

4. Methoden

4.1 Probanden

4.1.1 Ein- und Ausschlusskriterien

Den Einschlusskriterien entsprachen gesunde weibliche Probanden im Alter von 20-40 Jahren. Von vornherein ausgeschlossen wurden solche Personen, die psychiatrische oder neurologische Erkrankungen aufwiesen, bzw. Familienangehörige ersten Grades mit derartigen Krankheiten hatten. Ebenso wurde darauf geachtet, dass die Probanden weder schwerwiegende somatische Erkrankungen hatten, noch Alkohol oder andere Drogen missbrauchten. Während der Dauer der Studie durften die Probanden keinerlei Medikamente mit irgendeiner psychotropen Wirkung zu sich nehmen. Mittels SCID-II-Interview sowie des Mini-SCID für gesunde Probanden wurden eventuelle Persönlichkeitsstörungen ausgeschlossen. Zudem wurde vor Untersuchungsbeginn eine ausführliche Anamnese erhoben; auch internistische und neurologische Kontrolluntersuchungen fanden statt.

Durch Anzeigen an den lokalen Schwarzen Brettern wurden schließlich fünfundzwanzig rechtshändige Probandinnen im Alter von zwanzig bis 33 Jahren ausgewählt, das Durchschnittsalter (\pm Standardabweichung) lag bei 24,2 Jahren (\pm 2,8 Jahre). Alle Versuchspersonen besaßen die allgemeine Hochschulreife. Bei keiner von ihnen lag eine Schwangerschaft vor.

Die Probanden wurden vor Beginn der Untersuchung ausführlich über sämtliche Aspekte und möglichen Risiken der Experimente aufgeklärt, und nur solche Personen, die sich danach schriftlich einverstanden erklärt hatten, wurden in die Studie aufgenommen und erhielten ein angemessenes Honorar. Zuvor war die Studie der Ethikkommission der Charité vorgestellt und gemäß der Deklaration von Helsinki genehmigt worden.

Am Tag vor den einzelnen EEG-Ableitungen blieb den Probanden Alkoholkonsum untersagt, obwohl er ansonsten im jeder Versuchsperson normalen Rahmen gestattet war. Die Probanden durften vor ihren Untersuchungsterminen ein Frühstück

einnehmen, wogegen der Konsum von koffeinhaltigen Getränken auf eine Tasse beschränkt war.

4.1.2 In die gesamte Studie eingeschlossene Probanden

Im Laufe der Untersuchungssitzungen fielen einzelne Probanden hauptsächlich durch eine nicht ausreichende Zahl der verwertbaren N1/P2-Ableitungen aus der auswertbaren Untersuchungsgruppe heraus. Schließlich verblieben achtzehn Personen, deren Daten endgültig zur Auswertung der Studie verwendet werden konnten. Es handelte sich bei diesen Versuchspersonen um rechtshändige, gesunde Studentinnen ohne Hörstörungen mit normalem bzw. korrigiertem Sehvermögen im Alter von 21 bis 29 Jahren (Durchschnittsalter 24,0 Jahre, SD \pm 2,25 Jahre). Die einzelnen Untersuchungssitzungen fanden im durchschnittlichen Abstand von 9,3 Tagen (SD \pm 4,8 Tage) statt.

Sieben Probandinnen nahmen regelmäßig verschiedene orale Antikonzeptiva ein, doch ansonsten fand sich kein regelmäßiger Medikamentenkonsum. Dreizehn Teilnehmerinnen waren Nichtraucher.

4.2 Technik der EEG-Ableitungen und – aufzeichnungen

Die Untersuchungssitzungen fanden im Neurophysiologischen EEG-Labor der Psychiatrischen Klinik der Charité statt, wo sich die Probanden während der EEG-Ableitungen möglichst frei von Außenreizen allein in einem Raum aufhielten, der sowohl optisch und elektrisch isoliert war, als auch Schall abschirmte. Es wurde ein 32-kanaliges EEG abgeleitet, das gemäß dem internationalen 10/20-System (Jaspers 1958) aufgebaut war. Als zusätzliche Elektroden dienten hierbei Fc1, Fc2, Fc5, Fc6, Tp9, Tp10, Cp5, Cp6, Po9 und Po10. Als Referenzelektrode (R) diente FCz, als Erdungselektrode (G) war FPz gewählt worden. Zur Artefaktkontrolle wurde ein horizontales Elektrookulogramm (EOG) abgeleitet, wozu etwa 1 cm lateral des linken Augenwinkels eine weitere Elektrode (Lo1) plaziert wurde.

