

3. Die Untersuchungsgruppen

Nach Darstellung der theoretischen Grundlagen dieser Arbeit sollen im Folgenden die Untersuchungsgruppen, deren Auswahlkriterien sowie das Studiendesign vorgestellt werden.

Für die Zusammenstellung der Untersuchungsgruppen wurden 10 randomisierte alkoholranke und dazu gematchte nicht alkoholranke Patienten mit Tumoren des oberen Verdauungstraktes gefunden. Alkoholranke Patienten wurden entsprechend den DSM-IV-Kriterien (2) und dem CAGE-Fragenkatalog (14) anamnestisch ermittelt, bevor sie der Zielgruppe zugeteilt wurden. Alkoholismusrelevante Laborparameter wie CDT (47), Norharman (38), MCV, GGT, wurden einmalig bei Aufnahme untersucht. In die Kontrollgruppe (Nicht alkoholranke Patienten) wurden auch solche Patienten aufgenommen, die mindestens 3 Jahre Alkoholabstinenz aufweisen konnten (Insgesamt 3 Patienten).

3.1 Die Wirkungsweise von Midazolam

Midazolam ist unter den Benzodiazepinen, die für die Behandlung des AES als effektiv eingeschätzt werden (23), das Benzodiazepin mit der kürzesten Halbwertszeit (1,5 h) und besten Steuerbarkeit. Aufgrund seiner niedrigen akuten Toxizität und geringen Beeinflussung vegetativ autonomer Funktionen ist es im Allgemeinen sehr gut verträglich, weshalb es von uns gegenüber den anderen beim AES zum Einsatz kommenden Benzodiazepinen für diese Studie vorgezogen wurde. Midazolam entfaltet seine Wirkung bei intravenöser Applikation innerhalb von 30 - 60 Sekunden im GABA-ergen System über eine allosterische Veränderung des GABA-Rezeptors und einer damit verbundenen Wirkungssteigerung der am GABA-Rezeptor angreifenden GABA.

GABA-Rezeptoren werden subklassifiziert in Typ A und B, wobei Typ A den Wirkungsbereich von Midazolam darstellt.

Beim Typ A-Rezeptor führt die allosterische Konfigurationsänderung dazu, dass am Rezeptor gebundene GABA nun eine längere Öffnung des Chlorid-Ionenkanals mit nachfolgend längerer Hyperpolarisation bewirkt. Hierdurch kommt es zu einer geringeren Erregbarkeit der

Nervenzelle. Die Folge ist eine anxiolytische, sedativ-hypnotische, muskelrelaxierende und antikonvulsive Wirkung.

Die Wirkung am Typ B-Rezeptor ist G-Protein vermittelt. Die Folge ist eine verminderte Leitfähigkeit von Kalzium- und eine verstärkte Leitfähigkeit von Kaliumkanälen. Es kommt zur Hemmung des Kalziueinstroms und Verstärkung des Kaliumausstroms, was wiederum via Hyperpolarisation eine niedrigere Erregbarkeit der Nervenzelle bewirkt.

3.2 Die Auswahl des volume of interest (VOI)

Wie in Kapitel 2.4 beschrieben, wird die Spektroskopie in einem ausgewählten Gehirnvolumen durchgeführt, dem volume of interest (VOI). Für die Auswahl des VOI waren in dieser Studie folgende Überlegungen wichtig:

- 1) Das Zielgebiet sollte eine hohe Dichte an GABA-Rezeptoren aufweisen, da Metabolitenkonzentrationen vor und nach Midazolamapplikation gemessen werden sollen.
- 2) Die Auswahl des VOI in zu enger Nachbarschaft von Wasser (Liquor) oder Fett (z. B. in der Nähe der Schädelkalotte), kann durch die Erzeugung von Artefakten oder Überlagerungen die Erstellung eines Spektrums qualitativ beeinträchtigen oder sogar verhindern.
- 3) Die Region muss magnetresonanztomographisch leicht und reproduzierbar auffindbar sein, damit bei 20 unterschiedlichen Patienten zumindest 20 gleiche anatomische Regionen bezüglich ihrer Metabolitenkonzentrationen untersucht werden können.

Zu fordern wäre demnach ein Gehirnbereich, der sowohl ventrikel- als auch kortexfern liegen müsste, eine entsprechend hohe GABA-Rezeptordichte aufzuweisen hat und mit der zur Verfügung stehenden MRT-Technik anatomisch leicht und reproduzierbar lokalisierbar ist. Daher wurde für die Positionierung des VOI das Corpus striatum ausgewählt, das alle 3 Merkmale in sich vereinigt. (12, 36)

3.3 Anatomische Gegebenheiten des Corpus striatum

Das Corpus striatum setzt sich aus den zu den Basalganglien gehörenden Kernen Nucleus caudatus und Putamen zusammen. Die Kerne liegen im Inneren des Telencephalon unter dem Boden des Seitenventrikels. Sie sind Teile des extrapyramidal-motorischen Systems. Die Capsula interna teilt die Basalganglien in eine laterale und mediale Kerngruppe. Im vorderen Teil von Nucleus caudatus und Putamen sind diese jedoch lückenhaft miteinander verbunden, so dass eine streifige Morphologie entsteht, woher das Corpus striatum seinen Namen hat.

