

Aus der Klinik für Allgemeine Pädiatrie
(Direktor: Prof. Dr. med. Martin Schrappe)
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**FUNKTIONELLE MAGNETRESONANZTOMOGRAPHIE WÄHREND AKUSTISCHER
PREPULSE-STARTLE-STIMULI BEI KINDERN MIT ENURESIS NOCTURNA
UNTER DESMOPRESSIN-THERAPIE**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von
DAVID JOHANNES WUNBERG
aus Tübingen

Kiel 2010

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Paul Eggert, Klinik für Allgemeine Pädiatrie
2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Klaus-Peter Jünemann, Klinik für Urologie und Kinderurologie
- Tag der mündlichen Prüfung: 12. August 2011
- Zum Druck genehmigt, Kiel, den 12. August 2011
- gez. Prof. Dr. med. Paul-Martin Holterhus, Klinik für Allgemeine Pädiatrie

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
2	Grundlagen.....	3
2.1	Der Startle-Reflex und seine Prepulse-Inhibition.....	3
2.1.1	Startle-Stimulus und Startle-Reflex.....	3
2.1.2	Prepulse-Stimulus und Prepulse-Inhibition.....	4
2.1.3	Prepulse-Inhibition bei Kindern mit Enuresis.....	5
2.2	Die funktionelle Magnetresonanztomographie.....	5
2.2.1	Grundlagen der MRT-Bildgebung.....	5
2.2.2	Funktioneller Aspekt und BOLD-Effekt.....	6
2.2.3	Bildliche Darstellung aktiver Areale.....	6
3	Vorversuche.....	8
3.1	Fragestellung der Vorversuche.....	8
3.1.1	MRT-Hintergrundgeräusche.....	8
3.1.2	EMG-Ableitung im MRT.....	8
3.2	Probanden der Vorversuche.....	8
3.3	Methodik der Vorversuche.....	8
3.3.1	Abschirmung vom Hintergrundlärm.....	9
3.3.2	Ableitung der Startle-Reaktion und Artefaktkorrektur.....	9
3.4	Ergebnisse der Vorversuche.....	9
3.5	Schlussfolgerung.....	10
4	Patienten und Methoden.....	12
4.1	Patienten.....	12
4.1.1	Einschlusskriterien.....	12
4.1.2	Ausschlusskriterien.....	12
4.1.3	Kontrollgruppe.....	12
4.1.4	Rekrutierung und Vorbereitung der Kinder.....	12
4.2	Methoden.....	15
4.2.1	Messaufbau im MRT.....	15
4.2.2	Test vor der Messung.....	17
4.2.3	Anatomische und funktionelle Datenerhebung.....	17
4.2.4	Stimulus-Arten, Anzahl und Abfolge.....	17
4.2.5	Auswertung der EMG – Daten und Berechnung der PPI.....	18
4.2.6	Entblindung.....	20
4.2.7	Verarbeitung der fMRT-Daten und Modellerstellung.....	20
4.2.8	Genehmigung durch die Ethik-Kommission.....	21
5	Ergebnisse.....	22
5.1	Patientengruppe.....	22
5.1.1	Therapieansprechen.....	22
5.2	Kontrollgruppe.....	23

5.3	Startle-Reaktion im MRT.....	23
5.4	Prepulse-Inhibition im MRT	24
5.5	Prepulse-Inhibition außerhalb des MRT.....	26
5.6	Hirnaktivierungen	26
6	Diskussion.....	31
6.1	Methodenkritik zur PPI-Messung im MRT.....	31
6.1.1	Beeinflussung des Elektromyogramms	32
6.1.2	Signal-to-noise-ratio.....	32
6.1.3	Untersuchungssituation im MRT	32
6.1.4	Konsequenzen für diese und andere Studien	34
6.2	Methodenkritik zur funktionellen MRT-Bildgebung.....	34
6.2.1	Bewegungsartefakte	34
6.2.2	Projektion auf ein Standardgehirn	35
6.2.3	Problem des multiplen Testens	35
6.2.4	Problem der nachträglichen Hypothesenbildung	36
6.3.	Gemeinsamkeiten von Gesunden und Enuretikern.....	36
6.3.1	Gyrus temporalis superior.....	36
6.3.2	Insula.....	37
6.3.3	Cerebellum	37
6.3.4	Medialer präfrontaler Cortex	38
6.3.5	Die Rolle der Ponsregion	38
6.4	Unterschiede zwischen Gesunden und Enuretikern.....	39
6.4.1	Der Gyrus cinguli anterior und die Pathogenese der Enuresis	39
6.4.2	Der Gyrus cinguli anterior als möglicher Wirkort des dDAVP.....	41
6.5	Fazit	42
7	Zusammenfassung.....	43
8	Literaturverzeichnis	45
9	Abbildungsverzeichnis	48
10	Anhang	49
10.1	Votum der Ethik-Kommission	49
10.2	Elterninformation (Enuretiker)	50
10.3	Einwilligungsbogen (Enuretiker)	51
10.4	Elterninformation (gesunde Kinder)	52
10.5	Einwilligungsbogen (gesunde Kinder)	53
11	Danksagung	54
12	Lebenslauf	55

Abkürzungsverzeichnis

3T	3 Tesla
BOLD	blood-oxygen-level-dependency
dDAVP	1-Desamino-8-D-Arginin-Vasopressin oder Desmopressin
EMG	Elektromyogramm
EPI	Echo Planar Imaging
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie
FOV	Field of view
GCA	Gyrus cinguli anterior
MPR	Multiplanare Rekonstruktion
MR	Magnetresonanz
MRT	Magnetresonanztomographie/Magnetresonanztomograph
NSA	Number of signal averages
ooEMG	Elektromyogramm des M. orbicularis oculi
PPI	Prepulse-Inhibition
PPTN	Pedunculo pontiner tegmentaler Nucleus
SPM	Statistical Parametric Mapping
TE	Echo Time
TR	Repetition Time
vEOG	vertikales Elektrokulogramm
ZNS	Zentralnervensystem

1 Einleitung

„My mom used to hang my sheets out the window to dry, and I'd have to run home from school in order to beat the other kids to my house so they wouldn't see them.“

Vince Vaughn, US - Schauspieler

Mit diesem Satz schildert Vince Vaughn wie peinlich es war, als Schulkind nachts noch einzunässen. Erzieherische Maßnahmen seiner Mutter, wie der Aufbau sozialen Drucks durch Aufhängen der nassen Bettwäsche vor den Schulfreunden, zeigten keinen Erfolg und belasteten das Kind zusätzlich. Für die heute von Enuresis betroffenen sieben Prozent aller 7-jährigen Kinder gibt es erfolgversprechendere Behandlungsmaßnahmen, wie die Alarm-Klingelhose oder die medikamentöse Therapie. So hat z.B. das Vasopressin-Analogen Desmopressin (1-Desamino-8-D-Arginin-Vasopressin, dDAVP) eine nachgewiesene Effektivität in der Behandlung betroffener Kinder.

Wie in gängigen Lehrbüchern beschrieben, vermindert das dDAVP in der Niere die nächtliche Diurese. Untersuchungen von Schulz-Jürgensen et al. konnten zeigen, dass das dDAVP bei Kindern mit Enuresis auch einen Effekt auf die Reflexkontrolle im Zentralnervensystem hat [1]. Der hierbei untersuchte Reflex ist der akustische Startle-Reflex, der durch laute Knallgeräusche ausgelöst wird und zum Zucken der Augenringmuskeln und zum Lidschluss führt. Die Intensität des Zuckens kann durch einen kurzen Piepton unmittelbar vor einem solchen Knall abgeschwächt werden. Diese sogenannte Prepulse-Inhibition (PPI) ist bei Kindern mit Enuresis gegenüber gesunden Kindern vermindert und kann durch dDAVP wieder normalisiert werden [1, 2]. Nicht zuletzt aufgrund dieser Untersuchungen wird die Enuresis, deren Ätiologie noch nicht geklärt ist, zunehmend als eine Reifungsstörung des ZNS angesehen. Wegen der dDAVP-Wirkung auf die zentrale Reflexkontrolle ist eine Beeinflussung der Kontrolle des Miktionsreflexes durch dDAVP ebenfalls denkbar. Womöglich liegt hier neben der Niere ein weiterer Angriffspunkt des Medikaments in der Enuresis-Therapie.

An welchen Strukturen das dDAVP im Zentralnervensystem angreift ist bislang unbekannt. Möglicherweise handelt es sich um eine Struktur, die sowohl an der Kontrolle des Startle-Reflexes, als auch an der Entstehung der Enuresis beteiligt ist. Es ist daher sinnvoll, die an

der Reflexkontrolle von Enuretikern beteiligten und von dDAVP beeinflussten zentralnervösen Strukturen näher zu untersuchen.

In der vorliegenden Studie soll versucht werden, mithilfe der funktionellen Magnetresonanztomographie den Wirkort des dDAVP im Zentralnervensystem unter Präsentation akustischer Reflex-Inhibitions-Stimuli bei Kindern mit Enuresis zu lokalisieren.

2 Grundlagen

Zum besseren Verständnis sollen an dieser Stelle zunächst kurz die Grundlagen zum Startle-Reflex und dessen Prepulse-Inhibition sowie das Prinzip der funktionellen Magnetresonanztomographie dargestellt werden. Danach wird auf die für diese Studie notwendigen Vorversuche und die Patienten und Methoden eingegangen.

2.1 Der Startle-Reflex und seine Prepulse-Inhibition

2.1.1 Startle-Stimulus und Startle-Reflex

Der Startle-Reflex ist eine Schreckreaktion und lässt sich im Prinzip durch jede Art sensorischer Reizung auslösen, sei es durch akustische, visuelle oder taktile Stimuli. In klinischen Studien hat es sich bewährt, den Reflex aufgrund der relativ einfachen Durchführbarkeit akustisch durch kurze Knallgeräusche (sog. white noise bursts) auszulösen, die dem Probanden in der Regel über Kopfhörer dargeboten werden. Die motorische Reaktion auf einen solchen Stimulus zeigt sich als messbare Kontraktion des Musculus orbicularis oculi mit nachfolgendem Lidschluss und einer Bulbusbewegung (Blinzeln). Die Registrierung dieser Reaktion erfolgt mittels Elektromyogramm am Musculus orbicularis oculi (ooEMG). Es ist üblich, zusätzlich auch ein vertikales Elektrookulogramm (vEOG) zur Erfassung der Bulbusbewegungen aufzuzeichnen. *Abb. 1* zeigt schematisch ein ooEMG mit deutlichem Ausschlag nach Präsentation eines Startle-Stimulus.

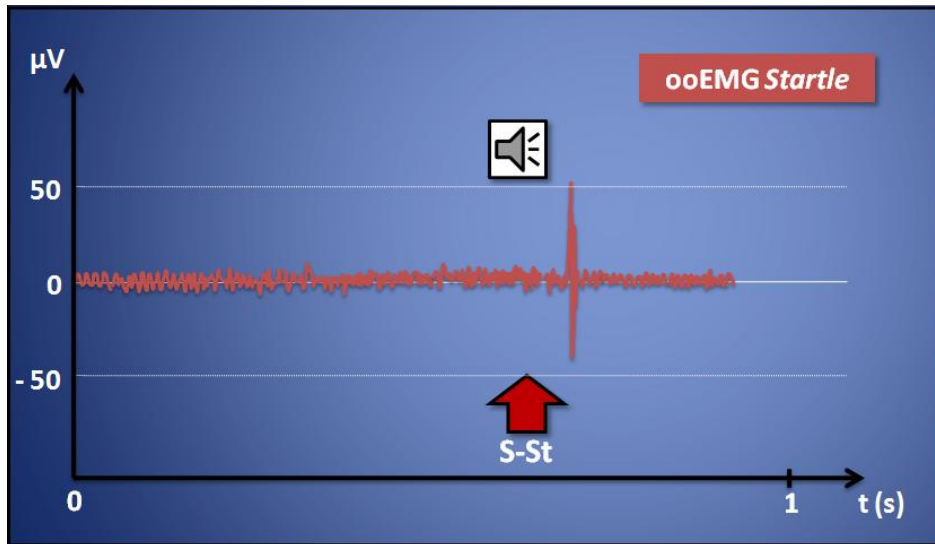


Abb. 1: Schematische Darstellung eines ooEMG während einer Startle-Reaktion

Elektromyogramm des M. orbicularis oculi (ooEMG) mit deutlichem Ausschlag nach Präsentation eines akustischen Startle-Stimulus (S-St) in Form eines Knallgeräusches.

2.1.2 Prepulse-Stimulus und Prepulse-Inhibition

Die oben beschriebene motorische Reaktion wird bei Gesunden durch Präsentation eines schwächeren akustischen Stimulus in Form eines kurzen Pieptons (Prepulse-Stimulus) innerhalb eines bestimmten Zeitfensters vor dem eigentlichen Startle-Stimulus abgeschwächt. Dieses Phänomen wird als Prepulse-Inhibition oder PPI bezeichnet (Abb. 2).

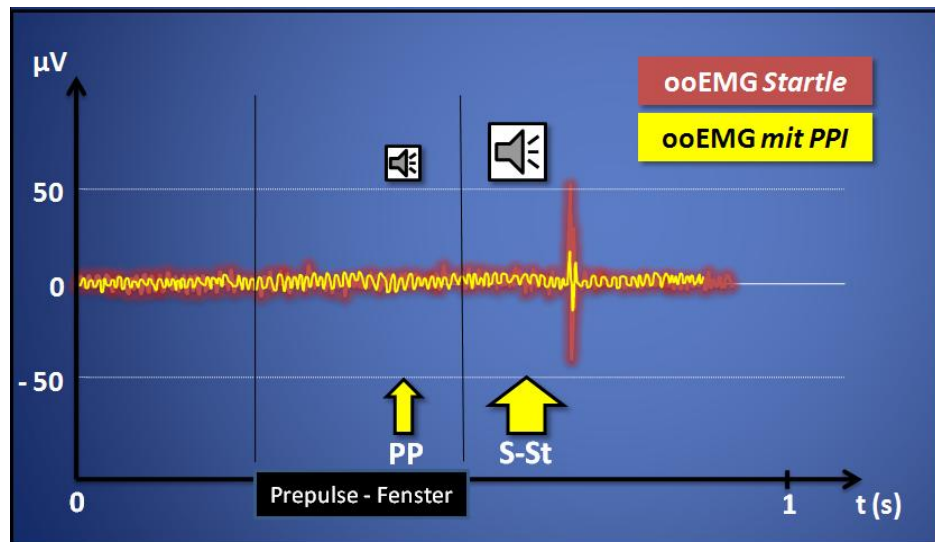


Abb. 2: Schematische Darstellung der Prepulse-Inhibition (PPI) im EMG

Die Reaktion im EMG wird durch Präsentation eines kurzen Pieptons, genannt Prepulse (PP), innerhalb eines bestimmten Zeitfensters vor dem Startle-Stimulus (S-St) abgeschwächt. Dies wird als Prepulse-Inhibition (PPI) bezeichnet.

Wird der gleiche Prepulse-Stimulus außerhalb dieses Zeitfensters (also zu früh) präsentiert, findet keine Prepulse-Inhibition mehr statt (siehe Abb. 3).

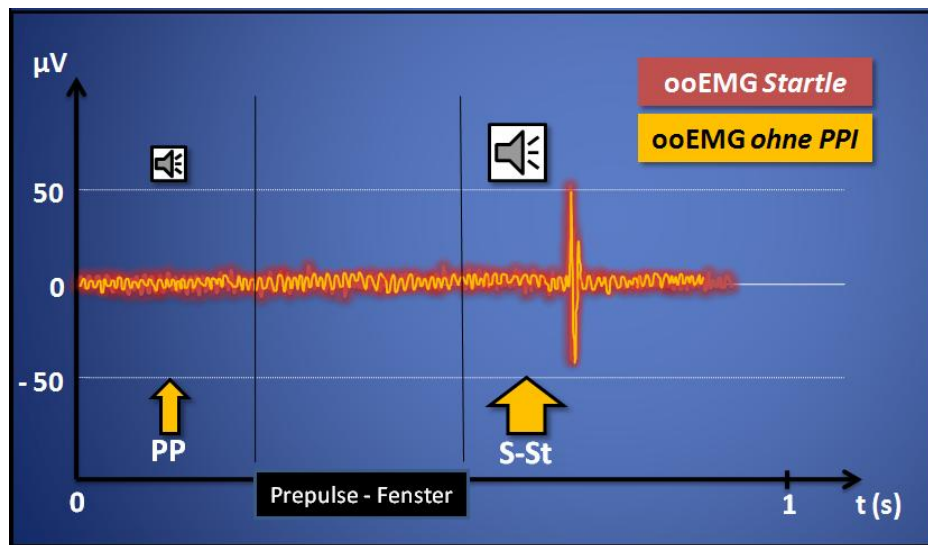


Abb. 3: Schematische Darstellung der aufgehobenen Prepulse-Inhibition (PPI) im EMG

Bei zu großem Abstand zwischen Prepulse (PP) und Startle-Stimulus (S-St) findet keine Prepulse-Inhibition mehr statt und die Startle-Reaktion gleicht der Reaktion ohne Prepulse.

2.1.3 Prepulse-Inhibition bei Kindern mit Enuresis

Seit längerem ist bekannt, dass Kinder mit Enuresis gegenüber gesunden Kindern eine verminderte Inhibition des Startle-Reflexes zeigen. Trotz Präsentation eines Prepulse innerhalb des oben gezeigten Zeitfensters fällt bei diesen Kindern die Reflexantwort also nahezu genauso stark aus wie bei Präsentation eines einzelnen Startle-Stimulus.

2.2 Die funktionelle Magnetresonanztomographie

2.2.1 Grundlagen der MRT-Bildgebung

Das Prinzip der MRT-Bildgebung (MRT) basiert auf der Berechnung zweidimensionaler Schnittbilder aus elektromagnetischen Signalen. Ausgenutzt wird hier u.a. die unterschiedliche Protonendichte in den verschiedenen Geweben. Mittels eines starken Magnetfeldes und Radiowellen können die Eigendrehimpulse (Spins) der Protonen in ihrer Lage beeinflusst werden. Dabei wird gewebespezifisch lokalisierbare elektromagnetische Energie (Induktionsströme) frei, mit deren Hilfe Schnittbilder errechnet werden können.

2.2.2 Funktioneller Aspekt und BOLD-Effekt

Die funktionelle Magnetresonanztomographie (fMRT) ermöglicht die Lokalisation von Hirnarealen mit gesteigerter neuronaler Aktivität. Dies geschieht indirekt über die in aktiven Hirnarealen veränderte Hämodynamik. Durch den erhöhten Sauerstoffverbrauch aktiver Neurone kommt es regional zu einem überproportional gesteigerten Blutfluss, wodurch trotz Sauerstoffverbrauch der Anteil an nicht-oxygeniertem Hämoglobin (Desoxyhämoglobin) im Vergleich zum umliegenden Gewebe abnimmt. Das im Vergleich zum Desoxyhämoglobin magnetisch signalstärkere Oxyhämoglobin dient in diesem Fall als eine Art körpereigenes Kontrastmittel für aktive Hirnareale. Mit steigendem MR-Signal in einem bestimmten Bereich steigt also die Wahrscheinlichkeit für neuronale Aktivität in dieser Region.

Die Abhängigkeit der MR-Signalstärke vom Oxygenierungsgrad des Blutes wird als BOLD-Effekt (blood-oxygen-level-dependency) bezeichnet.

2.2.3 Bildliche Darstellung aktiver Areale

Zur Visualisierung und anatomischen Zuordnung der im fMRT indirekt gemessenen Hirnaktivität wird neben der eigentlichen funktionellen Messung (Echo Planar Imaging Sequenz, EPI-Sequenz) auch eine T1-gewichtete anatomische Schicht-Bildgebung gemacht. Die funktionellen Daten der EPI-Sequenz können dann in identischer anatomischer Schichtposition auf die anatomischen T1-Bilder projiziert werden. Die Wahrscheinlichkeit für Hirnaktivität in einem bestimmten Bereich wird dabei farbkodiert wiedergegeben (*Abb. 4*).

