

Technische Universität München

Fakultät für Medizin

Differentielle neuronale Korrelate für die Bedrohung durch Schmerz, Raubtiere und aggressive Artgenossen in der Amygdala und im Hypothalamus des Menschen: eine translationale fMRT-Studie

Teresa Bertram

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades einer Doktorin der Medizin (Dr. med.) genehmigten Dissertation.

Vorsitz: Prof. Dr. Gabriele Multhoff

Prüfer*innen der Dissertation:

1. Priv.-Doz. Dr. Christian F. Sorg
2. apl. Prof. Dr. Gerhard Rammes

Die Dissertation wurde am 23.08.2021 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 04.01.2022 angenommen.

Wesentliche Teile der vorliegenden Arbeit wurden zur Publikation eingereicht als:

Bertram, T. *, Hoffmann, D. *, Huber, C., Brandl, F., Starke, G., Sorg, C. †, Bratec, S. M. †

Human defence circuits: threats of pain, aggressive conspecific, and predator elicit distinct BOLD activations in the amygdala and hypothalamus.

* These authors contributed equally to this work.

† These authors contributed equally to this work.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	V
Abbildungsverzeichnis	VI
Tabellenverzeichnis	VII
Zusammenfassung	VIII
Abstract.....	X
1. Einleitung.....	1
1.1 Evolutionäre Entwicklung von Bedrohungsverhalten.....	1
1.2 Differentielle neuronale Korrelate für verschiedene Bedrohungsarten in Nagetieren	2
1.3 Amygdala, Hypothalamus und periaquäduktales Grau	5
1.4 Bisherige Ergebnisse zu neuronalen Korrelaten von Bedrohung beim Menschen	6
1.5 Klinische Relevanz – neuropsychiatrische Erkrankungen als Störungen des Bedrohungsverhaltens	7
1.6 Grundlagen der Magnetresonanztomografie	8
1.7 Funktionelle Magnetresonanztomografie	9
1.8 Grundlagen der Furchtkonditionierung	11
2. Fragestellung und Hypothese.....	12
3. Methodik.....	15
3.1 Probandinnen	15
3.2 Experimentelles Design.....	16
3.3 Experimenteller Ablauf	20
3.4 Datenerhebung- und Analyse	20
3.4.1 Verhaltensdaten	20
3.4.2 Physiologische Daten.....	22
3.4.3 Bildgebung: Datenerhebung und -verarbeitung.....	22
3.4.4 Bildgebung: Statistische Auswertung	24
4. Ergebnisse	27
4.1 Verhaltensdaten	27
4.1.1 Arousal-Bewertungen für die unkonditionierten Stimuli	27
4.1.2 Effekt der Konditionierung für jeden Bedrohungstyp	29
4.2 Bildgebung	31
4.2.1 Effekt der Konditionierung in den Fokus-Regionen: Haupteffekt des Faktors CS-Typ (CS+, CS–)	31
4.2.2. Effekt der Konditionierung im gesamten Gehirn: Haupteffekt des Faktors CS-Typ (CS+, CS–).....	32
4.2.3. Differentielle bedrohungsassoziierte Aktivierungen zwischen den verschiedenen Bedrohungsarten: Interaktion zwischen CS-Typ (CS+, CS–) und Bedrohungstyp (Schmerz, Raubtier, Artgenosse).....	36
4.2.4. Differentielle bedrohungsassoziierte Aktivierungen zwischen Paaren von Bedrohungstypen: Post-hoc-gepaarte t-Tests	38
5. Diskussion.....	42
5.1 Überprüfung des Konditionierungserfolges.....	42
5.2 Differentielle bedrohungsassoziierte Aktivierungen	43
5.2.1 Amygdala	43
5.2.2 Hypothalamus	45
5.2.3 Periaquäduktales Grau	47

5.3 Klinische Relevanz.....	49
5.4 Methodologische Überlegungen und Limitationen	50
5.5 Schlussfolgerung.....	52
Danksagung	53
Literaturverzeichnis	54
Anhang	63

Abkürzungsverzeichnis

AHN	anterior hypothalamic nucleus (anteriorer hypothalamischer Kern)
ANOVA	analysis of variance (Varianzanalyse)
BLA	basolaterale Amygdala
BMA	basomediale Amygdala
BOLD	blood oxygen level dependent
CBF	cerebral blood flow (zerebraler Blutfluss)
CEA	central amygdala (zentrale Amygdala)
CS	conditioned stimulus (konditionierter Reiz)
dIPAG	dorsolaterales periaquäduktales Grau
dmPAG	dorsomediales periaquäduktales Grau
dmPMD	dorsomedialer Teil des dorsalen präamillären Nukleus
dmVMH	dorsomedialer Teil des ventromedialen Hypothalamus
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie
FWE	family-wise error rate
FWHM	full width at half maximum (Halbwertsbreite)
GLM	general linear model (allgemeines lineares Modell)
HRF	hemodynamic response function (häodynamische Antwortfunktion)
ITI	Inter-Trial-Intervall
LA	laterale Amygdala
IPAG	laterales periaquäduktales Grau
MEA	mediale Amygdala
MNI	Montreal Neurological Institute
MPN	medial preoptic nucleus (medialer präoptischer Kern)
MPRAGE	magnetization prepared rapid acquisition gradient echo
PAG	periaquäduktales Grau
PMV	ventraler präamillärer Nukleus
RETROICOR	retrospective image correction
SAM	Self-Assessment-Manikin
SPM	statistical parametric map
TE	echo time (Echozeit)
TR	repetition time (Repetitionszeit)
US	unconditioned stimulus (unkonditionierter Reiz)
vIPAG	ventrolaterales periaquäduktales Grau
vIPMD	ventrolateraler Teil des dorsalen präamillären Nukleus
vVMH	ventrolateraler Teil des ventromedialen Hypothalamus

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 I Differentielle neuronale Korrelate für verschiedene Bedrohungsarten in Nagetieren.

Abbildung 2 I Hintergrund und Hypothese der vorliegenden Arbeit. A) Empirischer Hintergrund. B) Theoretischer Hintergrund. C) Hypothese.

Abbildung 3 I Experimentelles Design: Schematische Abbildung eines Trials aus jeder der drei Bedrohungsbedingungen.

Abbildung 4 I Experimentelles Design: A) CS-US Kontingenz über einen Durchlauf des Experimentes. B) Abfolge von CS_{+eins}, CS_{+zwei} und CS₋ über einen Durchlauf des Experimentes.

Abbildung 5 I Experimentelles Design: Self-Assessment-Manikin Skala.

Abbildung 6 I Arousal-Bewertungen für die unkonditionierten Stimuli.

Abbildung 7 I Effekt der Konditionierung für jeden Bedrohungstyp.

Abbildung 8 I Effekt der Konditionierung in den Fokus-Regionen.

Abbildung 9 I Effekt der Konditionierung im gesamten Gehirn.

Abbildung 10 I Differentielle neuronale BOLD-Aktivierungen für die Bedingungen Bedrohung durch Schmerz, Raubtiere und aggressive Artgenossen in den Fokus-Regionen.

Abbildung 11 I Differentielle bedrohungsassoziierte BOLD-Aktivierungen zwischen Paaren von Bedrohungstypen: Post-hoc gepaarte t-Tests.

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 I Effekt der Konditionierung: Haupteffekt des Faktors CS-Typ (CS+, CS–).

A) Fokus-Regionen. B) Gesamtes Gehirn.

Tabelle 2 I Differentielle BOLD-Aktivierungen für die drei Bedrohungsbedingungen.

A) Interaktionseffekt zwischen den Faktoren CS-Typ (CS+, CS–) und Bedrohungstyp (Schmerz, Raubtier, Artgenosse). B) Post-hoc gepaarte t-Tests für CS+ > CS– zwischen Paaren von Bedrohungstypen.

Zusammenfassung

Defensive Verhaltensweisen als Reaktionen auf Bedrohungen zeigen ausgeprägte Parallelen über verschiedene Säugetierarten hinweg und werden durch eine bemerkenswert konservierte neuronale Architektur unterstützt. Bedrohliche Reize, die für die meisten Spezies relevant sind, sind unter anderem die Gefahr von einem Raubtier oder einem aggressiven Artgenossen angegriffen zu werden sowie die Bedrohung durch Schmerz. Umfangreiche Studien an Nagetieren haben die Bedrohung durch Schmerz, Raubtiere und aggressive Artgenossen mit unterschiedlichen neuronalen Schaltkreisen in Subregionen der Amygdala, des Hypothalamus und des periaquäduktalen Grau assoziiert. In Anbetracht des beträchtlichen Grades an evolutionsgeschichtlicher Konservierung über Säugetierarten hinweg – von Bedrohungsverhalten einerseits wie der Anatomie dieser Regionen andererseits – stellt diese Arbeit die Hypothese auf, dass eine differentielle Hirnaktivität für die Bedrohung durch Schmerzen, Raubtiere und aggressive Artgenossen auch in subkortikalen Hirnregionen des Menschen vorhanden ist. Fünfundvierzig gesunde Probandinnen wurden während klassischer aversiver Konditionierung einer funktionellen Magnetresonanztomografie-Messung unterzogen. In Analogie zu Studien an Nagetieren bestanden die Bedrohungsreize aus schmerzhaften Elektroschocks, einem kurzen Videoclip eines angreifenden Bären und einem kurzen Videoclip eines angreifenden aggressiven Mannes. Um den Einfluss konfundierender Eigenschaften der unterschiedlichen Bedrohungsreize wie sensorischer Modalität oder Intensität zu minimieren und somit Hirnaktivität über verschiedene Bedrohungstypen hinweg vergleichen zu können, fokussierten wir die Analyse der Bildgebungsdaten auf den Zeitpunkt der Präsentation des konditionierten Stimulus (*conditioned stimulus*, CS). Unsere Ergebnisse zeigen erstmals differentielle CS-assoziierte Hirnaktivierungen in der menschlichen Amygdala

und im Hypothalamus für die Bedrohung durch Schmerz, Raubtiere und aggressive Artgenossen. Die Daten legen nahe, dass auch im menschlichen Gehirn die bei Nagetieren identifizierten unterschiedlichen Schaltkreise für verschiedene Arten von Bedrohung konserviert sein könnten und haben damit potentiell Implikationen für das Verständnis von Erkrankungen, die durch maladaptives Bedrohungsverhalten gekennzeichnet sind, wie Angststörungen, Depressionen oder chronische Schmerzsyndrome.

Abstract

Defensive behaviors in response to threats show pronounced parallels across different mammalian species and are supported by a remarkably conserved neural architecture. Threatening stimuli relevant to most species include the threat of being attacked by a predator or an aggressive conspecific as well as the threat of pain. Extensive studies in rodents have associated the threats of pain, predators and aggressive conspecifics with distinct neural circuits in subregions of the amygdala, hypothalamus, and periaqueductal gray.

Given the considerable degree of evolutionary conservation of both defensive behaviors and the anatomy of these regions across mammalian species, we hypothesized that distinct brain activity corresponding to the threats of pain, predators and aggressive conspecifics may also exist in human subcortical brain regions. Forty-five healthy female subjects underwent functional magnetic resonance imaging during classical aversive conditioning. In close analogy to the rodent studies, the threatening stimuli consisted of painful electric shocks, a short video clip of an attacking bear and a short video clip of an attacking aggressive man. To minimize the influence of confounding properties of the different threat stimuli, such as sensory modality or intensity, and thus compare brain activity across different threat types, we focused the analysis of the imaging data on the time of presentation of the conditioned stimulus (CS). Threat was thus conceptualized as the expectation of the aversive stimulus during CS-presentation. Our results demonstrate distinct brain activations in the amygdala and hypothalamus for the threats of pain, predators and aggressive conspecifics, for the first time showing differential threat-related brain activity within the human subcortical brain. These results suggest that threat type-specific circuits identified in rodents might be conserved in the human brain and have potential implications for the understanding of disorders characterized by maladaptive responses to threat, such as anxiety disorders, major depression and chronic pain.

1. Einleitung

1.1 Evolutionäre Entwicklung von Bedrohungsverhalten

Defensive Verhaltensweisen als Reaktionen auf Bedrohungen unterliegen einer starken natürlichen Selektion, indem sie die Überlebenschancen und damit den Reproduktionserfolg eines Organismus erhöhen (Blanchard und Blanchard, 2008). Auch wenn die spezifischen Verhaltensweisen vom Kontext und dem Repertoire der jeweiligen Spezies abhängen, sind über verschiedene Säugetierarten hinweg sehr ähnliche Bedrohungsverhalten zu beobachten (Bakshi et al., 2000). Bei Ratten und Mäusen führen zum Beispiel eindeutige unmittelbare Bedrohungsreize, wie ein Raubtier, tendenziell zur Flucht, wenn ein Fluchtweg vorhanden ist und zur Erstarrung (*freezing*), wenn dies nicht der Fall ist (Blanchard et al., 1989). Ist der Bedrohungsreiz dagegen nicht eindeutig oder partiell (z.B. der Geruch eines Raubtiers), besteht die prototypische Reaktion darin, sich auf den Reiz zu orientieren und ihn zu untersuchen (*risk assessment*) (Blanchard et al., 2011). Sehr ähnliche Verhaltensmuster sind auch beim Menschen zu beobachten (Blanchard et al., 2001; Perkins und Corr, 2006; Shuhama et al., 2008; Löw et al., 2015; Bastos et al., 2016). So untersuchten beispielsweise Blanchard et al. (2001) in schriftlichen Beschreibungen von bedrohlichen Szenarien den Einfluss von situativen Faktoren wie z.B. der Entfernung oder der Mehrdeutigkeit des Bedrohungsreizes, der Möglichkeit der Situation zu entkommen oder das Vorhandensein eines Verstecks, auf die Wahl des Abwehrverhaltens bei menschlichen Probanden. Dabei entsprach die Wahl des menschlichen Abwehrverhaltens überwiegend den Mustern bekanntem tierischen Abwehrverhaltens (z.B. defensiver Angriff bei unmittelbarer Bedrohung; Risikoabschätzung bei unklarer Bedrohung). Dieses Ergebnis konnte in mehreren nachfolgenden Studien in verschiedenen kulturellen

Kontexten repliziert werden (Perkins und Corr, 2006; Shuhama et al., 2008; Harrison et al., 2015).

Darüber hinaus - und kritisch für diese Arbeit - deutet eine Vielzahl von Studien darauf hin, dass Bedrohungsverhalten durch eine über Spezies hinweg überlappende neuronale Architektur unterstützt wird, die sich von subkortikalen Schaltkreisen im Hypothalamus und periaquäduktalen Grau (PAG) über die Amygdala, das Striatum und den Hippokampus bis hin zu kortikalen Bereichen wie dem präfrontalen Kortex und Gyrus cinguli erstreckt (McNaughton und Corr, 2004; Price, 2005; LeDoux und Daw, 2018).

Sowohl Bedrohungsverhalten als auch die mit der Verarbeitung bedrohlicher Reize assoziierten Hirnregionen zeigen also einen hohen Grad an phylogenetischer Kontinuität.

1.2 Differentielle neuronale Korrelate für verschiedene Bedrohungsarten in Nagetieren

Obwohl die genauen Quellen von Bedrohung von Spezies zu Spezies variieren, lassen sich grundlegende Arten von Bedrohungsreizen unterscheiden, die für die meisten Tiere relevant sind (Gross und Canteras, 2012). Dazu gehören die Gefahr von einem Raubtier oder einem aggressiven Artgenossen angegriffen zu werden, sowie die Bedrohung durch Schmerz, wie z.B. bei Verletzungen oder Verbrennungen. Eine umfangreiche Reihe von Studien an Nagetieren hat gezeigt, dass solche verschiedenen Arten von Bedrohungsreizen mit unterschiedlichen subkortikalen Schaltkreisen assoziiert sind (Dielenberg et al., 2001; Bittencourt et al., 2004; Cezario et al., 2008; Motta et al., 2009; Martinez et al., 2011; Tovote et al., 2016; Wang et al., 2019); für Übersichtsartikel siehe Gross und Canteras (2012) und Silva et al. (2016).

Diese Studien deuten darauf hin, dass die Bedrohung durch Schmerzen, Raubtierangriffe und aggressive Artgenossen unterschiedliche neuronale Schaltkreise in Subregionen der Amygdala, des Hypothalamus und des PAG aktivieren (siehe Abbildung 1). So wurde beispielsweise gezeigt, dass Bedrohung durch Schmerzen bei Nagetieren bevorzugt die basolaterale Amygdala (BLA), die laterale Amygdala (LA) und die zentrale Amygdala (CEA) rekrutiert, um über das ventrolaterale PAG (vIPAG) Abwehrreaktionen auf Schmerzreize zu erzeugen. Die Bedrohung durch ein Raubtier hingegen rekrutiert die LA und die basomediale Amygdala (BMA), den dorsomedialen Teil des ventromedialen Hypothalamus (dmVMH), den anterioren hypothalamischen Nukleus (AHN), den ventrolateralen Teil des dorsalen präamillären Nukleus (vIPMD) und das dorsolaterale PAG (dIPAG). Bedrohungen durch einen aggressiven Artgenossen wurden mit der medialen Amygdala (MEA), dem ventrolateralen Teil des VMH (vIVMH), dem dorsomedialen PMD (dmPMD), dem medialen präoptischen Kern (MPN), dem ventralen präamillären Kern (PMV) und dem dorsomedialen PAG (dmPAG) assoziiert, siehe Abbildung 1.

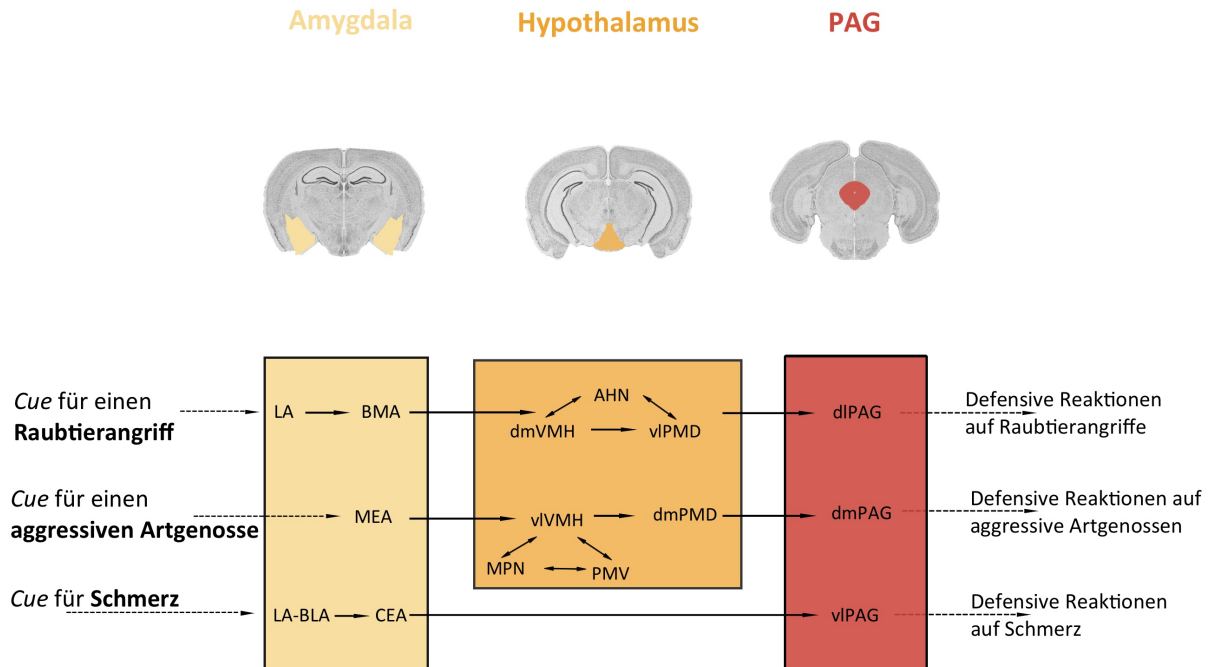


Abbildung 1 | Differentielle neuronale Korrelate für verschiedene Bedrohungsarten in Nagetieren.

