

2. PATIENTEN UND METHODEN

2.1 Patienten und gesunde Kontrollen

Die Studie zur Verfügbarkeit der Serotonintransporter mit Hilfe von [¹²³I]ADAM SPECT wurde in zwei konsekutiven Stufen durchgeführt.

Zunächst wurden Daten in einer Pilotstudie mit 14 Personen erhoben. Wir untersuchten 6 depressive Patienten und im Vergleich dazu 8 gesunde Kontrollprobanden jeweils vor und nach Applikation von 25 mg Amitriptylin über eine Woche mit dem Radiopharmakon [¹²³I]ADAM und SPECT. Diese 14 Probanden werden als Subgruppe A bezeichnet.

Nach erfolgreichem Abschluss der Pilotstudie wurde die eigentliche Studie durchgeführt. Im Unterschied zur Pilotstudie wurden die Teilnehmer nicht mit Amitriptylin, sondern mit dem SSRI Citalopram (10mg/ die über eine Woche) behandelt. 20 Teilnehmer, darunter 15 depressive Patienten und 5 gesunde Kontrollen, nahmen an ihr Teil. Diese Subgruppe der Studie wird fortan als Subgruppe B bezeichnet. Zudem erhielten die Patienten mit einer Major Depression in der Subgruppe B eine eingehende psychiatrische Untersuchung, im Rahmen derer der Summen- Score der Hamilton Depression Rating Scale (HAM-D₂₁) erhoben wurde.

Untersucht wurden insgesamt 34 Personen im Alter von 19 bis 79 Jahren (41±14 Jahre), darunter 20 Männer im Alter von 19 bis 79 Jahren (39±15 Jahre), sowie 14 Frauen im Alter von 22 bis 65 Jahren (43±13 Jahre).

Die Diagnosen wurden durch erfahrene Psychiater gestellt. Alle Patienten erfüllten die Kriterien einer Major Depression nach dem amerikanischen Diagnose-Manual DSM IV. Die Gruppe der Patienten (n = 21) setzte sich aus zwei Untergruppen zusammen: einer Gruppe mit der Diagnose depressive Episode (F32 nach ICD-10) (n = 11) und einer Gruppe mit einer rezidivierenden monopolen depressiven Störung (F33 nach ICD-10) (n = 10). Das mittlere Alter in der Patientengruppe lag bei 42±12 Jahren, untersucht wurden 15 depressive Männer und 6 depressive Frauen. Zur Kontrolle wurden 13 Normalprobanden untersucht, darunter 5 Männer und 8 Frauen, in einem Alter von 36±13 Jahren.

Betrachtet man die Subgruppen getrennt voneinander, so wurden in der Subgruppe A 6 depressive Patienten und 8 gesunde Kontrollprobanden zusammengefasst und in der Subgruppe B 15 depressive Patienten und 5 gesunde Kontrollen. Zum Vergleich der Daten der Patienten mit denen der gesunden Kontrollen wurden für einige Analysen vor Medikation die Daten aller gesunden Probanden der Subgruppen A und B als Kontrollgruppe zusammengefasst. Eine Übersicht der klinischen und demographischen Aspekte der Patienten und gesunden Studienteilnehmern findet sich in den Tabellen 8 und 9.

Ausschlusskriterien für eine Teilnahme an der Studie war eine laufende Medikation mit Antidepressiva und/ oder Antihypertensiva sowie Acetylsalicylsäure (Aspirin®). Gefordert war eine minimale Therapiepause von 1 Woche bei den Antidepressiva. Zwei Patienten wurden bereits im Vorfeld mit Antidepressiva therapiert. Weiterhin ausgeschlossen von einer Teilnahme waren Personen mit morphologischen Hirnveränderungen durch Traumata oder Tumorleiden, sowie Patienten mit Anfallsleiden oder einem M. Alzheimer. Des Weiteren wurden Personen mit einem Substanzabusus in der Anamnese (Exstasy, Marihuana, Opiate, Alkohol) ausgeschlossen.

Die Probanden und Patienten wurden ausführlich über das Projekt und seine Risiken aufgeklärt und stimmten einer Teilnahme schriftlich zu.