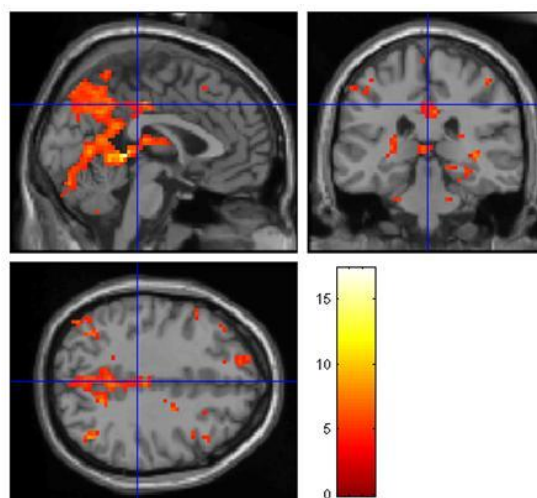


Abb. 4: Farbkodierte Darstellung von Hirnaktivität (Beispiel)

Durch Überlagerung funktioneller und anatomischer Datensätze kann die Wahrscheinlichkeit für neuronale Aktivität anatomisch genau abgebildet werden.

Eine solche Darstellung erfolgt in Einzelfallstudien mit patienteneigenen anatomischen Bildern. In Studien mit mehreren zu untersuchenden Datensätzen, wie es bei der vorliegenden Studie der Fall ist, werden die in Gruppenanalysen erstellten funktionellen Daten mehrerer Probanden auf das Bild eines normierten Standardgehirns projiziert.

3 Vorversuche

3.1 Fragestellung der Vorversuche

Vor Beginn der Studie wurden Vorversuche gemacht. Dies diente der Klärung zweier Fragen hinsichtlich der Durchführbarkeit von Startle-Messungen im MRT:

3.1.1 MRT-Hintergrundgeräusche

Es gab bisher noch keine Erfahrungen, ob es möglich ist, Startle-Reaktionen durch akustische Stimuli über Kopfhörer während einer Messung im an sich lauten Magnetresonanztomographen auszulösen. Die lauten Hämmergeräusche im MRT kommen durch hochfrequente Wechselschaltungen der Gradientenspulen zustande, die zur Entwicklung mechanischer Kräfte führen. Diese Kräfte zerren an der Struktur des Tomographen, wodurch Lärm entsteht. Die Lautstärke liegt dabei in der Größenordnung der Startle-Stimuli, sodass bei einer simultanen Durchführung beider Untersuchungen eine ausreichende Schallisolierung bzw. Abschirmung vom Hintergrundlärm notwendig wird.

3.1.2 EMG-Ableitung im MRT

Zudem musste in den Vorversuchen gezeigt werden, ob es möglich ist, mittels EMG die Muskelaktivität des Musculus orbicularis oculi durch auf der Haut klebende Elektroden während einer MRT-Messung abzuleiten. Die Schwierigkeit liegt hierbei in den MRT-bedingten elektromagnetischen Artefakten im EMG.

3.2 Probanden der Vorversuche

Für die Vorversuche stellten sich zwei freiwillige Erwachsene zur Verfügung. Die Messungen wurden an einem 3-Tesla-MRT (Philips Achieva, Philips, Best, Niederlande) im Neurozentrum des Uniklinikums Schleswig-Holstein, UK-SH, Campus Kiel, durchgeführt. Es handelte sich dabei um dasselbe Gerät wie später bei den Messungen der Kinder.

3.3 Methodik der Vorversuche

Die Methode der Vorversuche orientierte sich am Studiendesign, welches bei der eigentlichen Studie verwendet wurde. Zum genauen Ablauf der Messungen und einer detaillierten Beschreibung der Methode siehe Kapitel *Patienten und Methoden*.

3.3.1 Abschirmung vom Hintergrundlärm

Zur Präsentation der akustischen Stimuli wurden spezielle MRT-kompatible Gehäuse-Kopfhörer (MR Confon GmbH, siehe Kapitel *Patienten und Methoden*) verwendet. Es wurde darauf geachtet, dass die Kopfhörer eng anlagen und die gesamte Ohrmuschel umschlossen. Dann wurde der Kopf nach Einbringen in die Kopfspule in Schaumstoffpolster gebettet und so zusätzlich nach außen hin abgeschirmt (siehe Kapitel *Patienten und Methoden*).

3.3.2 Ableitung der Startle-Reaktion und Artefaktkorrektur

Zur Erfassung der Startle-Reaktion auf die akustischen Stimuli wurde mit jeweils zwei Elektroden ein EMG des Musculus orbicularis oculi (ooEMG) und ein vertikales Elektrokulogramm (vEOG) simultan zur MRT-Messung abgeleitet und aufgezeichnet. Dabei wurde auf dem ooEMG - bzw. vEOG - Kanal neben dem eigentlichen elektromyographischen Signal vom Muskel zwangsläufig auch das Artefakt des MR-Wechselfeldes mit aufgenommen. Durch Subtraktion dieses MR-bedingten Signals mithilfe spezieller Software (siehe Kapitel *Patienten und Methoden*) wurde das eigentliche Elektromyogramm bzw. Elektrokulogramm herausgerechnet (siehe *Abb. 5*).

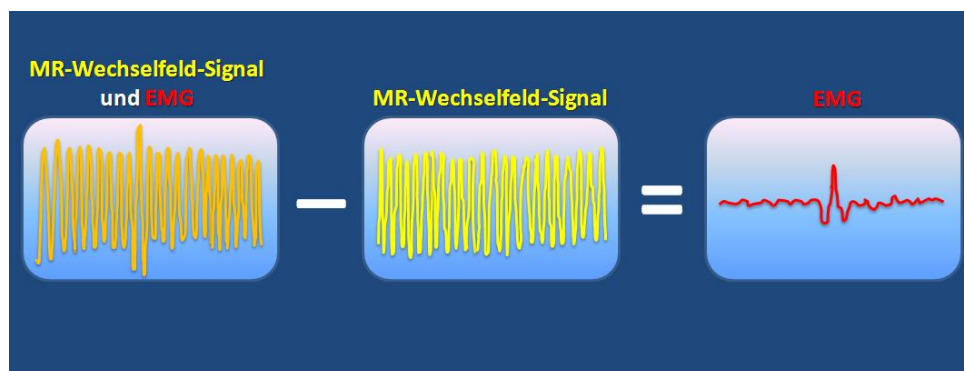


Abb. 5: EMG-Artefaktkorrektur (Schema)

Durch Subtraktion des MRT-bedingten elektrischen Signals mittels bestimmter Software kann das ursprüngliche EMG errechnet werden.

3.4 Ergebnisse der Vorversuche

Beide Probanden berichteten von subjektiv fühlbaren Reaktionen in Form von Blinzeln oder Muskelzucken am Auge als Antwort auf die durch die Kopfhörer während der MRT-Messung präsentierten akustischen Stimuli. Der immer noch gut zu hörende, jedoch deutlich abgeschwächte Hintergrundlärm des Tomographen wurde dabei von beiden Probanden als nicht störend empfunden.

Die Aufzeichnung des ooEMG und des vEOG ergab wie zu erwarten durch die MRT-Artefakte ein erheblich gestörtes Bild. *Abb. 6* zeigt einen Ausschnitt eines solchen im Scanner abgeleiteten ooEMG mit MRT-Artefakten. Ungefähr in der Mitte des dargestellten Ausschnitts wurde ein Startle-Stimulus präsentiert.



Abb. 6: Original-Ausschnitt eines unkorrigierten ooEMG

Ohne Artefaktkorrektur ist das im MRT aufgezeichnete EMG-Signal nicht zu beurteilen. Etwa in der Mitte des dargestellten Ausschnitts wurde ein Startle-Stimulus präsentiert.

Durch Subtraktion der MRT-bedingten elektromagnetischen Signale ließ sich das eigentliche EMG des Muskels darstellen, welches dann weiter ausgewertet werden konnte (*Abb. 7*).

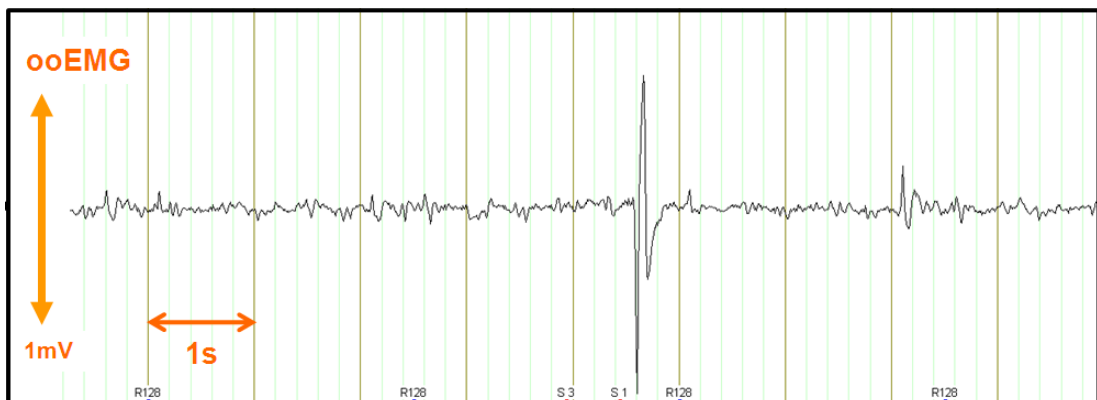


Abb. 7: Original-Ausschnitt eines korrigierten ooEMG

Beim hier dargestellten Ausschnitt handelt es sich um den selben wie in *Abb. 6*. Nach Korrektur der MRT-bedingten Artefakte ist die Startle-Reaktion in der Mitte des Ausschnitts deutlich zu sehen.

3.5 Schlussfolgerung

Mit den Vorversuchen konnte gezeigt werden, dass es möglich ist, die beiden Methoden der Auslösung und Erfassung des akustischen Startle-Reflexes und der Bildgebung im MRT zu

kombinieren. Es zeigten sich deutliche Reaktionen auf akustische Startle-Stimuli, die trotz Hintergrundgeräuschen und elektromagnetischem Wechselfeld des MRT über Elektroden ableitbar waren und nach Korrektur der Artefakte im EMG nachgewiesen werden konnten.

Nach Abschluss der Vorversuche mit erwachsenen Probanden wurde der Antrag auf Durchführung der Studie mit Kindern an die unabhängige Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Universität Kiel gestellt.

4 Patienten und Methoden

Um den Wirkort des dDAVP im Zentralnervensystem und die an der Reflexkontrolle beteiligten Strukturen zu lokalisieren, wurde eine prospektive, randomisierte und doppelblinde Studie mit Kindern mit primärer monosymptomatischer Enuresis durchgeführt. Dabei sollten mithilfe der funktionellen Magnetresonanztomographie (fMRT) Hirnaktivierungen während akustischer Prepulse-Startle-Stimulation registriert werden. Es erfolgten pro Kind zwei Untersuchungen, einmal unter dDAVP- und einmal unter Placebo-Therapie.

Zusätzlich wurden gesunde Kinder in einer Kontrollgruppe ohne Medikation auf identische Weise einmalig untersucht.

4.1 Patienten

4.1.1 Einschlusskriterien

In die Studie eingeschlossen wurden Mädchen und Jungen, bei denen eine primäre monosymptomatische Enuresis gemäß den Kriterien der International Children's Continence Society (ICCS) diagnostiziert war. Weitere Bedingungen waren ein Lebensalter zwischen 6 und 14 Jahren, Rechtshändigkeit sowie das Ansprechen auf dDAVP-Therapie.

4.1.2 Ausschlusskriterien

Ausgeschlossen wurden Kinder mit anderen zusätzlich diagnostizierten Erkrankungen bzw. Beeinträchtigungen wie beispielsweise Schwerhörigkeit. Zudem waren Kinder mit Implantaten, Prothesen oder Zahnspangen von der Studie ausgeschlossen.

4.1.3 Kontrollgruppe

Für die gesunden Kinder der Kontrollgruppe galten, bis auf die Diagnose Enuresis, die gleichen Ein- und Ausschlusskriterien.

4.1.4 Rekrutierung und Vorbereitung der Kinder

Zur Rekrutierung von Patienten wurden Kinder, die die Einschlusskriterien erfüllten, und deren Eltern in der Enuresis-Sprechstunde der Uni-Kinderklinik Kiel auf die Studie

angesprochen. Sie erhielten Infomaterial zu Ablauf, Methodik und Ziel der Studie und wurden gebeten, sich bei Interesse zu melden. Zusätzlich wurden niedergelassene Kinderärzte in Schleswig-Holstein angeschrieben und gebeten, Infomaterial zur Studie an ihre Patienten weiterzugeben (siehe *Anhang*).

Erklärten sich die Patienten und deren Eltern zur Teilnahme bereit, bekamen die Kinder der Patientengruppe in ihrer gewohnten jeweiligen individuellen Dosierung den Wirkstoff Desmopressin (1-Desamino-8-D-Arginin-Vasopressin, dDAVP) oder Placebo in Tablettenform gestellt. Die Tabletten wurden beginnend am sechsten Tag vor dem jeweiligen Messtermin abends zur gewohnten Zeit eingenommen. Rechtzeitig zum sechsten Tag vor der zweiten Messung wurden die jeweils anderen Tabletten vergeben. Die Reihenfolge von Verum und Placebo wurde von an der Studie unbeteiligten Ärzten gelost. Um einen doppelblinden Versuchsablauf zu gewährleisten, war die Reihenfolge gegenüber allen Studienbeteiligten unbekannt.

Die Eltern wurden gebeten, in der Woche vor der Messung die Anzahl „nasser Nächte“ zu notieren.

Die Messungen wurden jeweils am siebten Tag etwa 30 Minuten nach Einnahme der letzten Tablette früh abends durchgeführt. Die Messungen der gesunden Kinder aus der Kontrollgruppe erfolgten zur gleichen Tageszeit.

Vor der eigentlichen Messung wurden jedem Kind über Kopfhörer Prepulse-Startle-Stimuli mit MRT-Hintergrundgeräuschen vorgespielt. Die Geräusche waren vorher während der Vorversuche aufgezeichnet worden. Parallel dazu wurde jedes Kind mit dem später im MRT präsentierten einfachen Computerspiel (im Folgenden Bärchen-Spiel genannt) vertraut gemacht. Bei diesem Spiel sollte ein kleiner schwarzer Kreis auf grauem Hintergrund mit dem Blick fixiert werden. Erschien anstelle des Kreises ab und zu ein gezeichnetes Bärchen-Gesicht, sollte ein Knopf gedrückt werden (siehe *Abb. 8*).

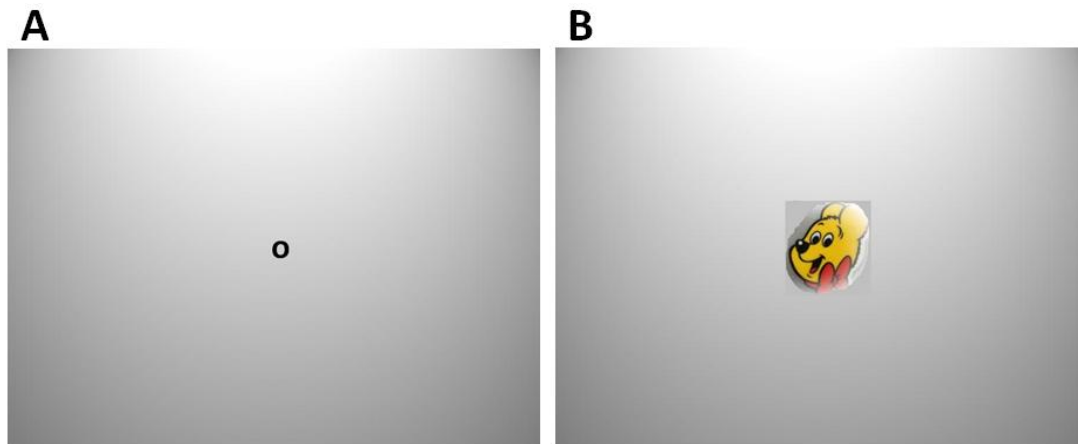


Abb. 8: Bärchen-Spiel

Das in der Simulation und später im MRT gezeigte Bild mit Kreis (A) und Bärchen-Gesicht (B). Bei kurzem Erscheinen des Bärchens anstelle des Kreises sollte ein Knopf gedrückt werden.

Anschließend wurde ca. 1 cm unter dem linken Unterlid und direkt lateral daneben jeweils eine Ag/AgCl-Ring-Elektrode zur Erfassung des Elektromyogramms am Musculus orbicularis oculi (ooEMG) auf die Haut geklebt. Am rechten Auge wurde eine Elektrode des gleichen Typs oberhalb der Augenbraue und eine weitere Elektrode ca. 1 cm unter dem Auge zur Erfassung des vertikalen Elektrokulogramms (vEOG) aufgeklebt (siehe *Abb. 9*). Die Innenseiten der Elektroden wurden zur Verbesserung der Leitfähigkeit vor dem Aufkleben mit Elektroden-Paste beschichtet und ggf. mit einem zusätzlichen Klebestreifen fixiert. Die Elektrodenkabel wurden zusätzlich zur Isolierung mit einer Kunststoffhülle ummantelt.



Abb. 9: Elektroden-Klebestellen

Ableitung des vertikalen Elektrokulogramms (vEOG) am rechten und des EMG vom M. orbicularis oculi (ooEMG) am linken Auge über jeweils zwei Elektroden.

4.2 Methoden

4.2.1 Messaufbau im MRT

Die Messungen wurden im selben 3-Tesla MRT wie die Vorversuche durchgeführt. Die Präsentation sowohl der akustischen Prepulse-Startle-Stimuli als auch des kleinen Kreises und der Bärchen wurde über eine Bedienkonsole (Integrated Functional Imaging System, IFIS-SA, Invivo, USA) vom Kontrollraum aus über ein fiberoptisches Kabel gesteuert (siehe *Abb. 11*). Das EMG-Signal wurde von den oben beschriebenen Elektroden über eine Professional-Brainamp-ExG-MR-Box der Firma BRAINVISION zu einem Laptop geleitet. Die Aufzeichnung der Daten erfolgte mit dem ebenfalls von der Firma BRAINVISION stammenden Vision Recorder. Jedes Kind wurde aufgefordert, sich entspannt auf die Liege zu legen und bekam einen speziellen MRT-kompatiblen Kopfhörer mit Mikrofon (MR Confon GmbH) aufgesetzt (siehe *Abb. 10*). Im Gegensatz zu herkömmlichen Kopfhörern besitzt dieser eine magnetfreie Membran, die sich das Magnetfeld des MRT zunutze macht und so nach Anlegen einer Signalspannung Schallwellen erzeugt. Der Kopf wurde mitsamt des Kopfhörers eng in Schaumstoffmatten eingebettet und in eine 8-Kanal-SENSE-Kopfspule gelegt. Über der Kopfspule wurde im Blickfeld des Kindes ein MRT-kompatibler LCD-Videobildschirm (IFIS, Invivo, USA) angebracht (siehe *Abb. 11*). Zusätzlich bekam jedes Kind einen Druckknopf in die Hand und wurde aufgefordert, bei Erscheinen des Bärchen-Bildes anstelle des Kreises auf den Knopf zu drücken. Jedes Kind wurde gebeten, den Kopf so still wie möglich zu halten. Über einen Notknopf hatten die Kinder jederzeit die Möglichkeit, die Messung bei Beklemmungsgefühl etc. abubrechen.

