

3. Material und Methoden

3.1 Versuchspersonen

3.1.1 Unauffällige Säuglinge

Die Studie wurde im Rahmen des Teilprojektes 5 (Prof. Gross/ Dr. Nubel) der DFG-Forschergruppe „Frühkindliche Sprachentwicklung und spezifische Sprachentwicklungsstörungen“ durchgeführt. Es wurden 57 (21 weibliche und 36 männliche) unauffällige Säuglinge in diese Studie aufgenommen. Die Säuglinge wurden größtenteils im „Oskar-Ziethen-Krankenhaus“ in Berlin-Lichtenberg geboren und dort rekrutiert. Alternativ wurde in anderen Krankenhäusern und Arztpraxen auf die Studie hingewiesen, um weitere Probanden in räumlicher Nähe zum EKP-Labor in Berlin-Lichtenberg zu gewinnen. Die Anzahl von 57 Säuglingen wurde zufällig gewählt, da diese Kinder den Einschlusskriterien entsprachen und aus organisatorischen Gründen in einem Zeitraum von 6 Monaten in die Studie aufgenommen worden waren. Für das Teilprojekt 5 ist ein longitudinales Studiendesign mit halbjährlichen EKP-Untersuchungen vorgesehen. Die erste Untersuchung erfolgt im Alter von 4 Lebenswochen, die zweite Untersuchung mit 5 Monaten. Alle in die Studie aufgenommenen Probanden nahmen an beiden Messungen teil. Die Probanden hatten zum Messzeitpunkt 1 ein mittleres Lebensalter von 28,6 ($\pm 2,17$) Tagen. Im Alter von durchschnittlich 163,5 ($\pm 7,84$) Tagen fand die zweite Untersuchung unter identischen Stimulus- und Messbedingungen statt. Abb. 3.1.1.1 zeigt die Alters- und Geschlechtsverteilung für beide Untersuchungen.

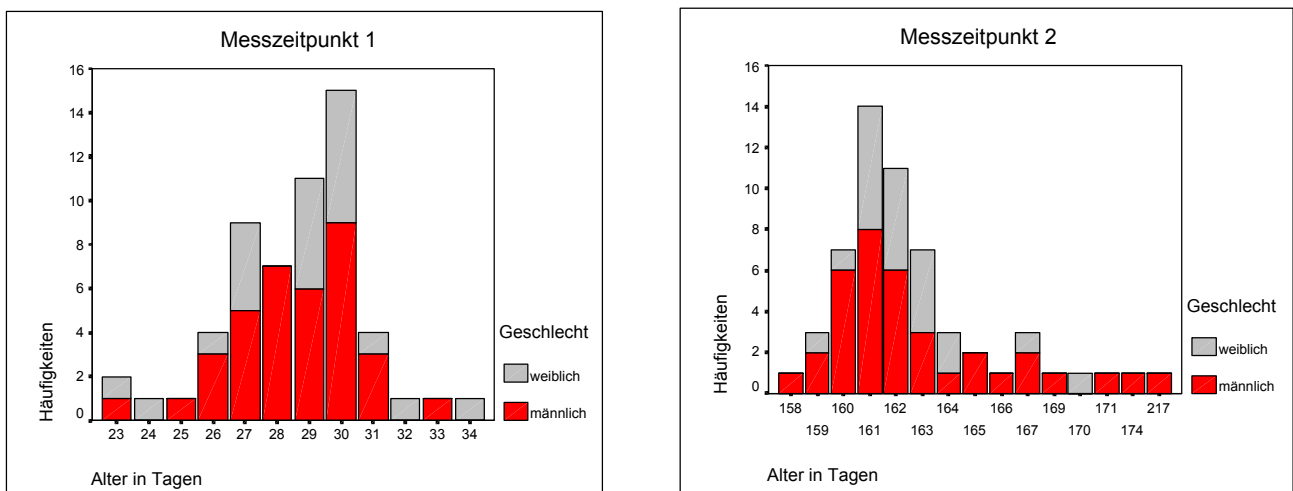


Abb. 3.1.1.1: Alters- und Geschlechtsverteilung des Studienkollektives (n = 57) zum Messzeitpunkt 1 (links) und Messzeitpunkt 2 (rechts).

3.1.1.1 Einschlusskriterien Säuglinge

Die Säuglinge wurden gemäß folgender Einschlusskriterien als unauffällig beurteilt:

- Gestationsalter zwischen 37 + 0 und 41 + 6 Schwangerschaftswochen (SSW)
- mindestens 5 Vorsorgeuntersuchungen während der Schwangerschaft (SS), ohne längere oder gravierende Erkrankungen und Komplikationen während der SS
- Spontangeburt oder Sectio aus mütterlicher Indikation
- Ein- und Mehrlingsgeburten
- Eutrophie (Grenzen: 10. und 90. Perzentile nach Voigt)
- Prä- und perinatal unauffälliger Verlauf (APGAR 5' \geq 8, 10' \geq 9, NabelschurpH $>$ 7,20, O₂-Gabe \leq 5 min, Bilirubin $<$ 360 μ mol/l, keine symptomatische Hypoglykämie, kein Verdacht auf Syndrom mit Intelligenzdefekt, Thyroidea Stimulierendes Hormon: TSH-Werte $<$ 20 mU/l)
- Ausschluss einer gravierenden peripheren Hörstörung (Messung Transitorisch Evozierter Otoakustischer Emissionen)
- Unauffällige neurologische Erstuntersuchung mit 3 – 5 Lebenstagen (Untersuchung nach Prechtl)
- Entwicklungsneurologische Untersuchung im Alter von 4 Monaten unauffällig (Untersuchung nach Prechtl)
- Entwicklungsverlaufsuntersuchung mit 3 und 6 Monaten unauffällig (Griffiths-Entwicklungsskalen)
- Beide Eltern deutsche Muttersprachler

3.1.1.2 Ausgewählte Methoden zur Überprüfung der Einschlusskriterien

Neben den in der Gynäkologie und Geburtshilfe, sowie der Pädiatrie üblichen Untersuchungen (wie beispielsweise Vorsorgeuntersuchungen, APGAR-Index, etc.) wurden für das zu untersuchende Probandenkollektiv zusätzlich ausgewählte Untersuchungsverfahren angewendet, die im Folgenden dargestellt werden sollen.