3.4 Technik und Methodik

Im Folgenden soll kurz das technische Protokoll zur Erstellung einer Magnetresonanztomographie aus dem Bereich des Corpus striatum dargestellt werden, sowie die Art der statistischen Testung der Signifikanzen erläutert werden.

Nachdem der Studienteilnehmer im MRT gelagert wurde, wird zunächst mit der Erstellung von Bildern des Kopfes und des Gehirns begonnen. Der Kopf wird in transversaler, sagittaler und koronarer Schichtführung mit einer T2-gewichteten Turbo Spin Echo Sequenz dargestellt. Jede Schichtführung ist mit 19 Bildern repräsentiert. Anhand der Bilddaten erfolgt die Lokalisation und Positionierung des VOI in der interessierenden Gehirnregion. Im Anschluss wird der Wasserunterdrückungspuls ausgeschaltet und die Homogenisierung des Magnetfeldes mit Hilfe von Shimspulen begonnen. Wie in Kapitel 2.2 beschrieben, wird das Magnetfeld nun anhand des Integrals unter dem FID sowie der Halbwertslinienbreite des Wassersignals optimiert.

Es folgt die Optimierung der Wasserunterdrückung. Erst jetzt kann mit der Spektroskopie begonnen werden. Hierzu muß ein geeignetes Protokoll ausgewählt und Parameter wie Repetitionszeit, Akquisitionszahl und Anzahl der Messungen eingestellt werden. Nach der Akquisition des Spektrums wird dieses auf seine Qualität hin überprüft, so dass anschließend mit der Untersuchung weitergemacht bzw. diese aus Qualitätsgründen abgebrochen werden kann. Die Untersuchungen für diese Arbeit wurden in einem Ganzkörper-Magnetresonanztomographen mit einer Feldstärke von 1.5 Tesla durchgeführt. (Siemens, Magnetom Vision). Verwendet wurde eine CP (zirkular polarisiert) Kopfspule. Die

transversale, koronare und sagittale Bildgebung des Kopfes erfolgte, wie bereits erwähnt, mit einer T2- gewichteten Turbo Spin Echo Sequenz.

Die volumenselektive MRS erfolgte mit der in Kapitel 2.4 beschriebenen STEAM-Sequenz. Bei einer Repititionszeit von 3000 ms und einer Echozeit von 20 ms wurde eine Akquisitionszahl von 128 als Kompromiss zwischen einem akzeptablen Signal-Rauschverhältnis und einer noch relativ kurzen Akquisitionszeit von 6 Minuten und 31 Sekunden gewählt. Die Größe des VOI war 2 x 2 x 2 Kubikzentimeter.

Für die Testung der Signifikanzen wurde ein $p \leq 0,05$ verwendet. Getestet wurde mit dem Student-t-Test.

3.5 Untersuchungsdurchführung

Es wurden 21 Patienten des Universitätsklinikums Benjamin Franklin der Freien Universität Berlin untersucht. 2 Patienten entstammten der chirurgischen Klinik, 8 Patienten der Klinik für HNO-Krankheiten, und 11 Patienten wurden aus der kieferchirurgischen Klinik rekrutiert. Bei der Rekrutierung der Patienten wurde darauf geachtet, dass Ziel- und Kontrollgruppe ein annähernd gleiches Durchschnittsalter und Aufnahmediagnosen aufweisen konnten. Einschlusskriterium für die Zielgruppe war das Vorliegen einer chronischen Alkoholkrankheit, Einschlusskriterium für die Kontrollgruppe bei annähernd gleicher Aufnahmediagnose der Ausschluss einer chronischen Alkoholkrankheit bzw. die Alkoholabstinenz für mindestens 3 Jahre.

Ausschlusskriterien waren das Vorhandensein von magnetisierbaren Metallimplantaten, Metallclips nach Operationen, Herzschrittmachern oder ähnlichem. Für weibliche Teilnehmer musste eine Schwangerschaft ausgeschlossen sein.

Nach Aufklärung und Abgabe der schriftlichen Einverständniserklärung der Patienten wurde mit den Patienten ein Untersuchungstermin vereinbart. Eine Kopie der schriftlichen Einverständniserklärung wurde dem Anhang beigefügt.

Die Patienten wurden vor dem Lagern im MRT mit einer Flexüle und einer darüber laufenden Vollelektrolytlösung versorgt. Nach Erstellen der notwendigen Bilddaten und eines Nativspektrums (ohne Applikation von Midazolam), wurde den Patienten über die liegende Flexüle Midazolam in einer Dosierung von 0,075 mg / kg gespritzt. Unmittelbar darauf folgte die Akquisition von drei weiteren Spektren mit einer Akquisitionszeit von 6 Minuten und 31 Sekunden pro Spektrum.

Das VOI wurde für alle Patienten zur Schaffung gleicher Bedingungen in das linke Corpus striatum positioniert.

Die spektroskopische Untersuchung eines Patienten dauerte ca. eine halbe Stunde und wurde von allen Patienten gut toleriert. Die erhobenen Daten wurden mit dem automatischen Auswertungsprogramm LCModel (34, 35) ausgewertet.