Die Studie entsprach den Richtlinien der Deklaration von Helsinki des Weltärztebundes von 1964 in ihrer Neufassung von Oktober 2000 in Edinburgh und erhielt die Zustimmung der Ethikkommission der Charité Universitätsmedizin Berlin. Sie entsprach den Richtlinien der Strahlenschutzverordnung (StrlSchV) und erhielt ein positives Gutachten durch das Bundesamt für Strahlenschutz.

Tabelle 8: klinische und demographische Daten der gesunden Kontrollen

Kontrolle	Alter	Geschlecht	Medikation
1	55	w	A
2	26	m	A
3	46	w	A
4	41	w	A
5	23	w	A
6	32	w	A
7	53	w	A
8	44	m	A
9	22	m	C
10	28	w	C
11	49	w	C
12	30	m	C
13	23	w	C

Legende: w weiblich, m männlich, A Amitriptylin (Subgruppe A), C Citalopram (Subgruppe B)

Tabelle 9: Klinische und demographische Daten der Patienten mit einer Major Depression

Patient	Diagnose nach ICD-10	Alter	Geschlecht	Medikation
1	F 32.1	65	w	A
2	F 32	43	w	A
3	F 33.1	50	w	A
4	F 32	28	m	A
5	F 33	54	w	A
6	F 32	49	m	A
7	F 32	22	w	C
8	F 32	19	m	C
9	F 33	35	m	C
10	F 32	30	m	C
11	F 33	53	m	C
12	F 32	53	m	C
13	F 32	55	m	C
14	F 33	45	m	C
15	F 33	22	m	C
16	F 33	47	m	C
17	F 33	46	w	C
18	F 32	37	m	C
19	F 32	79	m	C
20	F 32	46	m	C
21	F 32	42	m	C

Legende: w weiblich, m männlich, MD Major Depression nach ICD- 10, A Amitriptylin (Subgruppe A), C Citalopram (Subgruppe B)

2.2 Methoden

2.2.1 Darstellung der zentralen SERT mittels [¹²³I]ADAM und SPECT

An Tag 0 der Studie erfolgte bei den Probanden der Subgruppen A und B neben einer ausführlichen Aufklärung über das Projekt eine internistische und psychiatrische Diagnostik (Subgruppe B), sowie die Vorstellung in der Klinik für Strahlenheilkunde und Nuklearmedizin. Innerhalb der Gruppe der depressiven Patienten wurden mögliche somatische Ursachen einer Depression anhand der Bestimmung eines kleinen Blutbilds inklusive der Schilddrüsenhormone ausgeschlossen. Eine schematische Darstellung des Studiendesigns findet sich in Abbildung 7.