3.1.1.2.1 Transitorisch Evozierte Otoakustische Emissionen (TEOAE)

Die Untersuchung mittels TEOAE ist ein objektives Verfahren zur Überprüfung der Innenohrfunktion bzw. der Funktion der äußeren Haarzellen. Die äußeren Haarzellen sind im Rahmen des Hörvorgangs zu mechanischen Kontraktionen fähig, wodurch es zu einer Verstärkung der Wanderwelle im Innenohr kommt. Diese Kontraktionen führen gleichzeitig zu einer retrograden Schallwelle, die als otoakustische Emission bezeichnet wird und im äußeren Gehörgang registriert werden kann. Die TEOAE entstehen dabei als aktive Schallwellen poststimulatorisch nach kurzen akustischen Reizen, im Gegensatz zu Distorsionsprodukten otoakustischer Emissionen (DPOAE), die perstimulatorisch bei Dauertönen entstehen. Die Stimulation bei der Registrierung von TEOAE erfolgt meist mit Klickreizen (Rechteckimpulse definierter Größe, Reizdauer etwa 100 μ s), die über eine Sonde im äußeren Gehörgang generiert werden. Die aktiv retrograd abgegebene Schallwelle der äußeren Haarzellen wird durch ein integriertes Messmikrophon registriert (Übersicht in: Ernst und Battmer, 1998; Mrowinski et al., 2001). Aufgrund der geringen Intensität der TEOAE und zur Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses muss von einem Messcomputer eine Mittelung von ca. 250 Messungen vorgenommen werden. Es standen leicht bedienbare automatisierte Screeninggeräte zur Verfügung, welche in dieser Studie zum Einsatz kamen (Echoscreen TE SW-rev.6.8, Fischer-Zoth). In einem Vergleich verschiedener Verfahren konnten mit diesen Geräten die zuverlässigsten Ergebnisse erzielt werden (Baumann und Schorn, 2001).

Die Messung der TEOAE eignet sich als ein objektives Screeningverfahren zum Ausschluss einer gravierenden peripheren Hörstörung. Mit Hilfe des Verfahrens kann ein Hörverlust ab 30 dB (wie z.B. bei einer Otitis media mit Paukenhöhlenerguss) ausgeschlossen werden, da in einem solchen Fall keine OAE mehr nachweisbar sind. Die Methode ist weltweit (vor allem in den USA) vor ca. 10 Jahren als Screeningverfahren eingeführt worden und findet heute auch in Deutschland zunehmend Verbreitung (Pröschel et al., 1995; Gross et al., 2002). Es liegen Studienergebnisse vor, die den Nutzen dieser Methode insbesondere beim Neugeborenen-screening belegen (Finckh-Krämer et al., 2000).

3.1.1.2.2 Neurologische Untersuchung nach Prechtl

Die neurologische Untersuchung nach Prechtl versucht mit standardisierten Methoden einen umfassenden neurologischen Status beim Neugeborenen zu erheben. Dabei werden die für die

funktionellen Teilsysteme jeweils repräsentativen Untersuchungen durchgeführt, außerdem soll nicht nur qualitativ das Fehlen einer Funktion, sondern auch ihre Intensität quantitativ beurteilt werden. Die Untersuchungsbedingungen wie Reizintensität, Handgriffe des Untersuchers, die Ausgangskörperhaltung des Patienten und die Umweltbedingungen sind standardisiert. Insbesondere der Verhaltenszustand des Kindes, wie ruhiger Schlaf, REM-Schlaf, ruhiger Wachzustand, aktiver Wachzustand und Weinen während der Untersuchung, sollen in die Beurteilung mit eingehen. Eine Quantifizierung und Beurteilung der erhobenen Ergebnisse ist nur in diesem Kontext sinnvoll. Die Untersuchung gliedert sich in eine Beobachtungsperiode und eine aktive Untersuchungsperiode. In der Beobachtungsperiode werden Verhaltenszustand, spontane Motorik, Haltung und Bewegung nach einem Skalensystem von 1 – 6 beurteilt. In der zweiten aktiven Untersuchungsperiode werden die Kinder in Abhängigkeit der Körperlage mit Hilfe unterschiedlicher Untersuchungstechniken untersucht und diese qualitativ und quantitativ beurteilt (Übersicht und Einzelheiten in Prechtl und Beintema, 1976).

Als Ergebnis der Untersuchung resultiert eine Einschätzung als „unauffällig“ oder „pathologisch“. Alle Säuglinge, die in diese Studie aufgenommen wurden, zeigten in der neurologischen Erstuntersuchung wie auch der entwicklungsneurologischen Untersuchung unauffällige Untersuchungsergebnisse. Die Einschätzung erfolgte durch die die Studie betreuenden Kinderärzte/-ärztinnen.

3.1.1.2.3 Beurteilung der Entwicklung der Kinder nach Griffiths

Der Griffiths-Test ist eine Methode zur standardisierten Beurteilung der frühkindlichen Entwicklung und soll eine Quantifizierung der Leistung des Kindes im Vergleich zu anderen Kindern seiner Altersgruppe ermöglichen. Der Test ist in seiner ursprünglichen Form erstmals von Ruth Griffiths (1954) beschrieben worden und in den folgenden Jahren auch in Deutschland (1970) in leicht abgewandelter Form etabliert worden (Testbeschreibung bei Brandt, 1983). Der Test gliedert sich in fünf Untertests, die die Bereiche A: Motorik, B: Persönlich-Sozial, C: Hören und Sprechen, D: Auge und Hand, E: Leistungen erfassen sollen. Für die unterschiedlichen Bereiche stehen standardisierte Untersuchungen zur Verfügung, die je nach Leistung mit Punkten bewertet werden. Nach Addition der Einzelpunktwerte aus den unterschiedlichen Bereichen und einer longitudinalen Beobachtung ergibt sich daraus der Entwick-

lungsquotient eines Kindes. Testergebnisse, die zwei Standardabweichungen unter dem Mittelwert liegen, sind ein Indikator für ein Entwicklungsdefizit. In der in Deutschland etablierten Form des Tests (1970) lag die Standardabweichung bei 11 und die untere Grenze des „Normalen“ bei einem Entwicklungsquotienten von 78. Alle Kinder, die in diese Studie aufgenommen wurden und verblieben sind, lagen oberhalb dieses Wertes.