3.6 Ergebnisse der Untersuchungsgruppen

Zur besseren Vergleichbarkeit der Spektren untereinander und zur Vermeidung eines systematischen Fehlers ist es erforderlich, alle Werte durch den Wert eines sich erwartungsgemäß nicht verändernden Metaboliten zu dividieren. Dies geschah in unserer Untersuchung mit N-Acetyl-Aspartat (NAA). Ausschlaggebend hierfür waren folgende Gründe:

NAA ist ein Marker für die neuronale Funktion. Es befindet sich hauptsächlich in den Myelinscheiden (6). Eine Beeinflussung der NAA-Werte durch Midazolam, das an axonalen Strukturen angreift und nicht an den Myelinscheiden, ist daher nicht zu erwarten. Außerdem ist NAA als Referenzmarker wesentlich weiter vom Wassersignal mit seinem Peak entfernt als beispielsweise Kreatinin, welches ebenfalls oft als Referenzmarker in der Magnetresonanztomographie verwendet wird.

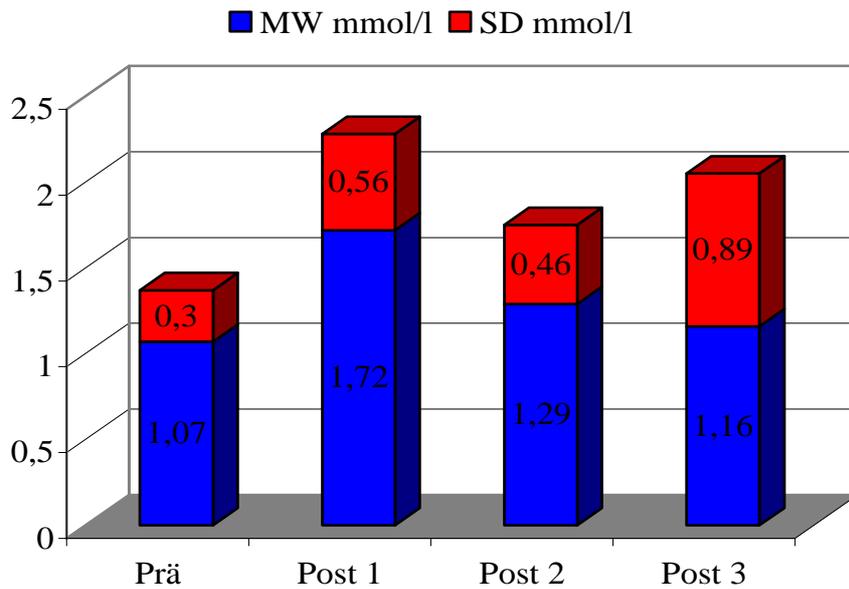
Beobachtet und graphisch dargestellt wurden die Veränderungen der Mittelwerte der einzelnen Metabolitenkonzentrationen über die Zeit, wobei ein Nativspektrum und drei weitere Spektren nach Midazolamapplikation angefertigt wurden. Die 4 Meßvorgänge wurden mit dem Präfix prä, post 1, post 2 und post 3 gekennzeichnet.

Im Detail wurden die Metaboliten GABA, Glutamin, Glutamat, die Summe aus den Metabolitenkonzentrationen von Glutamin, Glutamat und GABA (Glx), Inositol, Cholin und Laktat in ihrem zeitlichen Verlauf beobachtet.

Die Summenbildung für die Metabolitenkonzentrationen von Glutamin, Glutamat und GABA wurde deshalb durchgeführt, weil sich hierdurch eine deutliche Verbesserung des Signal-Rauschverhältnisses im Vergleich zum Signal-Rauschverhältnis der Einzelmetaboliten ergibt und alle drei Substanzen Neurotransmitter sind. Beim Shimvorgang wurden Halbwertslinienbreiten von 6 - 10 Hz erreicht.

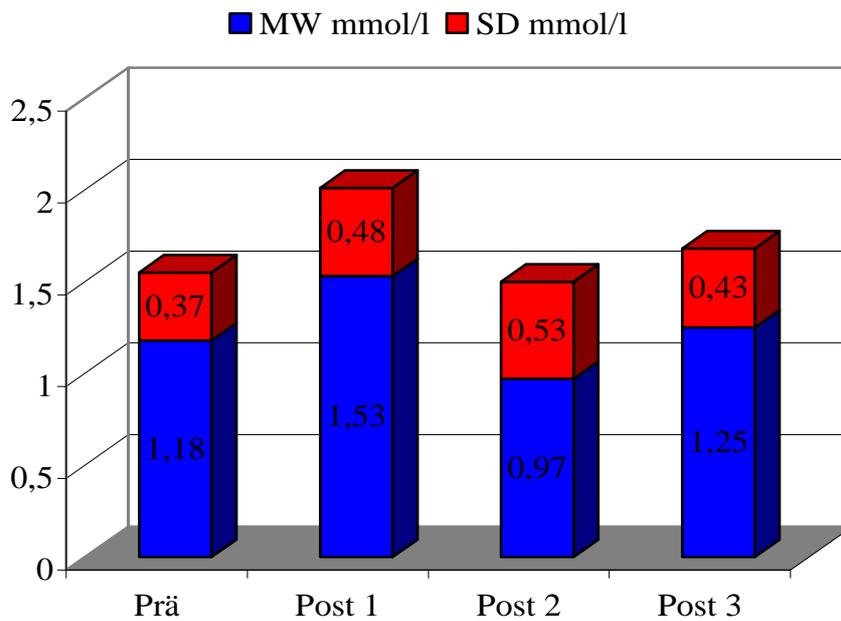
Nachfolgend wird die zeitliche Veränderung der Mittelwerte der Metabolitenkonzentrationen mit je einer Graphik für die Ziel- und Kontrollgruppe dargestellt und deskriptiv ausgewertet.

