

## 4 Methodik

### 4.1 Apparativ

Da zu Beginn der Untersuchungen keine Apparatur zur Verfügung stand, um die methodischen Versuchsanforderungen zu erfüllen, war der erste wesentliche Schritt die Entwicklung von Hard- und Software.

#### 4.1.1 Anforderungen

Die motorischen Aktivitäten des Probanden sollen überprüfbar und nachvollziehbar sein, da Abweichungen von den Bewegungsvorgaben die Ergebnisse stark beeinflussen könnten. Des Weiteren ist ein visueller Signalgeber notwendig, der den Probanden sowohl anzeigt, welches Bewegungsparadigma ausgeführt werden soll, als auch als Taktgeber für die Bewegungsausführungen fungiert. Da im MRT bereits kleinste elektromagnetische Störungen zu einer Reduktion des Signal-Rausch-Verhältnis führen, muss in der Umgebung des MRT auf elektrische Komponenten verzichtet werden.

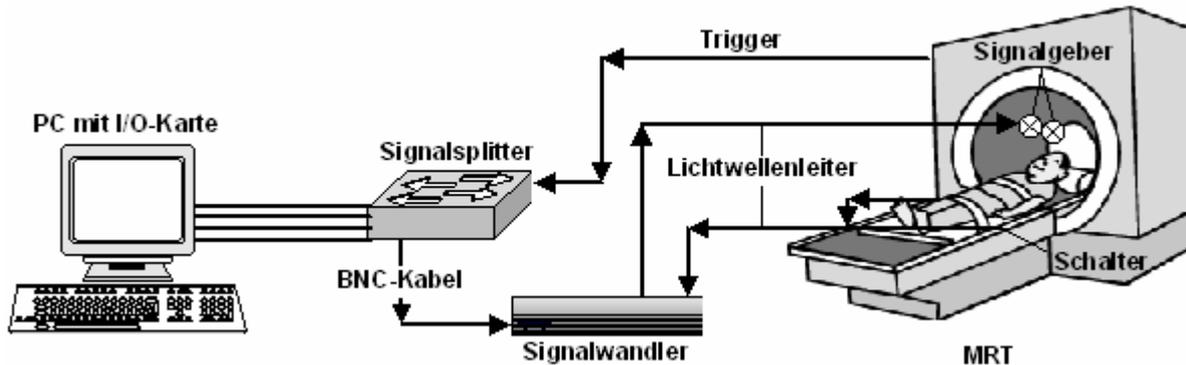
#### 4.1.2 Hardware

Wesentlicher Teil der Arbeit war die Entwicklung einer digitalen Steuer und Datenaufnahme. Hierzu mussten folgende Komponenten entwickelt bzw. angepasst werden:

- PC (mit Echtzeitbetriebssystem, DOS, Version 6.0)
- I/O-Karte (Analog-Digital-Wandler): Es handelt sich hierbei um einen Analog Digital Wandler in TTL-Logik mit einem 8255 Chip. Diese Karte besitzt kein eigenes Taktsystem.
- Signalwandler: Die elektrischen Signale vom PC wurden mittels Leuchtdioden in optische Signale umgewandelt und über Lichtleiter dem Probanden präsentiert bzw. dem Schalter zugeführt. Die optischen Signale vom Schalter wurden mittels eines zweier Fototransistoren (BPW96, Vishay Telefunken) wieder in elektrische Signale konvertiert und zurück zum PC geleitet.
- Signalsplitter (Aufteilung der einzelnen Ausgänge der I/O-Karte)
- Schalter (mechanischer Unterbrecher eines Lichtleiterkabels): Um eine gute Vergleichbarkeit der zwei Untersuchungen jedes Probanden zu gewährleisten, ist es essentiell zu wissen, ob die gemessenen Änderungen nicht Artefakte eines veränderten

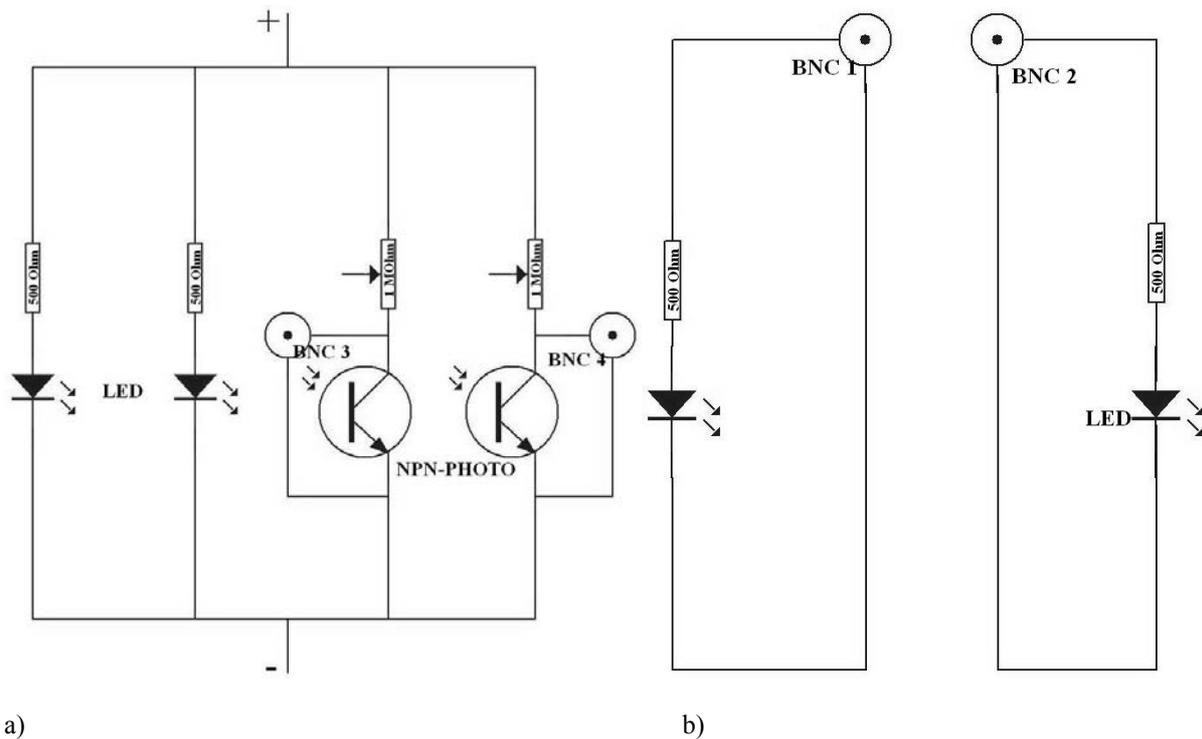
Reaktionsverhaltens sind. Um dieses Problem zu lösen, wurden die Schalter so konstruiert, dass die Latenzzeit zwischen Signal und Probandenreaktion ermittelt wird.

Abb. 4.1 zeigt den prinzipiellen Aufbau.