Die Überprüfung der Einschlusskriterien und die Durchführung der pädiatrischen Untersuchungen im Verlauf der Studie erfolgte durch Kinderärzte/-ärztinnen, die das Gesamtprojekt betreuen (Teilprojektleitung: Prof. Dr. med. habil. V. Hesse). Die Eltern der Kinder haben nach vorheriger Information eine Einverständniserklärung unterschrieben, in der sie ihre Einwilligung zur Durchführung der Untersuchungen, der Erhebung der Daten und der Nutzung für wissenschaftliche Zwecke erklärten. Das Gesamtprojekt ist durch die Ethikkommission des Universitätsklinikums Charité der Humboldt Universität Berlin bewilligt worden (Zustimmung vom 09.12.1999 durch Prof. Dr. med. R. Uebelhack – Vorsitzender der Ethikkommission).

3.1.2 Erwachsene Probanden

Bei einem Kollektiv von 19 Erwachsenen, welches sich zu annähernd gleichen Anteile aus weiblichen (n = 10) und männlichen (n = 9) Probanden im Alter von 20 – 35 Jahren zusammen setzte, wurden unter Verwendung der gleichen Reizparameter bei gleichem Messplatzaufbau ebenfalls EKP-Untersuchungen durchgeführt.

Für die Erwachsenen galten folgende Einschlusskriterien:

- Deutsche Muttersprachler
- Ausschluss einer gravierenden peripheren Hörstörung (Messung Transitorischer Evozierter Otoakustischer Emissionen – TEOAE)
- Keine positive Eigen- und Familienanamnese hinsichtlich einer Sprachentwicklungsstörung (Anamnese)

Die Probanden haben nach vorheriger mündlicher und schriftlicher Information über die Untersuchung eine Einverständniserklärung unterschrieben, mit der sie in die Untersuchung einwilligten.

3.2 Untersuchungsablauf

Die Durchführung der Untersuchungen an dem Säuglingskollektiv fanden in der Zeit zwischen Februar 2001 bis Ende Februar 2002 statt. Die Untersuchungen wurden nach individueller Terminabsprache mit den Eltern wochentags in der Zeit von 8.00 Uhr und 18.00 Uhr im EKP-Labor in Berlin-Lichtenberg durchgeführt. Die reine Untersuchungszeit für die Erhebung der Daten dieser Studie betrug jeweils 20 min pro Messung, allerdings wurden in einer Sitzung noch weitere Daten für andere Studien des Gesamtprojektes erhoben. Mindestens eine weitere Stunde wurde für Vorbereitung (siehe 5.3.1.1 Elektroden), Adaptationsphase von Mutter/Vater und Kind, sowie zur Nachbereitung eingeplant, so dass insgesamt eine Untersuchungszeit von ca. 90 – 120 min pro Untersuchungstermin resultierte.

Die Messungen der Erwachsenen wurden im Juli 2001, die zweite EKP-Untersuchung im Dezember 2001 abgeschlossen.

3.3. Ableitung ereigniskorrelierter Potenziale und der Mismatch Negativity (MMN) auf Phonem- und Sinustonstimuli

3.3.1 Messplatzaufbau

Der Messplatzaufbau ist in Abbildung 3.3.1.1 dargestellt. Er orientiert sich in seinem Aufbau an anderen Arbeitsgruppen, die bereits seit längerem EKP- und MMN-Untersuchungen bei Erwachsenen und Kindern durchführen und mit der DFG-Forschergruppe kooperieren (z.B. Leppänen, „University of Jyväskylä“, Finnland; Benasich, „Rutgers University, State University of New Jersey“, Newark, USA; Friederici, „Max-Planck-Institut für Neurophysiologische Forschung“, Leipzig, Deutschland).

Nach den Vorbereitungen zur Untersuchung wurden die Kinder entweder in einen Autokindersitz gelegt oder auf dem Arm der Mutter/des Vaters gehalten. Die Probanden nahmen in einer schallisolierten Kabine (Camera silens) platz. Um eine standardisierte Stimuluspräsentation zu gewährleisten, wurden die Kinder in einem definierten Abstand von 100 cm von der Reizquelle entfernt positioniert. Für die Messung der Erwachsenen wurde die gleiche Position sitzend auf einem Armlehnstuhl eingenommen.