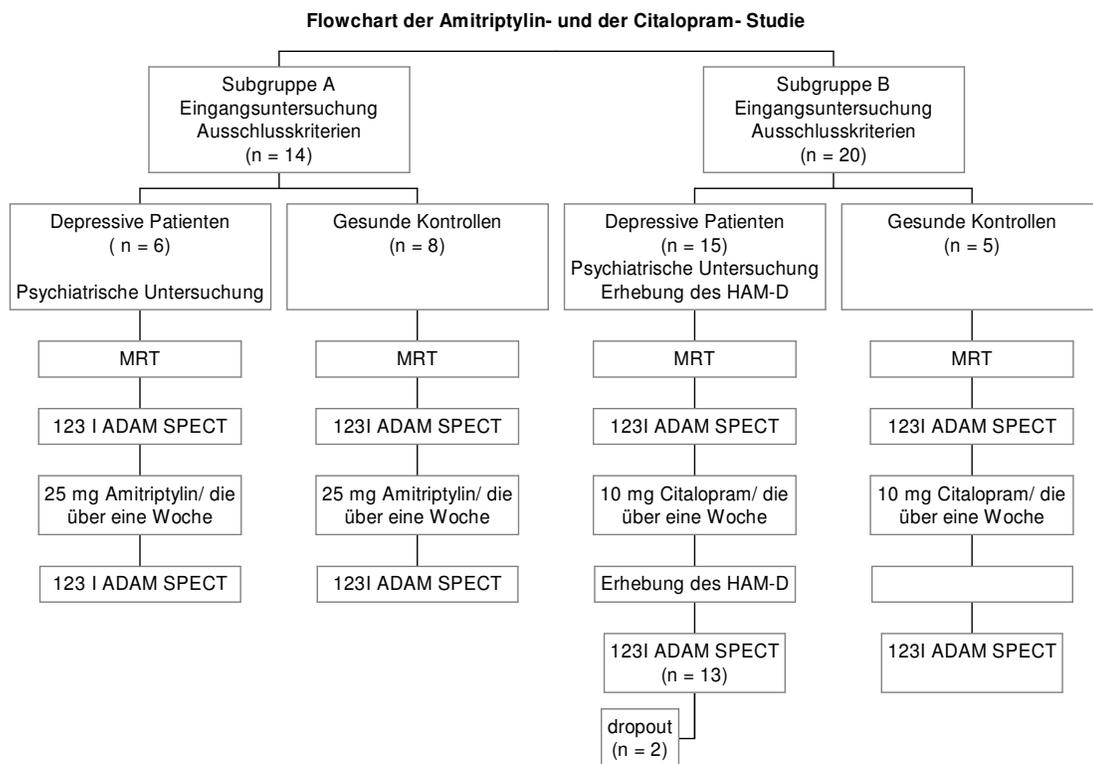


Abbildung 7: Die Flowchart zeigt schematisch das Studiendesign der Subgruppe A (vor und nach Amitriptylin) und der Subgruppe B (vor und nach Citalopram)

Die Pilotstudie umfasste eine Subgruppe A von 14 Probanden, darunter 6 depressive Patienten und 8 gesunde Kontrollprobanden.

Im Rahmen der Vorstellung in der Klinik für Strahlenheilkunde und Nuklearmedizin wurden vor und nach Applikation von 25 mg Amitriptylin über eine Woche an den Tagen 0 und 7 SPECT Untersuchungen mit dem Radiopharmakon [¹²³I]ADAM durchgeführt. Alle Teilnehmer erhielten an Tag 0 ebenfalls ein MRT, das zur Bildfusion mit den SPECT Aufnahmen verwendet wurde.

Die Subgruppe B umfasste 15 depressive Patienten und 5 gesunde Kontrollen. Diese 20 Teilnehmer wurden über eine Woche mit dem SSRI Citalopram (10mg/ die) behandelt. Die 15 depressiven Patienten der Subgruppe B erhielten eine eingehende psychiatrische Untersuchung, im Rahmen derer der Summen- Score der Hamilton Depression Rating Scale (HAM-D₂₁) erhoben wurde.

Auch bei den Patienten und gesunden Kontrollen der Subgruppe B wurden an den Tagen 0 und 7 SPECT Bilder mit dem Radiopharmakon [¹²³I]ADAM und an Tag 0 ein MRT angefertigt. Diese SPECT Bilder wurden mit den MRT Aufnahmen fusioniert und anschließend ausgewertet.

2.2.1.1 Prinzipien des Messverfahrens

Nach Abschluss der Eingangsuntersuchungen erfolgte an Tag 0 der Studie, sowie an Tag 7 nach einwöchiger Medikation, die intravenöse Injektion von 195 ±19 MBq [¹²³I]ADAM (MAP Imaging Schering, Finnland). 30 Minuten vor jeder Applikation des Tracers wurden 400 mg Irenat[®] zum Schutz der Schilddrüse peroral verabreicht.

Der Zeitpunkt des Bindungsequilibriums von [¹²³I]ADAM im menschlichen Gehirn als optimaler Messpunkt der Bildgebung variiert je nach Literaturangabe. Die in der Literatur angegebenen Zeitspannen reichen von 200- 260 min p.i. (Erlandsson et al. 2005), über 210 min p.i., bis zu 180- 360 min p.i. (Catafau et al. 2005). Eine weitere Gruppe führte die Scans bereits 150- 210 min p.i. durch (Asenbaum et al. 2003).