**Abbildung 4.1: Hardwareflow**

Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus. Der Signalsplitter erhält am Beginn einer jeden Messung ein Signal vom MRT. Die Steuerungssoftware wertet den Input aus und gibt entsprechenden Output. Dieser gelangt über den Signalsplitter zum Signalwandler, welcher die elektrischen Signale in optische umwandelt und über Lichtwellenleiter dem Probanden präsentiert. Die Probandenreaktion auf die Leuchtdioden erfolgt in Form des Drückens der Schalter. Diese Schalter unterbrechen Lichtwellenleiter. Im Signalwandler wird dieses optische Ereignis in ein elektrisches Signal konvertiert. Über den Signalsplitter und die I/O-Karte gelangt die Information dann zur Steuerungssoftware.



**Abbildung 4.2: Schaltkreise**

Diese Schaltkreise repräsentieren in vereinfachter Form den elektrischen Aufbau des Signalwandlers. Er dient der elektrischen Kodierung des Schalterdrückens a) sowie zur Übermittlung der Signale an den Probanden b). Die mit BNC gekennzeichneten Symbole repräsentieren die Anschlüsse der BNC-Kabel. Diese verbinden den Signalwandler mit dem Signalsplitter. BNC 1 Und BNC 2 stellen dabei Ausgänge dar, während BNC 3 und BNC 4 Eingänge sind.

### 4.1.3 Software

Es waren mehrere Anforderungen zu erfüllen:

- Steuerungssoftware: Da wie oben erwähnt die I/O-Karte kein eigenes Taktsystem besitzt, muss die Steuerungssoftware dies übernehmen. Um eine hohe und konstante Messgenauigkeit zu gewährleisten, wurde das Steuerungsprogramm auf einem Echtzeitbetriebssystem (DOS, Version 6.0) erstellt und ausgeführt. Zu Gunsten einer möglichst hohen zeitlichen Auflösung wurde als Implementationssprache C (MS-C Compiler Version 5) verwendet. Die Software synchronisiert sich über ein Triggersignal mit dem MRT, steuert die Lichtsignale für die Probanden, registriert und analysiert das Drücken der Schalter und dokumentiert alle auftretenden Ereignisse. Die Steuerungssoftware ist in der Lage, die Signale mit einer Zeitauflösung von 0.5 ms zu verarbeiten.
- Registrierungssoftware: Die aufgenommenen Daten mussten vom Siemens Format in das „analyze-Format“ überführt werden. Es wurde ein Programm erstellt, das die Dateien registrierte, notwendige Namenskonvertierungen durchführte und sie einem Konvertierungsprogramm namens „visiontospm“ zur Verfügung stellte (Entwickelt von Sebastian Thees, Charité).

### 4.1.4 MRT-Sequenzen

Die Aufnahmen wurden an einem 1.5 Tesla Siemens Vision Gerät durchgeführt, welches durch zusätzliche Modifikationen für Echo-Planar-Imaging (EPI) ausgerüstet war. Bei allen Probanden wurden konventionelle Aufnahmen angefertigt. Dabei wurden axiale T<sub>1</sub>- und T<sub>2</sub>-Sequenzen verwendet. Zusätzlich wurde ein sagittaler T<sub>1</sub>-gewichteter hochauflösender (1mm<sup>3</sup>) Datensatz erhoben mit folgenden Eigenschaften: 200 Schichten, TR=9.7ms, TE=4.0ms, FOV=256mm, Matrix=256\*256mm.

Für die BOLD-Bildgebung wurden EPI-Sequenzen (TR 0.6ms, TE 60ms, Kippwinkel 90Grad, Matrix=64\*64, FOV 256, 4\*4 mm Innerschichtauflösung, SD 5mm) verwendet. Das Vol. of interest bestand aus 16 Schichten, die horizontal über die motorischen und motorisch assoziierten Hirnregionen positioniert wurden.

### 4.1.5 Alkoholmessung

Die Blutalkoholkonzentration (BAK) wurde indirekt über die Messung des Atemalkoholgehalts bestimmt. Es wurde der „Alkohol Tester ICC 2001“ verwendet. Analog dazu erfolgte die Berechnung der BAK nach einer erweiterten Widmarkschen Formel [Seid00]. Bereits 1932 hat

Erik M. P. Widmark eine Formel vorgeschlagen, welche die Blutalkoholkonzentration als Quotient aus der aufgenommenen Alkoholmenge (gemäß der Trinkmengenangabe) und dem Produkt aus dem Körpergewicht und einem Reduktionsfaktor definiert

$$C_0 = \frac{A}{r * p} \quad (4.1)$$

Die Alkoholmenge A wird in Gramm angesetzt, das Körpergewicht p in Kilogramm.  $C_0$  ist dann die "fiktive maximale Alkoholkonzentration in Promille bei zeitgleicher Aufnahme der gesamten Alkoholmenge und vollständig abgeschlossener Resorption und Verteilung ohne Abbau".

Der Reduktionsfaktor r beträgt für Männer 0,7 und für Frauen 0,6. Er reduziert das Körpergewicht und trägt damit dem Sachverhalt Rechnung, dass sich der Alkohol im Organismus unterschiedlich verteilt. Zwar befindet sich dieser nach Resorption nicht nur im Blut, sondern auch in anderen Körperkompartimenten, jedoch bevorzugt er die wässrigen Anteile. In die Knochen dringt er nicht ein und auch das Körperfett bleibt alkoholfrei. Der Verteilungs- oder Reduktionsfaktor lässt sich als das Verhältnis von Alkoholkonzentration im Gesamtkörper zu derjenigen im Blut bzw. von Gesamtkörper- zu Blutwassergehalt verstehen. Die Relation zwischen Gesamtkörper- und Blutwassergehalt hängt allerdings von Körpergewicht und Körpergröße ab. Mit Rücksicht auf das starre r blieb die Widmark-Formel mit einem Mangel an Genauigkeit behaftet. Aus diesem Grund wurde hier zur Berechnung eine erweiterte Formel eingesetzt, die dem dargelegten Sachverhalt Rechnung trägt. Die Formel lautet:

für Frauen:  $r_{FI} = 0,31223 - 0,006446 \times KG + 0,004466 \times KL$

für Männer:  $r_{MI} = 0,31608 - 0,004821 \times KG + 0,004632 \times KL$ .

Das Körpergewicht (KG) wird dabei in Kilogramm, die Körpergröße (KL) in Zentimetern angesetzt [Seid00].

Der 6h nüchterne Proband bekommt 0.7g/kg Alkohol in Form von Wodka, welcher mit Orangensaft verdünnt wird, bis eine Gesamtmenge von 400ml erreicht ist. Dies muss der Proband innerhalb von 10min trinken. Es wird 50 min gewartet, da dann die maximale Blutalkoholkonzentration erreicht ist [Jon94]. Motorische Effekte des Alkohols sind während des noch ansteigenden BAK Wertes größer, als nach der Überschreitung des Gipfels [Wan92]. Da jedoch der Abfall wesentlich langsamer ist als der Anstieg, wurde dieses Experiment erst bei Erreichen des vermuteten höchsten Alkoholstands begonnen.

### 4.2 Datenverarbeitung

#### 4.2.1 Verwendete Software

Die aufgenommenen Daten wurden mittels des Programms visiontospm vom Siemens Format in das benötigte Analyse Format konvertiert. Zur Auswertung der Daten wurde dann das Programm „Statistical Parametric Mapping“ (SPM, <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>) genutzt.