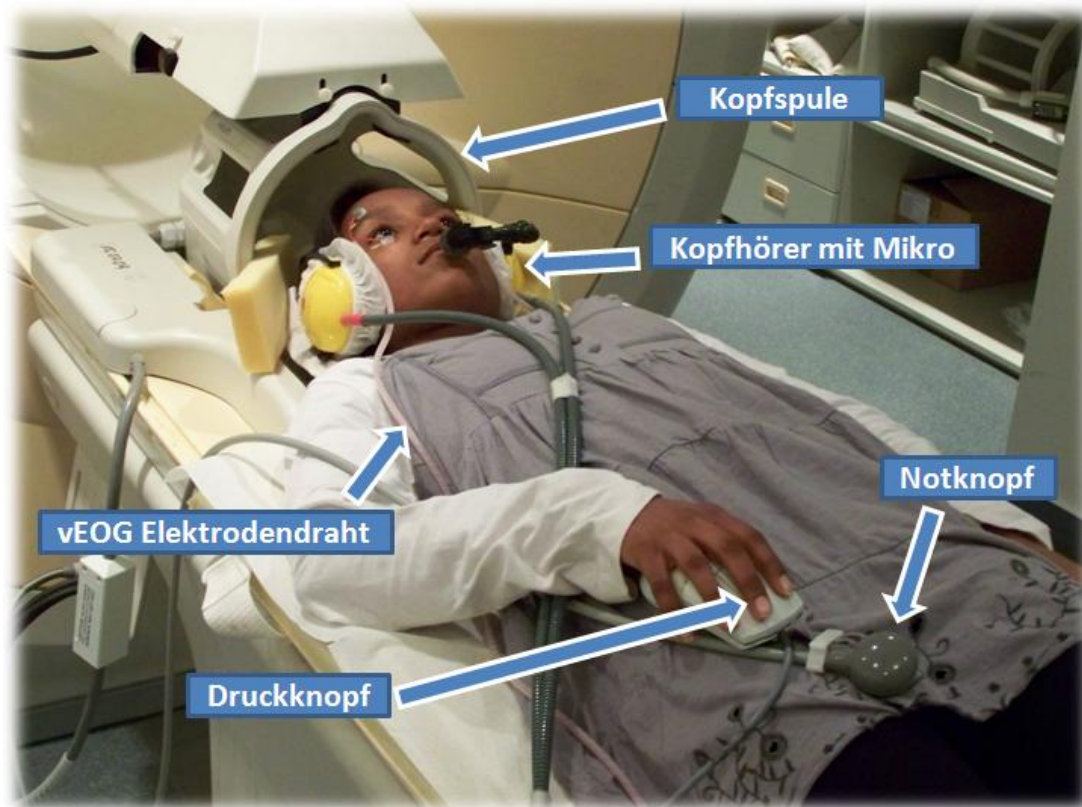


Abb. 10: Aufbau kurz vor der Messung

Es wurde darauf geachtet, dass eine bequeme Liegeposition eingenommen wurde.

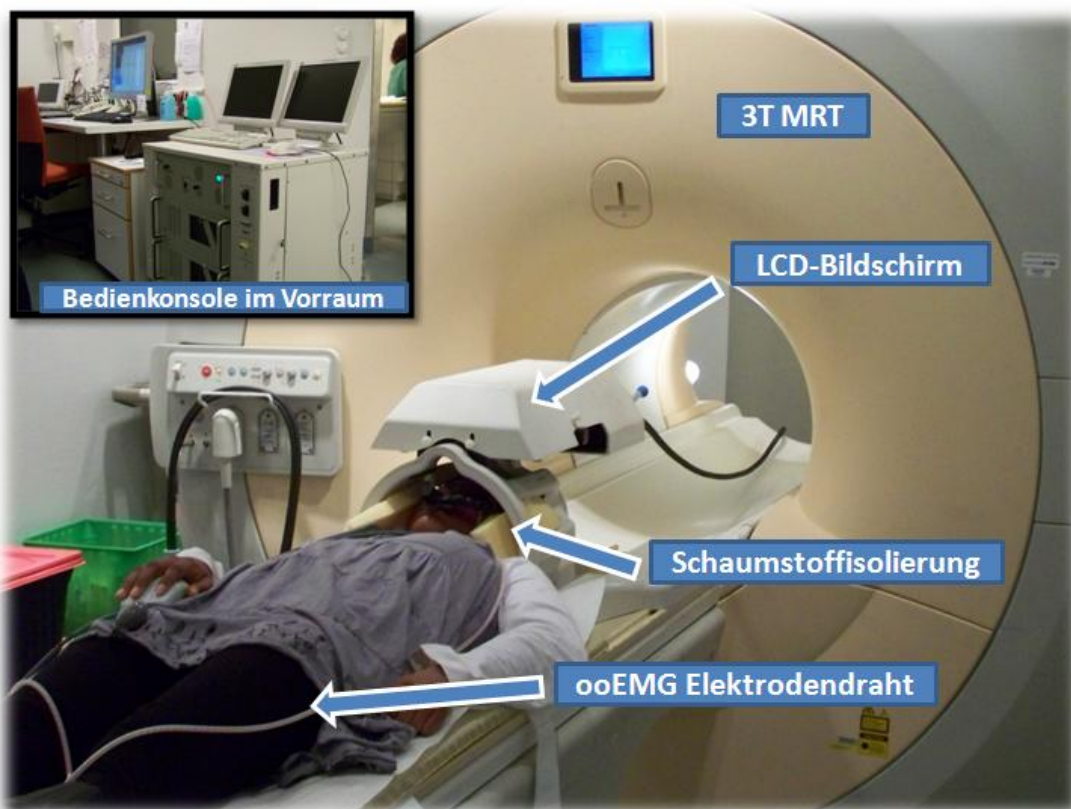


Abb. 11: Nach Einbringen des Kopfes in die Kopfspule

Vom Vorraum aus wurde die akustische und optische Stimulation gesteuert (oben links).
Mit Schaumstoffmatten wurde der Kopf in der Spule bestmöglich schallisoliert.

4.2.2 Test vor der Messung

Unmittelbar vor der eigentlichen Messung wurde ein kurzer Lautstärke-Test der Startle-Stimuli durchgeführt. Die Kinder konnten dann über ein Mikrofon berichten, ob Startle- und Prepulse-Stimuli durch die Kopfhörer zu hören waren. Nebenbei wurde vom Kontrollraum aus die Funktionsfähigkeit der Elektroden über einen am Bildschirm sichtbaren Ausschlag im EMG überprüft. Danach folgte ein kurzer Testlauf des Bärchen-Spiels mit kurzer Einblendung des Bärchen-Bildes. Wurde der Druckknopf gedrückt, wurde das dem Untersucher am PC im Kontrollraum angezeigt und es bestand während der nachfolgenden Messung die Möglichkeit, die Aufmerksamkeit des Kindes anhand der gesehenen und übersehenen Bärchen zu beurteilen. Nach erfolgreichem Test wurde mit den Messungen begonnen.

4.2.3 Anatomische und funktionelle Datenerhebung

Zur anatomischen Datenerhebung wurde eine fünfminütige T1-gewichtete 3D-MPR-Sequenz (1 mm Schichtdicke, 208x208 matrix, 150 Schichten, FOV = 208x208 mm, TE = 3.6 ms, TR = 7.8 ms, Flip angle = 8°, NSA = 2) und eine kurze T2-flair-Messung gefahren. Diese anatomischen Messungen dienten u.a. der neuroradiologischen Befundung durch Fachärztinnen/Fachärzte für Neuroradiologie.

Zur funktionellen Datenerhebung wurde eine T2*-gewichtete Single-Shot EPI-Sequenz (Echo Planar Imaging) von ca. 17 Minuten Länge gefahren (TR = 2500 ms, TE = 35 ms, 30 slices, 64x64 matrix, Schichtdicke 3.5 mm, FOV = 200 mm, gap 0.3 mm, flip angle = 90°). Während dieser Messung wurde das gesamte Gehirn 408 mal gescannt. Währenddessen wurden die akustischen Prepulse-Startle-Stimuli über die Kopfhörer und das Bärchen-Spiel über den Bildschirm vorgespielt.

4.2.4 Stimulus-Arten, Anzahl und Abfolge

Der 17-minütige EPI-Durchlauf beinhaltet drei Arten von akustischen Stimuli:

- (1) **Startle-alone-Stimulus:** ein 50 ms dauernder white noise burst mit einem Schalldruck von ca. 105 dB.
- (2) **PPI120-Stimulus:** ein zum Startle-Stimulus identischer white noise burst mit einem 120 ms davor zu hörenden leiseren Piepton (Prepulse) mit einer Frequenz von 1000 Hz, einer Länge von 30 ms und einer Lautstärke von ca. 75 dB.

- (3) **PPI480-Stimulus:** identisch zum PPI120-Stimulus, hier jedoch mit einer Zeitspanne von 480 ms zwischen Prepulse und white noise burst.

Ohne Bedeutung für die Startle-Reaktion, jedoch trotzdem als Stimulus gewertet und später in das Modell mit einbezogen wurden:

- (1) **Bärchen:** ein über 0.5 Sekunden eingeblendetes Bild eines gezeichneten gelben Comic-Bärchens
- (2) **Null-Event:** ein Schein-Event ohne jeden akustischen oder optischen Reiz.

Während dieser Messung wurden jeweils 25 Startle-alone-Stimuli, 25 PPI120-Stimuli, 25 PPI480-Stimuli, 25 Bärchen und 10 Null-Events in randomisierter Reihenfolge präsentiert. Dabei wurde zwischen zwei Stimuli ebenfalls in randomisierter Reihenfolge ein zeitlicher Abstand von 8, 9, 10, 11 oder 12 Sekunden eingehalten (siehe *Abb. 12*).

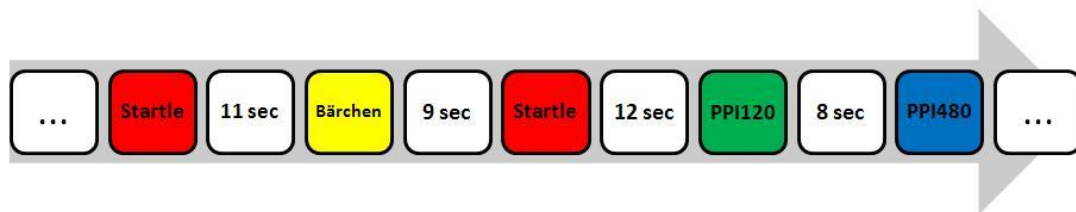


Abb. 12: Stimulus-Abfolge während der funktionellen Messung (Schema)

Zwischen den Startle-alone-, PPI120-, PPI480-Stimuli, den Bärchen und den Null-Events lag jeweils ein Abstand von 8-12 Sekunden. Die Stimuli wurden in randomisierter Reihenfolge präsentiert.

4.2.5 Auswertung der EMG – Daten und Berechnung der PPI

Für die Auswertung und Artefaktkorrektur der EMGs wurde die Software *Brain Vision Analyzer Version 1.05* von BRAIN PRODUCTS verwendet. Nach der Subtraktion der MRT-bedingten Artefakte (siehe dazu *Abb. 5* im Kapitel *Vorversuche*) wurden die Daten jeder Messung in 75 einzelne Abschnitte zerlegt (segmentiert). Jeweils 25 Abschnitte beinhalteten das ooEMG und das vEOG während der Darbietung eines Startle-alone-, eines PPI120- oder eines PPI480-Stimulus. Anschließend wurden die Daten mit einem Bandpassfilter von 30-45 Hz gefiltert. Es wurde dann im ooEMG von den 200 ms vor dem jeweiligen Startle-Stimulus die Grundaktivität (Baseline) errechnet und die EMG-Kurve gleichgerichtet. War innerhalb der 200 ms vor und bis 20 ms nach dem Startle-Stimulus ein starker Ausschlag (spontanes, zufälliges Augenzwinkern) im vEOG zu sehen, wurde der

Abschnitt als nicht auswertbar definiert und verworfen. Erfolgte kein Blinzeln während dieser Zeitspanne, wurde der höchste Ausschlag im ooEMG über die Grundaktivität innerhalb eines Zeitraumes von 20 bis 105 ms nach dem Startle-Stimulus als Startle-Amplitude definiert (siehe Abb. 13).

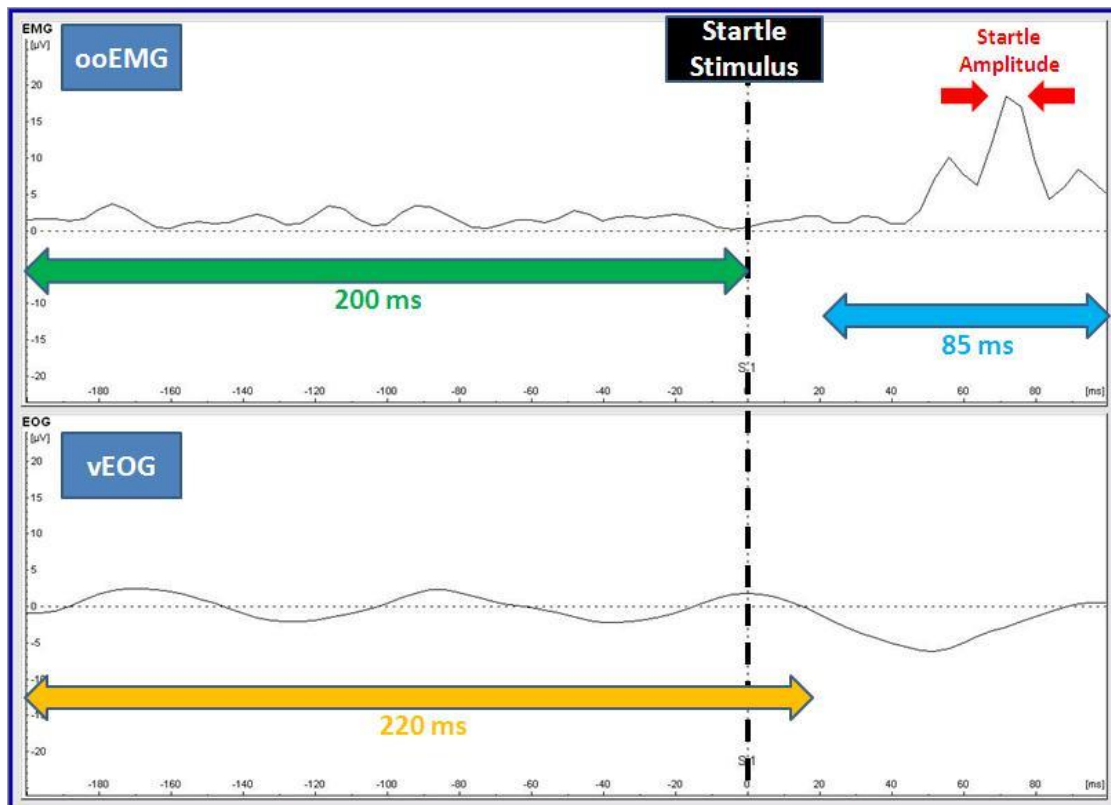


Abb. 13: Auswertung der EMG-Daten

Nach Berechnung der Grundaktivität (dünne horizontal gezogene, gestrichelte schwarze Linie) im ooEMG über einen Zeitraum von 200 ms vor dem Startle-Stimulus (grüner Pfeil) wurde die EMG-Kurve gleichgerichtet. Der höchste Ausschlag im ooEMG 20 bis 105 ms nach dem Startle-Stimulus (blauer Pfeil) wurde als Startle Amplitude in Microvolt (μV) abgelesen (rote Pfeile). War im Zeitraum von 200 ms vor bis 20 ms nach dem Startle-Stimulus (gelber Pfeil) eine starke Bulbusbewegung (Blinzeln) im vEOG zu sehen, wurde keine Amplitude gewertet (dies ist hier im Beispiel nicht der Fall).

Pro Messung wurden von allen gewerteten Amplituden drei Mittelwerte ermittelt – je einer für die Startle-alone-Amplitude, die PPI120- und die PPI480-Amplitude. Die Prepulse-Inhibition (PPI) wurde dann nach folgender Formel als Prozentwert (prozentualer Rückgang der Startle-alone-Amplitude) berechnet:

$$\text{PPI} [\%] = \left(1 - \frac{\text{Mittelwert PPI120 bzw. PPI480 - Amplitude}}{\text{Mittelwert Startle-alone - Amplitude}} \right) \times 100$$

4.2.6 Entblindung

Nach abgeschlossenen Messungen an zehn gesunden Kindern und neun Patienten erfolgte die Entblindung und die fMRT-Daten wurden ausgewertet.

4.2.7 Verarbeitung der fMRT-Daten und Modellerstellung

Die fMRT-Daten wurden zunächst mithilfe der Software MRICro (<http://www.sph.sc.edu/comd/rorden/mricro.html>) konvertiert und dann mit der Software SPM5 (Statistical Parametric Mapping, Wellcome Department of Cognitive Neurology, University College London, UK) weiterverarbeitet und ausgewertet. Dabei erfolgte zunächst eine Bewegungskorrektur jedes einzelnen Bildes einer Messserie. Bei diesem als Realignment bezeichneten Verfahren wurde das jeweils erste Bild einer Messserie als Referenzbild definiert. Eventuell auftretende Verschiebungen durch Kopfbewegungen des Kindes in den drei Raumrichtungen oder Rotationen um die drei Raumachsen während der folgenden Messungen wurden so deckungsgleich auf das erste Bild korrigiert. In einem weiteren Schritt wurden die Daten normalisiert. Dies sorgte dafür, dass trotz unterschiedlicher Kopfgrößen und -formen die Ergebnisse interindividuell vergleichbar wurden. Dazu wurden die Daten jedes Kindes auf ein Standardgehirn umgerechnet. Die gefundenen Aktivierungen konnten so später vergleichbar und als Gruppenanalyse auf anatomische Standardbilder projiziert werden. Als dritter Schritt wurden die Daten mittels eines 3D-Gauss-Filters von 6 mm geglättet. Dieses „Smoothing“ war für die Weiterverarbeitung der Daten notwendig.

Es folgte eine multiple Regressionsanalyse der vorverarbeiteten Daten. Dazu wurde ein Modell mit insgesamt zehn Regressoren erstellt. Jeweils ein Regressor wurde als das zeitliche Auftreten der Startle-alone-, PPI120- und PPI480-Stimuli und der Bärchen definiert. Als weitere Regressoren wurden die während des Realignment errechneten Bewegungsparameter der drei Raumrichtungen und -achsen (insgesamt 6 Parameter) ins Modell mit eingerechnet. Dann wurden Gruppenanalysen (one sample t-tests) für die gesunden Kinder und die Enuretiker unter dDAVP und Placebo durchgeführt. In einem zweiten Modell wurden zu den oben genannten Regressoren auch die Größen der einzelnen Startle-Amplituden der ooEMGs für die Regressoren Startle-alone, PPI120 und PPI480 als Parameter mit berücksichtigt (parametrische Modulation). Die Ergebnisse der Einzelanalysen

wurden daraufhin in Random-Effect-Gruppenanalysen (two sample t-tests, $p < 0.001$ unkorrigiert für alle Ergebnisse) zusammengefasst, um Enuretiker und Gesunde zu vergleichen. Alle Endergebnisse wurden auf anatomische Bilder eines Standardgehirns projiziert.

4.2.8 Genehmigung durch die Ethik-Kommission

Der Antrag auf Durchführung dieser Studie wurde von der unabhängigen Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Universität Kiel genehmigt (siehe *Anhang*).

5 Ergebnisse

Die Messungen der Patienten- und Kontrollgruppe fanden in den Jahren 2008 und 2009 im Neurozentrum des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, UK-SH, Campus Kiel, statt.

5.1 Patientengruppe

Den Ein- und Ausschlusskriterien genügten in der Patientengruppe 2 Mädchen und 7 Jungen im Alter von 7,9 bis 13,3 Jahren. Der Median des Alters lag zum Zeitpunkt der Messung bei 12,4 Jahren. Bei allen Kindern handelte es sich um Patienten aus der Enuresis-Sprechstunde der Kinderklinik des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, UK-SH, Campus Kiel.

5.1.1 Therapieansprechen

Unter Placebothherapie traten mehr nasse Nächte auf als unter dDAVP-Therapie. Von 7 Nächten unter Placebo wurde null bis maximal sechs mal eingenässt, der Median der Anzahl der nassen Nächte lag bei eins. Unter dDAVP gab es je nach Kind null bis vier nasse Nächte, der Median lag hier bei null (siehe *Abb. 14*). Signifikante Unterschiede zwischen dDAVP und Placebo gab es nicht.