Um den optimalen Zeitpunkt für die Messungen herauszufinden, führten wir bei einigen Patienten 120, 240 und 360 Minuten nach der [¹²³I]ADAM- Applikation SPECT Aufnahmen durch. Diese Daten werden nicht aufgeführt. Das maximale Bindungsverhältnis lag unserer Datenlage nach bei 4 Stunden. Deshalb haben wir unsere Untersuchungen zur Quantifizierung von SERT mittels [¹²³I]ADAM und SPECT 240 Minuten nach Tracerapplikation durchgeführt.

Die SPECT Aufnahmen wurden mit Hilfe einer 3- Kopfgammakamera (Multispect 3, Siemens) angefertigt. Diese ist mit einem low-energy, high- resolution (LEHR) Kollimator ausgerüstet. Die SPECT Aufnahmen wurden in einem „step- and- shoot“ Modus aus 120 Winkelpositionen in 3°- Schritten über insgesamt 360° durchgeführt. Das Energiefenster wurde auf 159keV (20%) festgelegt. Die Daten wurden in Form von transaxialen Schichten mit 128 x 128 Bildelementen rekonstruiert. Die SPECT- Daten wurden mit Hilfe der gefilterten Rückprojektion (FBP) unter Anwendung des Butterworth Filters (Cutoff 0,35, Order 3) rekonstruiert und dann schwächungskorrigiert (Chang Algorithmus, first order $\mu = 0,1$) (Chang 1978). Nach Rekonstruktion betrug die Bildauflösung 13 mm FWHM.

Zur individuellen Beurteilung der SERT Verteilung im Gehirn wurden bei allen Patienten und Probanden Magnetresonanztomographie (MRT)- Bilder in sagittaler, axialer und transversaler Schichtung angefertigt.

Die Magnetresonanztomographie macht sich den Eigendrehimpuls (Kernspin) der Protonen zu Nutze. Ausgelöst durch ein äußeres Magnetfeld richten sich diese Protonen entlang ihres Dipolmoments parallel oder antiparallel aus. Dabei stellt sich häufiger die energetisch günstigere Parallelposition ein, die zu einer Längsmagnetisierung M_z führt. Ein ausgelöster Hochfrequenz (HF)- Impuls führt zu einer Anregung der Protonen von einer Längs- zu einer Quermagnetisierung (M_{xy}), unmittelbar danach erfolgt die Relaxation in den Grundzustand. Diese Relaxation besteht aus einer Längsrelaxation

mit der Zeitkonstante T1 (Spin- Gitter- Relaxationszeit) und einer Querrelaxation mit der Konstante T2 (Spin- Spin- Relaxationszeit). Führt man eine Folge mehrerer HF-Impulse aus, so entsteht eine (Puls-) Sequenz. Die Zeit zwischen diesem Impulsen nennt sich Repetitionszeit (TR), die Zeit zwischen Anregung und Signalaufnahme nennt sich Echozeit (TE).

Als Untersuchungsgerät diente ein 3,0 Tesla MRT (Sigma, General Electric, Milwaukee, USA). Die Studie wurde mit einer schnellen Gradientenecho- oder GE-Sequenz durchgeführt. Diese ermöglichen eine Verkürzung der Messzeit, da die Protonen bei der Längsmagnetisierung nur um einen geringen Winkel ausgelenkt werden. Die T1- gewichtete Sequenz wurde mit kurzen TR und TE durchgeführt (TR 8,2/ TE 1,8, 1 mm Schichtdicke, Auflösung 0,8 mm x 0,7 mm x 2 mm).

Bei der T2- gewichteten Sequenz wurde das Spinsystem mit Inversion- Recovery-Sequenzen (FLAIR) vorbehandelt. Dieses unterdrückt das Signal des Wassers, um somit die Signale der übrigen Gewebe stärker hervortreten zu lassen. TR11000/ TI 250/ TE 125, Auflösung 0,9 mm x 0,8 mm, 5 mm Schichtdicke. Wir wählten die MRT Aufnahme als bildgebende Maßnahme zur anatomischen Lokalisation der SPECT, da dies das Verfahren mit dem höchsten Weichteilkontrast darstellt und daher am besten zur Beurteilung des Gehirns geeignet ist. Zudem geht von der MR- Untersuchung keine Strahlenbelastung aus, wie z.B. vom CT.