#### 4.2.2 Datenvorverarbeitung

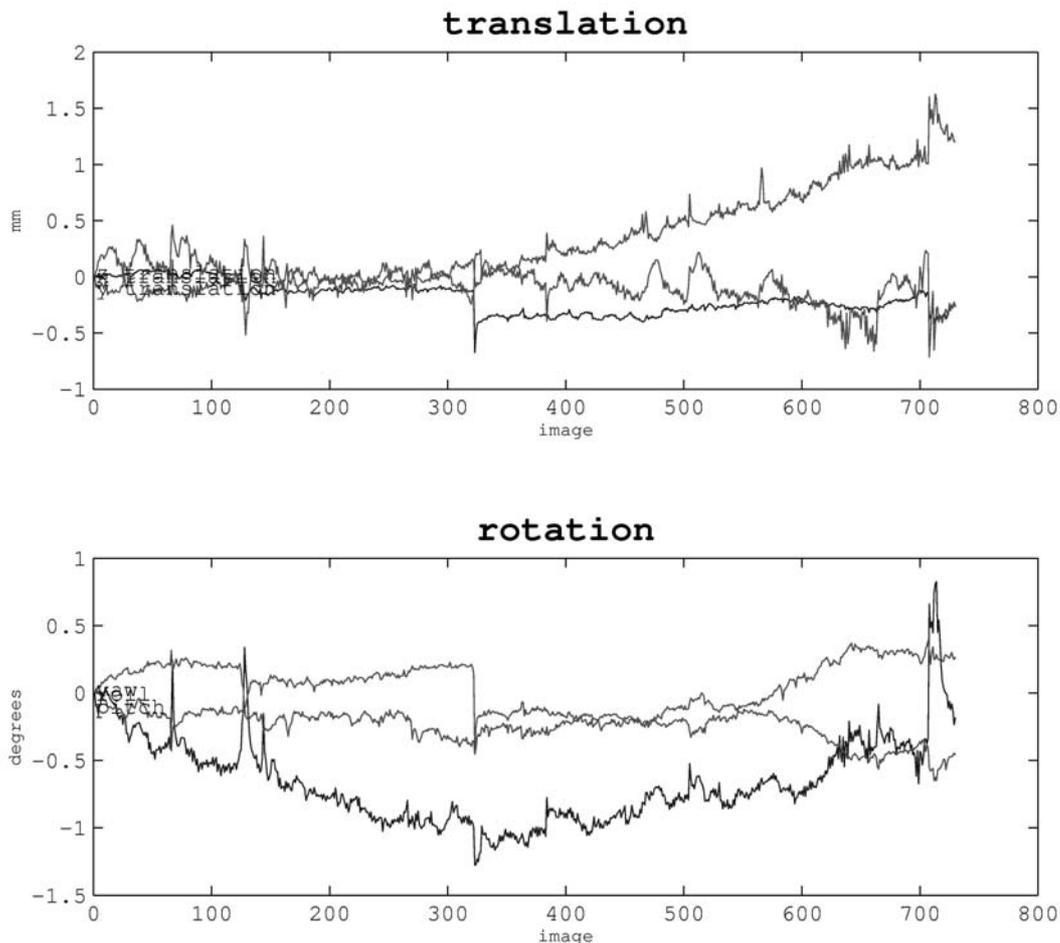
##### 4.2.2.1 Bewegungskorrektur und Normalisierung

Der folgende Abschnitt gibt eine Beschreibung der angewendeten Methoden von SPM zur Bewegungskorrektur und Normalisierung. Sie beruht auf der Dokumentation von SPM sowie der Veröffentlichung von Friston [Fri95d]. Ziel dieses Teils der Datenvorverarbeitung ist es, die Bewegungskorrektur und die Normalisierung zu automatisieren und zwar mit einem angemessenen Aufwand an Rechenkapazität. Collins [Col94] untersuchte bereits Methoden der nichtlinearen Minimierung von hochdimensionalen Fehlerfunktionen mittels Gradientenabstiegsverfahren. Es war jedoch nicht immer möglich, die lokalen Minima zu vermeiden, wodurch die Ergebnisse variierten. Darüber hinaus erwies sich diese Technik als äußerst rechenintensiv. Aus diesen Gründen motiviert SPM die Verwendung von Methoden mit eindeutigen Lösungen. Der Unterschied zwischen zwei Bildern (Bild<sub>1</sub> bzw. Bild<sub>2</sub>) lässt sich aufteilen in die Differenz der Intensität zwischen zwei Voxeln bei perfekt überlagerten Bildern  $f_x(x)$  und dem räumlichen Abstand in der Bilddarstellung zwischen zwei anatomisch identischen Voxeln  $q(x)$ . D.h., wenn wir in einem Bild alle Voxel  $x$  durch die Funktion  $f_x(x)$  beschreiben, welche eine Intensitätstransformation für jedes Voxel darstellt und im anderen Bild alle Voxel  $x$  durch die für alle Voxel einheitliche positionstransformierende Funktion  $q(x)$  ersetzen und einen Errorterm  $e(x)$  aufaddieren, sind identische Bilder das Ergebnis:

$$f_x(\text{Bild1}(x)) = \text{Bild2}(q(x)) + e(x) \quad (4.2)$$

Ziel ist es nun, diese Gleichung zu linearisieren, damit die Funktionen  $f_x(x)$  und  $q(x)$  eine eindeutige Lösung bei der Berechnung der kleinsten Quadrate erhalten. Dies geschieht durch Approximation und Einführung von Annahmen. Diese Annahmen bestehen darin, dass  $f(x)$  lokal stationär sein soll, und dass sich  $f_x(x)$  und  $q(x)$  nur „langsam“ und „glatt“ verändern. Die letzteren Bedingungen werden durch die Einführung von Glättungsfunktionen realisiert. Durch zusätzliche Einführung einer Faltungsfunktion können auch Bilder unterschiedlicher Auflösung verarbeitet werden, wie es beim Normalisieren benötigt wird. Die Anwendung des Taylorschen

Theorems unter Ignorierung von Funktionen höherer Ordnung führt zur Approximierung und damit zur Reduktion des Berechnungsaufwandes. Ergebnis ist eine Bewegungskorrektur, die jedes Bild auf die dargestellte Weise mit dem ersten (Realignment) bzw. mit unserem  $T_1$ -gewichteten anatomischen Datensatz vergleicht (Normalisierung). Eine typische Ausgabe bei den durchgeführten Experimenten ist in Abb. 4.3 zu sehen.

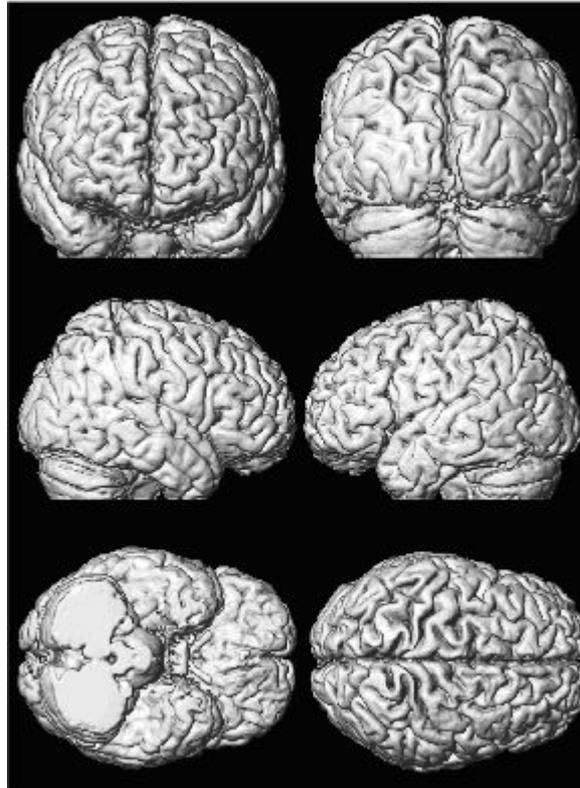


**Abbildung 4.3: Bewegungskorrektur**

Typisches Ergebnis der Bewegungskorrektur.