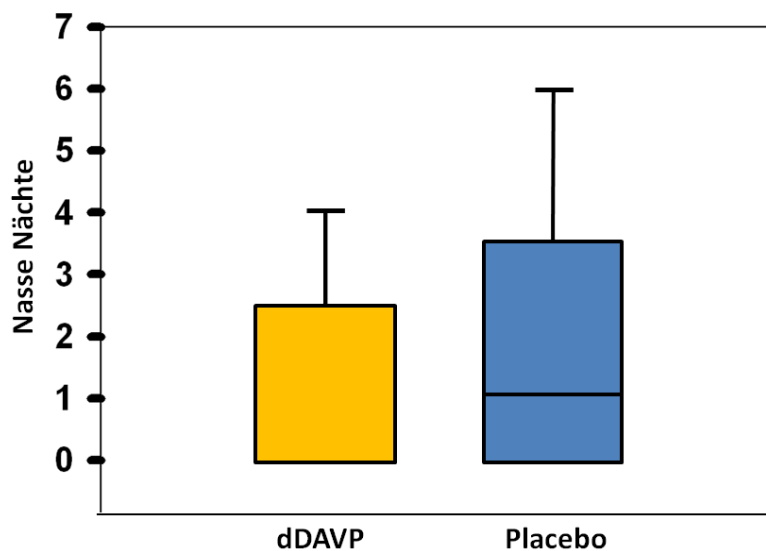


Abb. 14: Nasse Nächte in der Woche vor der Messung

Verteilung der Nächte während der sieben Tage vor der Messung, in denen eingenässt wurde in Abhängigkeit von der dDAVP- bzw. Placebo-Therapie. Obwohl eine Tendenz zu mehr nassen Nächten unter Placebo zu sehen ist, gab es keinen signifikanten Unterschied (Wilcoxon-Test).

Bei einigen Kindern fiel die Startle-Reaktion deutlich schwächer aus oder fehlte teilweise ganz (siehe *Abb. 16*).

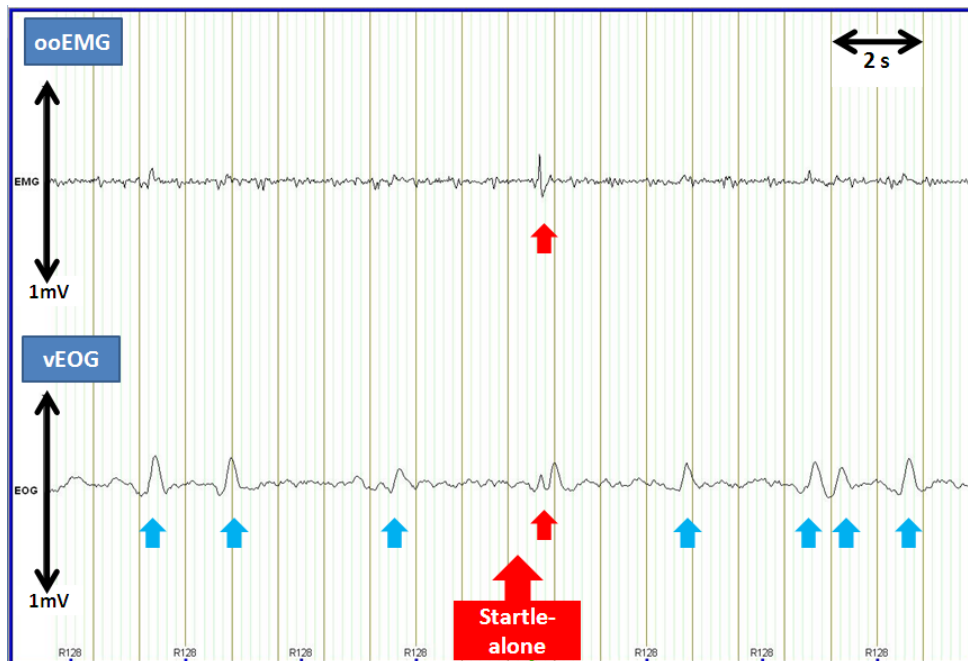


Abb. 16: ooEMG/vEOG-Ausschnitt mit schwacher Startle-Reaktion

Der hier dargestellte Ausschnitt zeigt eine schwach ausgeprägte Startle-Reaktion (rote Pfeile) bei einem anderen Kind als in *Abb. 15*. Es ist zu sehen, dass spontanes Blinzeln und Bulbusbewegungen besser im vEOG zur Geltung kommen als im ooEMG (blaue Pfeile).

Pro Messung mussten bis zu sieben Startle-Reaktionen aufgrund zufälligen spontanen Blinzeln unmittelbar vor dem Stimulus verworfen werden.

5.4 Prepulse-Inhibition im MRT

Weder in der Patientengruppe noch in der Kontrollgruppe konnte während der Messung im MRT eine signifikante Prepulse-Inhibition nachgewiesen werden. Von den zehn gesunden Kindern der Kontrollgruppe trat nach PPI120-Stimulation bei zweien eine leichte Prepulse-Inhibition auf, acht Messungen zeigten keine Inhibition. Ähnlich bei den Enuretikern unter dDAVP bzw. Placebo, hier wurde in jeweils neun Messungen drei- bzw. viermal eine Inhibition nachgewiesen (siehe dazu *Abb. 17*).

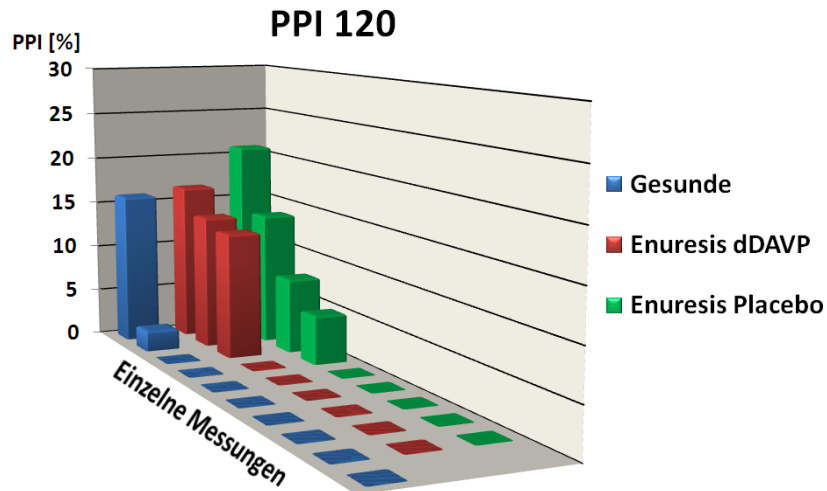


Abb. 17: Prepulse-Inhibitionen im MRT für die PPI120-Startle-Bedingung

Jeder Balken steht für eine Messung bei einem Kind (insgesamt 28 Messungen bei 10 gesunden Kindern (blau) und 9 Kindern mit Enuresis unter dDAVP (rot) und Placebo-Therapie (grün)). Dargestellt sind die Inhibitionen unter PPI120-Startle-Stimuli in Prozent. Es fällt auf, dass in den meisten Messungen gar keine Inhibition stattfand. Die wenigen vorliegenden Inhibitionen fallen auch schwächer aus, als es altersentsprechend zu erwarten wäre.

Unter PPI480-Stimulation zeigte sich ein ähnliches Bild mit jeweils vier Messungen mit Inhibition in der Kontroll-, dDAVP- und Placebogruppe (siehe *Abb. 18*). Die Unterschiede zwischen den Gruppen und die Unterschiede zwischen der PPI120- und der PPI480-Bedingung sind dabei nicht signifikant.

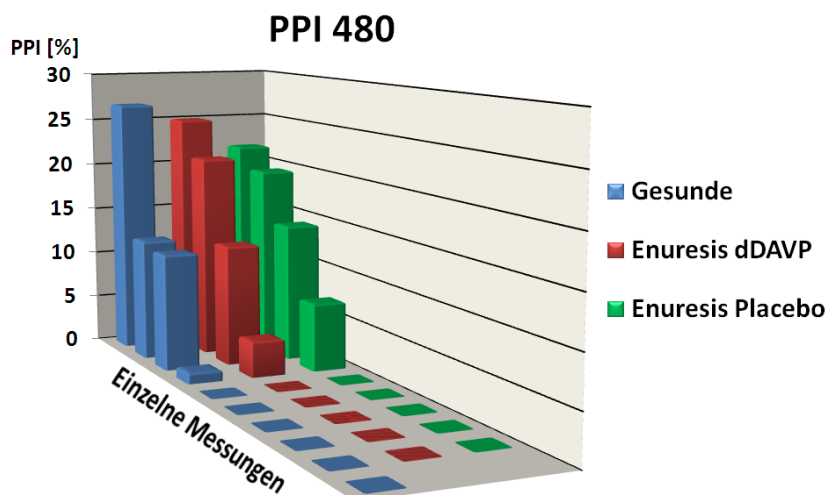


Abb. 18: Prepulse-Inhibitionen im MRT für die PPI480-Bedingung

Jeder Balken steht für eine Messung bei einem Kind (insgesamt 28 Messungen bei 10 gesunden Kindern (blau) und 9 Kindern mit Enuresis unter dDAVP (rot) und Placebo-Therapie (grün)). Dargestellt sind die Inhibitionen unter PPI480-Startle-Stimuli in Prozent. Hier trat bei jeweils vier Messungen pro Gruppe eine Inhibition auf.

5.5 Prepulse-Inhibition außerhalb des MRT

Nachträglich durchgeführte Startle-Inhibitions-Messungen außerhalb des MRT bei den gesunden Kindern der Kontrollgruppe ergaben deutliche, in ihrer Ausprägung altersentsprechende Prepulse-Inhibitionen. Diese Inhibitionen traten im MRT nicht auf (siehe oben).

5.6 Hirnaktivierungen

In der Gruppenanalyse zeigten sich bei den gesunden Kindern der Kontrollgruppe für die Startle-alone-Bedingung signifikante BOLD-Signale im rechten, mittleren und linken dorsalen präfrontalen Cortex, beidseits in der Inselregion, im Cerebellum und im rechten und linken Gyrus temporalis superior (siehe *Abb. 19*).

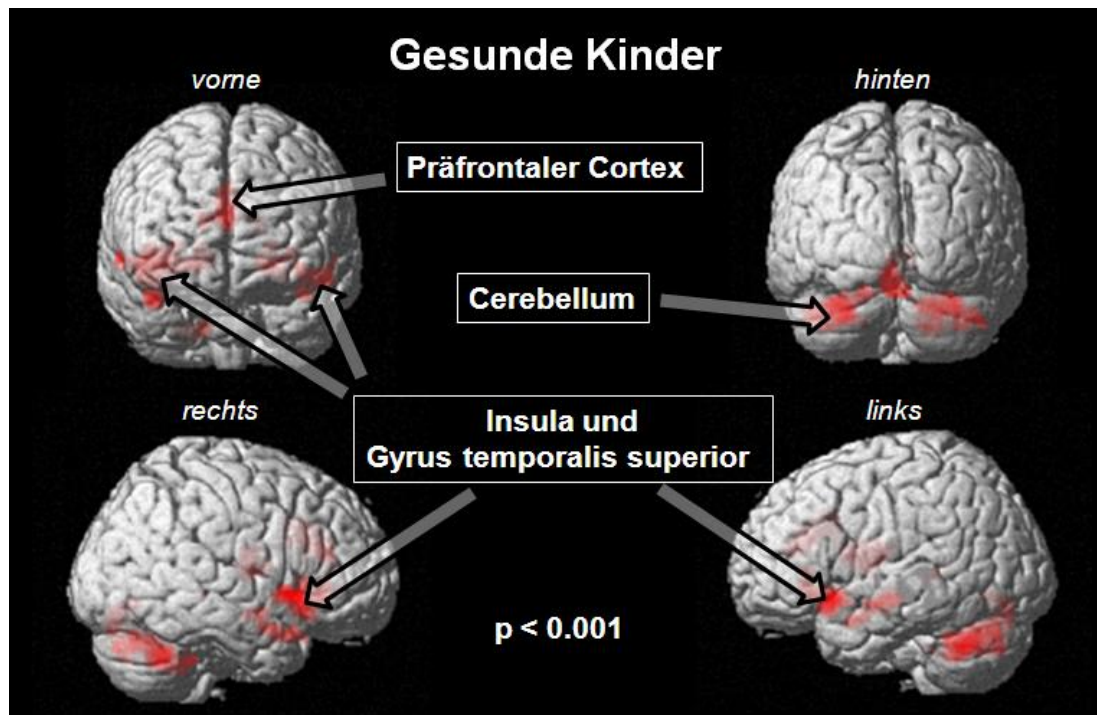


Abb. 19: Hirnaktivierungen bei Gesunden während Präsentation der Startle-alone-Stimuli

Dargestellt sind die Aktivierungen der gesunden Kinder für die Startle-alone-Bedingung in der Gruppenanalyse (Projektion auf das Bild eines Standardgehirns, unkorrigiert). Neben dem präfrontalen Cortex zeigten auch verschiedene Bereiche des Cerebellums, die Inselregion und der Gyrus temporalis superior Aktivität.

Auch die Enuretiker zeigten unter Placebo- und dDAVP-Therapie Aktivierungen in diesen vier Strukturen. Die Hirnaktivierungen der Kinder mit Enuresis unter Placebo-Therapie (in *Abb. 20* dargestellt) unterschieden sich nicht von denen unter dDAVP-Therapie.

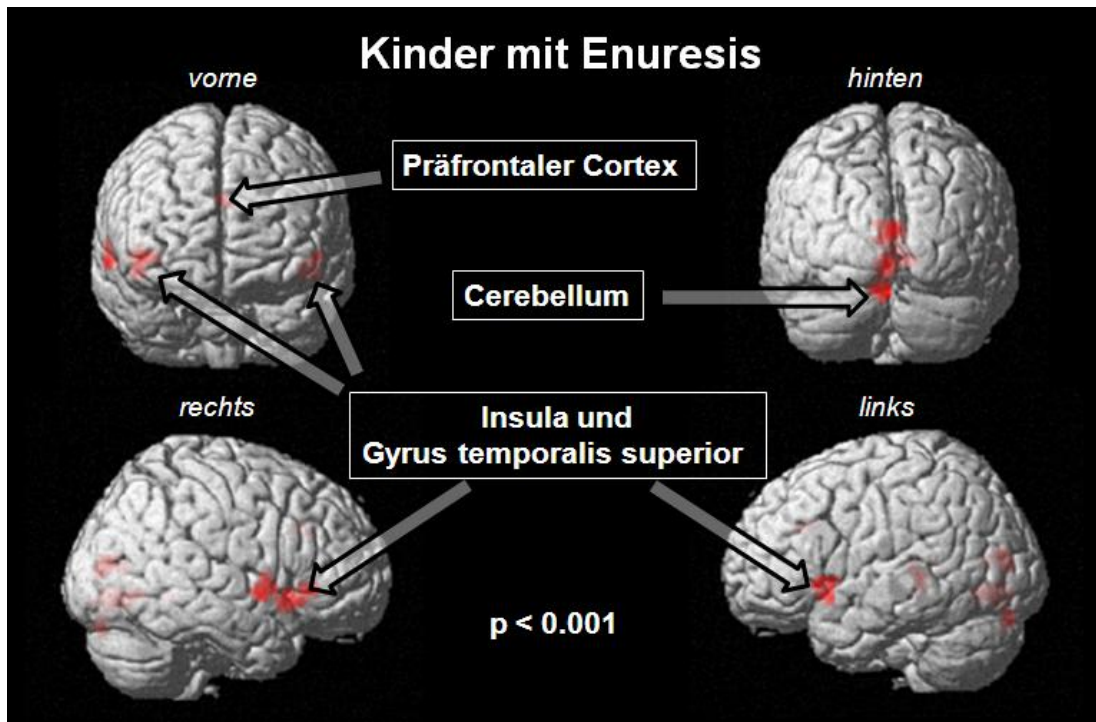


Abb. 20: Hirnaktivierungen bei Enuretikern (Placebo) unter Präsentation von Startle-alone-Stimuli

Dargestellt sind die Aktivierungen der Kinder mit Enuresis unter Placebo für die Startle-alone-Bedingung in der Gruppenanalyse (Projektion auf das Bild eines Standardgehirns, unkorrigiert). Auch hier waren wie bei den Gesunden der präfrontale Cortex, das Cerebellum, die Insel und der Gyrus temporalis superior aktiv. Die Aktivierungen unter dDAVP unterschieden sich nicht von den in dieser Abbildung dargestellten Aktivierungen unter Placebo.

Die in *Abb. 19* und in *Abb. 20* dargestellten BOLD-Signale der Gesunden und Enuretiker unterscheiden sich nicht signifikant voneinander.

Unter Präsentation von PPI120- bzw. PPI480 - Stimuli traten in beiden Gruppen keine zusätzlichen BOLD-Signale auf. Der Vergleich der BOLD-Signale zwischen Startle-alone- und PPI120 - Bedingung, sowie zwischen Startle-alone- und PPI480 - Bedingung und zwischen den beiden PPI-Bedingungen ergab in beiden Gruppen keinen signifikanten Unterschied. Auch die BOLD-Signale unter dDAVP-Therapie unterschieden sich in keiner der drei Bedingungen signifikant von denen unter Placebo-Therapie.

Eine signifikante positive Korrelation von Startle-Amplitude und Wahrscheinlichkeit für Hirnaktivität zeigte sich bei den gesunden Kindern im Cerebellum, in der Pons und im medialen präfrontalen Cortex (siehe *Abb. 21*).

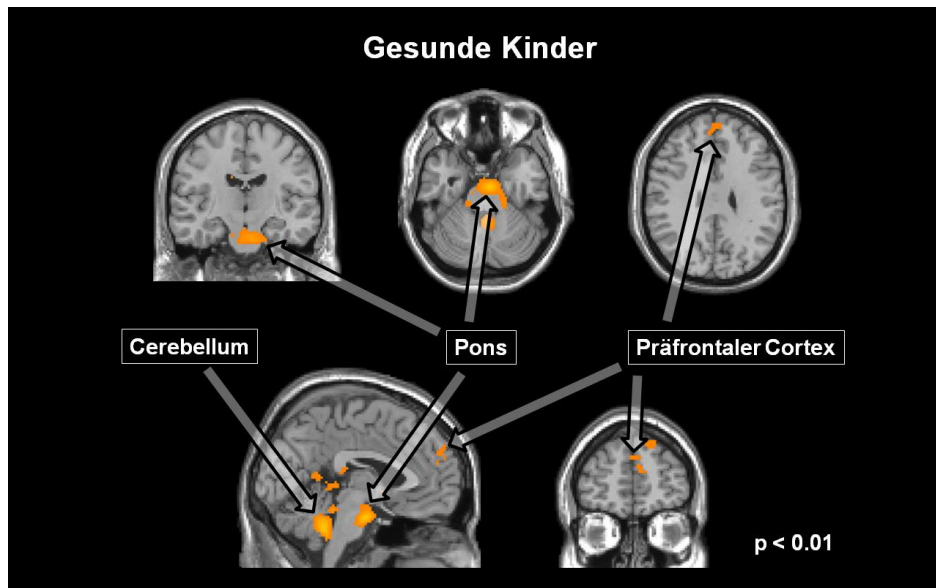


Abb. 21: Startle-Amplituden-abhängige Aktivierungen der gesunden Kinder

Dargestellt sind die Hirnregionen der gesunden Kinder (Gruppenanalyse), in denen die Wahrscheinlichkeit für Aktivität mit zunehmender Startle-Amplitude steigt (Cerebellum, Pons und medialer präfrontaler Cortex), unkorrigiert.

Bei den Enuretikern traten unter Placebo- und dDAVP - Therapie Startle-Amplituden-abhängige BOLD-Signale ebenfalls in der Pons und im Cerebellum, aber auch in der rechten und linken Inselregion auf (siehe Abb. 22).