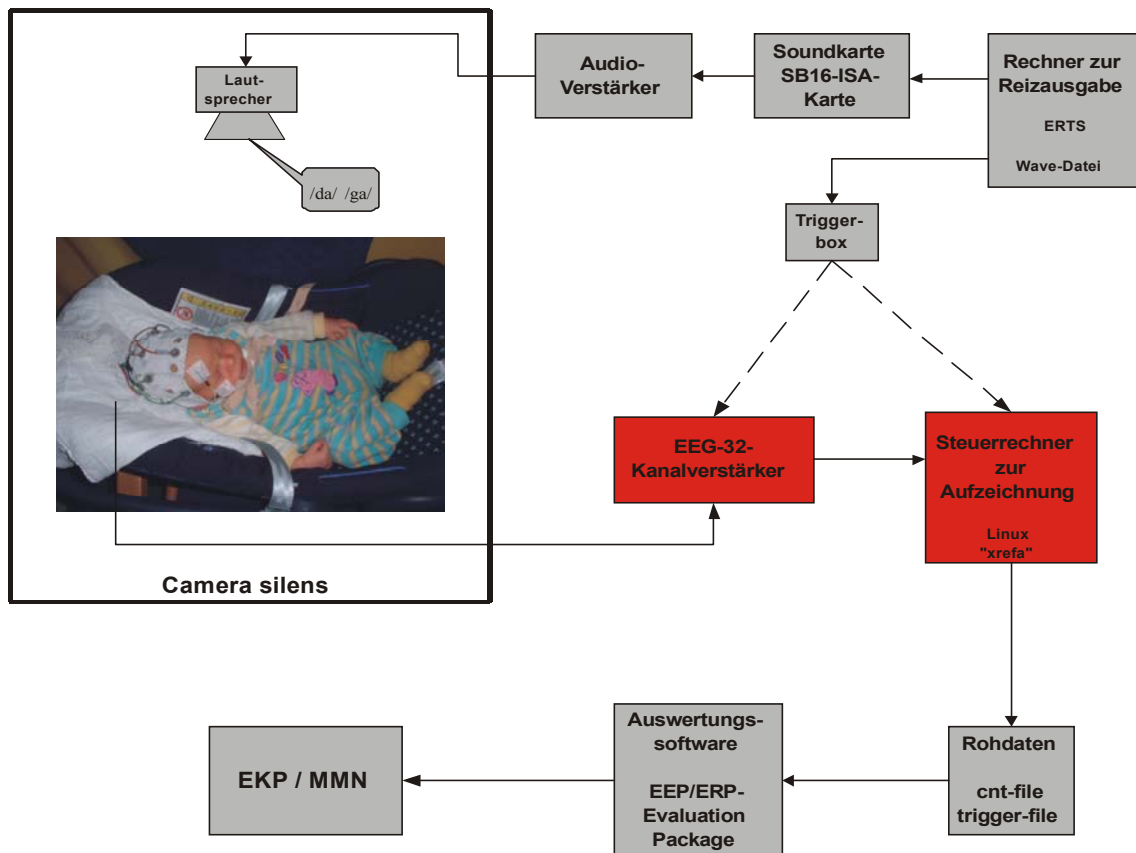


Abb. 3.3.1.1: Messplatzaufbau

3.3.1.1 Elektroden

Die Ableitung erfolgte mit beschichteten Silber-Silberchlorid-Ringelektroden (Ag/AgCl-Ringelektroden), die in Anlehnung an das internationale 10/20 EEG-System in einer elastischen Elektrodenkappe (Falk-Minow, „Easy-Cap-System“) an 8 Ableitungsorten positioniert wurden. Es wurden die Ableitorte F3, F4, C3, C4, P3, P4, sowie A1 und A2 in Anlehnung an bisher veröffentlichte MMN-Untersuchungen (siehe z. B. Leppänen und Lyytinen, 1997) gewählt, wobei die maximale Reizantwort in frontozentralen Elektrodenpositionen erwartet wurde (Alho et al., 1995). Auf weitere Ableitungsorte wurde aufgrund der geringen Kopfgröße der Säuglinge und zugunsten einer kurzen Elektrodenanpasszeit verzichtet. Nach Messung des Kopfumfanges wurde eine passende Elektrodenkappe, welche in unterschiedlichen Größen (36 – 46 cm, jeweils in 2 cm Abständen) vorhanden waren, angelegt.

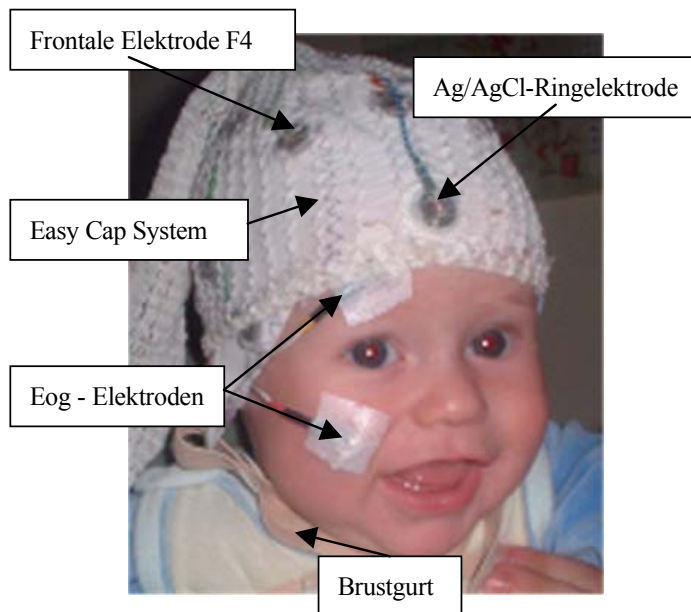


Abb. 3.3.1.1.1: Illustration der Elektroden und des Easy-Cap-Elektrodenkappen-Systems

Die Masselektrode wurde innerhalb der Elektrodenkappe medial auf der Stirn befestigt.

Horizontale und vertikale Augenbewegungen, sowie die Lidschlagaktivität wurden durch die Ableitung eines bipolaren Elektrooculogramms (EOG) parallel zum EEG aufgezeichnet. Dazu wurden Klebelektroden oberhalb und unterhalb des rechten Auges, sowie zur Ableitung des horizontalen EOGs (HEOG) neben dem rechten und linken Auge platziert (HEOG auf der Abb. nicht sichtbar).

Zur Reduzierung des Hautwiderstandes erfolgte in der Vorbereitung der Messung eine Reinigung und Entfettung der Haut mit Babyshampoo und Alkoholtupfern. Nach dem Anlegen und der Fixierung der Elektrodenkappe durch einen Brustgurt wurde antiallergenes Elektrodengel (Apothekenanfertigung, Zusammensetzung: Natriumchlorid 35 g, Hydroxyethylcellulose 15 g, Propylenglykol 25 g, gereinigtes Wasser 227,5 g) unter die Ag/AgCl-Ringelektroden gebracht. Daraufhin wurde eine Elektrodenwiderstandsmessung durchgeführt, welche integrierter Bestandteil des MMN-Messprogramms ist. Voraussetzung für eine Messung war ein nachgewiesener Elektrodenwiderstand $< 10 \text{ k}\Omega$.

3.3.1.2 Hardware

Die Aufzeichnung und Verstärkung der electrophysiologischen Signale erfolgte mit Hilfe eines 32-Kanalverstärkersystems (PORTI-32/MREFA, Firma Twente Medical Systems), wobei alle Skalpelektroden monopolar gegen eine Referenzelektrode an Cz abgeleitet wurden. Der Verstärker liefert über eine integrierte A/D-Wandlerkarte (16-bit) einen kontinuierlichen digitalen Datenstrom via Glasfaser Verbindung an eine PC-Schnittstellenkarte. Diese Schnittstellenkarte beherbergt einen Pufferspeicher sowie einen digitalen Signalprozessor (DSP), der

diverse Vorverarbeitungsschritte wie z.B. Filterung und Umreferenzierung vornehmen kann (siehe auch TMS-Manual, 1998). Die Speicherung der aufgezeichneten Rohdaten wurde mit Hilfe eines Steuerrechners vorgenommen (technische Daten: AMD-Athlon 1 GHz Prozessor, 128 MB SDRAM Arbeitsspeicher, IDE 40 GB Festplatte). Als Betriebssystem wurde Linux (Version 2.0.36) verwendet. Zur Langzeitspeicherung der umfangreichen Datensätze standen CD-Brenner und CD-Rohlinge zur Verfügung.