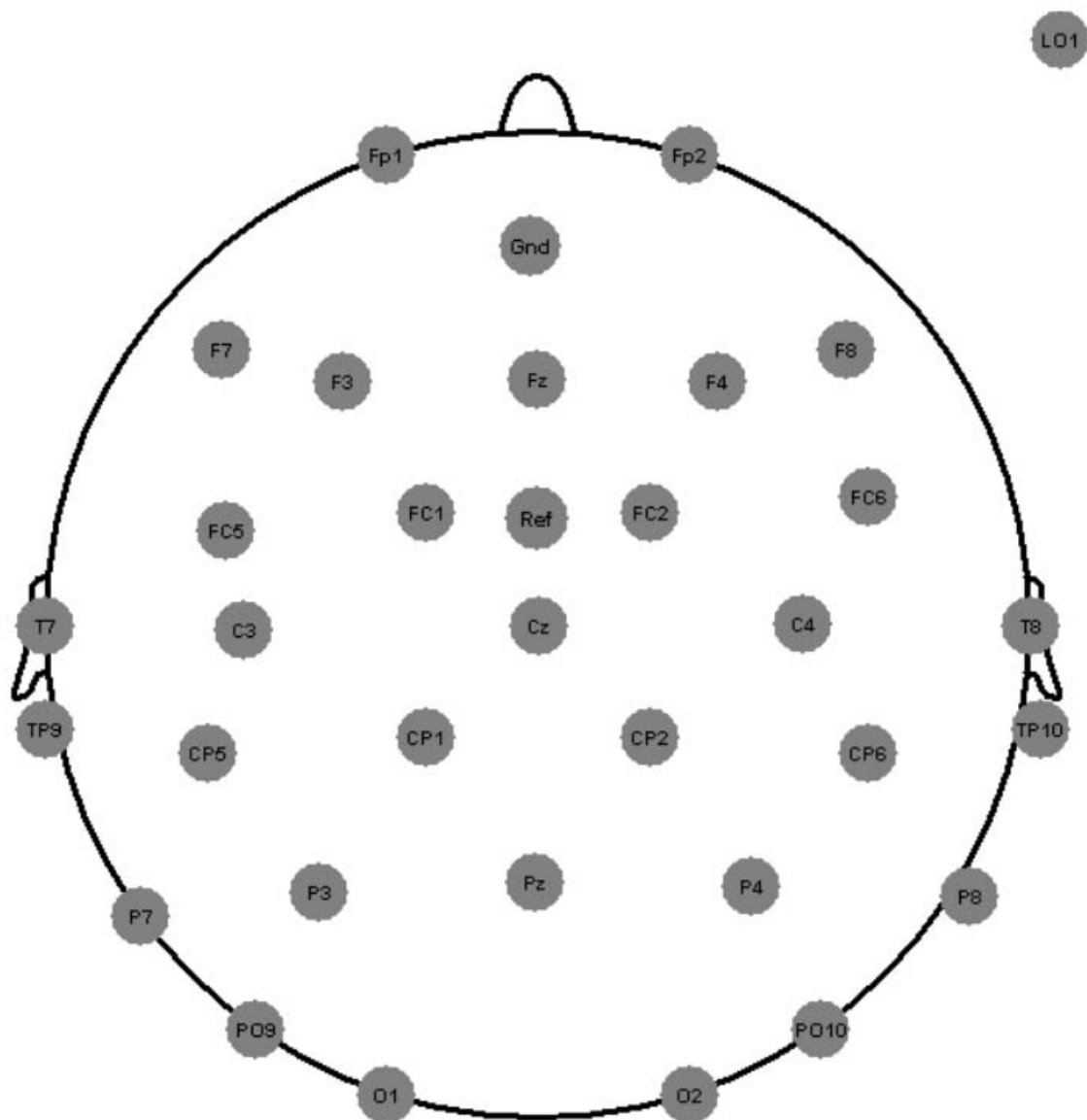


Abb. 4.1: 32-Kanal-EEG. Das hier abgebildete Schema der einzelnen Ableitpunkte wurde für die Untersuchungen verwendet. Dabei steht „Gnd“ (Ground) für die Erdungselektrode, „Ref“ für die Referenzelektrode, Lo1, eigentlich spiegelverkehrt auf der linken Seite angebracht, bezeichnet die Elektrode, mit der das EOG abgeleitet wurde.