Zielgruppe GABA



MW	SD	MEDIAN
1,07	0,30	1,11
1,72	0,56	1,72
1,29	0,46	1,04
1,16	0,89	1,16

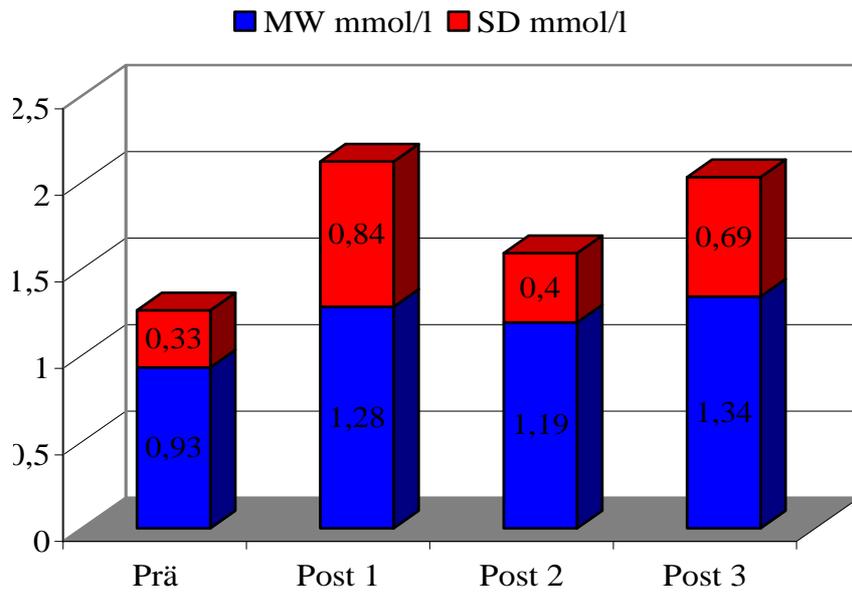
Kontrollgruppe GABA



MW	SD	MEDIAN
1,18	0,37	1,18
1,53	0,48	1,77
0,97	0,53	0,84
1,25	0,43	1,16

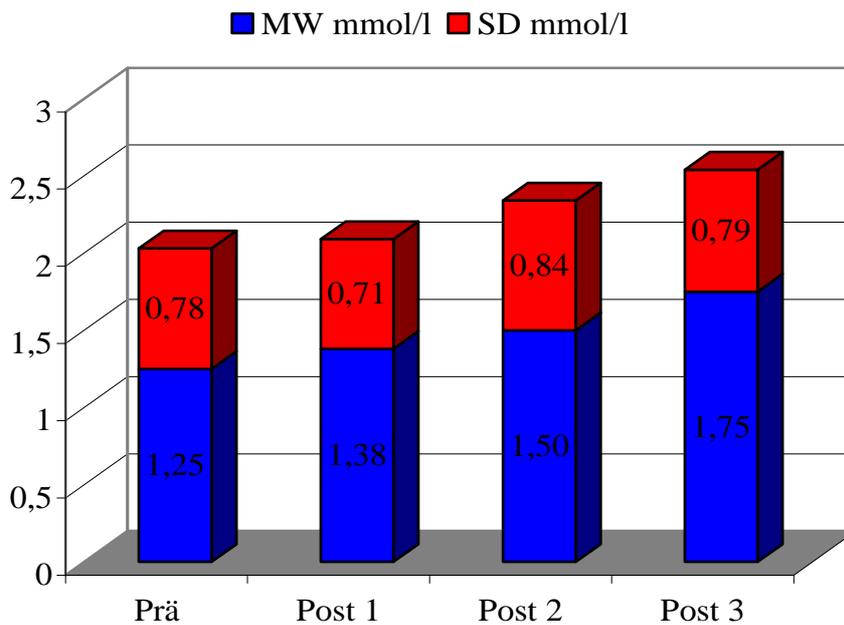
GABA: Sowohl in der Ziel- als auch in der Kontrollgruppe initialer Anstieg mit nachfolgender Normalisierung, allerdings in beiden Gruppen ohne Signifikanz. Der initiale Anstieg fällt in der Zielgruppe höher als in der Kontrollgruppe aus.

Zielgruppe Glutamin (Gln)



MW	SD	MEDIAN
0,93	0,33	0,90
1,28	0,84	0,99
1,19	0,40	1,00
1,34	0,69	1,31

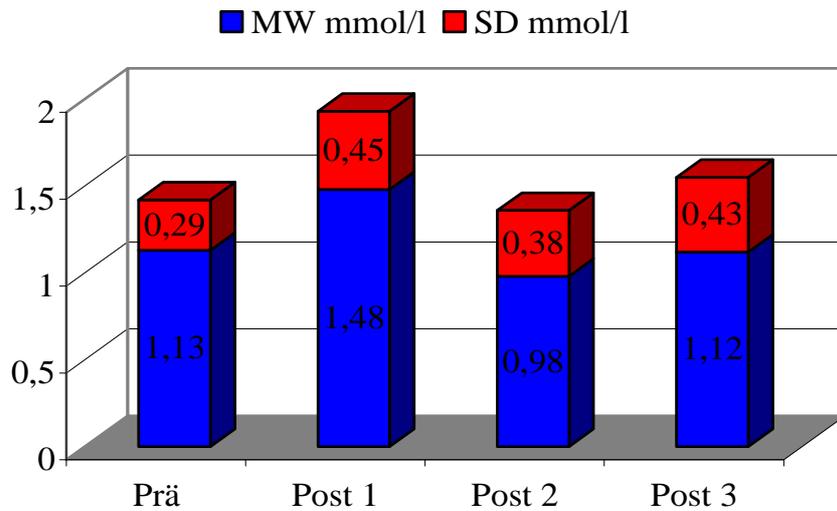
Kontrollgruppe Glutamin (Gln)