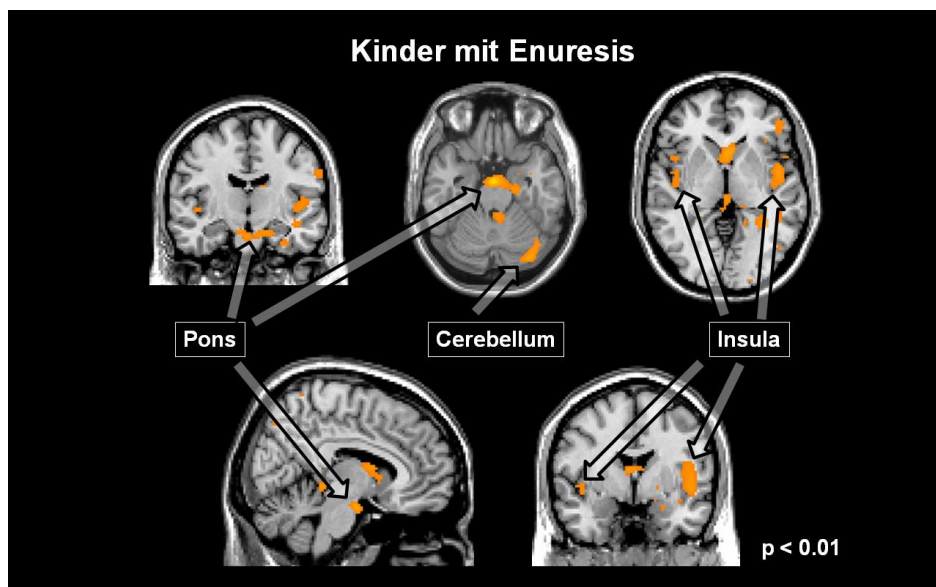


Abb. 22: Startle-Amplituden-abhängige Aktivierungen der Enuretiker (Placebo)

Dargestellt sind die Hirnregionen der Kinder mit Enuresis (Gruppenanalyse, unkorrigiert), in denen die Wahrscheinlichkeit für Aktivität mit zunehmender Startle-Amplitude steigt (Pons, Cerebellum und Inselregion bds.). Auch hier unterschieden sich die Aktivierungen unter Placebo nicht von denen unter dDAVP.

Der Vergleich der von der Startle-Amplitude abhängigen Hirnaktivität zwischen Gesunden und Enuretikern ergab einen signifikanten Unterschied in der Brodmann Area 32 im anterioren Gyrus cinguli. In dieser Region zeigten also Gesunde in Abhängigkeit von der Startle-Amplitude eine höhere Aktivität als Enuretiker (siehe *Abb. 23*).

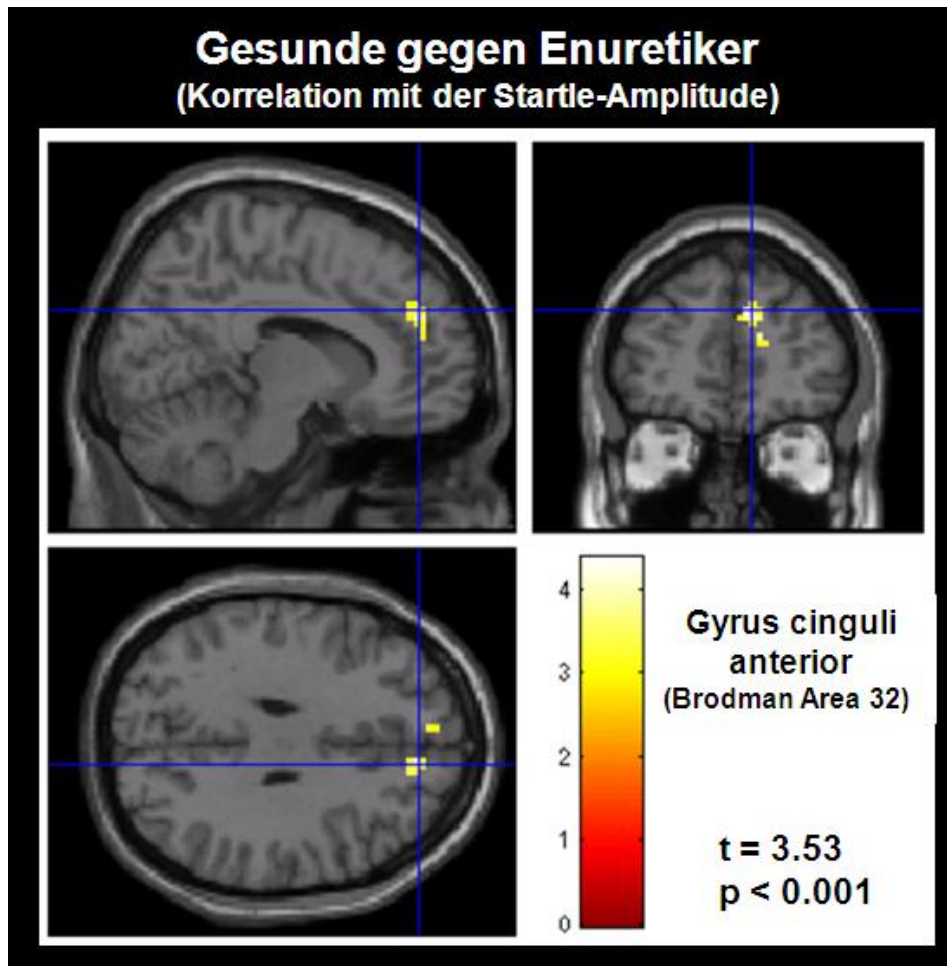


Abb. 23: Startle-Amplituden-abhängige Aktivierungen gesunder Kinder im Vergleich zu Enuretikern

Dargestellt sind die Hirnregionen (t-Wert farbkodiert) bei den gesunden Kindern, in denen im Gegensatz zu den Enuretikern die Wahrscheinlichkeit für Hirnaktivität in Abhängigkeit von der Startle-Amplitude steigt (Gruppenanalyse, unkorrigiert). Dies ist im anterioren Gyrus cinguli der Fall.

Weiterhin fiel ein signifikanter Unterschied für die PPI120-Bedingung zwischen den Gesunden und Enuretikern auf: Unter Präsentation von PPI120-Stimuli zeigten sich bei den Gesunden im Gegensatz zu den Enuretikern Startle-Amplituden-abhängige BOLD-Signale beidseits ebenfalls in der Brodmann Area 32 im anterioren Gyrus cinguli (siehe *Abb. 24*).

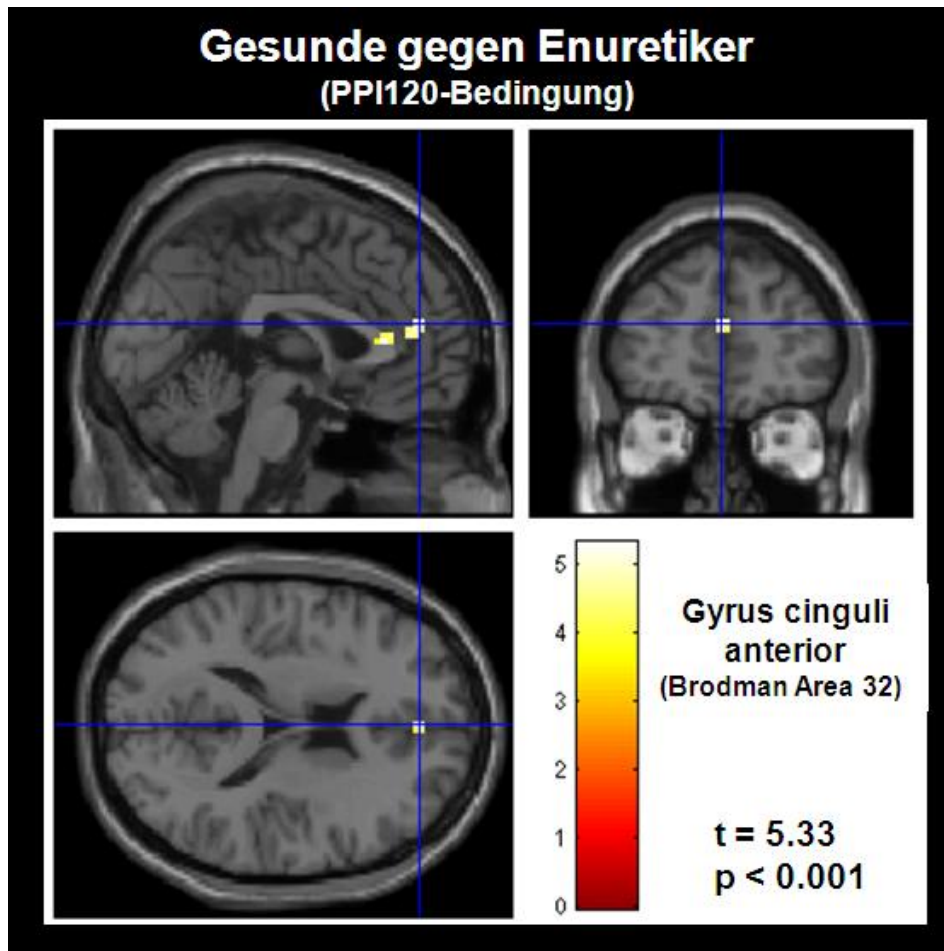


Abb. 24: PPI120-abhängige Aktivierungen gesunder Kinder im Vergleich zu Enuretikern

Dargestellt sind die Hirnregionen (t-Wert farbkodiert), in denen sich unter Präsentation von PPI120-Stimuli bei gesunden Kindern im Gegensatz zu Enuretikern Aktivität zeigt (Gruppenanalyse, unkorrigiert). Dies trifft wie in Abb. 23 auf den Gyrus cinguli anterior zu.

Für die Bedingungen Startle-alone und PPI480 wurde kein signifikanter Unterschied zwischen Gesunden und Enuretikern gefunden.

6 Diskussion

In der vorliegenden Studie wurden erstmals bei Kindern funktionelle Messungen im MRT während simultaner Präsentation akustischer Prepulse-Startle-Stimuli durchgeführt. Ziel war es, anatomische Strukturen im Zentralnervensystem von Kindern mit Enuresis zu lokalisieren, an denen der bei Enuresis eingesetzte Wirkstoff Desmopressin (dDAVP) angreift.

Die Ergebnisse zeigen, dass dies nicht gelang. Im folgenden Kapitel sollen mögliche Gründe dafür diskutiert werden.

Unabhängig von der ursprünglichen Fragestellung fanden sich jedoch signifikante Unterschiede in der Hirnaktivierung zwischen gesunden Kindern und Kindern mit Enuresis und es wurden Strukturen gefunden, die bei der Verschaltung des akustischen Startle-Reflexes und womöglich in der Pathogenese der Enuresis eine Rolle spielen. Auch diese Befunde sollen unter Berücksichtigung der zur Verfügung stehenden Fachliteratur diskutiert werden.

6.1 Methodenkritik zur PPI-Messung im MRT

In Studien von Campbell et al. und Hazlett et al. zum Startle-Reflex, die sich ebenfalls mit funktioneller Bildgebung befassen, wurde die Messung der Startle-Amplitude bzw. der Prepulse-Inhibition mittels EMG-Ableitung in einer zweiten Sitzung außerhalb des MRT durchgeführt [3, 4]. Aufgrund der Zweizeitigkeit der beiden Untersuchungen wurden jedoch mögliche Einflüsse des besonderen Umfeldes des MRT auf die Startle-Reaktion und die Prepulse-Inhibition nicht berücksichtigt. Daher sollte im Vorfeld dieser Arbeit gezeigt werden, ob es möglich ist, beide Messungen gleichzeitig vorzunehmen. Die Ergebnisse der Vorversuche zeigen, dass es bei Erwachsenen möglich ist, Startle-Reaktionen im MRT auszulösen und aufzuzeichnen. Leider wurde darauf verzichtet, die Prepulse-Inhibition zu bestimmen, da die Fragestellung der Vorversuche eher auf die generelle Durchführbarkeit der akustischen Startle-Messung im MRT abzielte. Auch bei den Kindern waren später Startle-Reaktionen auslösbar. Es gelang jedoch weder bei Enuretikern noch bei Gesunden, signifikante Prepulse-Inhibitionen nachzuweisen. Dieses Fehlen der Prepulse-Inhibition im MRT bei den Kindern ist der wesentliche Grund dafür, dass die eigentliche Fragestellung der

vorliegenden Arbeit nicht beantwortet werden konnte. Nachträglich durchgeführte Startle-Inhibitions-Messungen unter standardisierten Bedingungen außerhalb des MRT zeigten bei den Kindern der Kontrollgruppe ausgeprägte altersentsprechende Prepulse-Inhibitionen. Ein Zusammenhang der fehlenden Prepulse-Inhibition mit dem MRT ist also offensichtlich. Mögliche Gründe hierfür liegen in der Auswertung der EMGs oder dem MRT selbst.

6.1.1 Beeinflussung des Elektromyogramms

Die Auswertung der Startle-Amplituden und Prepulse-Inhibitionen basiert auf EMG-Daten, die sich potentiell von außerhalb des MRT aufgezeichneten unbearbeiteten Daten unterscheiden. So können Verfälschungen der EMGs dazu geführt haben, dass keine Prepulse-Inhibition nachgewiesen werden konnte. Untersuchungen von van Duinen et al. haben jedoch gezeigt, dass die in dieser Studie angewandte Artefaktkorrektur nach Allen et al. es möglich macht, während fMRT-Messungen aufgenommene Oberflächen-EMGs präzise abzuleiten [5, 6]. Dies gilt dabei sowohl für sehr schwache als auch starke Muskelkontraktionen. Auch die Vorversuche im Vorfeld dieser Studie zeigten nach Korrektur EMGs, die außerhalb des MRT aufgenommenen EMGs glichen. Es ist daher davon auszugehen, dass die Startle-Amplituden und Inhibitions-Berechnungen auf plausiblen Daten basieren.

6.1.2 Signal-to-noise-ratio

Eine weitere Erklärung für das Ausbleiben der Prepulse-Inhibition könnte ein Missverhältnis der Lautstärke und Frequenz zwischen den Hintergrundgeräuschen und den akustischen Stimuli sein (signal-to-noise-ratio). Unter Umständen wurde der 1000 Hz - Prepulse-Ton trotz Abschirmung der MRT-Geräusche durch Kopfhörer und Schaumstoffpolster einfach überhört, sodass die Inhibition ausblieb. Um diesem Problem entgegenzuwirken wurde vor der eigentlichen Messung nach bestmöglicher Schallisolierung des Kopfes eine kurze Testmessung durchgeführt und das Kind gefragt, ob es Prepulse- und Startle-Stimuli durch die Kopfhörer gehört hat. Dies war immer der Fall.

6.1.3 Untersuchungssituation im MRT

Die wahrscheinlichere Ursache für das Ausbleiben der Prepulse-Inhibition liegt in der besonderen Untersuchungssituation im MRT. Durch das ungewohnte Umfeld, die lauten

Hämmergeräusche, die Enge der Röhre und den in der Kopfspule fixierten Kopf waren die Kinder möglicherweise angespannt und damit in einen Zustand erhöhter Alarmbereitschaft versetzt, sodass die Prepulse-Inhibition während der Messung nicht auslösbar war. Kaviani et al. haben gezeigt, dass die Startle-Reaktion von Probanden während des Ansehens eines angstausslösenden Filmclips gegenüber einer emotional neutralen Situation verstärkt ist [7]. Die Prepulse-Inhibition könnte hier also durch eine verstärkte Startle-Reaktion einfach untergegangen sein. Es ist auch denkbar, dass bei den Kindern durch einen Zustand angespannter Alarmbereitschaft eine Art „Dauerinhibition“ stattfand, sodass die zur Berechnung der Inhibition benutzte Startle-alone-Amplitude in Wirklichkeit selbst schon eine „inhibierte“ Startle-Amplitude war und sich so kein relativer Unterschied zur PPI120-Amplitude zeigte.

Um die Einflüsse der womöglich angstausslösenden Situation auf die Startle-Reaktion und die Prepulse-Inhibition möglichst gering zu halten, wurde den Kindern vorher eine Simulation der im MRT zu hörenden Geräusche und des später im MRT zu spielenden Bärchen-Spiels gezeigt. Das Bärchen-Spiel, bei dem bei Erscheinen eines kleinen gelben Comic-Bärchens (*Abb. 8*) anstelle eines Kreises ein Knopf gedrückt werden sollte, diente dabei der Ablenkung von der Umgebung. Zusätzlich wurde durch das Spiel dafür gesorgt, dass die Kinder während der Messung ein weitgehend konstantes Aufmerksamkeits-Niveau hielten und nicht primär auf die Startle-Stimuli achteten. Bei Startle-Messungen außerhalb des MRT wird häufig ein lautloser Film gezeigt, der die Kinder von den akustischen Stimuli ablenkt. In dieser Studie wurde bewusst kein Film verwendet, um den „visuellen und emotionalen Input“ möglichst gering zu halten und so visuell und emotional bedingte Hirnaktivierungen zu minimieren.

Vor der Messung konnte sich jedes Kind in Ruhe den Tomographen ansehen, sich mit dem Untersuchungsraum vertraut machen und Fragen stellen. Auf Wunsch des Kindes konnte ein Elternteil während der Messung am Fußende sitzenbleiben, dies wurde aber nur von einem Kind gewünscht. Letztendlich musste keine Messung aus Angstgründen abgebrochen werden und die Kinder der Patientengruppe kamen gerne zur zweiten Messung.

Es ist davon auszugehen, dass auch eine größere Anzahl an Probanden nicht zum Nachweis einer Prepulse-Inhibition im MRT geführt hätte (ursprünglich waren Messungen an 30 Enuretikern bzw. Gesunden geplant). Als sich nach Messungen an zehn Gesunden und neun Patienten jedoch abzeichnete, dass das Auslösen der Inhibition offenbar nicht gelang, wurde

von einer weiteren Rekrutierung, nicht zuletzt aufgrund des großen Aufwandes und der angesichts der fehlenden Ergebnisse verbundenen ethischen Bedenken, abgesehen.

6.1.4 Konsequenzen für diese und andere Studien

Ohne den Nachweis einer Prepulse-Inhibition konnten die von Schulz-Jürgensen et al. beschriebenen verstärkenden Effekte des dDAVP auf die Prepulse-Inhibition im MRT nicht reproduziert werden [1]. Da die an dieser Studie teilnehmenden Kinder in Krankheitsbild, Alter und Therapieansprechen aus derselben Kohorte wie die der oben genannten Studie stammen, ist davon auszugehen, dass eine Bestimmung der Prepulse-Inhibition außerhalb des MRT ähnliche Ergebnisse ergeben hätte. Trotzdem macht ein Vergleich der Hirnaktivität unter Placebo mit der unter dDAVP keinen Sinn, wenn im MRT keine Inhibition nachgewiesen werden konnte.

Neuner et al. konnten bei erwachsenen Männern im MRT zwar Prepulse-Inhibitionen mit taktilen Stimuli (air puffs) auslösen, diese waren mit im Mittel 37% Inhibition jedoch geringer als es für erwachsene Probanden außerhalb des MRT üblich ist [8]. Auch hier scheint die Untersuchungssituation im MRT also einen Einfluss gehabt zu haben.

Da nicht sicher davon ausgegangen werden kann, dass unter MRT-Bedingungen und während der funktionellen Datenerhebung im Gehirn wirklich dieselben Reaktionen ablaufen wie unter normalen Bedingungen außerhalb des MRT, sind die Ergebnisse von fMRT-Studien zur Prepulse-Inhibition des Startle-Reflexes generell in Frage zu stellen. Dies gilt nicht nur für akustische Prepulse-Startle-Stimuli, sondern auch für taktile Stimuli, wie sie von Kumari et al. und Neuner et al. eingesetzt wurden [8, 9].