Für die Ableitungen des EEG und des EOG wurden nicht polarisierbare Silber-Silberchlorid-Elektroden verwendet, die auf einer EEG-Haube der Marke Easy Cap EEG recording caps befestigt wurden. Nach dem Anpassen der EEG-Haube an die Probanden wurde deren Kopfhaut mittels Nuprep-Peelingpaste gereinigt und aufgeraut. Danach wurde, um die Hautleitwiderstände möglichst gering zu halten und

dadurch exaktere EEGs ableiten zu können, eci electro gel-Elektrodenpaste zwischen die einzelnen Elektroden und die Kopfhaut der Versuchspersonen gegeben. Durch diese Methoden gelang es, die Impedanzen stets unter 5 kOhm zu halten.

Die EEG-Aufzeichnungen erfolgten mit Hilfe des Brainvision professional recorders, während zur Differenzverstärkung der Brainvision professional Brainamp-Verstärker diente und die Daten mittels der Brainvision Analyzer-Software über Computer der Firma DELL digitalisiert wurden. Dieses Equipment stammte von Brain Products GmbH, München.

Eine AEP-Ableitung, von denen an jedem Untersuchungstag fünf stattfanden, dauerte zwölf Minuten. Dabei wurden in pseudorandomisierter Reihenfolge über einen Kopfhörer insgesamt 350 Sinustöne in unterschiedlicher Lautstärke (je 70 Töne pro Intensität) dargeboten, die durch eine Frequenz von 1000 Hz und eine Dauer von 40 ms charakterisiert waren. Die Gesamtinterstimulusintervalle betragen durchschnittlich 2046 ms (zwischen 1841 und 2239 ms). Die Schalldruckpegel, mit denen die einzelnen Töne eingespielt wurden, betragen dabei 79, 87,5, 96, 104,5 bzw. 111 dB. Für jeden Stimulus wurde ein Zeitfenster festgelegt, das von 350 ms vor bis 800 ms nach dem jeweiligen Stimulus andauerte. Nachdem die ersten fünf Stimuli verworfen worden waren, um kurzzeitige Habituationseffekte auszuschließen, wurden weiterhin zur Artefaktreduktion diejenigen Segmente nicht in die Verarbeitung aufgenommen, bei denen es zu irgendeinem Zeitpunkt innerhalb des Zeitfensters auf irgendeinem der 32 Kanäle zu einer Spannungsamplitude größer als $\pm 100 \mu\text{V}$ gekommen war. Dies ist durch Augenbewegungen oder Muskelanspannungen durchaus möglich. Daraufhin wurden Spannungen und Latenzen der verbliebenen Segmente gemittelt. Schließlich wurden diejenigen Probanden in die Auswertung aufgenommen, bei denen in jeder Ableitungssitzung für die Töne jeder Lautstärke stets mehr als dreißig Segmente für die Mittelung zustande gekommen waren. Aufgrund dieser Festlegung entfielen von den fünfundzwanzig ursprünglich rekrutierten Probandinnen zunächst acht Personen, eine konnte jedoch im Nachhinein wieder aufgenommen werden. Bei dieser war der Ausschluss durch einen ungewöhnlich starken Stapediusreflex nach dem lautesten Ton E begründet, der zu hohe Amplituden hervorrief. Nachdem aber der Beginn des vom Computer automatisch ausgewerteten und mit o.g. Artifact Rejection belegten Zeitfensters auf 68 ms nach Stimuluspräsentation gelegt worden war, fiel die N1/P2-Komponente, die diesem großen, reflektorisch bedingten Spannungsausschlag nachfolgte, der Artifact Rejection nicht mehr anheim. Visuelle Nachkontrolle versicherte,

dass keines der zu betrachtenden EKP mit der Änderung des Zeitfensters ebenfalls ausgeschlossen wurden.

4.3 Ablauf

Mit jedem Probanden fanden zwei Untersuchungssitzungen statt, die jeweils um 09.00 Uhr am Vormittag begannen, um mögliche durch die zirkadiane Rhythmik bedingte physiologische Schwankungen z.B. der Vigilanz weitestgehend auszuschließen. Die Abstände der beiden Untersuchungssitzungen lagen zwischen fünf und 26 Tagen, im Mittel aber bei 9,3 Tagen ($\pm 4,8$ Tage).