MW	SD	MEDIAN
1,25	0,78	0,91
1,38	0,71	1,21
1,50	0,84	1,33
1,75	0,79	1,40

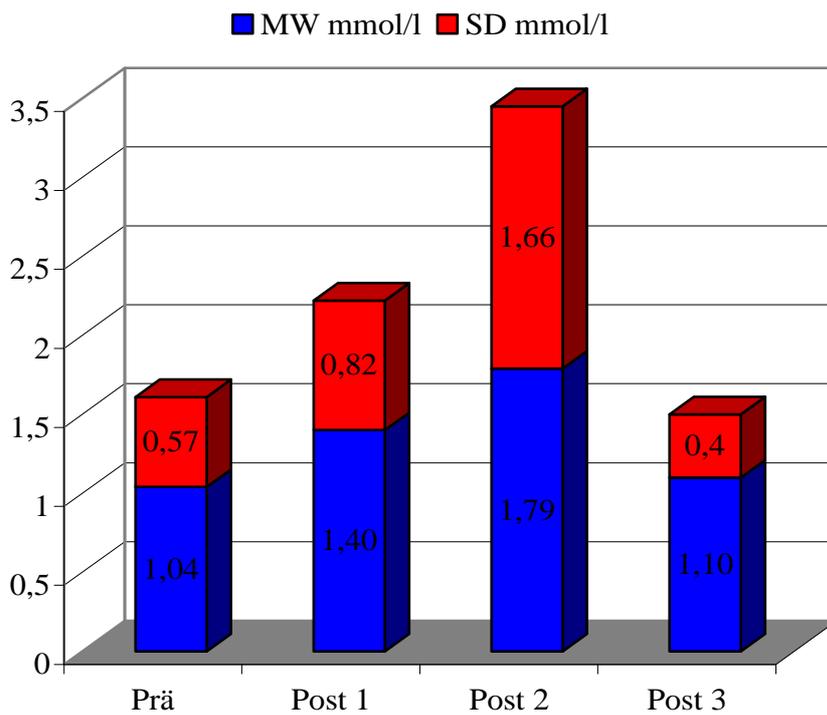
Glutamin: Leichter Anstieg von Glutamin in Ziel- und Kontrollgruppe, in der Zielgruppe ist dieser Anstieg signifikant, in der Kontrollgruppe nicht.

Zielgruppe Glutamat (Glu)



MW	SD	MEDIAN
1,13	0,29	1,15
1,48	0,45	1,52
0,98	0,38	1,00
1,12	0,43	1,03

Kontrollgruppe Glutamat (Glu)

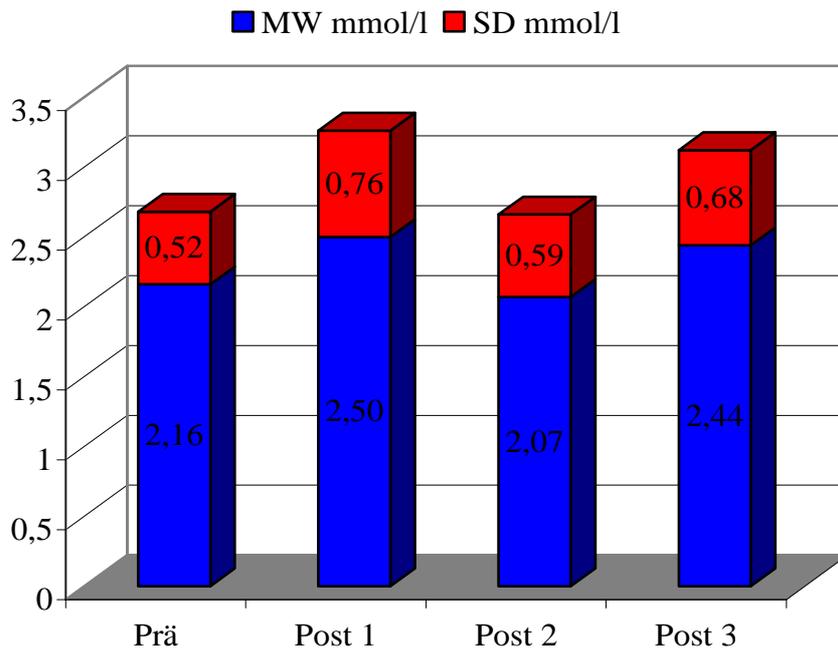


MW	SD	MEDIAN
1,04	0,57	1,20
1,40	0,82	1,13
1,79	1,66	1,21
1,10	0,40	0,96

Glutamat: Initialer Anstieg in der Zielgruppe mit nachfolgendem Abfall. Alle diese Veränderungen sind nicht signifikant.