Die Präsentation der auditiven Stimuli erfolgte durch einen zweiten IBM-kompatiblen 486er Computer. Der Rechner ist mit einer Soundkarte (SB 16 ISA-card) ausgestattet, von der die auditiven Reize über einen Audioverstärker (Firma Onkyo, Integrated Stereo Amplifier A-9211) und eine Lautsprecherbox (JBL, „Control One“) dargeboten wurden. Parallel dazu wurden reizsynchron über einen Ausgang am PC die Triggerinformationen zwischen EEG und Stimulus an den EEG-Verstärker und den zur Aufzeichnung der EEG-Daten verwendeten Steuerrechner gesendet (siehe Abb. 3.3.1.1, S. 33).

3.3.1.3 Software

3.3.1.3.1 Reizausgabe

Die Reize lagen nach vorheriger digitaler Bearbeitung mit der Software „Cool Edit 2000“ im Waveformat auf der Festplatte installiert vor und konnten über die Soundkarte abgespielt werden. Die Festlegung der Reihenfolge von Standard und Deviant in pseudorandomisierter Form, das Verhältnis von Standard und Deviant, sowie die Gesamtanzahl der dargebotenen Stimuli und das Interstimulusintervall (ISI) waren in einer Batch-Datei für das jeweilige Experiment gespeichert und konnten über die Software ERTS (ERTS – V3.32c VGA/ERP: Experimental Run Time System, Behringer, 1997) abgerufen werden.

3.3.1.3.2 Aufzeichnung der Messwerte

Die elektrophysiologische Aktivität wurde durch computergestützte Registrierung des EEGs und EOGs während gleichzeitiger Stimuluspräsentation erfasst. Zur Aufzeichnung der Messdaten wurde die Software „xrefa“ (MPI, Nowagk, 1998) verwendet. In der vorliegenden Studie wurden 11 EEG-Kanäle und 4 EOG-Kanäle mit einer Abtastfrequenz (Samplingrate) von 250 Hz aufgezeichnet. Während der Durchführung der Ableitung wurde über die Qualität des EEG-Signals und besondere Vorkommnisse ein Protokoll angelegt. Pro verwendetem Reiz-

paar wurde eine Datei mit den erhobenen Rohsignalen der Potentialantworten und eine Datei mit den verwendeten „Triggern“ auf der Festplatte angelegt und später auf CD-R archiviert.

3.3.1.3.3 Messdatenverarbeitung

Zur Quantifizierung der Charakteristika der EKP und MMN wurde das am Max-Planck-Institut (MPI) entwickelte Analyseverfahren (EEP 3.2.1: EEP-ERP Evaluation Package) angewandt. Aufgrund des geringen Signal-Rausch-Abstandes der in EKP-Messungen erhobenen Daten ist eine weitere Messdatenverarbeitung notwendig, die eine Rereferenzierung, Artefaktbereinigung, Filterung und schließlich die reizsynchrone Mittelung von Standard- und Deviantantwort erfüllt.

Die genutzte Software stellt dazu einzelne Softwarebausteine („tools“) zur Verfügung, wobei die Bedingungen für die Artefaktbereinigung oder Filterkriterien über Konfigurationsfiles individuell bestimmbar sind. Das Artefaktbereinigungstool „cntreject“ bietet zwei unterschiedliche Modi zur Artefakterkennung. Es kann die Standardabweichung in einem bestimmten Zeitintervall als Kriterium bestimmen. Bei Überschreitung der Standardabweichung werden diese EEG-Epochen von der weiteren Auswertung ausgeschlossen. Des Weiteren kann durch Angabe eines absoluten Wertes (in μV) ein zusätzliches Kriterium zur Artefakterkennung gegeben werden. Nach der Mittelung der Einzelantworten kann durch Subtraktion der gemittelten Standardantwort von der Deviantantwort die „MMN-Kurve“ (Differenzkurve) berechnet werden.

Das Programm ermöglicht die Darstellung der Ergebnisse als Druckversion oder als Metafile zum Kopieren in andere Softwareprogramme. Eine Parametrisierung von Latenz und Amplitudenwerten kann direkt in den zur Darstellung gebrachten Ergebniskurven per Mausklick vorgenommen werden oder durch ein Softwaretool automatisch ausgelesen werden, um dann mit anderen Programmen (z.B. Statistical Package for Social Sciences, SPSS) statistisch ausgewertet zu werden.

3.3.2 Vigilanzkontrolle

Während der Ableitung von EKP und MMN sollten motorische Aktivitäten generell, insbesondere aber Muskelaktivitäten im Kopf-Halsbereich, wegen erheblicher Artefakteinstreuung vermieden werden. Es wurde daher eine ruhige und entspannte Atmosphäre angestrebt. Die

Säuglinge waren während der Untersuchung entweder wach oder haben geschlafen, wobei darauf geachtet wurde, die Probanden innerhalb eines Untersuchungsganges möglichst in einem konstanten Vigilanzstadium zu untersuchen. Um die Artefaktüberlagerung zu minimieren und der kindlichen Belastbarkeit gerecht zu werden, wurden kleine Pausen zum Flasche geben, Spielen etc. in die Versuchsdurchführung eingebaut.

Während der Durchführung der Ableitung wurde das Verhalten des Probanden, besondere Vorkommnisse wie z.B. heftige Bewegungen in einem Versuchsprotokoll festgehalten (siehe Anhang, S. 136). Darin wurde insbesondere alle 2 Minuten das Vigilanzniveau des Kindes nach einer Skala von 1 – 6 beurteilt und dokumentiert (zur Stadieneinteilung der Vigilanz während der Messung, siehe Anhang, S. 137). Zur Beurteilung der Vigilanz diente zum einen das EEG-Signal hinsichtlich der Wellenkonformationen (Delta-, Thetawellen etc.), sowie Schlafspindeln, Trace alternants, High Voltage Slow (HVS) Aktivitäten, Low Voltage Irregular (LVI) Aktivität oder Mixed pattern (Niedermeyer et al., 1999; Turnbull et al., 2001). Zum anderen erfolgte eine subjektive Beurteilung des Verhaltens des Kindes. Dabei wurden der Zustand der Augen (offen, geschlossen, verschieden), Augenbewegungen (vorhanden, nicht vorhanden), sowie Extremitätenbewegungen (fein, grob, ruckartig, keine) und andere Vorkommnisse (Weinen, Nuckeln, Schluckauf und Interventionen wie Trösten, Spielen, Flasche geben) dokumentiert. Es sollte somit ermöglicht werden, sich in der Auswertungsphase und bei der Beurteilung der Messergebnisse ein Bild von der Untersuchungssituation machen zu können. Hinsichtlich der Vigilanzstadien wurde das Studienkollektiv in der Auswertungsphase anhand folgender Kriterien in 5 Gruppen unterteilt:

	wach I	REM-Schlaf II	Non-REM-Schlaf III	schlafend, nicht spezifizierbar IV	wechselhaft V
Behavioral	Augen: offen, verschieden oder blinzeln	Augen: geschlossen	Augen: geschlossen	Augen: geschlossen	Kein konstantes Vigilanzniveau
	Muskelaktivitäten vorhanden Anderes: Weinen, Schluckauf, Flasche geben, Interventionen	Einzelne ruckartige Bewegung von Extremitäten und Kopf-Halsregion („startles“)	Keine oder wenige Bewegungen	Wie II und III, allerdings keine Differenzierung möglich	Kind zeigt während der Messung unterschiedliche Stadien entsprechend I - IV
EEG- und EOG-Aktivität	EOG: Augenbewegungen	EOG: Augenbewegungen	EOG: Keine Augenbewegungen	EOG: Augenbewegungen wechselnd vorhanden oder nicht nachweisbar	Kein konstantes Vigilanzniveau
	dominierend: im Vergleich zum Schlaf niedervoltage Aktivitäten, spärliche schnelle Aktivitäten Anderes: häufiger Bewegungsartefakte, Muskelpotenziale	dominierend: Low Voltage Irregular (LVI) Kontinuierliche langsame Aktivitäten (Delta- und Thetaaktivitäten) selten: Mixed pattern und High Voltage Slow (HVS)	dominierend: Tracé alternant (TA) (Messzeitpunkt 1) Schlafspindeln (Messzeitpunkt 2) selten: Mixed pattern und High Voltage Slow (HVS)	Wie II und III, allerdings innerhalb einer Messung wechselnd oder kein dominierendes Stadium nachweisbar	Kind zeigt während der Messung unterschiedliche Stadien entsprechend I - IV

3.3.3 Unterschiede in der Versuchsdurchführung bei den Erwachsenen

Für die Untersuchung des Erwachsenenkollektivs wurde der gleiche Messplatzaufbau wie für die Säuglinge genutzt. Um eine exaktere topographische Analyse der MMN-Antworten durchführen zu können, erfolgte die EKP-Ableitung über 25 Elektroden. Entsprechend dem internationalen 10/20 EEG-Systems wurden die Elektrodenpositionen F7, F3, Fz, F4, F8, FT7, FT8, T7, T8, FC3, FC4, C3, Cz, C4, CP5, CP6, P7, P3, Pz, P4, P8, O1, O2, sowie A1 und A2 gewählt. Die Elektroden waren ebenfalls in einer elastischen Elektrodenkappe (Größe 52 – 60 cm) positioniert. Bei der Vorbereitung der Messung wurde zusätzlich Abrasiv-Gel (Firma Falk-Minow, Abralyt 2000) zur Reduzierung des Hautwiderstandes genutzt. Mit diesem Gel ist ein leichtes Aufrauen der Kopfhaut und damit eine weitere Reduzierung des Hautwiderstandes möglich. In Rücksichtnahme auf die empfindliche Haut der Säuglinge wurde dies nur bei den Erwachsenen angewendet. Als Voraussetzung für eine Messung war ein Elektrodenwiderstand $< 5 \text{ k}\Omega$ nachzuweisen.

Die Erwachsenen saßen in gleichem Abstand zur Reizquelle entspannt auf einem Armlehnstuhl in einer schallgedämpften Prüfkabine. Da das Vigilanzniveau während der Messungen bei den Erwachsenen möglichst in einem konstanten Stadium gehalten werden sollte, wurden diese aufgefordert während der Messung einen Text ihrer Wahl zu lesen. Da mit der MMN die unbewusste oder vorbewusste Diskriminationsleistung untersucht wird, ist eine Untersuchung möglich, auch wenn die Aufmerksamkeit des Probanden nicht bewusst auf die akustische Reizpräsentation gerichtet ist (Woldorff et al., 1991; Näätänen et al., 1993; Escera et al., 2000).

3.3.4 Nebenwirkungen

Das grundlegende Prinzip der EKP-Messungen ist die EEG-Ableitung, bei der es sich um ein etabliertes Untersuchungsverfahren handelt. Es wurden keine invasiven Methoden angewendet. Es sind keine Nebenwirkungen für die durchgeführten Untersuchungen, sowie für die durchgeführte pädaudiologische Diagnostik bekannt.

3.3.5 Reizparameter

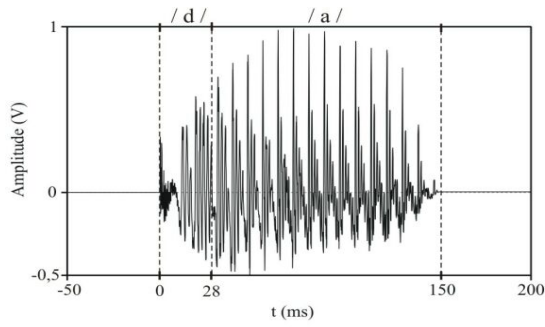
Die dargebotenen Stimuli waren zwei Reizpaare, bestehend aus einem Paar mit Phonemreizen und einem Paar mit Sinustonreizen.

Das Phonem ist als die kleinste lautliche Einheit der Sprache, dessen Veränderung einen Bedeutungsunterschied verursacht, definiert. So ist in dem Wort „Nagel“ das /g/ ein Phonem, wird es durch ein /d/ ersetzt, entsteht als neues Wort „Nadel“. Die Phoneme /d/ und /g/ gehören wie auch andere Verschlusslaute (/t/ und /k/, /b/ und /w/) typischerweise zu den bei Phonemdiskriminationsschwächen betroffenen Lauten (Wirth, 1990). Es ist weiterhin aus Studien bekannt, dass muttersprachlich erworbene Laute auch in der vorbewussten Diskrimination anders verarbeitet werden als z. B. Laute einer unbekanntenen Sprache (Cheour et al., 1998). Um muttersprachliche Phonemdiskriminierung zu untersuchen, wurden die Phoneme /da/ und /ga/ von einem männlichen deutschen Muttersprachler aufgesprochen und diese anschließend im vokalischen Auslaut digital nachbearbeitet, so dass sich die Reize nur im konsonantischen Anlaut in den ersten 28 ms bei einer Gesamtlänge von 150 ms unterschieden. Zusätzlich wurde ein Reizpaar mit Sinustonreizen erstellt. Dieses Reizpaar ist mit dem Phonemreiz in wichtigen Parametern identisch, um die Diskriminationsleistungen zwischen den beiden Reizpaaren vergleichen zu können. Abb. 3.3.5.1 zeigt Zeitverlauf, Energieverlauf, Pegelverlauf, sowie Frequenz- und Formantenverlauf der verwendeten Reize als Darstellung mit Hilfe der Software „PRAAT“.