Sollten die Realignmentparameter die halbe Voxelgröße überschreiten, so gilt dies in den hier durchgeführten Versuchen als Ausschlusskriterium, da die angegebenen Berechnungsvorschriften eine gute Approximation nur dann garantieren können, wenn die Abweichung gering ist- relativ zur Auflösung des Bildes. Die Normalisierung der Daten erfolgte für die Einzelanatomie mit einem  $T_1$ - und für die Gruppenauswertung mit dem EPI-Template. Bei letzterem Template handelt es sich um ein Bild, das aus der Mittelung von fMRI Bildern von 13 Personen stammt. Dies ist das am meisten verwendete Verfahren und erbrachte für fast alle Probanden auch die besten Ergebnisse. Analog dazu wurden alle Aufnahmen mittels des  $T_1$ -

Templates normalisiert. Dieser Ansatz ist etwas konservativer und erbrachte lediglich bessere Ergebnisse, wenn die Gehirne der Probanden deutliche Abweichungen von der Norm, vor allem in ihrer Größe, zeigten. Darüber hinaus wurden die Referenzbilder des T<sub>1</sub>-gewichteten hochaufgelösten (1x1x1mm Voxel) anatomischen 3D-Datensatzes, zur Normalisierung verwendet. Dieser letzte Ansatz ist aber nicht für die hier erforderlichen Gruppenanalysen geeignet. Jedoch ermöglicht er bei zusätzlicher Segmentierung und 3D-Rekonstruktion eine sehr genaue probandenspezifische Lokalisierung der Aktivierungen.



**Abbildung 4.4: Gehirn**

Eine Rekonstruktion der Oberfläche des Gehirns eines Probanden.

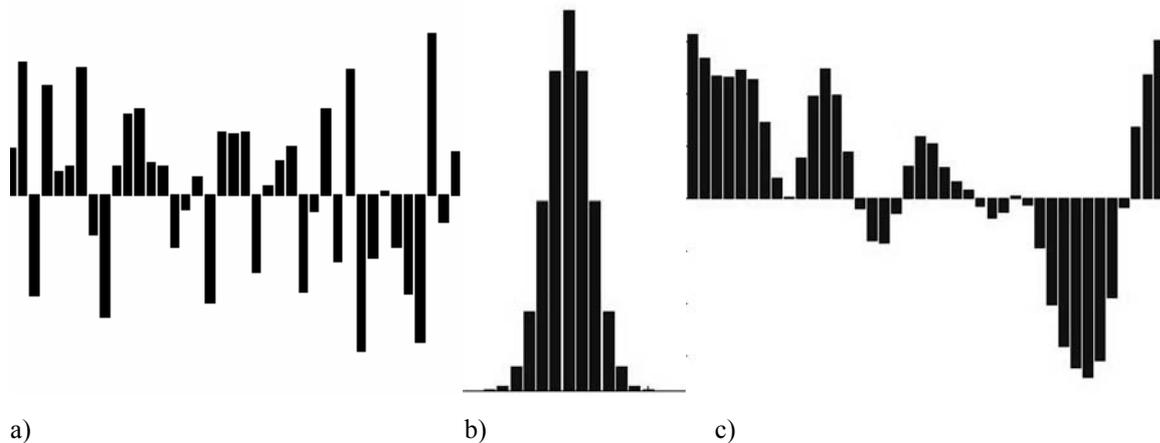
### 4.2.2.2 Glättung

Mittels eines sog. “smoothing kernels“ werden die Signalintensitäten eines Voxels unter Abhängigkeit der Voxel in ihrer räumlichen Umgebung verändert und starke Abweichungen werden geglättet. In SPM wird ein Gaussian Kernel verwendet. Dies bedeutet, dass als Glättungsfunktion eine Gaussfunktion eingesetzt wird.

Diese Funktion kann je nach den Benutzerbedürfnissen angepasst werden. Dies geschieht durch Angabe der „Full Width at Half Maximum“ (FWHM). Diese FWHM ist in Relation zum  $\sigma$  der Gausskurve zu sehen.

$$FWHM = \sigma * \sqrt{8 * \log(2)} \quad (4.3)$$

Die Glättung erfolgt, indem für jeden Punkt in einem Datensatz (Bsp. Abb. 4.5) ein neuer Wert erzeugt wird. Dieser ist durch eine Funktion definiert, die sich aus ihm und seinen gaussgewichteten Nachbarn ergibt.



**Abbildung 4.5: Glättung**

Darstellung eines Datensatzes von räumlich benachbarten Voxeln als Rohdaten (a) und nach der Glättung (c) durch Faltung mittels einer zerlegten Gausskurve (b).

Je nachdem welche Breite für die Gaussfunktion gewählt wurde, ergibt sich eine entsprechende Anzahl an Nachbarn, die mit in die Berechnung einbezogen sind. Je mehr Nachbarn, umso glatter wird das Ergebnis. Es wird eine Gaussfunktion angenommen, deren Zentrum im neu zu berechnenden Datenpunkt liegt. Die Gaussfunktion wird mittels Histogrammverfahren in eine Anzahl von Flächen geteilt (Abb. 4.5b) und die Höhe dieser Flächen wird mit dem ihnen entsprechenden Nachbarn multipliziert. Diese Werte werden addiert und ergeben den neuen Wert des Datenpunktes (Abb. 4.5c).

Es gibt 3 Hauptgründe für das Smoothing:

- I. Bei der Aufnahme von fMRI-Bildern ist die Größe der Signal/Noise Ratio von entscheidender Bedeutung. Das Smoothing dient vor allem der Verbesserung dieses Verhältnisses. Grundidee hierbei ist, dass man Rauschen (Noise) zum großen Teil als eine für jedes Voxel unabhängige Größe ansehen kann. Das bedeutet, dass Rauschen eine sehr hohe räumliche Frequenz besitzt. Neurophysiologische Aktivierungen bestimmter Hirnareale, die zu messen sind, haben dagegen eine Ausdehnung von mehreren Millimetern und haben damit eine sehr viel geringere räumliche Frequenz.
- II. Ein weiterer Grund für das Smoothing ist, dass die Daten vereinbarer mit dem Modell des „Gaussian field“ werden. Dieses Modell wird benötigt, um Schlussfolgerungen über regionale Effekte zu ziehen. Um dieser Vereinbarkeit Genüge zu tun, muss die Autokorrelationsfunktion zweifach differenzierbar und räumlich stationär sein.