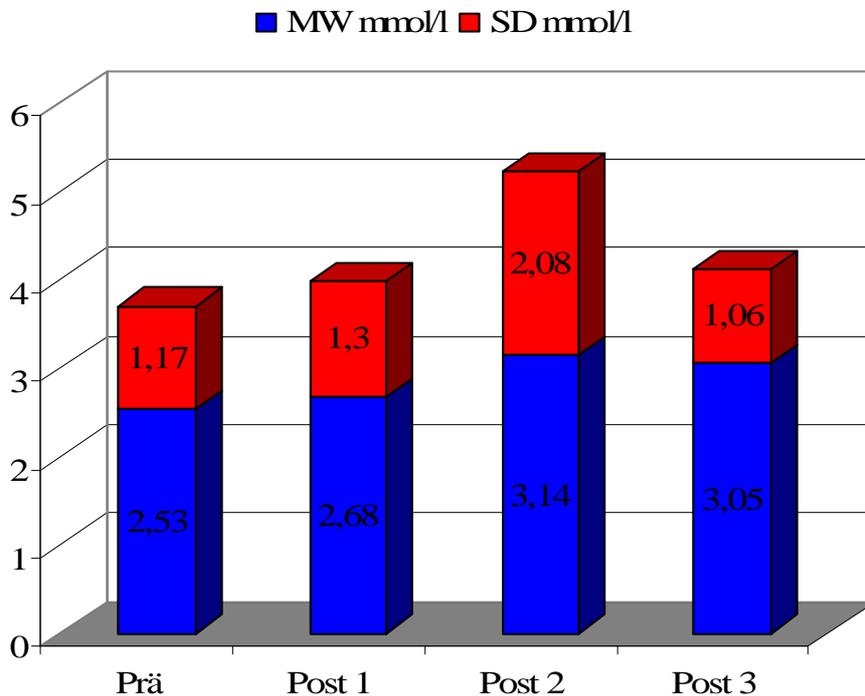
In der Kontrollgruppe konstanter signifikanter Anstieg bis zur 3. Messung mit nachfolgendem Abfall.