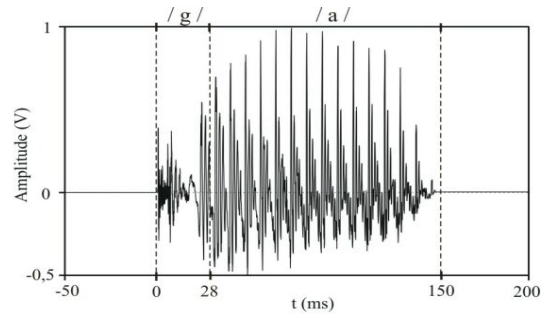
Jedes Reizpaar setzt sich aus einem „Standardreiz“ und einem von diesem Standardreiz unterschiedlichen „Deviantreiz“ zusammen. Der Deviantreiz wird nach einem als „oddball-Paradigma“ (oder auch 2-Reiz-Diskriminationsparadigma) bezeichneten Verfahren randomisiert in eine homologe Sequenz von Standardreizen eingestreut. Es handelte sich um eine pseudorandomisierte Präsentation. Sequenzen, in denen weniger als 2 Standards zwischen zwei Devianten präsentiert wurden, wurden von der weiteren Auswertung ausgeschlossen. Die wichtigsten Parameter des präsentierten Paradigmas, sind der Tab. 3.3.5.1 zu entnehmen.

	Reizpaar 1	Reizpaar 2
Standard	/da/	/1000 Hz/
Deviant	/ga/	/1200 Hz/
Reizlänge	150 ms	150 ms
Lautstärke	64 dB SPL	64 dB SPL
Verhältnis Standard : Deviant	5:1	5:1
Anzahl Standard : Deviant	500:100	500:100
Interstimuluszeit (off-onset)	750 ms	750 ms

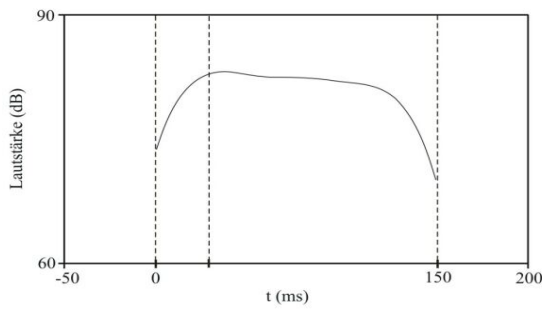
Tab. 3.3.5.1: Gewählte Reizparameter für die EKP/MMN-Messung



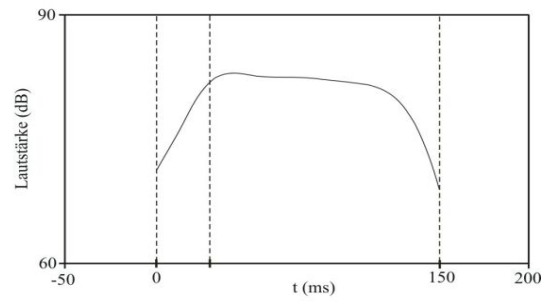
Signalverlauf von /da/ 150 ms



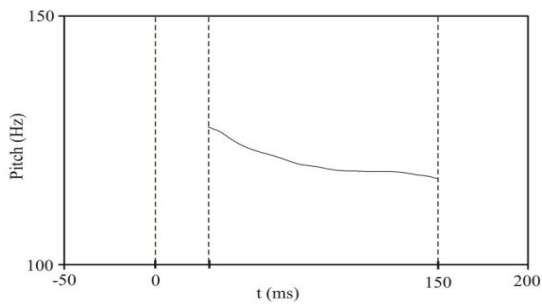
Signalverlauf von /ga/ 150 ms



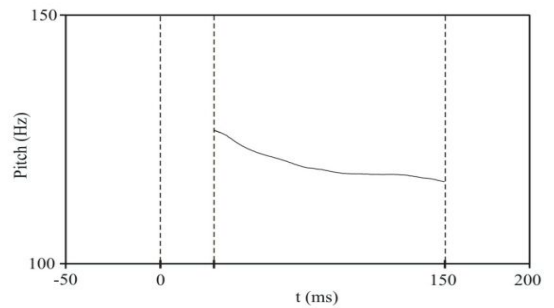
Lautstärkeverlauf von /da/ 150 ms



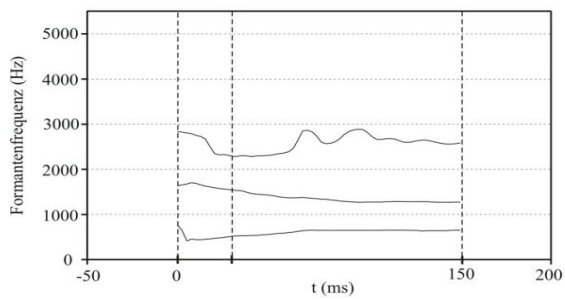
Lautstärkeverlauf von /ga/ 150 ms



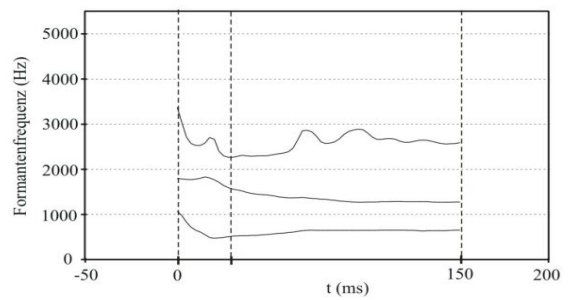
Pitchverlauf von /da/ 150 ms



Pitchverlauf von /ga/ 150 ms



Formantenverlauf von /da/ 150 ms



Formantenverlauf von /ga/ 150 ms

Abb. 3.3.5.1: Akustische Analyse der Phonemreize /da/ (Standard) und /ga/ (Deviant)