6.2 Methodenkritik zur funktionellen MRT-Bildgebung

Abgesehen von den Schwierigkeiten der Kombination von Startle-Messung und MRT birgt die funktionelle MR-Bildgebung selbst einige Tücken, die möglicherweise die vorliegenden Ergebnisse beeinflusst haben:

6.2.1 Bewegungsartefakte

Ein Nachteil der Magnetresonanztomographie besteht in der verhältnismäßig langen Messdauer kombiniert mit einer hohen Anfälligkeit gegenüber Kopfbewegungen während

der Messung. Auch wenn alle an dieser Studie teilnehmenden Kinder die Messung gut tolerierten, sind Bewegungseinflüsse auf die gefundenen Ergebnisse möglich. Da es sich bei den Startle-Reaktionen um (wenn auch sehr schwache) Schreckreaktionen handelte, war nicht auszuschließen, dass neben dem Blinzeln auch ein Zucken des Kopfes als Reaktion auf die Startle-Stimuli stattfand. Dies könnte eine genaue Messung des BOLD-Signals ungünstig beeinflusst haben. Deswegen wurde der Kopf bestmöglich durch Polster in der Kopfspule fixiert. Jedes Kind wurde aufgefordert, sich möglichst bequem und ruhig hinzulegen. Die Lautstärke der Startle-Stimuli wurde individuell so angepasst, dass zwar eine Startle-Reaktion ausgelöst wurde, das Kind die Lautstärke aber nicht als zu laut empfand. Dennoch auftretende Kopfbewegungen wurden bei der Auswertung der fMRT-Daten im Rahmen der Bewegungskorrektur (Realignment) für alle drei Raum- und Rotationsrichtungen korrigiert und bei der Auswertung als Regressoren im Modell mit berücksichtigt.

6.2.2 Projektion auf ein Standardgehirn

Die im Kapitel *Ergebnisse* gezeigten Abbildungen stellen die Hirnaktivierungen nach Gruppenanalyse, projiziert auf ein Standardgehirn, dar. Dieses Standardgehirn wurde im Montreal Neurological Institute aus mehreren hundert Datensätzen erwachsener Probanden entwickelt und entspricht damit *nicht* dem Standardgehirn von Kindern. Mangels entsprechender Daten wurde diese Tatsache bewusst hingenommen und es wurde davon ausgegangen, dass die Anatomie der an dieser Studie teilnehmenden Kinder weitgehend der von Erwachsenen entspricht.

6.2.3 Problem des multiplen Testens

Bei einem in klinischen Studien üblichen Signifikanzniveau von $p < 0.05$ läge in durchschnittlichen fMRT-Studien die Wahrscheinlichkeit für signifikante Befunde bei nahezu einhundert Prozent. Dies kommt durch das multiple Testen der bei einem fMRT-Experiment rund 130.000 untersuchten Voxel zustande. Bennett et al. konnten selbst bei einem Signifikanzniveau von $p < 0.001$ vermeintliche Hirnaktivierungen bei einem toten Fisch registrieren, als dieser aufgefordert wurde eine mentale Aufgabe zu leisten [10]. In der vorliegenden Studie wurde der Datensatz, neben einem Signifikanzniveau von $p < 0.001$ pro Voxel, zusätzlich vor der Auswertung mit einem 6 mm Gauss-Filter geglättet, um falsch positive Einzelvoxel herauszufiltern. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen daher

Hirnstrukturen, in denen in mehreren Voxeln nebeneinander Aktivierungen registriert wurden. Weitere Korrekturmaßnahmen wie die „family wise error correction (FWE)“ wurden hier jedoch nicht angewendet.

6.2.4 Problem der nachträglichen Hypothesenbildung

Kritisch betrachtet werden muss auch die bei fMRT-Experimenten (und auch in der vorliegenden Studie) durchgeführte nachträgliche Hypothesenbildung. Meist wird das gesamte Gehirn auf Aktivität hin geprüft und erst im Nachhinein wird nach Gründen gesucht, warum in einem bestimmten Hirnareal Aktivierungen zu finden waren. Im Idealfall sollte daher vor Durchführung eines fMRT-Experiments eine Hypothese aufgestellt werden und gezielt nach Aktivierungen in einem bestimmten Areal gesucht werden.

Trotz Kenntnis der oben aufgeführten methodischen Probleme erscheinen die vorliegenden Ergebnisse dieser Untersuchung jedoch plausibel. Im Folgenden soll dies begründet und diskutiert werden.

6.3. Gemeinsamkeiten von Gesunden und Enuretikern

Nach Auswertung der Daten können u.a. folgende Aussagen getroffen werden:

- Enuretiker und Gesunde zeigen unter Prepulse-Startle-Stimuli Aktivierungen im akustischen und medialen präfrontalen Cortex, im Kleinhirn und in der Inselregion.
- Beide Gruppen zeigen mit steigender Startle-Amplitude erhöhte Aktivität in der Pons und im Kleinhirn.

6.3.1 Gyrus temporalis superior

Sowohl die Kinder mit Enuresis als auch die gesunden Kinder zeigten während der Präsentation der akustischen Startle-alone-, PPI120- und PPI480-Stimuli Aktivierungen im rechten und linken Gyrus temporalis superior. Dies deckt sich mit den Ergebnissen ähnlicher Untersuchungen von Campbell et al., die gesunde Erwachsene unter Präsentation akustischer Stimuli im fMRT untersuchten [3]. Für die drei oben genannten Bedingungen fanden sich dort auch Aktivierungen in beiden Gyri temporales superiores. Die anatomische Nähe zum Hörcortex lässt annehmen, dass die Startle-Stimuli akustisch wahrgenommen wurden und nicht im Hintergrundlärm untergingen. Dies wurde nach den Messungen auch mündlich von den Kindern bestätigt. Die bei den Kindern dieser Studie eher im anterioren

Bereich der Temporalregion gefundene Aktivität lässt neben der reinen Hörfunktion (eher in der posterioren Temporalregion gelegen) auch eine zusätzliche Funktion vermuten. Es ist durchaus möglich, dass der Gyrus temporalis superior außer der sensorischen Wahrnehmung der akustischen Signale eine weitere, die Startle-Reaktion und Prepulse-Inhibition betreffende Aufgabe hat. So beschrieben z.B. Kumari et al. einen Zusammenhang der Menge an grauer Substanz im Gyrus temporalis superior und der Ausprägung der Prepulse-Inhibition bei gesunden Erwachsenen [11]. Probanden mit weniger grauer Substanz in dieser Region zeigten eine geringere Inhibition als diejenigen mit mehr grauer Substanz.

6.3.2 Insula

Enuretiker und Gesunde zeigten unter Prepulse-Startle-Stimuli signifikante Aktivierungen beidseits in der Inselrinde. Bei den Enuretikern war dies auch in Abhängigkeit von der Startle-Amplitude der Fall. Auch diese Region wird in der Literatur mit der Verschaltung des Startle-Reflexes in Verbindung gebracht. Campbell et al. fanden bei Erwachsenen unter ähnlichen Bedingungen eine erhöhte Aktivität unilateral links in der Inselrinde [3]. Neuner et al. lösten im fMRT Startle-Reaktionen durch Luftstöße (air puffs) aus und zeigten dabei Aktivierungen in der rechten Inselregion [8]. Neben der Beteiligung an der Verarbeitung akustischer Reize hat die Inselrinde auch viscerosensorische und -motorische Funktionen, wie u.a. die zentrale Kontrolle der Blasenfunktion [12]. Damit stellt die Inselrinde einen supraspinalen Schnittpunkt von Startleverarbeitung und Miktionskontrolle dar.

6.3.3 Cerebellum

Die bei Enuretikern und Gesunden gefundene Aktivität im Cerebellum während der Präsentation der Prepulse-Startle-Stimuli reflektiert möglicherweise die von Frings et al. beschriebene Beteiligung des Kleinhirns an der Habituation des Startle-Reflexes [13]. Schon nach Präsentation weniger Stimuli tritt eine Habituation mit Verkleinerung der Startle-Amplitude (also eine geringere Schreckreaktion) auf, die sich in Veränderungen der cerebellären Durchblutung (und damit der Aktivität) widerspiegelt. In bestimmten Regionen des Kleinhirns nimmt der Blutfluss während dieser Startle-Habituation zu und in anderen nimmt er ab. Es ist anzunehmen, dass die Kinder während der gut viertelstündigen Messung ebenfalls habituierten und es dadurch zu den gefundenen Aktivierungen kam.

6.3.4 Medialer präfrontaler Cortex

Die vierte Hirnregion, die sowohl bei Enuretikern als auch bei Gesunden unter Darbietung der akustischen Stimuli erhöhte Aktivität zeigte ist der mediale präfrontale Cortex. Für diese Region zeigten Kumari et al. bei Patienten mit Schizophrenie eine positive Korrelation von der Menge an grauer Substanz und der Stärke der Prepulse-Inhibition des Startle-Reflexes [14]. Da Patienten mit Schizophrenie wie Enuretiker eine gegenüber Gesunden verminderte Prepulse-Inhibition haben und die Rate an kindlicher Enuresis bei erwachsenen Schizophrenie-Patienten mit über 20% sehr hoch ist, liegt ein Zusammenhang der beiden Krankheitsbilder nahe [15]. Das gemeinsame Defizit in der zentralen Reflexkontrolle der beiden Patientengruppen deutet auf eine Reifungsstörung hin, die zumindest anteilig im medialen präfrontalen Cortex lokalisiert ist.

6.3.5 Die Rolle der Ponsregion

Auffällig ist die in beiden Gruppen gefundene Startle-Amplituden-abhängige erhöhte Aktivität in der Ponsregion. Hier war also die Aktivität umso höher, je stärker die Startle-Reaktion war. Besonders craniale, mediale und ventrale Anteile der Pons zeigten diese Aktivität. Diese Ergebnisse unterstreichen die bereits beschriebene Rolle des Hirnstamms, insbesondere der Ponsregion, in der Verschaltung des akustischen Startle-Reflexes und der Prepulse-Inhibition. So zeigten Pissiotta et al. einen unter Startle-Stimuli erhöhten regionalen Blutfluss ebenfalls in der ventralen und medialen Pons [16]. Ein pontines Kerngebiet, das für den Signalweg des akustischen Startle-Reflexes wichtig ist, wurde von Lee et al. beschrieben. Es handelt sich dabei um den Nucleus reticularis pontis caudalis, in dem vom Hörnerv kommende Neurone (cochlear root neurons) auf spinale und faziale Motoneurone umgeschaltet werden [17]. In direkter Nachbarschaft zu diesem Kern liegt das pontine Miktionszentrum, das über Motoneurone die Blasen- und Sphinkterkontraktion und -relaxation regelt. Einen möglichen Schnittpunkt zwischen der Miktionskontrolle in diesem Zentrum und der Startle-Verschaltung stellt der pedunculopontine tegmentale Nucleus (PPTN) dar. Ornitz et al. postulierten einen möglichen inhibitorischen Einfluss des PPTN auf das Miktionszentrum und die Startle-Verschaltung im Nucleus reticularis pontis caudalis. Ein intakter PPTN würde demnach für eine Inhibition sowohl der Miktions- als auch des Startle-Reflexes sorgen (siehe *Abb. 25 A*) [2]. Diedrich et al. und Swerdlow et al. konnten bei Ratten diese Hypothese untermauern [18, 19]. Bei Enuretikern, so Ornitz, könnte eine Dysfunktion

im PPTN für die verminderte Prepulse-Inhibition des Startle und die verminderte Inhibition der Miktion (also das Bettnässen) verantwortlich sein (siehe *Abb. 25 B*).

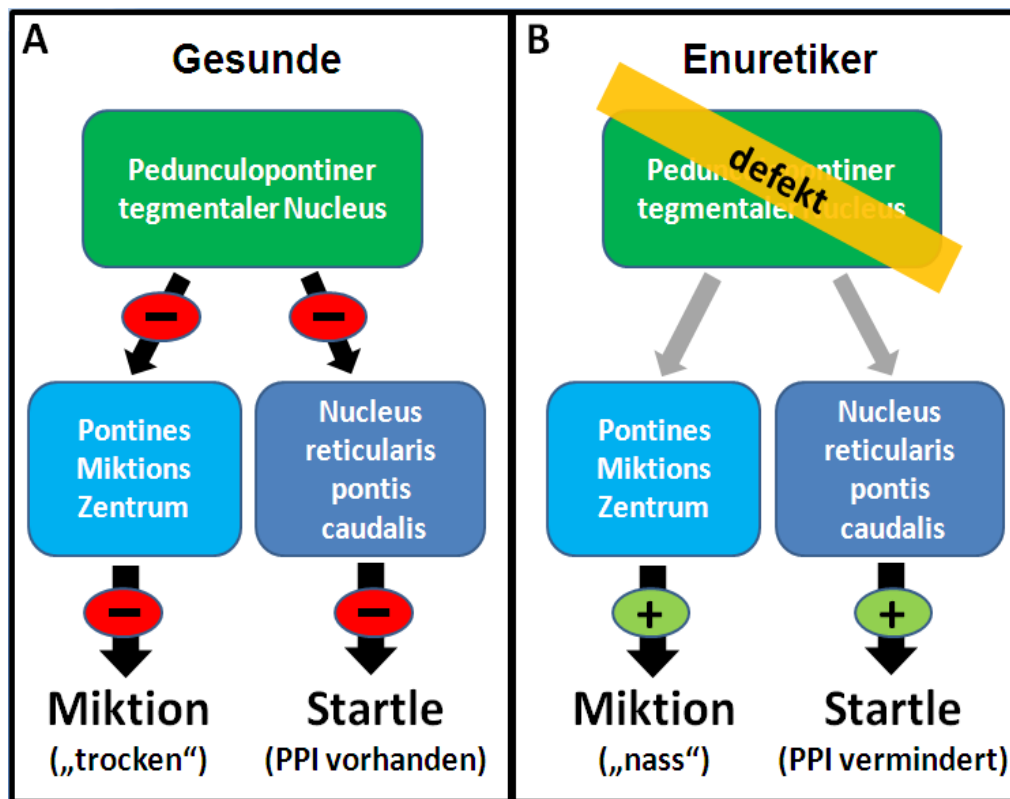


Abb. 25: Möglicher Pathomechanismus der Enuresis auf Hirnstammebene

Bei Gesunden wirkt der pedunculopontine tegmentale Nucleus (PPTN) inhibitorisch auf das Miktionszentrum und den Nucleus reticularis pontis caudalis ein. Dadurch wird sowohl der Miktions- als auch der Startle-Reflex inhibiert (A). Bei Enuretikern könnte ein Defekt in diesem Kern für das Bettnässen und die verminderte Prepulse-Inhibition verantwortlich sein (B). Schema modifiziert nach Ornitz et al. (1999).

6.4 Unterschiede zwischen Gesunden und Enuretikern

Gesunde zeigen im Gegensatz zu Enuretikern eine sowohl von der Startle-Amplitude als auch von der PPI120-Bedingung abhängige erhöhte Aktivität im präfrontalen Cortex, insbesondere im Gyrus cinguli anterior.

6.4.1 Der Gyrus cinguli anterior und die Pathogenese der Enuresis

Neben oben genannter Hypothese zur Pathogenese der Enuresis, die von einem Defekt auf Hirnstammebene ausgeht, ist es auch denkbar, dass bei Enuretikern eine Störung in einem dem Hirnstamm übergeordneten Areal liegt. Hinweise in diese Richtung gibt die im direkten Vergleich zwischen Gesunden und Enuretikern signifikant höhere Aktivität im Gyrus cinguli

anterior (GCA) bei den gesunden Kontrollen. Auch für die PPI120-Bedingung ist in dieser Region der Unterschied zwischen Gesunden und Enuretikern signifikant. Es ist demnach anzunehmen, dass der Gyrus cinguli anterior bei Gesunden für die Reflexkontrolle des Startle und womöglich auch für die Prepulse-Inhibition von Bedeutung ist und regulierend auf die pontinen Zentren einwirkt. Yee et al. zeigten bei Läsionsstudien an Ratten eine durch Dysfunktion anteriorer Anteile des Gyrus cinguli bedingte Abschwächung der Prepulse-Inhibition [20]. Neuner et al. beschrieben ebenfalls einen modulierenden Einfluss des Gyrus cinguli anterior auf den Startle-Reflex und Pissiotta et al. zeigten eine Beteiligung dieser Hirnregion an der Modulation des Startle-Reflexes bei Probanden mit Spinnen- bzw. Schlangenphobie [8, 21].

Neben seiner Rolle für den Startle-Reflex ist auch eine Beteiligung des Gyrus cinguli anterior an der Kontrolle der Miktion beschrieben. Bei maximaler Blasenfüllung, also während willentlichen Unterdrückens der Miktion, fanden Matsuura et al. bei männlichen Probanden eine erhöhte Aktivität in derselben Region [22]. Viele weitere Studien bringen den Gyrus cinguli anterior ebenfalls mit der Kontrolle der Miktion in Verbindung. Kavia et al. und Griffiths et al. haben die zu diesem Thema vorliegenden Untersuchungen zusammengefasst [12, 23].

Ähnlich wie der pedunculo-pontine tegmentale Nucleus (PPTN) hat der Gyrus cinguli anterior (GCA) also einen Einfluss auf Miktion und Startle. Möglicherweise handelt es sich dabei um eine dem PPTN übergeordnete Struktur, die einen regulatorischen Einfluss nimmt. Bei Ratten sind Projektionen vom GCA zu ventralen und tegmentaligen Ponsregionen beschrieben [24], sodass ein direkter Einfluss des GCA auf den PPTN beim Menschen in Frage kommt. Möglicherweise ist die bei Enuretikern gefundene verminderte Aktivität im GCA Ausdruck einer verminderten kortikalen Kontrolle sowohl der Miktion als auch des Startle-Reflexes. Neben der von Ornitz et al. postulierten Hypothese einer Dysfunktion im PPTN bei Enuretikern kann daher auch eine Störung auf kortikaler Ebene, lokalisiert im anterioren Gyrus cinguli, diskutiert werden. Bei Bewusstsein (im Wachzustand) scheinen betroffene Kinder noch genügend kortikale Kontrollmechanismen zu besitzen, die ein Einnässen verhindern. Erst durch Verlust der kortikalen Kontrolle im Schlaf könnte die dadurch bedingte gestörte Inhibition des pontinen Miktionszentrums zum Einnässen führen (siehe *Abb. 26*). Ob dabei neben dem PPTN noch andere subkortikale Strukturen wie beispielsweise

das am Miktionsreflex beteiligte periaquäduktale Grau eine Rolle spielen, kann hier nicht sicher beantwortet werden.

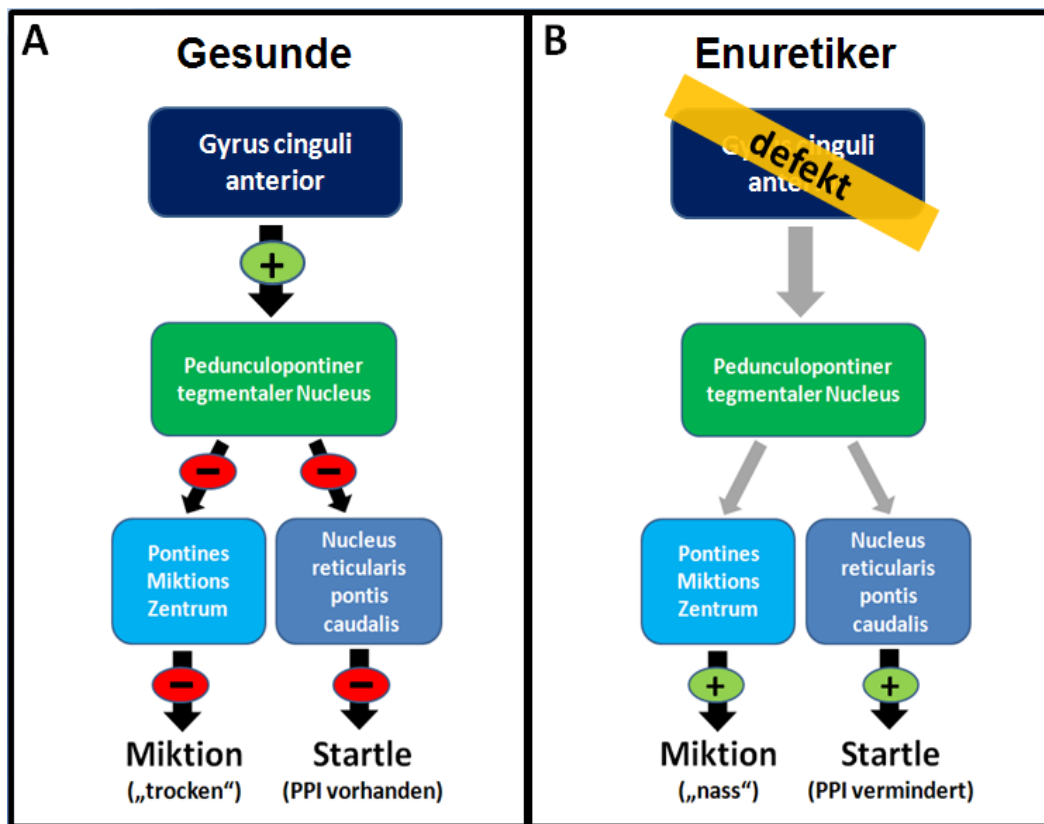


Abb. 26: Möglicher Pathomechanismus der Enuresis auf kortikaler Ebene

Dargestellt ist ein möglicher Pathomechanismus der Enuresis durch eine Störung im Gyrus cinguli anterior (GCA) bei betroffenen Kindern: Bei Gesunden wirkt der GCA auf den pedunculopontinen tegmentalen Nucleus (PPTN) ein, wodurch Miktion und Startle gehemmt werden (A). Bei fehlender Aktivität des GCA bei Enuretikern bleibt (zumindest im Schlaf) der kontrollierende kortikale Einfluss auf den Hirnstamm aus und es kommt zur Miktion und verminderter Prepulse-Inhibition des Startle-Reflexes (B).