Zu Beginn und am Ende eines jeden Untersuchungstages hatten die Probanden den Beck Depression Inventory (Beck et al., 1961) zu beantworten. Außerdem wurde mittels kurzer internistischer Untersuchung noch einmal die physische Tauglichkeit eines jeden Probanden kontrolliert.

Daraufhin wurde die Elektrodenhaube angelegt. Die EEG-Untersuchung, während der jeder Proband in möglichst entspannter, leicht zurückgelehnter Haltung auf einem Sessel mit langer Rückenlehne und verstellbarer Kopfstütze Platz nahm, begann zu jeder Sitzung mit der Ableitung eines ca. fünfzehnminütigen Routine-EEGs (inklusive Berger-Test und Hyperventilation), das bei pathologischem Ausfall ebenfalls ein Ausschlusskriterium für den jeweiligen Probanden bedeutet hätte.

Anschließend wurde den Probanden eine Infusionsnadel (z.B. BD Venflon Pro[®]) in eine Armvene gelegt und vorläufig mittels Mandrin gleicher Marke verschlossen, woraufhin die erste Ableitung der AEP stattfand, die als AEP-Baseline diente. Auch für die Dauer der jeweils zwölfminütigen AEP-Ableitungen saßen die Probanden möglichst entspannt in einem bequemen Sessel mit Kopfstütze. Sie wurden aufgefordert, sich nicht zu bewegen, während der Untersuchung wach zu bleiben und mit den Augen einen etwa eineinhalb Meter entfernten Punkt zu fixieren. Nach Abschluss der Baseline-Messung wurde die Infusion angelegt, die in Form eines Crossover-Designs randomisiert je nach Untersuchungstag entweder aus 250 ml 0,9%iger Kochsalzlösung als Placebo bestand oder aber aus einer Infusion, in der 20 mg Citalopram (Cipramil[®] Infusionslösungskonzentrat) in 250 ml 0,9%iger Kochsalzlösung gelöst waren. Die Applikation der Infusion erfolgte in allen Fällen einfachblind, ein doppelblinded

Studiendesign war aus logistischen Gründen leider nur bei acht Probanden durchführbar. Für die Laufzeit der Infusion waren 30 Minuten vorgesehen, aber durch physiologische und technische Schwankungen ergab sich eine durchschnittliche Infusionslaufzeit (\pm SD) von 30,9 Minuten (\pm 1,9 Minuten). Zehn Minuten nach Beginn der Infusion fand eine weitere Runde der AEP-Ableitungen statt, ebenso zehn, dreißig und sechzig Minuten nach Infusionsende.

Nachdem die letzte AEP-Ableitung beendet war, wurde dem Probanden die EEG-Haube abgenommen und die Infusionsnadel entfernt. Anschließend musste noch einmal der BDI-Fragebogen beantwortet werden. Verspürte die jeweilige Versuchsperson keine weiteren Beschwerden oder Medikamentennebenwirkungen, wurde lediglich noch eine orientierende Puls- und Blutdruckkontrolle vorgenommen. In zwei Fällen hatten die Medikamentennebenwirkungen noch bis zu diesem Zeitpunkt angehalten; eine Probandin verspürte Bauchschmerzen, die andere starke Müdigkeit. Es fanden so lange eine weitergehende Betreuung und Überwachung statt, bis die Betroffenen und auch die Projektmitarbeiter einschätzten, dass auf dem Heimweg keine weiteren Probleme zu erwarten waren. Daraufhin wurden die Probandinnen mit dem Hinweis, sich an diesem Tage keinen größeren Belastungen auszusetzen, nach Hause entlassen.

4.4 Verarbeitung der gewonnenen Daten

4.4.1 Ermittlung der N1/P2-Amplitudenwerte

Mittels eines semiautomatischen Detektionsverfahrens der Brain Vision Analyzer Software, Version 1.1, wurden die Höhen der Peaks N1 und P2 [in μ V] an dem Ableiteort Cz sowie deren Latenzen nach Auftreten des Stimulus bestimmt. Hierbei wurde als N1 der tiefste Punkt innerhalb eines Zeitfensters von 50 ms bis 180 ms nach dem Stimulus gewertet, als P2 galt der höchste Punkt zwischen 100 ms und 240 ms. Die auf diese Weise lokalisierten Peaks wurden sämtlich visuell nachkontrolliert und gegebenenfalls manuell korrigiert.