Gross und Canteras (2012) fassen in diesem Modell die Ergebnisse aus einer Reihe von Studien an Nagetieren zusammen, welche verschiedene Arten von Bedrohungsreizen mit unterschiedlichen subkortikalen Schaltkreisen assoziiert haben. Nach diesem Modell rekrutieren Reize, die mit Bedrohung durch Schmerzen assoziiert wurden, die basolaterale Amygdala (BLA), die laterale Amygdala (LA) und die zentrale Amygdala (CEA), um über das ventrolaterale PAG (vIPAG) defensive Reaktionen auf Schmerzen zu erzeugen. Die Bedrohung durch einen Raubtierangriff ist mit der LA und der basomedialen Amygdala (BMA), dem dorsomedialen Teil des ventromedialen Hypothalamus (dmVMH), dem anterioren hypothalamischen Nucleus (AHN), dem ventrolateralen Teil des dorsalen präamillären Nucleus (vIPMD) und dem dorsolateralen PAG (dIPAG) assoziiert. Bedrohung durch einen aggressiven Artgenossen rekrutiert die mediale Amygdala (MEA), den ventrolateralen Teil des VMH (vVMH), den dorsomedialen PMD (dmPMD), den medialen präoptischen Nucleus (MPN), den ventralen präamillären Nucleus (PMV) und das dorsomediale PAG (dmPAG). Adaptiert von Gross und Canteras (2012).

1.3 Amygdala, Hypothalamus und periaquäduktales Grau

Die Amygdala ist eine heterogene Gruppe von Kernen und kortikalen Regionen, die sich im medialen Temporallappen rostral der Hippokampusformation befindet (Freese und Amaral, 2009). Die strukturelle Organisation der Amygdala zeigt ausgeprägte Parallelen über die Säugetierevolution hinweg (Barton et al., 2003; Pabba, 2013). Funktionell spielt die Amygdala eine wichtige Rolle beim Erlernen der emotionalen Relevanz eines Reizes (Tottenham et al., 2009; Cunningham und Brosch, 2012). Im Kontext der Verarbeitung von Bedrohungsreizen wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Amygdala als Ort der Integration fungiert, indem dort bedrohungsbezogene Afferenzen von verschiedenen sensorischen Modalitäten zusammengebracht und entlang verschiedener nachgeordneter Regionen kanalisiert werden, um ein kontextuell angemessenes Abwehrverhalten zu erzeugen (Feinstein et al., 2011; Pereira und Moita, 2016).

Der Hypothalamus, eine ebenfalls evolutionär hoch konservierte Region (Xie und Dorsky, 2017) am Boden des Zwischenhirns, ist in eine Reihe homöostatischer Prozesse und Verhaltensweisen wie die Regulation von Wärme-, Wasser- und Elektrolythaushalt (Tan et al., 2016; Allen et al., 2017), Nahrungssuche (Aponte et al., 2011), Schlaf-/Wachrhythmus (Ono und Yamanaka, 2017), sexueller Aktivität (Vaughan und Fisher, 1962; Davidson, 1966) und Verteidigungsverhalten (Kunwar et al., 2015; Mangieri et al., 2019) involviert. In Modellen der Bedrohungsverarbeitung wird der Hypothalamus der Amygdala nachgeschaltet (Gross und Canteras, 2012; LeDoux und Daw, 2018) und wird mit den autonomen und endokrinen Komponenten der Reaktionen auf Bedrohungen, wie beispielsweise einer Sympathikusaktivierung, und der gleichzeitigen Unterdrückung nicht akut

bedrohungsrelevanter Tätigkeiten wie Essen, Trinken und Sexualverhalten assoziiert (Blanchard et al., 1995; Wang et al., 2015).

Das PAG ist der Teil der ventrikulären grauen Substanz, der den Mittelhirn-Aquädukt umgibt und kann in vier Kolumnen unterteilt werden: das laterale PAG (lPAG), vlPAG, dlPAG und dmPAG (Carrive, 1993; Bandler und Shipley, 1994). Neben einer Rolle in der Schmerzwahrnehmung und -modulierung (Hosobuchi et al., 1977; Porreca et al., 2002) und der Regulation respiratorischer und kardiovaskulärer Prozesse (Subramanian et al., 2008; Dampney et al., 2013) wird das PAG als Effektorstruktur von Abwehrreaktionen betrachtet (Fanselow, 1994; Gross und Canteras, 2012; LeDoux, 2012). Läsionen im dlPAG attenuieren defensive Reaktionen wie Risikobewertung, Flucht oder Erstarrung in Ratten (Blanchard et al., 1981; Sukikara et al., 2010) während elektrische, pharmakologische oder optogenetische Stimulation des PAG bei Ratten, Katzen und Mäusen Abwehrreaktionen hervorrufen (Hunsperger, 1956; Bandler, 1982; Di Scala et al., 1984; Bittencourt et al., 2005; Chen et al., 2015; Deng et al., 2016). Wie auch bei der Amygdala und dem Hypothalamus findet sich beim PAG ein hoher Grad an struktureller Konservierung über die Säugetierevolution hinweg (Carrive und Morgan, 2012).

1.4 Bisherige Ergebnisse zu neuronalen Korrelaten von Bedrohung beim Menschen

Es ist nicht überraschend, dass Studien am Menschen auf die Beteiligung ähnlicher Hirnstrukturen bei der Verarbeitung von Bedrohungssignalen hindeuten. Eine große Anzahl funktioneller Bildgebungsstudien impliziert die menschliche Amygdala in der Furchtkonditionierung mit schmerzhaften Stimuli (z.B. Sehlmeier et al., 2009) sowie in Reaktionen auf angsterfüllte Gesichter von Artgenossen (z.B. Whalen et al., 2004). Mobbs et al.

(2007) zeigten, dass sich mit der Annäherung eines virtuellen Raubtieres die Hirnaktivität vom ventromedialen präfrontalen Kortex auf das PAG verlagerte. Elektrische Stimulation des dorsalen PAG und des ventromedialen Hypothalamus lösen beim Menschen Panikgefühle aus (zusammengefasst in Elias et al., 2020). Eine weitere Bildgebungsstudie verglich Reaktion auf Bilder einer tatsächlichen Bedrohung mit denen auf lediglich negative Bilder ohne Bedrohungscharakter und zeigte, dass die Bedrohungsbilder größere und frühere neuronale Aktivierungen in der Amygdala und im PAG hervorriefen als die negativen Bilder (Kveraga et al., 2015). Eine weitere Studie untersuchte Menschen mit bilateralen Kalzifikationen der BLA sowie Ratten mit BLA-Läsionen und fand Hinweise, dass die BLA bei beiden Spezies für den Wechsel von passivem defensivem zu aktivem Fluchtverhalten notwendig ist (Terburg et al., 2018). Unklar ist jedoch bisher, ob verschiedene Arten von Bedrohungen diese subkortikalen Regionen im menschlichen Gehirn differentiell rekrutieren.

1.5 Klinische Relevanz – neuropsychiatrische Erkrankungen als Störungen des Bedrohungsverhaltens

Eine wichtige Motivation für die Erforschung defensiver Verhaltensweisen und zugrundeliegender neuronaler Schaltkreise ist deren mögliche Rolle bei bestimmten menschlichen Psychopathologien. So ist bei Angststörungen, Depressionen und chronischen Schmerzen bekannt, dass Verzerrungen in der Aufmerksamkeit gegenüber bedrohlichen Reizen eine wichtige Rolle bei der Entwicklung und Aufrechterhaltung der Störung spielen (Foa et al., 1996; Bradley et al., 1999; Baliki und Apkarian, 2015; Sylvester et al., 2016).

Medikamente, die bei Menschen klinisch gegen Angststörungen wirksam sind, modulieren das Abwehrverhalten von Nagetieren (Blanchard et al., 1991; Griebel et al., 1995; Pinheiro et al., 2008). Das deutet darauf hin, dass diese Krankheiten mit Veränderungen in Gehirnsystemen assoziiert sind, die Bedrohungen verarbeiten. Diese Hypothese wird durch die Entdeckung unterstützt, dass die Ausprägung von Vermeidungsverhalten gegenüber bedrohlichen Reizen beim Menschen durch das Benzodiazepin Lorazepam moduliert wird (Perkins et al., 2009).

Eine methodische Schwierigkeit in der translationalen Erforschung der Rolle von Bedrohungsverhalten bei neuropsychiatrischen Störungen liegt darin, dass in Studien an nichtmenschlichen Tieren meist physiologische defensive Verhaltensweisen untersucht werden, während Studien am Menschen sich häufig auf die Psychopathologie konzentrieren. Versuche, diese Lücke zu schließen, verfolgen häufig den Ansatz Tiermodelle von psychopathologischen Zuständen zu entwickeln (Lezak et al., 2017; Harro, 2018). Eine alternative Herangehensweise ist die Untersuchung physiologischer Reaktionen gegenüber Bedrohungen bei Menschen, wie in der vorliegenden Arbeit. Die Aufklärung der grundlegenden neuronalen Mechanismen für adaptives Bedrohungsverhalten beim Menschen ist grundlegend für ein besseres Verständnis von Störungen, die durch maladaptive Reaktionen auf Bedrohungen gekennzeichnet sind.

1.6 Grundlagen der Magnetresonanztomografie

Die Magnetresonanztomographie (MRT) ist ein bildgebendes Verfahren, das sich den hohen Anteil von Wasserstoffatomen in Form von Wasser im menschlichen Gewebe zu Nutze macht. Wasserstoffatome haben einen magnetischen Drehimpuls um die eigene Achse, einen

sogenannten magnetischen Kernspin. Dieser induziert um den Atomkern herum ein kleines Magnetfeld, das sogenannte magnetische Dipolmoment. Im MR-Tomographen wird nun ein starkes äußeres Magnetfeld angelegt, durch das die Dipolmomente der Wasserstoffatome entlang der z-Achse ausgerichtet werden (Längsmagnetisierung). Durch einen Hochfrequenz-Impuls aus Radiofrequenzspulen werden die Spins daraufhin unter Aufnahme von Energie um 90° in die x-y-Ebene ausgelenkt (transversale Magnetisierung). Nach Abschalten des Radiofrequenzimpulses kehren die Spins aus der transversalen Lage wieder in ihre Ausrichtung entlang der z-Achse zurück (Relaxation). Die zuvor zugeführte Energie wird dabei wieder abgegeben und erzeugt in der Empfangsspule das MR-Signal, d.h. das MR-Signal repräsentiert Prozesse der transversalen Magnetisierung. Die Relaxation kann durch zwei Vorgänge beschrieben werden: den Wiederaufbau der Längsmagnetisierung in der z-Richtung (T1-Relaxationszeit) sowie die Abnahme des Gesamtmagnetisierungsvektors in der transversalen Richtung (T2-Relaxationszeit). Der Bildkontrast basiert nun darauf, dass verschiedene Gewebearten aufgrund ihres verschiedenen Protonengehalts unterschiedliche T1- und T2-Zeiten aufweisen. Zusätzlich können durch die Variation der Dauer zwischen zwei Radiofrequenzimpulsen (Repetitionszeit, TR) und der Zeit zwischen Radiofrequenzimpuls und Messung des Signals (Echozeit, TE) diese intrinsischen Gewebeeigenschaften unterschiedlich stark gewichtet werden (Weishaupt et al., 2009).

1.7 Funktionelle Magnetresonanztomografie

Funktionelle Magnetresonanztomografie (fMRT) beschreibt die Nutzung von MR-Bildgebung zur Abbildung von Hirnaktivität. Die am weitesten verbreitete Methode der funktionellen MR-Bildgebung basiert auf dem *Blood-Oxygen-Level-Dependent*(BOLD)-Signal, einem indirekten

Maß für neuronale Aktivität, das auf den unterschiedlichen magnetischen Eigenschaften von oxygeniertem und desoxygeniertem Blut beruht (Ogawa et al., 1990). Neuronale Aktivität verbraucht Energie, z.B. für die Aufrechterhaltung und Wiederherstellung von Ionengradienten und den Transport und die Wiederaufnahme von Neurotransmittern (Ames, 2000). Dadurch steigt der Bedarf an Glucose und Sauerstoff, welche durch eine Zunahme des regionalen Blutflusses (*cerebral blood flow*, CBF) bereitgestellt werden. Die Zunahme des regionalen Blutflusses kann sowohl direkt durch synaptische Aktivität z.B. über die Aktivierung vasoaktiver Faktoren wie Kalium, Stickstoffmonoxid oder Prostaglandine über post-synaptische Glutamatrezeptoren (Drake und Iadecola, 2007; Attwell et al., 2010) als auch sekundär durch den erhöhten Energieverbrauch durch den Anfall vasoaktiver Stoffwechselprodukte wie Adenosin, CO₂, H⁺, oder Laktat (Ko et al., 1990; Freeman und Li, 2016) initiiert werden. Die verschiedenen Mechanismen im Zusammenspiel zwischen elektrischer und metabolischer Aktivität sowie CBF werden als neurovaskuläre bzw. neurometabolische Kopplung bezeichnet. Der zeitliche Verlauf des regionalen CBF wird in der hämodynamischen Antwortfunktion (*hemodynamic response function*, HRF) beschrieben: dabei steigt der Blutfluss ein bis zwei Sekunden nach der neuronalen Aktivität an und erreicht seinen Höhepunkt nach etwa fünf Sekunden (Logothetis und Wandell, 2004). Da der Blutfluss stärker zunimmt als der Sauerstoffverbrauch kommt es zu einer relativen Erhöhung von oxygeniertem Hämoglobin im Verhältnis zu desoxygeniertem Hämoglobin (Fox und Raichle, 1986; Fox et al., 1988). Oxygeniertes und desoxygeniertes Hämoglobin weisen eine unterschiedliche magnetische Suszeptibilität auf: desoxygeniertes Hämoglobin ist paramagnetisch (Pauling und Coryell, 1936) und verursacht dadurch Magnetfeldinhomogenitäten, die zu einer Abnahme des Signals in T2-gewichteten Sequenzen führen (Ogawa et al., 1990). Die relative Abnahme der Konzentration von desoxygeniertem im Verhältnis zu oxygeniertem Hämoglobin führt daher zu einem

Signalanstieg in T2*-gewichteten Sequenzen, sodass durch den BOLD-Kontrast als indirektes Maß Rückschlüsse auf regionale neuronale Aktivität gezogen werden können. So kann fMRT genutzt werden, um Veränderungen in der Aktivität von Gehirnregionen als Reaktion auf bestimmte Sinnesreize während einer Aufgabe oder auch im Ruhezustand zu messen. Wichtig ist jedoch, sich vor Augen zu führen, dass – neben der Beschränkung durch die zeitliche Auflösung – das Signal eines Datenpunktes durchschnittlich die summierte Aktivität von etwa 5 Millionen Neuronen und 50 Milliarden Synapsen repräsentiert (Logothetis, 2008).

1.8 Grundlagen der Furchtkonditionierung

Die Furchtkonditionierung stellt das am besten untersuchte Modellsystem dar, um Reaktionen auf Bedrohungen zu erforschen (LeDoux, 2000). Basierend auf dem Prinzip der klassischen Pavlov'schen Konditionierung (Pavlov, 1927) zeichnet diese sich durch eine Assoziation eines neutralen Stimulus mit einem aversiven unconditionierten Stimulus (*unconditioned stimulus*, US) aus. Der aversive US, beispielsweise ein Schmerzreiz, löst eine Furchtreaktion aus. Durch wiederholte gepaarte Darbietung des US mit einem neutralen Stimulus, wie einer bestimmten Lernumgebung oder einem Ton, der an sich zu keiner Furchtreaktion führt, entsteht eine Verknüpfung (Assoziation) zwischen neutralem Reiz und US. Der neutrale Reiz wird zum konditionierten Stimulus (*conditioned stimulus*, CS) und löst auch ohne nachfolgenden US eine Furchtreaktion aus. Konditionierungsparadigmen ermöglichen es, Lern- und Gedächtnisprozesse auf ihre grundlegendsten Komponenten zu reduzieren und somit in einem kontrolliert-reduktionistischen Modell systematisch zu untersuchen.

2. Fragestellung und Hypothese

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die neuronalen Korrelate unterschiedlicher Bedrohungsarten im menschlichen subkortikalen Gehirn zu untersuchen. Umfangreiche Studien an Nagetieren haben die Bedrohung durch Schmerz, Raubtiere und aggressive Artgenossen mit unterschiedlichen neuronalen Schaltkreisen in Subregionen der Amygdala, des Hypothalamus und des PAG assoziiert. In Anbetracht des hohen Grades an evolutionsgeschichtlicher Konservierung von defensiven Verhaltensweisen sowie von der Anatomie dieser Regionen, stellt sich die Frage, ob auch im menschlichen Gehirn unterschiedliche neuronale Schaltkreise für verschiedene Arten von Bedrohung existieren. Bislang hat noch keine Studie die neuronalen Korrelate der Bedrohung durch Schmerz, Raubtiere und aggressive Artgenossen in der menschlichen Amygdala, im Hypothalamus und im PAG untersucht.

Um dieser Fragestellung nachzugehen, wurde fMRT zur Messung der BOLD-Aktivität bei 45 gesunden Probandinnen während eines Furchtkonditionierungsexperimentes mit drei verschiedenen Bedrohungsmodalitäten verwendet (siehe Abbildung 2). Analog zu den Nagetierstudien waren die aversiven Stimuli schmerzhaftes Elektroschocks („Bedrohung durch Schmerz“), ein kurzer Videoclip eines attackierenden Bären („Bedrohung durch ein Raubtier“) und ein kurzer Videoclip eines aggressiven Mannes („Bedrohung durch einen aggressiven Artgenossen“). Wie in vielen früheren Studien zur Furchtkonditionierung (z.B. Fullana et al., 2016) wurden die Reize innerhalb eines klassisch-pavlov'schen Konditionierungsparadigmas präsentiert, sodass Bedrohung als Erwartung des aversiven Reizes während der Präsentation des konditionierten Reizes (CS) konzeptualisiert wurde. Die Analyse der CS-bezogenen Aktivität ermöglichte somit einen Vergleich der Hirnaktivierungen über verschiedene Bedrohungstypen

hinweg, indem konfundierende Einflüsse durch unterschiedliche Eigenschaften der aversiven Stimuli, wie sensorische Modalität oder Intensität, minimiert wurden.

Wir stellten die Hypothese auf, dass die Bedingungen Bedrohung durch Schmerz, Bedrohung durch ein Raubtier und Bedrohung durch einen Artgenossen unterschiedliche CS-bezogene BOLD-Aktivierungen innerhalb der Amygdala, des Hypothalamus und des PAG der Probandinnen zeigen würden.