6.4.2 Der Gyrus cinguli anterior als möglicher Wirkort des dDAVP

Untersuchungen von Robben et al. zeigten, dass die antienuretische Wirkung des Vasopressin-Analogons dDAVP unabhängig von der Nierenfunktion und dem in der Niere exprimierten Vasopressin-Rezeptor vom Typ 2 (V2-Rezeptor) ist, was auf eine extrarenale Wirkung des dDAVP in der Therapie der Enuresis hinwies [25]. Spätestens seit den Untersuchungen von Schulz-Jürgensen et al., die die Wirkung des dDAVP auf die zentrale Reflexkontrolle am Beispiel des Startle-Reflexes zeigten, ist eine zentralnervöse Wirkung des Desmopressin unumstritten [1]. Neben dem V2-Rezeptor existieren noch dDAVP-affine V1a- und V1b-Rezeptoren, die u.a. im Zentralnervensystem zu finden sind [26-28]. Egashira et al.

zeigten in Untersuchungen an Knock-out-Mäusen mit fehlendem V1a und V1b Rezeptor eine verminderte Prepulse-Inhibition des akustischen Startle-Reflexes [29]. Diese Rezeptoren kommen also als Startle-modulierender und antienuretischer zentralnervöser Angriffspunkt des dDAVP in Betracht. Auch wenn in der vorliegenden Studie bei der Gruppe der Enuretiker kein Unterschied der Hirnaktivität unter dDAVP und Placebo gefunden und so kein Wirkort des dDAVP identifiziert werden konnte, zeigen die vorliegenden Ergebnisse, dass der Gyrus cinguli anterior einen möglichen Angriffsort des Medikamentes darstellen könnte. Es sei jedoch betont, dass es sich hierbei um eine Hypothese handelt, die erst nach Vorliegen der Ergebnisse aufgestellt wurde. Zur endgültigen Klärung einer Beteiligung des Gyrus cinguli an der Pathogenese der Enuresis sind daher weiterführende Studien mit einer entsprechenden Fragestellung notwendig.

6.5 Fazit

Die vorliegende Studie zeigt auf der einen Seite methodische Probleme der Messung der Prepulse-Inhibition im fMRT auf. Andererseits wurden Unterschiede zwischen Kindern mit Enuresis und gesunden Kindern gefunden. Damit wurde erstmals eine Beteiligung des Zentralnervensystems an der Pathogenese der Enuresis nachgewiesen. Die Ergebnisse liefern Hinweise, dass eine Reifungsstörung kortikaler Strukturen wie des anterioren Gyrus cinguli für das Bettnässen verantwortlich ist. Im Schlaf, bei fehlender kortikaler Kontrolle, kann so bei betroffenen Kindern der Miktionsreflex im Hirnstamm nicht mehr unterdrückt werden und es kommt, wie damals beim eingangs erwähnten Schauspieler und Comedian Vince Vaughn, ungewollt zum Bettnässen.

7 Zusammenfassung

Bei der Behandlung der primären monosymptomatischen Enuresis nocturna (nächtliches Bettnässen über das fünfte Lebensjahr hinaus) haben die Anwendung einer Alarm-Klingelhose und die medikamentöse Behandlung mit dem Vasopressin-Analogen Desmopressin (dDAVP) eine nachgewiesene Wirkung. Bei letzterem wird zumeist angenommen, dass das dDAVP in der Niere die nächtliche Urinproduktion vermindert und so dem Bettnässen entgegenwirkt. Es mehren sich jedoch Hinweise, dass der bisher ungeklärte Pathomechanismus der Enuresis nicht in der Niere, sondern im Zentralnervensystem zu finden ist. Neuere Untersuchungen zeigen, dass das dDAVP bei Enuretikern auch eine Wirkung auf die zentralnervöse Reflexkontrolle des durch Knallgeräusche ausgelösten akustischen Startle-Reflexes hat. So steigt die durch einen kurzen Piepton (Prepulse) unmittelbar vor einem Knall ausgelöste und bei Enuretikern pathologisch verminderte Prepulse-Inhibition des Startle-Reflexes unter Gabe von dDAVP auf physiologische Werte an. Wegen dieser zentralnervösen Wirkung ist eine Beeinflussung der Kontrolle des Miktionsreflexes durch dDAVP in der Enuresis-Therapie ebenfalls denkbar. Dabei stellt sich die Frage nach einem Angriffspunkt des Medikaments im Zentralnervensystem, der sowohl an der Kontrolle des Startle-Reflexes als auch an der Kontrolle der Miktion und damit an der Pathogenese der Enuresis beteiligt ist.

In der vorliegenden prospektiven, randomisierten, doppelblinden und placebokontrollierten Studie sollte daher versucht werden, den Wirkort des dDAVP im Zentralnervensystem bei Kindern mit Enuresis zu lokalisieren. Dazu wurden funktionelle Messungen in einem Magnetresonanztomographen (fMRT) bei Enuretikern unter dDAVP- und Placebo-Therapie (Patientengruppe) und gesunden Kindern (Kontrollgruppe) unter gleichzeitiger Präsentation akustischer Prepulse-Startle-Stimuli und Ableitung eines Elektromyogramms zur Erfassung der Startle-Reaktion und Prepulse-Inhibition durchgeführt.

Die Ergebnisse zeigen, dass nach Messungen bei neun Patienten und zehn gesunden Kindern weder Patienten noch Gesunde im MRT eine messbare Prepulse-Inhibition des Startle-Reflexes aufwiesen und keine Unterschiede in der Hirnaktivierung der Enuretiker unter

dDAVP und Placebo nachgewiesen werden konnten. Daher wurde von weiteren Untersuchungen (ursprünglich geplante Fallzahl n = 30) abgesehen.

Unabhängig von der eigentlichen Fragestellung zeigten sich jedoch in beiden Gruppen unter akustischer Prepulse-Startle-Stimulation signifikante Aktivierungen u.a. im akustischen und medialen präfrontalen Cortex, im Cerebellum und in der Inselregion. Die gesunden Kinder zeigten im Gegensatz zu den Kindern mit Enuresis eine von den Startle-Amplituden und auch von den Inhibitionsstimuli abhängige signifikant höhere Aktivität im präfrontalen Cortex, insbesondere im Gyrus cinguli anterior.

Die vorliegende Studie zeigt auf der einen Seite methodische Probleme der Prepulse-Inhibitions-Messung im MRT auf. Durch die besondere Untersuchungssituation waren die Kinder wahrscheinlich emotional so beeinflusst, dass keine messbare Prepulse-Inhibition ausgelöst werden konnte. Die ursprüngliche Fragestellung konnte so nicht beantwortet werden.

Andererseits wurde mit dieser Studie erstmalig die Bedeutung des Cortex in der Pathogenese der Enuresis nachgewiesen. Dabei spielt nach den vorliegenden Ergebnissen der Gyrus cinguli anterior eine Rolle, der unter Präsentation akustischer Prepulse-Startle-Stimuli bei Gesunden im Vergleich zu Enuretikern signifikant höhere Aktivität zeigt. Möglicherweise liegt bei Enuretikern eine Reifungsstörung in dieser Hirnregion vor. Es liegt nahe anzunehmen, dass bei betroffenen Kindern, wenn im Schlaf die kortikale Kontrolle fehlt, die von der Blase ausgehenden Signale die inhibitorischen Miktions-Zentren im Hirnstamm nicht erreichen und es so ungewollt zum Bettnässen kommt.

8 Literaturverzeichnis

- [1] Schulz-Juergensen S, Rieger M, Schaefer J, Neusuess A, Eggert P. Effect of 1-desamino-8-D-arginine vasopressin on prepulse inhibition of startle supports a central etiology of primary monosymptomatic enuresis. *J Pediatr*. 2007 Dec;151(6):571-4.
- [2] Ornitz EM, Russell AT, Hanna GL, Gabikian P, Gehricke JG, Song D, et al. Prepulse inhibition of startle and the neurobiology of primary nocturnal enuresis. *Biol Psychiatry*. 1999 Jun 1;45(11):1455-66.
- [3] Campbell LE, Hughes M, Budd TW, Cooper G, Fulham WR, Karayanidis F, et al. Primary and secondary neural networks of auditory prepulse inhibition: a functional magnetic resonance imaging study of sensorimotor gating of the human acoustic startle response. *Eur J Neurosci*. 2007 Oct;26(8):2327-33.
- [4] Hazlett EA, Buchsbaum MS, Zhang J, Newmark RE, Glanton CF, Zelmanova Y, et al. Frontal-striatal-thalamic mediodorsal nucleus dysfunction in schizophrenia-spectrum patients during sensorimotor gating. *Neuroimage*. 2008 Sep 1;42(3):1164-77.
- [5] van Duinen H, Zijdwind I, Hoogduin H, Maurits N. Surface EMG measurements during fMRI at 3T: accurate EMG recordings after artifact correction. *Neuroimage*. 2005 Aug 1;27(1):240-6.
- [6] Allen PJ, Josephs O, Turner R. A method for removing imaging artifact from continuous EEG recorded during functional MRI. *Neuroimage*. 2000 Aug;12(2):230-9.
- [7] Kaviani H, Gray JA, Checkley SA, Kumari V, Wilson GD. Modulation of the acoustic startle reflex by emotionally-toned film-clips. *Int J Psychophysiol*. 1999 Apr;32(1):47-54.
- [8] Neuner I, Stocker T, Kellermann T, Ermer V, Wegener HP, Eickhoff SB, et al. Electrophysiology meets fMRI: Neural correlates of the startle reflex assessed by simultaneous EMG-fMRI data acquisition. *Hum Brain Mapp*. Mar 4.
- [9] Kumari V, Antonova E, Geyer MA. Prepulse inhibition and "psychosis-proneness" in healthy individuals: an fMRI study. *Eur Psychiatry*. 2008 Jun;23(4):274-80.
- [10] Bennett CM, Baird AA, Miller MB, Wolford GL. Neural correlates of interspecies perspective taking in the post-mortem atlantic salmon: an argument for proper multiple comparisons correction. 15th Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping. *NeuroImage*, Volume 47, Supplement 1, July 2009, pp. S39-S41.
- [11] Kumari V, Antonova E, Zachariah E, Galea A, Aasen I, Ettinger U, et al. Structural brain correlates of prepulse inhibition of the acoustic startle response in healthy humans. *Neuroimage*. 2005 Jul 15;26(4):1052-8.
- [12] Kavia RB, Dasgupta R, Fowler CJ. Functional imaging and the central control of the bladder. *J Comp Neurol*. 2005 Dec 5;493(1):27-32.

- [13] Frings M, Awad N, Jentzen W, Dimitrova A, Kolb FP, Diener HC, et al. Involvement of the human cerebellum in short-term and long-term habituation of the acoustic startle response: a serial PET study. *Clin Neurophysiol*. 2006 Jun;117(6):1290-300.
- [14] Kumari V, Fannon D, Geyer MA, Premkumar P, Antonova E, Simmons A, et al. Cortical grey matter volume and sensorimotor gating in schizophrenia. *Cortex*. 2008 Oct;44(9):1206-14.
- [15] Hyde TM, Deep-Soboslay A, Iglesias B, Callicott JH, Gold JM, Meyer-Lindenberg A, et al. Enuresis as a premorbid developmental marker of schizophrenia. *Brain*. 2008 Sep;131(Pt 9):2489-98.
- [16] Pissioti A, Frans O, Fredrikson M, Langstrom B, Flaten MA. The human startle reflex and pons activation: a regional cerebral blood flow study. *Eur J Neurosci*. 2002 Jan;15(2):395-8.
- [17] Lee Y, Lopez DE, Meloni EG, Davis M. A primary acoustic startle pathway: obligatory role of cochlear root neurons and the nucleus reticularis pontis caudalis. *J Neurosci*. 1996 Jun 1;16(11):3775-89.
- [18] Diederich K, Koch M. Role of the pedunculo-pontine tegmental nucleus in sensorimotor gating and reward-related behavior in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 2005 May;179(2):402-8.
- [19] Swerdlow NR, Geyer MA. Prepulse inhibition of acoustic startle in rats after lesions of the pedunculo-pontine tegmental nucleus. *Behav Neurosci*. 1993 Feb;107(1):104-17.
- [20] Yee BK. Cytotoxic lesion of the medial prefrontal cortex abolishes the partial reinforcement extinction effect, attenuates prepulse inhibition of the acoustic startle reflex and induces transient hyperlocomotion, while sparing spontaneous object recognition memory in the rat. *Neuroscience*. 2000;95(3):675-89.
- [21] Pissioti A, Frans O, Michelgard A, Appel L, Langstrom B, Flaten MA, et al. Amygdala and anterior cingulate cortex activation during affective startle modulation: a PET study of fear. *Eur J Neurosci*. 2003 Sep;18(5):1325-31.
- [22] Matsuura S, Kakizaki H, Mitsui T, Shiga T, Tamaki N, Koyanagi T. Human brain region response to distention or cold stimulation of the bladder: a positron emission tomography study. *J Urol*. 2002 Nov;168(5):2035-9.
- [23] Griffiths D, Tadic SD. Bladder control, urgency, and urge incontinence: evidence from functional brain imaging. *Neurourol Urodyn*. 2008;27(6):466-74.
- [24] Wyss JM, Sripanidkulchai K. The topography of the mesencephalic and pontine projections from the cingulate cortex of the rat. *Brain Res*. 1984 Feb 13;293(1):1-15.
- [25] Robben JH, Sze M, Knoers NV, Eggert P, Deen P, Muller D. Relief of nocturnal enuresis by desmopressin is kidney and vasopressin type 2 receptor independent. *J Am Soc Nephrol*. 2007 May;18(5):1534-9.

- [26] Saito M, Tahara A, Sugimoto T. 1-desamino-8-D-arginine vasopressin (DDAVP) as an agonist on V1b vasopressin receptor. *Biochem Pharmacol.* 1997 Jun 1;53(11):1711-7.
- [27] Szot P, Bale TL, Dorsa DM. Distribution of messenger RNA for the vasopressin V1a receptor in the CNS of male and female rats. *Brain Res Mol Brain Res.* 1994 Jul;24(1-4):1-10.
- [28] Vaccari C, Lolait SJ, Ostrowski NL. Comparative distribution of vasopressin V1b and oxytocin receptor messenger ribonucleic acids in brain. *Endocrinology.* 1998 Dec;139(12):5015-33.
- [29] Egashira N, Mishima K, Iwasaki K, Oishi R, Fujiwara M. New topics in vasopressin receptors and approach to novel drugs: role of the vasopressin receptor in psychological and cognitive functions. *J Pharmacol Sci.* 2009 Jan;109(1):44-9.

9 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Schematische Darstellung eines ooEMG während einer Startle-Reaktion	4
Abb. 2:	Schematische Darstellung der Prepulse-Inhibition (PPI) im EMG	4
Abb. 3:	Schematische Darstellung der aufgehobenen Prepulse-Inhibition (PPI) im EMG	5
Abb. 4:	Farbkodierte Darstellung von Hirnaktivität (Beispiel)	6
Abb. 5:	EMG-Artefaktkorrektur (Schema)	9
Abb. 6:	Original-Ausschnitt eines unkorrigierten ooEMG	10
Abb. 7:	Original-Ausschnitt eines korrigierten ooEMG	10
Abb. 8:	Bärchen-Spiel	14
Abb. 9:	Elektroden-Klebestellen	14
Abb. 10:	Aufbau kurz vor der Messung	16
Abb. 11:	Nach Einbringen des Kopfes in die Kopfspule	16
Abb. 12:	Stimulus-Abfolge während der funktionellen Messung (Schema)	18
Abb. 13:	Auswertung der EMG-Daten	19
Abb. 14:	Nasse Nächte in der Woche vor der Messung	22
Abb. 15:	ooEMG/vEOG-Ausschnitt mit spontanem Blinzeln und Startle-Reaktionen	23
Abb. 16:	ooEMG/vEOG-Ausschnitt mit schwacher Startle-Reaktion	24
Abb. 17:	Prepulse-Inhibitionen im MRT für die PPI120-Startle-Bedingung	25
Abb. 18:	Prepulse-Inhibitionen im MRT für die PPI480-Bedingung	25
Abb. 19:	Hirnaktivierungen bei Gesunden während Präsentation der Startle-alone-Stimuli	26
Abb. 20:	Hirnaktivierungen bei Enuretikern (Placebo) unter Präsentation von Startle-alone-Stimuli	27
Abb. 21:	Startle-Amplituden-abhängige Aktivierungen der gesunden Kinder	28
Abb. 22:	Startle-Amplituden-abhängige Aktivierungen der Enuretiker (Placebo)	28
Abb. 23:	Startle-Amplituden-abhängige Aktivierungen gesunder Kinder im Vergleich zu Enuretikern	29
Abb. 24:	PPI120-abhängige Aktivierungen gesunder Kinder im Vergleich zu Enuretikern	30
Abb. 25:	Möglicher Pathomechanismus der Enuresis auf Hirnstammebene	39
Abb. 26:	Möglicher Pathomechanismus der Enuresis auf kortikaler Ebene	41

10 Anhang

10.1 Votum der Ethik-Kommission

MEDIZINISCHE FAKULTÄT
DER CHRISTIAN-ALBRECHTS-UNIVERSITÄT ZU KIEL

ETHIK-KOMMISSION



A.D. 1665

Universitäts-Kinderklinik · Schwanenweg 20 · 24105 Kiel

Herrn
Prof. Dr. Paul Eggert
Klinik für allgemeine Pädiatrie
Schwanenweg 20
24105 Kiel

Schwanenweg 20
D-24105 Kiel

Telefon 04 31 / 597-18 09
Telefax 04 31 / 597-18 31

Datum: 31.08.2007

AZ.: A 147/07
Studienplan: fMRT – Aktivierung durch Startle-Prepulse-Versuche unter dDAVP-Therapie bei primärer monosymptomatischer Enuresis
Antragsteller: Prof. Dr. P. Eggert, Klinik für Allgemeine Pädiatrie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
Datum des Erst-Antrages: 27.06.2007
Datum des überarb. Antrages: 30.08.2007

V o t u m

Die Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel hat die zu dem oben bezeichneten Versuchsplan eingereichten Unterlagen auf mögliche berufsethische und berufsrechtliche Bedenken hin überprüft. Die Kommission stimmt darin überein, daß gegen die Durchführung der Studie nunmehr keine Bedenken bestehen.

Es wird darauf hingewiesen, daß künftig eventuell für zweckmäßig und notwendig erachtete Änderungen und Erweiterungen des Versuchsplanes der Ethik-Kommission anzuzeigen sind und gegebenenfalls eine erneute Beratung erforderlich machen.

Über alle schwerwiegenden oder unerwarteten unerwünschten Ereignisse, die während der Studie auftreten, muß die Kommission umgehend benachrichtigt werden.