- III. Ein letzter Grund für das Smoothing ist, dass diese Glättung einen wesentlich besseren interindividuellen Vergleich von regional spezifischen Aktivitäten zulässt, da man selbst bei perfekter Normalisierung von einer gewissen anatomischen Schwankungsbreite ausgehen muss.

### 4.2.2.3 Statistical Parametric Mapping

Die fMRI Untersuchungen benutzen zur Datenanalyse in der Regel eine Form des „statistical parametric mapping“. Dieses beinhaltet die Konstruktion von räumlich erweiterten statistischen Prozessen um Hypothesen über regional spezifische Effekte zu testen [Fri91}. „Statistical parametric maps“ (SPMs) sind Bilderprozesse mit Voxelwerten, die, unter der Nullhypothese, einer bestimmten Verteilung folgen, für gewöhnlich der T- oder F-Verteilung. Sie werden im Weiteren als T- bzw. F-maps bezeichnet. Innerhalb einer Analyse wird für jedes Voxel der gleiche statistische Test verwendet. Aus den resultierenden statistischen Parametern wird ein Bild bzw. eine Karte zusammengesetzt, die sogenannte SPM.

SPMs sind als räumlich erweiterte statistische Prozesse unter Verwendung des wahrscheinlichkeitstheoretischen Verhaltens der Gausschen Felder (Gaussian fields) zu interpretieren [Adl81; Wor92, Wor96; Fri94; Fri95a; Fri95c].

Die „Gaussian random fields“ (GRF) modellieren dabei sowohl die eindimensionale Wahrscheinlichkeitscharakteristik von SPM als auch eine nichtstationäre räumliche Kovarianzstruktur. Ungleiche Amplituden der SPM können dann als regional spezifische Effekte interpretiert werden. Diese sind im Rahmen des Versuchssettings attributierbar, z.B. als sensomotorischer oder visueller Prozess. Das von uns verwendete SPM benutzt sowohl die „Gaussian random fields“ als auch das „general linear model“ (GLM), um klassische Aussagen über räumlich spezifische Daten in unseren SPMs treffen zu können. Das GLM dient der Parameterberechnung, welche die Daten in der gleichen Weise erklären kann wie eine konventionelle Analyse diskreter Daten.

### 4.2.3 Das „general linear model“

Das Kernstück der Auswertung ist die Designmatrix, denn sie beinhaltet das Modell.

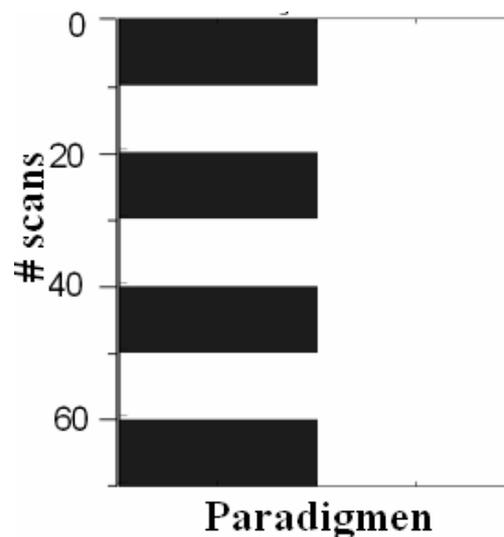
Die Berechnungsgrundlage ist das sogenannte „general linear model“. An dieser Stelle soll nun kurz auf diesen Berechnungsansatz eingegangen werden, da er die Grundlage der Ergebnisse bildet. Das „general linear model“ für die Messserie X mit Voxel  $j = 1, \dots, J$  ist:

$$x_{ij} = g_{i1} * \beta_{1j} + g_{i2} * \beta_{2j} + \dots g_{iK} * \beta_{Kj} + e_{ij}, \quad (4.4)$$

wobei  $i = 1, \dots, I$  die Beobachtungen (Scans) indiziert. Das „general linear model“ nimmt dabei an, dass der Fehler  $e_{ij}$  unabhängig und normal verteilt ist. Für diese Studie bedeutet dies, dass eine gleiche Fehlervarianz für alle Tasks und alle Probanden anzunehmen ist (jedoch nicht von einem Voxel zum nächsten). Die  $\beta_{kj}$  sind  $k$  unbekannte Parameter für jedes Voxel  $j$ . Die Koeffizienten  $g_{ik}$  stehen in Beziehung zum Task, der bei dem jeweiligen Scan vom Probanden durchgeführt wurde und haben damit einen „erklärenden“ Charakter. Die Gleichung 4.4 kann in Matrixschreibweise als multivariates „general linear model“ beschrieben werden:

$$X = G * \beta + e \quad (4.5)$$

Wobei  $X$  eine rCBF Datenmatrix mit den Elementen  $x_{ij}$  darstellt. Dabei hat  $X$  eine Spalte für jedes Voxel  $j$  und eine Zeile für jeden Scan. Die Matrix  $G$  besteht aus den Koeffizienten  $g_{ik}$  und wird auch bezeichnet als „Design Matrix“. Sie enthält damit das Modell und alles, was über das Experiment bekannt und anzunehmen ist (siehe Abb. 4.6 für eine sehr einfache Design Matrix).



**Abbildung 4.6: einfache Design Matrix**

Darstellung einer einfachen Design Matrix. Es wurde nur ein Paradigma (1) modelliert. Weiß bedeutet Aktivierung. Demzufolge handelt es sich hier um einen Task, bei welchem vom Bild 10-20, 30-40, 50-60 eine Aktivität modelliert wurde. Die rechte Spalte modelliert den Fehler.

Die Design Matrix hat eine Zeile für jeden Scan und eine Spalte für jeden Effekt oder Task im Modell.  $\beta$  ist die Parametermatrix, wobei  $\beta_j$  ein Zeilenvektor der Parameter für das Voxel  $j$  ist.  $e$  ist eine Matrix der normalverteilten Fehler.  $b$  sei die Berechnung der kleinsten Quadrate von  $\beta$  und erfülle die Formel:

$$G^T * G * b = G^T * X \quad (4.6)$$

Wenn  $G$  maximalen Rang hat, dann ist  $G^T * G$  invertierbar und die Berechnung der kleinsten Quadrate besitzt eine eindeutige Lösung.

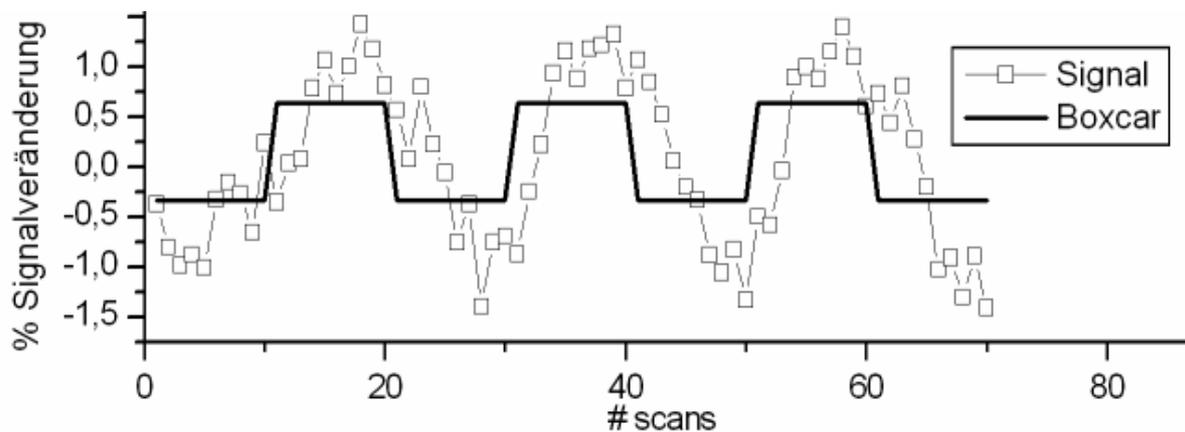
$$b = (G^T * G)^{-1} * G^T * X \quad (4.7)$$