Zielgruppe Glx



MW	SD	MEDIAN
2,16	0,52	2,22
2,50	0,76	2,21
2,07	0,59	2,12
2,44	0,68	2,70

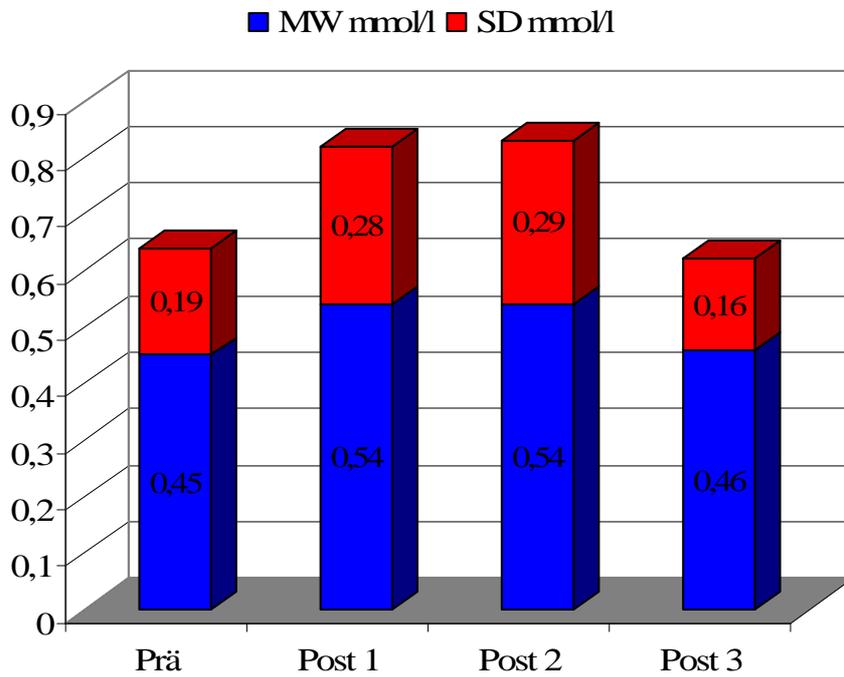
Kontrollgruppe Glx



MW	SD	MEDIAN
2,53	1,17	2,32
2,68	1,30	2,40
3,14	2,08	2,55
3,05	1,06	2,64

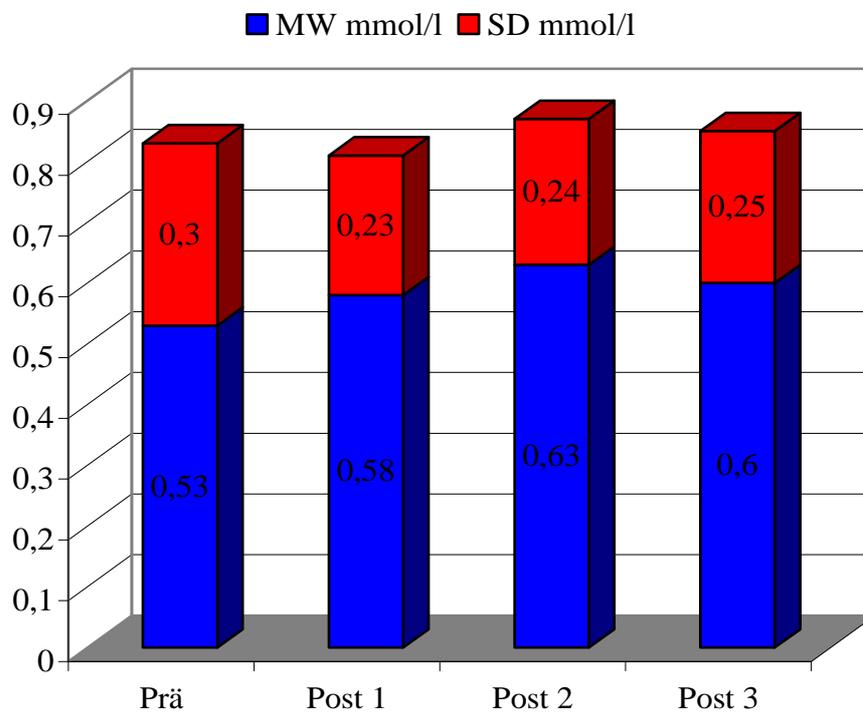
Glx: (Summe aus den gemessenen Konzentrationen von Gln, Glu und GABA): In der Zielgruppe initialer Anstieg, dann wieder Abfall und zum Ende wieder Anstieg. Insgesamt ist keine Signifikanz ableitbar. In der Kontrollgruppe kontinuierlicher Anstieg ohne nachweisbare Signifikanz.

Zielgruppe Inositol



MW	SD	MEDIAN
0,45	0,19	0,37
0,54	0,28	0,46
0,54	0,29	0,47
0,46	0,16	0,46

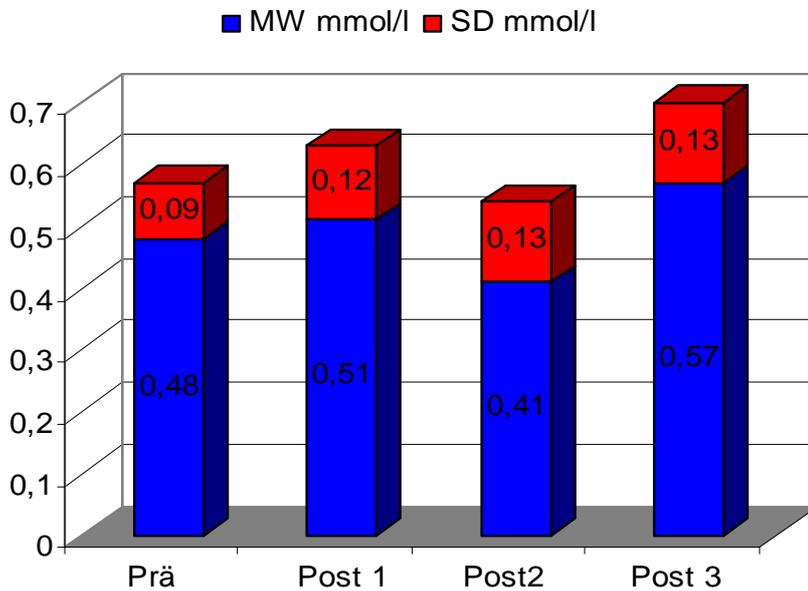
Kontrollgruppe Inositol



MW	SD	MEDIAN
0,53	0,30	0,44
0,58	0,23	0,47
0,63	0,24	0,60
0,60	0,25	0,56

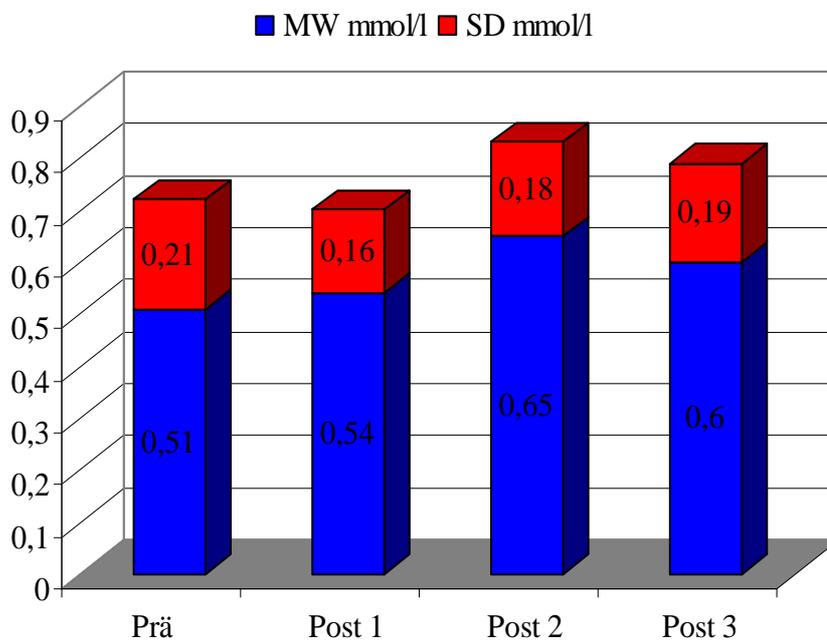
Inositol: In der Zielgruppe initialer Anstieg mit nachfolgender Abschwächung, in der Kontrollgruppe Anstieg bis zur 3. Messung um 19 % mit ebenfalls leichter Abschwächung in der 4. Messung. Sowohl für die Ziel- als auch für die Kontrollgruppe konnte keine Signifikanz nachgewiesen werden.