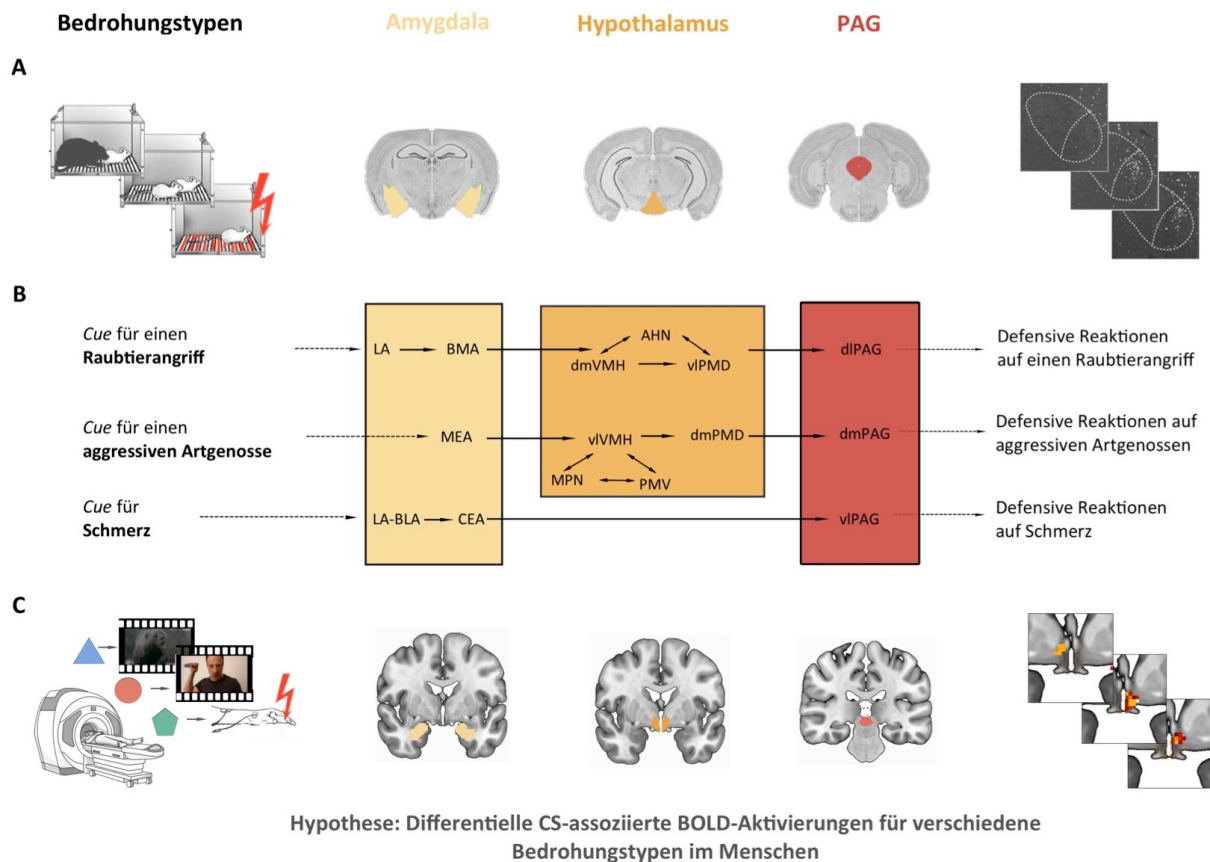


Abbildung 2 | Hintergrund und Hypothese der vorliegenden Arbeit. A) Empirischer Hintergrund:

In einer Reihe von immunhistochemischen, elektrophysiologischen und Läsionsstudien an Nagetieren wurde festgestellt, dass die Bedrohung durch Schmerzen, Raubtierangriffe und aggressive Artgenossen mit unterschiedlichen neuronalen Schaltkreisen in Subregionen der Amygdala, des Hypothalamus und des periaquäduktalen Grau (PAG) assoziiert sind. Von links nach rechts: Vereinfachte Darstellung des experimentellen Aufbaus für drei verschiedene Bedrohungstypen, in Anlehnung an Canteras et al. (2008); koronare histologische Schnitte der drei Regionen, basierend auf dem Allen-Maus-Hirnatlas (2004); Beispiel eines immunhistochemischen Ergebnisses (c-Fos-exprimierende Zellen im ventromedialen Hypothalamus), basierend auf Wang et al. (2019) **B) Theoretischer Hintergrund:** Modell der unterschiedlichen Bedrohungsschaltkreise nach Gross und Canteras (2012). **C) Hypothese:** Die vorliegende funktionelle Magnetresonanztomografie (fMRT)-Studie untersuchte die neuronalen Korrelate von drei analogen Bedrohungstypen bei 45 gesunden menschlichen Probandinnen in einem klassischen aversiven Konditionierungsparadigma. Wir stellten die Hypothese auf, dass sich für konditionierte Stimuli (*conditioned stimuli*, CS) der drei verschiedenen Bedingungen Bedrohung durch Schmerz, Raubtiere und aggressive Artgenossen unterschiedliche *Blood-Oxygen-Level-Dependent*(BOLD)-Aktivierungen innerhalb der Amygdala, des Hypothalamus und des PAG zeigen würden.

3. Methodik

3.1 Probandinnen

Fünfundvierzig gesunde Frauen mit einem Durchschnittsalter von 23,6 Jahren (Standardabweichung = 4,1 Jahre) nahmen an der Studie am Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München teil. Alle Probandinnen waren rechtshändige deutsche Muttersprachlerinnen mit normalem oder korrigiertem Sehvermögen ohne Vorgeschichte psychiatrischer oder neurologischer Erkrankungen und nahmen keine zentral wirksamen Medikamente ein. Die Daten von fünf Teilnehmerinnen wurden aus der Analyse ausgeschlossen aufgrund exzessiver Kopfbewegung während der MR Messungen (N=1), eines hohen Scores für depressive Symptome (22 Punkte im Beck-Depressions-Inventar [Beck et al., 1961], N=1), starker Schläfrigkeit während des Experiments (N=2) und technischer Fehler (N=1). Aufgrund vorbekannter Geschlechtsunterschiede in der Emotionsverarbeitung (McRae et al., 2008; Whittle et al., 2011; Moriguchi et al., 2014), insbesondere in der Furchtkonditionierung (Jackson et al., 2006; Lebron-Milad et al., 2012) wurden nur weibliche Probanden in die Studie aufgenommen. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Technischen Universität München genehmigt, siehe Anhang. Alle Probandinnen wurden ausführlich aufgeklärt, willigten schriftlich in die Teilnahme ein und erhielten eine finanzielle Entschädigung.

3.2 Experimentelles Design

Um die neuronalen Korrelate verschiedener Bedrohungsreize im menschlichen Gehirn zu untersuchen, wurden drei verschiedene aversive Reize innerhalb eines Konditionierungsparadigmas präsentiert (siehe Abbildung 3). Das Konditionierungsparadigma wurde gewählt, da die Fokussierung der Analyse auf den Zeitpunkt der CS-Präsentation es erlaubte, den Einfluss konfundierender Eigenschaften der aversiven Stimuli wie der sensorischen Modalität oder der Intensität zu minimieren und somit Hirnaktivität über verschiedene Bedrohungstypen hinweg zu vergleichen. Das Design wurde von zwei vorherigen Studien adaptiert, welche es auf die Konditionierung mit schmerzhaften Stimuli (Gläscher und Büchel, 2005) und aversiven Bildern (Mulej Bratec et al., 2015) angewandt hatten. Die US in der aktuellen Studie umfassten schmerzhafte Reize in Form von Elektroschocks (für die Bedingung Bedrohung durch Schmerz) sowie zwei audiovisuelle Stimuli mit einer Länge von je 2,5 Sekunden, die den Angriff eines Raubtiers und eines Artgenossen simulierten (für die Bedingungen Bedrohung durch ein Raubtier und Bedrohung durch einen Artgenossen). In der Bedingung Bedrohung durch ein Raubtier bestand der US aus einem Video, welches einen brüllenden Bären zeigt, der mit weit geöffnetem Maul auf den Betrachter zuspringt. Das Video wurde aus Szenen des Horrorfilmes „Into the Grizzly Maze“ (Hackl, 2015) zusammengeschnitten. In der Bedingung Bedrohung durch einen Artgenossen zeigte das Video einen jungen Mann mit einem Messer in der erhobenen Hand, der auf den Betrachter zukommt und einen Schrei ausstößt. Die Szene wurde mit Hilfe eines befreundeten Schauspielers und einer Kamerafrau gedreht. Beide Videoclips wurden mit der Software iMovie (Version 10.0.7., Apple Inc.) geschnitten und sind auf Anfrage erhältlich. Die Elektroschocks wurden mit einem Konstantspannungsstimulator (STM200, Biopac Systems, Goleta, Vereinigte Staaten) für eine

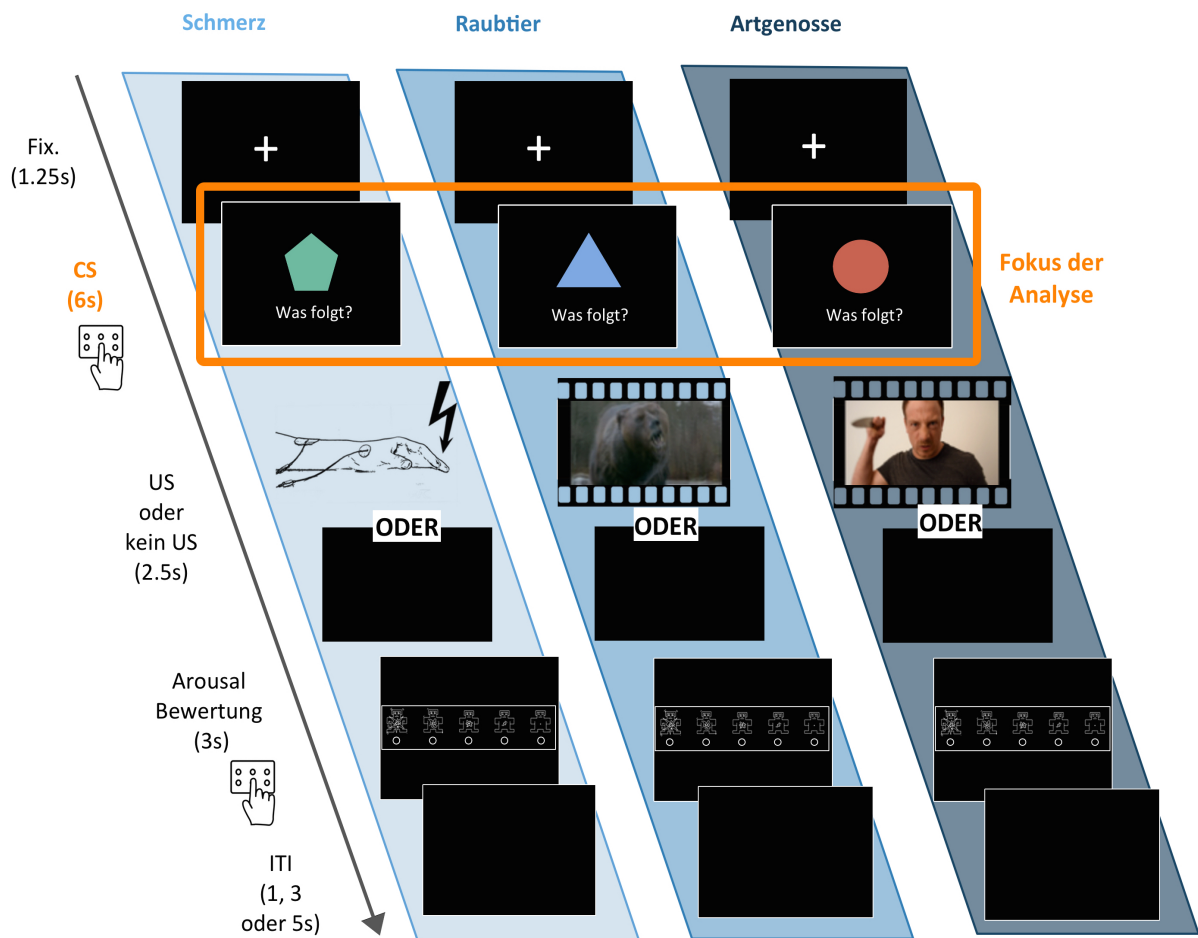


Abbildung 3 | Experimentelles Design: Schematische Abbildung eines Trials aus jeder der drei Bedrohungsbedingungen. Jedes Trial begann mit einem Fixierungskreuz, gefolgt von einem konditionierten Stimulus (*conditioned stimulus*, CS) in Form einer einfachen geometrischen Figur. Während der ersten drei Sekunden der CS-Präsentation gaben die Teilnehmerinnen per Knopfdruck eine Vorhersage ab, ob sie glaubten, dass ein unconditionierter Stimulus (*unconditioned stimulus*, US) folgen würde oder nicht. Die US unterschieden sich je nach Art der Bedrohung. Schmerz: am rechten Handrücken applizierte Elektroschocks; Raubtierangriff: Videoclip eines auf den Betrachter zuspringenden brüllenden Bären; Aggressiver Artgenosse: Videoclip eines aggressiven Mannes, der mit einem Messer in der Hand auf den Betrachter zukommt. Wenn kein US folgte, blieb der Bildschirm schwarz. Danach bewerteten die Probandinnen ihr *arousal* (Erregung bzw. Aktivierung) auf der Self-Assessment-Manikin (SAM) Skala. Jedes Trial endete mit einem Inter-Trial-Intervall (ITI) mit variierender Länge.

Dauer von einer Sekunde am rechten Handrücken appliziert. Um sicherzustellen, dass die Intensität der Schmerzwahrnehmung zwischen den Teilnehmerinnen vergleichbar war, führten wir mit jeder Probandin ein Kalibrierverfahren durch, basierend auf vorherigen Studien zur Schmerzkonditionierung (Phelps et al., 2004; Schiller et al., 2008; Delgado et al., 2011).

Dabei wurde die Stromstärke zunächst schrittweise erhöht, um ein subjektives Minimum (Wahrnehmungsschwelle) sowie ein subjektives Maximum (höchster tolerierbarer Schmerz) zu definieren. Innerhalb dieses Bereiches wurde dann eine Reihe von Testschocks mit zufällig ausgewählten Stromstärken appliziert und die Teilnehmerinnen wurden gebeten, die Intensität jedes Schocks auf einer Skala von 0 (überhaupt nicht schmerzhaft) bis 10 (höchster erträglicher Schmerz) zu bewerten. Am Ende wurde für jede Probandin jeweils die mittlere Stromstärke gewählt, die einer Bewertung von 8/10 entsprach.

Das Experiment bestand aus drei Durchläufen, einem pro Bedrohungstyp, mit jeweils 88 Trials. In jedem Trial mussten die Teilnehmerinnen vorhersagen, ob auf einen CS, in Form einer einfachen geometrischen Form, der US oder ein schwarzer Bildschirm folgen würde, siehe Abbildung 3. Zur Vermeidung von Gewöhnungseffekten variierte die CS-US-Kontingenz entsprechend einer Sinusfunktion (Gläscher und Büchel, 2005; Mulej Bratec et al., 2015), siehe Abbildung 4. In jedem Durchlauf gab es zwei verstärkte CS (CS+; in 50 % aller Fälle mit dem US gepaart), die jeweils individuelle Kontingenzfunktionen hatten, aber auf die jeweils der gleiche US folgte, sowie ein nicht verstärkter CS (CS-; nie mit einem US gepaart), welcher in späteren Analysen als Baseline diente. Die Reihenfolge der drei Durchläufe und die Farben und Formen der CS wurden unter den Probandinnen ausgeglichen (*counterbalancing*). Am Ende jedes Trials wurden die Probandinnen gebeten, ihr aktuelles *arousal* (Erregung bzw. Aktivierung) mit Hilfe der Self-Assessment-Manikin (SAM) Skala zu bewerten (Bradley und Lang, 1994), siehe Abbildung 5.

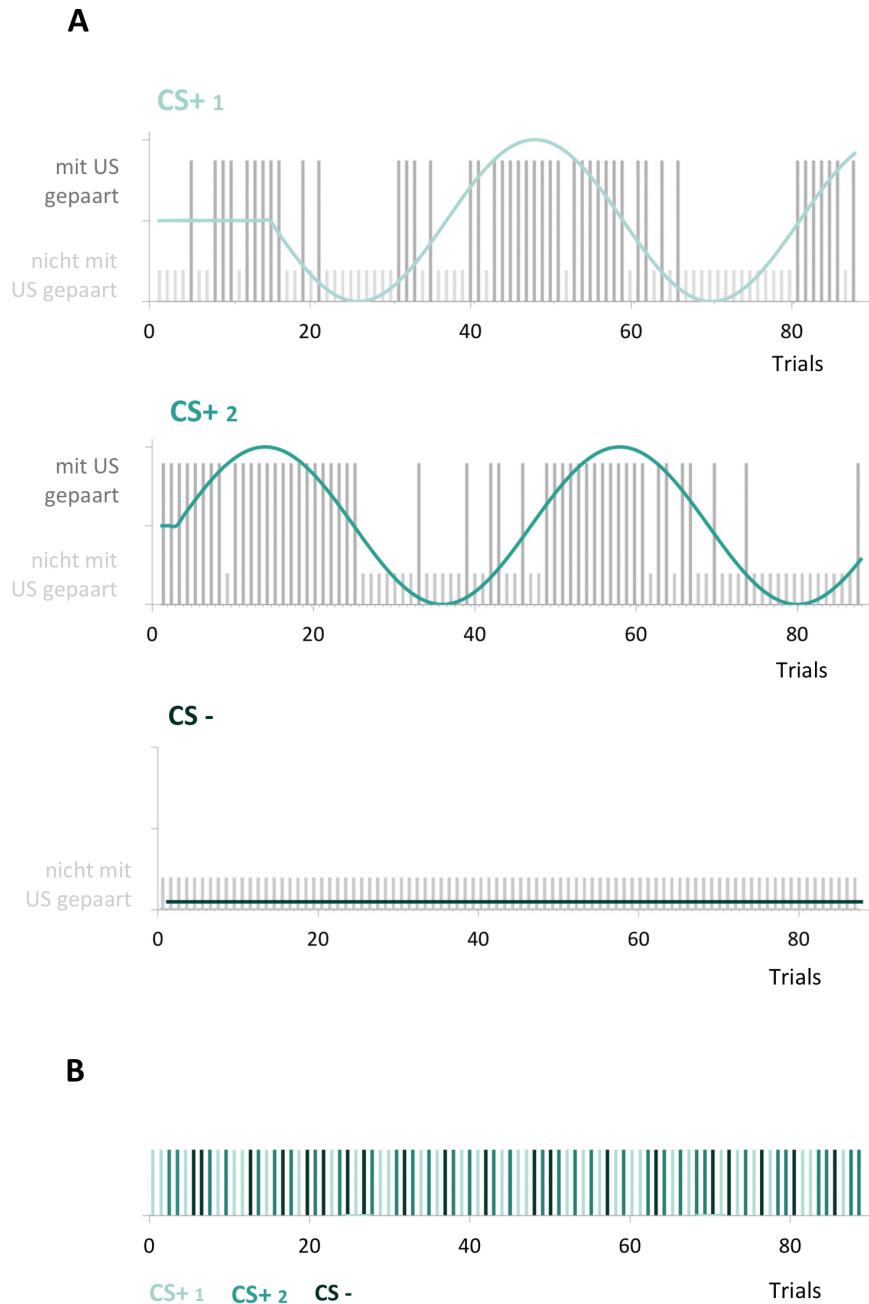


Abbildung 4 | Experimentelles Design: A) CS-US Kontingenz über einen Durchlauf des Experimentes. Zur Vermeidung von Gewöhnungseffekten variierte die Kontingenz von konditioniertem Reiz (*conditioned stimulus*, CS) und unconditioniertem Reiz (*unconditioned stimulus*, US) entsprechend einer Sinusfunktion. In jedem Durchlauf gab es zwei verstärkte CS (CS_{+eins} und CS_{+zwei}; in 50 % aller Fälle mit dem US gepaart), die jeweils individuelle Kontingenzfunktionen hatten, aber auf die jeweils der gleiche US folgte, sowie ein nicht verstärkter CS (CS₋; nie mit einem US gepaart), welcher in späteren Analysen als Baseline diente. **B) Abfolge von CS_{+eins}, CS_{+zwei} und CS₋ über einen Durchlauf des Experimentes.** Das Experiment bestand aus drei Durchläufen (einer für jeden Bedrohungstyp) mit jeweils 88 Trials.

3.3 Experimenteller Ablauf

Den Probandinnen wurde gesagt, dass das Ziel der Studie die Untersuchung von Hirnaktivität während emotionalen Lernens sei und dass das Experiment aversive audiovisuelle Stimuli und schmerzhaftes Elektroschocks enthalten würden. Auf die Aufklärung und Einwilligung folgte eine kurze Übungssitzung, in der die Teilnehmerinnen das Experiment an einem Laptop außerhalb des Scanner-Raums übten, bis sie erfolgreich in der Mehrzahl der Fälle das Auftreten oder Nichtauftreten des US vorhersagen konnten. Form und Farbe der CS sowie Inhalt des US (Videoclip einer vorbeifahrenden Straßenbahn) unterschieden sich vom eigentlichen Experiment. Im Inneren des Scanners wurden die Probandinnen zunächst gebeten, bei der Kalibrierung der Elektroschocks zu assistieren. Danach absolvierten sie während der fMRT-Messungen die drei Durchläufe des Experiments mit einer Dauer von je 24 Minuten.

3.4 Datenerhebung- und Analyse

3.4.1 Verhaltensdaten

Arousal-Bewertungen als Stimulus-Validierung

Die Teilnehmerinnen bewerteten ihren aktuellen Gefühlszustand am Ende jedes Trials mit Hilfe der SAM-Skala für *arousal*, siehe Abbildung 5. Um zu testen, ob die US bei den Probandinnen erfolgreich eine Bedrohungsreaktion (d.h. eine aversive emotionale Reaktion) induzierten, führten wir eine 2x3-ANOVA (*analysis of variance*, Varianzanalyse) der *arousal*-Werte mit den Faktoren US-Präsenz (US abwesend, US anwesend) und Bedrohungstyp (Artgenosse, Raubtier, Schmerz) sowie als post-hoc Tests drei 2x2-ANOVAs und gepaarte t-Tests durch. Für alle Tests

wurde ein Signifikanzniveau von $\alpha=0,05$ festgelegt. Die Effektgrößen wurden als partielles eta-Quadrat (η^2) für ANOVA und als Cohen's d für t-Tests geschätzt.