4.4.2 Dipolquellenanalyse

Die Dipolquellenanalyse wurde mittels ‚Brain Electrical Source Analysis‘ (BESA) (Scherg und Picton, 1991) durchgeführt. Die am Skalp gemessene N1/P2-Komponente wurde dazu in zwei Dipolquellen je Hemisphäre geteilt. Der der Aktivität des primären akustischen Cortex entsprechende tangentielle Dipol wurde damit getrennt vom radialen Dipol des sekundären akustischen Cortex dargestellt. Mit Hilfe eines Standarddipolmodells (Hegerl et al. 1994) wurde für jeden Patienten ein individuelles Dipolmodell berechnet, so dass jeweils die am besten geeignete Anordnung und Ausrichtung der Dipole auf jeden Patienten angewandt werden konnte, d.h., es wurde diejenige Position der Dipole gewählt, die mit Hilfe der oben beschriebenen vier Dipole die Skalpdaten mit der geringsten Restvarianz erklärte. Für jeden Teilnehmer wurde so die tangentielle und radiale Dipolaktivität jeder Hemisphäre einzeln bei jeder Lautstärkeintensität bestimmt.

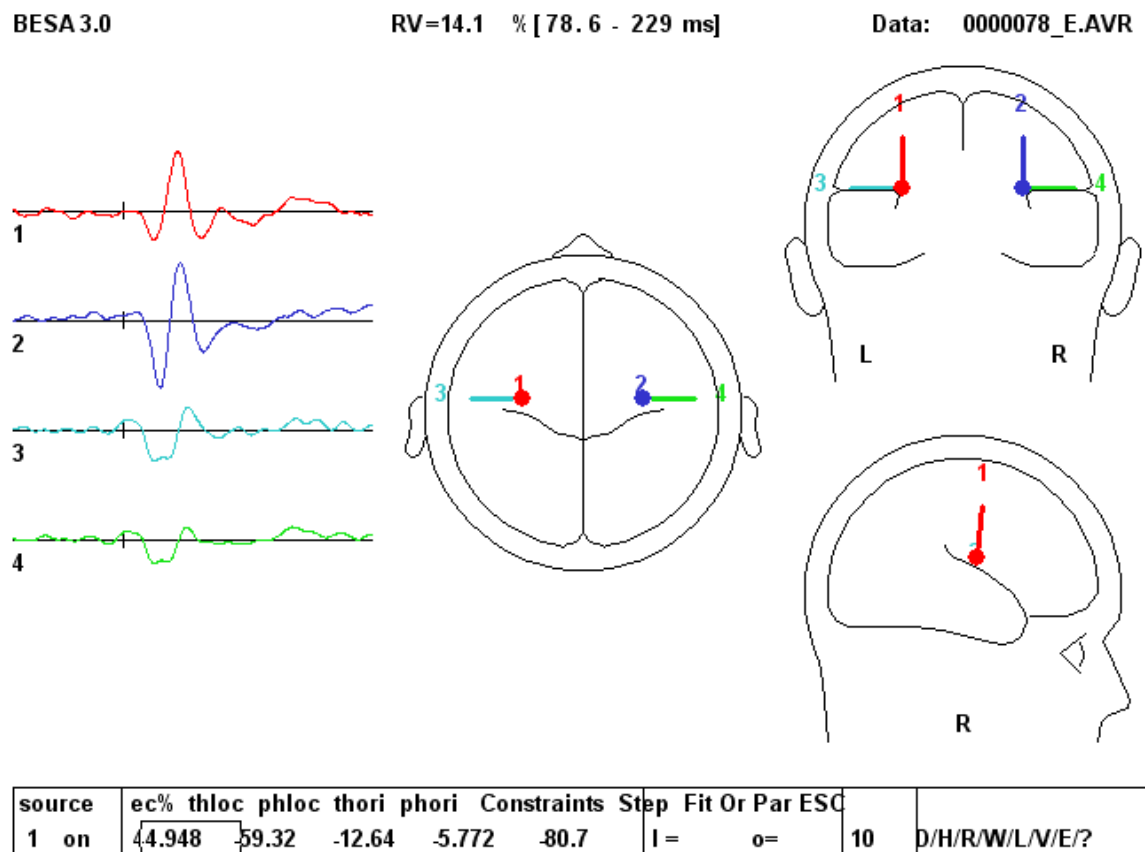


Abb. 4.2: Beispiel für die Dipolquellenanalyse mit BESA für die N1/P2-Komponente der AEP. 1 und 2 bezeichnen die tangentialen Dipole des primären akustischen Cortex, der die stärkere serotonerge Innervation und Lautstärkeabhängigkeit aufweist, 3 und 4 sind die radialen Dipole des sekundären akustischen Cortex mit kleinerer Amplitude und etwas längerer Latenz.

4.4.3 Berechnung der Lautstärkeabhängigkeiten

Daraufhin wurden die Werte für Amplituden und Latenzen zuerst in eine Textdatei exportiert und von dieser ausgehend in ein Microsoft Excel-Arbeitsblatt umgewandelt. Hier wurden die Amplituden von N1 und P2 weiterverarbeitet, indem aus den einzelnen Differenzen zwischen N1 und P2 die gesamte Amplitudenhöhe der N1/P2-Komponenten für jeden einzelnen Ton und an jedem einzelnen Ableiteort berechnet wurde. Danach wurden aus den Amplitudensummen die Lautstärkeabhängigkeiten ermittelt. Mit Hilfe einer speziellen Formel (s. Anh.) wurden die Steigungen der Regressionsgeraden aller möglichen Verbindungen zwischen den intensitätsabhängigen Amplituden jedes einzelnen Ableiteortes berechnet. Aus diesen wurde dann der Median bestimmt. Aufgrund ihrer größeren Genauigkeit wurde diese Methode der bereits