2.2.1.2 Datenerfassung und Darstellung

Die Fusion der MRT und SPECT- Aufnahmen wurde mit Hilfe des MPI Tool-Programms der Firma ATV- GmbH durchgeführt.

Die Regions of Interest (ROIs) wurden auf den MRT Aufnahmen in sagittaler und axialer Schnittebene angezeichnet. Diese Anfertigung geschah manuell durch dieselbe Person. Zur Orientierung diente ein neuroanatomischer Atlas. Diese irregulär geformten ROIs entsprachen dem Mesencephalon und dem Cerebellum der MRT Aufnahme. Mit Hilfe der graphischen Fusion erfolgte schließlich die Übertragung der ROIs auf die koregistrierten SPECT Daten.

Der Bindungsquotient wurde rechnerisch aus dem Ausmaß der Tracerbindung im Mesencephalon als Zielregion im Zähler minus der Tracerbindung im Cerebellum als Referenzregion sowie der Tracerbindung im Cerebellum als Referenzregion im Nenner bestimmt.

$$\text{SERT } V_{3b} = \frac{\text{ROI Mesencephalon} - \text{ROI Cerebellum}}{\text{ROI Cerebellum}}$$

Der SERT V_{3b} entspricht der spezifischen Bindung des Tracers an den Serotonintransportern in der Region of Interest, dem Mesencephalon. Zur weiteren Analyse der Verfügbarkeit der SERT im Gehirn wurde der Bindungsquotient analog der obigen Formel ebenfalls für das Frontalhirn bestimmt (SERT $V_{3b\text{Frontal}}$).

Zum vereinfachten Vergleich des Ausmaßes der SERT Verfügbarkeit vor und nach der Verabreichung der Antidepressiva wurde eine weitere Variable rechnerisch bestimmt,

die Occupancy. Die Occupancy (Belegung, Hemmung oder Blockade) der [¹²³I]ADAM Bindung an den SERT in der Region of Interest, dem Mesencephalon, berechnet sich aus der Differenz des Bindungspotentials vor (SERT V_{3b}) und nach Therapie (SERT V_{3c}) anhand folgender Formel:

$$\text{Occupancy} = [(SERT V_{3b} - SERT V_{3c}) / SERT V_{3b}]$$

Um einer möglichen Verfälschung der graphisch ermittelten Durchschnittswerte durch die unterschiedlich hohe Tracergabe entgegenzuwirken, wurden Korrelationsanalysen bei der bei 4h p.i. gemessenen Werte durchgeführt. Die individuell ermittelten Werte für die Region of Interest (Mesencephalon) wurden jeweils in Bezug zur injizierten Menge [¹²³I]ADAM gesetzt und mittels Dreisatz auf eine Standardmenge von 175 MBq bezogen. Diese korrigierten Werte wurden zur weiteren Analyse im Ergebnisabschnitt verwendet.

2.3 Klinische Therapiekontrolle

Bei allen Patienten der Subgruppe B erfolgte eine eingehende psychiatrische Diagnostik sowie die Erhebung der Summen- Scores der Hamilton Depression Rating Scale (HAM-D₂₁, nach Hamilton 1967) durch einen erfahrenen Psychiater. Die 21 Items umfassende HAM-D₂₁ wurde bei allen 21 Patienten an dem Tag 0, sowie bei 14 Patienten auch an Tag 7 nach Beginn der antidepressiven Medikation erhoben. Die verwendete HAM-D₂₁ Skala ist als Tabelle 12 aufgeführt.

Tabelle 12: Hamilton Depression Rating Scale (HAM-D₂₁)

1. Depressive Stimmung
(Gefühl der Traurigkeit, Hoffnungslosigkeit, Hilflosigkeit, Wertlosigkeit)
 - 0: Keine
 - 1: Nur auf Befragen geäußert
 - 2: Vom Patienten spontan geäußert
 - 3: Aus dem Verhalten zu erkennen (z.B. Gesichtsausdruck, Körperhaltung, Stimme, Neigung zum Weinen)
 - 4: Patient drückt fast ausschließlich diese Gefühlszustände in seiner verbalen und nonverbalen Kommunikation aus.