Effekt der Konditionierung für jeden Bedrohungstyp

Während der CS-Präsentation mussten die Teilnehmerinnen per Knopfdruck vorhersagen, ob sie glaubten, dass ein US folgen würde oder nicht. Um sicherzustellen, dass die Konditionierung erfolgreich war, d.h. dass die Teilnehmerinnen den US nach der Präsentation des CS+ häufiger erwarteten als nach der Präsentation des CS-, wurde der Anteil der "US folgt"-Vorhersagen für jede Teilnehmerin berechnet. Dies erfolgte für jede der drei Bedrohungsarten getrennt. Es wurden eine 2x3-ANOVA zum Anteil der "US folgt"-Vorhersagen mit den Faktoren CS-Typ (CS+, CS-) und Bedrohungstyp (Schmerz, Raubtier, Artgenosse) sowie als post-hoc Tests drei 2x2-ANOVAs und t-Tests durchgeführt.

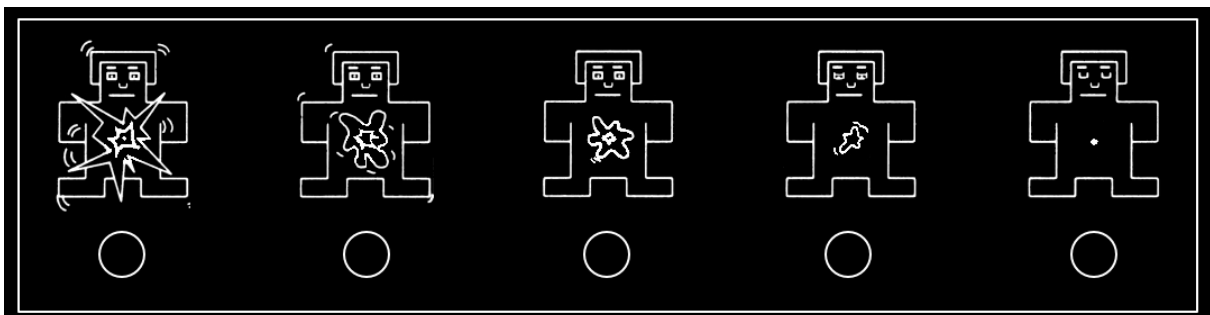


Abbildung 5: Experimentelles Design: Self-Assessment-Manikin Skala. Die Probandinnen bewerteten ihren aktuellen Gefühlszustand am Ende jedes Trials mit Hilfe der nonverbalen Self-Assessment-Manikin (SAM) Skala. SAM ist eine validierte non-verbale Methode, um die Dimensionen Freude (*pleasure*), Erregung/Aktivierung (*arousal*) und Dominanz (*dominance*) affektiver Reaktionen zu erfassen. In der aktuellen Studie wurde die Dimension *arousal* abgefragt. Die Skala rangierte von 5 (ganz links; „stimuliert, aufgeregt, hektisch, nervös, hellwach, erregt“) bis 1 (ganz rechts; „komplett entspannt, ruhig, träge, schläfrig, unerregt“).

3.4.2 Physiologische Daten

Physiologische Parameter wie Herzaktivität und Atmung können einen beträchtlichen Teil der Varianz des BOLD-Signals ausmachen, insbesondere in den Bereichen nahe des Hirnstamms, auf die sich unsere Hypothese konzentrierte (Brooks et al., 2013). Um den Einfluss physiologischer Störfaktoren abschätzen zu können, wurden während des Experimentes Atmungs- und Pulszyklen gemessen und in ein *retrospective image correction* (RETROICOR) Modell eingegeben, implementiert in der PhysIO Toolbox (Kasper et al., 2017). Die daraus resultierenden Regressoren wurden als Störfaktoren in die Analyse einbezogen (siehe Abschnitt 3.4.4). Die Atmungsaktivität wurde mit einem um den Brustkorb gelegten Induktionsgurt aufgezeichnet. Die kardiale Phase wurde aus einem photoplethysmographischen Signal abgeleitet, das mit einem am Ringfinger der linken Hand befestigten Pulsoxymeter gemessen wurde. Beide Signale wurden mit Hilfe von AcqKnowledge Software (Biopac Systems, Goleta, United States) aufgezeichnet.

3.4.3 Bildgebung: Datenerhebung und -verarbeitung

Die MR-Bildgebung wurde auf einem 3-Tesla Philipps Ingenia Scanner mit einer 32-Kanal-Kopfspule an der Technischen Universität München durchgeführt. T1-gewichtete anatomische Bilder wurden mit einer *magnetization-prepared acquisition gradient echo* (MPRAGE) Sequenz mit einer Auflösung von 0,67 x 0,67 x 0,70 mm aufgenommen. Die funktionellen Aufnahmen wurden mittels Multiband-Bildgebung (Faktor 2, *interleaved*) und einer T2*-gewichteten Gradienten-Echo-Sequenz mit den folgenden Parametern aufgenommen: TR = 2700 ms, TE =

26 ms, Flip-Winkel = 90°, Aufnahmematrix = 96 x 94, 64 Schichten, Schichtdicke = 2 mm (Schichtlücke 0 mm), Auflösung in der Ebene = 2 x 2 mm. Durch die Repetitionszeit von 2,7 s und die Akquisitionszeit von 24 min ergaben sich also 533 Bildvolumina pro Probandin und Bedrohungsart. Das Ergebnis war für jede Probandin ein 4-dimensionaler Datensatz (drei räumliche Dimensionen und eine zeitliche Dimension).

Audiovisuelle Stimuli wurden mit Hilfe der Software Presentation (Neurobehavioral Systems, Inc., Berkeley, CA) präsentiert, welche vom Scanner Triggerimpulse zur Synchronisation mit der MRT-Messung erhielt. Die visuelle Information wurde auf einen Bildschirm am Kopf des Scanners projiziert, auf welchen die Probandinnen über einen verstellbaren Spiegel schauen konnten. Der Ton wurde über MR-kompatible Kopfhörer übertragen.

Die Bildverarbeitung und statistische Analyse wurde mit Hilfe von SPM 12 (Wellcome Trust, London, Großbritannien), laufend auf MATLAB 2016b (The MathWorks Inc., Natick, Massachusetts), durchgeführt. Zunächst wurden die ersten beiden Volumina jedes Datensatzes aufgrund methodisch bedingter Signalinstabilitäten verworfen. Daraufhin erfolgte eine zeitliche Korrektur (*slice timing*), um den unterschiedlichen Aufnahmezeitpunkten der einzelnen Schichten innerhalb eines Hirnvolumens Rechnung zu tragen. Um Kopfbewegungen der Probandinnen zu kompensieren, wurde eine Bewegungskorrektur (*realignment*) durchgeführt, wobei jedes der Volumina innerhalb der Zeitserie mittels *Rigid-body*-Transformation mit 6 Bewegungsparametern (Translation in den drei Raumrichtungen und Rotation um die drei Raumachsen) auf das erste Bild der Zeitserie re-orientiert wurde (Friston et al., 1996). Die Parameter der Bewegungskorrektur wurden außerdem als Störregressoren im folgenden Schritt der Analyse (siehe Abschnitt 3.4.4) einbezogen. Um eine interindividuelle Vergleichbarkeit zu ermöglichen, erfolgte daraufhin eine räumliche Normalisierung in den stereotaktischen Standardraum des *Montreal Neurological Institute* (MNI) (Evans et al., 1993).

Abschließend wurden die fMRT-Bilder mit einer dreidimensionalen Gauß-Funktion mit einer Halbwertsbreite (*Full width at half maximum*, FWHM) von 4 mm räumlich geglättet.

3.4.4 Bildgebung: Statistische Auswertung

Grundlage für die statistische Auswertung der fMRT-Daten stellt das allgemeine lineare Modell (*general linear model*, GLM) (Friston et al., 1994) dar, eine Erweiterung der multiplen Regression, welches auf jedes einzelne Voxel angewandt wird. Daraus resultiert für jedes Voxel ein statistischer Parameter, welcher in einer *statistical parametric map* (SPM) mit den Parametern aller anderen Voxel zu einem Bild zusammengefasst wird. Die Analyse erfolgt in zwei Schritten: zunächst für jede Probandin einzeln (*First-Level-Analyse*) und in einem zweiten Schritt auf Gruppenebene (*Second-Level-Analyse*).

First-Level-Analyse

Für jede Probandin wurde ein GLM mit folgenden Regressoren geschätzt: Zeitpunkte des Auftretens von CS_{+eins}, CS_{+zwei}, CS₋, US-Anwesend_{eins}, US-Anwesend_{zwei}, US-Abwesend_{eins}, US-Abwesend_{zwei}, US-Abwesend_{minus} und *arousal*-Bewertungsskala – nach Konvolution mit einer kanonischen HRF. Das GLM umfasste auch die folgenden Stör-Regressoren: 1) CS-Regressoren, parametrisch moduliert mit den *arousal*-Bewertungen jedes Trials, um für Unterschiede in *arousal*-Bewertung zwischen den Bedrohungsbedingungen zu kontrollieren (signifikant höhere Bewertung für die Bedingung Schmerz im Vergleich zu Artgenosse und Raubtier, siehe Abbildung 6); 2) die Ableitungen erster Ordnung der sechs Bewegungsregressoren, die während des *realignments* errechnet wurden (Siegel et al., 2014); 3) 18 Regressoren aus dem RETROICOR-Modell zur Kontrolle physiologischer Störfaktoren; 4) Zensierende Regressoren

zum Ausschluss von Volumina mit > 2 mm/Grad Kopfbewegung. Durch diese "Zensur" wurden Volumina, bei denen die Kopfbewegung 2 mm Translation oder 2° Rotation überschritt, aus dem GLM ausgeschlossen, eine als „*motion censoring*“ bekannte Strategie (Siegel et al., 2014). Sobald dieser Schwellenwert in mehr als drei Fällen pro Durchlauf überschritten wurde, wurde die Probandin von allen Analysen ausgeschlossen (N=1).

Second-Level-Analyse

Die SPMs aller Probandinnen für die CS-bezogenen Aktivierungen wurden dann in eine 2x3-ANOVA auf Gruppenebene mit den Faktoren CS-Typ (CS+, CS-) und Bedrohungstyp (Schmerz, Raubtier, Artgenosse) eingegeben.

Diese Analyse verfolgte drei Ziele: 1) zu bestätigen, dass die Konditionierung sowohl auf der Ebene der Fokus-Regionen (Amygdala, Hypothalamus, PAG) als auch auf der Ebene des gesamten Gehirns erfolgreich war - durch Untersuchung des Haupteffekts des Faktors CS-Typ, 2) die Hypothese der differentiellen Aktivität für Schmerz, Raubtier und Artgenosse in der Amygdala, im Hypothalamus und im PAG zu testen - durch Untersuchung des Interaktionseffekts zwischen den Faktoren CS-Typ und Bedrohungstyp und 3) potentiell differentielle Aktivität für die drei Bedrohungstypen weitergehend zu analysieren – durch post-hoc gepaarte t-Kontraste zwischen allen Kombinationen der drei Bedrohungstypen.

Mit Ausnahme der zusätzlichen Ganzhirnanalyse für den Haupteffekt des Faktors des CS-Typ beschränkten sich alle Analysen auf die drei Fokus-Regionen, die durch das Nagetiermodell (Gross und Canteras, 2012) definiert wurden: Amygdala, Hypothalamus und PAG. Die Regionen wurden durch folgende Masken definiert: Amygdala: basierend auf dem histologischen Jülich-Atlas, implementiert in der SPM Anatomy Toolbox (Amunts et al., 2005); Hypothalamus: basierend auf dem CIT168-Atlas (Pauli et al., 2018); PAG: adaptiert von der konnektivitätsbasierten Segmentierung von Ezra et al. (2015). Die statistischen Karten wurden

mit der *family-wise-error*(FWE)-rate und einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$ für multiples Testen korrigiert, basierend auf einem Hörschwellenwert von $p < 0,005$. Für Analysen innerhalb der Fokus-Regionen wurde die FWE-Korrektur auf dem Voxel-Niveau innerhalb einer kombinierten Maske aus Amygdala, Hypothalamus und PAG durchgeführt. Für die Analyse des gesamten Gehirns wurde die FWE-Korrektur auf Clusterebene durchgeführt. Alle im Ergebnissteil berichteten Koordinaten beziehen sich auf den MNI-Raum.

4. Ergebnisse

4.1 Verhaltensdaten

4.1.1 Arousal-Bewertungen für die unkonditionierten Stimuli

Um zu validieren, dass die im Experiment verwendeten Stimuli eine emotionale Reaktion auslösten, wurde eine 2x3-ANOVA der *arousal*-Werte mit den Faktoren US-Präsenz (US anwesend, US abwesend) und Bedrohungstyp (Schmerz, Raubtier, Artgenosse) durchgeführt. Dabei zeigte sich ein signifikanter Haupteffekt von US-Präsenz ($F[1,38] = 145,43$, $p < 0,001$, $\eta^2 = 0,79$), mit über die drei Bedingungen hinweg höheren Werten für Trials in denen der US anwesend war als für Trials in denen der US abwesend war (siehe Abbildung 6). Post-hoc gepaarte t-Tests bestätigten, dass in jeder einzelnen Bedrohungsbedingung die Werte für „US anwesend“-Trials signifikant höher waren als für „US abwesend“-Trials (Schmerz: $t[39] = 12,34$, $p < 0,001$, $d = 1,16$; Raubtier: $t[39] = 8,67$, $p < 0,001$, $d = 0,90$) Artgenosse: $t[39] = 7,68$, $p < 0,001$, $d = 0,82$).

Die ANOVA offenbarte jedoch auch einen signifikanten Haupteffekt des Bedrohungstyps auf die *arousal*-Werte ($F[1,33,50,56] = 61,61$, $p < 0,001$, $\eta^2 = 0,619$) sowie einen signifikanten Interaktionseffekt zwischen Bedrohungstyp und US-Präsenz ($F[1,49,56,64] = 13,03$, $p = 0,001$, $\eta^2 = 0,25$; nach Greenhouse-Geisser-Korrektur). Post-hoc-Tests in Form von 2x2-ANOVAs zeigten, dass die Haupt- und Interaktionseffekte auch dann noch signifikant waren, wenn eine der beiden Bedingungen Raubtier oder Artgenosse aus der ANOVA herausgenommen wurde (Haupteffekt Bedrohungstyp [Schmerz, Raubtier]: $F[1,39] = 85,72$, $p < 0,001$, $\eta^2 = 0,69$; Haupteffekt Bedrohungstyp [Schmerz, Artgenosse]: $F[1,38] = 57,56$, $p < 0,001$, $\eta^2 = 0,60$), aber nicht, wenn die Bedingung Schmerz aus der ANOVA genommen wurde (Haupteffekt

Bedrohungstyp [Raubtier, Artgenosse]: $F[1,38] = 2,09$, $p = 0,56$, $\eta^2 = 0,05$). Das heißt, die Probandinnen bewerteten ihr *arousal* in der Bedingung Schmerz signifikant höher als in den anderen beiden Bedingungen (siehe Abbildung 6).

Alles in allem bestätigen diese Ergebnisse, dass alle Bedrohungsarten bei den Teilnehmerinnen eine aversive emotionale Reaktion hervorriefen, wobei jedoch die schmerzhaften Reize als intensiver als die beiden anderen Stimuli bewertet wurden.

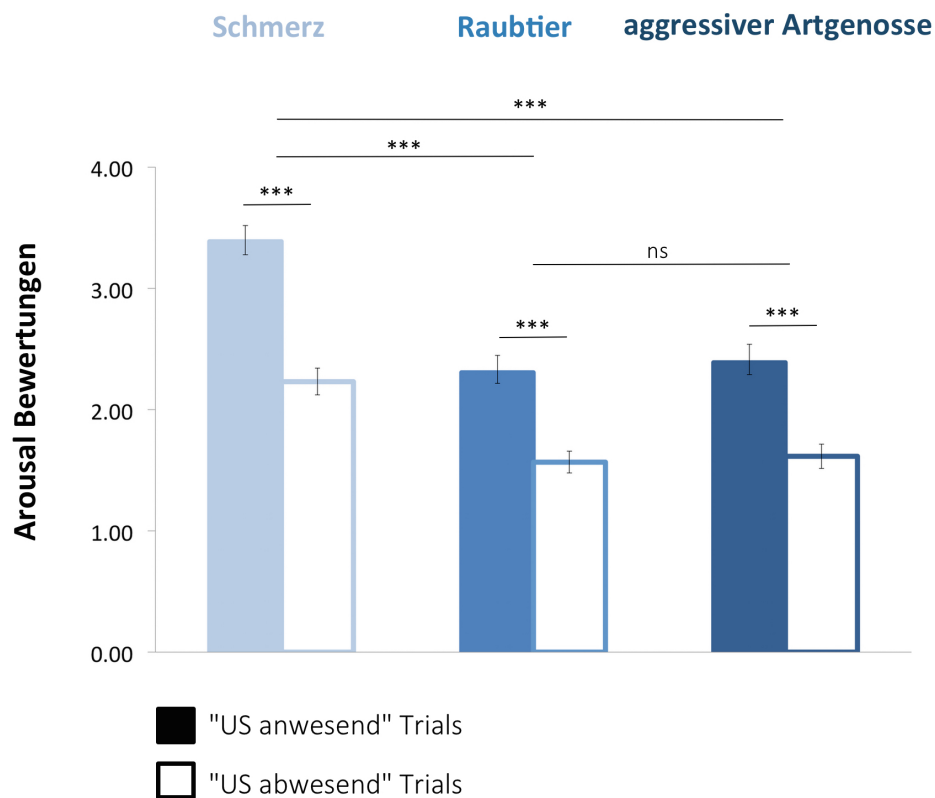


Abbildung 6 | Arousal-Bewertungen für die unconditionierten Stimuli. In jeder der drei Bedingungen bewerteten die Probandinnen ihr *arousal* nach dem Erscheinen des unconditionierten Stimulus („US anwesend“) signifikant höher als wenn der US nicht erschien („US abwesend“). Die *arousal*-Bewertungen waren in der Bedingung Schmerz signifikant höher als in den Bedingungen Raubtier und Artgenosse. *Arousal* wurde mit Hilfe der Self-Assessment-Manikin (SAM) Skala bewertet, wobei die Bewertung von 1 (niedrigstes *arousal*) bis 5 (höchstes *arousal*) rangierte. Die Analyse basierte auf einer 2x3-ANOVA mit den Faktoren US-Präsenz (US anwesend, US abwesend) und Bedrohungstyp (Schmerz, Raubtier, Artgenosse). *** - $p < 0,001$, basierend auf gepaarten t-Tests für jede Bedrohungsart (US anwesend vs. US abwesend) sowie auf den Haupteffekten von Bedrohungsart in 2x2-ANOVAs für Schmerz vs. Artgenosse und Schmerz vs. Raubtier. ns - nicht signifikant. Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler des Mittelwertes dar.

4.1.2 Effekt der Konditionierung für jeden Bedrohungstyp

Als nächstes wurde geprüft, ob der Prozess der Konditionierung auf der Verhaltensebene erfolgreich war. Dafür wurde untersucht, ob die Probandinnen das Auftreten des US signifikant häufiger während der Präsentation des CS+ als während der Präsentation des CS- erwarteten. Für jede Probandin und jeden Bedrohungstyp wurde der prozentuale Anteil an positiven Vorhersagen („US folgt“) an allen Vorhersagen errechnet - separat für CS+ und CS-Trials.

Eine 2x3-ANOVA mit den Faktoren CS-Typ (CS+, CS-) und Bedrohungstyp (Schmerz, Raubtier, Artgenosse) zeigte einen signifikanten Haupteffekt des CS-Typs ($F[1,39] = 1139,01, p < 0,001, \eta^2 = 0,97$), wobei die Teilnehmerinnen das Auftreten des US signifikant häufiger während CS+ als während CS- Präsentation vorhersagten (siehe Abbildung 7). Post-hoc t-Tests bestätigten, dass dies für jeden der drei Bedrohungstypen zutrif (Schmerz: $t[39] = 32,29, p < 0,001, d = 7,72$; Raubtier: $t[39] = 19,50, p < 0,001, d = 5,08$; Artgenosse: $t[39] = 24,70, p < 0,001, d = 5,83$).

Die ANOVA zeigte auch einen kleinen, aber signifikanten, Haupteffekt des Faktors Bedrohungstyp ($F[2,78] = 4,109, p = 0,020, \eta^2 = 0,095$) sowie einen Interaktionseffekt zwischen den Faktoren Bedrohungstyp und CS-Typ ($F[2,78] = 4,895, p = 0,010, \eta^2 = 0,112$).