Zielgruppe Cholin



MW	SD	MEDIAN
0,48	0,09	0,48
0,51	0,12	0,53
0,41	0,13	0,36
0,57	0,13	0,6

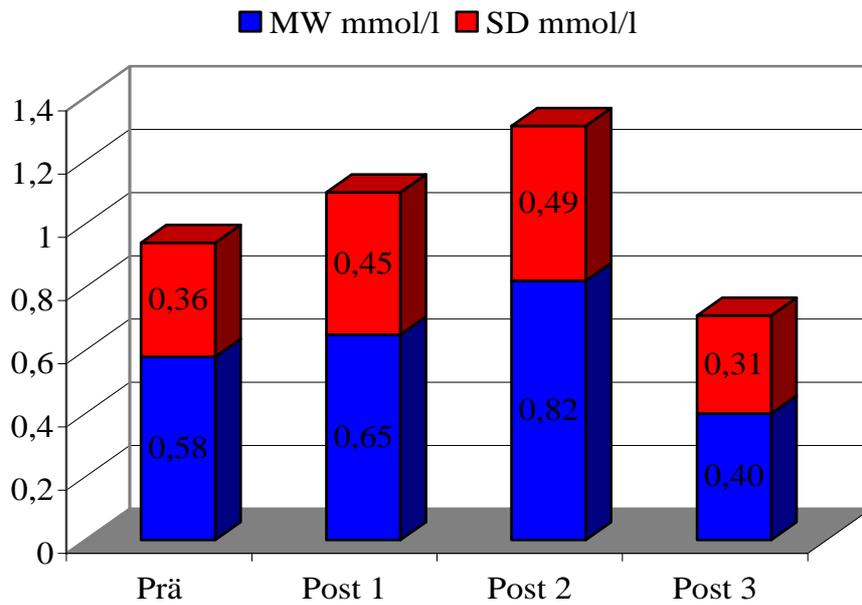
Kontrollgruppe Cholin



MW	SD	MEDIAN
0,51	0,21	0,49
0,54	0,16	0,51
0,65	0,18	0,67
0,6	0,19	0,56

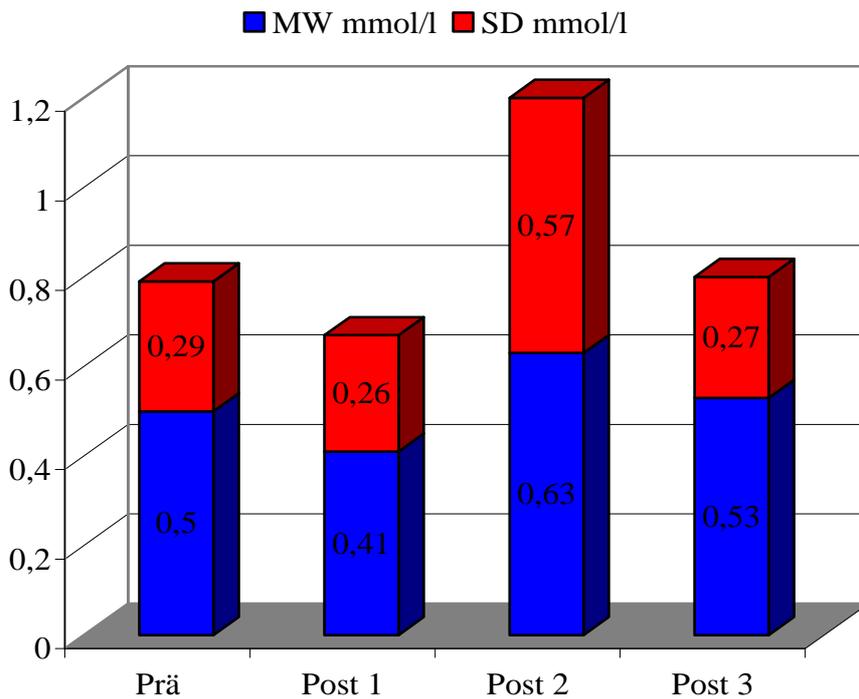
Cholin: Sowohl in der Ziel- als auch in der Kontrollgruppe lassen sich ein Anstieg nachweisen. In der Zielgruppe ist dieser Anstieg nicht signifikant, in der Kontrollgruppe signifikant.

Zielgruppe Laktat



MW	SD	MEDIAN
0,58	0,36	0,47
0,65	0,45	0,51
0,82	0,49	0,80
0,40	0,31	0,36

Kontrollgruppe Laktat



MW	SD	MEDIAN
0,50	0,29	0,66
0,41	0,26	0,33
0,63	0,57	0,53
0,53	0,27	0,41

Laktat: In der Zielgruppe nicht signifikanter Anstieg bis zur 3. Messung, abschließend hingegen signifikanter Abfall auf das Ausgangsniveau.

In der Kontrollgruppe initialer Abfall zur 2. Messung und nachfolgend wieder nicht signifikanter Anstieg über das Ausgangsniveau hinaus.