2. Schuldgefühle
 - 0: Keine
 - 1: Selbstvorwürfe, glaubt, Mitmenschen enttäuscht zu haben
 - 2: Schuldgefühle oder Grübeln über frühere Fehler und „Sünden“
 - 3: Jetzige Krankheit wird als Strafe gewertet, Versündigungswahl
 - 4: Anklagende oder bedrohende akustische/ optische Halluzinationen

3. Suizid (jeder ernste Versuch = 4)
 - 0: Keiner
 - 1: Lebensüberdruß

- 2: Todeswunsch, denkt an den eigenen Tod
 - 3: Suizidgedanken oder entsprechendes Verhalten
 - 4: Suizidversuche
4. Einschlafstörungen
- 0: Keine
 - 1: Gelegentliche Einschlafstörungen (mehr als ½ Stunde)
 - 2: Regelmäßige Einschlafstörungen
5. Durchschlafstörungen
- 0: Keine
 - 1: Patient klagt über unruhigen oder gestörten Schlaf
 - 2: Nächtliches Aufwachen bzw. Aufstehen (falls nicht nur zur Harn- oder Stuhlentleerung)
6. Schlafstörungen am Morgen
- 0: Keine
 - 1: Vorzeitiges Erwachen, aber normales Einschlafen
 - 2: Vorzeitiges Erwachen ohne normales Einschlafen
7. Arbeit und sonstige Tätigkeiten
- 0: Keine Beeinträchtigung
 - 1: Hält sich für leistungsunfähig, erschöpft oder schlapp bei seinen Tätigkeiten oder fühlt sich entsprechend
 - 2: Verlust des Interesses an seinen Tätigkeiten, muss sich dazu zwingen, sagt das selbst oder lässt es durch Lustlosigkeit, Entscheidungslosigkeit oder sprunghafte Entschlusslosigkeit erkennen.
 - 3: Wendet weniger Zeit für seine Tätigkeiten auf oder leistet weniger. Bei stationärer Behandlung „3“ ankreuzen, wenn der Patient weniger als 3 Stunden an Tätigkeiten teilnimmt. Ausgenommen Hausarbeiten auf der Station.
 - 4: Hat wegen der Krankheit mit der Arbeit aufgehört. Bei stationärer Behandlung ist „4“ anzukreuzen, falls der Patient an keinen Tätigkeiten teilnimmt, mit Ausnahme der Hausarbeit auf der Station oder wenn der Patient die Hausarbeit nur unter Mithilfe leisten kann
8. Depressive Hemmung
(Verlangsamung von Denken und Sprache, Konzentrationsschwäche, reduzierte Motorik)
- 0: Sprache und Denken normal
 - 1: Geringfügige Verlangsamung bei der Exploration
 - 2: Deutliche Verlangsamung bei der Exploration
 - 3: Exploration schwierig
 - 4: Ausgeprägter Stupor
9. Erregung
- 0: Keine
 - 1: Zappeligkeit
 - 2: Spielen mit den Fingern, Haaren, usw.
 - 3: Hin- und Herlaufen, nicht still sitzen können
 - 4: Händeringen, Nagelbeißen, Haarerufen, Lippenbeißen, usw.
10. Angst- psychisch

- 0: Keine Schwierigkeiten
- 1: Subjektive Spannung und Reizbarkeit
- 2: Sorgt sich um Nichtigkeiten
- 3: Besorgte Grundhaltung, die sich im Gesichtsausdruck und in der Sprechweise äußert
- 4: Ängste werden spontan vorgebracht

11. Angst- somatisch

(Körperliche Begleiterscheinungen der Angst, z.B. kardiovaskuläre, Herzklopfen, gastrointestinale, Mundtrockenheit, Verdauungsstörungen, Durchfall, Krämpfe, respiratorische, Hyperventilation, Schwitzen, usw.)