wobei  $E(b_j) = \beta_j$  und

$$Var(b_j) = (\phi_j)^2 * (G^T * G)^{-1} \quad (4.8)$$

Wenn die Fehler der Normalverteilung folgen, ist die Berechnung der kleinsten Quadrate als die maximum Likelihood anzusehen und ist dann selbst auch normalverteilt.  $Var(b_j)$  ist die Varianz-Kovarianz Matrix für die Parameterberechnung zum korrespondierenden  $j$ ten Voxel.

Abbildung 4.7 zeigt das Ergebnis dieser Berechnung für die erste Spalte der Design Matrix aus Abb. 4.6.

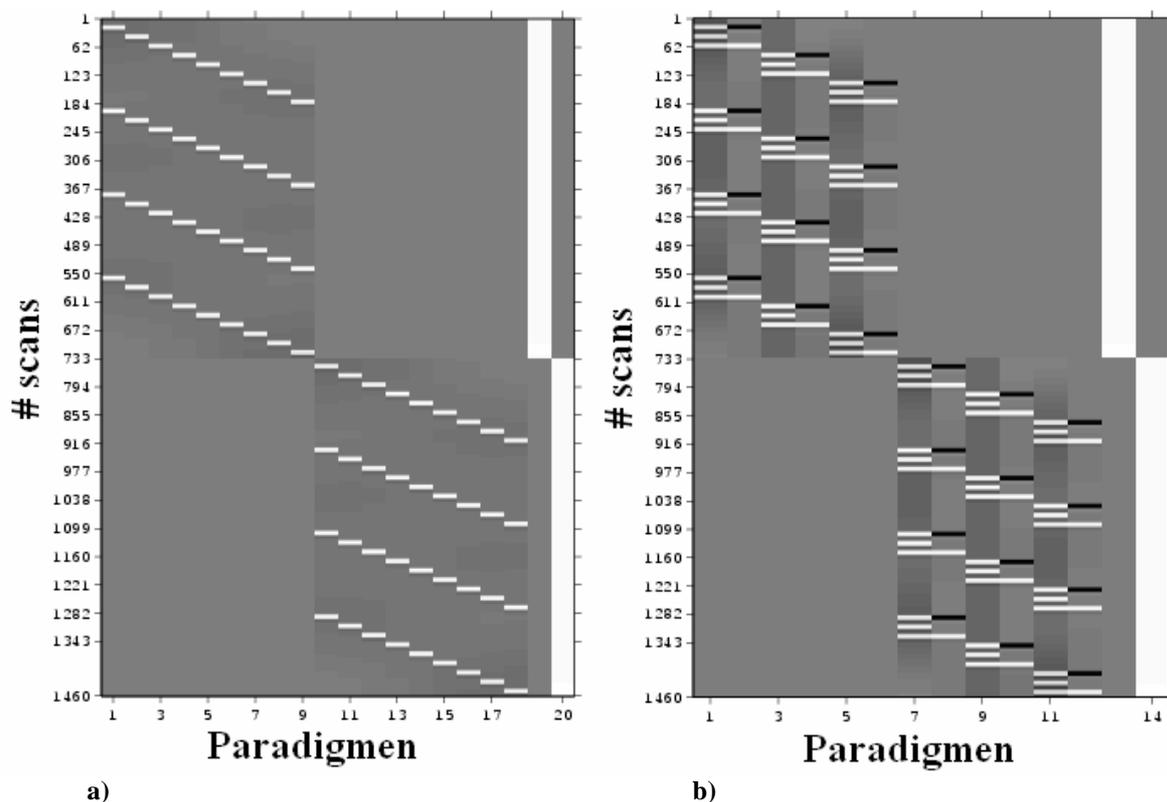


**Abbildung 4.7: Boxcar Plot**

Die erste Spalte der in Abbildung 4.6 dargestellten Design Matrix wurde auf konkrete Daten angewandt. Das Signal zeigt eine zeitliche Verschiebung zum Modell, welche aus der verzögerten BOLD Antwort resultiert (siehe 3.3.1). In den im Weiteren verwendeten Modellen wird die Aktivierung in der Design Matrix mit einer Funktion gefaltet, welche das zeitliche Verhalten der hämodynamischen Antwort modelliert und die zeitliche Verschiebung egalisiert.

Aus diesen Gleichungen ergibt sich die Bedeutung der Design-Matrix und ihr Einfluss auf die Berechnung, die durch das zugrundeliegende Modell entsteht. Um das Studiendesign gut wiederzugeben, können in die Design-Matrix sowohl Kovarianten als auch Indikatorvariable implementiert werden. Jede Spalte von  $G$  hat einen assoziierten unbekanntem Parameter im Vektor  $\beta_j$ . Parameter in der Design-Matrix können von Interesse sein (z.B. der Effekt eines spezifischen motorischen Tasks), andere dagegen nicht (z.B. zeitabhängige Veränderungen oder die Varianzen in der Geschwindigkeit des Schalterdrückens oder mitmodellerte Bewegungsartefakte, Störgrößen). Diese Störgrößen sind z.B. probandenspezifisch und kennzeichnen einen Effekt, der für unser Ergebnis nicht von Interesse ist. Er kann sogar dazu führen, dass der eigentliche Effekt verdeckt wird, falls diese Störgröße nicht mitmodelliert werden würde. Der Fehler  $e$  soll so gering wie möglich gehalten werden. Die zur Verfügung stehende Software ermittelt die Parameter  $\beta$  so, dass  $e$  minimal ist. Der Fehler ist jedoch in

erheblicher Weise vom Modell bzw. der Design-Matrix abhängig. Je genauer diese in der Lage ist, das Experiment zu modellieren, desto geringer ist, bis zum Grade des normalen Rauschens, der Fehler. Bei überkomplexen Design Matrizen besteht auch die Möglichkeit des Übermodellierens. Wie aus den Gleichungen ersichtlich ist, kann ein Fehler von 0 erzeugt werden, wenn für jede Voxel der Aufnahmen (in dieser Studie  $64 \times 64 \times 16 = 655364$ ) eine Spalte in der Design-Matrix existiert, d.h., als Task oder als Confounder modelliert wurde. Da die hier verwendeten Design- Matrizen jedoch mit ihrer Spaltenzahl zwischen 20 und 30 liegen, kann dieses Problem vernachlässigt werden (Abb 4.8). In die Design-Matrix wurden neben dem Aktivierungsdesign z.T. noch die motorischen Reflexzeiten sowie Bewegungsartefakte eingefügt. In der weiteren Modellierung des Paradigmas wurde auch eine Trennung des konstanten- vom frequenzabhängigen Signalanteil vorgenommen (Abb. 4.8b). In dieser sogenannten parametrischen Analyse ist es daher möglich, den Signalanteil zu isolieren, welcher unabhängig von der motorischen Grundaktivität des Schalterdrückens lediglich der Änderung der Frequenz zuzuschreiben ist.