Post-hoc-Tests in Form von 2x2-ANOVAs zeigten, dass die Haupt- und Interaktionseffekte auch dann noch signifikant waren, wenn eine der beiden Bedingungen Raubtier oder Artgenosse aus der ANOVA herausgenommen wurde (Haupteffekt Bedrohungstyp [Schmerz, Raubtier]: $F[1,39] = 5,85, p = 0,020, \eta^2 = 0,130$; Haupteffekt Bedrohungstyp [Schmerz, Artgenosse]: $F[1,39] = 4,87, p = 0,033, \eta^2 = 0,111$), aber nicht, wenn die Bedingung Schmerz ausgeschlossen wurde (Haupteffekt Bedrohungstyp [Raubtier, Artgenosse]: $F[1,39] = 0,087, p = 0,769, \eta^2 = 0,002$).

Die Teilnehmerinnen erwarteten den US also etwas häufiger in der Bedingung Schmerz als in den Bedingungen Raubtier und Artgenosse.

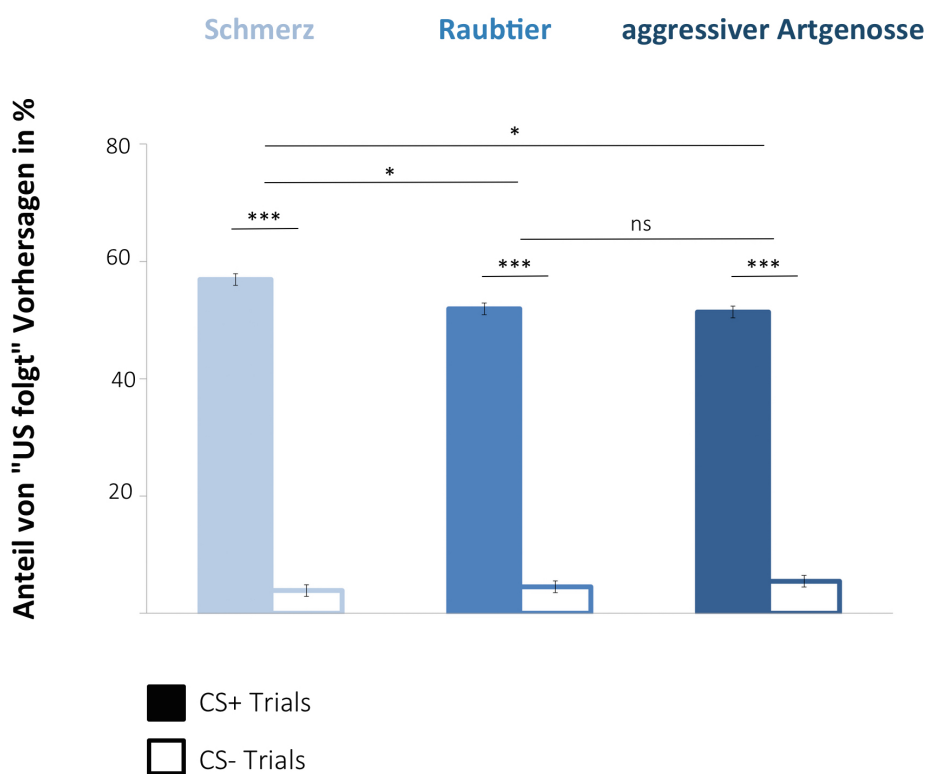


Abbildung 7 | Effekt der Konditionierung für jeden Bedrohungstyp. Die Teilnehmerinnen erwarteten den US nach CS+ Präsentation signifikant häufiger als nach CS- Präsentation, was darauf hindeutet, dass das Konditionierungsverfahren auf der Verhaltensebene erfolgreich war. In der Bedingung Schmerz erwarteten die Teilnehmerinnen den US häufiger als in den anderen beiden Bedingungen. Basierend auf einer 2x3-ANOVA mit den Faktoren CS-Typ (CS+, CS-) und Bedrohungstyp (Schmerz, Raubtier, Artgenosse). * - $p < 0,05$, basierend auf den Haupteffekten des Bedrohungstyps in den post-hoc 2x2-ANOVAs für Schmerz vs. Artgenosse und Schmerz vs. Raubtier. *** - $p < 0,001$, basierend auf gepaarten t-Tests für jeden Bedrohungstyp (CS+ vs. CS-). ns - nicht signifikant. Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler des Mittelwertes dar.

4.2 Bildgebung

4.2.1 Effekt der Konditionierung in den Fokus-Regionen: Haupteffekt des Faktors CS-Typ (CS+, CS-)

Um zu überprüfen, dass in den Fokus-Regionen ein neuronales Korrelat der Konditionierung vorhanden war, wurde der Haupteffekt des Faktors CS-Typ (CS+, CS-) in Amygdala, Hypothalamus und PAG untersucht. Signifikante Effekte des Faktors CS-Typ wurden in allen drei Regionen gefunden (siehe Tabelle 1 und Abbildung 7), was darauf hindeutet, dass mit dem

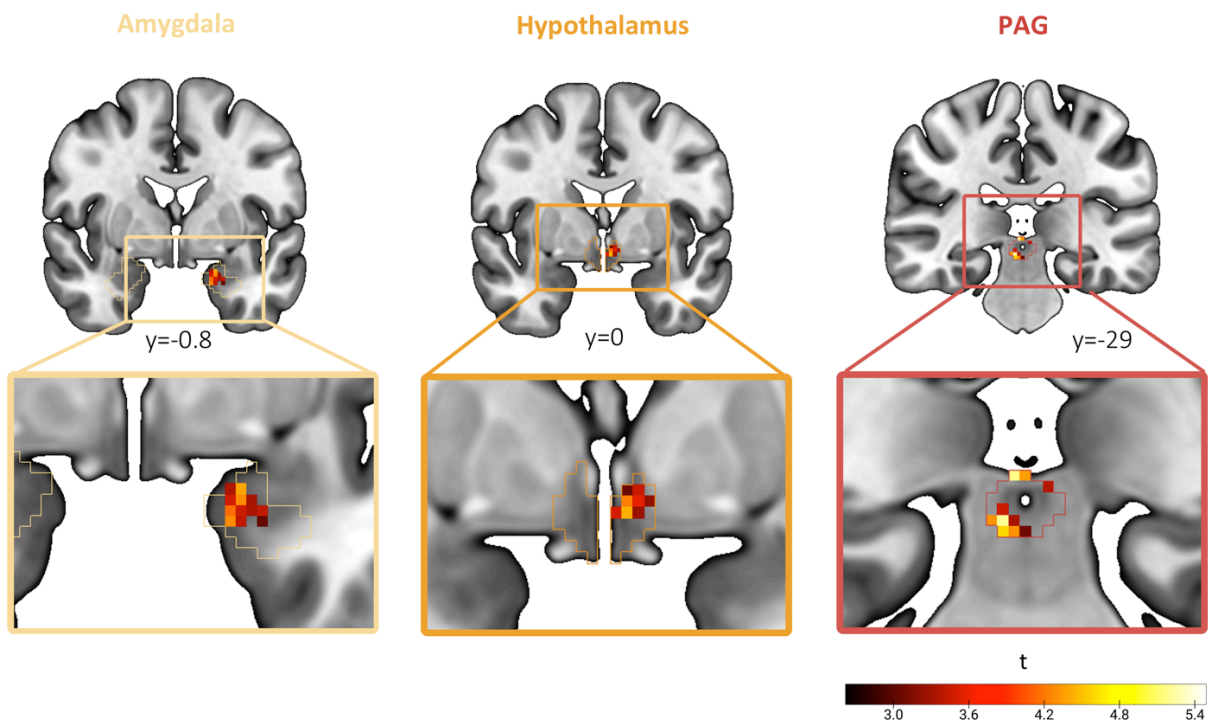


Abbildung 8 I Effekt der Konditionierung in den Fokus-Regionen. Signifikante Haupteffekte des Faktors CS-Typ (CS+, CS-) wurden in allen drei Fokus-Regionen gefunden, was darauf hinweist, dass die Konditionierung in Amygdala, Hypothalamus und PAG erfolgreich war. Basierend auf einer 2x3-ANOVA mit den Faktoren CS-Typ (CS+, CS-) und Bedrohungstyp (Schmerz, Raubtier, Artgenosse). FWE-korrigiert ($p < 0,05$) auf dem Voxel-Niveau innerhalb von Amygdala, Hypothalamus und PAG, basierend auf einer Hörschwelle (*height threshold*) von $p < 0,005$.

bedrohlichen CS+ (d.h. der Erwartung des aversiven Reizes) und dem nicht bedrohlichen CS– (d.h. der Erwartung eines schwarzen Bildschirms) unterschiedliche Hirnaktivität assoziiert war und sich damit ein neuronales Korrelat des Konditionierungsprozesses in den Fokus-Regionen zeigte.

4.2.2. Effekt der Konditionierung im gesamten Gehirn: Haupteffekt des Faktors CS-Typ (CS+, CS–)

Zusätzlich wurde der Haupteffekt des Faktors CS-Typ auf der Ebene des gesamten Gehirns untersucht, um zu testen, ob die kortikalen Aktivierungen mit Regionen zusammenfallen, die typischerweise mit der Erwartung schmerzhafter und aversiver audiovisueller konditionierter Stimuli assoziiert werden (siehe Fullana et. al [2016] für eine Meta-Analyse). Signifikante Haupteffekte des Faktors CS-Typ (CS+, CS–) wurden in Clustern gefunden, die sich über die linke und rechte anteriore und ventrale Insula sowie über das frontale Operkulum, den prä- und postzentralen Gyrus, supplementär-motorische Areale, den anterioren Gyrus cinguli, das Kleinhirn, den Thalamus und den Okzipitalpol erstreckten (siehe Tabelle 1 und Abbildung 9). Diese Ergebnisse decken sich gut mit dem ausgedehnten Netzwerk, das in Studien zur Furchtkonditionierung identifiziert wurde (Fullana et al., 2016) und stützen damit die Annahme, dass die Konditionierung im vorliegenden Experiment erfolgreich war.

Region	Cluster Größe	Peak MNI Koordinaten			Peak z	p (FWE-corr)
		x	y	z		
A) Fokus-Regionen						
Hypothalamus (R)	10	4	-12	-12	5.01	0.000
PAG	18	4	-28	-10	4.95	0.000
Hypothalamus (L)	16	-6	-8	-10	4.56	0.002
PAG	11	2	-30	-2	4.46	0.003
Hypothalamus (L)	17	-6	-2	-8	3.94	0.024
Basolaterale Amygdala (L)	19	-20	0	-20	3.78	0.042
B) Gesamtes Gehirn						
Inselrinde (L) , mittlerer frontaler Gyrus (L), inferiorer frontaler Gyrus (L)	2448	-28	26	-2	>8	0.000
Inselrinde (R) , mittlerer frontaler Gyrus (R), anteriores Cingulum (R)	1673	34	24	-6	>8	0.000
Postzentraler Gyrus (L) , präzentraler Gyrus (L), supplementär-motorisches Areal (R)	10339	-10	-10	60	>8	0.000
Mittlerer frontaler Gyrus (R) , inferiorer frontaler Gyrus (R)	946	38	24	26	7.78	0.000
Mittleres Cingulum (R) , Gyrus frontalis superior (R), Cingulum anterior (L)	422	4	24	42	7.75	0.000
Cerebellum (R)	202	8	-64	-54	7.61	0.014
Cerebellum (L) , Cerebellum (R)	2444	-34	-58	-30	7.18	0.000
Gyrus supramarginalis (R) , Gyrus temporalis superior (R), Gyrus angularis (R)	273	62	-48	24	7.13	0.002
Mittlerer Gyrus temporalis (R) , Gyrus temporalis superior (R), Gyrus temporalis inferior (R)	201	46	-26	-6	6.86	0.014
Fissura calcarina und umgebender Kortex (R), Gyrus occipitalis inferior (R), Gyrus lingualis (R)	961	16	-96	-2	6.85	0.000
Cerebellum (L) , Cerebellum (R)	272	-8	-60	-52	6.69	0.002

Cuneus (R) , Cuneus (L), Fissura calcarina und umliegender Kortex (L)	192	6	-88	20	6.45	0.019
Thalamus (R) , Thalamus (L), Pallidum (L)	1190	20	-28	8	6.42	0.000
Gyrus lingualis (R) , Gyrus parahippocampalis (R), Fissura calcarina und umgebende Hirnrinde (R)	247	24	-60	0	5.28	0.004

Tabelle 1 | Effekt der Konditionierung: Haupteffekt des Faktors CS-Typ (CS+, CS–). A) Fokus-Regionen: FWE-korrigiert ($p < 0,05$) auf dem Voxel-Niveau innerhalb von Amygdala, Hypothalamus und PAG, basierend auf einer Hörschwelle (*height threshold*) von $p < 0,005$. **B) Gesamtes Gehirn:** FWE-korrigiert ($p < 0,05$) auf Clusterebene (*extent threshold* = 144 Voxel), basierend auf einer Hörschwelle (*height threshold*) von $p < 0,005$. Anatomische Regionen wurden mit dem Automated Anatomical Labeling (AAL)-Atlas identifiziert; hier genannt sind die ersten drei Regionen für jedes Cluster (mit der höchsten Anzahl von Voxeln).

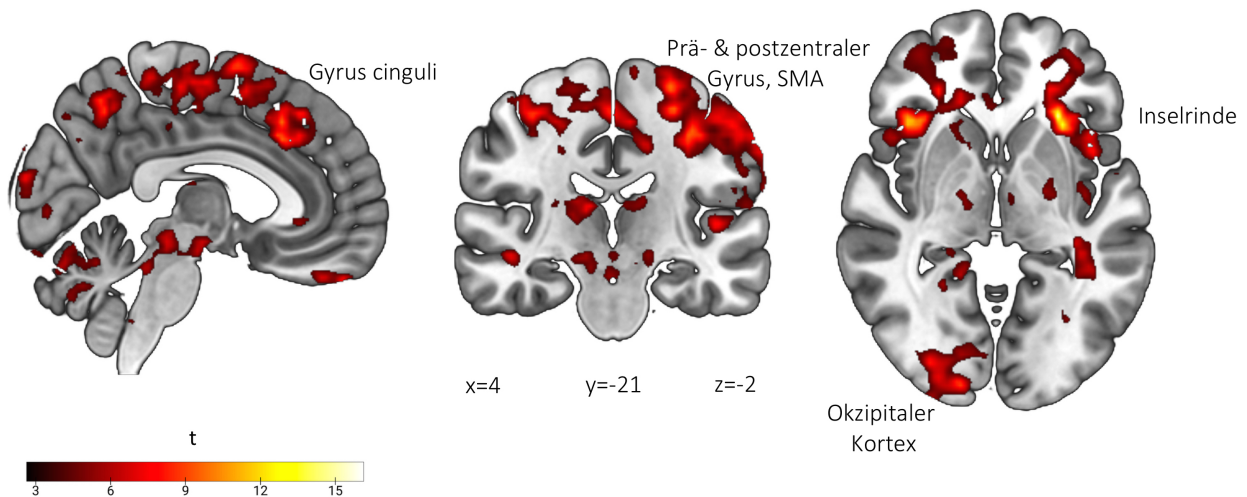
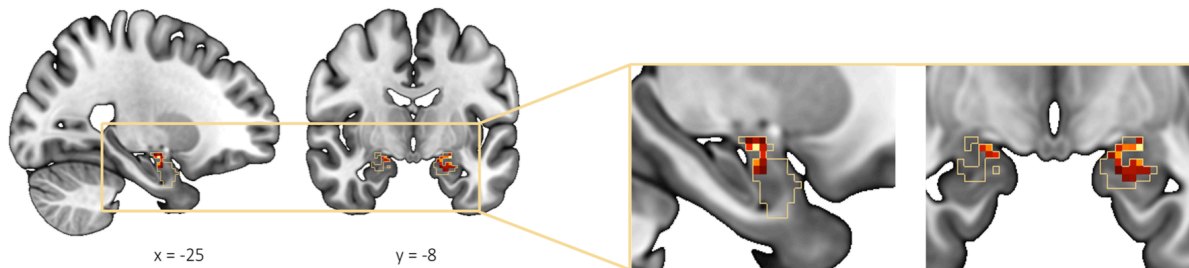


Abbildung 9 | Effekt der Konditionierung im gesamten Gehirn. Auf der Ebene des gesamten Gehirns decken sich die Regionen mit signifikanten Haupteffekten des Faktors CS-Typ (CS+, CS-) mit dem ausgedehnten Netzwerk, das in Studien zur Furchtkonditionierung identifiziert wurde. Dieses besteht unter anderem aus anteriorer Insula, prä- und postzentralem Gyrus, supplementär-motorischem Kortex und anteriorem Gyrus cinguli. Basierend auf einer 2x3-ANOVA mit den Faktoren CS-Typ (CS+, CS-) und Bedrohungstyp (Schmerz, Raubtierangriff, Artgenosse). FWE-korrigiert ($p < 0,05$) auf Clusterebene (*extent threshold* = 144 Voxel), basierend auf einer Hörschwelle (*height threshold*) von $p < 0,005$.

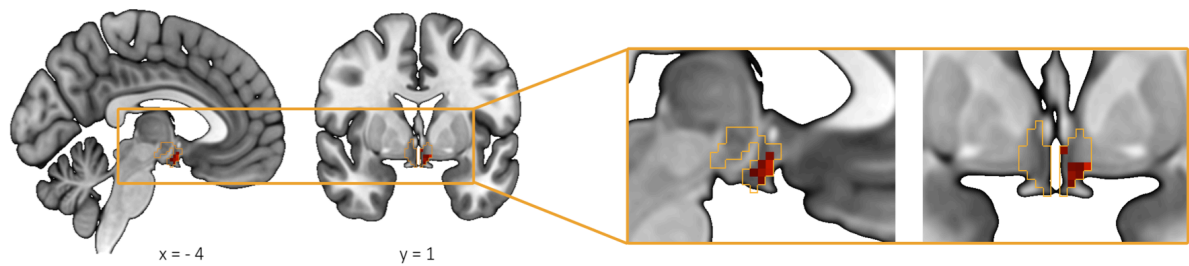
4.2.3. Differentielle bedrohungsassoziierte Aktivierungen zwischen den verschiedenen Bedrohungsarten: Interaktion zwischen CS-Typ (CS+, CS-) und Bedrohungstyp (Schmerz, Raubtier, Artgenosse)

Um die Hypothese der differentiellen neuronalen Aktivität für die Bedrohung durch Schmerz, Raubtiere und aggressive Artgenossen in der Amygdala, im Hypothalamus und im PAG zu testen, wurden die Interaktionseffekte zwischen den Faktoren CS-Typ (CS+, CS-) und Bedrohungstyp (Schmerz, Raubtier, Artgenosse) in diesen drei Regionen untersucht. Signifikante Interaktionseffekte wurden in der linken und rechten BLA, zentromedialen Amygdala sowie im linken Hypothalamus gefunden (siehe Tabelle 2 und Abbildung 10). Innerhalb des PAG wurden keine signifikanten Cluster gefunden. Die Ergebnisse unterstützen somit unsere Hypothese einer differentiellen Hirnaktivierung zwischen der Bedrohung durch Schmerz, Raubtiere und aggressive Artgenossen innerhalb der Amygdala und des Hypothalamus, nicht aber innerhalb des PAG.

Amygdala



Hypothalamus



PAG

keine signifikanten Cluster

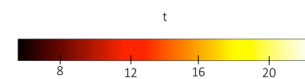


Abbildung 10 | Differentielle neuronale BOLD-Aktivierungen für die Bedingungen Bedrohung durch Schmerz, Raubtiere und aggressive Artgenossen in den Fokus-Regionen. Signifikante Interaktionseffekte, basierend auf einer 2x3-ANOVA mit den Faktoren CS-Typ (CS+, CS-) und Bedrohungstyp (Schmerz, Raubtier, Artgenosse) zeigten sich in der Amygdala und im Hypothalamus, jedoch nicht im PAG. Basierend auf einer Hörschwelle (*height threshold*) von $p < 0,005$, FWE-korrigiert ($p < 0,05$) innerhalb von Amygdala, Hypothalamus und PAG.

