierungen während der stationären Behandlung nicht erlaubt.**

**Die Mitglieder des therapeutischen Teams stimmen Folgendem zu:**

- Wir unternehmen jede sinnvolle Anstrengung, um kompetente und effektive Psychotherapie durchzuführen.
- Wir halten die festgesetzten ethischen und beruflichen Richtlinien ein.
- Wir wahren die Integrität der Rechte des/der Patienten/Patientin.
- Wir bewahren die Schweigepflicht.
- Wir gehen mit unseren persönlichen Grenzen offen um.
- Wir holen uns Rat und Unterstützung, wann immer notwendig.

Sind diese Voraussetzungen Ihrerseits nicht mehr gegeben, kann eine vorübergehende Entlassung (Therapiepause) in Kraft treten. Sind die Voraussetzungen nach der 2. Therapiepause erneut nicht gegeben, bedeutet dies die Entlassung.

*Ich habe mich mit allen Punkten des Behandlungsvertrages vertraut gemacht und stimme den oben genannten Grundlagen der Behandlung auf Station 22, Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Universitätsklinikum Tübingen, zu.*

Tübingen, den \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Unterschrift Patient/in

\_\_\_\_\_  
Unterschrift Therapeut/in

\_\_\_\_\_  
Unterschrift Pflege

### **Einverständniserklärung (Video)**

Ich bin mit der Anfertigung von Videoaufnahmen von mir einverstanden und stimme zu, dass sie unter Wahrung der Schweigepflicht zu folgenden Zwecken benutzt werden können (gegebenenfalls nicht zutreffende Punkte bitte streichen):

- Diagnostik und Therapie Ihres Krankheitsbildes**
- Supervision**
- Forschung im Rahmen von Forschungsprojekten**

Ich bin mit der Anfertigung von Videoaufnahmen von mir einverstanden. Ich habe die Videoaufnahmen gesehen und stimme zu, dass sie unter Wahrung der Schweigepflicht zum Zweck der/des

- Lehre/Unterrichts**

für die Dauer von 5 Jahren verwendet werden.

Ich weiß, dass ich diese Einverständniserklärung jederzeit, ohne Angabe von Gründen und ohne Einfluss auf meine weitere Behandlung widerrufen kann.

Tübingen, den .....

\_\_\_\_\_  
Name, Vorname

\_\_\_\_\_  
Geburtsdatum

\_\_\_\_\_  
Unterschrift (Patient/Patientin)

\_\_\_\_\_  
Unterschrift (Arzt/Ärztin/Psychologe/in)