**Abbildung 4.8: Design Matrix**

Darstellung einer Design Matrix mit ausschließlicher Modellierung der motorischen Aktivität ohne Alkohol (oberer linker Quadrant), mit Alkohol (unterer rechter Quadrant) sowie des Fehlers in den letzten beiden Spalten (a). Die zweite Design Matrix (b) stellt ein parametrisches Design dar. Im Unterschied zu a) soll hier das gemessene Signal aufgeteilt werden in einen frequenzabhängigen Anteil und einen konstanten Anteil. Eine Design Matrix gilt für alle Voxel, wird jedoch für jedes Voxel unabhängig ausgewertet.

### 4.2.4 “Gaussian Random Field” (GRF)- Theorie

Die GRF-Theorie wird zum Lösen des „multiple comparison“-Problems benutzt, das auftritt, wenn Aussagen über ein bestimmtes Volumen im Gehirn zu treffen sind. Unter Annahme der Nullhypothese folgt die Verteilung der Z-scores der einer zufälligen Normalverteilung. Im Fall dieser Untersuchung sollte kein Unterschied zwischen der Aktivierungsbedingung und der Ruhebedingung zu finden sein. Aufgrund der hohen Anzahl von Z-scores kann allerdings davon ausgegangen werden, dass es selbst wenn die Nullhypothese zutrifft, signifikant erscheinende Z-scores geben wird. Das angesprochene „multiple comparison“-Problem behandelt nun die Frage, wie hoch die Schwelle für die Z-scores angesetzt werden muss, um keine signifikanten Ergebnisse zu erhalten, die sich aus einer zufälligen Verteilung ergeben. In der klassischen Statistik bedient man sich hier oft der Bonferroni-Korrektur ( $\alpha$ /Testanzahl). Ein solcher Ansatz ist für dieses Problem allerdings zu konservativ, da die Z-scores hochgradig mit ihren Nachbarn korreliert sind, die Bonferroni-Korrektur jedoch von unabhängigen Tests ausgeht. Diese Korrelation hat folgende Gründe:

- I. Die Voxel enthalten durch die relativ geringe Auflösung einen Signalanteil vom umgebenden Gewebe.
- II. Das Glätten der Bilder erzeugt hohe räumliche Korrelationen.

Die GRF-Theorie bietet nun eine Methode für die Korrektur der p-Werte bzw. der Z-scores für das Suchvolumen der SPM und hat wie oben besprochen, die gleiche Bedeutung für kontinuierliche Daten (hier Bilder) wie die Bonferonni-Korrektur für diskontinuierliche oder diskrete statistische Tests. Hierzu ist es nötig, die Anzahl der „resels“ (resolution elements) zu ermitteln. Die Anzahl der „resels“ ist gleich der Anzahl unabhängiger Beobachtungen in einem Bild. Ein „resel“ ist definiert als ein Block von Pixeln gleicher Größe wie das FWHM der geglätteten Bilder. Es ist im Weiteren nötig, die Euler-Charakteristik (EC) zu berechnen. Dazu wird dem Bild eine bestimmte Schwelle angelegt und es werden alle Z-scores auf null gesetzt, die unter dieser Schwelle liegen. Mittels der „resels“ ist es möglich, die wahrscheinlichste EC für eine gegebene Schwelle zu berechnen.

Die EC gibt die Wahrscheinlichkeit an, mit der ein Pixel oder ein Cluster von Pixeln überschwellig in dem Bild zu finden ist. Somit kann z.B. für einen gewünschten p-Wert von 0.01 die entsprechende EC berechnet werden ( $EC=0.01$ ) und es ergibt sich daraus die geeignete Schwelle. Mit dieser Technik werden die korrigierten p-Werte erzeugt, auf die später noch eingegangen wird. Ein korrigierter p-Wert entspricht der erwarteten EC [Wor92, Wor96; Fri94; Fri95b].

### 4.3 Ergebnisdarstellung

Jede in unserer Design-Matrix modellierte Spalte entspricht einem Task bzw. Kontrast, welcher in der Auswertung beliebig als „von Interesse“ bzw. als „von keinem Interesse“ definiert wird. Mit dieser Methode werden die zu testenden Hypothesen erzeugt. Es wird eine t-Statistik angelegt, welche die Wahrscheinlichkeit der Nullhypothese überprüft. Diese Hypothese und die Nullhypothese werden für jedes einzelne Voxel getestet. Nach der Berechnung der t-Statistik wird diese in die sogenannten Z-scores umgewandelt. Z-scores werden benutzt, um die p-Werte der t-Statistik anzuzeigen und zu analysieren. Sie sind dabei Zahlen aus der Einheitsnormalverteilung (Mittelwert=0, Varianz=1), die die gleichen p-Werte ergeben wie die t-Statistik. Z-scores und p-Werte haben dabei eine eindeutige und nichtveränderbare Beziehung. Bsp.:  $p=0.01 \Rightarrow Z=2.33$  ;  $p=0.001 \Rightarrow Z=3.09$  usw.

#### 4.3.1 Ergebnisberechnung

Die Ergebnisse werden in drei verschiedenen statistischen Ebenen ausgewertet.

- I. Für jeden Probanden einzeln.
- II. Im Rahmen einer „first level“ oder „fixed-effect“-Analyse.
- III. Im Rahmen einer „second level“ oder „random effect“-Analyse.

Der entscheidende Unterschied in der first- bzw. second level- Analyse ist, dass eine Aussage in Relation zur internen Probandenvariabilität bzw. zur Variabilität zwischen den Probanden getroffen wird. Für die gemessene Probandenpopulation ist es ein erheblicher Unterschied, ob gesagt wird: das Ergebnis sei signifikant in Relation zur Variabilität, mit der die Ergebnisse gemessen wurden, oder ob gesagt wird: das Ergebnis sei signifikant in Relation zur Variabilität zwischen den Probanden. Somit ist mit der first level- Analyse zwar die Aussage möglich, dass die mittleren gemessenen Probandenwerte eine Aktivierung für die Gruppe anzeigen, es muss jedoch nicht bedeuten, dass die Aktivierung für die Gruppe signifikant ist. Diese Aussage ist nur in der second level- Analyse möglich, da hier die Variabilität in der Aktivierung von Proband zu Proband betrachtet wird. Die Unterscheidung zwischen den beiden Ansätzen liegt in der unterschiedlichen Berechnung der Fehlervarianz. In der first level- Analyse wird die Fehlervarianz auf der Basis einer Analyse von Messung zu Messung durchgeführt. Die dem zugrunde liegende Annahme ist, dass jede Einzelmessung eine unabhängige Beobachtung repräsentiert (Ignorierung serieller Korrelationen). Bei der second level- Analyse basiert die Fehlervarianz auf der Aktivierung von Proband zu Proband. Beide Verfahren sind statistisch absolut valide, allerdings nur in Bezug auf die richtige Aussage, die sich daraus ergibt. Mit der first level- Analyse kann demnach nur eine Aussage über die in dieser Studie beobachteten

Probanden getroffen werden. Mit der second level- Analyse ist es möglich, das Ergebnis auf die Gesamtpopulation zu übertragen, aus denen die Probanden stammen.