erwähnten Möglichkeit, die Lautstärkeabhängigkeit mittels der Steigung nur einer Regressionsgeraden darzustellen, vorgezogen. Die Intensitätsfunktion zeichnet sich durch Nonlinearität aus, da sich u.a. oft ein Plateau bei den mittleren Lautstärken findet (Connolly und Gruzelier 1982a/b, Iacono 1982, Pineda et al. 1991), was durch nur eine solche Regressionsgerade nicht zur Genüge darstellbar gewesen wäre.

4.4.4 Statistische Analyse

Die statistischen Berechnungen wurden mit Hilfe der Statistikpakete SPSS (Version 11.5) und SAS (Version 8) durchgeführt. Zur Aufarbeitung der Daten wurde eine Varianzanalyse mit „repeated measures“ verwendet (ANOVA im zweifaktoriellen Design, χ^2 -Test für geschätzte Freiheitsgrade (Brunner et al., 2002)).

So untersuchten wir folgende Effekte:

1. den Einfluss der Untersuchungsbedingung, also Gabe von Citalopram bzw. Placebo, auf die LAAEP;
2. den Einfluss, der durch die zeitliche Abfolge der AEP-Ableitungssitzungen auf die LAAEP ausgeübt wurde;
3. die Interaktion von Untersuchungsbedingung und Zeit.

Sowohl für die Lautstärkeabhängigkeit abgeleitet vom Punkt Cz als auch für die mit Dipolquellenanalyse ermittelten Lautstärkeabhängigkeiten des tangentialen (wie auch des radialen) Dipols fanden solche Berechnungen statt.

In Anbetracht der aufgestellten Hypothese wurde die Analyse unter Berücksichtigung einer relativen Differenz zu den Baseline-Werten durchgeführt. Anders ausgedrückt heißt das, dass die konkrete statistische Analyse für die vier AEP-Ableitungen während und nach der Laufzeit der Infusion durchgeführt wurde, während die zuvor stattgehabte Baseline-Messung als Basis für die Berechnungen diente. Da sich im Verlauf der statistischen Auswertung jedoch ein gewisser Einfluss des Untersuchungszeitpunktes auf die LAAEP zeigte, wurden hierbei stellenweise auch die absoluten Daten analysiert, d.h., dass die Baseline-Werte wie die Werte aller weiteren Messzeitpunkte behandelt und auf die gleiche Weise wie diese in die Analyse einbezogen wurden.

Für die Betrachtung der Daten des Beck's Depression Inventory wurde eine einfaktorielle Varianzanalyse verwendet.

Das Niveau der Signifikanz wurde in allen Fällen auf $p < 0,05$ festgelegt.