Untersuchungen von Alho et al. (1990), Cheour-Luhtanen et al. (1995, 1996), Cheour, Alho et al. (1997) und Cheour et al. (2002) konnten zeigen, dass bei Säuglingen eine MMN nur sicher durch ein ISI zwischen 610 und 800 ms auslösbar war. Eine Beschränkung der Gesamtanzahl von Standard und Deviant auf insgesamt 600 und damit einer experimentellen Laufzeit von ca. 10 min pro Stimuluspaar sollte der kindlichen Belastbarkeit gerecht werden. Die Reizpaare wurden in wechselnder Reihenfolge dargeboten, um zeitliche Effekte der Messung (z. B. durch zunehmende Unruhe) und denkbare Trainingseffekte auf beide Reize gleichmäßig zu verteilen. Mit Hilfe eines digitalen Schallpegelmessers (Brüel und Kjaer, Typ 2233) wurden die Reize auf eine definierte Lautstärke kalibriert. Voruntersuchungen hatten bei den Säuglingen gezeigt, dass diese durch Lautstärkepegel über 64 dB (SPL) erschreckt und aus dem Schlaf erweckt wurden. Oftmals ging dies mit einer erheblichen Zunahme von Bewegungsartefakten einher. Um dies nach Möglichkeit zu vermeiden, wurde die Lautstärke bei den Säuglingen und auch bei den Erwachsenen auf 64 dB (SPL) festgelegt.

3.4 Auswertung der kortikalen Reizantwort und MMN-Antwort

In einem ersten Auswertungsschritt wurden alle EEG-Daten auf eine Referenzelektrode des ipsilateralen Mastoids, d.h. F3, C3, P3 auf A1 und F4, C4, P4 auf A2 rereferenziert. Dieses Vorgehen wurde gewählt, um durch die Wahl einer ipsilateralen Referenzelektrode interhemispherische Differenzen der Potenzialantwort besser abbilden zu können (Leppänen et al., 1999; Cheour et al., 2002, zur Wahl der Referenzelektrode siehe auch Regan, 1989). Die Einzelauswertung der kortikalen Reizantworten erfolgte nach Filterung mit einem digitalen 0,5 Hz Hochpassfilter (Remez-Filter, Grenzfrequenz 0,58 Hz, Dämpfung -2,9 dB; 0,07 Hz, Dämpfung -90 dB) und einem digitalen 25 Hz Tiefpassfilter (Remez-Filter, Grenzfrequenz 25,20 Hz, Dämpfung -3 dB; 50 Hz, Dämpfung -0,0 dB). Diese Filterung wurde gewählt, da sich bei der Anwendung unterschiedlicher höherer Hochpassfilter (0,7 Hz, 1 Hz und 2 Hz) gezeigt hatte, dass Frequenzanteile der kortikalen Antwort und der MMN bei den Säuglingen auch in einem Bereich um 1 Hz liegen. Die Reizantworten der Erwachsenen wurden einer Filterung zwischen 3 Hz (3,07 Hz, -2,9 dB; 50 Hz, -53,9 dB) und 25 Hz (wie oben) unterzogen, da sich das MMN-Potenzial in dem resultierenden Frequenzband nachweisen und das Signal-Rausch-Verhältnis damit deutlich verbessern ließ. Bei Erwachsenen und Säuglingen wurde eine kombinierte Artefaktbereinigung der Messdaten durchgeführt. Dabei

wurde jeweils eine absolute Artefaktschwelle (AFS) in μV und außerdem ein Wert für eine zulässige Standardabweichung in μV in einem 200 ms Zeitfenster, welches als „gleitendes Fenster“ über den EEG-Rohdatenfile „läuft“ („sliding window“), definiert. Bei den Erwachsenen lagen diese Artefaktschwellen bei 40 μV Standardabweichung und einer absoluten Schwelle von 120 μV für alle EEG-Kanäle. Bei den Säuglingen wurde zur Auswertung der Messergebnisse zum Messzeitpunkt 1 eine Standardabweichung von 80 μV und eine absolute Schwelle von 200 μV für die EEG-Kanäle zur Artefaktbereinigung festgelegt, was sich in Vorversuchen als geeignet herausgestellt hatte. Zur Auswertung der zweiten Untersuchung im Alter von 5 Lebensmonaten wurde die AFS auf 100 μV (Standardabweichung) und 250 μV (absolute Schwelle) angehoben, da sich in diesem Lebensalter bei allen Kindern eine deutliche Amplitudenvergrößerung in der Potentialantwort zeigte. Außerdem zeigten einige Kinder, die während der Untersuchung geschlafen hatten, ein sehr hochamplitudiges EEG.

3.5 Statistische Auswertung der Daten

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit dem Software-Programm SPSS (Statistical Package for Social Sciences, Version 10.0). Zur Suche nach Geschlechts- und/oder Vigilanzeffekten wurden Varianzanalysen (Analysis Of Variance, ANOVA) mit den Innersubjekt-faktoren Geschlecht bzw. Vigilanz zwischen den entsprechenden Gruppen berechnet und auf signifikante Unterschiede untersucht. Normalverteilung wurde mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test, Varianzhomogenität mit dem Levene-Test überprüft. Bei der Darstellung der Ergebnisse wurden die F-Werte und die entsprechende Irrtumswahrscheinlichkeit p (Signifikanz p) tabellarisch oder im fließenden Text jeweils unter Angabe der Freiheitsgrade (df) angegeben. Alterseffekte, sowie topographische Unterschiede in der Potenzialantwort wurden ebenfalls mittels Varianzanalysen (mit Messwiederholung) hinsichtlich statistisch signifikanter Unterschiede überprüft. Als robustifiziertes Maß wurde die Irrtumswahrscheinlichkeit p nach Greenhouse-Geisser angegeben. Zur Beschreibung der Differenzkurve wurde diese mit dem Einstichproben t-Test auf Bereiche (50 ms Zeitfenster, 50 – 600 ms) getestet, in der sie signifikant unterschiedlich von Null (Testwert 0) war. In den tabellarischen Darstellungen der Ergebnisse wurden die Elektrodenpositionen F3, F4 und C3 und C4 dargestellt, da hier die maximale Potenzialantwort zu erwarten war (Alho et al., 1995). (Abkürzungen: Mittelwert = \bar{x} , Standardabweichung = STD).