Zusätzlich zu den statistischen Möglichkeiten, die SPM bietet, wurden bestimmte Regionen bezüglich ihres zeitlichen Verhaltens genauer untersucht. Aus der besprochenen second level Analyse wurde die Lokalisation des maximalen Unterschiedes zwischen beiden Messungen (ohne Alkohol und mit Alkohol) für den linken SMC, den rechten SMC und die SMA identifiziert. Diese Voxel sowie ihre 26 direkten Nachbarn bilden den zu untersuchenden Cluster. Die Daten wurden nach der Vorverarbeitung von SPM sowie der Anwendung eines High- und Low-pass Filters extrahiert. Danach wurden sie über die 27 Voxel, die 4 Wiederholungen jeden Tasks sowie über alle Probanden der jeweiligen Gruppe (Placebogruppe, Alkoholgruppe) gemittelt.

### 4.3.2 Koordinatendarstellung

Wie beschrieben, werden die Ergebnisse sowohl auf ihre anatomische Lokalisation in Bezug auf die einzelnen Probanden als auch auf die Lage in einem standardisierten Gehirn (Montreal Neurological Institute (MNI)) untersucht. Die Koordinatenangaben erfolgen in Bezug zu diesem MNI-Gehirn. Dieses Gehirn entstand mit dem Ziel, eine genauere kartographische Darstellung zu erzielen, als mit dem zuvor verwendeten Atlas von Talairach und Tournoux. Letzterer entstand durch die Übertragung der Brodmann-Areale auf ein Standardgehirn. Histologische Studien wurden dabei nicht mit einbezogen und die tatsächliche Schlussfolgerung von einer Lokalisation auf ein Brodmann-Areal enthält erhebliche Unsicherheiten. Der MNI-Atlas versucht, das Gehirn auf einem repräsentativeren Wege zu definieren. Er entstand, indem bei 241 MR-Untersuchungen manuelle Marken gesetzt wurden, um diese mit dem Talairach-Atlas in Einklang zu bringen. Dann wurden weitere 305 MR-Untersuchungen auf das bereits erhaltene Gehirn registriert. Aus dem Mittel dieser 305 Untersuchungen entstand so das MNI305-Gehirn. Die Angaben in dieser Untersuchung beziehen sich auf das ICBM152, wobei 152 MR-Untersuchungen auf das MNI305 registriert wurden. Ein Problem ist allerdings, dass dieses Gehirn nicht mehr komplett kompatibel mit dem Talairach-Atlas ist. Die Unterschiede werden umso größer, je weiter sich die Koordinaten vom Gehirnmittelpunkt entfernen. Beim Vergleich von Koordinaten müssen daher obige Einschränkungen beachtet werden.

### 4.4 Durchführung der Experimente

#### 4.4.1 Probandenauswahl

Bei den Probanden handelte es sich ausschließlich um freiwillige, gesunde, rechtshändige Versuchspersonen. Folgende Ausschlusskriterien wurden beachtet: Alter  $< 20$  oder  $> 27$  Jahre, Linkshänder, Schwangere, Vorliegen neurologischer und kardiovaskulärer Erkrankungen, Diabetes mellitus, Einnahme psychotroper Medikamente, Alkoholmissbrauch oder weitere ernsthafte Erkrankungen. Darüber hinaus sind alle Probanden ausgeschlossen worden, bei denen eine Routine-MRT-Diagnostik nicht bedenkenlos möglich wäre, z.B. aufgrund von Metall im Körper, Platzangst, Zustand nach Operationen, Herzschrittmacher oder Hörhilfen.

Alle Probanden, die bisher keine ähnlichen Mengen an Alkohol zu sich genommen oder diese schlecht vertragen haben, wurden ebenfalls ausgeschlossen.

Die strikte Altersbegrenzung auf 20-27 Jahre [Mar99] wurde gewählt, da sich in Studien eine altersabhängige Abnahme der Gefäßreaktion auf bestimmte interne wie externe Mediatoren gezeigt hat [Mar99, Lun99, Sch03, Rie03]. Dies scheint vor allem durch geringere Ausschüttung des NO zu geschehen.

#### 4.4.2 Probandenvorbereitung

Die Probanden wurden aufgefordert, die letzten 6 Stunden vor der Untersuchung keine Nahrung mehr zu sich zu nehmen. Sie wurden umfassend aufgeklärt, unter anderem über die allgemeinen Risiken einer MRT-Untersuchung als auch über Gefahren und Nutzen dieser speziellen Untersuchung. Der Wunsch nach Abbruch der Untersuchung war den Probanden jederzeit und ohne Konsequenzen ausdrücklich zugesagt. Die Aufgabenstellung wurde durchgesprochen und die Versuchspersonen wurden aufgefordert, die motorischen Handlungen zu üben (Schalterdrücken).

#### 4.4.3 Aufgabenstellungen an die Probanden

Protokoll:

Es wird nur der Zeigefinger zum Drücken der Schalter benutzt. Die Frequenz des Drückens wird dem Probanden mit Hilfe zweier visueller Signalgeber vermittelt. Es wird mit den Frequenzen 1, 2 und 3 Hz gearbeitet. Die einzelnen Frequenzen werden in separaten Blöcken mit einer Dauer von ca. 19 Sekunden präsentiert. In jedem dieser Blöcke erfolgen 10 Messungen. Zwischen jedem motorisch aktiven Task folgt eine ebenso lange Zeitperiode, in welcher der Patient keine motorischen Aktivitäten ausführen soll.

- 1) rechte Hand 1Hz (R1)
- 2) rechte Hand 2Hz (R2)
- 3) rechte Hand 3Hz (R3)
- 4) linke Hand 1Hz (L1)
- 5) linke Hand 2Hz (L2)
- 6) linke Hand 3Hz (L3)
- 7) beide Hände 1Hz (B1)
- 8) beide Hände 2Hz (B2)
- 9) beide Hände 3Hz (B3)

Diese 9 Tasks werden 4-mal durchgeführt.

Durchführung:

- I. Messung des Probanden ohne Alkohol.
- II. Der 6h nüchterne Proband bekommt anschliessend 0.7g/kg Alkohol, wie oben beschrieben. Diesen muss der Proband in den kommenden 10 min trinken.
- III. Messung nach Gabe von Alkohol. Der funktionelle Teil der Messung erfolgt 50 min nach Aufnahme des Alkohols.

#### **4.4.4 Durchgeführte Messungen**

Es wurden insgesamt 19 Probanden untersucht. Davon wurden 5 in der Placebogruppe untersucht und die restlichen 14 tranken Alkohol. Von den 14 Freiwilligen in der Alkoholgruppe mussten 2 ausgeschlossen werden. Ein Proband hatte massive Bewegungsartefakte, die, wie oben beschrieben wurde, eine sinnvolle Bewegungskorrektur unwahrscheinlich machten. Ein weiterer Ausschluss erfolgte aufgrund einer anatomischen Gegebenheit. Durch die Kopfgröße dieses Probanden erbrachte die Normalisierungsprozedur keine biologisch plausiblen Ergebnisse.