- 0: Keine
- 1: Geringe
- 2: Mäßige
- 3: Starke
- 4: Extreme (Patient ist handlungsunfähig)

12. Körperliche Symptome- gastrointestinale

- 0: Keine
- 1: Appetitmangel. Isst aber ohne Zuspruch
- 2: Muss zum Essen angehalten werden. Verlangt oder benötigt Abführmittel oder andere Magen-Darm-Präparate

13. Körperliche Symptome- allgemeine

- 0: Keine
- 1: Schweregefühl in den Gliedern, Rücken oder Kopf. Rücken-, Kopf- oder Muskelschmerzen. Verlust der Tatkraft, Erschöpfbarkeit
- 2: Bei jeder deutlichen Ausprägung des Symptoms „2“ ankreuzen!

14. Genitalstörungen (z.B. Libidoverlust, Menstruationsstörungen)

- 0: Keine
- 1: Geringe
- 2: Starke

15. Hypochondrie

- 0: Keine
- 1: Verstärkte Selbstbeobachtung (auf den Körper bezogen)
- 2: Ganz in Anspruch genommen durch Sorgen um die eigene Gesundheit
- 3: Zahlreiche Klagen, verlangt Hilfe usw.
- 4: Hypochondrische Wahnvorstellungen

16. Gewichtsverlust (entweder A oder B ankreuzen)

A. aus Anamnese

- 0: Kein Gewichtsverlust
- 1: Gewichtsverlust wahrscheinlich in Zusammenhang mit jetziger Krankheit
- 2: Sicherer Gewichtsverlust laut Patient

B. Nach wöchentlichem Wiegen in der Klinik, wenn Gewichtsverlust

- 0: weniger als 0,5 kg/ Woche
- 1: mehr als 0,5 kg/ Woche
- 2: mehr als 1 kg/ Woche

17. Krankheitseinsicht

- 0: Patient erkennt, dass er depressiv und krank ist
- 1: Räumt Krankheit ein, führt sie aber auf schlechte Ernährung, Klima, Überarbeitung, Virus, Ruhebedürfnis usw. zurück
- 2: Leugnet Krankheit ab

18. Tagesschwankungen

A. *Geben Sie an, ob die Symptome schlimmer am Morgen oder am Abend sind. Sofern keine Tagesschwankungen auftreten, ist „0“ anzukreuzen.*

- 0: Keine Tageszeitschwankungen
- 1: Symptome schlimmer am Morgen
- 2: Symptome schlimmer am Abend

B. *Falls es Schwankungen gibt, geben Sie ihre Stärke an. Falls es keine gibt, kreuzen Sie „0“ an.*

- 0: Keine
- 1: Gering
- 2: Stark

19. Depersonalisation, Derealisation (z.B. Unwirklichkeitsgefühle, nihilistische Ideen)

- 0: Keine
- 1: Gering
- 2: Mäßig
- 3: Stark
- 4: Extrem (Patient ist handlungsunfähig)

20. Paranoide Symptome

- 0: Keine
- 1: Misstrauisch
- 2: Beziehungsideen
- 3: Beziehungs- und Verfolgungswahn

21. Zwangssymptome

- 0: Keine
- 1: Gering
- 2: Stark

maximaler Summen- Score: 62 Punkte

2.4 Statistik

Die Statistik wurde mit SPSS® 12,5 für Windows® (SPSS Inc., Chicago, IL) durchgeführt. Die Variablen wurden mit Hilfe des Kolmogoroff- Smirnow- Test und des Shapiro- Wilks- Test auf ihre Normalverteilung hin untersucht. Der Levene's Test für die Varianzgleichheit und der t- test für Mittelwertvergleiche wurde für den Vergleich der serotonergen Parameter in den Gruppen der gesunden Probanden und den Depressiven eingesetzt. Die einseitige Varianzanalyse (ANOVA) wurde in allen Vergleichen der Geschlechtersubgruppen eingesetzt. Der Tukey's honestly significant difference (HSD) wurde für Post-hoc-Analysen verwendet. Vergleiche der Geschlechtersubgruppen wurden mit einem nichtparametrischen Test Kruskal- Wallis durchgeführt. Für die Frequenzanalysen wurde der χ^2 Tests durchgeführt. Das Signifikanzniveau P wurde auf 0,05 festgelegt.