4.2.4. Differentielle bedrohungsassoziierte Aktivierungen zwischen Paaren von Bedrohungstypen: Post-hoc-gepaarte t-Tests

Um das Muster der differentiellen Aktivität unter den drei Bedrohungstypen in der Amygdala und im Hypothalamus weiter zu untersuchen und um sicherzustellen, dass die differentielle Aktivierung nicht auf einem Bias beruhte (z.B. aufgrund von Unterschieden zwischen nur zwei und nicht allen drei Bedrohungstypen), wurden für jeden der drei Bedrohungstypen der Kontrast CS+ > CS- errechnet und für alle sechs Kombinationen von paarweisen Kontrasten zwischen den Bedrohungstypen (z.B. Schmerz > Artgenosse) gepaarte t-Tests durchgeführt. Die Bedingung Bedrohung durch Schmerz zeigte eine relative Aktivitätszunahme in der linken BLA und zentromedialen Amygdala sowie im linken Hypothalamus im Vergleich zur Bedingung Bedrohung durch einen aggressiven Artgenossen (Schmerz > Artgenosse) sowie eine Aktivitätszunahme in der linken zentromedialen Amygdala im Vergleich zur Bedingung Bedrohung durch ein Raubtier (Schmerz > Raubtier). In der Bedingung Bedrohung durch einen aggressiven Artgenossen hingegen zeigte sich eine erhöhte Aktivität in der rechten BLA, sowohl im Vergleich zur Bedingung Schmerz (Artgenosse > Schmerz) als auch zur Bedingung Raubtier (Artgenosse > Raubtier). Zuletzt wurde für die Bedingung Bedrohung durch ein Raubtier eine erhöhte Aktivität in der Amygdala (linke und rechte BLA, rechte zentromediale Amygdala) und im Hypothalamus im Vergleich zur Bedingung aggressiver Artgenosse (Raubtier > Artgenosse) gefunden. Für den Kontrast Raubtier > Schmerz wurden keine signifikanten Cluster gefunden. Betrachtet man die drei Paare von Bedrohungstypen, zeigen die Ergebnisse signifikante Unterschiede zwischen allen drei Bedrohungstyp-Paaren in der Amygdala und Unterschiede zwischen zwei der drei Bedrohungstyp-Paaren (Schmerz vs. Artgenosse und Raubtier vs. Artgenosse) im Hypothalamus. Folglich basierte der oben beschriebene Interaktionseffekt nicht

auf einem Bias durch einen einzigen Bedrohungstyp, sondern es findet sich für jeden der drei Bedrohungstypen ein eigenes Aktivitätsmuster in der Amygdala und im Hypothalamus.

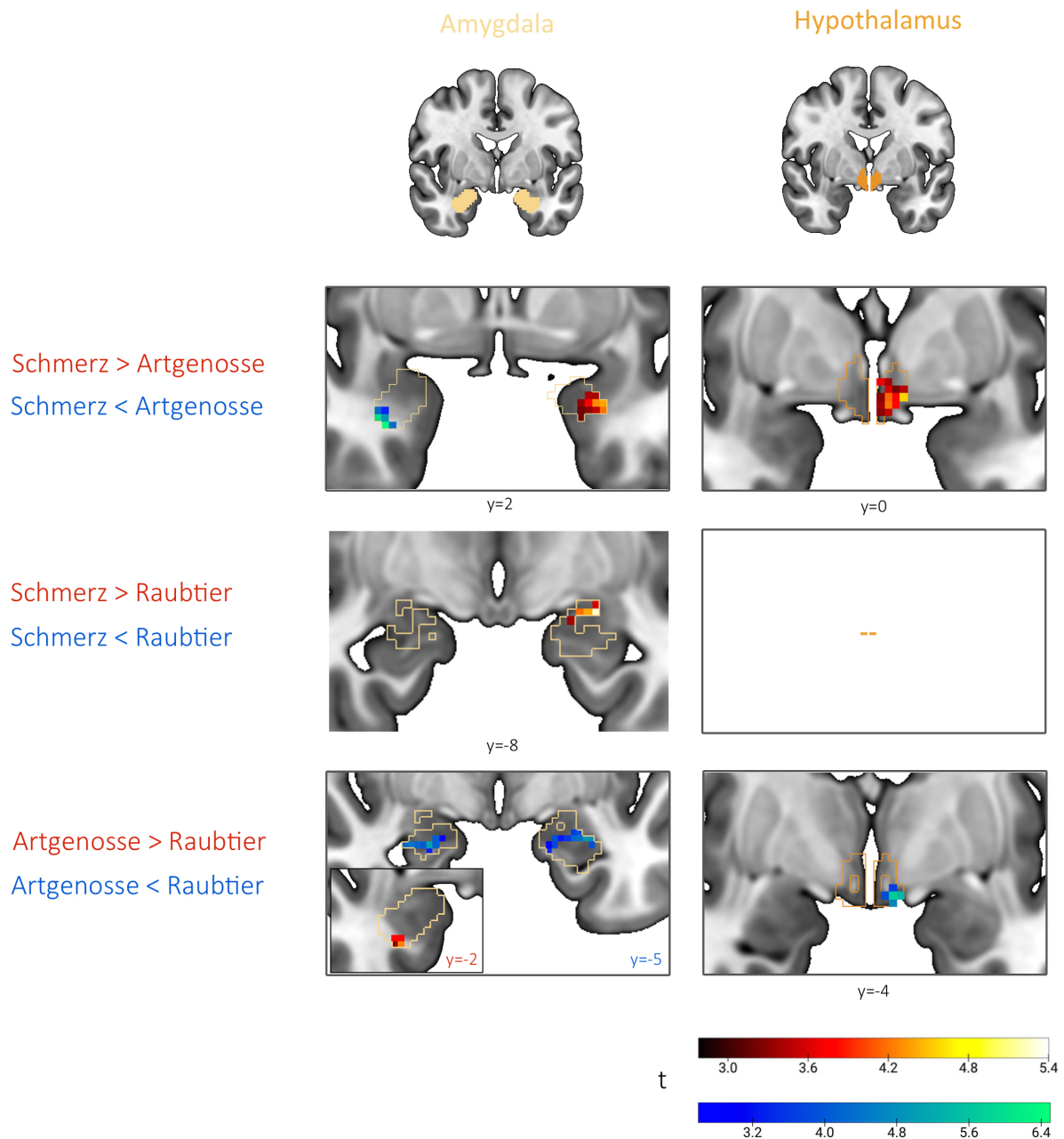


Abbildung 11 | Differentielle bedrohungsassoziierte BOLD-Aktivierungen zwischen Paaren von Bedrohungstypen: Post-hoc gepaarte t-Tests. Paarweise Kontraste für CS+ > CS- zeigten signifikante Unterschiede zwischen allen drei Bedrohungstyp-Paaren in der Amygdala sowie Unterschiede zwischen zwei Bedrohungstyp-Paaren (Schmerz vs. Artgenosse und Raubtier vs. Artgenosse) im Hypothalamus. FWE-korrigiert ($p < 0,05$) auf dem Voxel-Level innerhalb von Amygdala, Hypothalamus und PAG, basierend auf einer Hörschwelle (*height threshold*) von $p < 0,005$.

Region	Cluster Größe	Peak MNI Koordinaten			Peak z	p(FWE-corr)
		x	y	z		
A) Interaktionseffekt zwischen CS-Typ (CS+, CS-) und Bedrohungstyp (Schmerz, Raubtier, Artgenosse):						
Basolaterale Amygdala (R)	17	30	2	-32	5.45	0.000
Zentromediale & basolaterale Amygdala (L)	36	-24	-8	-14	4.99	0.000
Hypothalamus (L)	25	-6	-4	-15	4.48	0.004
Zentromediale Amygdala (R)	7	18	-8	-16	4.08	0.017
B) Post-hoc gepaarte t-Tests						
Schmerz > Artgenosse						
Zentromediale & basolaterale Amygdala (L)	40	-16	-10	-10	5.01	0.000
Hypothalamus (L)	34	-2	2	-8	4.16	0.011
Basolaterale Amygdala (L)	23	-28	2	-26	3.79	0.041
Schmerz < Artgenosse						
Basolaterale Amygdala (R)	28	30	2	-32	5.77	0.000
Schmerz > Raubtier						
Zentromediale Amygdala (L)	11	-24	-8	-14	4.83	0.001
Schmerz < Raubtier						
Keine signifikanten Voxel						
Artgenosse > Raubtier						
Basolaterale Amygdala (L)	12	30	0	-32	4.49	0.003

Artgenosse < Raubtier

Hypothalamus (L)	9	-6	-4	-14	4.95	0.000
Basolaterale Amygdala (R)	20	22	-6	-22	4.26	0.007
Basolaterale Amygdala (L)	35	-28	-6	-20	4.20	0.012
Zentromediale Amygdala (R)	4	24	-12	-14	3.84	0.034

Tabelle 2 | Differentielle BOLD-Aktivierungen für die drei Bedrohungsbedingungen. A) Interaktionseffekt zwischen den Faktoren CS-Typ (CS+, CS-) und Bedrohungstyp (Schmerz, Raubtier, Artgenosse): basierend auf einer Hörschwelle (*height threshold*) von $p < 0,005$, FWE-korrigiert ($p < 0,05$) innerhalb von Amygdala, Hypothalamus und PAG. **B) Post-hoc gepaarte t-Tests für CS+ > CS- zwischen Paaren von Bedrohungstypen:** FWE-korrigiert ($p < 0,05$) auf dem Voxel-Level innerhalb der Amygdala, Hypothalamus und PAG, basierend auf einer Hörschwelle (*height threshold*) von $p < 0,005$.

5. Diskussion

Motiviert durch eine Reihe an Nagetierstudien wurde in dieser Arbeit die Hypothese einer differentiellen BOLD-Aktivität für verschiedene Bedrohungsarten in der Amygdala, im Hypothalamus und im PAG gesunder menschlicher Probandinnen während eines Furchtkonditionierungsexperimentes getestet. Dabei zeigte sich unterschiedliche CS-abhängige Hirnaktivität für die Bedrohung durch Schmerzen, Raubtiere und aggressive Artgenossen in der Amygdala und im Hypothalamus. Nach unserem besten Wissen stellen diese Befunde die erste Evidenz für eine differentielle Hirnaktivität für verschiedene Bedrohungsreize innerhalb des menschlichen subkortikalen Gehirns dar und weisen damit darauf hin, dass die Nagetierschaltkreise für verschiedene Bedrohungsarten beim Menschen evolutionär konserviert sein könnten.

5.1 Überprüfung des Konditionierungserfolges

Um die Validität des vorliegenden Ansatzes zu überprüfen, wurden die Daten zunächst auf Evidenz dafür untersucht, dass die Konditionierung erfolgreich war. Auf der Verhaltensebene wurde gezeigt, dass die US aller drei Bedrohungsarten eine signifikante aversive Reaktion hervorriefen und dass die Probandinnen die höhere Wahrscheinlichkeit des Auftretens der US während CS+ Trials im Vergleich zu CS- Trials korrekt vorhersagen konnten, was auf eine erfolgreiche Konditionierung hinweist.

Auf der neuronalen Ebene zeigte sich Evidenz für eine erfolgreiche Konditionierung in den signifikanten Haupteffekten des Faktors CS-Typ (CS+, CS-) in allen drei Fokus-Regionen. Zusätzlich wurden die Haupteffekte des Faktors CS-Typ (CS+, CS-) auf der Ebene des gesamten Gehirns untersucht. Dabei zeigten sich signifikante Cluster unter anderem in der linken und rechten anterioren und ventralen Insula sowie dem frontalen Operkulum, den prä- und postzentralen Gyri, supplementär-motorischen Arealen und dem anterioren Gyrus cinguli (siehe Tabelle 1 und Abbildung 9). Diese Areale decken sich gut mit dem Netzwerk, das wiederholt in Studien zur Konditionierung mit aversiven (hauptsächlich Schmerz-) Reizen, identifiziert wurde (Fullana et al., 2016), was einen zusätzlichen Hinweis darauf liefert, dass die Konditionierung in der vorliegenden Untersuchung erfolgreich war. Der Unterschied in den *arousal*-Bewertungen zwischen der Bedingung Schmerz und den anderen beiden Bedingungen (Raubtier und Artgenosse) wurde statistisch kontrolliert, in dem CS-Regressoren, parametrisch moduliert mit den *arousal*-Bewertungen jedes Trials, in das GLM eingeschlossen wurden.

5.2 Differentielle bedrohungsassoziierte Aktivierungen

5.2.1 Amygdala

In der Amygdala bestätigte sich die Hypothese differentieller CS-bezogener neuronaler Aktivität für alle drei Bedrohungstypen (siehe Tabelle 2 sowie Abbildungen 10 und 11). Dieser Befund steht im Einklang mit einer Reihe von immunhistochemischen, elektrophysiologischen und Läsionsstudien an Nagetieren, die gezeigt haben, dass die Bedrohungen durch Schmerz, Raubtiere und aggressive Artgenossen verschiedene Nuklei der Amygdala differentiell rekrutieren (Kollack-Walker et al., 1999; Dielenberg et al., 2001; Martinez et al., 2011). Die

Bedrohung durch Raubtiere ist dabei mit der LA und BMA, die Bedrohung durch aggressive Artgenossen mit der MEA und die Bedrohung durch Schmerzreize mit der BLA, LA und CEA assoziiert (Gross und Canteras, 2012), siehe Abbildung 1. Obwohl unsere Daten keine Rückschlüsse auf der Ebene einzelner Kerne zulassen, legen die Ergebnisse nahe, dass auch in der menschlichen Amygdala eine funktionelle Segregation für die Bedrohungen durch Schmerz, Raubtiere und aggressive Artgenossen besteht.

Die Amygdala ist eine heterogene Gruppe von Kernen und kortikalen Regionen, die umfangreiche Afferenzen von neokortikalen Arealen in allen vier Lappen des Gehirns wie auch subkortikalen thalamischen, hippocampalen und cingulären Arealen erhält. Sie spielt eine wichtige Rolle im Erwerb und Ausdruck von einer Reihe erlernter emotionaler Reaktionen (LeDoux, 2007), wobei die Rolle in Furcht- und Angstverhalten besonders gut untersucht ist. Läsionsstudien am Menschen nach Entfernung der Amygdala bei Epilepsie-Patienten oder nach Verkalkung der Amygdala als Folge der Urbach-Wiethe-Krankheit weisen auf Defizite bei der Erkennung von bedrohlichen Reizen wie angsterfüllter Gesichtsausdrücke hin (Adolphs et al., 1994; Young et al., 1995; Adolphs et al., 1999). Eine große Anzahl von fMRT-Studien impliziert die menschliche Amygdala in der Furchtkonditionierung mit schmerzhaften Stimuli (z.B. Sehlmeier et al., 2009) sowie in Reaktionen auf angsterfüllte Gesichter von Artgenossen (z.B. Whalen et al., 2004). Eine neuere fMRT-Studie verglich Reaktionen auf Bilder einer tatsächlichen Bedrohung mit denen auf lediglich negative Bilder ohne Bedrohungscharakter und zeigte, dass die Bedrohungsbilder größere und frühere BOLD-Aktivierungen in der Amygdala und im PAG hervorriefen als die negativen Bilder (Kveraga et al., 2015). Während also zahlreiche Hinweise auf eine zentrale Rolle der Amygdala in Furcht- und Bedrohungsverhalten beim Menschen existieren, gibt es bislang keine Untersuchungen zu der Fragestellung ob verschiedene Arten von Bedrohung die Amygdala differentiell rekrutieren. Die

vorliegenden Ergebnisse stellen damit den ersten Nachweis differentieller Amygdala-Aktivität bei verschiedenen Bedrohungsreizen im Menschen dar und sollten in zukünftigen Studien überprüft und idealerweise weiter differenziert werden, um Subregionen der Amygdala mit einzubeziehen.

5.2.2 Hypothalamus

In Übereinstimmung mit unserer Hypothese fanden wir im linken Hypothalamus signifikante differentielle CS-bezogene Aktivität zwischen den Bedrohungstypen Raubtier und aggressiver Artgenosse (siehe Tabelle 2; Abbildungen 10 und 11). Dies steht im Einklang mit der Nagetierliteratur, in der Schaltkreise innerhalb des medialen Hypothalamus identifiziert wurden, die bevorzugt durch Raubtier-assoziierte Bedrohungsreize bzw. Artgenossen-assoziierte Bedrohungsreize rekrutiert werden (Dielenberg et al., 2001; McGregor et al., 2004; Motta et al., 2009).

Während in diesen Studien Bedrohungen durch einen Raubtierangriff mit dem dmVMH, AHN und vIPMD assoziiert wurden, rekrutierten Bedrohungen durch einen aggressiven Artgenossen präferentiell den vVMH, dmPMD, MPN sowie PMV, siehe Abbildung 1.

Im Gegensatz zu dem Modell von Gross und Canteras (2012), welches den Hypothalamus nicht in die Verarbeitung von schmerzbezogenen Reizen einbezieht, fanden wir auch differentielle CS-bezogene Aktivierungen zwischen den Bedrohungstypen Schmerz und aggressiver Artgenosse. Dies passt zwar zu neueren Forschungsergebnissen, die den medialen Hypothalamus in schmerzbezogenes Vermeidungsverhalten implizieren (Kunwar et al., 2015;

Chiang et al., 2020), doch sind weitere Untersuchungen erforderlich, um unsere Befunde im menschlichen Gehirn zu erhärten.

Der Hypothalamus wird mit den autonomen und endokrinen Komponenten der Reaktionen auf Bedrohungen und der gleichzeitigen Unterdrückung nicht bedrohungsrelevanter Tätigkeiten wie Essen, Trinken und Sexualverhalten assoziiert (Blanchard et al., 1995; Wang et al., 2015).

Die Assoziation des Hypothalamus mit defensivem Verhalten geht auf Stimulationsstudien aus den 1960er Jahren zurück, in denen entdeckt wurde, dass Stimulationen des Hypothalamus bei Katzen „Scheinwut“-Reaktionen (*sham rage*) auslösten, darunter das Wölben des Rückens, das Senken der Ohren, Schlag- und Fauchverhalten (Reis und Fuxe, 1969). Lin et al. (2011) wendeten optogenetische Techniken an, um zu zeigen, dass die Stimulation des ventromedialen Hypothalamus bei Ratten zu einem Angriff auf Artgenossen sowie auf unbelebte Objekte führte. Beim Menschen existieren Fallberichte nach Tiefenhirnstimulation bei Patienten mit schweren Depressionen (Jiménez et al., 2005), chronischen Cluster-Kopfschmerzen (Rasche et al., 2006) und Zwangsstörungen (Shapira et al., 2006), wo elektrische Stimulationen des Hypothalamus zu starken subjektiven Gefühlen der Beklemmung, Panik und zu körperlichen Symptomen wie Hyperventilation, Kurzatmigkeit, erhöhtem Blutdruck und Herzfrequenz führten (zusammengefasst in Elias et al., 2020). Eine Aktivierung des Hypothalamus wurde zudem wiederholt in menschlichen fMRT-Studien mit bedrohlichen Reizen assoziiert (Mobbs et al., 2009; Fullana et al., 2016). Wie auch bei der Amygdala gibt es jedoch bislang keine Untersuchungen, die zeigen, ob unterschiedliche Arten von Bedrohungsreizen den menschlichen Hypothalamus differentiell rekrutieren. Die vorliegenden Daten deuten damit erstmals daraufhin, dass die unterschiedlichen Nagetier-Schaltkreise für Bedrohung durch Schmerz, Raubtiere und aggressive Artgenossen auch im menschlichen Hypothalamus konserviert sein könnten.

5.2.3 Periaquäduktales Grau

Unerwarteter Weise wurde trotz signifikanter Konditionierungseffekte im PAG keine unterschiedliche bedrohungsbezogene Aktivität zwischen den drei Bedrohungsarten in dieser Region gefunden (siehe Tabelle 2 und Abbildung 10). Im Gegensatz dazu hat die Nagetierliteratur das PAG als wesentliche Komponente der Bedrohungsschaltkreise identifiziert. Es wird davon ausgegangen, dass verschiedene Spalten des PAG unterschiedliche Bedrohungsreaktionen, wie Risikoabschätzung, Flucht oder Erstarrung, vermitteln (Vianna et al., 2001; Cezario et al., 2008). Dabei wurde die Bedrohung durch Schmerz präferentiell mit Aktivierung des vIPAG, die Bedrohung durch ein Raubtier hingegen mit dem dIPAG und die Bedrohung durch einen aggressiven Artgenossen mit dem dmPAG assoziiert (zusammengefasst in Gross und Canteras, 2012).