Nach Abschluß der Studie erbittet die Kommission einen kurzen Bericht mit einem Hinweis, ob im Laufe der Studie ethische oder juristische Probleme aufgetreten sind.

J. Schaub

Prof. Dr. med. Jürgen Schaub
Vorsitzender der Ethik- Kommission
der Medizinischen Fakultät der CAU zu Kiel

10.2 Elterninformation (Enuretiker)



UNIVERSITÄTSKLINIKUM
Schleswig-Holstein

Campus Kiel
Klinik für Allgemeine Pädiatrie
Direktor: Prof. Dr. Martin Schrappe
Nephrologische Ambulanz
Ansprechpartner: Prof. Dr. Paul Eggert
Tel: 0431 / 597-1622
Fax: 0431 / 597-2025
Internet: www.uni-kiel.de/pediatrics

Liebe Eltern!

Wir möchten Sie und Ihr Kind bitten, uns bei der wissenschaftlichen Untersuchung

fMRT-Aktivierungen durch Startle-Prepulse-Versuche unter dDAVP-Therapie bei primärer monosymptomatischer Enuresis

zu helfen, indem Sie uns gestatten, Ihr Kind zu untersuchen.

Der Hintergrund unserer Studie ist folgender: Seit vielen Jahren werden Kinder mit unterschiedlichen Methoden an nächtlichem Bettnässen behandelt. Dennoch ist die eigentliche Ursache dieser Störung unbekannt. Zunächst wurde angenommen, dass die betroffenen Kinder einnässen, weil sie nachts zuviel Urin produzieren. Doch zunehmend kommen Zweifel auf, ob diese Hypothese haltbar ist. Es mehren sich nämlich Hinweise, dass die Reflexkontrolle im Stammhirn und das Schlafverhalten eine wesentliche Rolle bei dieser Störung spielen. Um dieses noch genauer zu verstehen und Kinder, die nachts einnässen, in Zukunft noch besser und gezielter behandeln zu können, führen wir zur Zeit eine Untersuchung mit betroffenen Kindern durch. Daher bitten wir Sie und Ihr Kind, an dieser Studie teilzunehmen. Diese ist für Ihr Kind nicht belastend und wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Christian Albrechts Universität geprüft und für ethisch vertretbar befunden.

Der Versuchsablauf ist folgender:

Es sollen insgesamt zwei Messungen durchgeführt werden. Vor der ersten Messung erhalten Sie für eine Woche Tabletten mit Minirin® (dDAVP) oder ein harmloses Scheinmedikament (Placebo) und Ihr Kind nimmt dieses statt des gewohnten eigenen Minirins®. Dann kommen Sie und Ihr Kind zu einem vereinbarten Termin in die Uniklinik und wir führen die 1. Messung durch. Bei dieser Untersuchung werden über kleine Klebeelektroden Muskelaktivitäten gemessen. Um die Aktivität in den verschiedenen Gehirnteilen zu messen, findet die Untersuchung in der Magnetresonanztomographie (MRT) statt, die ohne Strahlenbelastung ein Bild des Gehirns und eine Darstellung der unterschiedlichen Durchblutung aufzeichnet. Während dieser Messung hört Ihr Kind über einen Kopfhörer Töne und beobachtet das Erscheinen von Bärchen auf einem Bildschirm. Die gesamte Prozedur von Vorbereitung und Messung im MRT ist für Ihr Kind völlig schmerzlos und dauert ungefähr 75 Minuten. Genauere Erklärungen zum MRT und zur Muskelaktivitätsmessung finden Sie im beiliegenden Aufklärungs- und Einwilligungsbogen. Bei der ersten Messung erhalten Sie das Medikament (weder Minirin® oder Placebo) für die Zeit bis zur 2. Messung, die dann genau wie die erste Messung ablaufen wird.

Wir würden uns freuen, wenn Sie und Ihr Kind uns unterstützen würden. Als kleine Belohnung gibt es für die teilnehmenden Kinder eine kleine Überraschung.

Vielen Dank!

David Wunberg

Dr. med. Sebastian Schulz-Jürgensen (Tel. 0431/597-1622)

Prof. Dr. med. Paul Eggert (Tel. 0431/597-1810)

Universitätsklinikum
Schleswig-Holstein
Anstalt des
öffentlichen Rechts

Vorstandsmitglieder:
Prof. Dr. Bernd Kremer, Prof. Dr. Dieler
Jocham, Dipl.-Kfm. Günter Zwilling,
Dipl.-Kff. (FH) Barbara Schulte

Bankverbindungen:
Sparkasse Kiel, Kto-Nr. 100205, BLZ 21050170
Dresdner Bank Lübeck, Kto-Nr. 300041200
BLZ 23080040



10.3 Einwilligungsbogen (Enuretiker)



UNIVERSITÄTSKLINIKUM
Schleswig-Holstein

Campus Kiel
Klinik für Allgemeine Pädiatrie
Direktor: Prof. Dr. Martin Schrappe
Nephrologische Ambulanz
Ansprechpartner: Prof. Dr. Paul Eggert
Tel: 0431 / 597-1622
Fax: 0431 / 597-2025
Internet: www.uni-kiel.de/pediatrics

Aufklärungs- und Einwilligungsbogen für die Studie

„fMRT-Aktivierungen durch Startle-Prepulse-Versuche unter dDAVP-Therapie bei primärer monosymptomatischer Enuresis“

Die Untersuchung der Gehirnaktivitäten findet in einem Magnetresonanztomographen (MRT) statt. Hierbei wird das liegende Kind langsam in eine offene Röhre von ca. 80 cm Durchmesser hineingefahren, wo mit Hilfe eines starken Magnetfeldes Bilder des Gehirns und seiner Durchblutung gemacht werden. Es entsteht keinerlei Röntgenstrahlung und es wird kein Kontrastmittel gegeben. Technisch bedingt entstehen jedoch bei der Messung laute Klopfgeräusche. Diese werden durch einen Kopfhörer und Kopfpolster deutlich abgeschwächt.

Die Magnetresonanztomographie ist ein sehr risikoarmes, routinemäßig auch bei Kindern angewandtes Untersuchungsverfahren. Seltene Komplikationen sind:

- Hautreizung und -erwärmung bei direktem Kontakt mit Metall am Körper oder durch metallhaltiges (Permanent-) Make-up oder Tätowierungen
- Leichte bis mäßige Kopfschmerzen, die meist von selbst wieder abklingen
- Extrem selten Ohrgeräusche (Tinnitus), die in der Regel nach der Untersuchung wieder verschwinden
- Sehr selten kann eine panische Angst vor engen Räumen (Klaustrophobie) erstmalig im MRT auftreten (die Untersuchung kann jedoch auf Klingelsignal des Kindes jederzeit unterbrochen werden)

Aufgrund des Magnetfeldes ist es wichtig, alle metallhaltigen Gegenstände (Schlüssel, Münzen, Haarnadeln, lose Zahnpangas etc.) sowie Uhren und andere elektronische Geräte vor der Untersuchung abzulegen.

Mithilfe des MRT wird die Gehirnaktivität als Reaktion auf kurze laute Knacklaute aus einem Kopfhörer gemessen, parallel wird durch kleine Klebeelektroden über und unter dem Auge das Zinkern im Rahmen des leichten Erschreckens vor den plötzlichen Tönen gemessen. Diese Messung ist komplett schmerzfrei und harmlos, es müssen hinterher lediglich die Pflaster der Elektroden abgezogen werden.

Während der Messung ist auf einem Bildschirm ein Kreis zu sehen, der sich in unregelmäßigen Abständen in ein Bärchen verwandelt, woraufhin das Kind schnell auf einen Knopf drücken soll. Dieses dient lediglich dem Erhalt der Aufmerksamkeit und der Ablenkung von der ungewohnten Umgebung.

Um die Wirkung von dDAVP (Minirin®) auf die Regulation der Schreckreaktion zu untersuchen, sollen bei jedem Kind eine Messung nach 1 Woche Minirin-Therapie und eine Messung nach ebenfalls einwöchiger Gabe eines harmlosen Scheinmedikaments (Placebo) gemacht werden. Für eine neutrale Auswertung wissen weder Sie noch der Untersucher, welche „Therapie“ gerade genommen wird. Die evtl. nötige Unterbrechung der Minirin-Therapie kann allenfalls eine kurzfristige Zunahme des Einnässens zur Folge haben, die Therapie der Enuresis wird hierdurch jedoch nicht gefährdet.

Durch die MRT-Untersuchung kann zufällig eine krankhafte Veränderung gefunden werden, die das weitere Leben beeinflussen und weitere medizinische Konsequenzen zur Folge haben kann. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass bei Ihrem Kind eine derartige Störung vorliegt. Sollte das der Fall sein, sind wir verpflichtet, Sie darüber in Kenntnis zu setzen.

Die in der Studie erhobenen Daten zu Ihrem Kind werden anonymisiert, d.h. verschlüsselt dokumentiert und nur den untersuchenden Ärzten zur wissenschaftlichen Auswertung und Veröffentlichung zur Verfügung stehen. Alle Daten werden strikt vertraulich gemäß dem allgemeinen und ärztlichen Datenschutz behandelt.

Ich bin mit der Teilnahme meines Kindes _____ an der oben beschriebenen Studie einverstanden.

Kiel, den _____

Unterschrift _____



10.4 Elterninformation (gesunde Kinder)



UNIVERSITÄTSKLINIKUM
Schleswig-Holstein

Campus Kiel
Klinik für Allgemeine Pädiatrie
Direktor: Prof. Dr. Martin Schrappe
Nephrologische Ambulanz
Ansprechpartner: Prof. Dr. Paul Eggert
Tel: 0431 / 597-1622
Fax: 0431 / 597-3025
Internet: www.uni-kiel.de/pediatrics

Liebe Eltern!

Wir möchten Sie und Ihr Kind bitten, uns bei der wissenschaftlichen Untersuchung

fMRT-Aktivierungen durch Startle-Prepulse-Versuche

zu helfen, indem Sie uns gestatten, Ihr Kind zu untersuchen.

Der Hintergrund unserer Studie ist folgender: Die Uni-Kinderklinik Kiel forscht seit einiger Zeit an den Ursachen des kindlichen Bettnässens. Dieses Krankheitsbild ist für die betroffenen Kinder und ihre Familien sehr belastend, da sich das Bettnässen bis ins junge Erwachsenenalter fortsetzen kann. Da sich die Anzeichen häufen, dass die Ursache des Bettnässens im Gehirn zu suchen ist, haben wir viele betroffene Kinder im Alter von 6-12 Jahren untersucht. Dabei wurden Bilder des Gehirns mithilfe der funktionellen Magnetresonanztomographie (fMRT) gemacht und so die Gehirnaktivität gemessen. Um nun Unterschiede der Gehirnaktivitäten zwischen kranken und gesunden Kindern festzustellen, benötigen wir noch gesunde Kinder, die bereit sind mitzumachen. Daher bitten wir Sie und Ihr gesundes Kind, an dieser Studie teilzunehmen. Diese ist für Ihr Kind nicht belastend und wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität Kiel geprüft und für ethisch vertretbar befunden.

Der Versuchsablauf ist folgender:

Es soll eine Untersuchung in einem funktionellen Magnetresonanztomographen (fMRT) durchgeführt werden. Mit dieser Untersuchung lassen sich aktive Areale im Gehirn bildlich darstellen. Die fMRT-Untersuchung zeichnet ohne Strahlenbelastung Bilder des Gehirns und seiner Aktivität auf. Vor der Messung bekommt Ihr Kind vier kleine Aufkleber zur Ableitung der Muskelaktivität unter und über dem Auge auf die Haut geklebt. Während dieser Messung muss ihr Kind ruhig auf dem Rücken liegen und hört dabei über einen Kopfhörer Töne und Knacklaute und beobachtet das Erscheinen von Bärchen auf einem Bildschirm. Die gesamte Prozedur von Vorbereitung und Messung im MRT ist für Ihr Kind völlig schmerzlos und dauert ungefähr 30 Minuten. Genauere Erklärungen zum MRT und zur Muskelaktivitätsmessung finden Sie im beiliegenden Aufklärungs- und Einwilligungsbogen.

Wir würden uns freuen, wenn Sie und Ihr Kind uns unterstützen würden. Als kleine Belohnung gibt es für die teilnehmenden Kinder eine kleine Überraschung.

Vielen Dank!

David Wunberg
Dr. med. Sebastian Schulz-Jürgensen (Tel. 0431/597-1622)
Prof. Dr. med. Paul Eggert (Tel. 0431/597-1810)

Universitätsklinikum
Schleswig-Holstein
Anstalt des
öffentlichen Rechts

Vorstandsmitglieder:
Prof. Dr. Bernd Kremer, Prof. Dr. Dieter
Jocham, Dipl.-Kfm. Günter Zwilling,
Dipl.-Kff. (FH) Barbara Schulte

Bankverbindungen:
Sparkasse Kiel, Kto-Nr. 100206, BLZ 21050170
Dresdner Bank Lübeck, Kto-Nr. 300041200
BLZ 23080040



10.5 Einwilligungsbogen (gesunde Kinder)



UNIVERSITÄTSKLINIKUM
Schleswig-Holstein

Campus Kiel
Klinik für Allgemeine Pädiatrie
Direktor: Prof. Dr. Martin Schrappe
Nephrologische Ambulanz
Ansprechpartner: Prof. Dr. Paul Eggert
Tel: 0431 / 597-1622
Fax: 0431 / 597-2025
Internet: www.uni-kiel.de/pediatrics

Aufklärungs- und Einwilligungsbogen für die Studie

„fMRT-Aktivierungen durch Startle-Prepulse-Versuche“

Die Untersuchung der Gehirnaktivitäten findet in einem Magnetresonanztomographen (MRT) statt. Hierbei wird das liegende Kind langsam in eine offene Röhre von ca. 80 cm Durchmesser hineingefahren, wo mit Hilfe eines starken Magnetfeldes Bilder des Gehirns und seiner Durchblutung gemacht werden. Auf Wunsch kann ein Elternteil während der Messung neben dem Kind am Fußende sitzen. Es entsteht keinerlei Röntgenstrahlung und es wird kein Kontrastmittel gegeben. Technisch bedingt entstehen jedoch bei der Messung laute Klopfgeräusche. Diese werden durch einen Kopfhörer und Kopfpolster deutlich abgeschwächt.

Die Magnetresonanztomographie ist ein sehr risikoarmes, routinemäßig auch bei Kindern angewandtes Untersuchungsverfahren. Seltene Komplikationen sind:

- Hautreizung und -erwärmung bei direktem Kontakt mit Metall am Körper oder durch metallhaltiges (Permanent-) Make-up oder Tätowierungen
- Leichte bis mäßige Kopfschmerzen, die meist von selbst wieder abklingen
- Extrem selten Ohrgeräusche (Tinnitus), die in der Regel nach der Untersuchung wieder verschwinden
- Sehr selten kann eine panische Angst vor engen Räumen (Klaustrophobie) erstmalig im MRT auftreten (die Untersuchung kann jedoch auf Klingelsignal des Kindes jederzeit unterbrochen werden)

Aufgrund des Magnetfeldes ist es wichtig, alle metallhaltigen Gegenstände (Schlüssel, Münzen, Haarnadeln, lose Zahnschienen etc.) sowie Uhren und andere elektronische Geräte vor der Untersuchung abzulegen.

Mithilfe des MRT wird die Gehirnaktivität als Reaktion auf kurze laute Knacklaute aus einem Kopfhörer gemessen, parallel wird durch kleine Klebeelektroden über und unter dem Auge das Zwinkern im Rahmen des leichten Erschreckens vor den plötzlichen Tönen gemessen. Diese Messung ist komplett schmerzfrei und harmlos, es müssen hinterher lediglich die Pflaster der Elektroden abgezogen werden.

Während der Messung ist auf einem Bildschirm ein Kreis zu sehen, der sich in unregelmäßigen Abständen in ein Bärchen verwandelt, woraufhin das Kind schnell auf einen Knopf drücken soll. Dieses dient lediglich dem Erhalt der Aufmerksamkeit und der Ablenkung von der ungewohnten Umgebung.

Durch die MRT-Untersuchung kann zufällig eine krankhafte Veränderung im Gehirn gefunden werden, die das weitere Leben beeinflussen und weitere medizinische Konsequenzen zur Folge haben kann. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass bei Ihrem Kind eine derartige Störung vorliegt. Sollte das der Fall sein, sind wir verpflichtet, Sie darüber in Kenntnis zu setzen.

Die in der Studie erhobenen Daten zu Ihrem Kind werden anonymisiert, d.h. verschlüsselt dokumentiert und nur den untersuchenden Ärzten zur wissenschaftlichen Auswertung und Veröffentlichung zur Verfügung stehen. Alle Daten werden strikt vertraulich gemäß dem allgemeinen und ärztlichen Datenschutz behandelt.

Ich bin mit der Teilnahme meines Kindes _____ an der oben beschriebenen Studie einverstanden.

Kiel, den _____

Unterschrift _____

Universitätsklinikum
Schleswig-Holstein
Anstalt des
öffentlichen Rechts

Vorstandsmitglieder:
Prof. Dr. Bernd Kremer, Prof. Dr. Dieter
Jocham, Dipl.-Kfm. Günter Zwilling,
Dipl.-Kff. (FH) Barbara Schulte

Bankverbindungen:
Sparkasse Kiel, Kto-Nr. 100206, BLZ 21050170
Dresdner Bank Lübeck, Kto-Nr. 300041200
BLZ 23080040



11 Danksagung

Zuerst gilt mein großer Dank Herrn Prof. Dr. med. Paul Eggert, der mir die Arbeit zugetraut hat und mir während der gesamten Zeit als vorbildlicher Doktorvater mit viel Geduld und Rat und Tat zur Seite stand. Von ihm habe ich sehr viel über wissenschaftliches Arbeiten gelernt.

Vielen Dank an Dr. med. Sebastian Schulz-Jürgensen für unzählige Stunden in- und außerhalb regulärer Arbeitszeiten am Telefon, am PC-Bildschirm und am MRT. Danke auch an seine Familie, die viel auf ihn verzichten musste.

Vielen Dank an Dipl. phys. Stephan Wolff fürs Programmieren und Verkabeln, für physikalische Beratungen, die technische Organisation rund ums MRT und die Hilfe bei der Auswertung.

Vielen Dank an Prof. Dr. med. Michael Siniatchkin für die Unterstützung bei der Auswertung und Beratung in Sachen Neuropädiatrie, Neuroradiologie und Neuropsychiatrie.

Vielen Dank an Prof. Dr. med. Olav Jansen für die Bereitstellung des 3T-MRT im Institut für Neuroradiologie.

Mein Dank für die tatkräftige Unterstützung bei der Durchführung der Messungen im MRT geht an Dipl. phys. Susanne Rüfer und Dipl. phys. Michael Helle.

Danke auch an Frau Dr. med. Julia Meir, Lotte Hansen und Ramona Fröhlking für die Hilfe bei den Startle-Messungen.

Ganz besonders möchte ich mich bei den Kindern bedanken, die sich bereit erklärt haben, mitzumachen. Ohne Euch hätten wir alle alt ausgesehen.

Danke Constanze.

12 Lebenslauf

David Wunberg

geb. 17.05.1983

in Tübingen

Schulbildung

1990-1994	Grundschule Winkelwiese, Tübingen
1994-1997	Geschwister-Scholl-Schule, Tübingen
1997-2003	Städtisches Gymnasium Bad Segeberg
2003	Abitur

Zivildienst

2003-2004	Kinderdorf „Cidade da Criança“ in Simões Filho, Bahia, Brasilien
------------------	--

Hochschulbildung

2004-2011	Studium der Humanmedizin an der Christian-Albrechts Universität Kiel
2005-2011	Stipendiat der Studienstiftung des deutschen Volkes
2006	1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
2007-2010	Planung, Datenerhebung und Verfassen der vorliegenden Dissertation
Juni 2011	2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung, Approbation

Bisherige Veröffentlichungen:

Poster-Präsentation (Erstautor): „Single-trial analysis of simultaneous EMG-fMRI of acoustic startle in children with enuresis“ beim 16th Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping (OHBM) in Barcelona, 2010.