Auch Untersuchungen am Menschen implizieren das PAG in die Verarbeitung von bedrohlichen Reizen. In einer älteren Studie wurde das dPAG bei 12 Patienten mit chronischen Schmerzsyndromen elektrisch stimuliert, wobei diese starke Gefühle von Panik angaben (Nashold et al., 1969). Die bereits erwähnte fMRT-Studie, welche Reaktionen auf Bilder einer tatsächlichen Bedrohung mit denen auf lediglich negative Bilder ohne Bedrohungscharakter verglich, fand größere und frühere BOLD-Aktivierungen im PAG in Reaktion auf die Bedrohungsbilder im Vergleich zu den negativen Bildern (Kveraga et al., 2015). Mobbs et al. (2007) zeigten in einer weiteren fMRT-Studie, dass sich mit der Annäherung eines virtuellen Raubtieres die Hirnaktivität vom ventromedialen präfrontalen Kortex auf das PAG verlagerte. In einer Modifizierung des Experiments zeigte sich eine Zunahme an PAG-Aktivität je näher eine Tarantel an den Fuß der im Scanner liegenden Versuchsperson platziert wurde (Mobbs et al., 2010). Diese Studien weisen also auf eine Abhängigkeit der PAG Aktivierung von der Nähe bzw.

Intensität eines Bedrohungsreizes hin, welche erst bei unmittelbarer Konfrontation mit einem bedrohlichen Reiz zuzunehmen scheint. Unter dieser Annahme könnte eine mögliche Erklärung für die fehlende PAG Involvierung in der vorliegenden Studie sein, dass die Intensität bzw. wahrgenommene Nähe der Bedrohung durch die Probandinnen nicht ausreichend für eine PAG Aktivierung war. Gegen dieses Argument spricht jedoch, dass damit letztlich nicht das Fehlen *differentieller* Aktivierung zwischen den Bedrohungstypen erklärt werden kann. Auch wenn wir im PAG keine differentielle Aktivierung im Sinne eines Interaktionseffektes zwischen den Faktoren CS-Typ (CS+, CS-) und Bedrohungstyp (Schmerz, Raubtier, Artgenosse) fanden, zeigten sich jedoch signifikante Haupteffekte des Faktors CS-Typ (CS+, CS-) und damit eine signifikante bedrohungsassoziierte PAG Aktivierung über alle Bedrohungstypen hinweg. Unabhängig von der Art der Bedrohung waren die aversiven Reize in der vorliegenden Studie also mit einer PAG-Aktivierung assoziiert.

Eine alternative Erklärung für das Fehlen differentieller bedrohungsbezogener Aktivität im PAG in dieser Arbeit könnte in der oben genannten Funktion des PAG als Effektor-Struktur für unterschiedliches Bedrohungsverhalten liegen: im Gegensatz zu den Nagetieren, die sich in ihren Käfigen frei bewegen und physisch auf verschiedene Bedrohungen unterschiedlich reagieren konnten, waren die Probandinnen auf den MRT-Scanner beschränkt. Zudem beinhaltete das Studiendesign keine Verhaltensaufgabe, wie die Wahl zwischen verschiedenen Reaktionen auf die unterschiedlichen Bedrohungsarten. Es wäre interessant, diese Erklärung in zukünftigen Studien zu testen, indem Probanden die Wahl zwischen verschiedenen virtuellen Reaktionen, wie Flucht, Angriff oder Erstarren, ermöglicht wird.

5.3 Klinische Relevanz

Zusammengenommen deuten unsere Ergebnisse auf die Existenz differentieller neuronaler Korrelate für Bedrohungen durch Schmerz, Raubtiere und aggressive Artgenossen in der menschlichen Amygdala und im Hypothalamus hin.

Die Aufklärung der neuronalen Mechanismen, die adaptives Bedrohungsverhalten unterstützen, ist für unser Verständnis von maladaptivem Bedrohungsverhalten von Bedeutung, zumal viele neuropsychiatrische Störungen als Störungen des Bedrohungsverhaltens konzeptualisiert wurden (Gilbert, 1995; Baliki und Apkarian, 2015). Evolutionäre Theorien der Depression beispielsweise beziehen depressive Symptome auf eine als „arrested flight“ (Dixon et al., 1989) bezeichnete Abwehrstrategie, bei der Erfahrungen von sozialer Niederlage oder einer bedrohlichen Umgebung mit protektiven Verhaltensweisen wie sozialem Rückzug begegnet wird (Gilbert und Allan, 1998; Griffiths et al., 2014). Im Gegensatz dazu wird bei Angststörungen davon ausgegangen, dass Hypervigilanz gegenüber Bedrohungsreizen und Abwehrreaktionen auf nicht vorhandene Bedrohungen eine große Rolle in der Pathologie spielen, wobei darauffolgendes Vermeidungsverhalten zur Aufrechterhaltung der Störung beiträgt (Beck et al., 2005; Mathews und MacLeod, 2005). Ein drittes Beispiel sind Schmerzen, die durch tatsächliche oder potenzielle Verletzungen hervorgerufen werden und zu Vermeidungs- oder Schutzverhalten führen, welches in Form von chronischen Schmerzen maladaptiv werden kann (Baliki und Apkarian, 2015). Interessanterweise modulieren Medikamente, die bei Menschen klinisch gegen Angststörungen wirksam sind, das Abwehrverhalten von Nagetieren (Blanchard et al., 1991; Griebel et al., 1995; Pinheiro et al., 2008), was darauf hindeutet, dass diese Erkrankungen mit Veränderungen in Gehirnsystemen assoziiert sind, die Bedrohungen verarbeiten. Diese Hypothese wird durch die Entdeckung

unterstützt, dass die Ausprägung von Vermeidungsverhalten gegenüber bedrohlichen Reizen beim Menschen durch das Benzodiazepin Lorazepam moduliert wird (Perkins et al., 2009). Vor dem Hintergrund dieser Überlegungen wird es interessant sein zu untersuchen, ob und wie die subkortikale neuronale Architektur für verschiedene Arten von bedrohlichen Reizen bei Patienten mit schweren Depressionen, Angststörungen und chronischen Schmerzen beeinträchtigt ist.

5.4 Methodologische Überlegungen und Limitationen

Eine Reihe von Einschränkungen sind zu diskutieren, um die Ergebnisse der vorliegenden Studie einordnen zu können.

Die Übertragung des experimentellen Aufbaus der Nagetierstudien auf Humanexperimente bringt eine Reihe inhärenter Herausforderungen mit sich. So können - mit Ausnahme der Schmerzreize - im Gegensatz zu den Tierstudien nur experimentelle Analoge zur unmittelbaren Erfahrung von Bedrohung untersucht werden, wie zum Beispiel durch audiovisuelle Stimuli. Darüber hinaus lässt die räumliche und zeitliche Auflösung der fMRT-Messung im Gegensatz zu den Methoden der Nagerstudien (z.B. Läsionsstudien, immunhistochemische oder elektrophysiologische Untersuchungen) keine Rückschlüsse auf der Ebene von Nuklei oder einzelnen Neuronen zu. Das Signal eines Datenpunktes des BOLD-Signals repräsentiert durchschnittlich die summierte Aktivität von etwa 5 Millionen Neuronen und 50 Milliarden Synapsen (Logothetis, 2008).

Erschwerend kommt hinzu, dass das BOLD-Signal in den Fokus-Regionen aufgrund der Nähe zum Hirnstamm in der Umgebung großen Arterien und angrenzender Liquorräume besonders

anfällig für Rauschen durch Herz- und Atemphasen ist (Brooks et al., 2013). Der Einfluss von physiologischen Störfaktoren auf die vorliegenden Daten wurde so weit wie möglich berücksichtigt, indem Regressoren der kardialen und respiratorischen Phasen in die GLM-Analyse einbezogen wurden (siehe Abschnitt 3.4.2).

Die vorliegende Arbeit schloss keine periphere physiologische Messung (wie z.B. elektrodermale Aktivität) zur Validierung des Konditionierungserfolgs ein. Die Ergebnisse wurden deshalb auf Verhaltens- und neuronaler Ebene sorgfältig auf Evidenz für den Konditionierungserfolg geprüft. Zunächst wurde gezeigt, dass die US aller drei Bedrohungsarten eine aversive emotionale Reaktion hervorriefen und dass die Probandinnen die höhere Wahrscheinlichkeit des Auftretens der US während CS+ Trials im Vergleich zu CS- Trials korrekt vorhersagen konnten. Auf der neuronalen Ebene fanden wir signifikante Haupteffekte des Faktors CS-Typ (CS+, CS-) in allen drei Fokus-Regionen sowie auf Ebene des gesamten Gehirns, wobei letztere Ergebnisse gut mit dem in anderen Schmerzkonditionierungsstudien identifizierten Hirnnetzwerk (Fullana et al., 2016) übereinstimmten.

Die in dieser Studie verwendeten Reize unterschieden sich in Bezug auf die sensorische Modalität (audiovisuelle Stimuli für die Bedingungen Raubtier und aggressiver Artgenosse, Elektroschocks für die Bedingung Schmerz) sowie in Bezug auf die berichteten Erregungsniveaus (höher für Schmerz im Vergleich zu den beiden anderen Bedingungen, siehe Verhaltensergebnisse). Auch wenn wir aus diesem Grund unsere Analyse auf die CS-bezogene (anstelle der US-bezogenen) Hirnaktivität beschränkten und die Erregungsbewertungen der Probandinnen für jedes Trial in die GLM-Analyse einbezogen, ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass einige der Unterschiede zwischen der Bedingung Schmerz und den

anderen beiden Bedingungen auf Unterschiede in der Reizintensität oder -modalität zurückzuführen sind.

Schließlich schloss unsere Studie aufgrund von zuvor berichteten Geschlechtsunterschieden bei der Emotionsverarbeitung im Allgemeinen (McRae et al., 2008; Whittle et al., 2011; Moriguchi et al., 2014) und der Furchtkonditionierung im Besonderen (Jackson et al., 2006; Lebron-Milad et al., 2012; Reichenberger et al., 2019) nur weibliche Probandinnen ein. Somit sind zukünftige Untersuchungen zu geschlechtsspezifischen Unterschieden bei bedrohungsartabhängigen subkortikalen Hirnaktivierungen notwendig.

5.5 Schlussfolgerung

Unterschiedliche Bedrohungsreize, nämlich die Bedrohung durch Schmerzen, Raubtiere und aggressive Artgenossen sind mit unterschiedlichen BOLD-Aktivierungen in der menschlichen Amygdala und im Hypothalamus assoziiert. Vor dem Hintergrund der Konzeptualisierung verschiedener neuropsychiatrischer Erkrankungen als Störungen des Bedrohungsverhaltens wird es interessant sein, zu untersuchen, ob und wie die subkortikale neuronale Architektur für verschiedene Arten von bedrohlichen Reizen bei Patienten mit Angststörungen, Depressionen oder chronischen Schmerzen verändert ist. Weitere Forschung ist notwendig, um die vorliegenden Erkenntnisse zu überprüfen und die Untersuchung von neuronalen Schaltkreisen für verschiedene Bedrohungsarten im menschlichen Gehirn weiter voranzutreiben.

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wäre ohne die Unterstützung vieler anderer nicht entstanden. Mein besonderer Dank für die Inspiration zu diesem Thema und die immer wohlwollende und tatkräftige Unterstützung gilt meinem Betreuer PD Dr. Christian Sorg und meiner Mentorin PD Dr. Satja Mulej Bratec sowie meinem Mentor Dr. Felix Brandl. Sehr herzlich möchte ich mich zudem bei Prof. Dr. Hans Förstl für die Betreuung meiner Promotion bis zum Eintritt in den wohlverdienten Ruhestand bedanken. Ebenfalls großer Dank gebührt meinen Mitstreitern Daniel Hoffmann Ayala und Maria Huber, mit denen das Experiment zusammen geplant und durchgeführt wurde und ohne die die langen Stunden am Scanner nicht halb so unterhaltsam gewesen wären. Insbesondere Daniel hat mit seiner ausdauernden und gewissenhaften Unterstützung maßgeblich zum Erfolg dieser Arbeit beigetragen. Ich danke Georg Starke, der mit seinem Vorgänger-Projekt die Grundlagen für die vorliegende Studie gelegt hat und auch danach noch bei Fragen jederzeit hilfsbereit zur Seite stand. Martin Gruber bin ich für seine unermüdliche und immer freundliche Unterstützung bei einer Vielzahl von technischen Problemen zu großem Dank verpflichtet. Für die Durchsicht und Korrektur der Arbeit danke ich meiner Mutter Isabel Polanco-Bertram und meinen Schwestern Clara und Elena Bertram. Bei der Erstellung der in der Studie verwendeten audiovisuellen Stimuli haben uns Gili Feigenbaum, Lilith Kappelmann und Benjamin Lange mit ihrem schauspielerischen und kinematografischen Talent unterstützt. Zuletzt gilt mein Dank der Studienstiftung, die durch eine Verlängerung meiner Förderung eine einjährige Freistellung für die Promotion ermöglicht hat.

Literaturverzeichnis

- Adolphs R, Tranel D, Damasio H, Damasio A (1994) Impaired recognition of emotion in facial expressions following bilateral damage to the human amygdala. *Nature* 372:669-672.
- Adolphs R, Tranel D, Hamann S, Young AW, Calder AJ, Phelps EA, Anderson A, Lee GP, Damasio AR (1999) Recognition of facial emotion in nine individuals with bilateral amygdala damage. *Neuropsychologia* 37:1111-1117.
- Allen WE, DeNardo LA, Chen MZ, Liu CD, Loh KM, Fenno LE, Ramakrishnan C, Deisseroth K, Luo L (2017) Thirst-associated preoptic neurons encode an aversive motivational drive. *Science* 357:1149-1155.
- Ames A, 3rd (2000) CNS energy metabolism as related to function. *Brain Res Brain Res Rev* 34:42-68.
- Amunts K, Kedo O, Kindler M, Pieperhoff P, Mohlberg H, Shah NJ, Habel U, Schneider F, Zilles K (2005) Cytoarchitectonic mapping of the human amygdala, hippocampal region and entorhinal cortex: intersubject variability and probability maps. *Anat Embryol (Berl)* 210:343-352.
- Aponte Y, Atasoy D, Sternson SM (2011) AGRP neurons are sufficient to orchestrate feeding behavior rapidly and without training. *Nature neuroscience* 14:351-355.
- Attwell D, Buchan AM, Charkpak S, Lauritzen M, Macvicar BA, Newman EA (2010) Glial and neuronal control of brain blood flow. *Nature* 468:232-243.
- Bakshi VP, Shelton SE, Kalin NH (2000) Chapter 8 - Neurobiological correlates of defensive behaviors. In: *Progress in Brain Research* (Mayer EA, Saper CB, eds), pp 105-115: Elsevier.
- Baliki Marwan N, Apkarian AV (2015) Nociception, Pain, Negative Moods, and Behavior Selection. *Neuron* 87:474-491.
- Bandler R (1982) Induction of 'rage' following microinjections of glutamate into midbrain but not hypothalamus of cats. *Neuroscience letters* 30:183-188.
- Bandler R, Shipley MT (1994) Columnar organization in the midbrain periaqueductal gray: modules for emotional expression? *Trends in neurosciences* 17:379-389.
- Barton RA, Aggleton JP, Grenyer R (2003) Evolutionary coherence of the mammalian amygdala. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences* 270:539-543.
- Bastos AF, Vieira AS, Oliveira JM, Oliveira L, Pereira MG, Figueira I, Erthal FS, Volchan E (2016) Stop or move: Defensive strategies in humans. *Behavioural brain research* 302:252-262.
- Beck AT, Emery G, Greenberg RL (2005) *Anxiety disorders and phobias: A cognitive perspective*: Basic Books.
- Beck AT, Ward CH, Mendelson M, Mock J, Erbaugh J (1961) An inventory for measuring depression. *Archives of general psychiatry* 4:561-571.

- Bittencourt A, Nakamura-Palacios E, Mauad H, Tufik S, Schenberg L (2005) Organization of electrically and chemically evoked defensive behaviors within the deeper collicular layers as compared to the periaqueductal gray matter of the rat. *Neuroscience* 133:873-892.
- Bittencourt AS, Carobrez AP, Zamprogno LP, Tufik S, Schenberg LC (2004) Organization of single components of defensive behaviors within distinct columns of periaqueductal gray matter of the rat: role of N-methyl-D-aspartic acid glutamate receptors. *Neuroscience* 125:71-89.
- Blanchard D, Blanchard R, Rodgers R (1991) Risk Assessment and Animal Models of Anxiety In: Olivier B, Mos J, Slangen JL (eds). *Animal Models in Psychopharmacology*. In: Birkhäuser Basel: Basel.
- Blanchard DC, Blanchard RJ (2008) Defensive behaviors, fear, and anxiety. In: *Handbook of anxiety and fear.*, pp 63-79. San Diego, CA, US: Elsevier Academic Press.
- Blanchard DC, Williams G, Lee E, Blanchard RJ (1981) Taming of wild *Rattus norvegicus* by lesions of the mesencephalic central gray. *Physiological psychology* 9:157-163.
- Blanchard DC, Griebel G, Pobbe R, Blanchard RJ (2011) Risk assessment as an evolved threat detection and analysis process. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 35:991-998.
- Blanchard DC, Hynd AL, Minke KA, Minemoto T, Blanchard RJ (2001) Human defensive behaviors to threat scenarios show parallels to fear-and anxiety-related defense patterns of non-human mammals. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 25:761-770.
- Blanchard DC, Spencer RL, Weiss SM, Blanchard RJ, McEwen B, Sakai RR (1995) Visible burrow system as a model of chronic social stress: behavioral and neuroendocrine correlates. *Psychoneuroendocrinology* 20:117-134.
- Blanchard RJ, Blanchard DC, Hori K (1989) *An ethoexperimental approach to the study of defense*: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- Bradley BP, Mogg K, White J, Groom C, De Bono J (1999) Attentional bias for emotional faces in generalized anxiety disorder. *British Journal of Clinical Psychology* 38:267-278.
- Bradley MM, Lang PJ (1994) Measuring emotion: the self-assessment manikin and the semantic differential. *Journal of behavior therapy and experimental psychiatry* 25:49-59.
- Brooks J, Faull O, Pattinson K, Jenkinson M (2013) Physiological Noise in Brainstem fMRI. *Frontiers in Human Neuroscience* 7.
- Canteras NS, Kroon JA, Do-Monte FH, Pavesi E, Carobrez AP (2008) Sensing danger through the olfactory system: the role of the hypothalamic dorsal premammillary nucleus. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 32:1228-1235.
- Carrive P (1993) The periaqueductal gray and defensive behavior: functional representation and neuronal organization. *Behavioural brain research* 58:27-47.
- Carrive P, Morgan MM (2012) Chapter 10 - Periaqueductal Gray. In: *The Human Nervous System (Third Edition)* (Mai JK, Paxinos G, eds), pp 367-400. San Diego: Academic Press.

- Cezario AF, Ribeiro-Barbosa ER, Baldo MV, Canteras NS (2008) Hypothalamic sites responding to predator threats--the role of the dorsal premammillary nucleus in unconditioned and conditioned antipredatory defensive behavior. *The European journal of neuroscience* 28:1003-1015.
- Chen S, Zhou H, Guo S, Zhang J, Qu Y, Feng Z, Xu K, Zheng X (2015) Optogenetics based rat-robot control: optical stimulation encodes "stop" and "escape" commands. *Annals of biomedical engineering* 43:1851-1864.
- Chiang MC, Nguyen EK, Canto-Bustos M, Papale AE, Oswald A-MM, Ross SE (2020) Divergent Neural Pathways Emanating from the Lateral Parabrachial Nucleus Mediate Distinct Components of the Pain Response. *Neuron*.
- Cunningham WA, Brosch T (2012) Motivational salience: Amygdala tuning from traits, needs, values, and goals. *Current Directions in Psychological Science* 21:54-59.
- Dampney RAL, Furlong TM, Horiuchi J, Iigaya K (2013) Role of dorsolateral periaqueductal grey in the coordinated regulation of cardiovascular and respiratory function. *Autonomic Neuroscience* 175:17-25.
- Davidson JM (1966) Activation of the male rat's sexual behavior by intracerebral implantation of androgen. *Endocrinology* 79:783-794.
- Delgado MR, Jou RL, Phelps EA (2011) Neural systems underlying aversive conditioning in humans with primary and secondary reinforcers. *Frontiers in neuroscience* 5:71.
- Deng H, Xiao X, Wang Z (2016) Periaqueductal Gray Neuronal Activities Underlie Different Aspects of Defensive Behaviors. *The Journal of Neuroscience* 36:7580-7588.
- Di Scala G, Schmitt P, Karli P (1984) Flight induced by infusion of bicuculline methiodide into periventricular structures. *Brain research* 309:205-209.
- Dielenberg RA, Hunt GE, McGregor IS (2001) "When a rat smells a cat": the distribution of Fos immunoreactivity in rat brain following exposure to a predatory odor. *Neuroscience* 104:1085-1097.
- Dixon A, Fisch H, Huber C, Walser A (1989) Ethological studies in animals and man, their use in psychiatry. *Pharmacopsychiatry* 22:44-50.
- Drake CT, Iadecola C (2007) The role of neuronal signaling in controlling cerebral blood flow. *Brain and Language* 102:141-152.
- Elias GJB, Giacobbe P, Boutet A, Germann J, Beyn ME, Gramer RM, Pancholi A, Joel SE, Lozano AM (2020) Probing the circuitry of panic with deep brain stimulation: Connectomic analysis and review of the literature. *Brain Stimulation* 13:10-14.
- Evans AC, D.L. C, S.R. M, E.D. B, R.L. K, T.M. P (1993) 3D statistical neuroanatomical models from 305 MRI volumes. *Proc IEEE-Ncl Sci Symp Med Imaging Conf* 3:1813-1817.
- Ezra M, Faull OK, Jbabdi S, Pattinson KT (2015) Connectivity-based segmentation of the periaqueductal gray matter in human with brainstem optimized diffusion MRI. *Human brain mapping* 36:3459-3471.
- Fanselow MS (1994) Neural organization of the defensive behavior system responsible for fear. *Psychonomic bulletin & review* 1:429-438.

- Feinstein JS, Adolphs R, Damasio A, Tranel D (2011) The human amygdala and the induction and experience of fear. *Current biology* 21:34-38.
- Foa EB, Franklin ME, Perry KJ, Herbert JD (1996) Cognitive biases in generalized social phobia. *J Abnorm Psychol* 105:433-439.
- Fox PT, Raichle ME (1986) Focal physiological uncoupling of cerebral blood flow and oxidative metabolism during somatosensory stimulation in human subjects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83:1140-1144.
- Fox PT, Raichle ME, Mintun MA, Dence C (1988) Nonoxidative glucose consumption during focal physiologic neural activity. *Science* 241:462-464.
- Freeman RD, Li B (2016) Neural metabolic coupling in the central visual pathway. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 371:20150357.
- Freese JL, Amaral DG (2009) Neuroanatomy of the primate amygdala. In: *The human amygdala.*, pp 3-42. New York, NY, US: The Guilford Press.
- Friston KJ, Williams S, Howard R, Frackowiak RS, Turner R (1996) Movement-related effects in fMRI time-series. *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine* 35:346-355.
- Friston KJ, Holmes AP, Worsley KJ, Poline JP, Frith CD, Frackowiak RS (1994) Statistical parametric maps in functional imaging: a general linear approach. *Human brain mapping* 2:189-210.
- Fullana MA, Harrison BJ, Soriano-Mas C, Vervliet B, Cardoner N, Avila-Parcet A, Radua J (2016) Neural signatures of human fear conditioning: an updated and extended meta-analysis of fMRI studies. *Mol Psychiatry* 21:500-508.
- Gilbert P, Allan S (1998) The role of defeat and entrapment (arrested flight) in depression: an exploration of an evolutionary view. *Psychol Med* 28:585-598.
- Gläscher J, Büchel C (2005) Formal learning theory dissociates brain regions with different temporal integration. *Neuron* 47:295-306.
- Griebel G, Blanchard DC, Agnes RS, Blanchard RJ (1995) Differential modulation of antipredator defensive behavior in Swiss-Webster mice following acute or chronic administration of imipramine and fluoxetine. *Psychopharmacology* 120:57-66.
- Griffiths AW, Wood AM, Maltby J, Taylor PJ, Tai S (2014) The prospective role of defeat and entrapment in depression and anxiety: A 12-month longitudinal study. *Psychiatry Research* 216:52-59.
- Gross CT, Canteras NS (2012) The many paths to fear. *Nature reviews Neuroscience* 13:651-658.
- Hackl D (2015) *Into the Grizzly Maze*. In: (Vertical Entertainment DF, ed). Canada, United States.
- Harrison LA, Ahn C, Adolphs R (2015) Exploring the Structure of Human Defensive Responses from Judgments of Threat Scenarios. *PloS one* 10:e0133682-e0133682.
- Harro J (2018) Animals, anxiety, and anxiety disorders: How to measure anxiety in rodents and why. *Behavioural brain research* 352:81-93.

- Hosobuchi Y, Adams JE, Linchitz R (1977) Pain relief by electrical stimulation of the central gray matter in humans and its reversal by naloxone. *Science* 197:183-186.
- Hunsperger R (1956) Affektreaktionen auf elektrische Reizung im Hirnstamm der Katze. *Helv physiol acta* 14:70-92.
- Jackson ED, Payne JD, Nadel L, Jacobs WJ (2006) Stress differentially modulates fear conditioning in healthy men and women. *Biological psychiatry* 59:516-522.
- Jiménez F, Velasco F, Salin-Pascual R, Hernández JA, Velasco M, Criales JL, Nicolini H (2005) A Patient with a Resistant Major Depression Disorder Treated with Deep Brain Stimulation in the Inferior Thalamic Peduncle. *Neurosurgery* 57:585-593.
- Kasper L, Bollmann S, Diaconescu AO, Hutton C, Heinzle J, Iglesias S, Hauser TU, Sebold M, Manjaly Z-M, Pruessmann KP (2017) The PhysIO toolbox for modeling physiological noise in fMRI data. *Journal of neuroscience methods* 276:56-72.
- Ko KR, Ngai AC, Winn HR (1990) Role of adenosine in regulation of regional cerebral blood flow in sensory cortex. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 259:H1703-H1708.
- Kollack-Walker S, Don C, Watson S, Akil H (1999) Differential expression of c-fos mRNA within neurocircuits of male hamsters exposed to acute or chronic defeat. *Journal of neuroendocrinology* 11:547-560.
- Kunwar PS, Zelikowsky M, Remedios R, Cai H, Yilmaz M, Meister M, Anderson DJ (2015) Ventromedial hypothalamic neurons control a defensive emotion state. *eLife* 4:e06633.
- Kveraga K, Boshyan J, Adams RB, Jr., Mote J, Betz N, Ward N, Hadjikhani N, Bar M, Barrett LF (2015) If it bleeds, it leads: separating threat from mere negativity. *Social cognitive and affective neuroscience* 10:28-35.
- Lebron-Milad K, Abbs B, Milad MR, Linnman C, Rougemont-Bücking A, Zeidan MA, Holt DJ, Goldstein JM (2012) Sex differences in the neurobiology of fear conditioning and extinction: a preliminary fMRI study of shared sex differences with stress-arousal circuitry. *Biology of Mood & Anxiety Disorders* 2:7.
- LeDoux J (2007) The amygdala. *Current Biology* 17:R868-R874.
- LeDoux J (2012) Rethinking the Emotional Brain. *Neuron* 73:653-676.
- LeDoux J, Daw ND (2018) Surviving threats: neural circuit and computational implications of a new taxonomy of defensive behaviour. *Nature reviews Neuroscience* 19:269-282.
- LeDoux JE (2000) Emotion circuits in the brain. *Annu Rev Neurosci* 23:155-184.
- Lezak KR, Missig G, Carlezon WA, Jr. (2017) Behavioral methods to study anxiety in rodents. *Dialogues in clinical neuroscience* 19:181-191.
- Lin D, Boyle MP, Dollar P, Lee H, Lein E, Perona P, Anderson DJ (2011) Functional identification of an aggression locus in the mouse hypothalamus. *Nature* 470:221-226.
- Logothetis N, Wandell B (2004) Interpreting the BOLD signal. *Annual review of physiology* 66:735-769.
- Logothetis NK (2008) What we can do and what we cannot do with fMRI. *Nature* 453:869-878.



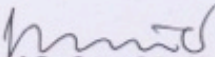
- Löw A, Weymar M, Hamm AO (2015) When threat is near, get out of here: Dynamics of defensive behavior during freezing and active avoidance. *Psychological science* 26:1706-1716.
- Mangieri LR, Jiang Z, Lu Y, Xu Y, Cassidy RM, Justice N, Xu Y, Arenkiel BR, Tong Q (2019) Defensive Behaviors Driven by a Hypothalamic-Ventral Midbrain Circuit. *eNeuro* 6:ENEURO.0156-0119.2019.
- Martinez RC, Carvalho-Netto EF, Ribeiro-Barbosa ER, Baldo MV, Canteras NS (2011) Amygdalar roles during exposure to a live predator and to a predator-associated context. *Neuroscience* 172:314-328.
- Mathews A, MacLeod C (2005) Cognitive Vulnerability to Emotional Disorders. *Annual Review of Clinical Psychology* 1:167-195.
- McGregor IS, Hargreaves GA, Apfelbach R, Hunt GE (2004) Neural correlates of cat odor-induced anxiety in rats: region-specific effects of the benzodiazepine midazolam. *Journal of Neuroscience* 24:4134-4144.
- McNaughton N, Corr PJ (2004) A two-dimensional neuropsychology of defense: fear/anxiety and defensive distance. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 28:285-305.
- McRae K, Ochsner KN, Mauss IB, Gabrieli JJD, Gross JJ (2008) Gender Differences in Emotion Regulation: An fMRI Study of Cognitive Reappraisal. *Group Processes & Intergroup Relations* 11:143-162.
- Mobbs D, Yu R, Rowe JB, Eich H, FeldmanHall O, Dalgleish T (2010) Neural activity associated with monitoring the oscillating threat value of a tarantula. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107:20582-20586.
- Mobbs D, Petrovic P, Marchant JL, Hassabis D, Weiskopf N, Seymour B, Dolan RJ, Frith CD (2007) When fear is near: threat imminence elicits prefrontal-periaqueductal gray shifts in humans. *Science (New York, NY)* 317:1079-1083.
- Mobbs D, Marchant JL, Hassabis D, Seymour B, Tan G, Gray M, Petrovic P, Dolan RJ, Frith CD (2009) From Threat to Fear: The Neural Organization of Defensive Fear Systems in Humans. *The Journal of Neuroscience* 29:12236-12243.
- Moriguchi Y, Touroutoglou A, Dickerson BC, Barrett LF (2014) Sex differences in the neural correlates of affective experience. *Social cognitive and affective neuroscience* 9:591-600.
- Motta SC, Goto M, Gouveia FV, Baldo MVC, Canteras NS, Swanson LW (2009) Dissecting the brain's fear system reveals the hypothalamus is critical for responding in subordinate conspecific intruders. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106:4870-4875.
- Mulej Bratec S, Xie X, Schmid G, Doll A, Schilbach L, Zimmer C, Wohlschläger A, Riedl V, Sorg C (2015) Cognitive emotion regulation enhances aversive prediction error activity while reducing emotional responses. *NeuroImage* 123:138-148.
- Nashold BS, Wilson WP, Slaughter DG (1969) Sensations Evoked by Stimulation in the Midbrain of Man. *Journal of Neurosurgery* 30:14.

- Ogawa S, Lee T-M, Kay AR, Tank DW (1990) Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *proceedings of the National Academy of Sciences* 87:9868-9872.
- Ono D, Yamanaka A (2017) Hypothalamic regulation of the sleep/wake cycle. *Neuroscience Research* 118:74-81.
- Pabba M (2013) Evolutionary development of the amygdaloid complex. *Frontiers in Neuroanatomy* 7.
- Pauli WM, Nili AN, Tyszka JM (2018) A high-resolution probabilistic in vivo atlas of human subcortical brain nuclei. *Scientific data* 5:180063.
- Pauling L, Coryell CD (1936) The Magnetic Properties and Structure of Hemoglobin, Oxyhemoglobin and Carbonmonoxyhemoglobin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 22:210-216.
- Pavlov IP (1927) *Conditioned reflexes: an investigation of the physiological activity of the cerebral cortex*. Oxford, England: Oxford Univ. Press.
- Pereira AG, Moita MA (2016) Is there anybody out there? Neural circuits of threat detection in vertebrates. *Current Opinion in Neurobiology* 41:179-187.
- Perkins AM, Corr PJ (2006) Reactions to threat and personality: psychometric differentiation of intensity and direction dimensions of human defensive behaviour. *Behavioural brain research* 169:21-28.
- Perkins AM, Ettinger U, Davis R, Foster R, Williams SC, Corr PJ (2009) Effects of Lorazepam and citalopram on human defensive reactions: ethopharmacological differentiation of fear and anxiety. *J Neurosci* 29:12617-12624.
- Phelps EA, Delgado MR, Nearing KI, LeDoux JE (2004) Extinction learning in humans: role of the amygdala and vmPFC. *Neuron* 43:897-905.
- Pinheiro SN, Del-Ben CM, Zangrossi H, Jr., Graeff FG (2008) Anxiolytic and panicolytic effects of escitalopram in the elevated T-maze. *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)* 22:132-137.
- Porreca F, Ossipov MH, Gebhart G (2002) Chronic pain and medullary descending facilitation. *Trends in neurosciences* 25:319-325.
- Price JL (2005) Free will versus survival: Brain systems that underlie intrinsic constraints on behavior. *Journal of Comparative Neurology* 493:132-139.
- Rasche D, Foethke D, Gliemroth J, Tronnier VM (2006) Tiefenhirnstimulation im posterioren Hypothalamus zur Behandlung des chronischen Clusterkopfschmerzes. *Der Schmerz* 20:439-444.
- Reichenberger J, Pfaller M, Forster D, Gerczuk J, Shiban Y, Mühlberger A (2019) Men Scare Me More: Gender Differences in Social Fear Conditioning in Virtual Reality. *Frontiers in Psychology* 10.
- Schiller D, Levy I, Niv Y, LeDoux JE, Phelps EA (2008) From fear to safety and back: reversal of fear in the human brain. *Journal of Neuroscience* 28:11517-11525.

- Sehlmeyer C, Schöning S, Zwitserlood P, Pfeleiderer B, Kircher T, Arolt V, Konrad C (2009) Human fear conditioning and extinction in neuroimaging: a systematic review. *PLoS one* 4.
- Shapira NA, Okun MS, Wint D, Foote KD, Byars JA, Bowers D, Springer US, Lang PJ, Greenberg BD, Haber SN, Goodman WK (2006) Panic and fear induced by deep brain stimulation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 77:410-412.
- Shuhama R, Del-Ben CM, Loureiro SR, Graeff FG (2008) Defensive responses to threat scenarios in Brazilians reproduce the pattern of Hawaiian Americans and non-human mammals. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas* 41:324-332.
- Siegel JS, Power JD, Dubis JW, Vogel AC, Church JA, Schlaggar BL, Petersen SE (2014) Statistical improvements in functional magnetic resonance imaging analyses produced by censoring high-motion data points. *Human brain mapping* 35:1981-1996.
- Silva BA, Gross CT, Gräff J (2016) The neural circuits of innate fear: detection, integration, action, and memorization. *Learn Mem* 23:544-555.
- Subramanian HH, Balnave RJ, Holstege G (2008) The midbrain periaqueductal gray control of respiration. *Journal of Neuroscience* 28:12274-12283.
- Sukikara MH, Mota-Ortiz SR, Baldo MV, Felicio LF, Canteras NS (2010) The periaqueductal gray and its potential role in maternal behavior inhibition in response to predatory threats. *Behavioural brain research* 209:226-233.
- Sylvester CM, Hudziak JJ, Gaffrey MS, Barch DM, Luby JL (2016) Stimulus-driven attention, threat bias, and sad bias in youth with a history of an anxiety disorder or depression. *Journal of abnormal child psychology* 44:219-231.
- Tan CL, Cooke EK, Leib DE, Lin Y-C, Daly GE, Zimmerman CA, Knight ZA (2016) Warm-sensitive neurons that control body temperature. *Cell* 167:47-59. e15.
- Terburg D, Scheggia D, Triana Del Rio R, Klumpers F, Ciobanu AC, Morgan B, Montoya ER, Bos PA, Giobellina G, van den Burg EH, de Gelder B, Stein DJ, Stoop R, van Honk J (2018) The Basolateral Amygdala Is Essential for Rapid Escape: A Human and Rodent Study. *Cell* 175:723-735.e716.
- Tottenham N, Hare TA, Casey BJ (2009) A developmental perspective on human amygdala function. In: *The human amygdala.*, pp 107-117. New York, NY, US: The Guilford Press.
- Tovote P, Esposito MS, Botta P, Chaudun F, Fadok JP, Markovic M, Wolff SBE, Ramakrishnan C, Fenno L, Deisseroth K, Herry C, Arber S, Lüthi A (2016) Midbrain circuits for defensive behaviour. *Nature* 534:206-212.
- Vaughan E, Fisher AE (1962) Male sexual behavior induced by intracranial electrical stimulation. *Science* 137:758-760.
- Vianna DML, Landeira-Fernandez J, Brandão ML (2001) Dorsolateral and ventral regions of the periaqueductal gray matter are involved in distinct types of fear. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 25:711-719.
- Wang L, Chen IZ, Lin D (2015) Collateral pathways from the ventromedial hypothalamus mediate defensive behaviors. *Neuron* 85:1344-1358.

- Wang L, Talwar V, Osakada T, Kuang A, Guo Z, Yamaguchi T, Lin D (2019) Hypothalamic Control of Conspecific Self-Defense. *Cell Reports* 26:1747-1758.e1745.
- Weishaupt D, Köchli VD, Marincek B (2009) *Wie funktioniert MRI?: eine Einführung in Physik und Funktionsweise der Magnetresonanztomographie*: Springer.
- Whalen PJ, Kagan J, Cook RG, Davis FC, Kim H, Polis S, McLaren DG, Somerville LH, McLean AA, Maxwell JS, Johnstone T (2004) Human amygdala responsivity to masked fearful eye whites. *Science* 306:2061.
- Whittle S, Yücel M, Yap MB, Allen NB (2011) Sex differences in the neural correlates of emotion: evidence from neuroimaging. *Biological psychology* 87:319-333.
- Xie Y, Dorsky RI (2017) Development of the hypothalamus: conservation, modification and innovation. *Development* 144:1588-1599.
- Young AW, Aggleton JP, Hellawell DJ, Johnson M, Brooks P, Hanley JR (1995) Face processing impairments after amygdalotomy. *Brain* 118:15-24.

Anhang

<p>Technische Universität München - Fakultät für Medizin - Ethikkommission Ismaninger Str. 22 - 81675 München - Germany</p>	 <p>Technische Universität München</p>
<p>Klinikum rechts der Isar Technische Universität München Abteilung für Diagnostische und Interventionelle Neuroradiologie Dr. med. Christian Sorg Ismaninger Str. 22 81675 München</p>	 <p>Fakultät für Medizin Ethikkommission</p>
<p>München, 27.01.2017/S</p>	<p>Prof. Dr. Georg Schmidt Vorsitzender</p> <p>Prof. Dr. Kurt Ulm Stellvertretender Vorsitzender</p>
<p>Unser Zeichen: 544/16 S (bitte bei Schriftwechsel angeben)</p>	<p>Ismaninger Str. 22 81675 München Germany</p>
<p>Beratung nach § 15 Berufsordnung für Ärzte in Bayern</p>	<p>Tel +49 89 4140 4371 Fax +49 89 4140 4199</p>
<p>Studientitel: Neuronale Korrelate unterschiedlicher Furchttypen beim Menschen Antragsteller: Dr. med. Christian Sorg</p>	<p>ethikkommission@mri.tum.de www.ek.med.tum.de</p>
<p>Sehr geehrter Herr Dr. Sorg,</p> <p>die Ethikkommission hat Ihren Antrag vom 01.12.2016 auf der Basis der vorgelegten Unterlagen geprüft und in der Sitzung am 20.12.2016 beraten.</p> <p>Die Ethikkommission erhebt keine Einwände gegen die Durchführung der Studie.</p> <p>Die ethische und rechtliche Verantwortung für die Durchführung dieser Studie verbleibt bei Ihnen. Änderungen des Protokolls sind zur erneuten Prüfung einzureichen. Das Studienende ist anzuzeigen und ein Kurzbericht über das Ergebnis der Studie ist vorzulegen. Die Ethikkommission empfiehlt die Eintragung des Forschungsprojektes in ein WHO-anerkanntes Register.</p>	
<p>Mit freundlichen Grüßen</p>	
 <p>Prof. Dr. Georg Schmidt Vorsitzender der Ethikkommission</p>	